

基于网络药理学与分子对接技术探讨 葛根-黄芪药对治疗酒精性脑病的作用机制*

乔阳¹,袁庆²,陈红阳³,贾壮壮²,刘震^{1△}

1 包头市中心医院,内蒙古 包头 014040; 2 天津中医药大学,天津 301617;

3 天津市中医药研究院附属医院,天津 300120

[摘要] 目的:基于网络药理学及分子对接技术探讨葛根-黄芪药对治疗酒精性脑病(alcoholic encephalopathy, AE)的作用机制。方法:利用中药系统药理学数据库与分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSP)获得葛根、黄芪的活性成分及蛋白靶点;通过人类基因数据库(the human gene database, GeneCards)、STRING数据库和Cytoscape-v3.8.2软件筛选AE疾病靶点;对药物活性成分与疾病靶点的交集进行基因本体论(gene ontology, GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析;通过AutoDock Vina软件进行分子对接验证。结果:共获得葛根-黄芪药对12种有效活性成分,包括芒柄花素、 β -谷甾醇、7-O-甲基异木糖醇等;得到10个AE与葛根-黄芪药对共同靶点;GO功能富集分析得到929个功能项,主要包括髓样白细胞分化、脱氧核糖核酸转录、上皮细胞迁移、转录调节复合物等;KEGG通路富集分析共获得86条信号通路,其中AGE-RAGE、IL-17、GnRH、Th1和Th2细胞分化、Fc ϵ RI等信号通路与AE关系最为密切;药物成分与核心靶点之间具有良好的结合能力。结论:葛根-黄芪药对治疗AE具有多成分、多靶点、多机制的特点,作用机制主要与神经保护、抑制神经元凋亡、提高免疫力、抗氧化应激、抗炎、改善微循环等有关。

[关键词] 酒精性脑病;葛根;黄芪;药对;网络药理学;分子对接;作用机制

[中图分类号] R259 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2025)06-0072-06

The Mechanism of *Gegen-Huangqi* in the Treatment of Alcoholic Encephalopathy: Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

QIAO Yang¹, YUAN Qing², CHEN Hongyang³, JIA Zhuangzhuang², LIU Zhen^{1△}

1 Baotou Central Hospital, Baotou 014040, China;

2 Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China;

3 Tianjin Academy of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital, Tianjin 300120, China

Abstract Objective: To discuss the mechanism of *Gegen* (*Puerariae lobatae radix*)-*Huangqi* (*Astragali radix*) in the treatment of alcoholic encephalopathy (AE) based on network pharmacology and molecular docking. Methods: Active ingredients and protein targets of *Gegen* and *Huangqi* were obtained using TCMSP; AE-related targets were screened via GeneCards, STRING databases and Cytoscape-v3.8.2; GO and KEGG were performed on the intersection of active herbal ingredients and the targets of diseases; molecular docking was verified via AutoDock Vina software. Results: All 12 effective active ingredients were obtained from the drug combination, including fermononetin, β -sitosterol, 7-O-methylxylitol. Ten common targets between AE and the drug combination were gained; GO functional enrichment analysis yielded 929 items, mainly covering myeloid differentiation, deoxyribonucleic acid transcription, epithelial cell migration and transcriptional complex; KEGG pathway enrichment analysis gained 86 signaling pathways, among them, AGE-RAGE, IL-17, GnRH, Th1 and Th2 cell differentiation, Fc ϵ RI and other signaling pathways were closely related to AE; herbal components and core targets present good binding ability. Conclusion: *Gegen-Huangqi* could treat AE with the characteristics of multiple ingredients, multiple targets and multiple mechanisms, and the mechanism is mainly related to neural protection, the inhibition of neuronal apoptosis, improvement of immunity, antioxidant stress, anti-inflammation, and improvement of microcirculation.

Keywords alcoholic encephalopathy; *Gegen*; *Huangqi*; drug combination; network pharmacology; molecular docking; mechanism

酒精性脑病(alcoholic encephalopathy, AE)是由于长期过量饮酒导致营养代谢紊乱,从而对机体中枢神经系统造成严重损害,主要临床表现包括反应迟钝、精神障碍、共济失调、眼球运动障碍和癫痫发作等^[1]。解酒毒是中药葛根的主要功效之一,现代药理学研究表明,葛根还具有神经保护、抑制神经元凋亡、提高免疫力、增强心肌收缩力、抗氧化应激、改善微循环等药理作用,能够减轻脑水肿,加速肝脏酒精代谢,减少有毒代谢中间产物的产生,改善脑水肿周围组织局部血流,提高慢性缺血引起的血管性痴呆动物模型的学习记忆能力等^[2-3]。中药黄芪为豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪的干燥根,性微温,味甘,归脾、肺、肝、肾经,具有补气升阳,益卫固表等功效,还能减轻全身炎症反应,减少海马神经细胞凋亡数量,增加损伤性细胞凋亡,减轻神经组织损伤,促进血管、神经再生与修复,降低脊髓组织含水量,减轻脑水肿,抑制神经炎症,保护神经结构及功能等作用^[4]。

网络药理学利用公共数据库进行生物信息分析,多方面预测中药成分对疾病的作用机制,通过构建可视化网络模型,使结果更为清晰,在药物研究中应用广泛^[5]。分子对接可通过计算药物成分与靶蛋白之间的结合能,预测其结合形式与结合能力。由于葛根-黄芪药对药物成分及药代动力学特性复杂,其治疗AE的有效成分与作用机制尚未明确,本研究采用网络药理学方法和分子对接技术探讨葛根-黄芪药对治疗AE的作用机制,以期为葛根-黄芪药对的实验及临床研究提供参考。

1 研究方法

1.1 葛根-黄芪药对活性成分及靶点蛋白筛选 运用中药系统药理学数据库与分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TC-MSP)(<http://tcmsp.com/tcmsp.php>),以葛根、黄芪为检索词,口服生物利用度(oral bio-availability, OB)≥30%、类药性(drug likeness, DL)≥0.18、血脑屏障(blood brain barrier, BBB)≥-0.3为条件筛选葛根、黄芪有效成分与靶蛋白,并导入UniProt数据库(<https://www.uniprot.org/>)标准化处理蛋白名称。

1.2 AE与葛根-黄芪药对共同靶点筛选 以“Alcoholic encephalopathy”为检索词、相关性评分>2为条件,在人类基因数据库(the human gene database, GeneCards)(<http://www.gene-cards.org/>)中获取AE疾病相关蛋白靶点,再利

用STRING数据库(<http://string-db.org>),以中等置信度=0.9为条件预测蛋白相互作用关系。采用Cytoscape-v3.9.0软件,在度值、介度、紧密度、网络中心性和局部边缘通性均大于中位值的条件下,对AE疾病相关蛋白靶点进行2次筛选,并与葛根-黄芪药对蛋白靶点取交集。

1.3 基因本体论(gene ontology, GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析 将“1.2”项中交集蛋白靶点通过Rx64 4.0.2软件,以 $P < 0.05$ 为筛选条件进行GO功能富集和KEGG通路富集分析。GO功能富集分析主要包括生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)和细胞组成(cellular component, CC),将GO功能富集分析得到的3个部分各取排名前10的功能绘制成条形图;将KEGG通路富集分析得到的前30条通路绘制气泡图。通过查阅文献筛选疾病相关通路并于KEGG富集结果中获取富集蛋白,利用STRING数据库和Cytoscape-v 3.8.2软件筛选富集蛋白的核心,分析通路与靶点的拓扑关系。

1.4 药物成分-靶点拓扑分析网络构建 将葛根、黄芪的活性成分和通路富集蛋白导入Cytoscape-v 3.8.2可视化软件,构建成成分靶标网络,其中节点代表活性成分和靶标,边代表节点间的相互作用。

1.5 分子对接验证 以通路富集蛋白为受体、相应中药组分为配体,进行分子对接。利用Chem3D软件对中药组分的二维结构进行变换和优化,保存为lig. mol2;通过PDB数据库(<http://www.rcsb.org/>)获取靶蛋白的晶体结构,并通过PyMOLWin. exe软件处理去除 H_2O 和小分子配体,保存为rep. pdb;将rep. pdb和lig. mol2导入AutoDock Tools 1.5.6中转化为PDBQT格式,并确定活性位点;利用AutoDock Vina进行分子对接,选取与靶蛋白对接结合能最低的组分,利用PyMOLWin. exe可视化对接结果。

2 结果

2.1 葛根-黄芪药对活性成分与靶点蛋白 TCMSPP数据库中获取葛根-黄芪药对有效活性成分12种,其中葛根2种,黄芪10种,见表1。经蛋白预测和标准化处理,得到67个有效成分靶点蛋白。

2.2 AE与葛根-黄芪药对共同靶点 共筛选出AE核心蛋白107个,见图1,并得到10个AE与葛根-黄芪药对的共同靶点,见图2。

表1 葛根-黄芪药对有效活性成分

药物	编号	活性成分	OB(%)	血脑屏障	DL
葛根	MOL000392	formononetin	69.67	0.02	0.21
葛根	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.99	0.75
黄芪	MOL000211	Mairin	55.38	0.22	0.78
黄芪	MOL000239	Jaranol	50.83	-0.22	0.29
黄芪	MOL000296	hederagenin	36.91	0.96	0.75
黄芪	MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yloctan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	36.23	1.09	0.78
黄芪	MOL000371	3,9-di-O-methylisissolin	53.74	0.63	0.48
黄芪	MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.84	0.30
黄芪	MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	64.26	0.55	0.42
黄芪	MOL000387	Bifendate	31.10	-0.06	0.67
黄芪	MOL000392	formononetin	69.67	0.02	0.21
黄芪	MOL000442	1,7-Dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene	39.05	-0.04	0.48

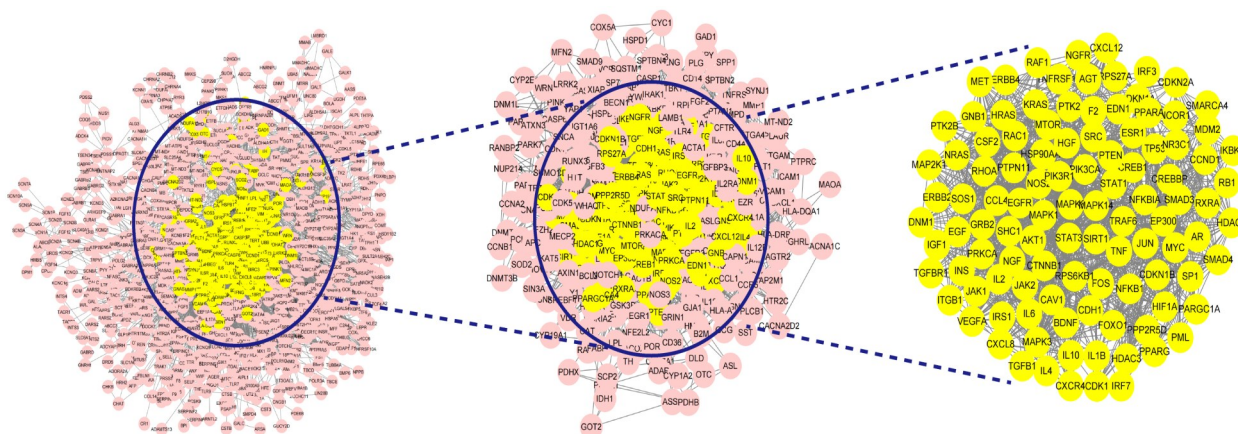


图1 AE核心蛋白

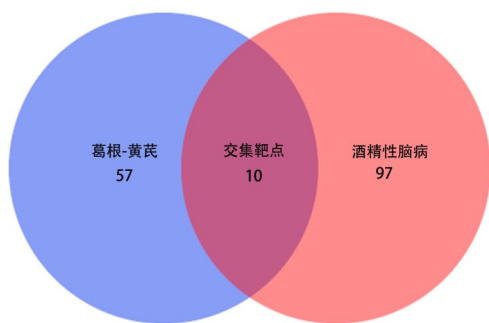


图2 AE与葛根-黄芪药对共同靶点韦恩图

2.3 GO功能和KEGG通路富集分析 GO功能富集分析得到292个功能项,其中BP包括844个,主要包括髓样白细胞分化、脱氧核糖核酸转录、上皮细胞迁移等;CC包括9个,主要与转录调节复合物、RNA聚合酶II转录调节复合物等有关;MF包括76个,主要涉及RNA聚合酶II-特异性DNA-结合转录因子结合、脱氧核糖核酸-结合转录因子结合、核

受体活性等。KEGG通路富集分析共获得86条信号通路,其中AGE-RAGE、IL-17、GnRH、Th1和Th2细胞分化、FcεRI等信号通路与AE关系最为密切。药物成分-靶点拓扑分析网络中绿色节点代表以上通路,红色节点代表富集蛋白。见图3-5。

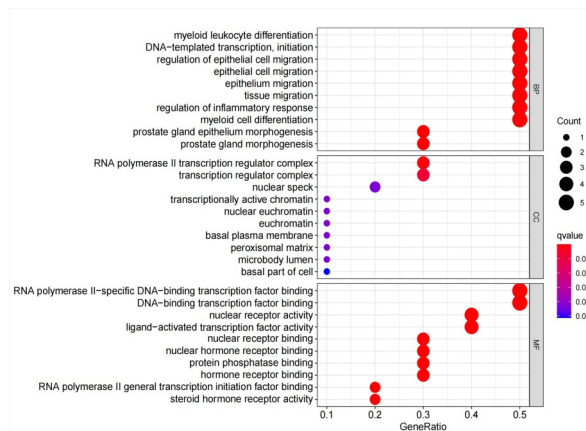


图3 交集靶点的GO富集分析

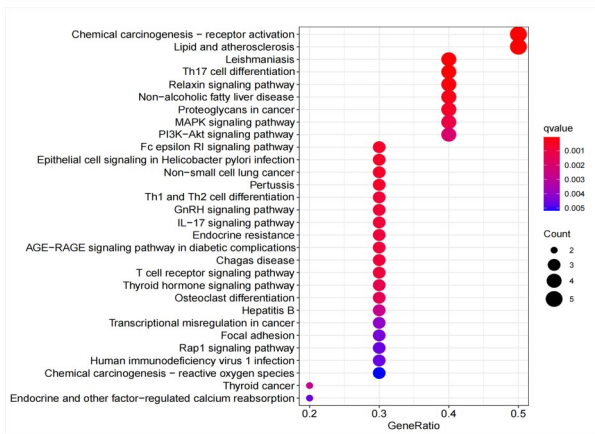


图4 交集靶点的KEGG富集分析

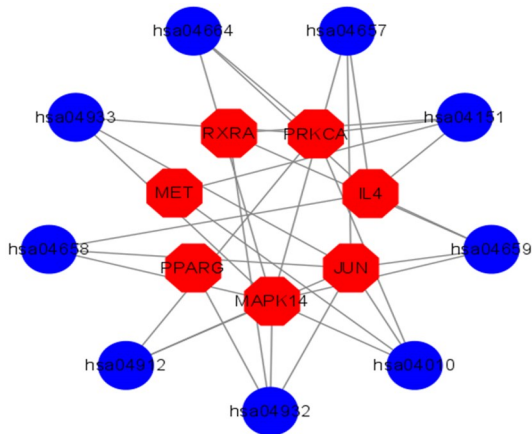


图5 “药物-成分-靶点-通路”四维拓扑分析图

2.4 分子对接 将富集蛋白与有效成分进行拓扑分析,结果见图6。其中红色节点为富集蛋白,蓝色节点为葛根有效成分,绿色节点为黄芪有效成分,多色节点代表药物的共同有效成分。结果

表明,富集蛋白主要受芒柄花素、 β -谷甾醇、7-0-甲基异木糖醇、联苯双酯的调控。受体与配体的结合能低于-5 kJ/mol,表示两者之间具有较好的结合能力。通过分子对接验证核心蛋白与对应成分之间的对接精度,结果表明,靶蛋白与有效成分的结合能基本<-5 kJ/mol,见表2。将靶蛋白与其亲和力最强的化合物构建分子对接模式图,见图7。由此说明药物成分与核心靶点之间具有良好的结合能力。

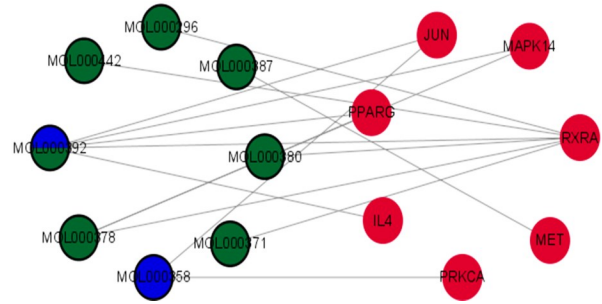


图6 药物成分-靶点拓扑分析

表2 药物有效成分与核心蛋白分子对接结合能结果

靶蛋白	芒柄花素	β -谷甾醇	7-0-甲基异木糖醇	联苯双酯	kJ/mol
PPARG	-8.4		-8.0		
RXRA	-8.3		-8.2		
MAPK14	-7.6		-6.7		
JUN	-7.9	-6.9			
IL-4	-6.6				
PRKCA		-6.8			
MET				-8.1	

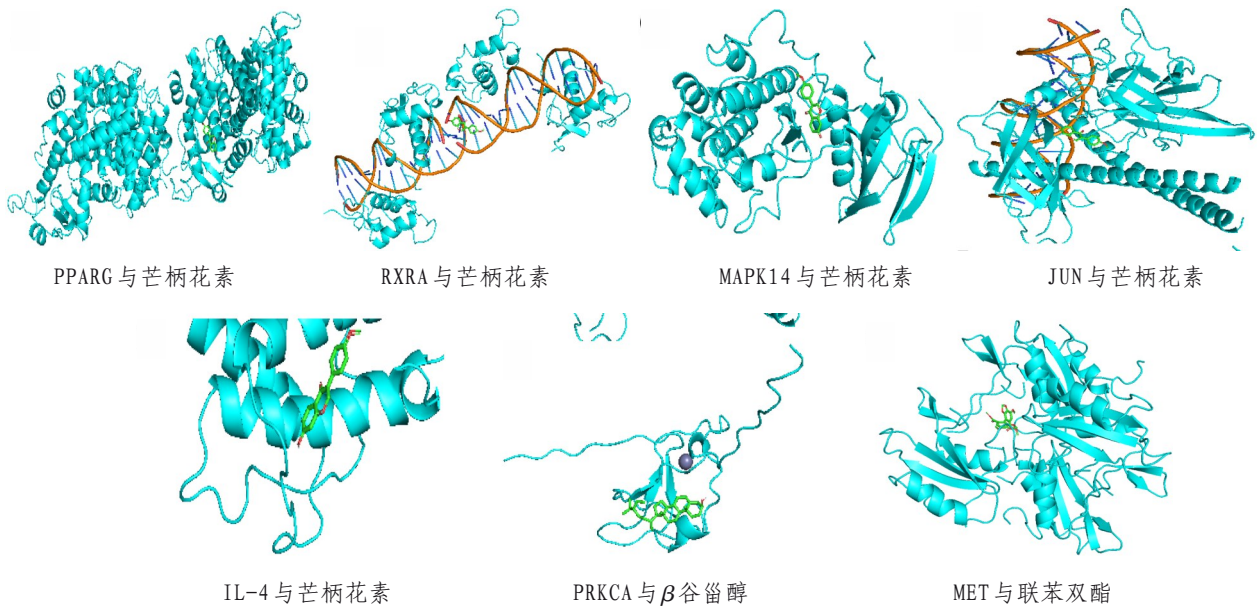


图7 分子对接模式图

3 讨论

本研究采用网络药理学和分子对接方法探讨葛根-黄芪药对与AE的关系,初步探讨其治疗AE的具体作用机制,如成分、靶点、途径等。

本研究GO功能富集分析结果显示,葛根-黄芪药对对AE的治疗作用涉及髓样白细胞分化、脱氧核糖核酸转录、转录调节复合物、RNA聚合酶II转录调节复合物等病理生理功能;KEGG通路富集分析结果表明,葛根-黄芪药对可通过调节Th17细胞分化、非酒精性脂肪性肝病、MAPK信号通路、PI3K/AKT信号通路、Th1和Th2细胞分化、IL-17信号通路、AGE-RAGE信号通路等抑制AE的发生与发展。AE中Th1/Th17细胞的激活可导致脑血管和神经细胞死亡,破坏血脑屏障,加重实验性自身免疫性脑脊髓炎和中枢神经系统炎性脱髓鞘疾病^[6-7]。非酒精性脂肪肝可通过脂质代谢紊乱途径,引发心脑血管疾病,加速脑衰老,损伤脑小血管,减少脑容量^[8-10];MAPK通路主要包括ERK1/2、p38MAPK和JNK,ERK信号通路激活可导致脑动静脉畸形,p38MAPK可通过磷酸化ULK1抑制自噬并促进小胶质细胞炎症反应,升高的溶血磷脂酸可通过LPA1/LPA2/MAPK信号通路诱导神经元死亡^[11-13];PI3K/AKT激活可通过PDK-1和PTEN对Thr308的特异性磷酸化介导小鼠局灶性脑缺血后褪黑激素的神经保护活性,AKT磷酸化水平升高可导致细胞凋亡减少,减轻小鼠脑出血后的神经炎症和神经元凋亡^[14];Th1/Th2平衡可恢复应激诱导的神经和行为改变,促进发育中小鼠的神经生成和认知,M1与Th1/Th17细胞之间的相互影响可促进中风后免疫反应并导致脑损伤,而M2与Th2/Treg细胞之间的串扰起抗炎作用并有助于大脑恢复^[15];IL-17升高可通过Rho激酶依赖性抑制内皮型一氧化氮合酶磷酸化等途径,减少脑内皮细胞一氧化氮生成,促进内皮功能障碍和认知功能障碍,损害中枢神经系统^[16-18];抑制AGE/RAGE信号传导可保护大脑免受缺血性损伤、神经元细胞死亡以及神经炎症^[19-21]。

通过富集蛋白获取、通路-靶点拓扑分析、成分-靶点拓扑分析及分子对接,得出葛根-黄芪药对主要成分为芒柄花素、 β -谷甾醇、联苯双酯等,可通过干预PPARG、RXRA、MAPK14、JUN、IL-4、PRKCA、MET等蛋白调控上述通路。现代药理学研究表明,芒柄花素可改善周围神经病变,减轻神经免受缺氧诱导的细胞毒性,诱导血管内皮生长因子和血小板内皮细胞黏附分子表达,促进脑血管新生、恢复受损神经功能,抑制细胞凋亡^[22-24];联苯

二酯衍生物可通过促进ROS释放,抑制AKT/mTOR通路以改善神经胶质瘤^[25]; β -谷甾醇是一种具有较强抗胆碱酯酶活性的潜在化合物^[26],可轻松穿透血脑屏障,在参与认知的脑组织中充分集中,从而抑制酯酶介导的乙酰胆碱降解,促进线粒体内膜流动性,增强线粒体功能,对神经退行性疾病发挥有益作用,并纠正记忆和行为缺陷以及预防衰老大脑中自由基诱导的神经变性^[27-29]。

综上所述,基于网络药理学分析和分子对接技术,本研究得出葛根-黄芪药对可能通过芒柄花素、 β -谷甾醇、联苯双酯等活性成分对Th17细胞分化、非酒精性脂肪性肝病、MAPK信号通路、PI3K/AKT信号通路、Th1和Th2细胞分化、IL-17信号通路、AGE-RAGE信号通路的多个信号传递环节实施调控以抑制AE的发展,说明中药具有多组分、多靶点、多机制综合调控抑制AE病理过程的优势。但由于网络药理学和分子对接技术仅考虑药物活性成分的吸收和结合能力,并未检测其在药物中的含量及相互反应等问题,仍有一定局限性,后期需要结合实验研究进行进一步验证。

参考文献

- [1] LI H, YANG X, SHI W, et al. Protective effects of nimodipine on cerebrovascular function in chronic alcoholic encephalopathy[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 33(1):201-208.
- [2] JIANG B, YANG W, CHEN L, et al. In vitro effects of Pueraria extract on ethanol-exposed microglia and neurons[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127:110163.
- [3] ZHOU Y X, ZHANG H, PENG C. Puerarin: a review of pharmacological effects[J]. *Phytother Res*, 2014, 28(7):961-975.
- [4] LIU Y X, SONG X M, DAN L W, et al. Astragali Radix: comprehensive review of its botany, phytochemistry, pharmacology and clinical application[J]. *Arch Pharm Res*, 2024, 47(3):165-218.
- [5] 武蕊, 史阳, 张嘉雯, 等. 苓甘五味姜辛汤治疗支气管哮喘的网络药理学和分子对接研究[J]. *西部中医药*, 2025, 38(2):59-67.
- [6] SOMMER A, MARXREITER F, KRACH F, et al. Th17 lymphocytes induce neuronal cell death in a human iPSC-based model of Parkinson's disease[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(1):123-131.
- [7] PLATT M P, BOLDING K A, WAYNE C R, et al. Th17 lymphocytes drive vascular and neuronal deficits in a mouse model of postinfectious autoimmune encephalitis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(12):6708-6716.
- [8] WEINSTEIN G, ZELBER-SAGI S, PREIS S R, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with lower brain volume in healthy middle-aged adults in the Framingham study[J]. *JAMA Neurol*, 2018, 75(1):

- 97-104.
- [9] 刘文娟,王丽华. 经颅多普勒超声诊断合并非酒精性脂肪肝的急性脑梗死患者的作用价值分析[J]. 脑与神经疾病杂志,2019,27(12):744-747.
- [10] 吴晓清,李妍,丁菊妃,等. 老年脑白质疏松伴非酒精性脂肪肝的临床研究[J]. 心脑血管病防治,2019,19(4):338-340.
- [11] NIKOLAEV S I, VETISKA S, BONILLA X, et al. Somatic activating KRAS mutations in arteriovenous malformations of the brain[J]. N Engl J Med,2018,378(3):250-261.
- [12] HE Y, SHE H, ZHANG T, et al. p38 MAPK inhibits autophagy and promotes microglial inflammatory responses by phosphorylating ULK1[J]. J Cell Biol,2018,217(1):315-328.
- [13] ZHANG J, LI Y, WANG C, et al. Lysophosphatidic acid induces apoptosis of PC12 cells through LPA1 receptor/LPA2 receptor/MAPK signaling pathway [J]. Front Mol Neurosci,2020,13:16.
- [14] KILIC U, CAGLAYAN A B, BEKER M C, et al. Particular phosphorylation of PI3K/Akt on Thr308 via PDK-1 and PTEN mediates melatonin's neuroprotective activity after focal cerebral ischemia in mice[J]. Redox Biol,2017,12:657-665.
- [15] KUSTRIMOVIC N, COMI C, MAGISTRELLI L, et al. Parkinson's disease patients have a complex phenotypic and functional Th1 bias: cross-sectional studies of CD4⁺ Th1/Th2/T17 and Treg in drug-naïve and drug-treated patients[J]. J Neuroinflammation,2018,15(1):205.
- [16] WAISMAN A, HAUPTMANN J, REGEN T. The role of IL-17 in CNS diseases[J]. Acta Neuropathol,2015,129(5):625-637.
- [17] 邹良,何秋红,陈秋杨,等. IL-17/IL-23炎症轴在新生儿缺氧缺血性脑病发病中的作用机制探究[J]. 河北医科大学学报,2023,44(3):305-309.
- [18] 吴圆圆,蔡萧君,李宇,等. Th17细胞在抑郁发病机制中的作用研究进展[J]. 安徽医学,2022,43(9):1110-1114.
- [19] 贾晶晶,张宝媛,王淑英. 银杏叶提取物通过AGEs/RAGE通路改善大鼠脑缺血再灌注损伤[J]. 神经解剖学杂志,2025,41(2):173-180.
- [20] 白敏,梁永林,段永强,等. 基于生信技术从AGE/RAGE通路探讨参七糖络丸“清中通路”改善2型糖尿病认知功能障碍的分子机制[J]. 中华中医药杂志,2023,38(5):2430-2436.
- [21] WANG C, DENG X, WANG Z, et al. PNS protects brain against ischemic injury by acting as an antagonist for AGE/RAGE signaling[J]. Clin Transl Med,2021,11(10):532.
- [22] FANG Y, YE J, ZHAO B, et al. Formononetin ameliorates oxaliplatin-induced peripheral neuropathy via the KEAP1-NRF2-GSTP1 axis[J]. Redox Biol,2020,36:101677.
- [23] MACHADO DUTRA J, ESPITIA P J P, ANDRADE BATISTA R. Formononetin;biological effects and uses-A review[J]. Food Chem,2021,359:129975.
- [24] LI S, DANG Y, ZHOU X, et al. Formononetin promotes angiogenesis through the estrogen receptor alpha-enhanced ROCK pathway[J]. Sci Rep,2015,5:16815.
- [25] MENG Q, ZHOU J, YOU F, et al. A novel biphenyl diester derivative, AB38b, inhibits glioblastoma cell growth via the ROS-AKT/mTOR pathway [J]. Biochem Pharmacol,2021,194:114795.
- [26] 陈元堃,曾奥,罗振辉,等. β -谷甾醇药理作用研究进展[J]. 广东药科大学学报,2021,37(1):148-153.
- [27] AYAZ M, JUNAID M, ULLAH F, et al. Anti-alzheimer's studies on β -sitosterol isolated from *Polygonum hydropiper* L[J]. Front Pharmacol,2017,8:697.
- [28] BRIMSON J M, BRIMSON S J, BRIMSON C A, et al. *Rhinacanthus nasutus* extracts prevent glutamate and amyloid- β neurotoxicity in HT-22 mouse hippocampal cells:possible active compounds include lupeol, stigmasterol and β -sitosterol[J]. Int J Mol Sci,2012,13(4):5074-5097.
- [29] SOTO-ROJAS L O, MARTÍNEZ-DÁVILA I A, LUNA-HERRERA C, et al. Unilateral intranigral administration of β -sitosterol β -D-glucoside triggers pathological α -synuclein spreading and bilateral nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration in the rat[J]. Acta Neuropathol Commun,2020,8(1):56.

收稿日期:2025-02-28

*基金项目:内蒙古自治区自然科学基金(2020BS08012, 2021BS08005)。

作者简介:乔阳(1989—),女,博士学位,主治医师。研究方向:中医药治疗脑血管疾病。

△通讯作者:刘震(1987—),男,博士学位,主治医师。研究方向:中医药治疗脑血管疾病。Email:ly124203859@163.com。