

基于网络药理学的淫羊藿抗疲劳作用机制研究

罗则华, 杜倩, 奚鑫, 孙梅, 宋义, 刘松青*

重庆医科大学附属第三医院, 重庆 401120

摘要:目的 利用网络药理学的方法研究淫羊藿抗疲劳的作用机制。方法 利用中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)获取淫羊藿的活性成分及活性成分的作用靶点;在 GeneCards 数据库中检索与疲劳相关的靶点;由 Cytoscape 3.6.1 构建活性成分-疾病-靶点网络;String 数据库构建靶点蛋白互作网络;DAVID 数据库对靶点基因进行基因本体(GO)富集分析及京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。**结果** 从淫羊藿中筛选得到 9 种具有抗疲劳作用的活性成分:金圣草(黄酮)、山柰酚、脱水淫羊藿素、C-homoerythrinan,1,6-didehydro-3,15,16-trimethoxy-(3.beta.)-, 8-(3-methylbut-2-enyl)-2-phenyl-chromone、木犀草素、广玉兰内酯、槲皮素、8-isopentenyl-kaempferol, 作用于 PPARG、GABRA1、CASP3、ICAM1 等 31 个疲劳靶点,生物功能与通路富集分析表明,淫羊藿主要涉及细胞的缺氧反应、凋亡过程的调控、一氧化氮生物合成过程的正向调节、细胞对过氧化氢的反应、血糖稳态、细胞对高氧的反应、脂质贮存负调节等生物过程,通过调节 PI3K-Akt、P53、HIF-1、TNF、FoxO、ErbB、MAPK 等信号通路来发挥抗疲劳作用。**结论** 研究结果体现了淫羊藿抗疲劳多成分、多靶点、多途径的作用特点,为淫羊藿抗疲劳的进一步研究提供参考。

关键词:淫羊藿;抗疲劳;网络药理学;作用机制;TCMSP;GO 富集分析;KEGG 通路分析;金圣草(黄酮);山柰酚;脱水淫羊藿素;C-homoerythrinan,1,6-didehydro-3,15,16-trimethoxy-(3.beta.)-; 8-(3-methylbut-2-enyl)-2-phenyl-chromone;木犀草素;广玉兰内酯;槲皮素;8-isopentenyl-kaempferol

中图分类号:R285.5 文献标志码:A 文章编号:0253-2670(2020)11-2997-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.11.018

Mechanism of anti-fatigue of *Epimedii Folium* based on network pharmacology

LUO Ze-hua, DU Qian, XI Xin, SUN Mei, SONG Yi, LIU Song-qing

The Third Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401120, China

Abstract: Objective To study the anti-fatigue mechanism of *Epimedii Folium* by network pharmacology. **Methods** The main active ingredients of *Epimedii Folium* and the targets of active ingredients were obtained by TCMSP. The GeneCards was used to predict and screen the anti-fatigue targets. The Cytoscape 3.6.1 software was used to construct the active ingredient-disease-target network. The protein interactions network was constructed using the String database. The GO enrichment and KEGG pathways of the targets were analyzed by using DAVID database. **Results** Nine active ingredients were screened from *Epimedii Folium*, including chrysoeriol, kaempferol, anhydroicaritin, C-homoerythrinan,1,6-didehydro-3,15,16-trimethoxy-(3.beta.)-, 8-(3-methylbut-2-enyl)-2-phenyl-chromone, luteolin, magnograndiolide, quercetin, 8-isopentenyl-kaempferol, which acted on 31 fatigue targets such as PPARG, GABRA1, CASP3, ICAM1, etc. Biological function analysis showed that the targets of *Epimedii Folium* included cellular response to hypoxia, regulation of apoptotic, positive regulation of nitric oxide biosynthetic, cellular response to hydrogen peroxide, cellular response to hyperoxia, and negative regulation of lipid storage. Signaling pathway analysis showed that *Epimedii Folium* exerted the anti-fatigue effect by regulating PI3K-Akt, P53, HIF-1, TNF, FoxO, ErbB, MAPK, and other pathways. **Conclusion** This study reflects the characteristics of multi-component, multi-target, and multi-pathway of *Epimedii Folium*, which provides reference for further research on the mechanism of anti-fatigue effects of *Epimedii Folium*.

Key words: *Epimedii Folium*; anti-fatigue; network pharmacology; mechanism; TCMSP; GO enrichment analysis; KEGG pathway enrichment analysis; chrysoeriol; kaempferol; anhydroicaritin; C-homoerythrinan,1,6-didehydro-3,15,16-trimethoxy-(3.beta.)-; 8-(3-methylbut-2-enyl)-2-phenyl-chromone; luteolin; magnograndiolide; quercetin; 8-isopentenyl-kaempferol

收稿日期: 2019-10-19

作者简介: 罗则华, 主管药师, 硕士生, 研究方向为中药药理。Tel: 13224000068 E-mail: lzh@stu.cqmu.edu.cn

*通信作者 刘松青, 主任药师, 博士生导师。Tel: (023)60353035 E-mail: liusq@hospital.cqmu.edu.cn

随着现代生活节奏的加快, 很多人处于亚健康状态, 生理或心理往往会出现一系列疲劳症状。调查发现, 约 50% 以上的人会感到疲劳, 其中超过 30% 的人明确认为受到疲劳的影响, 严重降低生活质量和工作效率, 作为影响人类身心健康和生活质量的重要因素, 疲劳正日益受到人们的广泛关注, 然而由于疲劳这一概念的复杂性, 经过了一个多世纪的探索, 人们对其机制仍然了解甚少^[1-2]。目前, 临床上常用的抗疲劳药物有咖啡因、哌甲酯、莫达非尼等, 其主要通过兴奋大脑皮层发挥抗疲劳作用, 作用靶点单一且多具有成瘾性, 副作用较大^[3]。因此, 研发新型抗疲劳药物成为一个热点。我国传统的中药具有多作用靶点, 低副作用的特点, 逐渐成为当今研究新型抗疲劳药物的重要方向。

淫羊藿, 又名仙灵脾, 味甘、辛, 性温, 归肾、肝经, 《玉楸药解》注其功效: “荣筋强骨, 起痿壮阳, 温补肝肾, 滋益精血, 治阴绝不生, 阳痿不举。消瘰疬, 起瘫痪, 益志宁神, 清风明目”^[4-6]。现代药理对淫羊藿的研究颇多^[7-10], 研究表明, 淫羊藿可以通过调节大鼠体内的下丘脑-垂体-肾上腺轴 (HPA 轴) 功能异常以及精氨酸、脯氨酸代谢, 进而缓解疲劳^[11]; 并且可与其他中药配伍共同治疗疲劳。可见其在抗疲劳方面具有较好的临床应用前景, 但其作用成分及具体机制尚不完全清楚, 需要进一步研究。

网络药理学是一门新兴的药理学分支学科, 通过利用现代的信息手段对药物的大数据进行挖掘、分析和整理, 再结合相关疾病数据汇总分析, 从而构建药物作用于疾病的靶点及机制网络, 具有整体性、系统性的特点, 因此, 特别适合于中药这种具有多组分、多靶点的药物作用机制研究^[12-14]。本研究拟通过网络药理学研究方法, 探究淫羊藿抗疲劳的潜在作用机制, 并筛选出淫羊藿的活性成分及其作用靶点, 以期对淫羊藿抗疲劳药理作用机制的进一步研究提供新的思路和理论基础。

1 方法

1.1 淫羊藿活性成分的筛选

利用中药系统药理数据库 (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP; <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 检索淫羊藿的活性成分, 依据 TCMSP 的推荐, 本研究按照口服生物利用度 (OB) > 30%, 类药性 (DL) > 0.18 为筛选条件, 对淫羊藿的活性

成分作进一步筛选。

1.2 淫羊藿活性成分靶点的筛选

以“1.1”项下得到的 23 种主要活性成分的 MOL ID 为筛选条件, 利用 TCMSP 的相关靶点的检索功能 (Related Targets), 依次得到 23 种主要活性成分对应的潜在作用靶点, 应用 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>), 输入靶点名称, 限定物种为“人”, 检索得到靶点名称对应的 Gene Symbol, 用作后续研究。

1.3 抗疲劳靶点的筛选

以“fatigue”“anti-fatigue”为关键词, 在 Gene Cards (<https://www.genecards.org/>) 数据库中检索已报道的与疲劳相关的基因, 去除重复基因, 即可得到与疲劳相关的靶基因。

1.4 活性成分-疾病-靶点网络构建

应用 R 语言 (R version 3.6.0) 将淫羊藿活性成分靶点和与疲劳相关的作用靶点取交集, 得到淫羊藿抗疲劳的潜在作用靶点, 做韦恩图。由 Cytoscape 3.6.1 构建活性成分-疾病-靶点网络图。

1.5 蛋白相互作用网络构建

将淫羊藿的蛋白靶点导入 String 数据库 (<https://string-db.org/>, Version 11.0), String 数据库中蛋白质交互作用可信度分为 3 个等级, 交互作用评分大于 0.7 为高可信度, 0.4~0.7 为中等可信度, 0.15~0.4 为低可信度^[15]。本研究选择交互作用大于 0.4 的靶点, 并隐藏游离的节点, 构建淫羊藿抗疲劳靶点的蛋白互作网络。下载 PNG 和 TSV 格式文件。以 TSV 文件为输入文件, 采用 R 语言计算蛋白互作网络中每个蛋白的连接节点数量, 输出可视化柱状图, 用以确定蛋白互作网络中的核心基因。

1.6 生物功能与通路富集分析

将淫羊藿的作用靶点输入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>, Version 6.8), 对淫羊藿作用靶点进行基因本体 (GO) 分析以及京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析, 保存结果。设定阈值 $P < 0.05$, 筛选排名靠前的生物过程或通路, 采用 R 语言绘制可视化图形。

2 结果

2.1 淫羊藿的活性成分及其作用靶点

从 TCMSP 中按 OB > 30%、DL > 0.18 共筛选得到活性成分 23 种, 对应靶点 106 个, 经 GeneCards 检索, 取相关性得分大于 5 的与疲劳相关的靶点 710 个。应用 R 语言将淫羊藿活性成分靶点和与疲劳相

关的作用靶点取交集，韦恩图见图 1，共得到潜在作用靶点 31 个，见表 1，对应活性成分 9 个，分别为金圣草（黄）素（chrysoeriol）、山柰酚（kaempferol）、脱水淫羊藿素（anhydroicaritin）、C-homoerythrinan,1,6-didehydro-3,15,16-trimethoxy-, (3.beta.)-、8-(3-methylbut-2-enyl)-2-phenyl-chromone、木犀草素（luteolin）、广玉兰内酯（magnograndiolide）、槲皮素（quercetin）、8-isopentenyl-kaempferol，见表 2。

2.2 活性成分-疾病-靶点网络构建

使用 Cytoscape 构建活性成分-疾病-靶点网络图，如图 2 所示，共有 42 个节点，99 条边，体现

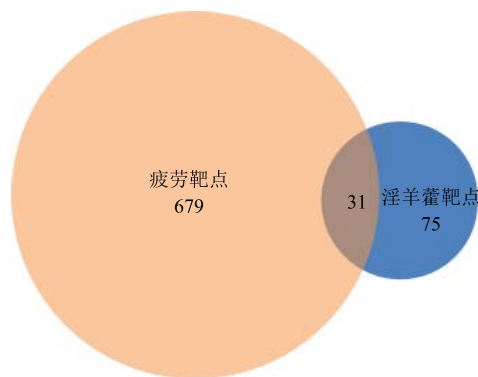


图 1 淫羊藿活性成分-抗疲劳靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of active ingredient-antifatigue target of *Epimedium Folium*

表 1 淫羊藿抗疲劳作用的关键靶点

Table 1 Key targets for *Epimedium Folium* in antifatigue

序号	基因符号	基因卡编码	相关性得分	序号	基因符号	基因卡编码	相关性得分	序号	基因符号	基因卡编码	相关性得分
1	IL6	GC07P022765	38.71	12	CASP3	GC04M184627	8.96	22	HTR3A	GC11P113974	6.58
2	CCND1	GC11P069641	19.39	13	PON1	GC07M095297	8.92	23	NFE2L2	GC02M177227	6.08
3	BCL2	GC18M063123	15.62	14	GABRA1	GC05P161847	7.69	24	MAPK8	GC10P048306	5.92
4	CRP	GC01M159682	14.78	15	DRD2	GC11M113314	7.50	25	IGF2	GC11M002130	5.79
5	EGFR	GC07P055019	14.24	16	ICAM1	GC19P010270	7.49	26	HIF1A	GC14P061695	5.73
6	PPARG	GC03P012328	13.72	17	RB1	GC13P048303	7.43	27	CASP9	GC01M015565	5.68
7	MYC	GC08P127735	13.58	18	IGFBP3	GC07M045912	6.86	28	CAV1	GC07P116524	5.06
8	CASP8	GC02P201233	12.15	19	IRF1	GC05M132481	6.79	29	BIRC5	GC17P078214	5.04
9	ERBB2	GC17P039687	11.37	20	SELE	GC01M169722	6.76	30	GSTM1	GC01P109687	5.04
10	VEGFA	GC06P043770	10.68	21	MCL1	GC01M150596	6.64	31	MDM2	GC12P068808	5.04
11	RAF1	GC03M012583	10.04								

表 2 淫羊藿关键化合物

Table 2 Key compounds in *Epimedium Folium*

MOL 编码	化合物名称	OB/%	DL
MOL003044	金圣草（黄）素（chryseriol）	35.85	0.27
MOL000422	山柰酚（kaempferol）	41.88	0.24
MOL004373	脱水淫羊藿素（anhydroicaritin）	45.41	0.44
MOL004380	C-homoerythrinan, 1,6-didehydro-3,15,16-trimethoxy-, (3.beta.)-	39.14	0.49
MOL004391	8-(3-methylbut-2-enyl)-2-phenyl-chromone	48.54	0.25
MOL000006	木犀草素（luteolin）	36.16	0.25
MOL000622	广玉兰内酯（magnograndiolide）	63.71	0.19
MOL000098	槲皮素（quercetin）	46.43	0.28
MOL003542	8-isopentenyl-kaempferol	38.04	0.39

了淫羊藿抗疲劳多成分、多靶点协同作用的特性。其中“菱形”表示疾病，“三角形”表示 9 种活性成分，“矩形”表示抗疲劳作用靶点。9 种活性成

分中金圣草（黄）素、山柰酚、脱水淫羊藿素、C-homoerythrinan,1,6-didehydro-3,15,16-trimethoxy-, (3.beta.)-、8-(3-methylbut-2-enyl)-2-phenyl-chromone、

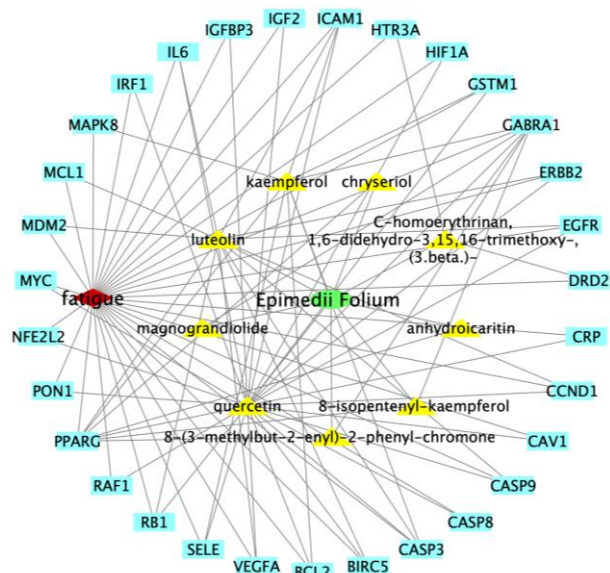


图 2 活性成分-疾病-靶点网络

Fig. 2 Active component-disease-target network

木犀草素、广玉兰内酯、槲皮素、8-isopentenyl-kaempferol, 分别作用 1、9、1、3、2、13、1、27、2 个靶点, 预示作用靶点较多的 3 个活性成分槲皮素 (27 个)、木犀草素 (13 个)、山柰酚 (9 个), 以及对应活性成分较多的 2 个靶点 PPARG (对应 7 个活性成分)、GABRA1 (对应 6 个活性成分) 可能为淫羊藿抗疲劳的关键活性成分和关键作用靶点。

2.3 蛋白相互作用网络构建与分析

将淫羊藿的靶点蛋白导入 String 数据库, 限定物种为“人”, 选择交互作用大于 0.4 的靶点构建蛋白互作网络, 如图 3 所示, 节点表示靶点, 边表示

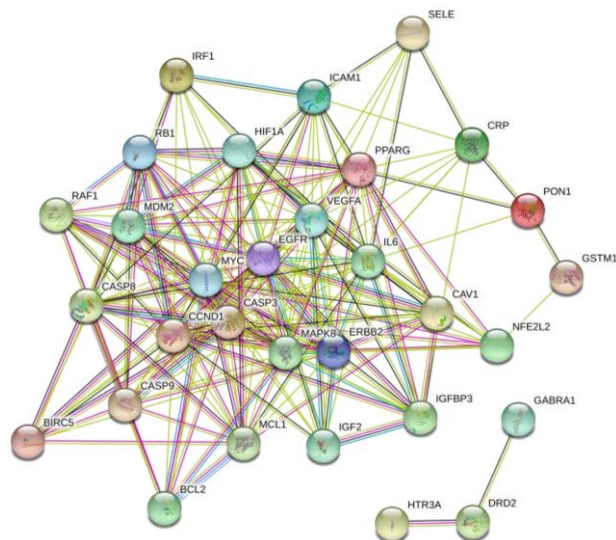


图 3 淫羊藿靶点蛋白相互作用网络

Fig. 3 Protein interaction network of *Epimedium Folium* targets

靶点之间的关联, 边的不同颜色代表不同的证据类型, 边的粗细代表不同的关联分值 (combine score), 边越粗, 关联分值越大。蛋白互作网络中, 共有 31 个节点, 205 条边, 平均节点度为 13.2, 平均局部聚类系数为 0.741。不同靶点对应的边数见图 4, 可见, CASP3、MAPK8、VEGFA、CCND1、ERFR、IL6、MYC 等靶点位于网络的核心位置, 在蛋白互作网络中发挥关键调控作用。

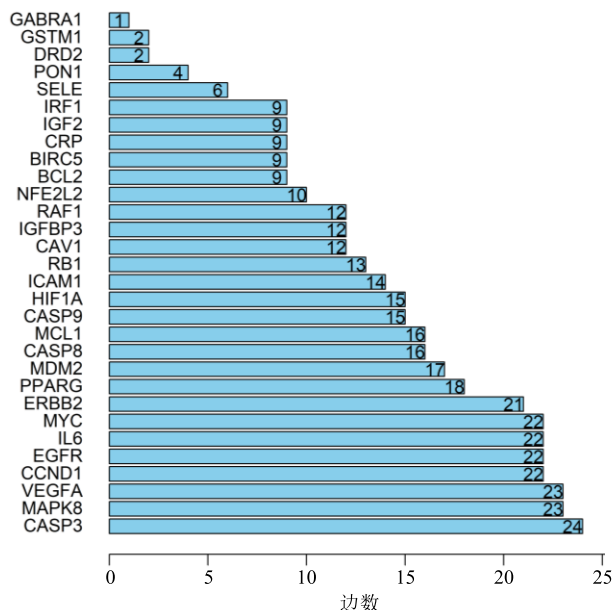


图 4 靶点对应的边数

Fig. 4 Number of edges corresponding to targets

2.4 生物功能与通路富集分析

利用 DAVID 数据库, 分别从生物过程 (biological process, BP)、分子功能 (molecular function, MF) 和细胞组分 (cellular component, CC) 3 个水平对 31 个靶点进行 GO 富集分析, 共富集到 235 条生物功能, 按照 $P < 0.05$ 的阈值过滤, 3 个水平分别得到 134、25、12 条。采用 R 语言按照富集的显著程度取排名靠前的条目绘制可视化条形图, 见图 5。KEGG 共富集到 62 条通路, 按照 $P < 0.05$ 的阈值过滤, 得到 54 条通路, 筛选靠前的通路绘制气泡图, 见图 6。

GO 分析显示, 在生物过程方面, 这些靶点涉及细胞对缺氧的反应 (cellular response to hypoxia)、凋亡过程的调控 (regulation of apoptotic process)、细胞外调节蛋白激酶 ERK1 和 ERK2 级联的正调节 (positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade)、丝裂素活化蛋白激酶 (MAPK) 级联 (MAPK cascade)、对钙离子的反应 (response to calcium ion)、一氧化

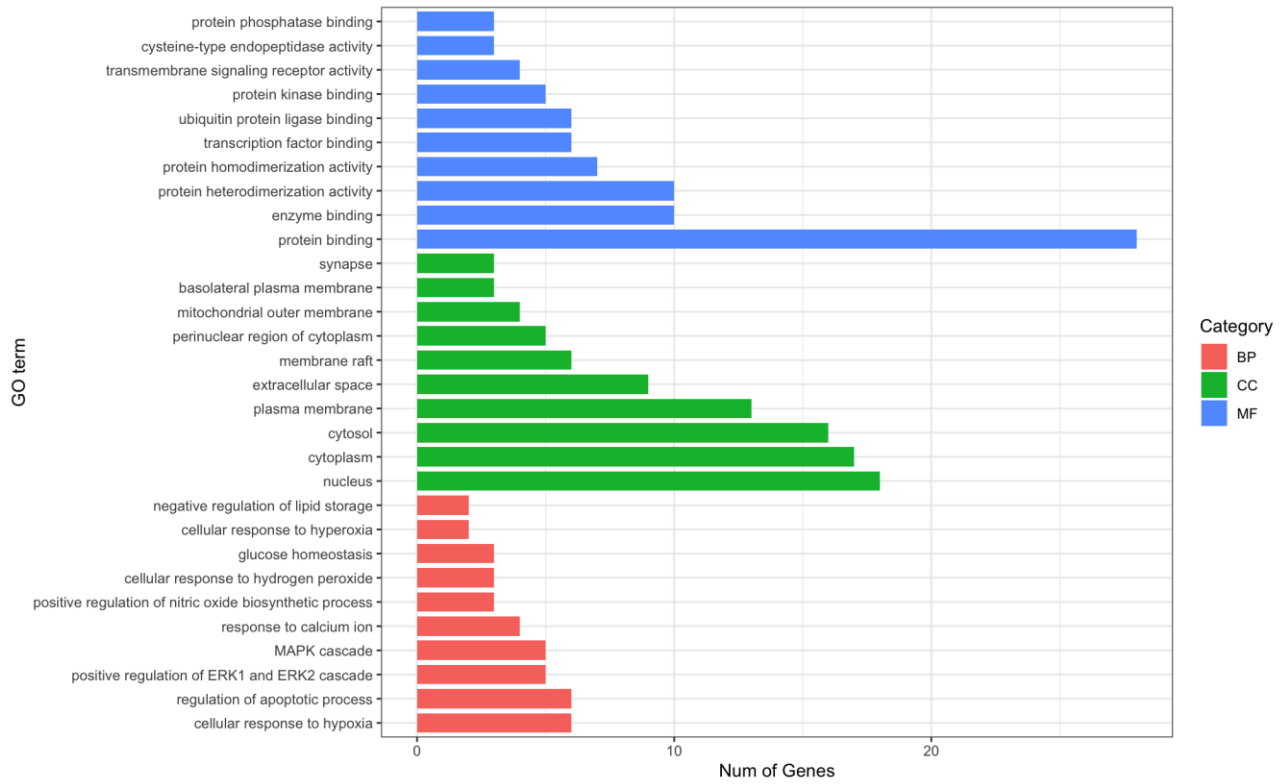


图 5 GO 富集分析

Fig. 5 GO enrichment analysis

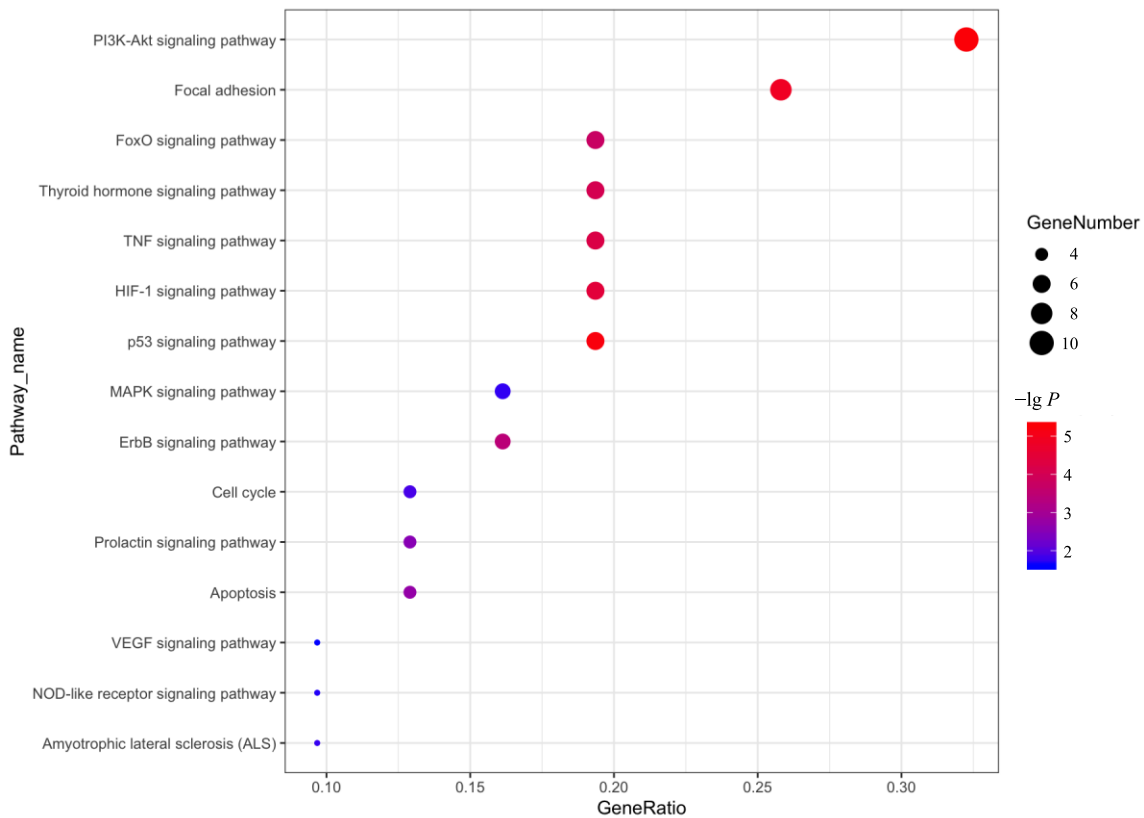


图 6 KEGG 通路富集分析

Fig. 6 KEGG pathway enrichment analysis

氮生物合成过程的正向调节 (positive regulation of nitric oxide biosynthetic process)、细胞对过氧化氢的反应 (cellular response to hydrogen peroxide)、血糖稳态 (glucose homeostasis)、细胞对高氧的反应 (cellular response to hyperoxia)、脂质贮存负调节 (negative regulation of lipid storage) 等生物过程。分子功能方面涉及蛋白质结合 (protein binding)、酶结合 (enzyme binding)、蛋白异源二聚体活性 (protein heterodimerization activity)、蛋白质同源二聚体活性 (protein homodimerization activity)、转录因子结合 (transcription factor binding)、泛素蛋白连接酶结合 (ubiquitin protein ligase binding)、蛋白激酶结合 (protein kinase binding)、跨膜信号受体活性 (transmembrane signaling receptor activity)、半胱氨酸型肽链内切酶活性 (cysteine-type endopeptidase activity)、蛋白磷酸酶结合 (protein phosphatase binding)、等分子功能。细胞组分方面, 靶点涉及核 (nucleus)、细胞质 (cytoplasm)、胞浆 (cytosol)、质膜 (plasma membrane)、细胞外空间 (extracellular space)、膜筏 (membrane raft)、胞质核周区 (perinuclear region of cytoplasm)、线粒体外膜 (mitochondrial outer membrane)、基底外侧质膜 (basolateral plasma membrane)、突触 (synapse) 等组分。

KEGG 通路分析结果 (图 6) 显示淫羊藿抗疲劳的靶点主要涉及 PI3K-Akt 信号通路 (10 个靶点, 32%)、局灶性黏连 (8 个靶点, 26%)、p53 信号通路 (6 个靶点, 19%)、低氧诱导因子-1 (HIF-1) 信号通路 (6 个靶点, 19%)、肿瘤坏死因子信号通路 (6 个靶点, 19%)、甲状腺激素信号通路 (6 个靶点, 19%)、FoxO 信号通路 (6 个靶点, 19%)、ErbB 信号通路 (5 个靶点, 16%)、MAPK 信号通路 (5 个靶点, 16%)、细胞凋亡 (4 个靶点, 13%)、催乳素信号通路 (4 个靶点, 13%)、细胞周期 (4 个靶点, 13%)、肌萎缩侧索硬化 (3 个靶点, 10%)、NOD 样受体信号通路 (3 个靶点, 10%)、VEGF 信号通路 (3 个靶点, 10%) 等信号通路。

3 讨论

淫羊藿属中医补阳药, 具有强健筋骨、补肾壮阳、缓解疲劳等功效, 其复方制剂的成药或保健品用于提高免疫力, 缓解疲劳症状, 具有较好的临床效果。本研究基于疾病-基因-靶点-药物的研究思路, 应用网络药理学的技术, 从微观的分子角度系统阐

述淫羊藿抗疲劳的作用机制, 对淫羊藿抗疲劳作用机制的进一步研究提供参考。

本研究筛选得到淫羊藿 23 个活性成分, 9 个成分具有潜在的抗疲劳作用。作用靶点较多的 3 个活性成分槲皮素 (27 个)、木犀草素 (13 个)、山柰酚 (9 个); 对应活性成分较多的 2 个靶点 PPARG (对应 9 个活性成分)、GABRA1 (对应 6 个活性成分) 可能为淫羊藿抗疲劳的关键活性成分和作用靶点。槲皮素和木犀草素有相关文献报道其抗疲劳作用, 说明本研究方法合理可行^[16-18]。而山柰酚缺乏文献支持, 其药效学及作用机制需进一步实验证明。

GO 富集分析显示, 淫羊藿抗疲劳主要涉及一氧化氮生物合成、血糖稳态、细胞氧化应激等生物过程。机体能量供应不足为疲劳产生的原因之一, 线粒体几乎产生机体中绝大部分的能量, 一氧化氮能促进线粒体的生物合成, 以保证生物体内能量的生成及供给, 从而发挥抗疲劳的作用^[19]。Davis 等^[20]发现, 槲皮素可以通过增加大脑和肌肉中线粒体的生成, 进而增加小鼠运动耐力, 改善运动后疲劳症状。高强度运动使能源物质 (如糖元、磷酸肌酸、三磷酸腺苷等) 含量下降, 若得不到即时补充, 血糖稳态被打破, 从而引发运动性疲劳^[21]。此外, 剧烈运动后机体处于缺氧状态, 体内蓄积大量的氧自由基, 导致致疲劳产生^[22]。赵新望等^[23]发现当机体缺氧时, 可产生大量氧自由基, 而消除氧自由基则可减轻疲机体劳感。相关研究表明, 木犀草素和槲皮素均可以通过减少运动后血清乳酸、尿素氮以及氧自由基的过量产生, 从而降低疲劳感^[24-25]。

KEGG 通路富集分析显示, 淫羊藿抗疲劳主要涉及 PI3K-Akt、P53、HIF-1、TNF、FoxO、ErbB、MAPK、催乳素、NOD 样受体、VEG 等信号通路, 以及局灶性黏连、细胞凋亡、肌萎缩侧索硬化等反应。Zhuang 等^[26]研究发现人参皂苷 Rb₁ 具有缓解老龄大鼠术后疲劳综合征的作用, 其机制与 PI3K/Akt 通路的激活, 以及下游的 Nrf2 核转位和抗氧化酶的诱导有关。有研究^[27]用银杏叶处理经 IL-1 β 处理过的血管内皮细胞, 结果显示银杏叶提取物通过调控 PI3K-Akt 信号通路使 PI3K 蛋白表达水平上升, p-Akt 磷酸化增加, 进而降低下游靶蛋白 caspase-3、bax 的表达, 提高 Bcl-2 蛋白的表达, 最终使 IL-1 β 处理的血管内皮细胞凋亡减少。P53 是发现于 1979 年的肿瘤抑制基因, 与人体能量产生的主要场所线粒体有着十分密切的关系, 参与线粒体的能量代谢、

生物发生以及活性氧稳态的调控过程。通过敲除细胞 P53 基因,能量的生成由有氧呼吸转向糖酵解,氧消耗减少,线粒体呼吸强度变低,乳酸水平增加^[28],乳酸水平的增加正是机体产生疲劳的重要因素之一。Morris 等^[29]研究发现 p53 的失活会使线粒体功能下降,导致机体对无氧糖酵解的更大依赖,提高乳酸水平,降低骨骼肌中线粒体密度,降低体育锻炼期间的耐力,从而产生运动型疲劳,提示淫羊藿通过作用 P53,维持线粒体的正常功能,发挥抗疲劳作用。HIF-1 在低氧诱导的基因表达调节中起着重要作用,在低氧条件下,HIF-1 被迅速诱导并高表达,通过调控下游基因缓解和减轻机体的低氧症状,提高耐缺氧能力,发挥抗疲劳作用^[30]。王林佳等^[31]研究发现 HIF-1 α 的高表达可以使小鼠骨骼肌 Nrf2-ARE 转录活性提高,抗氧化蛋白表达增高,以及抗氧化能力提高,小鼠耐力增强。肿瘤坏死因子(TNF)是由巨噬细胞分泌的一种小分子蛋白,张亚军等^[32]报道慢性疲劳综合征动物模型的 TNF- α 水平往往升高,抗炎因子水平降低,呈现高氧化应激状态。FoxO 是 Forkhead 转录因子的 O 亚家族,FoxO 亚家族包括 FoxO1、FoxO3a、FoxO4 和 FoxO6 4 个主要成员,其中 FoxO3a 在抑制细胞增殖和促进凋亡、抵御氧化应激等方面发挥作用^[33],苏路路等^[34]报道 FoxO4 对衰老细胞的存活起着关键性作用,短期 FOXO4-DRI 多肽治疗可以促进小鼠毛发生长、体力恢复和小鼠肾脏功能。ErbB 受体为酪氨酸激酶受体家族,其与心功能的维持和心血管的发育相关,叶勇^[35]研究发现芪苈强心胶囊能够激活 ErbB 受体,提示 ErbB 家族受体参与了芪苈强心胶囊对压力超负荷致小鼠心肌肥厚的保护。MAPK 信号系统在维持机体内氧化-抗氧化的动态平衡状态以及机体对环境应激的适应中发挥着重要的作用,有研究表明黑果枸杞子通过抑制 MAPK 信号通路蛋白的高表达,激活抗氧化酶基因表达,提高骨骼肌的氧自由基清除能力,调节机体的抗氧化应激损伤能力,从而预防和延缓氧化应激损伤及运动疲劳的发生与发展^[36]。

综上所述,本研究结果显示,淫羊藿 9 个抗疲劳活性成分作用于疲劳的 31 个靶点,通过调控细胞的氧化应激、凋亡、一氧化氮生物合成、血糖稳态、脂质贮存等生物过程,以及 PI3K-Akt、P53、HIF-1、TNF、FoxO、ErbB、MAPK 等信号通路发挥抗疲劳

作用。当然,本研究也存在一定局限性,例如通过 OB、DL 作为筛选条件过滤掉了大量活性成分,这些未达到筛选标准的活性成分可能也具有抗疲劳作用,另外虽然通过文献调研的方式对靶点的部分生物功能和通路进行了验证,但还有待通过基础研究和临床试验进一步确证。

参考文献

- [1] Ishii A, Tanaka M, Yamano E, *et al.* The neural substrates of physical fatigue sensation to evaluate ourselves: A magnetoencephalography study [J]. *Neuroscience*, 2014, 261: 60-67.
- [2] 韩晨霞,李峰,马捷,等. 中枢疲劳研究与思考 [J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(20): 3986-3988.
- [3] 徐志刚. 抗疲劳药物的研究进展 [J]. *海峡药学*, 2012, 24(1): 21-23.
- [4] 刘明,朱光海,杨品华,等. 郭利华对疏调气机汤中“淫羊藿”作用解析 [J]. *中医临床杂志*, 2019, 31(9): 1640-1642.
- [5] 万亚宁,李双蕾,蒋云霞,等. 淫羊藿及其复方制剂治疗糖皮质激素性骨质疏松症的研究进展 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(5): 713-716.
- [6] 郭宝林,肖培根. 中药淫羊藿主要种类评述 [J]. *中国中药杂志*, 2003, 28(4): 18-22.
- [7] 李瑞云,刘聪燕,许婷,等. 交联纳米 SiO₂ 固定化蜗牛酶的制备表征及转化淫羊藿苷研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(20): 4904-4910.
- [8] 武卫党,慈小燕,魏滋鸿,等. 淫羊藿苷元对临床重要药物转运体抑制作用研究 [J]. *药物评价研究*, 2018, 41(6): 986-991.
- [9] 许梦习,耿诗涵,张译丹,等. 基于 FGFR1 靶点分子虚拟对接筛选淫羊藿中抗骨质疏松的药效成分 [J]. *现代药物与临床*, 2017, 32(8): 1403-1409.
- [10] 尤旭,赵海霞,杨思琪,等. 淫羊藿苷激活 Nrf2/HO-1 信号通路减轻自然衰老大鼠睾丸生殖细胞 DNA 损伤研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(12): 2915-2921.
- [11] Chi A P, Shen Z M, Zhu W F, *et al.* Characterization of a protein-bound polysaccharide from *Herba Epimedii* and its metabolic mechanism in chronic fatigue syndrome [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 203: 241-251.
- [12] Li S. New progress of interdisciplinary research between network toxicology, quality markers and TCM network pharmacology [J]. *Chin Herb Med*, 2019, 11(4): 347-348.
- [13] 吴作敏,郭丽娜,王单单,等. 黄芪-川芎药对治疗脑卒中的网络药理学研究 [J]. *药物评价研究*, 2019, 42(9): 1749-1756.
- [14] 苏联麟,李昱,徐祯,等. 基于多元统计分析和网络药理学的五味子醋制前后质量标志物预测分析 [J].

- 中草药, 2019, 50(19): 4643-4653.
- [15] von Mering C, Jensen L J, Snel B, *et al.* STRING: Known and predicted protein-protein associations, integrated and transferred across organisms [J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33: D433-D437.
- [16] 马 纳, 李亚静, 范吉平. 槲皮素药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(8): 221-224.
- [17] 杨 波, 任晓丽, 李 翔. 槲皮素对力竭运动疲劳大鼠血清自由基代谢的影响 [J]. 解放军预防医学杂志, 2011, 29(1): 19-21.
- [18] Duan F F, Guo Y, Li J W, *et al.* Antifatigue effect of luteolin-6-c-neohesperidoside on oxidative stress injury induced by forced swimming of rats through modulation of Nrf2/ARE signaling pathways [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, doi: 10.1155/2017/3159358.
- [19] 张 瑞, 曹庆伟, 李爱平, 等. 基于网络药理学的黄芪抗疲劳作用机制研究 [J]. 中草药, 2019, 50(8): 1880-1889.
- [20] Davis J M, Murphy E A, Carmichael M D, *et al.* Quercetin increases brain and muscle mitochondrial biogenesis and exercise tolerance [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2009, 296: 1071-1077.
- [21] 王红燕, 何祖新, 刘 鑫. 疲劳产生的机制及抗疲劳中药的研究进展 [J]. 现代中医药, 2007, 27(2): 58-59.
- [22] 张 弘, 刘衡川, 王 波, 等. 高氧水缓解体力疲劳作用的实验研究 [J]. 现代预防医学, 2005, 32(5): 442-443.
- [23] 赵新望, 徐文华, 赵 阳, 等. 基于网络药理学研究川芎治疗冠心病的作用机制 [J]. 中成药, 2019, 41(9): 2096-2101.
- [24] Lin Y, Liu H L, Fang J, *et al.* Anti-fatigue and vasoprotective effects of quercetin-3-O-gentiobiose on oxidative stress and vascular endothelial dysfunction induced by endurance swimming in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 68: 290-296.
- [25] Luo C H, Xu X R, Wei X C, *et al.* Natural medicines for the treatment of fatigue: Bioactive components, pharmacology, and mechanisms [J]. *Pharmacol Res*, 2019, doi: 10.1016/j.phrs.2019. 104409
- [26] Zhuang C L, Mao X Y, Liu S, *et al.* Ginsenoside Rb₁ improves postoperative fatigue syndrome by reducing skeletal muscle oxidative stress through activation of the PI3K/Akt/Nrf2 pathway in aged rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 740: 480-487.
- [27] 刘 阳, 李雪琴, 李延恩. 银杏叶提取物通过激活 PI3K/AKT 通路抑制 IL-1 β 诱导血管内皮细胞的凋亡 [J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(4): 365-369.
- [28] 苏玉慧, 漆正堂, 丁树哲. p53 与线粒体的关系 [J]. 生命的化学, 2010, 30(3): 354-359.
- [29] Morris G, Maes M. Increased nuclear factor- κ B and loss of p53 are key mechanisms in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome (ME/CFS) [J]. *Med Hypoth*, 2012, 79(5): 607-613.
- [30] 刘建军. 模拟“高住低训”条件下, 长时间游泳运动对小鼠脑部 HIF-1 蛋白表达及 NO 含量的影响 [D]. 上海: 华东师范大学, 2005.
- [31] 王林佳, 张 纓. 一次性力竭运动对 HIF-1 α 转基因鼠骨骼肌 Nrf2 抗氧化信号的影响 [J]. 体育科学, 2018, 38(11): 60-65.
- [32] 张亚军, 王 茹, Kouna P R M, 等. 不同浓度低氧暴露对慢性疲劳综合征建模小鼠血清 IL-6、TNF- α 及 IL-1 β 水平的影响 [J]. 中国运动医学杂志, 2013, 32(6): 507-513.
- [33] 陈 磊, 邱丽君, 王新超, 等. FOXO3a 的调控机制与功能及其在临床中的应用 [J]. 广东医学, 2019, 40(3): 455-458.
- [34] 苏路路, 管博文, 樊飞跃, 等. 衰老细胞清除剂研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(10): 1333-1337.
- [35] 叶 勇. 芪蒯强心胶囊对改善压力超负荷引起的小鼠心肌肥厚的相关机制研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2012.
- [36] 崔笑梅, 曹建民, 周海涛, 等. 黑果枸杞子对过度训练大鼠骨骼肌 MAPK 信号通道蛋白表达及抗氧化应激损伤能力的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(3): 122-127.