

基于组分结构理论和网络药理学探讨绿茶有效组分干预年龄相关性黄斑变性的配伍结构及作用机制

王逸飞, 徐海洋, 高燕*, 赵瀚年*

山东中医药大学 药物研究院, 国家中医药管理局高水平重点学科-中药药剂学, 黄河流域特色中药生态保护和高质量发展协同创新中心, 山东 济南 250355

摘要: **目的** 基于组分结构理论及网络药理学探究绿茶有效组分(奎尼酸、表儿茶素、没食子儿茶素、表没食子儿茶素、没食子儿茶素没食子酸酯和表没食子儿茶素没食子酸酯)干预年龄相关性黄斑变性(AMD)的最佳配伍结构及作用机制。**方法** 采用氯化钴致斑马鱼 AMD 模型, 结合均匀设计法, 以斑马鱼眼底血管异常生长的相对抑制率为评价指标, 通过多元线性回归分析筛选绿茶有效组分干预 AMD 的最佳配伍结构; 借助网络药理学预测其作用通路及关键靶点, 并利用分子对接技术与实时荧光定量(qRT-PCR)法验证绿茶有效组分对关键靶点的调控作用。**结果** 当奎尼酸、表儿茶素、没食子儿茶素、表没食子儿茶素、没食子儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯的质量浓度分别为 40、40、25、50、15、15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时干预 AMD 的药效最佳, 其最佳配伍结构为 8:8:5:10:3:3; 绿茶有效组分可能通过调控 *PI3K*、*Akt*、*TP53*、*HIF1A*、*VEGF* 等基因的表达, 激活 *PI3K-Akt*、*HIF-1*、*Apoptosis* 和 *TNF* 信号通路, 从而发挥干预 AMD 的药效作用。**结论** 绿茶有效组分可协同增效发挥干预 AMD 作用, 且存在明确的最佳配伍结构, 本研究为中药组分配伍规律研究提供思路, 为绿茶干预 AMD 的组分新药研发奠定基础。

关键词: 绿茶有效组分; 年龄相关性黄斑变性; 网络药理学; 均匀设计法; 配伍结构; 作用机制; 奎尼酸; 表儿茶素; 没食子儿茶素; 表没食子儿茶素; 没食子儿茶素没食子酸酯; 表没食子儿茶素没食子酸酯

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)09-2530-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.09.014

Exploring compatibility structure and mechanism of green tea effective components in intervening in age-related macular degeneration based on component-structure theory and network pharmacology

WANG Yifei, XU Haiyang, GAO Yan, ZHAO Bonian

Collaborative Innovation Center for Ecological Protection and High Quality Development of Characteristic Traditional Chinese Medicine in the Yellow River Basin, High Level Traditional Chinese Medicine Key Disciplines of the State Administration of Traditional Chinese Medicine: Pharmaceutics of Traditional Chinese Medicine, Institute of Pharmaceutical Research, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: Objective To explore the optimal combination structure and mechanism of action of effective components of green tea (quinic acid, epicatechin, gallic acid, epigallocatechin, gallic acid gallate, and epigallocatechin gallate) in the intervention of age-related macular degeneration (AMD) based on the theory of component structure and network pharmacology. **Methods** A zebrafish AMD model induced by cobalt chloride was used, combined with uniform design method. The relative inhibition rate of abnormal growth of zebrafish retinal vessels was taken as the dependent variable. The optimal combination structure of green tea effective components in the intervention of AMD was screened by multiple linear regression analysis. Network pharmacology was used to predict the action pathways and key targets, and molecular docking technology and real-time fluorescence quantitative (qRT-PCR) method were used to verify the regulatory effect of green tea effective components on key targets. **Results** When the mass

收稿日期: 2025-02-25

基金项目: 山东省重点研发计划项目(2021CXGC010511); 山东省科技型中小企业创新能力提升工程项目(2023TSGC0271)

作者简介: 王逸飞, 男, 博士研究生, 主要从事中药质量综合评价。E-mail: wyf2053927699@aliyun.com

*通信作者: 高燕, 女, 硕士生导师, 副教授, 主要从事中药质量综合评价。E-mail: gaoyaningyes@163.com

赵瀚年, 男, 博士生导师, 教授, 主要从事中药质量综合评价。E-mail: bonianzh@163.com

concentrations of quinic acid, epicatechin, gallic acid, epigallocatechin, gallic acid gallate, and epigallocatechin gallate were 40, 40, 25, 50, 15, and 15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively, the intervention effect on AMD was the best, and the optimal combination structure was 8 : 8 : 5 : 10 : 3 : 3. Green tea effective components may exert the intervention effect on AMD by regulating the expression of genes such as *PI3K*, *Akt*, *TP53*, *HIF1A*, and *VEGF*, and activating the PI3K-Akt, HIF-1, Apoptosis, and TNF signaling pathways. **Conclusion** The effective components of green tea can exert a synergistic effect in the intervention of AMD, and there is a clear optimal combination structure. This study provides ideas for the research on the combination rules of traditional Chinese medicine components and lays a foundation for the development of new component drugs of green tea for the intervention of AMD.

Key words: green tea active components; age-related macular degeneration; network pharmacology; uniform design method; compatibility structure; mechanism of action; quinic acid; epicatechin; gallic acid; epigallocatechin; gallic acid gallate; epigallocatechin gallate

绿茶 *Camellia sinensis* (L.) Kuntze 为山茶科、山茶属植物, 性凉, 味苦辛甘, 归肝、心包、心、肺、脾、肾、胃经, 具有下气消食、清利头目、清降痰浊、清热解毒的功效^[1]。现代药理研究表明, 绿茶中含有丰富的茶多酚类化合物, 具有极佳的抗炎、抗氧化、促血管生成等作用, 其中以表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 为代表的多种儿茶素类成分为其潜在药效物质群^[2-3]。眼部相关疾病多与眼内炎症、氧化应激、细胞凋亡有关, 茶多酚类物质已被应用于多种眼部疾病的药物开发研究^[4-6]。基于此, 课题组前期围绕绿茶干预年龄相关性黄斑变性 (AMD) 的药效机制开展了系列研究, 发现绿茶提取物能够显著抑制强光刺激及强氧化剂导致的 AMD 大鼠视网膜炎症、氧化应激损伤及细胞凋亡水平^[7-8]。

AMD 作为一种与年龄高度相关的退行性疾病, 在老年人群中发病率较高, 可损伤中心视力, 严重影响老年人生活质量^[9]。中医证候中, AMD 多归为“痰瘀”“血滞”“气虚”范畴, 因此临床以疏肝补肾类药物配伍治疗^[10-11]。临床上, AMD 分为干性 AMD (dAMD) 和湿性 AMD (wAMD), wAMD 主要表现为脉络膜血管过度异常生长及视网膜出血^[9]。课题组前期研究中证实, 绿茶具有干预 AMD 的功效, 能够有效抑制氯化钴诱导的斑马鱼眼底血管异常增生; 同时, 谱-效相关研究中发现奎尼酸、表儿茶素 (EC)、没食子儿茶素 (GC)、表没食子儿茶素 (EGC)、没食子儿茶素没食子酸酯 (GCG) 和 EGCG 是绿茶干预 AMD 的关键药效组分^[8], 但目前尚未完成有效组分优势配伍结构的筛选, 且其配伍后的药效活性及作用机制尚不十分明确。

中药配伍规律是中医辨证论治理论的具体体现。随着化学成分分离技术的发展, 其研究已不

再限于多药味间的组合配伍。张伯礼院士^[12]提出以组分配伍研制现代中药的新策略, 即开展有效组分配伍研究。随着该研究的深入, 贾晓斌教授^[13]进一步提出“组分结构”理论, 认为中药药效物质基础由多个组分按照特定的组成结构 (含量) 比例构成, 并系统构建了以组分为功能单位的中药研究新模式。

鉴于此, 本研究以组分结构理论为指导, 采用均匀设计法考察绿茶有效组分在不同配伍结构下的药效作用, 解析各组分间的协同作用及配伍规律; 同时结合网络药理学及分子对接技术, 预测有效组分干预 AMD 的潜在作用机制, 并通过实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 技术验证有效组分最佳配伍结构对 AMD 斑马鱼眼组织关键靶点表达的影响, 旨在为绿茶组分中药的研发及 AMD 临床治疗新策略提供关键数据支撑。

1 材料

1.1 仪器

BP211D 型电子分析天平, 德国赛多利斯科学仪器有限公司; Allegra X-30R 高速冷冻离心机, 美国贝克曼库尔特有限公司; IX73 荧光显微镜, 日本 Olympus 公司; BJPX-L200 光照培养箱, 山东博科控股有限公司; KZ-III-F 组织研磨仪, 武汉塞维尔生物科技有限公司; Roche LightCycler 96 qRT-PCR, 瑞士 Roche 公司; Invitrogen Qubit 4 超微量分光光度计, 美国 Thermo Scientific 公司; Z-A-D5 斑马鱼养殖系统, 上海海圣生物实验设备有限公司。

1.2 药物与试剂

氯化钴 (批号 C15852024), 上海麦克林生化科技股份有限公司; 七叶洋地黄双苷滴眼液 (批号 24A077), 德国视都灵药品有限责任公司; 对照品奎尼酸 (批号 PS0713-0020, 质量分数 98.0%)、EC (批号 PS1391-0200, 质量分数 98.0%)、GC (批号

PU0554-0025, 质量分数 98.0%)、EGC(批号 U0460-0025, 质量分数 98.0%)、GCG(批号 PS1489-0020, 质量分数 98.0%)、EGCG(批号 PS3007-0050, 质量分数 98.0%)均购自成都普思生物科技有限公司; PrimeScript™ RT reagent Kit(批号 RR047A)、TB Green® Premix Ex Taq™ II(批号 RR820A), 日本 TAKARA 公司; 动物组织 RNA 提取试剂盒(批号 AC0202), 山东思科捷生物技术有限公司。

1.3 动物

成年 Flila: EGFP 血管荧光转基因斑马鱼由山东中医药大学药物研究院提供, 培养于专业斑马鱼养殖系统, 培养环境维持恒温 28 °C, 每日 14h/10h 光/暗循环。成年雌雄斑马鱼在交配缸中自然交配产卵后, 收集至培养皿中, 于 28 °C 恒温光照培养箱中孵育。

2 方法

2.1 实验用药品溶液的制备

精密称取奎尼酸、EC、GC、EGC、GCG、EGCG 各 10.00 mg 置于 6 个量瓶中, 纯水定容至刻度线, 制备成 2 mg·mL⁻¹ 的母液, 4 °C 保存备用; 选择氯化钴作为 AMD 斑马鱼造模药物, 精密称取 10.00 mg 氯化钴置于量瓶中, 纯水定容至刻度线, 制备成 2 mg·mL⁻¹ 的母液, 4 °C 保存备用, 后续实验时稀释至 100 μg·mL⁻¹; 选择七叶洋地黄双苷滴眼液作为阳性药物, 用纯水稀释至 20 μg·mL⁻¹ (以七叶亭苷计算)。

2.2 绿茶有效组分对斑马鱼存活率的影响

选择 2 dpf 的斑马鱼, 脱膜后在荧光显微镜下筛选发育正常的幼鱼于 6 孔板中, 每孔 30 尾, 每组 2 个复孔。分别考察不同质量浓度 (100、200、400、800、1 000、1 500 μg·mL⁻¹) 奎尼酸、EC、GC、EGC、GCG、EGCG 干预 72 h 对斑马鱼存活率的影响, 确定斑马鱼对各组分的最大耐受浓度 (MTC)。随后将各组分分别按照 MTC、1/2MTC、1/4MTC、1/6MTC、1/8MTC 进行组合, 考察药物组合对斑马鱼存活率的影响。

2.3 AMD 斑马鱼模型的建立

选择 2 dpf 的斑马鱼, 脱膜后在荧光显微镜下筛选发育正常的幼鱼于 6 孔板中。选择 100 μg·mL⁻¹ 氯化钴干预 72 h 致斑马鱼眼内缺氧诱导眼底血管异常生长, 构建渗出型 AMD 斑马鱼模型^[8], 在荧光显微镜下观察斑马鱼眼底血管生长情况, 利用 Image J 软件测量斑马鱼眼底血管荧光面积, 评价 AMD 斑马鱼造模是否成功。

2.4 绿茶有效组分配伍结构研究

2.4.1 均匀设计分组 将奎尼酸 (X₁)、EC (X₂)、GC (X₃)、EGC (X₄)、GCG (X₅)、EGCG (X₆) 作为考察因素, 各设 11 个水平, 剂量范围根据“2.2”项确定的各组分 MTC 设定。采用 U₁₁ (11⁶) 均匀设计表 (表 1) 对绿茶有效组分的最佳配伍结构进行筛选, 根据均匀设计使用表, 当考察因素数为 6 时, 偏差为 0.494 2, 选择 1~6 列进行实验。

表 1 均匀设计水平 U₁₁ (11⁶)

Table 1 Uniform design level U₁₁ (11⁶)

组别	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	组别	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆
S1	1	2	3	5	7	10	S7	7	3	10	2	5	4
S2	2	4	6	10	3	9	S8	8	5	2	7	1	3
S3	3	6	9	4	10	8	S9	9	7	5	1	8	2
S4	4	8	1	9	6	7	S10	10	9	8	6	4	1
S5	5	10	4	3	2	6	S11	11	11	11	11	11	11
S6	6	1	7	8	9	5							

2.4.2 最佳组分配伍结构考察 选择 2 dpf 的斑马鱼于 6 孔板中, 每孔 10 尾。设置对照组、模型组、阳性药 (20 μg·mL⁻¹ 七叶洋地黄双苷滴眼液) 组和 11 个绿茶有效组分 [S1~S11, 给药剂量按照均匀设计表 U₁₁ (11⁶) 确定] 组。除对照组外, 其余各组均按“2.3”项下方法造模, 阳性药组与 S1~S11 组在造模同期给药。28 °C 孵育 72 h, 观察斑马鱼存

活情况, 并在荧光显微镜下观察斑马鱼眼底血管生长情况, 利用 Image J 软件测量斑马鱼眼底血管荧光面积 (A), 计算各组斑马鱼眼底血管异常生长的抑制率及相对抑制率。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{模型}} - A_{\text{给药}}) / (A_{\text{模型}} - A_{\text{对照}})$$

$$\text{相对抑制率} = \text{绿茶有效组分抑制率} / \text{阳性药抑制率}$$

采用 SPSS 23.0 软件, 以 X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、

X_6 为自变量, 以斑马鱼眼底血管异常生长的相对抑制率为因变量 (Y), 进行多元线性回归分析, 确定绿茶有效组分的最佳配伍结构。

2.4.3 验证实验 选择 2 dpf 斑马鱼于 6 孔板中。设置对照组、模型组、阳性药 ($20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 七叶洋地黄双苷滴眼液^[8]) 组和绿茶有效组分最佳配伍组。除对照组外, 其余各组均按“2.3”项下方法造模, 阳性药组与最佳配伍组在造模同期给药, 给药干预后在荧光显微镜下拍照, 考察绿茶有效组分的最佳配伍结构对斑马鱼眼底血管异常生长的影响。

2.5 网络药理学

2.5.1 绿茶有效组分干预 AMD 的靶点筛选 在 Swiss target prediction 和 Pharmmapper 数据库中检索奎尼酸、EC、GC、EGC、GCG、EGCG 的靶点, 去重合并即得各成分的作用靶点。以“age-related macular degeneration”为关键词在 CTD、GeneCards 数据库中进行检索, 并以“relevance score”大于中位数, “inference score”大于中位数进行二次筛选, 去重整合, 获得 AMD 疾病靶点。将各成分的作用靶点与 AMD 疾病靶点取交集, 即为绿茶有效组分干预 AMD 的靶点。

2.5.2 蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络的构建及核心靶点的筛选 将筛选出的作用靶点导入 STRING 数据库, 种属选择“Homo sapiens”, 最小相互作用阈值设定为“highest confidence”, 并隐藏

游离的节点。运用 CytoScape 3.9.1 构建绿茶有效组分-AMD “活性成分-靶点”图及 PPI 网络图, 并利用内置 Network Analyzer 分析成分及作用靶点的网络拓扑参数, 并以节点度值 (degree) 为标准筛选核心靶点。

2.5.3 基因本体 (GO) 功能注释和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 信号通路富集分析 将筛选出的绿茶有效组分干预 AMD 的核心靶点在 DAVID 数据库中进行 GO 富集分析和 KEGG 信号通路分析, 预测关键作用通路及靶点。

2.5.4 分子对接 利用 PubChem 数据库下载各成分的 sdf 结构文件, 导入 ChemBio 3D 软件调整化合物的空间构象, 进行 minimize 能量优化, 保存为 mol2 格式。随后从 PDB 网站中下载关键作用靶点的 3D 结构, 应用 PyMOL 去除水分子和原始配体。最后利用 Maestro 软件对各成分与关键作用靶点进行对接。

2.6 qTR-PCR 实验验证

体式显微镜下切割“2.4.3”项实验结束后的斑马鱼眼睛, 并进行整体匀浆, 利用 RNA 提取试剂盒提取斑马鱼眼组织总 RNA, 利用 qPCR 仪将 RNA 逆转录成 cDNA, 进行 PCR 扩增, 扩增条件为: 95°C 预变性 10 min; 95°C 变性 10 s, 60°C 退火 10 s, 72°C 延伸 10 s, 40 个循环。引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 以 $\beta\text{-actin}$ 为内参基因, 引物序列见表 2。

表 2 引物序列

Table 2 Primer Sequence

基因	序列 (5'→3')	基因	序列 (5'→3')
$\beta\text{-actin}$	F: GAGCAGGAGATGGGAACCG R: CAGGAAGGAAGGCTGGAG	JUN	F: GTCAAGACCCTGAAGTCGCAA R: GGCTCTCCTCAGAAGGTTTGC
$TP53$	F: TAAGTGATGTGGTGCCTGCC R: GTCGCTTCTTCCTTCGTCCT	$EGFR$	F: CCGACAAGTGCCAGAGAATG R: ATGGGTCTGGGTCTTTACAC
TNF	F: ACCATTTACCTTGGAGCCGT R: CCCGAAGAATGTTTTGGCGT	$PI3K$	F: CAAATCCGAGGTGGAACGAG R: GTGCCATCTTTCCTGAGACCA
$IL-6$	F: GCACGGAAAGATGTCTAACGC R: AGTCGTTTGGTGCTGTGTTTG	Akt	F: GGAGGTCTGATGATGCGAA R: GGTCGTCTCTCGCTGTCAAA
$STAT3$	F: AGCAGCAAAGAGGGAGGAATC R: GGAAGTCACTGTCTGGATGGG	BAX	F: TACTTTGCCTGTCGCCTTGT R: AGCGAGGAAAACCTCCGACTG
$HIF1A$	F: CTCCCGAACCCCTGAAATCT R: ATGCCACTGTTGAGTATCGGT	$BCL-2$	F: GACTCTGTGTTCCACCCGTTT R: AAAGGCTCCGATGGTCACTC
MYC	F: CCTGCTGTCAAGAGGCTACGA R: CCTCAGAATCCGATGTGCGA	$VEGFA$	F: CCATCTGTCTGCTGTAAAGGC R: CGCCTCATCATTACAGCATCC
$CTNBN1$	F: TGCTCAAGGTGTTGTCAGTGT R: CTGGGGTCTGTGAGATGAAGG		

2.7 数据分析

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析, 用 GraphPad Prism7 进行统计结果图形分析, 两组间比较采用单因素 ANOVA 检验方法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 绿茶有效组分对斑马鱼存活率的影响

由图 1 可知, 当奎尼酸、EC、EGC 质量浓度高于 $200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, GC、GCG、EGCG 质量浓度高于 $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 斑马鱼开始出现死亡, 且随药物质量浓度升高死亡数量逐渐增加。因此奎尼

酸、EC、EGC 的 MTC 为 $200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, GC、GCG、EGCG 的 MTC 为 $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。为后续比较 S1~S11 对 AMD 斑马鱼的药效作用, 需先考察以各组合的 MTC、1/2 MTC、1/4 MTC、1/6 MTC、1/8 MTC 组合给药时对斑马鱼存活率的影响, 结果表明, 当 S1~S11 以 1/4 MTC 组合给药时, 斑马鱼开始出现死亡现象, 但死亡数量较少, 当高于此质量浓度时, 出现大量死亡。因此最终确定奎尼酸、EC、GC、EGC、GCG、EGCG 的最大给药质量浓度分别为 50 、 50 、 25 、 50 、 25 、 $25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 并以此质量浓度为上限进行均匀设计实验。

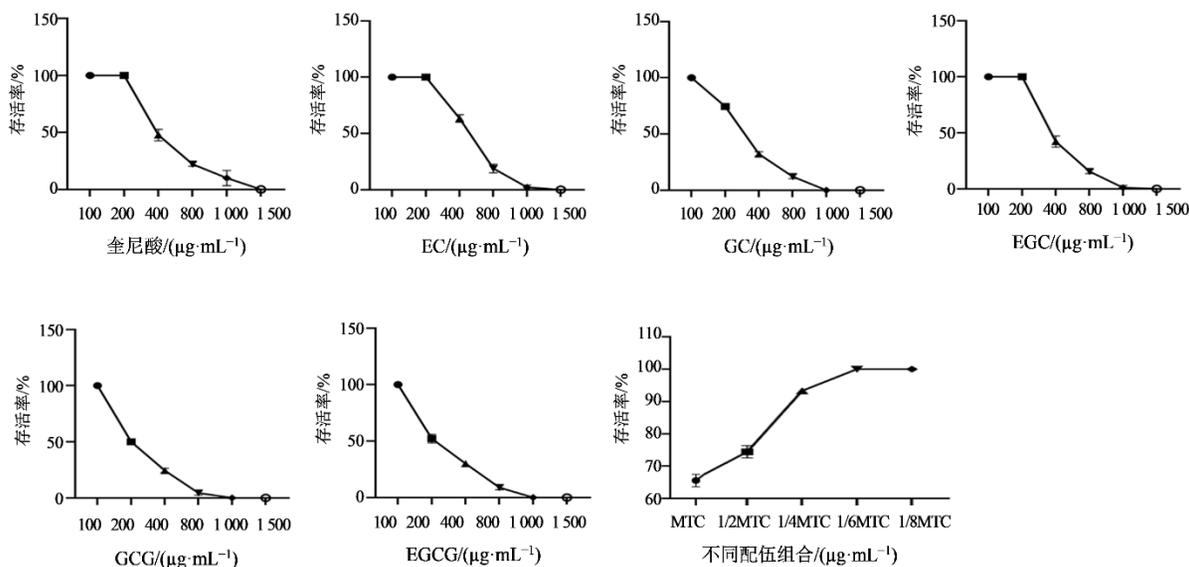


图 1 绿茶有效组分对斑马鱼存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=30$)

Fig. 1 Effect of effective components of green tea on zebrafish survival rate ($\bar{x} \pm s, n=30$)

3.2 最佳组分配伍结构考察结果

基于表 1 及“3.1”项确定的最大给药质量浓度, 共设计 11 个绿茶有效组分配伍组合, 开展干预 AMD 斑马鱼的药效实验, 因素、水平方案及结果见表 3。各组药效结果见图 2。与对照组相比, 模型组斑马鱼眼底血管荧光面积显著增大 ($P < 0.001$); 与模型组相比, 阳性药组及 S1~S11 斑马鱼眼底血管荧光面积显著减小 ($P < 0.001$), 且均逐渐趋近于对照组, 其中 S11 干预效果最差, 但相较于模型组仍然具有显著性差异 ($P < 0.001$), S7 组干预效果最为明显, 眼底血管异常生长的抑制率及相对抑制率最高, 为最优药效组, 此时有效组分配伍结构为 $X_1 : X_2 : X_3 : X_4 : X_5 : X_6 = 46 : 42 : 24 : 41 : 19 : 18$ 。

多元线性回归分析结果见表 4。分析显示, 所建立的多元线性回归方程为 $Y = 1.80634 - 0.0098$

$X_1 - 0.0036 X_2 + 0.00256 X_3 + 0.00048 X_4 - 0.0031 X_5 - 0.0112 X_6$, 其中 Y 代表相对抑制率。该方程的决定系数 $R^2 = 0.95487$, 表明模型对数据的拟合程度较高; 且 P 值为 0.04139 , 说明回归方程具有统计学意义。由于相对抑制率越大, 对应药效越佳, 因此通过求解该回归方程中 Y 的最大值, 可确定最佳组分配伍结构。最终经模型预测, 最佳组分配伍比例为 $X_1 : X_2 : X_3 : X_4 : X_5 : X_6 = 8 : 8 : 5 : 10 : 3 : 3$ 。

由图 3 可知, 与模型组相比, 最佳组分配伍结构组斑马鱼眼底血管荧光面积显著减小 ($P < 0.001$), 趋近阳性药组, 抑制率和相对抑制率为 94.23% 和 98.75% , 且与 S7 组相比药效更好。因此证实绿茶有效组分干预 AMD 的最佳配伍结构为 $X_1 : X_2 : X_3 : X_4 : X_5 : X_6 = 8 : 8 : 5 : 10 : 3 : 3$ 。

表 3 均匀设计因素水平、方案及结果 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Uniform design factors, levels, schemes and results ($\bar{x} \pm s, n=10$)

序号	$X_1/$ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	$X_2/$ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	$X_3/$ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	$X_4/$ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	$X_5/$ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	$X_6/$ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	抑制率/%	相对抑制率/%
1	40(1)	41(2)	17(3)	44(5)	21(7)	24(10)	89.38	93.67
2	41(2)	43(4)	20(6)	49(10)	17(3)	23(9)	84.26	88.30
3	42(3)	45(6)	23(9)	43(4)	24(10)	22(8)	83.34	87.33
4	43(4)	47(8)	15(1)	48(9)	20(6)	21(7)	81.08	84.97
5	44(5)	49(10)	18(4)	42(3)	16(2)	20(6)	83.64	87.65
6	45(6)	40(1)	21(7)	47(8)	23(9)	19(5)	89.28	93.56
7	46(7)	42(3)	24(10)	41(2)	19(5)	18(4)	93.10	97.57
8	47(8)	44(5)	16(2)	46(7)	15(1)	17(3)	88.94	93.20
9	48(9)	46(7)	19(5)	40(1)	22(8)	16(2)	77.50	81.21
10	49(10)	48(9)	22(8)	45(6)	18(4)	15(1)	92.35	96.78
11	50(11)	50(11)	25(11)	50(11)	25(11)	25(11)	54.45	57.06

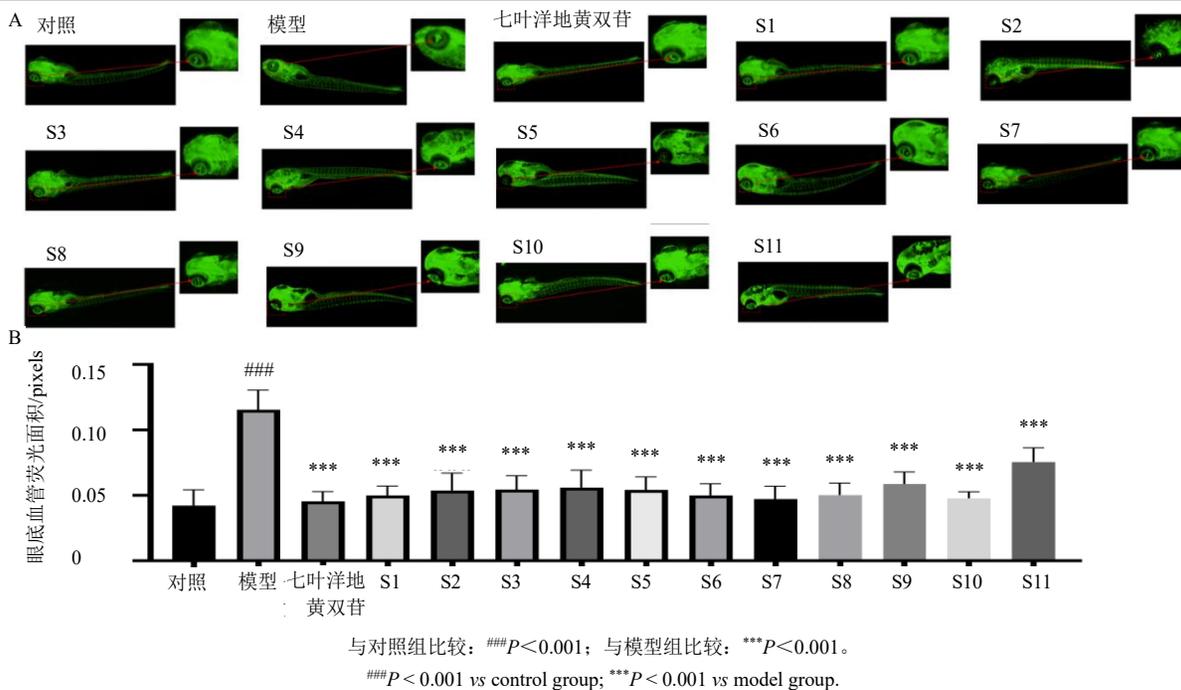


图 2 各组斑马鱼眼底血管荧光显微图 (A) 和斑马鱼的眼底血管荧光面积 (B) ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 2 Fluorescence microscopic images of fundus vasculature of zebrafish in each group (A) and fluorescence area of fundus vasculature of zebrafish (B) ($\bar{x} \pm s, n=10$)

表 4 多元线性回归分析

Table 4 Multivariate linear regression analysis table

模型	非标准化系数		标准化系数	
	B	标准误差	T 值	P 值
常量	1.806 3	0.155 8	11.593 0	0.000 3
X_1	-0.009 8	0.003 8	-2.559 0	0.062 7
X_2	-0.003 6	0.002 5	-1.471 9	0.215 0
X_3	0.002 6	0.002 5	1.039 5	0.357 3
X_4	0.000 5	0.002 5	0.194 6	0.855 2
X_5	-0.003 1	0.002 5	-1.254 9	0.277 8
X_6	-0.011 2	0.003 8	-2.925 7	0.043 0

3.3 网络药理学分析结果

3.3.1 潜在靶点筛选 通过检索数据库, 对奎尼酸、EC、GC、EGC、GCG、EGCG 进行作用靶点筛选, 整合去重后共获得 2 199 个潜在靶点。以“age-related macular degeneration”为关键词, 在数据库中检索疾病靶点, 整合去重后共筛选出 2 496 个作用靶点。利用 Venny 2.1 将药物靶点与疾病靶点取交集并绘制韦恩图, 共计得到 571 个共同靶点, 见图 4。

3.3.2 “活性成分-靶点”网络图及 PPI 网络图的构建 将 6 个绿茶有效组分靶点与 AMD 疾病交集靶

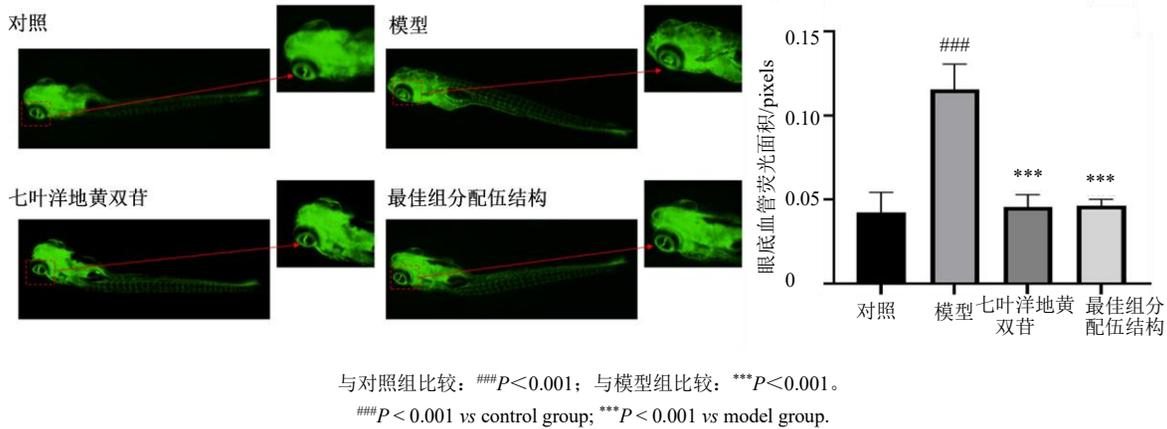


图 3 最佳组分配伍结构组验证结果 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 3 Verification results of optimal combination and compatibility structure group. ($\bar{x} \pm s, n=10$)

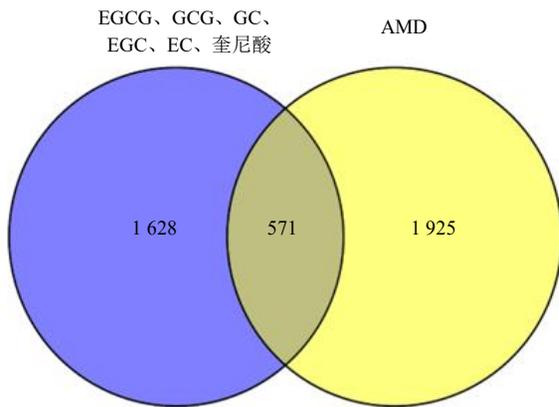


图 4 交集靶点韦恩图

Fig. 4 Venn diagram of intersecting targets

点联合构建“活性成分-作用靶点”网络，该网络共有 577 个节点，1318 条边（图 5）。成分与靶点之间连线越多则度值越大，表明成分与药效间的关联性越强，在 6 个组分中，度值由大到小依次为 EGCG、GCG、GC、EGC、EC、奎尼酸。

采用 String 数据库对绿茶有效组分干预 AMD 的 571 个靶点进行蛋白交互分析，并利用 Cytoscape 3.9.1 进行拓扑分析筛选核心靶点，构建核心靶点 PPI 网络图，见图 6。结果显示，该网络共涉及 84 个节点，2942 条边，平均度值为 70.048，根据节点度值排名筛选出 9 个并列第 1 位次（度值=83）的靶点，分别为肿瘤蛋白 53 (TP53)、肿瘤坏死因子受体 (TNF)、白细胞介素 6 受体 (IL6)、信号转导和转录激活因子 3 (STAT3)、缺氧诱导因子 1 α (HIF1A)、MYC 原癌基因 (MYC)、编码 β -连环蛋白 (CTNNB1)、JUN 原癌基因 (JUN)、表皮

生长因子受体 (EGFR)，预测其为绿茶有效组分干预 AMD 的核心靶点。

3.3.3 GO 和 KEGG 富集分析 将筛选出的绿茶有效组分干预 AMD 的核心靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析。通过 GO 功能富集分析，根据 P 值排序，分别筛选前 10 个分析条目，见图 7-A。在生物过程 (BP) 分类中，与 AMD 相关的条目主要涉及凋亡过程的负调控、缺氧反应、细胞增殖的正向调控、炎症反应和正调控血管生成；在细胞组成 (CC) 分类中，与 AMD 相关的条目主要涉及细胞外分泌体、大分子复合物、线粒体、RNA 聚合酶 II 转录因子复合物；在分子功能 (MF) 分类中，与 AMD 相关的条目主要涉及 RNA 聚合酶 II 转录因子活性、配体激活序列特异性 DNA 结合、生长因子活性、肽酶活性。

通过 KEGG 富集分析，在 $P<0.05$ 时，6 个绿茶有效组分共富集到 179 条信号通路，筛选出前 20 条通路并制成气泡图展示，见图 7-B。结果显示，排名前 3 的通路为癌症的发病途径、脂质与动脉粥样硬化、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路，可见 6 个组分也可能具有抗肿瘤和干预糖脂代谢紊乱的药效作用；在排名前 20 的信号通路中，PI3K-Akt 信号通路、TNF 信号通路、Apoptosis 和 HIF-1 缺氧信号通路与 AMD 疾病发生发展高度相关，通路中涉及的关键作用靶点为磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (Akt)、TNF、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因 (BCL-2)、BCL2 相关 X 蛋白 (BAX)、HIF1A 和血管内皮生长因子 α (VEGFA)，由此可见 6 个绿茶有效组分可能通过影响这些信号通路进程，调控关键靶点表达，发挥治疗 AMD 的作用。

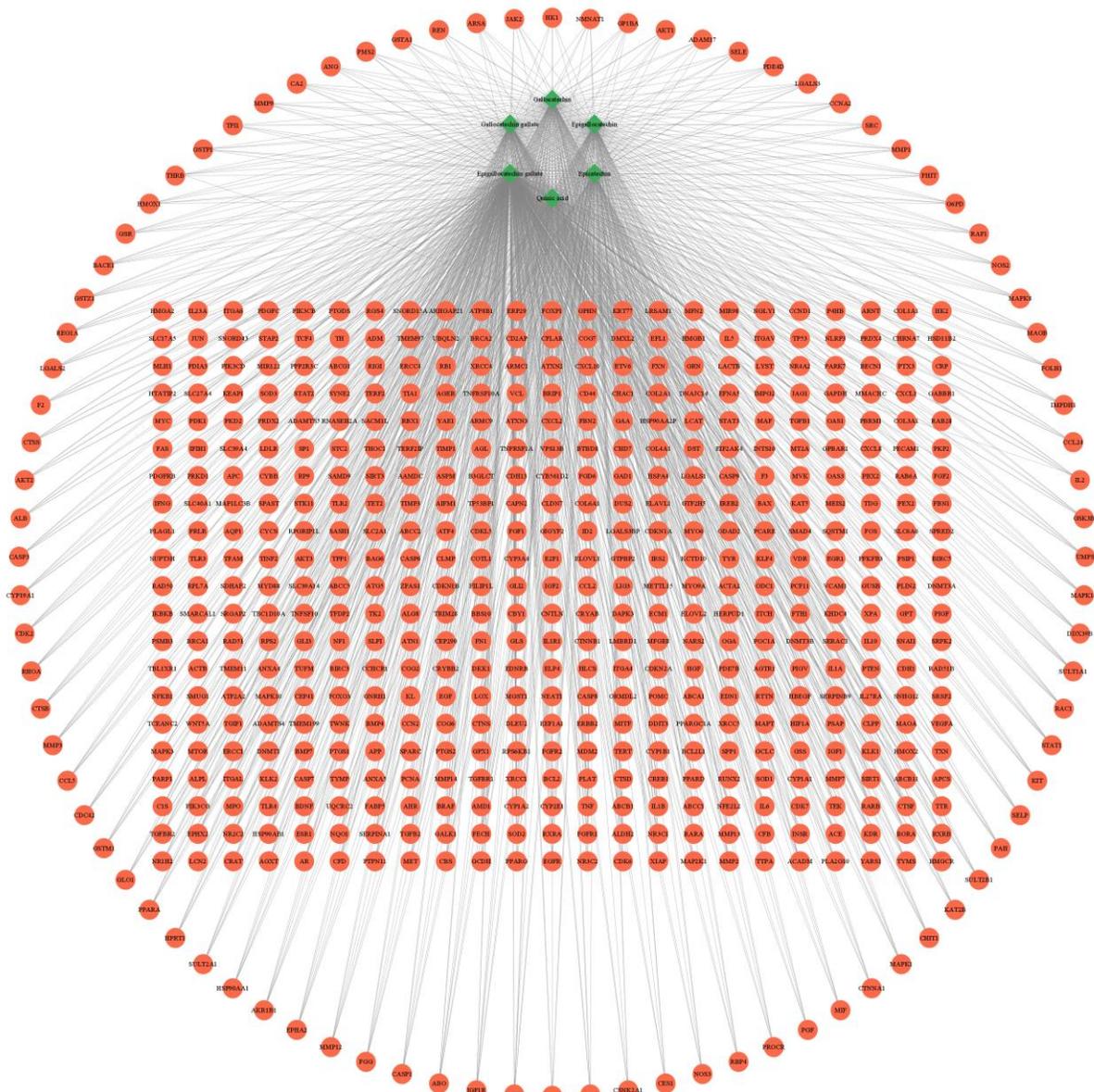


图 5 活性成分-靶点图

Fig. 5 Active ingredients-target diagram

3.3.4 分子对接验证 分子对接实验中，分子与靶点彼此结合能越低，配体和受体蛋白之间的结合就会越稳定，当结合能小于 $-20.92 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 时，两者具有较强的结合活性；当结合能小于 $-29.29 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 时，两者具有强烈的结合活性。将上述 PPI 网络中筛选出的核心靶点以及 KEGG 富集分析结果中筛选出的 PI3K-Akt、HIF-1、Apoptosis 关键信号通路中的核心靶点，整合去重后共计 14 个核心靶点与 EGCG、GCG、GC、EGC、EC、奎尼酸进行分子对接实验，具体对接结果及结合能信息见表 5。结果显示，6 个成分与 14 个靶点之间表现出较好的结合能力，且多数结合能小于 $-20.92 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ，表明成分与靶点

之间的对接活性较好。其中 GCG 与 CTNNB1、EGFR、HIF1A、STAT3、TNF、TP53、VEGFA 靶点的对接活性最好，EGCG 与 Akt、IL6、JUN、PI3K 靶点 BCL-2、BAX 靶点的对接活性最好。并且在 14 个靶点中，HIF1A、EGFR、IL6、VEGFA 靶点与 6 个成分之间的结合能均小于 $-20.92 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ，表明各成分与靶点间均存在较强的结合活性，可能通过调控这些靶点发挥干预 AMD 的药效作用。

3.4 绿茶有效组分最佳配伍结构对 AMD 斑马鱼眼组织关键靶点表达的影响

由图 8 可知，与对照组相比，最佳配伍结构组和模型组 CTNNB1、JUN、MYC 基因表达未出现显

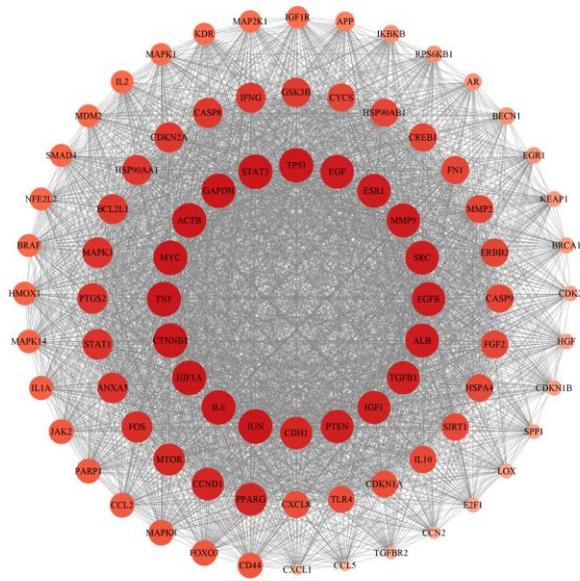


图 6 PPI 网络图

Fig. 6 PPI network diagram

著性差异, 模型组 *Akt*、*BCL-2*、*EGFR*、*PI3K*、*STAT3*、*TP53*、*TNF* 基因表达量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), *BAX*、*HIF1A*、*IL6*、*VEGFA* 基因表达量显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); 与模型组相比, 最佳配伍结构组 *Akt*、*BCL-2*、*EGFR*、*PI3K*、*STAT3*、*TP53*、*TNF* 基因相对表达量显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), *BAX*、*HIF1A*、*IL6*、*VEGFA* 基因相对表达量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。因此得出结论, 绿茶有效组分的最佳配伍结构可能通过调控斑马鱼眼组织 *Akt*、*BCL-2*、*EGFR*、*HIF1A*、*PI3K*、*STAT3*、*TP53*、*BAX*、*IL6*、*VEGFA* 和 *TNF* 基因的表达, 激活 PI3K-Akt、HIF-1、Apoptosis 等多个关键信号通路, 发挥干预 AMD 作用。

4 讨论

课题组前期研究显示, 奎尼酸、EC、GC、EGC、GCG、EGCG 是绿茶干预治疗 AMD 的关键有效组

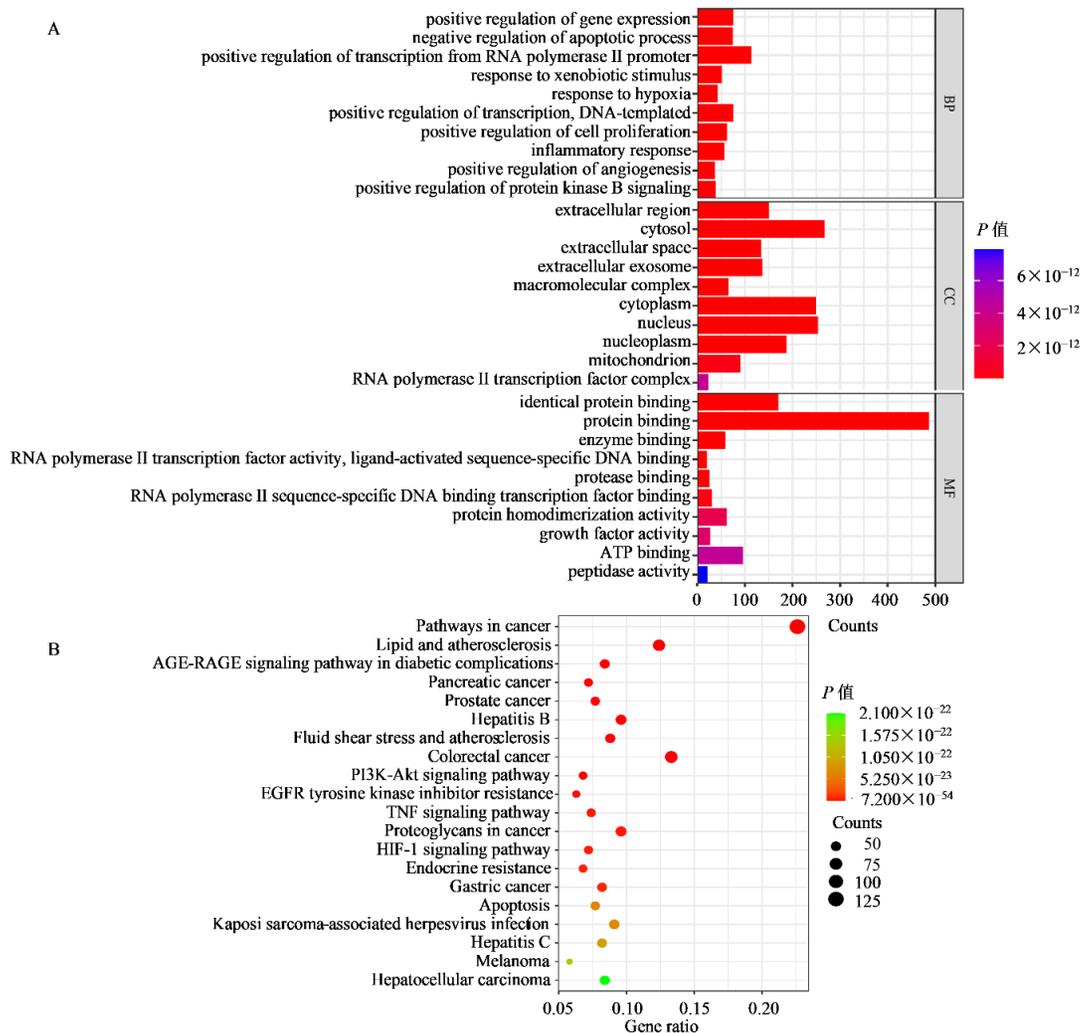


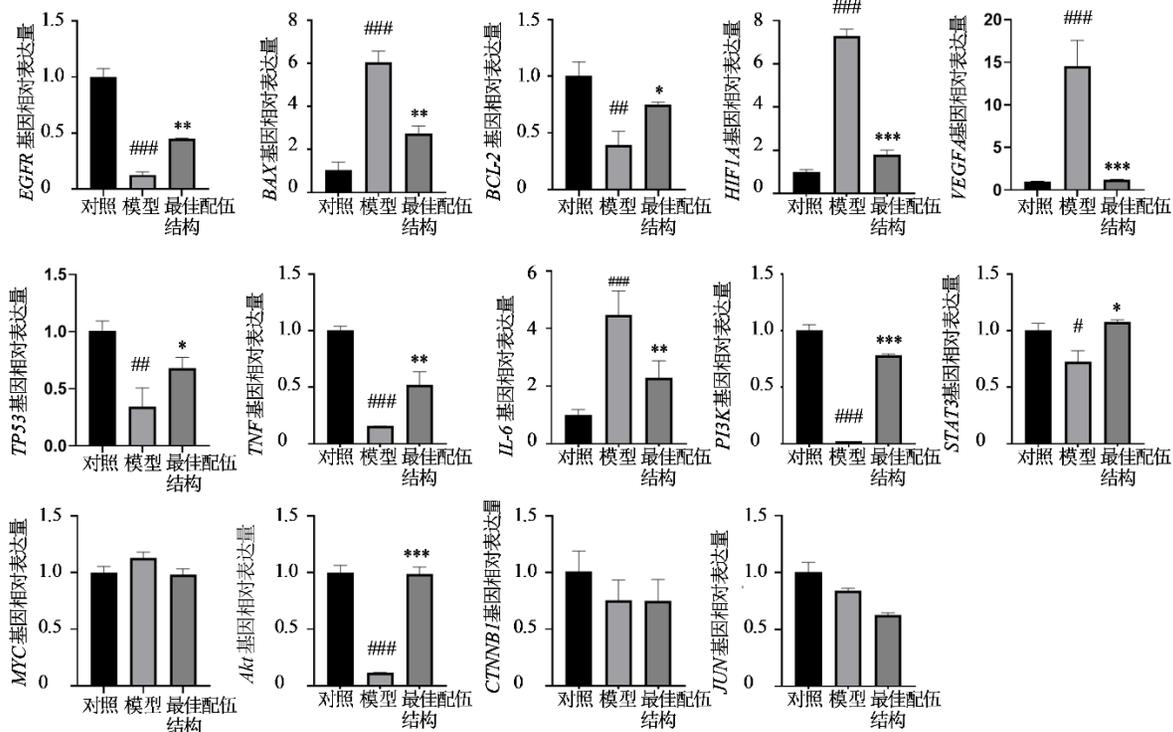
图 7 GO (A) 及 KEGG (B) 富集分析结果

Fig. 7 Results of GO (A) and KEGG enrichment analysis (B)

表 5 绿茶有效组分与核心靶点间的结合能

Table 5 Binding energy between effective components of green tea and core targets

核心靶点	结合能/(kJ·mol ⁻¹)					
	奎尼酸	EC	GC	EGC	GCG	EGCG
Akt	-21.60	-15.95	-14.54	-17.67	-18.80	-24.67
BAX	—	-24.41	-13.34	-29.46	-20.11	-27.24
BCL-2	-17.85	-12.15	-24.81	-17.34	-22.07	-15.14
CTNNB1	-15.82	-17.21	-17.10	-17.54	-25.02	-20.63
EGFR	-23.51	-23.26	-21.90	-24.05	-25.43	-22.61
HIF1A	-22.93	-25.29	-24.36	-27.51	-37.85	-35.60
IL6	-26.55	-26.26	-29.05	-29.46	-30.31	-31.04
JUN	-22.12	-17.56	—	-19.65	-25.61	-26.74
MYC	-21.41	-18.01	-16.77	-13.09	-15.25	-16.27
PI3K	-13.22	-23.83	-17.29	-18.16	-24.89	-27.90
STAT3	—	-20.38	-25.78	-27.92	-28.44	-22.71
TNF	-21.00	-16.02	-24.43	-21.02	-25.61	-19.87
TP53	-22.97	-18.55	-21.29	-19.36	-30.90	-16.06
VEGFA	-22.28	-21.61	-23.20	-26.26	-28.89	-28.18



与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。
$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 8 斑马鱼眼组织关键靶点 mRNA 的表达情况 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Fig. 8 Expression levels of key target mRNA in zebrafish eye tissue ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分。为进一步对成分间的协同作用和配伍结构进行研究,本研究首先应用均匀设计试验法与 AMD 斑马鱼模型相结合筛选绿茶有效组分之间的最佳配伍结构,随后利用网络药理学及分子对接探究绿茶

有效组分按最佳配伍结构进行组合后干预治疗 AMD 的作用机制。

本研究以组分结构理论为指导,首次采用均匀设计试验法对绿茶中发挥干预治疗 AMD 药效的 6

个主要有效组分最佳配伍结构进行研究。相比于正交设计法,均匀设计法在条件范围变化大,并且需要进行多水平实验的情况下,无需进行大量重复实验即可达到正交设计的实验效果^[14]。因此在进行组分配伍结构研究时,均匀设计试验法更易达到研究目的。王蒙等^[15]利用均匀设计法对肾衰II号方中筛选出的有效组分进行配伍结构研究,结果显示淫羊藿苷和迷迭香酸按照 9.6:1.0 进行配伍时药效最佳。康点点等^[16]为探究独一味抗炎有效成分的协同作用与配伍结构,运用均匀设计法进行实验,结果发现独一味环烯醚萜苷类组分中山栀子苷甲酯和 8-O-乙酰山栀子苷甲酯的最佳配伍结构比例为 1.21:1.00。本研究基于组分结构理论,运用均匀设计法结合 AMD 斑马鱼模型,创新性发现以奎尼酸:EC:GC:EGC:GCG:EGCG=8:8:5:10:3:3 进行配伍时,能够有效抑制氯化钴导致的斑马鱼眼底血管异常生长。在前期报道中,除了有关于 EGCG 对视网膜内的细胞增殖、凋亡及氧化应激损伤具有保护作用,其余成分均未有直接证据表明其药效^[17-18]。本研究证实绿茶的关键有效组分奎尼酸、EC、GC、EGC、GCG、EGCG 存在最佳组分配伍结构,能够协同增效,充分发挥干预治疗 AMD 的药效活性。

网络药理学的系统性和整体性特点,与中医药整体观高度契合,故将网络药理学用于研究中药成分间的相互作用,对阐释中药的整体性具有重要意义^[19]。本研究利用网络药理学,挖掘绿茶有效组分(奎尼酸、EC、GC、EGC、GCG、EGCG)干预治疗 AMD 的作用机制。结果显示,6 种成分可能通过激活 PI3K-Akt 信号通路、TNF 信号通路、Apoptosis 和 HIF-1 缺氧信号通路发挥干预 AMD 的药效作用。其中,PI3K-Akt 信号通路与细胞内增殖、凋亡、自噬等多种生理功能密切相关,近年研究发现,其还参与了多种新生血管性眼病的发生发展^[20]。该通路在眼部血管生成中的主要作用机制为:活化的 Akt 可磷酸化内皮型一氧化氮合酶(eNOS)使其激活,生成的一氧化氮不仅能刺激血管舒张、重塑和生成,还可上调缺氧诱导因子(HIF-1 α),促进血管内皮生长因子(VEGF)及其他血管生成因子的表达和分泌,进而推动血管生成^[21]。值得注意的是,HIF-1 α 和 VEGF 同样也是 HIF-1 缺氧信号通路中的关键靶点。本研究中 AMD 斑马鱼的构建,正是通过氯化钴诱导斑马鱼眼部缺氧,诱导眼底血管异

常生成;而网络药理学分析也推测,绿茶有效组分可能通过作用于 PI3K-Akt 和 HIF-1 缺氧信号通路,干预 AMD 的发生发展。最终 qRT-PCR 结果证实,采用最佳配伍结构的绿茶有效组分干预后,AMD 斑马鱼眼部 *Akt*、*HIF1A*、*PI3K*、*VEGFA* 基因的表达相较于模型组均出现显著变化,初步证实绿茶有效组分的最佳配伍结构可能通过激活 PI3K-Akt 和 HIF-1 缺氧信号通路,调控上述基因的表达,从而抑制氯化钴诱导的斑马鱼眼底血管异常生成。此外,TNF 信号通路、Apoptosis 信号通路与炎症反应和细胞凋亡密切相关。研究证实,当视网膜内出现细胞凋亡及炎症反应时,这两条通路会被激活,通路中的 *TNF*、*BAX*、*BCL-2*、*TP53* 等基因表达也会出现异常^[22-26]。本研究中,模型组斑马鱼眼部 *TNF*、*BAX*、*BCL-2*、*TP53* 基因的表达与对照组相比均存在显著性差异;而经绿茶有效组分最佳配伍结构干预治疗后,富集于 Apoptosis 和 TNF 信号通路中的上述基因表达均出现明显回调,且与模型组相比具有显著性差异。这表明 AMD 斑马鱼眼内的 Apoptosis 和 TNF 通路被充分激活,从而抑制了细胞凋亡和炎症反应,实现了对 AMD 发生发展的有效干预。

综上所述,本研究以组分结构理论为核心,运用均匀设计试验法与 AMD 斑马鱼动物模型结合,发现绿茶 6 个有效组分间的配伍结构对药效具有较大影响,当配伍结构为奎尼酸:EC:GC:EGC:GCG:EGCG=8:8:5:10:3:3 时,能够发挥最佳干预治疗 AMD 的药效作用。并且通过网络药理学、分子对接及 qRT-PCR 技术初步证明绿茶有效组分按最佳配伍结构干预后,能够调控 PI3K、Akt、TP53、HIF1A、VEGF 等关键靶点的表达,激活 PI3K-Akt 信号通路、HIF-1 缺氧信号通路、Apoptosis 和 TNF 信号通路,最终发挥干预治疗 AMD 作用。本研究将“精准药物”与“配伍结构”相结合,为中药组分配伍规律及增效减毒研究提供思路,为绿茶干预 AMD 的组分新药研发奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 奚茜. 茶性、茶效与茶用的文献研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- Xi X. Literature research on drug properties, pharmacological and applications of tea [D]. Beijing:

- Beijing University of Chinese Medicine, 2017.
- [2] Zhao T T, Li C, Wang S, et al. Green tea (*Camellia sinensis*): A review of its phytochemistry, pharmacology, and toxicology [J]. *Molecules*, 2022, 27(12): 3909.
- [3] Rashidi B, Malekzadeh M, Goodarzi M, et al. Green tea and its anti-angiogenesis effects [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 949-956.
- [4] Wang L, Sun X D, Zhu M H, et al. Epigallocatechin-3-gallate stimulates autophagy and reduces apoptosis levels in retinal müller cells under high-glucose conditions [J]. *Exp Cell Res*, 2019, 380(2): 149-158.
- [5] Detaram H D, Liew G, Lewis J R, et al. Dietary flavonoids are associated with longitudinal treatment outcomes in neovascular age-related macular degeneration [J]. *Eur J Nutr*, 2021, 60(8): 4243-4250.
- [6] Lee H S, Jun J H, Jung E H, et al. Epigallocatechin-3-gallate inhibits ocular neovascularization and vascular permeability in human retinal pigment epithelial and human retinal microvascular endothelial cells via suppression of MMP-9 and VEGF activation [J]. *Molecules*, 2014, 19(8): 12150-12172.
- [7] Wang Y F, Xu H Y, Gao Y, et al. Integrated analysis of transcriptomics and metabolomics reveals the mechanisms underlying green tea intervention in age-related macular degeneration [J]. *J Funct Foods*, 2024, 122: 106493.
- [8] 王逸飞, 徐海洋, 高燕, 等. 基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 的绿茶提取物干预湿性年龄相关性黄斑变性的谱-效相关药效物质基础解析 [J]. *眼科新进展*, 2025, 45(7): 518-525.
- Wang Y F, Xu H Y, Gao Y, et al. Analysis of the spectrum-efficacy correlation and pharmacodynamic material basis of green tea extract intervention in experimental age-related macular degeneration based on UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS [J]. *Recent Adv Ophthalmol*, 2025, 45(7): 518-525.
- [9] Guymer R H, Campbell T G. Age-related macular degeneration [J]. *Lancet*, 2023, 401(10386): 1459-1472.
- [10] 晏鑫, 李凌, 关瑞娟. 年龄相关性黄斑变性中西医治疗新进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(17): 4379-4383.
- Yan X, Li L, Guan R J. New progress in treatment of age-related macular degeneration with traditional Chinese and western medicine [J]. *Chin J Gerontol*, 2022, 42(17): 4379-4383.
- [11] 金明, 陈有信. 中成药治疗年龄相关性黄斑变性 (湿性) 临床应用指南 (2020 年) [J]. *中国中西医结合杂志*, 2021, 41(2): 151-156.
- Jin M, Chen Y Y. Clinical application guidelines on Chinese patent medicine in the treatment for age-related macular degeneration (wet) (2020) [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2021, 41(2): 151-156.
- [12] 张伯礼, 王永炎. 方剂关键科学问题的基础研究: 以组分配伍研制现代中药 [J]. *中国天然药物*, 2005, 3(5): 258-261.
- Zhang B L, Wang Y Y. The fundamental study on critical scientific problem of prescriptions [J]. *Chin J Nat Med*, 2005, 3(5): 258-261.
- [13] 贾晓斌, 陈彦, 李霞, 等. 中药复方物质基础研究新思路和方法 [J]. *中华中医药杂志*, 2008, 23(5): 420-425.
- Jia X B, Chen Y, Li X, et al. New thoughts and methods of studying material base of traditional Chinese herbal formula [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2008, 23(5): 420-425.
- [14] 王玉珊, 林德贵, 林珈好. 中药组方优化试验设计方法概述 [J]. *畜牧兽医学报*, 2021, 52(3): 565-575.
- Wang Y S, Lin D G, Lin J H. Summary of experimental design methods for optimization of complex prescription of Chinese medicine [J]. *Acta Vet Zootechnica Sin*, 2021, 52(3): 565-575.
- [15] 王蒙, 王凌晨, 王琛. 基于均匀设计的中药有效单体“IR”方筛选及其对慢性肾衰竭大鼠肾纤维化的作用 [J]. *中华中医药学刊*, 2024, 42(2): 63-68, 273-274.
- Wang M, Wang L C, Wang C. Screening effective herbal monomer “IR” formula based on uniform design and its effect on renal fibrosis in rats with chronic renal failure [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2024, 42(2): 63-68, 273-274.
- [16] 康点点, 张蓉蓉, 詹琥珀, 等. 基于网络药理学和组分结构理论探讨独一味抗炎有效成分的协同作用与配伍结构 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(13): 3505-3514.
- Kang D D, Zhang R R, Zhan H P, et al. Synergistic effect and compatibility structure of active anti-inflammatory ingredients from *Lamiophlomis rotata* based on network pharmacology and component structure theory [J]. *China J Chin Mater Med*, 2024, 49(13): 3505-3514.
- [17] Li S, Su D, Hu S, et al. Epigallocatechin gallate ameliorates retinal pigment epithelial cell damage via the CYFIP2/Akt pathway [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2025, 495(1): 117124.
- [18] Thichanpiang P, Wongprasert K. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate attenuates TNF- α -induced intercellular adhesion molecule-1 expression and monocyte adhesion to retinal pigment epithelial cells [J]. *Am J Chin Med*, 2015, 43(1): 103-119.
- [19] Zhao L, Zhang H, Li N, et al. Network pharmacology, a promising approach to reveal the pharmacology mechanism of Chinese medicine formula [J]. *J*

- Ethnopharmacol, 2023, 309: 116306.
- [20] 李晓萌, 于颖欣, 胡贵丽, 等. PI3K/Akt 信号通路在眼科疾病发生发展过程中的调控作用研究进展 [J]. 眼科新进展, 2021, 41(6): 588-592.
- Li X M, Yu Y X, Hu G L, et al. Research advance in the regulatory role of PI3K/Akt signaling pathway in the occurrence and development of eye diseases [J]. Recent Adv Ophthalmol, 2021, 41(6): 588-592.
- [21] Karar J, Maity A. PI3K/Akt/mTOR pathway in angiogenesis [J]. Front Mol Neurosci, 2011, 4: 51.
- [22] 石楠楠, 曹明芳, 李婧, 等. GEO 芯片联合网络药理学和分子对接探讨归芍地黄汤治疗新生血管性年龄相关性黄斑变性的作用机制及实验验证 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(6): 1321-1334.
- Shi N N, Cao M F, Li J, et al. Mechanism and verification of Guishao Dihuang Decoction in treatment of neovascular age related macular degeneration by GEO gene microarray combined with network pharmacology and molecular docking technology [J]. Drugs Clin, 2023, 38(6): 1321-1334.
- [23] 庄淼, 姚勇. 肿瘤坏死因子基因多态性与糖尿病视网膜病变关系的研究进展 [J]. 眼科新进展, 2014, 34(10): 993-996.
- Zhuang M, Yao Y. Recent advances in polymorphisms of TNF associated with diabetic retinopathy [J]. Recent Adv Ophthalmol, 2014, 34(10): 993-996.
- [24] 冯海童, 祁玉麟, 冯雅雯, 等. 基于网络药理学、分子对接及实验验证探讨滋肾健脾化痰片对糖尿病视网膜病变的干预机制 [J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(8): 1197-1205.
- Feng H T, Qi Y L, Feng Y W, et al. Exploring the intervention mechanism of Zishen Jianpi Huayu Tablets on diabetic retinopathy based on network pharmacology, molecular docking and experimental validation [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2024, 35(8): 1197-1205.
- [25] 高彩玲, 朱玲玲, 邱洁, 等. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨白芷颗粒对糖尿病视网膜病变的影响 [J]. 中草药, 2024, 55(11): 3749-3758.
- Gao C L, Zhu L L, Qiu J, et al. Effect of *Angelica dahurica* granules on diabetic retinopathy based on PI3K/Akt signaling pathway [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(11): 3749-3758.
- [26] 彭俊, 王英, 蒋鹏飞, 等. 枸杞丹参对 RCS 大鼠视网膜组织中 Bcl-2、Bid 表达的影响 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2020, 22(4): 1166-1175.
- Peng J, Wang Y, Jiang P F, et al. Effect of Radix salviae Miltiorrhizae on expression of Bcl-2 and Bid in retina of RCS rats [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2020, 22(4): 1166-1175.

[责任编辑 孙英杰]