

# 基于酒精性肝病斑马鱼模型与网络药理学研究狭基线纹香茶菜水提物的护肝作用

成志龙<sup>1</sup>, 郁晓艺<sup>2</sup>, 叶志伟<sup>1</sup>, 李军波<sup>2</sup>, 陈 昌<sup>2</sup>, 谢 果<sup>1,3</sup>, 李晓敏<sup>1,2,4\*</sup>

1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006

2. 完美(广东)日用品有限公司, 广东 中山 528451

3. 电子科技大学中山学院, 广东 中山 528402

4. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

**摘要:** 目的 探讨狭基线纹香茶菜水提物 (*Isodon lophanthoides* var. *gerardianus* aqueous extract, ILAE) 的成分及其对乙醇诱导的酒精性肝病 (alcoholic liver disease, ALD) 斑马鱼的保护作用, 并利用网络药理学分析其作用的潜在成分和靶点。方法 采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱技术 (ultra-performance liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF/MS) 鉴定 ILAE 的成分; 以 36、73、146  $\mu\text{g/mL}$  ILAE 与 70  $\mu\text{g/mL}$  水飞蓟素对受精后 4 d (4 d post-fertilization, 4 dpf) 的野生型 AB 品系与转基因中性粒细胞斑马鱼 Tg (lyz: DsReD) 分别处理 16 h, 再以 2%乙醇诱导 32 h 建立 ALD 模型, 通过观察斑马鱼的发育情况、检测生化指标与行为学实验, 考察 ILAE 的肝脏保护作用。运用网络药理学分析 ILAE 作用于 ALD 的潜在成分与靶点, 通过分子对接与 Western blotting 实验进行验证。结果 共鉴定出 ILAE 中的成分 56 种, 主要为黄酮类与酚酸类。ILAE 可以明显改善乙醇诱导的斑马鱼的发育受阻, 卵黄囊延迟吸收面积与肝脏肿大面积显著减小 ( $P < 0.05$ 、 $0.001$ ), 脂质积累显著减少 ( $P < 0.001$ ), 肝脏病理损伤缓解, 肝细胞排列有序、脂肪空泡减少, 丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 活性显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ ), 乙醇脱氢酶 (alcohol dehydrogenase, ADH) 活性和还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 水平显著升高 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ ), 活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 和三酰甘油 (triglyceride, TG) 水平显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ ), 中性粒细胞数目明显减少 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ), 斑马鱼兴奋状态减轻, 快速运动轨迹与总运动距离减少 ( $P < 0.05$ 、 $0.001$ )。ILAE 与 ALD 相关的核心靶点为蛋白激酶 Ba (protein kinase Ba, AKT1)、核因子- $\kappa\text{B}$  1 (nuclear factor- $\kappa\text{B}$  subunit 1, NF- $\kappa\text{B}$ 1)、信号转导与转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 等, 核心成分为白杨素、异泽兰黄素、迷迭香酸等, 且化合物与靶点可以紧密结合。京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 分析与基因本体 (gene ontology, GO) 分析显示, 作用过程涉及脂质代谢、胰岛素抵抗、胆汁酸分泌与外源物质代谢等通路。Western blotting 结果显示, ILAE 可以显著降低乙醇诱导的斑马鱼体内 NF- $\kappa\text{B}$ 1、STAT3 蛋白及其磷酸化形式的表达水平 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ ), 升高 AKT1 蛋白及其磷酸化形式的表达水平 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。结论 ILAE 可能通过迷迭香酸、白杨素、咖啡酸、7-羟基香豆素等成分, 作用于 AKT1、NF- $\kappa\text{B}$ 1、STAT3 等靶点改善 ALD。其保护作用可能与降低炎症反应、减少脂质积累与增强抗氧化活性有关。

**关键词:** 狭基线纹香茶菜; 酒精性肝病; 斑马鱼; 炎症反应; 脂质积累; 氧化应激; 迷迭香酸; 白杨素; 咖啡酸; 7-羟基香豆素; AKT1; NF- $\kappa\text{B}$ 1; STAT3

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)04-1350-16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.04.014

## Study on hepatoprotective effect of *Isodon lophanthoides* var. *gerardianus* aqueous extract based on alcoholic liver disease zebrafish model and network pharmacology

CHENG Zhilong<sup>1</sup>, YU Xiaoyi<sup>2</sup>, YE Zhiwei<sup>1</sup>, LI Junbo<sup>2</sup>, CHEN Chang<sup>2</sup>, XIE Guo<sup>1,3</sup>, LI Xiaomin<sup>1,2,4</sup>

1. College of Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

2. Perfect (Guangdong) Commodities Co., Ltd., Zhongshan 528451, China

收稿日期: 2025-09-13

基金项目: 中山市中医药传承创新发展科研专项项目 (2024B3065); 电子科技大学中山学院科研团队培育项目 (424YT02)

作者简介: 成志龙, 男, 硕士研究生, 研究方向为中药学。E-mail: chengzhilong2023@163.com

\*通信作者: 李晓敏, 女, 正高级工程师, 硕士生导师, 从事天然产物活性及其功能评价研究。E-mail: 1194183264@qq.com

3. University of Electronic Science and Technology of China, Zhongshan Institute, Zhongshan 528402, China

4. School of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

**Abstract: Objective** To investigate the components of *Isodon lophanthoides* var. *gerardianus* aqueous extract (ILAE) and its protective effects against ethanol-induced alcoholic liver disease (ALD) in zebrafish, and to analyze its potential active components and targets using network pharmacology. **Methods** Ultra-performance liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS) was employed to identify the components of ILAE. Wild-type AB strain and transgenic neutrophil zebrafish Tg (lyz: DsRed) at 4 d post-fertilization (4 dpf) were treated with 36, 73, 146  $\mu\text{g/mL}$  ILAE or 70  $\mu\text{g/mL}$  silymarin for 16 h, followed by induction of ALD with 2% ethanol for 32 h. The protective effects of ILAE on liver were assessed by observing developmental status, measuring biochemical indicators and conducting behavioral tests. Network pharmacology was used to analyze the potential components and targets of ILAE in treating ALD. Validation was performed through molecular docking and Western blotting. **Results** A total of 56 components were identified in ILAE, primarily flavonoids and phenolic acids. ILAE significantly alleviated ethanol-induced developmental impairment in zebrafish, the delayed absorption area of yolk sac and the area of liver enlargement were significantly reduced ( $P < 0.05, 0.001$ ), lipid accumulation was significantly reduced ( $P < 0.001$ ), liver pathological damage was relieved, liver cells were arranged in an orderly manner, and fat vacuoles were reduced. The activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were significantly decreased ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), while the activity of alcohol dehydrogenase (ADH) and reduced glutathione (GSH) level were significantly increased ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ). The levels of reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA) and triglycerides (TG) were significantly decreased ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), and the number of neutrophils was significantly reduced ( $P < 0.01, 0.001$ ). The excitement state of zebrafish was decreased, and the rapid movement trajectory and total movement distance were decreased ( $P < 0.05, 0.001$ ). The core targets associated with ILAE and ALD were protein kinase B $\alpha$  (AKT1), nuclear factor- $\kappa$ B subunit 1 (NF- $\kappa$ B1), signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), key components were chrysin, eupatilin and rosmarinic acid, which exhibited strong binding affinity to the targets. Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) analysis and gene ontology (GO) analysis showed that the process involved lipid metabolism, insulin resistance, bile acid secretion, and exogenous substance metabolism pathways. Western blotting results showed that ILAE significantly reduced the expression levels of NF- $\kappa$ B1, STAT3 proteins and their phosphorylated forms in ethanol-induced zebrafish ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), and increased the expression levels of AKT1 protein and its phosphorylated forms ( $P < 0.05, 0.01$ ). **Conclusion** ILAE may improve ALD by targeting AKT1, NF- $\kappa$ B1, STAT3 through rosmarinic acid, chrysin, caffeic acid, 7-hydroxycoumarin and other components. Its protective effect may be related to reducing inflammatory response, decreasing lipid accumulation and enhancing antioxidant activity.

**Key words:** *Isodon lophanthoides* (Buch.-Ham. ex D. Don) Hara var. *gerardianus* (Benth.) Hara; alcoholic liver disease; zebrafish; inflammatory response; lipid accumulation; oxidative stress; rosmarinic acid; chrysin; caffeic acid; 7-hydroxycoumarin; AKT1; NF- $\kappa$ B1; STAT3

长期过量饮酒是导致酒精性肝病 (alcoholic liver disease, ALD) 的主要原因, 该疾病是一种常见的肝脏损伤类型, 全球患病率约 5.1%, 且死亡率较高<sup>[1]</sup>。该病常始于脂肪性肝炎, 可逐步发展为肝纤维化、肝硬化乃至肝衰竭。目前临床主要采用糖皮质激素治疗, 但约 40% 患者应答不佳<sup>[2-3]</sup>, 因此开发新疗法迫在眉睫。

狭基线纹香茶菜 *Isodon lophanthoides* (Buch.-Ham. ex D. Don) Hara var. *gerardianus* (Benth.) Hara 是唇形科香茶菜属植物, 具有清热利湿、凉血散瘀的功效, 为溪黄草属之一, 且为药食两用品种。研究显示其提取物可降低 ALD 模型动物的血清转氨酶活性、减轻肝组织病理损伤, 并有效控制死亡率<sup>[4]</sup>, 提示其具有保肝潜力, 然而具体作用途径尚

未明确。该植物在性状和化学成分上与其他基原存在显著差异, 除黄酮类外, 还富含萜类与酚酸类等具有肝保护活性的潜在成分<sup>[5]</sup>。

为深入评价其功效及初步探索相关机制, 本研究选用斑马鱼作为模型进行功效评价, 并结合网络药理学分析潜在的作用成分与靶点。斑马鱼繁殖速度快、胚胎透明, 便于直接观察发育过程, 且其 87% 基因与人类疾病相关基因同源, 肝脏发育迅速, 易于通过水体进行给药与乙醇造模, 已成为研究 ALD 的理想模型<sup>[6-7]</sup>。此前虽已有网络药理学研究关注溪黄草黄酮类成分<sup>[8-9]</sup>, 但狭基线纹香茶菜多成分协同作用尚待系统阐释。因此, 本研究拟通过超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱技术 (ultra-performance liquid chromatography-quadrupole/time-

of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF/MS) 技术鉴定狭基线纹香茶菜水提物 (*Isodon lophanthoides* var. *gerardianus* aqueous extract, ILAE) 的化学成分, 利用 ALD 斑马鱼模型评价其功效, 整合网络药理学、分子对接与 Western blotting 方法揭示 ILAE 改善 ALD 的活性成分及作用靶点, 为临床应用提供新依据。

## 1 材料

### 1.1 动物

野生型 AB 品系斑马鱼、CZ59 中性粒细胞荧光标记斑马鱼 Tg (lyz: DsRED) 均由持有实验动物使用许可证与符合 AAALAC 认证的杭州环特生物科技股份有限公司提供, 许可证号 SYXK(浙)2012-0171, 认证编号 001458。

### 1.2 药材

狭基线纹香茶菜采于广东省潮州市饶平县, 经中国科学院华南植物园华南植物鉴定中心罗世孝研究员鉴定为狭基线纹香茶菜 *I. lophanthoides* (Buch.-Ham. ex D. Don) Hara var. *gerardianus* (Benth.) Hara。

### 1.3 药品与试剂

水飞蓟素胶囊 (批号 HJ20181067) 购自利加隆公司; 水为超纯水; 乙腈等流动相试剂均为质谱级, 购自上海安谱公司; 羧甲基纤维素钠 (批号 30036365)、无水乙醇 (批号 10009228)、异丙醇 (批号 80109218)、氯化钠 (sodium chloride, NaCl, 批号 10019308)、氯化钾 (potassium chloride, KCl, 批号 10016308)、氯化钙 (calcium chloride, CaCl<sub>2</sub>, 批号 10005861)、碳酸氢钠 (sodium bicarbonate, NaHCO<sub>3</sub>, 批号 10018960) 购自国药集团化学试剂有限公司; 丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 试剂盒 (批号 C009-1-1)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 试剂盒 (批号 C010-1-1)、油红 O 染液 (批号 D027-1-3)、乙醇脱氢酶 (alcoholdehydrogenase, ADH) 试剂盒 (批号 A083-2-1) 购自南京建成生物工程研究所; 谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 试剂盒 (批号 BC1175) 购自北京索莱宝科技有限公司; BCA 试剂盒 (批号 P0010)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 试剂盒 (批号 S0101S)、三酰甘油 (triglyceride, TG) 试剂盒 (批号 S0219S)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒 (批号 S0131S) 购自碧云天生物技术有限公司; 2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯 (2',7'-dichlorodihydrofluorescein

diacetate, H<sub>2</sub>DCFDA) 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 荧光探针 (批号 HY-D0940) 购自美国 MedChemExpress 公司; 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染液 (批号 G1005-500ML) 购自武汉赛维尔生物科技有限公司; 蛋白激酶 B $\alpha$  (protein kinase B $\alpha$ , AKT1) 抗体 (批号 A17909)、磷酸化核因子- $\kappa$ B 1 (phosphorylated nuclear factor- $\kappa$ B subunit 1, p-NF- $\kappa$ B1) 抗体 (批号 AP1355) 购自爱博泰克生物科技有限公司;  $\beta$ -actin 抗体 (批号 20536-1-AP)、HRP 标记的山羊抗兔二抗 (批号 SA00001-2) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; 核因子- $\kappa$ B 1 (nuclear factor- $\kappa$ B subunit 1, NF- $\kappa$ B1) 抗体 (批号 M1505-8)、信号转导与转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 抗体 (批号 ET1607-38)、磷酸化信号转导与转录激活因子 3 (phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3, p-STAT3) 抗体 (批号 SY24-09)、磷酸化蛋白激酶 B $\alpha$  (phosphorylated protein kinase B $\alpha$ , p-AKT1) (批号 SD08-12)、HRP 标记的山羊抗小鼠二抗 (批号 HA1006) 购自杭州华安生物技术有限公司。

### 1.4 仪器

Xevo G2-XS QToF 质谱仪、UPLC Acquity 超高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); TS6006 型冷冻干燥机 (德国 Fevik 公司); SMZ745T 型体式显微镜 (日本 Nikon 公司); ZXGP-A2160 型全自动新型隔水恒温培养箱 (上海智城分析仪器制造有限公司); KZ-III-FP 型高通量组织研磨仪 (武汉塞维尔生物科技有限公司); BX43F 型生物显微镜 (日本 Olympus 公司); SYNERGUH1 型多功能酶标仪 (美国 BioTek 公司); 斑马鱼行为学分析仪 (法国 View Point 公司)。

## 2 方法

### 2.1 ILAE 的成分分析

**2.1.1 样品制备** 称取狭基线纹香茶菜 10 g, 加入 10 倍体积的水浸泡 1 h, 回流提取 1 h, 滤过; 加入 10 倍体积的水, 重复提取 1 次, 滤过; 合并 2 次滤液, 于 -80 °C 冷冻 12 h, 冷冻干燥 72 h, 备用。取 50 mg 样品溶于 5 mL 纯水中, 配制成质量浓度为 10 mg/mL 的溶液, 稀释 100 倍, 进样分析。

**2.1.2 色谱条件** Acquity UPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8  $\mu$ m); 流动相为 0.1% 甲酸乙腈 (A) -0.1% 甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱: 0~22.0

min, 5%~100% A; 22.0~26.0 min, 100% A; 26.0~26.1 min, 100%~5% A; 26.1~30.0 min, 5% A。柱温 30 °C; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 2  $\mu$ L。

**2.1.3 质谱条件** 以 MSE 为采集模式; 毛细管电压 3 000 V/-2 000 V; 离子源温度 120 °C; 锥孔电压 4 000 kV; 锥孔气体积流量 50 L/h; 脱溶剂气温度 400 °C; 脱溶剂气体积流量 800 L/h; 扫描范围  $m/z$  50~1 300; 扫描频率 0.5 s; 低能碰撞电压 6 eV; 高能碰撞电压 20~40 eV; 选择亮氨酸脑啡肽实时校正正、负离子模式。

**2.1.4 样品检测及数据分析** 采用 MassLynxv 软件获取化合物保留时间, 进行峰对齐与峰提取; 利用 MSDIAL 软件, 通过比对中药高分辨质谱数据库鉴定化合物。

## 2.2 斑马鱼实验

**2.2.1 胚胎培养液的配制** 称取 7.000 g NaCl、0.100 g KCl、0.235 g CaCl<sub>2</sub>、0.400 g NaHCO<sub>3</sub>, 用超纯水溶解, 定容至 2 L 量瓶, 使用真空过滤器(孔径 0.2  $\mu$ m) 滤过后灭菌备用。

**2.2.2 ILAE 耐受浓度筛选** 参考剂量换算公式斑马鱼给药剂量 (mg/L) = [人给药剂量(g/d) × 1 000]/6<sup>[10]</sup>, 计算得斑马鱼的给药量为 146  $\mu$ g/mL。设置对照组与不同质量浓度 (146、292、438、584、876、1 168  $\mu$ g/mL) 的 ILAE 组, 取受精后 4 d (4 d post fertilization, 4 dpf) 的野生型 AB 斑马鱼, 移入 12 孔板, 每孔 30 尾, 对照组加入 3 mL 胚胎培养液, 其余组加入含相应质量浓度 ILAE 的胚胎培养液, 28.5 °C 下培养 96 h, 每 24 h 记录斑马鱼的生存情况, 并绘制生存曲线。

**2.2.3 造模浓度筛选** 设置对照组与不同体积分数 (1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%) 的乙醇组, 取 4 dpf 野生型 AB 斑马鱼, 移入 12 孔板, 每孔 30 尾, 对照组加入 3 mL 胚胎培养液, 其余组加入含相应体积分数乙醇的胚胎培养液, 28.5 °C 下培养 96 h, 每 24 h 记录斑马鱼的生存情况, 并绘制生存曲线。

**2.2.4 ILAE 对乙醇诱导的肝损伤的影响** 设置对照组、模型组、水飞蓟素 (70  $\mu$ g/mL) 组和 ILAE (36、73、146  $\mu$ g/mL) 组, 取 4 dpf 野生型 AB 斑马鱼, 移入 12 孔板, 每孔 30 尾。对照组和模型组加入 3 mL 胚胎培养液, 其余组加入含相应药物的胚胎培养液, 培养 16 h。对照组更换为新鲜的胚胎培养液, 其余组更换为以胚胎培养液配制的 2% 乙醇,

培养 32 h<sup>[11-12]</sup>。实验结束后, 收集斑马鱼, 用于后续表型指标统计、病理切片分析、生化指标检测与行为学分析。

**2.2.5 表型指标统计** 按“2.2.4”项下方法分组、给药与造模, 造模后的斑马鱼进行三卡因麻醉, 置于涂有羧甲基纤维素钠的载玻片上进行固定, 使斑马鱼头部统一朝向左边, 利用体式显微镜进行图像采集, 利用 Image J 软件统计斑马鱼肝脏面积、卵黄囊面积与肝脏不透明度。

**2.2.6 HE 染色** 按“2.2.4”项下方法分组、给药与造模, 造模后对石蜡包埋的斑马鱼进行切片, HE 染色, 随后用中性树胶封片, 利用光学显微镜采集切片图像, 分析各组斑马鱼肝脏病理情况。

**2.2.7 油红 O 染色** 按“2.2.4”项下方法分组、给药与造模, 造模后以 4% 多聚甲醛将斑马鱼固定 12 h, 随后清除残余的多聚甲醛, 以 60% 异丙醇浸泡斑马鱼 30 min, 通透胚胎, 加入染色应用液染色 1 h, 取出染色剂, 加入 60% 异丙醇洗去多余的染液。利用体式显微镜进行图像采集, 运用 Image J 软件统计斑马鱼肝脏染色面积。

**2.2.8 ROS 水平检测** 按“2.2.4”项下方法分组、给药与造模, 造模后将斑马鱼转移到含有 H<sub>2</sub>DCFDA 的胚胎培养液中孵育 2 h, 在荧光显微镜蓝色光下照射 15 min, 激发绿色荧光, 清洗残余的 H<sub>2</sub>DCFDA, 在 10 ms 曝光度下采集图像, 利用 Image J 软件统计斑马鱼绿色荧光面积。

**2.2.9 中粒细胞荧光面积统计** 选用转基因中性粒细胞斑马鱼进行实验, 按“2.2.4”项下方法分组、给药与造模, 造模后的斑马鱼进行三卡因麻醉, 置于涂有羧甲基纤维素钠的载玻片上进行固定, 使斑马鱼头部统一朝向左边, 在荧光显微镜绿色光下 15 min, 激发红色荧光, 采集图像, 同时采集自然光下的明场图像, 然后利用 Image J 软件统计斑马鱼中性粒细胞荧光面积。

**2.2.10 斑马鱼匀浆蛋白浓度测定** 按“2.2.4”项下方法分组、给药与造模, 造模后每组取 30 尾斑马鱼, 吸干水分, 称取质量, 以质量与体积比 1 : 9 加入生理盐水, 加入研磨珠, 冷冻研磨匀浆, 低温下离心, 利用 BCA 试剂盒测定上清液蛋白浓度。

**2.2.11 转氨酶检测** 按“2.2.4”项下方法分组、给药与造模, 造模后按“2.2.10”项下方法制备斑马鱼匀浆, 上清液经稀释后, 按照试剂盒说明书检测 ALT 与 AST 的活力。

**2.2.12 氧化应激与脂质相关指标检测** 按“2.2.4”项下方法分组、给药与造模，造模后按“2.2.10”项下方法制备斑马鱼匀浆，上清液经稀释后，按照试剂盒说明书检测 ADH、SOD 活性及 GSH、MDA、TG 水平。

**2.2.13 行为学分析** 按“2.2.4”项下方法分组与给药，造模 1 h 后将斑马鱼置于 96 孔板中，每孔 1 尾，在行为分析仪中记录斑马鱼 1 h 内游动的轨迹与距离，统计总运动轨迹和总运动距离。

## 2.3 网络药理学研究

**2.3.1 交集靶点获取** 采用 TCMSP 平台和 Swisstargetprediction 数据库获取“2.1”项下鉴定的 ILAE 成分的靶点；通过 GeneCards 数据库和 OMIM 数据库，以关键词“alcoholic liver disease”筛选获得 ALD 疾病靶点；利用 Venny 2.1.0 平台获取上述两者的交集靶点。

**2.3.2 交集靶点分析** 将交集靶点导入 String 12.0 平台，选择智人 (homo sapiens) 基因来源，构建蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络，运用 Cytoscape 3.10.2 软件对 PPI 网络进行优化，运用 CytoNCA 与 Cytohubba 插件筛选出核心成分与核心靶点。

**2.3.3 京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路** 与基因本体 (gene ontology, GO) 功能富集分析 使用 Metascape 平台对交集靶点展开 KEGG 通路 & GO 功能富集分析。GO 功能富集分析结果包括细胞成分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 与生物过程 (biological process, BP) 条目。

**2.3.4 分子对接研究** 利用 PubChem 平台获取核心成分的结构数据文件 (structure data file, SDF)；通过 PDB 数据库获取靶点 PDB 文件。首先，去除

蛋白质结构中的原有配体，随后利用 Autodock Tools 1.5.7 软件，分别对蛋白质进行去水分子和加氢原子处理，并对化合物小分子进行加氢原子处理，对接后输出结果。最后，对配体-受体复合物进行可视化。

**2.3.5 Western blotting** 测定斑马鱼中相关蛋白表达按“2.2.4”项下方法分组、给药与造模，每组各取 30 尾斑马鱼，提取总蛋白并检测蛋白浓度。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，转至 PVDF 膜，加入 5% 脱脂牛奶封闭 2 h，分别加入 AKT1 (1 : 3 000)、NF- $\kappa$ B1 (1 : 1 000)、STAT3 (1 : 1 000)、p-AKT1 (1 : 1 500)、p-STAT3 (1 : 1 000)、p-NF- $\kappa$ B1 (1 : 1 000)、 $\beta$ -actin (1 : 15 000) 一抗，4  $^{\circ}$ C 孵育过夜；TBST 洗膜 3 次，每次 10 min，加入羊抗鼠二抗 (1 : 20 000)、羊抗兔二抗 (1 : 20 000)，室温孵育 1 h；TBST 洗膜 3 次，每次 10 min，加入 ECL 化学发光试剂，采用化学发光成像仪采集条带图象，利用 Image J 软件分析条带灰度值。

## 2.4 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.4.0 软件进行统计学分析，数据以  $\bar{x} \pm s$  表示，组间差异比较运用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行显著性分析。

## 3 结果

### 3.1 ILAE 的成分分析结果

采集正、负离子模式下的数据并获得基峰色谱图 (base peak chromatogram, BPC)，见图 1。运用 MSDIAL 软件比对中药高分辨质谱数据库鉴定化合物，选择一级质量误差  $< 2.5 \times 10^{-5}$ 、二级碎片谱图匹配度大于 0.7 的化合物，共鉴定出 56 种成分 (表 1)，其中黄酮类化合物 21 种、酚酸类化合物 15 种、苯丙素类 10 种，还包括萜类、脂肪酸类、有机酸类、氨基酸类、核苷与核苷酸类化合物共 10 种。所鉴定的化合物用于网络药理学分析。

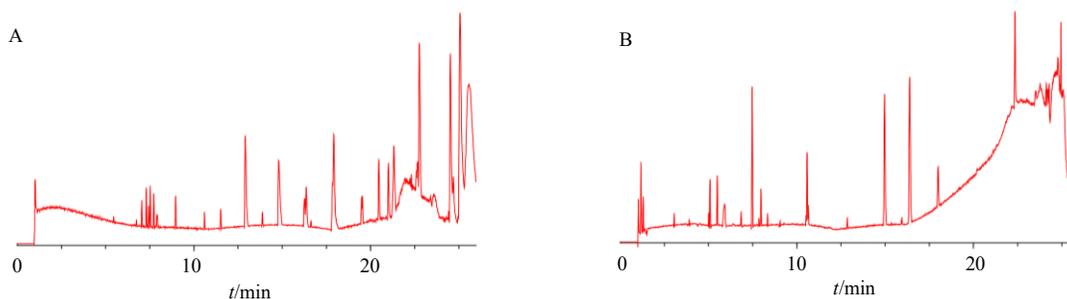


图 1 正 (A)、负离子 (B) 模式下的 BPC 图

Fig. 1 BPC in positive (A) and negative (B) ion modes

表 1 ILAE 的成分鉴定信息

Table 1 Identification information of components in ILAE

序号	<i>t<sub>R</sub></i> /min	化合物	分子式	离子模式	理论值 ( <i>m/z</i> )	误差 ( $\times 10^{-6}$ )	离子碎片
1	1.160	鸟苷 3',5'-环一磷酸	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub> P	[M+H] <sup>+</sup>	346.054 7	0.61	135.030 5, 152.058 0, 346.055 2
2	1.173	柠檬酸	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	191.019 5	0.26	111.008 2, 155.950 9, 191.018 8, 192.022 1
3	1.302	L-焦谷氨酸	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	130.050 1	5.77	84.046 4, 130.050 8
4	1.302	N-乙酰-L-谷氨酸	C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	190.072 6	-3.42	84.046 4, 130.050 8, 172.060 9, 190.071 6
5	1.302	L-谷氨酸	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	146.045 9	2.19	128.034 5
6	1.523	鸟苷	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	284.098 9	1.06	110.035 1, 135.030 3, 152.057 8, 153.059 2, 284.099 1
7	3.057	3-甲基邻苯二酚	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	123.045 2	-10.32	108.020 6, 122.035 9, 123.044 1
8	3.064	秦皮乙素	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	179.033 9	4.19	123.044 7
9	3.806	7-羟基香豆素	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	[M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	163.039 0	1.59	163.039 5, 164.043 0
10	4.341	咖啡酸己糖苷	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	341.087 8	-1.00	135.044 1, 179.034 9
11	5.004	新西兰牡荆苷 2	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	593.151 2	3.20	297.076 4, 325.070 6, 353.066 2, 383.077 2, 413.086 9, 473.108 9, 503.118 8, 593.151 1
12	5.076	咖啡酸	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	179.035 0	-2.63	134.036 5, 135.044 1, 179.034 3
13	5.162	新西兰牡荆苷 3	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	565.150 0	9.08	295.061 4, 307.058 8, 325.073 3, 337.070 3, 349.069 2, 379.076 8, 391.078 4, 409.091 3
14	5.333	夏佛塔苷	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	565.155 2	2.49	295.059 6, 307.058 5, 325.067 7, 337.070 4, 349.072 6, 379.081 5, 391.086 9, 409.091 4
15	5.347	和厚朴酚	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	[M+Na] <sup>+</sup>	289.120 0	-0.76	77.040 5
16	5.397	牡荆素-4''-O-葡萄糖苷	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	595.165 8	0.72	283.060 8, 295.061 4, 313.070 1, 337.071 5
17	5.404	芹菜素-6-C-葡萄糖苷-7-O-葡萄糖苷	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	593.151 2	-1.74	282.052 3, 297.040 8, 311.055 2, 312.055 6, 431.095 8, 473.100 6, 593.151 1, 594.152 8
18	5.489	异牡荆素-2''-O-阿拉伯糖苷	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	563.139 2	2.93	282.051 6, 295.060 2, 353.066 5, 413.087 0, 414.091 9, 443.098 4, 444.103 1, 563.141 2
19	5.490	芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-半乳糖	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	565.155 2	3.03	121.029 7, 295.059 8, 307.060 6, 325.070 8, 337.071 0, 349.071 4, 379.081 3, 391.081 6
20	5.497	爵床脂素 B	C <sub>21</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	379.081 2	0.71	305.083 9, 335.091 3, 336.091 2, 349.071 0, 350.071 8, 379.081 6
21	5.504	4-羟基香豆素	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	163.039 0	-2.82	91.056 1, 119.049 4, 121.029 3, 163.039 4
22	5.725	异夏佛塔苷	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	563.139 2	0.21	295.060 4, 353.065 6, 443.095 1, 563.140 4
23	5.874	异佛来心苷	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	577.158 3	-5.30	353.065 1, 354.048 3, 383.076 5, 577.153 9
24	6.110	芦丁	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	609.146 1	0.49	271.023 1, 300.026 4, 301.011 0, 609.145 6
25	6.175	香豆素	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	147.044 1	8.23	77.040 7, 91.055 9
26	6.217	异牡荆苷	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	431.096 6	3.32	281.042 6, 283.059 3, 311.053 9, 312.058 0, 341.055 3, 431.097 1
27	6.353	异槲皮素	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	463.087 0	1.10	300.027 0
28	6.403	葇荅亭	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	193.050 0	1.97	165.058 6, 193.050 4
29	6.403	邻苯二甲酸	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	167.033 9	2.39	121.029 4, 149.024 3
30	6.502	异迷迭香酸苷	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	521.130 1	0.46	133.028 2, 135.044 3, 161.023 3, 179.033 6, 197.044 0, 323.051 1
31	6.703	阿魏酰酪胺	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	312.123 1	-1.67	117.033 7, 124.897 7, 149.023 0, 145.029 1, 177.054 1, 312.123 0
32	6.809	丹酚酸 A	C <sub>26</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	717.146 1	-0.25	109.028 5, 197.044 3, 277.049 7, 293.043 6, 295.060 2, 321.039 1, 339.049 8, 519.092 0
33	6.852	反式肉桂酸	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	[M-H <sub>2</sub> O+H] <sup>+</sup>	131.049 1	14.73	103.055 4, 131.050 2
34	6.909	沙利酸	C <sub>36</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	719.161 7	1.36	135.044 6, 161.023 6, 162.027 0, 179.034 2, 197.044 7, 341.067 4, 359.077 5, 719.161 6
35	7.002	橙皮苷	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	609.180 9	4.10	609.183 5
36	7.473	迷迭香酸	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	359.077 2	3.06	72.993 5, 123.044 2, 133.028 6, 135.044 2, 161.023 6, 179.034 2, 197.044 5, 359.076 3
37	7.487	6-甲氧基黄烷醇	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	267.066 3	-1.35	222.969 9

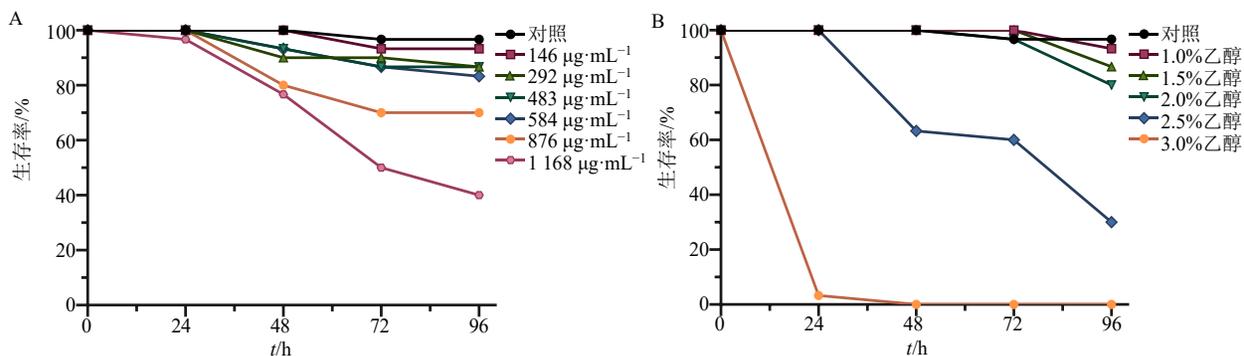
表 1 (续)

序号	$t_R/\text{min}$	化合物	分子式	离子模式	理论值 ( $m/z$ )	误差 ( $\times 10^{-6}$ )	离子碎片
38	7.858	丹酚酸 B	$\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	717.146 1	0.17	109.028 8, 185.023 3, 277.049 6, 279.029 2, 295.059 9, 321.040 3, 339.050 5, 519.092 4
39	7.858	山柰素	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{Na}]^+$	323.045 0	-1.70	323.039 2, 324.058 7
40	7.966	白杨素	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	255.065 2	4.67	255.066 1, 256.068 5, 257.072 3
41	7.966	葛根素芹菜糖苷	$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{13}$	$[\text{M}+\text{Na}]^+$	571.140 0	6.43	571.142 6
42	7.966	葛根素-6''-O-木糖苷	$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{13}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	549.160 0	2.68	549.161 4
43	7.966	6-甲基香豆素	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	161.060 0	-2.73	161.060 7
44	8.344	顺式咖啡酸	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$	163.039 0	4.78	89.040 5, 107.050 7, 117.034 4, 135.045 0, 145.029 8, 163.039 3
45	8.515	反式阿魏酸	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$	177.054 6	-0.56	145.028 2, 177.055 3, 178.057 4
46	8.551	异泽兰黄素	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{Na}]^+$	367.080 0	-19.56	103.055 2, 335.071 5
47	9.000	香橙素	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	289.071 8	0.31	107.050 7, 149.023 9, 167.034 4, 195.021 9, 215.071 6, 243.064 6, 272.051 1, 289.070 1
48	9.001	3,4,5-三羟基苯甲酸乙酯	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{Na}]^+$	221.040 0	23.12	91.044 6, 102.048 6, 107.050 7, 119.050 1, 133.028 7, 135.044 0, 147.043 2, 163.039 7
49	9.242	野漆树苷	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	577.156 3	-1.70	577.153 3
50	9.721	马钱子苷	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$	$[\text{M}+\text{Na}]^+$	413.140 0	6.51	413.142 1
51	14.437	水杨酸乙酯	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	167.070 7	2.69	55.937 1, 77.041 2, 91.055 3, 115.055 0, 119.085 9, 121.029 2, 149.061 1
52	15.343	3-羟基肉桂酸	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	165.054 6	6.18	91.056 0, 119.050 5
53	15.343	大豆苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_9$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	417.120 0	11.34	91.056 0, 128.064 5
54	15.345	香豆酸	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	$[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$	147.044 1	5.71	91.056 0, 119.050 5, 129.070 1, 147.045 1
55	18.319	松脂素	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	359.148 9	-9.86	335.196 0
56	21.293	亚麻酸	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	279.232 8	0.21	84.930 5, 100.930 3, 116.927 9, 117.927 4, 160.841 2, 162.838 8, 279.231 7, 280.234 0

### 3.2 斑马鱼实验结果

**3.2.1 ILAE 耐受性考察** 如图 2-A 所示, 当 ILAE 质量浓度为  $146 \mu\text{g}/\text{mL}$  时, 48 h 内, 幼鱼未表现出明显的发育、形态与行为异常。随着 ILAE 浓度增加至  $292 \mu\text{g}/\text{mL}$ , 10.00% 的幼鱼出现死亡。ILAE 浓度大于  $584 \mu\text{g}/\text{mL}$ , 部分斑马鱼出现脊背弯曲与游动轨迹异常行为, 死亡数量增加。斑马鱼给予 438、 $584 \mu\text{g}/\text{mL}$  ILAE 处理 72 h 的生存率为 86.67%。 $876$ 、 $1\ 168 \mu\text{g}/\text{mL}$  ILAE 处理幼鱼 96 h, 斑马鱼大量死亡。因此后续实验 ILAE 质量浓度控制在  $146 \mu\text{g}/\text{mL}$  及以下。

**3.2.2 造模浓度筛选** 如图 2-B 所示, 当乙醇体积分数为 2.0% 及以下时, 48 h 内, 幼鱼未表现出明显的发育、形态与行为异常。随着乙醇体积分数增加至 2.5%, 36.67% 的幼鱼出现死亡, 部分斑马鱼出现脊背弯曲与游动轨迹异常行为, 存活率下降。当乙醇体积分数达到 3.0%, 斑马鱼 48 h 后全部死亡。斑马鱼给予 1.0%、1.5%、2.0% 乙醇处理 72 h 的生存率为 100%、100%、96.67%。2.5% 乙醇处理幼鱼 96 h, 斑马鱼大量死亡, 生存率为 30%。2.0% 乙醇既兼顾造模效果, 又能保持较高的斑马鱼存活率, 因此后续实验乙醇造模的体积分数控制在 2.0% 及以下。

图 2 ILAE (A) 和乙醇 (B) 对 4 dpf 斑马鱼 96 h 内生存率的影响 ( $n = 30$ )Fig. 2 Effects of ILAE (A) and ethanol (B) on survival rate of 4 dpf zebrafish within 96 h ( $n = 30$ )

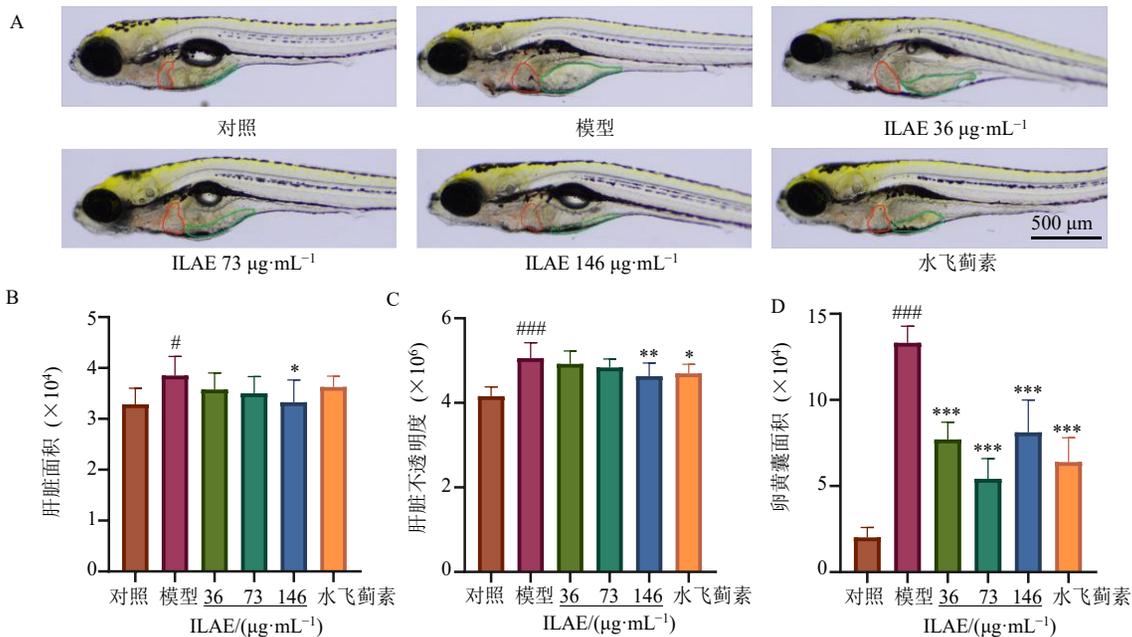
**3.2.3 ILAE 对乙醇诱导的斑马鱼发育的影响** 通过观察斑马鱼的肝脏与卵黄囊等表型指标,判断造模是否成功,评估 ILAE 对乙醇诱导的斑马鱼发育的影响。如图 3 所示,乙醇造模导致斑马鱼发育异常,肝脏形状改变且显著肿大 ( $P<0.05$ ),肝脏不透明度增加 ( $P<0.001$ ),卵黄囊吸收延迟面积增大 ( $P<0.001$ ),心胞水肿、鱼鳔未正常充气; ILAE 处理后能减轻斑马鱼肝脏肿大现象和降低斑马鱼肝脏不透明度,其中 146  $\mu\text{g}/\text{mL}$  组具有统计学差异 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ ),且 ILAE 各给药组均能促进卵黄囊正常吸收 ( $P<0.001$ )。

**3.2.4 ILAE 对乙醇诱导的斑马鱼肝脏病理变化的影响** 如图 4 所示,对照组斑马鱼肝细胞形态结构

完整,而模型组肝细胞核质比增大,排列松散,并伴有大量脂肪空泡,呈现典型脂肪变性特征。与模型组比较,ILAE 组细胞排列紧密,空隙与空泡面积减少,改善效果呈现出一定的剂量相关性。

**3.2.5 ILAE 对乙醇诱导的斑马鱼肝脏脂质积累的影响** 油红 O 染色能够反映斑马鱼肝脏中脂质积累情况,染色深浅与面积大小能够量化脂质水平。如图 5 所示,对照组斑马鱼肝脏染色面积较小,颜色为淡红色。在乙醇诱导下,模型组染色加深,染色面积增大 ( $P<0.001$ );各给药组均能改善斑马鱼肝脏脂质积累的情况,染色面积减小 ( $P<0.001$ )。

**3.2.6 ILAE 对乙醇诱导的斑马鱼体内 ROS 积累的影响** 乙醇及其代谢产物乙醛具有较强的氧化性,



A-斑马鱼表型示意图 ( $\times 20$ ), 红色标记区域代表肝脏, 绿色标记区域代表卵黄囊; B-斑马鱼肝脏面积量化结果; C-斑马鱼肝脏不透明度量化结果; D-斑马鱼卵黄囊面积量化结果; 与对照组比较: <sup>#</sup> $P<0.05$  <sup>##</sup> $P<0.01$  <sup>###</sup> $P<0.001$ ; 与模型组比较: <sup>\*</sup> $P<0.05$  <sup>\*\*</sup> $P<0.01$  <sup>\*\*\*</sup> $P<0.001$ , 下图同。

A-phenotypic schematic of zebrafish ( $\times 20$ ), with red demarcated area indicating liver location and green demarcated area indicating yolk sac location; B-quantitative results of zebrafish liver area; C-quantitative results of zebrafish liver opacity; D-quantitative results of zebrafish yolk sac area; <sup>#</sup> $P<0.05$  <sup>##</sup> $P<0.01$  <sup>###</sup> $P<0.001$  vs control group; <sup>\*</sup> $P<0.05$  <sup>\*\*</sup> $P<0.01$  <sup>\*\*\*</sup> $P<0.001$  vs model group, same as below figures.

图 3 ILAE 对乙醇诱导的斑马鱼发育的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 3 Effect of ILAE on development of ethanol-induced zebrafish ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

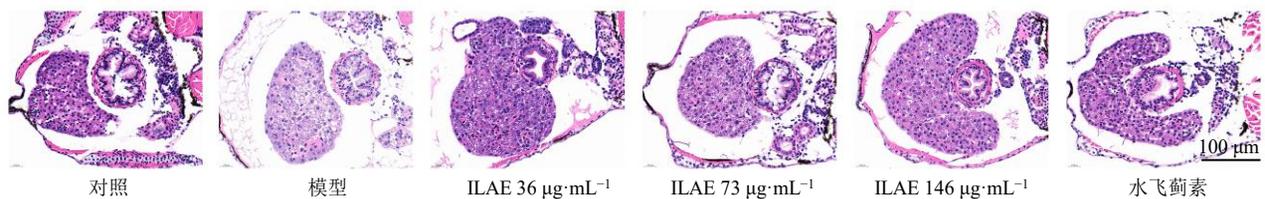


图 4 ILAE 对乙醇诱导的斑马鱼肝脏病理变化的影响 (HE,  $\times 60$ )

Fig. 4 Effect of ILAE on pathological changes in liver of ethanol-induced zebrafish (HE,  $\times 60$ )

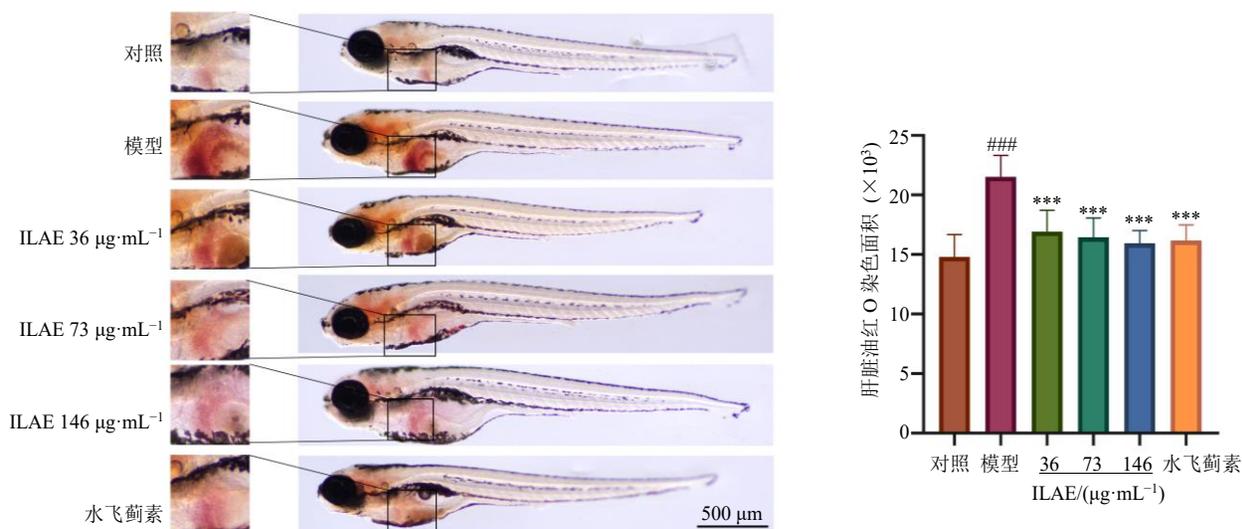


图5 ILAE对乙醇诱导的斑马鱼肝脏脂质积累的影响 (×20;  $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 5 Effect of ILAE on lipid accumulation of ethanol-induced zebrafish (×20;  $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

在乙醇的诱导下, 斑马鱼体内会发生氧化应激, 可通过绿色荧光强度量化 ROS 水平。如图 6 所示, 与对照组比较, 模型组荧光强度显著升高 ( $P < 0.001$ ); 与模型组比较, 各给药组荧光强度显著降低 ( $P < 0.001$ ), 表明 ILAE 能够降低斑马鱼体内氧化应激水平, 减少 ROS 的生成与积累。

**3.2.7 ILAE 对乙醇诱导的斑马鱼体内中性粒细胞数量的影响** 转基因中性粒细胞斑马鱼是研究炎症相关疾病的重要模型。如图 7 所示, 在乙醇诱导下, 斑马鱼体内出现中性粒细胞聚集的情况, 与对照组比较, 细胞数目增加, 总荧光强度增加 ( $P <$

$0.001$ ), 提示斑马鱼体内存在炎症反应; 与模型组比较, 各给药组斑马鱼体内中性粒细胞聚集数量显著降低 ( $P < 0.01、0.001$ ), 表明 ILAE 能够通过减少中性粒细胞数量与聚集来减轻炎症反应, 具有一定的抗炎作用。

**3.2.8 ILAE 对乙醇诱导的斑马鱼体内生化指标的影响** 如图 8 所示, 与对照组比较, 模型组斑马鱼体内 ALT 与 AST 活力显著升高 ( $P < 0.001$ ), 反映肝脏存在损伤; 与模型组比较, ILAE (73、146  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 组和水飞蓟素组斑马鱼体内 ALT 与 AST 活力显著降低 ( $P < 0.05、0.01、0.001$ ), 表明 ILAE 对

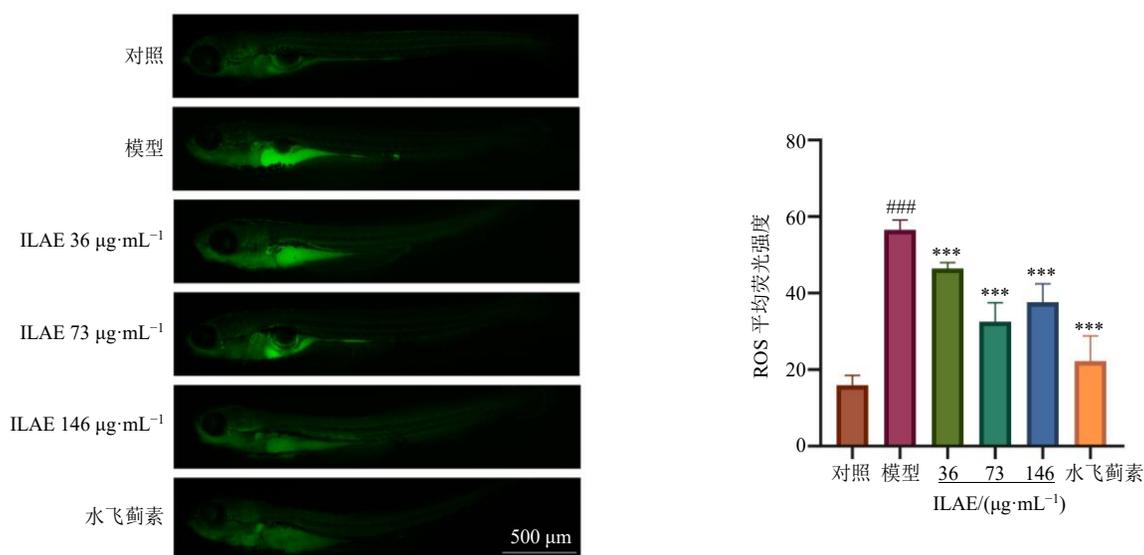


图6 ILAE对乙醇诱导的斑马鱼体内 ROS 水平的影响 (×10;  $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 6 Effect of ILAE on ROS level in ethanol-induced zebrafish (×10;  $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

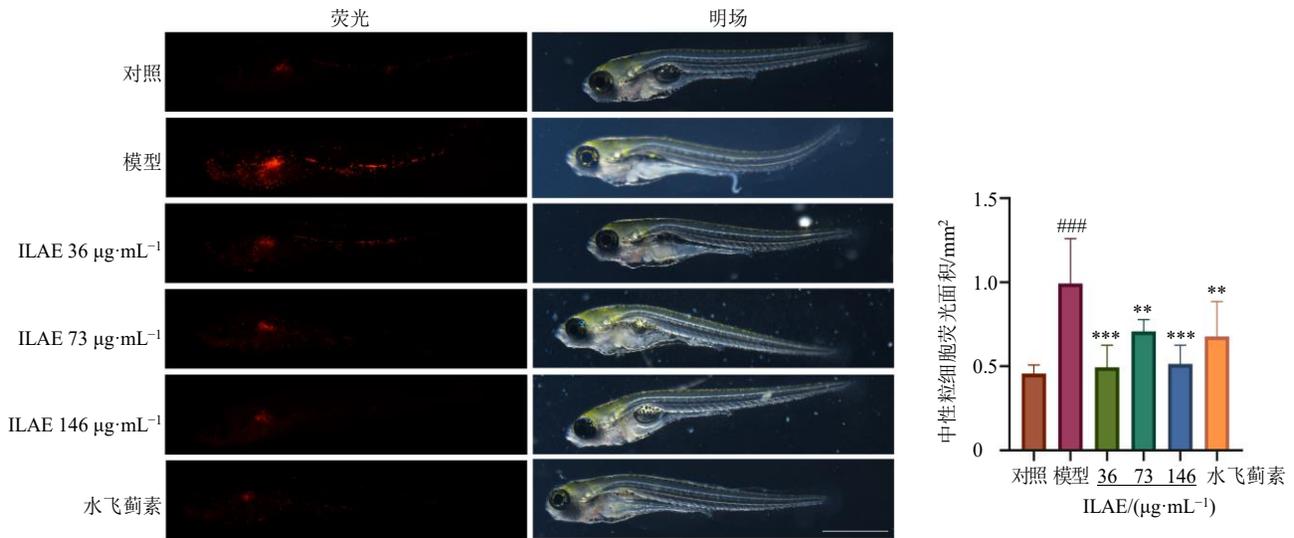


图7 ILAE对乙醇诱导的斑马鱼体内中性粒细胞数量的影响 ( $\times 10$ ;  $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 7 Effect of ILAE on neutrophil infiltration in ethanol-induced zebrafish ( $\times 10$ ;  $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

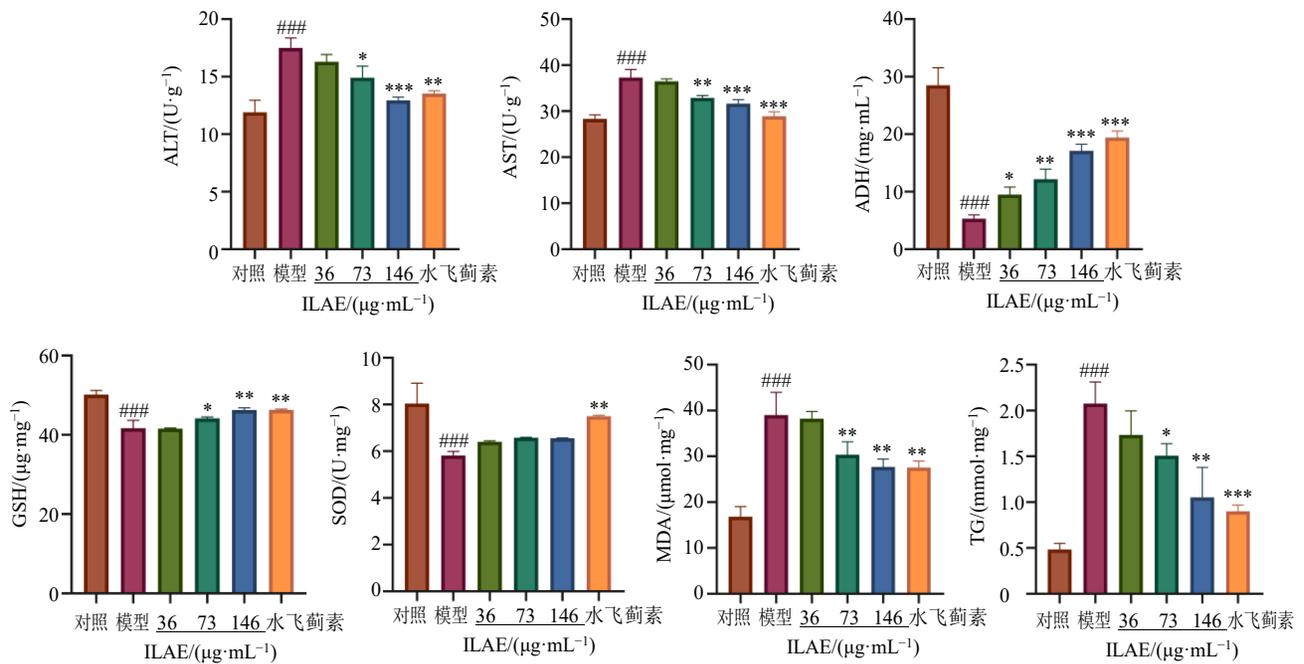
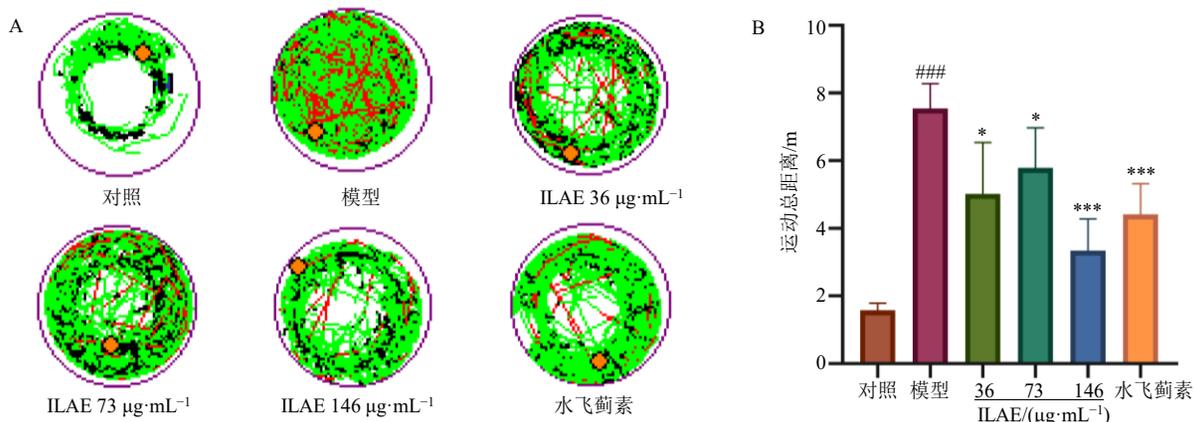


图8 ILAE对乙醇诱导的斑马鱼体内生化指标的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 30$ )

Fig. 8 Effect of ILAE on biochemical parameters in ethanol-induced zebrafish ( $\bar{x} \pm s, n = 30$ )

乙醇诱导的肝损伤具有保护作用。与对照组比较，模型组 ADH 水平显著下降 ( $P < 0.001$ )，表明在乙醇造模下，会消耗斑马鱼肝脏内大量的 ADH；与模型组比较，各给药组均能显著抑制 ADH 的消耗 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ )，表明 ILAE 能够维持斑马鱼体内乙醇代谢能力，减少乙醇异常代谢而造成的影响。同时，与对照组比较，模型组 GSH 水平和 SOD 抗氧化酶活力显著下降 ( $P < 0.001$ )，MDA 与 TG

水平显著升高 ( $P < 0.001$ )；与模型组比较，ILAE (73、146  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 组和水飞蓟素组 GSH 水平显著升高 ( $P < 0.05, 0.01$ )，MDA 与 TG 水平显著降低 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ )，水飞蓟素组 SOD 活力显著升高 ( $P < 0.01$ )，表明 ILAE 能够抵抗由乙醇诱导的氧化应激，减少氧化应激产物与脂质的积累。  
**3.2.9 ILAE 对乙醇诱导的斑马鱼行为学的影响** 如图 9 所示，与对照组比较，在乙醇诱导下，模型



A-斑马鱼造模 1 h 内的运动轨迹图，红色线条代表快速运动，绿色线条代表中速运动，黑色线条代表慢速运动；B-斑马鱼 1 h 内运动总距离。A-movement trajectories of zebrafish within 1 h of modeling, with red lines indicating rapid movement, green lines indicating medium-speed movement, and black lines indicating slow movement; B-total movement distance within 1 h.

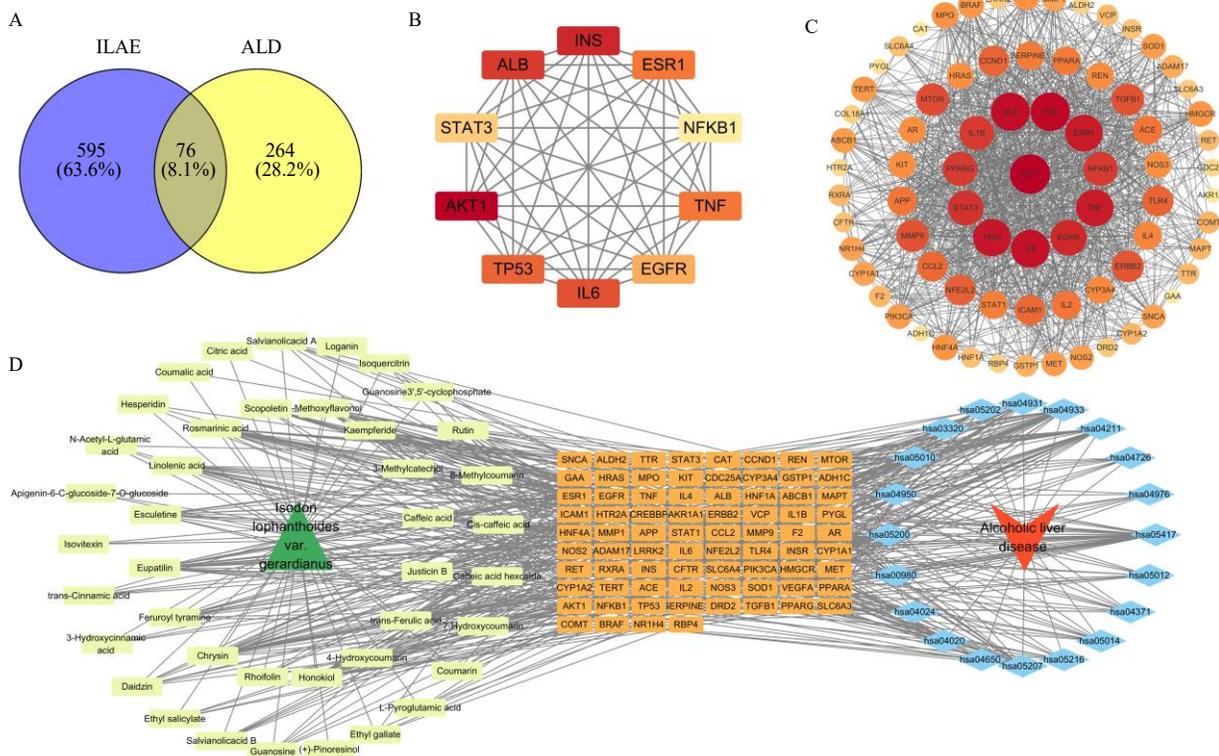
图 9 ILAE 对乙醇诱导的斑马鱼行为学的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 9 Effect of ILAE on ethological alterations in ethanol-induced zebrafish ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组斑马鱼处于醉酒兴奋状态，其运动轨迹变得无序，运动速度加快，总运动距离显著增加 ( $P < 0.001$ )；与模型组比较，各给药组均能减轻斑马鱼的兴奋状态，降低其运动速度，总运动距离显著减少 ( $P < 0.05, 0.001$ )，表明 ILAE 具有一定的解酒与护肝作用。

### 3.3 网络药理学分析与实验验证结果

3.3.1 交集靶点获取与网络构建结果 借助 Swiss TargetPrediction 与 TCMSP 数据库，共得到化合物靶点 671 个。GeneCards 数据库结合 OMIM 数据库，共获得疾病靶点 340 个。利用 Venny 2.1.0 平台，获得两者交集靶点 76 个 (图 10-A)。利用 Cytoscape



A-交集靶点韦恩图；B-排名前 10 的核心靶点；C-PPI 网络图；D-“成分-靶点-通路”网络。  
A-Venn diagram of intersecting targets; B-top 10 core targets; C-PPI network; D-“component-target-pathway” network.

图 10 ILAE 改善 ALD 的交集靶点获取与分析

Fig. 10 Screening and analysis of intersecting targets for ILAE in improving ALD

软件优化 TSV 格式文件, 得到 PPI 网络(图 10-C), 靶点越大, 颜色越深, 表示其度值越高, 重要程度越高。白杨素、异泽兰黄素、迷迭香酸、和厚朴酚、山柰素、反式阿魏酸、亚麻酸、6-甲氧基黄烷醇、咖啡酸与 7-羟基香豆素被预测为核心成分(表 2)。以度值为依据, 得出 AKT1、胰岛素(insulin, INS)、白蛋白(albumin, ALB)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤蛋白 53(tumor protein 53, TP53)、

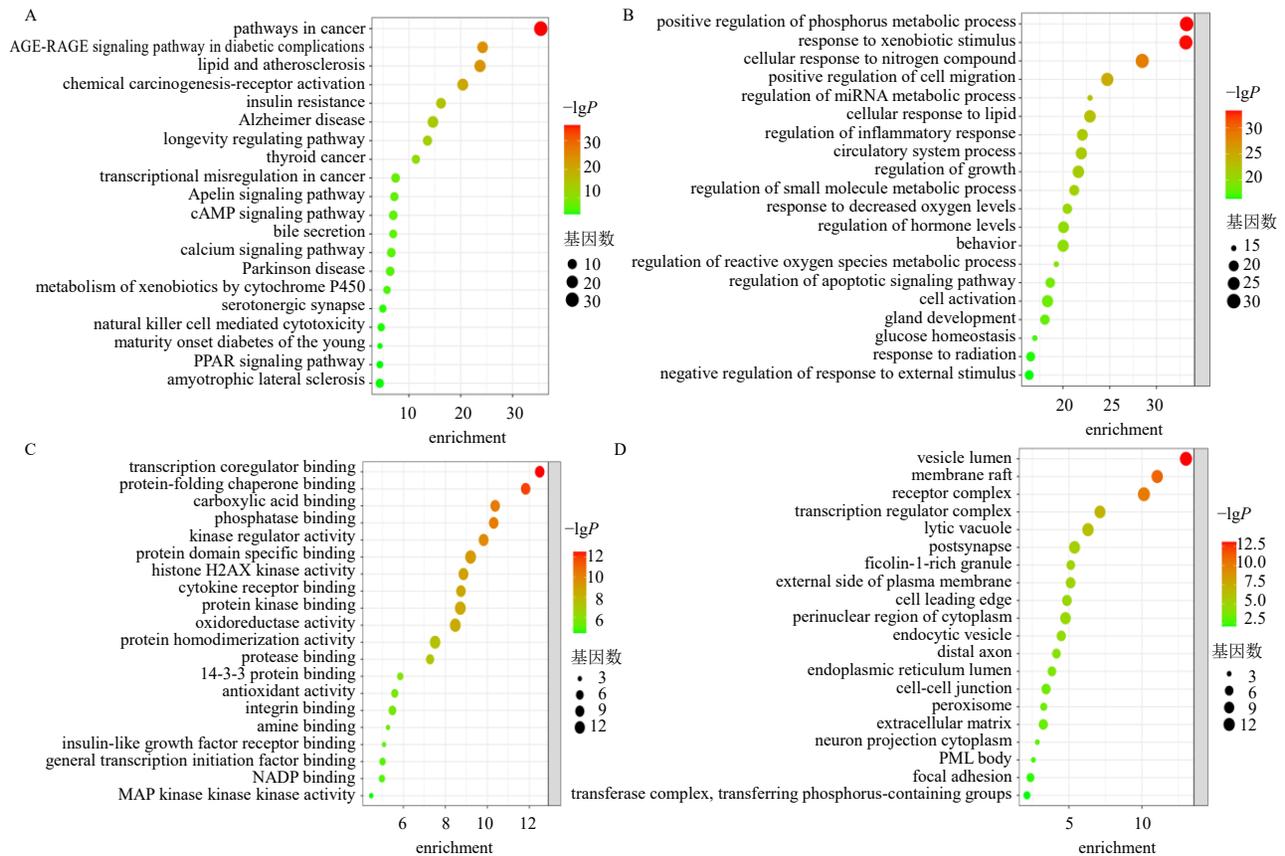
雌激素受体  $\alpha$  (estrogen receptor  $\alpha$ , ESR1)、肿瘤坏死因子(tumour necrosis factor, TNF)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、STAT3、NF- $\kappa$ B1 为排名前 10 的核心靶点(图 10-B)。“成分-靶点-通路”网络图见图 10-D。

**3.3.2 KEGG 通路与 GO 功能富集分析** 分析结果得到 20 条排名靠前的 KEGG 代谢通路(图 11-A), 包含脂质和动脉粥样硬化、胰岛素抵抗、胆汁酸分泌与过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ , PPAR $\alpha$ ) 等通路, 表明 ILAE 可能通过作用于这些通路来改善 ALD。各条目选择排名前 20 条的 GO 富集分析, BP 包括对外源刺激的反应、细胞对脂质的反应、炎症反应的调控、活性氧代谢的调控、凋亡信号通路的调控等; MF 包括细胞因子受体结合、氧化还原酶、抗氧化活性、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK) 活性等; CC 包括受体复合物、转录调控复合体、过氧化物酶体、细胞外基质等。绘制 GO 富集结果气泡图, 如图 11-B~D 所示。

表 2 ILAE 改善 ALD 的核心成分

**Table 2 Core components of ILAE in improving ALD**

序号	成分	CAS 号	度值
1	白杨素	480-40-0	22
2	异泽兰黄素	22368-21-4	22
3	迷迭香酸	20283-92-5	20
4	和厚朴酚	35354-74-6	19
5	山柰素	491-54-3	19
6	反式阿魏酸	537-98-4	17
7	亚麻酸	463-40-1	16
8	6-甲氧基黄烷醇	93176-00-2	14
9	咖啡酸	331-39-5	14
10	7-羟基香豆素	93-35-6	12



A-通路富集分析; B-GO BP 富集分析; C-GO MF 富集分析; D-GO CC 富集分析。

A-pathway enrichment analysis; B-GO BP enrichment analysis; C-GO MF enrichment analysis; D-GO CC enrichment analysis.

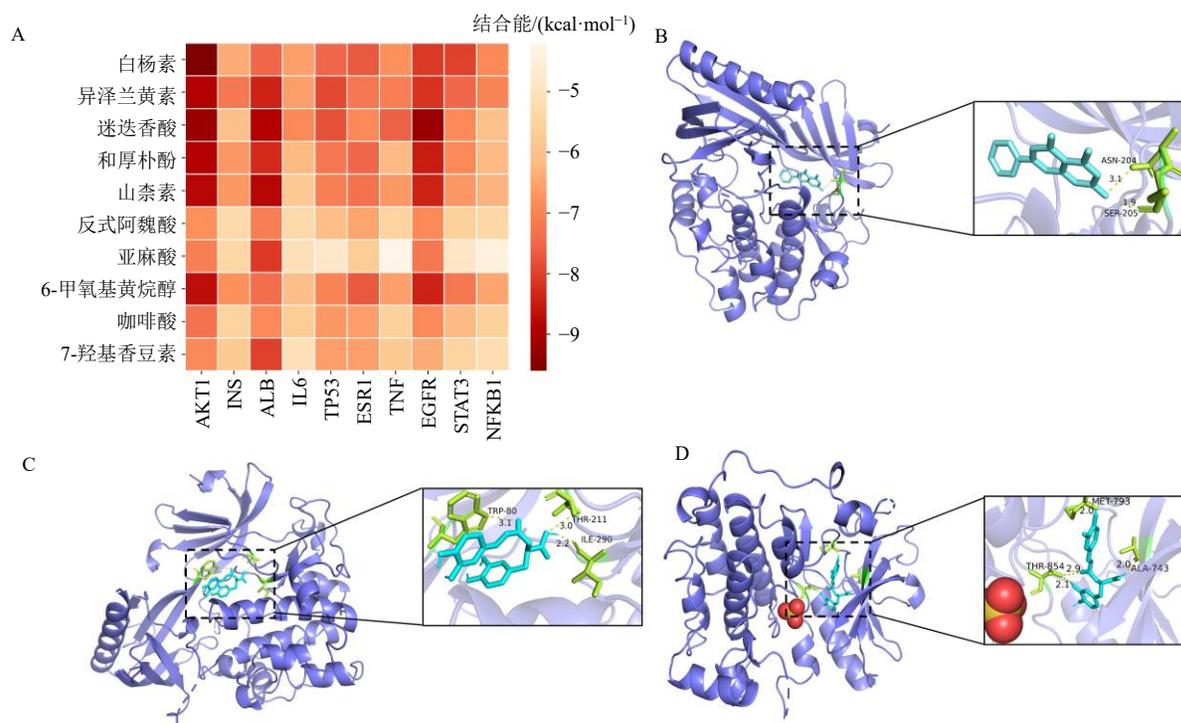
图 11 ILAE 改善 ALD 的 KEGG 与 GO 富集分析

Fig. 11 KEGG and GO enrichment analysis of ILAE in improving ALD

**3.3.3 分子对接结果** 分子对接中大部分对接结果结合能为-5.0~-9.6 kcal/mol (1 kcal/mol=4.182 kJ/mol), 表明核心成分与靶点的结合力较强。根据文献报道, 结合能 $\leq -4$  kcal/mol 时, 具有结合活性; 结合能 $\leq -5$  kcal/mol 时, 结合活性较强; 结合能 $\leq -7$  kcal/mol 时, 结合活性极强<sup>[13]</sup>。

分子对接结果(图 12-A)中, 42 组结合活性极强, 54 组结合活性较强, 4 组有结合活性。对结果 $\leq -9.0$  kcal/mol 的配体-受体复合物进行可视化, 如图 12-B~D 所示, 发现化合物与核心靶点之间通

过多个氢键进行连接, 结合力较强, 化合物具有调节核心靶点的潜力。白杨素通过 AKT1 蛋白的 ASN-204、SER-205 形成相互作用, 结合能为-9.6 kcal/mol。迷迭香酸通过 AKT1 蛋白的 TRP-80、THR-211、ILE-290 形成相互作用, 结合能为-9.2 kcal/mol。迷迭香酸通过 EGFR 蛋白的 THR-854、MET-793、ALA-743 形成相互作用, 结合能为-9.2 kcal/mol。表明 ILAE 可能是通过作用于 AKT1、INS、ALB、IL-6、TP53、ESR1、TNF、EGFR、STAT3 与 NF- $\kappa$ B1 等靶点来改善 ALD。



A-分子对接结合能热图 (1 kcal·mol<sup>-1</sup>=4.182 kJ·mol<sup>-1</sup>); B-白杨素-AKT1; C-迷迭香酸-AKT1; D-迷迭香酸-EGFR。

A-heatmap of molecular docking binding energies (1 kcal·mol<sup>-1</sup>=4.182 kJ·mol<sup>-1</sup>); B-chrysin-AKT1; C-rosmarinic acid-AKT1; D-rosmarinic acid-EGFR.

图 12 核心成分与核心靶点分子对接结果

Fig. 12 Molecular docking results of core components with core targets

**3.3.4 ILAE 对乙醇诱导的斑马鱼体内相关蛋白表达的影响** 如图 13 所示, 与对照组比较, 模型组斑马鱼体内 AKT1 蛋白及其磷酸化形式的表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ), NF- $\kappa$ B1 与 STAT3 蛋白及其磷酸化形式的表达水平显著升高 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ); 与模型组比较, ILAE 高剂量组 AKT1 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ ), ILAE 中、高剂量组和水飞蓟素组 p-AKT1 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ), 各给药组 NF- $\kappa$ B1 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ ), ILAE 中、高剂量组和水飞蓟素组 p-NF- $\kappa$ B1 蛋白表达水平显著降低

( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ), ILAE 中、高剂量组 STAT3 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), ILAE 中剂量组和水飞蓟素组 p-STAT3 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。表明 ILAE 可通过调节 AKT1/NF- $\kappa$ B1/STAT3 信号通路对乙醇诱导的斑马鱼肝损伤发挥潜在的保护作用。

#### 4 讨论

ALD 在世界范围内造成了沉重的公共卫生负担。目前公认的 ALD 发病机制为酒精摄入通过增加肠源性内毒素向门静脉循环的转运, 并通过脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) /Toll 样受体 4 (Toll-

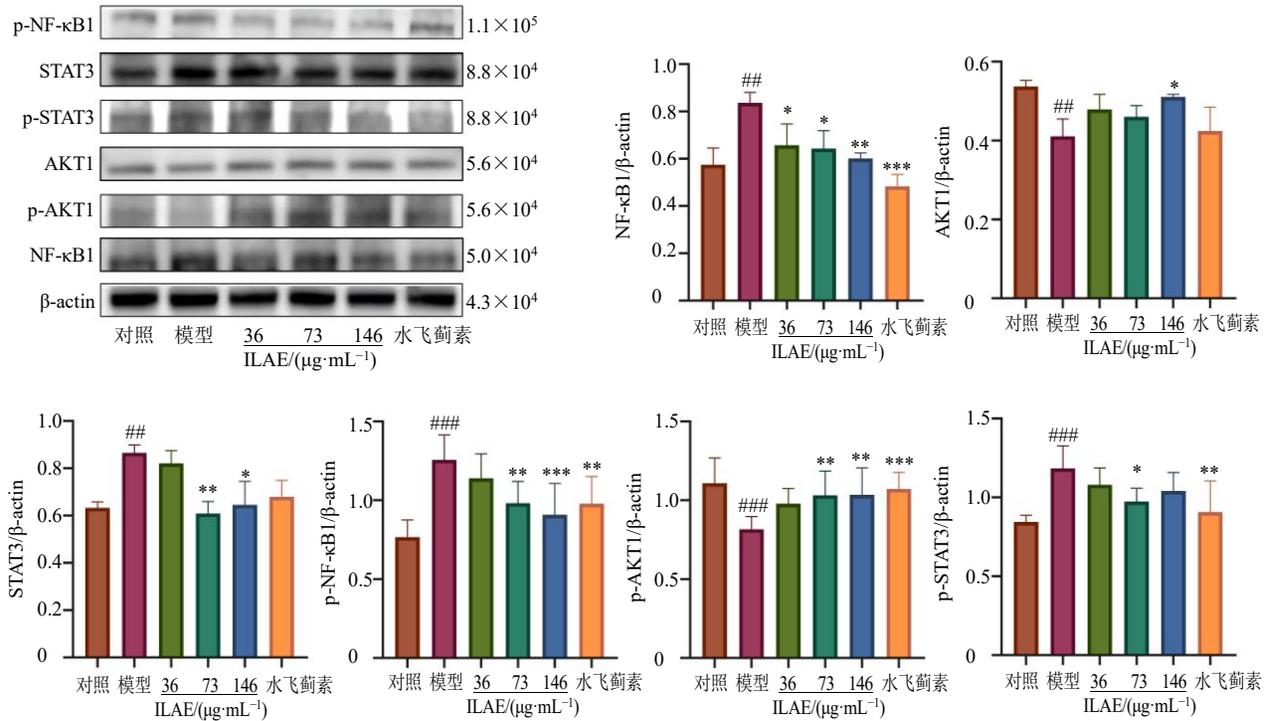


图 13 ILAE 对乙醇诱导的斑马鱼体内相关蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig. 13 Effect of ILAE on expressions of related protein in ethanol-induced zebrafish ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

like receptor 4, TLR4) 途径激活 Kupffer 细胞产生 TNF- $\alpha$  促进肝脏炎症, 诱导肝细胞损伤。当酒精摄入长期过量时, 通过产生乙醛、ROS 和内质网应激引起脂肪变性。ROS 抑制肝脏关键转录调节因子, 如腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK) 和 PPAR $\alpha$ , 负责脂肪酸氧化和通过乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase, ACC) 和肉碱棕榈酰转移酶-1 (carnitine palmitoyltransferase-1, CPT-1) 的输出。阻断 AMPK 会导致固醇调节元件结合转录因子-1 (sterol regulatory element-binding protein-1, SREBP-1) 的过表达, 从而导致从头合成脂肪的增加<sup>[14-16]</sup>。

本研究采用 2%乙醇诱导斑马鱼 ALD 模型, 评估 ILAE 的肝保护作用。结果表明, ILAE 可显著改善乙醇引起的肝脏肿大、卵黄囊吸收延迟、鱼鳃发育异常和心胞水肿等表型, 并逆转乙醇导致的抗氧化酶活性下降、炎症上升及脂质代谢紊乱等生化指标异常。行为学实验结果显示, ILAE 能有效缓解乙醇诱发的斑马鱼异常兴奋行为 (如转圈、抖动) 及游动轨迹异常。该斑马鱼模型可用于快速筛选 ILAE 的适宜浓度与毒性剂量, 为提高实验效率、降低研究成本及后续量效关系分析提供了参考。

ILAE 可通过减轻氧化应激和炎症反应来缓解 ALD。乙醇在斑马鱼体内代谢产生大量乙醛和 ROS, 导致脂质过氧化产物 MDA 增加, TG 积累, 消耗 ADH 和抗氧化物质 (如 SOD 和 GSH), 肝细胞受损和凋亡<sup>[17-18]</sup>。ILAE 处理提高了 SOD 活性和 GSH 水平, 降低 ROS、MDA 与 TG 水平, 增强抗氧化能力, 从而保护肝细胞。此外, 乙醇引发的氧化应激可激活炎症信号, 引起中性粒细胞向肝脏迁移, 进一步加剧肝损伤<sup>[19]</sup>。ILAE 能减少中性粒细胞的数量与聚集, 可能通过促进其凋亡和清除, 抑制其活化, 从而减轻中性粒细胞介导的炎症反应, 改善肝损伤状况。

网络药理学所筛选 ILAE 的核心成分中, 白杨素、迷迭香酸、咖啡酸与 7-羟基香豆素在 ILAE 中的相对含量较高。白杨素为黄酮类化合物, 具有抗氧化与抗炎作用, 可诱导各种细胞凋亡, 其可通过靶向 TP53, 加剧线粒体自噬依赖性凋亡, 从而抑制肝癌细胞增殖的分子机制<sup>[20]</sup>; 迷迭香酸为唇形科植物中富含的酚酸类成分, 其抗氧化活性强于维生素 E 等多种抗氧化剂, 通过提供氢原子或电子中和自由基, 从而阻断氧化链式反应, 减轻氧化应激损伤<sup>[21]</sup>; 咖啡酸具有抗氧化、减少脂质积累、降低血糖等药理作用, 可通过靶向 Kelch 样 ECH 相关蛋

白1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 激活核因子 E2 相关因子-2 (nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2) 来减轻肝细胞中的氧化损伤和脂质积累, 从而改善代谢功能障碍相关的脂肪性肝病<sup>[22]</sup>。分子对接结果显示白杨素与 AKT1、迷迭香酸与 AKT1、迷迭香酸与 EGFR 具有较好的结合效果, 结合能均 < -9.0 kcal/mol, 说明白杨素和迷迭香酸具有良好的对接活性。网络药理学所预测的核心成分中, 大部分成分表现出改善 ALD 的潜在作用, 具有研究价值。

所筛选核心靶点与 ALD 的机制相关性已有相关报道。AKT1 属于蛋白激酶 B 家族中的一员, 对细胞增殖、生长、糖代谢及凋亡等生命活动具有调控作用。可通过调控磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K)、Akt 和 B 细胞淋巴瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 蛋白表达改善 ALD 斑马鱼模型<sup>[23]</sup>; 肝脏是重要的胰岛素敏感器官, 而胰岛素抵抗可导致肝脏代谢基因表达异常和糖代谢受损<sup>[24]</sup>; 乙醇在肝脏中引发细胞免疫反应, 炎症因子 TNF- $\alpha$  与 NF- $\kappa$ B 的分泌增加, 加重炎症反应, 最终导致或加重 ALD<sup>[25]</sup>。可通过下调肝细胞中磷酸化的 NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$  和 I $\kappa$ B 激酶  $\alpha$  (inhibitor of kappa B kinase  $\alpha$ , IKK $\alpha$ ) 进而降低诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、IL-1 $\beta$  和 IL-6 的分泌来预防酒精诱导的肝脏炎症<sup>[26]</sup>。这些因素改变又可以降低 STAT3 的表达, 降低其持续激活, 减缓炎症<sup>[27]</sup>。而血清 ALB 主要作用是维持机体营养供应与渗透压平衡。肝脏为体内 ALB 唯一的合成器官, 当肝功能受损时, ALB 的合成能力下降, 含量明显降低<sup>[28]</sup>。

综上, ILAE 可能通过白杨素、迷迭香酸、咖啡酸与 7-羟基香豆素等成分, 作用于 AKT1、NF- $\kappa$ B1 与 STAT3 等靶点, 参与脂质代谢、胰岛素抵抗、胆汁酸分泌、氧化应激、炎症反应与外源物质代谢等途径起到改善 ALD 的作用。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Moon S Y, Son M, Kang Y W, *et al.* Alcohol consumption and the risk of liver disease: A nationwide, population-based study [J]. *Front Med*, 2023, 10: 1290266.
- [2] Wu X Q, Fan X D, Miyata T, *et al.* Recent advances in understanding of pathogenesis of alcohol-associated liver disease [J]. *Annu Rev Pathol*, 2023, 18: 411-438.
- [3] Mackowiak B, Fu Y J, Maccioni L, *et al.* Alcohol-associated liver disease [J]. *J Clin Invest*, 2024, 134(3): e176345.
- [4] 侯少贞, 梁颖敏, 张洁, 等. 狭基线纹香茶菜保肝、利胆的实验研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2010, 21(6): 605-608.
- [5] 广东省中药材标准 [S]. 第 2 册. 2011: 347-353.
- [6] 赵竟成, 李治建, 霍仕霞, 等. 基于斑马鱼模型的补骨脂不同炮制品水提物急性毒性及肝毒性差异比较 [J]. *中草药*, 2024, 55(1): 101-113.
- [7] 原杨, 尚悦, 王鹏, 等. 基于斑马鱼模型的中药致肝脏毒性评价的研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(5): 933-940.
- [8] 钟景斌, 刘文彬, 王晖. 基于网络药理学探讨溪黄草黄酮类成分对酒精性肝病的作用机制 [J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(4): 667-675.
- [9] 刘文彬, 钟景斌, 王晖. 基于网络药理学探讨溪黄草治疗酒精性肝损伤的作用机制 [J]. *食品工业科技*, 2022, 43(6): 9-17.
- [10] 戴明珠, 郭胜亚, 徐懿乔, 等. 用于功效评价的斑马鱼转换人用剂量的换算方法: 中国, CN113496071B [P]. 2024-07-30.
- [11] Zhao X T, Gong L H, Wang C, *et al.* Quercetin mitigates ethanol-induced hepatic steatosis in zebrafish via P2X7R-mediated PI3K/Keap1/Nrf2 signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 268: 113569.
- [12] Liu Y S, Yuan M H, Zhang C Y, *et al.* Puerariae Lobatae Radix flavonoids and puerarin alleviate alcoholic liver injury in zebrafish by regulating alcohol and lipid metabolism [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 134: 111121.
- [13] 石峻力, 王旭, 盛沛, 等. 运用数据挖掘和网络药理学探讨糖尿病认知功能障碍中医用药规律和作用机制 [J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(7): 1223-1235.
- [14] Lai W W, Zhang J H, Sun J W, *et al.* Oxidative stress in alcoholic liver disease, focusing on proteins, nucleic acids, and lipids: A review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 278(Pt 3): 134809.
- [15] Zhang Y, Wang H Y, Zheng Y H, *et al.* Degradation of *Angelica sinensis* polysaccharide: Structures and protective activities against ethanol-induced acute liver injury [J]. *Carbohydr Polym*, 2024, 328: 121745.
- [16] Li S Z, Zhou C, Liu T, *et al.* Causal relationships between the gut microbiota, inflammatory cytokines, and alcoholic liver disease: A Mendelian randomization analysis [J]. *Front Endocrinol*, 2024, 15: 1442603.
- [17] Tao X Y, Wu Y X, Li X, *et al.* Investigation of the protection from liver injury and pharmacokinetics of

- Baijiu with fermented ginseng in rat and zebrafish models [J]. *Chin J Anal Chem*, 2022, 50(11): 100068.
- [18] Ma C, Cheng X, Hu M, *et al.* The role of bioactive compounds in the management of metabolic and alcohol-related liver disease [J]. *Life Sci*, 2025, 373: 123660.
- [19] ElBaset M A, Salem R S, Ayman F, *et al.* Effect of empagliflozin on thioacetamide-induced liver injury in rats: Role of AMPK/SIRT-1/HIF-1 $\alpha$  pathway in halting liver fibrosis [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(11): 2152.
- [20] He K H, Feng R T, Qi W C, *et al.* Chrysin exacerbates mitophagy-mediated pyroptosis to inhibit the proliferation of hepatocellular carcinoma cells by targeting p53 [J]. *Food Biosci*, 2024, 62: 105148.
- [21] 杨雨晴, 范书生, 刘晓云, 等. 地椒通过抗氧化作用减轻脑缺血再灌注损伤的药效评价 [J]. *中草药*, 2025, 56(23): 8623-8633.
- [22] Zhang J Y, Ouyang H, Gu X N, *et al.* Caffeic acid ameliorates metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease via alleviating oxidative damage and lipid accumulation in hepatocytes through activating Nrf2 via targeting Keap1 [J]. *Free Radic Biol Med*, 2024, 224: 352-365.
- [23] Wu Y X, Liu S H, Ren T, *et al.* Ginseng fermentation solution affects the gut microbiota in zebrafish with alcoholic liver disease via PI3K/Akt pathway [J]. *Phytomedicine*, 2024, 128: 155495.
- [24] 韩蕊. 肝窦内皮细胞中的 UGCG 在代谢功能障碍相关的脂肪性肝病和胰岛素抵抗中的功能和机制研究 [D]. 北京: 军事科学院, 2025.
- [25] 高满军, 王浩, 陈迷, 等. 茯苓水提物对酒精性肝损伤的保护作用及其作用机制 [J]. *中国医院药学杂志*, 2024, 44(17): 2008-2014.
- [26] 王浩, 史雯馨, 邵仕娟, 等. 基于 NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路和代谢组学的复方枳葛饮对慢性酒精性肝损伤的保护作用及机制研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(5): 2297-2307.
- [27] Zhao J, Qi Y F, Yu Y R. STAT3: A key regulator in liver fibrosis [J]. *Ann Hepatol*, 2021, 21: 100224.
- [28] 陈然然, 王佳怡, 张晴, 等. 蜜环菌多糖对酒精性肝损伤保护作用 [J]. *食用菌学报*, 2025, 32(2): 30-38.

[责任编辑 李亚楠]