

黄芩苷治疗药物性肝损伤的作用机制探讨

——基于网络药理学和实验验证

张聪聪

浙江药科职业大学

DOI:10.12238/fcmr.v7i2.14515

[摘要] 目的: 结合体内实验与网络药理学,系统阐明黄芩苷改善药物性肝损伤的作用机制。方法: 建立阿托伐他汀诱导DILI动物模型,检测小鼠血清丙氨酸转氨酶与天冬氨酸转氨酶水平。应用网络药理学方法搜集黄芩苷、DILI相关靶点,通过韦恩映射筛选交集靶点,构建PPI,进而进行GO功能与京都基因与KEGG通路富集分析。结果: 体内实验结果显示黄芩苷可显著减少小鼠血清ALT与AST水平; 网络药理学实验结果显示TCMSP、pubchem、PharmMapper数据库共搜集到黄芩苷相关靶点436个; Genecards、OMIM数据库共搜集到DILI相关靶点10905个; Venny2.1.0数据库共筛选出175个交集靶点; PPI网络中度值排名前10的核心靶点依次为IL2、GSK3B、APP、SORD、ALDH1A1、DHFR、AKR1B1、PLG、CDC42、PRKACA; GO分析富集到异生物质代谢过程、蛋白质结合、细胞外分泌体等,KEGG分析得到代谢途径、化学致癌-活性氧等信号通路。结论: 黄芩苷可能通过调控多个靶点及相关信号通路发挥抗DILI作用,本研究为其机制研究提供了理论支持。

[关键词] 黄芩苷; 阿托伐他汀; 药物性肝损伤; 网络药理学

中图分类号: R96 文献标识码: A

Study on the Mechanism of Baicalin in the Treatment of Drug-induced Liver Injury

--Based on Network Pharmacology and Experimental Verification

Congcong Zhang

Zhejiang Pharmaceutical University

[Abstract] Objective to systematically elucidate the mechanism of Baicalin in improving drug-induced liver injury (DILI) by combining in vivo experiments and network pharmacology. Methods the animal model of DILI induced by atorvastatin was established, and the levels of serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in mice were detected. The network pharmacology method was used to collect baicalin and DILI related targets. The intersection targets were screened by Venn mapping, and the protein interaction network (PPI) was constructed. Then the gene ontology (GO) function and the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were carried out. Results the results of in vivo experiment showed that baicalin could significantly reduce the levels of ALT and AST in serum of mice; The results of online pharmacological experiments showed that 436 baicalin related targets were collected from TCMSP, PubChem and PharmMapper databases; A total of 10905 DILI related targets were collected from Genecards and OMIM databases; A total of 175 intersection targets were screened from Venny2.1.0 database; The top 10 core targets in the PPI network were IL2, gsk3b, app, sord, ALDH1A1, DHFR, akr1b1, PLG, Cdc42 and prkaca; Go analysis enriched in the metabolic process of xenobiotics, protein binding, extracellular exosomes, etc. KEGG analysis obtained metabolic pathways, chemical carcinogenesis - reactive oxygen species and other signaling pathways. Conclusion baicalin may play an anti DILI role by regulating multiple targets and related signaling pathways. This study provides theoretical support for its mechanism.

[Key words] baicalin; atorvastatin; drug-induced liver injury(DILI); network pharmacology

引言

药物性肝损伤(Drug-induced liver injury, DILI)系指因

药物自身或其代谢产物所诱发的肝脏损害,属于临床治疗过程中极为常见且严重的药物不良反应类型之一^[1]。截至目前,在全

球范围内已发现超过1100种常见上市药物具有潜在肝毒性,涵盖抗结核药物、降脂药物等多个类别^[2-3]。临床研究证实,他汀类药物在降低高危患者主要冠脉事件发生率、减少冠脉手术需求以及降低卒中发病风险等方面,均展现出确切的疗效^[4-5],然而,随着他汀类药物剂量的增大,其发生DILI的概率也会增多^[6]。目前,N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)是目前治疗DILI的一线解毒药物,但其治疗时间窗较窄,临床应用需严格把握适应症^[7],故寻找DILI的有效防治药物具有重要意义。

黄芩苷属于黄酮类化合物,主要来源于唇形科植物黄芩的干燥根部,具有多种生物活性,如抗炎、抗氧化、抑菌、利尿等^[8-9],其抗氧化和抗炎作用已在各种疾病模型中得到证实,包括糖尿病、心血管疾病、炎症性肠病、痛风、肝脏和肾脏疾病等^[10-11]。研究证实,在阿尔茨海默病大鼠模型中,黄芩苷可显著激活核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)信号通路,抑制丙二醛(malonaldehyde, MDA)生成,减轻脂质过氧化损伤,同时增强超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)等抗氧化酶活性^[12]。此外,该成分对急慢性肝损伤动物模型也表现出显著保护效应^[13]。然而,目前关于黄芩苷治疗药物性肝损伤的研究数据有限,其具体作用靶点和药理机制仍需深入探索。

本研究基于系统生物学与多向药理学相结合的网络药理学方法,旨在探讨黄芩苷对药物性肝损伤的防护效应及其分子机制,为拓展其临床应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 动物。雄性SPF级C57BL/6N小鼠18只,SCXK(浙)2019-0001,8-12周龄,体重(26±2)g。

1.2 主要试剂与仪器。黄芩苷采购于上海源叶生物科技有限公司;阿托伐他汀采购于MedChemExpress公司;ALT、AST试剂盒采购于南京建成生物工程研究所;精密电子天平(sartorius, BSA224S-CW);水浴锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂, HHS21-6);恒温恒湿箱(上海一恒科学仪器有限公司, BPS-100CH);台式冷冻离心机(BECKMAN COULTER);实时荧光定量PCR仪(罗氏公司)。

1.3 网络药理学分析。基于TCMSP、PubChem及PharmMapper数据库筛选黄芩苷潜在作用靶点,通过OMIM和Genecards获取DILI相关靶点,并利用Uniprot数据库统一转换为标准基因名称。取两者交集确定药物-疾病共同作用靶标。采用Cytoscape 3.10.3构建“疾病-成分-靶点”互作网络,运用STRING平台建立蛋白质互作网络(PPI),通过Cytoscape可视化后,依据节点度值筛选核心靶点。此外,借助Metascape数据库对核心靶点进行基因本体(gene ontology, GO)功能注释和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析,最终通过微生信在线平台实现结果可视化呈现。

1.4 动物分组及造模。小鼠适应性饲养1周后,随机分为正常组(N组,普通饲料喂养)、模型组(M组,高脂饲料喂养,灌胃30mg/kg/d的阿托伐他汀)、黄芩苷组(B组,高脂饲料喂养,同时灌胃30mg/kg/d的阿托伐他汀和75mg/kg/d的黄芩苷)。8周后,将小

鼠禁食过夜,次日处死小鼠,并收集小鼠血清进行相关检测。

1.5 小鼠血清生化指标检测。将各组小鼠血样离心(3000转/min)15min得血清,根据试剂盒步骤检测丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)与天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平。

1.6 统计学方法。各组实验结果采用SPSS20.0软件进行统计分析,计量数据用均数±标准差(±s)表示。多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD检验法;方差不齐则用Dunnnett's T3法检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠血清生化指标的检测结果。与正常对照组比较,模型组血清ALT、AST活性显著增强($P < 0.001$, $P < 0.01$,图1),证实阿托伐他汀成功诱导DILI模型;经黄芩苷干预后,治疗组两种转氨酶水平较模型组均明显回落($P < 0.01$, $P < 0.05$),提示其具有改善DILI的作用。

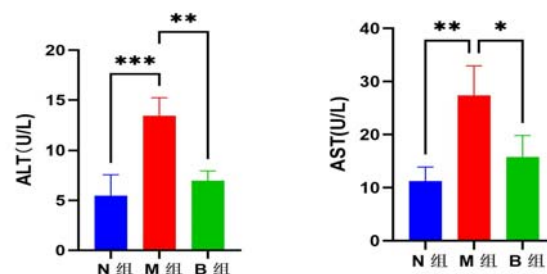


图1 各组小鼠血清中ALT、AST结果($\bar{x} \pm s$, n=4)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

2.2 网络药理学研究结果。(1)黄芩苷活性成分及靶点筛选。通过整合TCMSP、PubChem、PharmMapper数据库及文献挖掘数据,最终鉴定出436个黄芩苷潜在作用靶标。(2)黄芩苷调控DILI的潜在靶点筛选。通过GeneCards数据库筛选获得10705个DILI相关靶点,OMIM数据库检索得到200个靶点。经合并去重后,共鉴定10905个疾病靶点。将436个黄芩苷作用靶点与上述疾病靶点通过Venny 2.1.0在线工具进行比对,获得175个共同作用靶点,并生成韦恩图(图2A)。

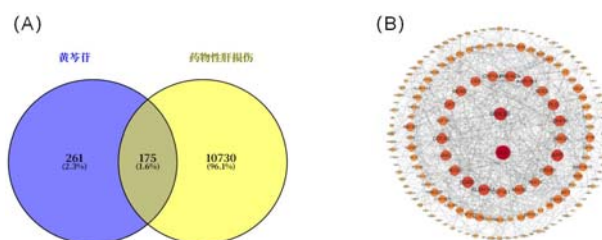


图2 黄芩苷与DILI的共同靶点韦恩图及潜在核心靶点图

(A) 韦恩图; (B) 核心靶点图

基于String数据库构建的黄芩苷调控DILI互作网络,进一步采用Cytoscape 3.10.3软件进行拓扑结构可视化(图2B),其中度值排名靠前的靶点为IL2、GSK3B、APP、SORD、ALDH1A1、DHFR、AKR1B1、PLG、CDC42、PRKACA。

(3) KEGG通路分析结果。将175个共同靶点进行KEGG富集分

析,共得到信号通路92条,以P值大小进行排序,选择前10条作用通路进行可视化分析,主要涉及代谢途径、化学致癌-活性氧、精氨酸和脯氨酸代谢通路等(图3)。由此表明,DILI的病理进程可能涉及多种生物学过程及信号通路的异常,提示黄芩苷可能通过多靶点、多通路协同发挥其治疗作用。

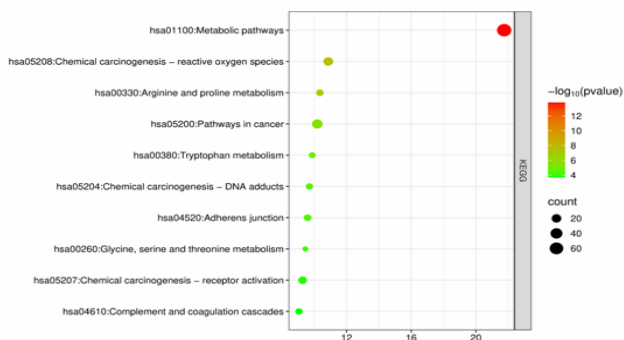


图3 KEGG通路富集分析

3 讨论

DILI是临床急性肝衰竭的主要诱因之一,严重时可能威胁患者生命。尽管已知数千种药物可能引发DILI,但目前临床防治手段仍十分有限^[14],开发新型治疗药物迫在眉睫。黄芩苷作为黄芩的主要活性成分,已被证实具有多重药理效应,包括抗氧化、免疫调节及抗感染等作用。近年研究发现,该成分对多种实验性肝损伤模型均显示出保护效果,但其对阿托伐他汀诱导DILI的具体作用机制仍需深入探究。

本研究采用网络药理学这一整合生物信息学与传统药理学的新兴方法,系统探究黄芩苷改善DILI的作用机制。通过TCMSP、PubChem和PharmMapper数据库检索获得436个黄芩苷潜在靶点,同时从GeneCards和OMIM数据库获取10905个DILI相关靶点。利用Venny 2.1.0平台进行靶点对比分析,鉴定出175个共同作用靶点,并基于STRING数据库构建PPI网络以筛选核心靶标。根据度值排名,前10的核心靶点依次为IL2、GSK3B、APP、SORD、ALDH1A1、DHFR、AKR1B1、PLG、CDC42、PRKACA;最后对这些交集靶点进行GO与KEGG分析,分别获得52条功能条目和20条信号通路。GO功能主要富集在异生物质代谢过程、蛋白质结合、细胞外分泌体等,KEGG主要富集在代谢途径、化学致癌-活性氧等信号通路、精氨酸和脯氨酸代谢等通路。

本研究证实黄芩苷对DILI具有显著保护效应,其机制可能涉及多基因协同调控及多条信号通路活化,为深入解析其抗DILI的分子机制提供了重要理论依据。

[基金项目]

浙江省药品监督管理局科技计划项目“Nrf2激活剂黄芩苷对药物性肝损伤的作用研究”(2023023);浙江省医药卫生科技计划项目(2025KY1442);浙江省教育厅一般科研项目(Y202456612)。

[参考文献]

[1]Bessone F,Hillotte GL,Ahumada N,et al.UDCA for Drug-

Induced Liver Disease: Clinical and Pathophysiological Basis [J].Semin Liver Dis:2024,44(1):1-22.

[2]Abbaspour F,Hasannezhad M,Khalili H,et al. Managing Hepatotoxicity Caused by Anti-tuberculosis Drugs: A Comparative Study of Approaches[J].Arch Iran Med:2024,27(3):122-126.

[3]Jain P.Traditional and novel non-statin lipid-lowering drugs[J].Indian Heart J:2024,76:S38-S43.

[4]Nissen SE,Lincoff AM,Brennan D,et al. Bempedoic Acid and Cardiovascular Outcomes in Statin-Intolerant Patients[J].N Engl J Med:2023,388(15):1353-1364.

[5]Nissen SE, Menon V, Nichols SJ, et al. Bempedoic Acid for Primary Prevention of Cardiovascular Events in Statin-Intolerant Patients[J].JAMA:2023,330(2):131-140.

[6]Raschi E, Fusaroli M, Gatti M, et al. Liver Injury with Nintedanib: A Pharmacovigilance-Pharmacokinetic Appraisal [J].Pharmaceuticals (Basel):2022,15(5):645.

[7]Akkahadsee P,Sawangjit R,Phumart P,et al. Systematic review and network meta-analysis of efficacy and safety of interventions for preventing anti-tuberculosis drug induced liver injury[J].Sci Rep:2023,13(1):19880.

[8]Si L,Lai Y.Pharmacological mechanisms by which baicalin ameliorates cardiovascular disease[J].Front Pharmacol:2024,15:1415971.

[9]Yi Y,Liu G,Li Y,et al.Baicalin Ameliorates Depression-like Behaviors via Inhibiting Neuroinflammation and Apoptosis in Mice[J].Int J Mol Sci:2024,25(19):10259.

[10]Yingrui W,Zheng L,Guoyan L,et al. Research progress of active ingredients of Scutellaria baicalensis in the treatment of type 2 diabetes and its complications[J].Biomed Pharmacother:2022,148:112690.

[11]Zhang P,Wu H,Lou H,et al.Baicalin Attenuates Diabetic Cardiomyopathy In Vivo and In Vitro by Inhibiting Autophagy and Cell Death Through SENP1/SIRT3 Signaling Pathway Activation[J].Antioxid Redox Signal:2025,42(1-3):53-76.

[12]Muhammad-Azam F,Nur-Fazila SH,Ain-Fatin R,et al. Histopathological changes of acetaminophen-induced liver injury and subsequent liver regeneration in BALB/C and ICR mice[J].Vet World: 2019,12(11):1682-1688.

[13]Wang R,Zhang K,Liu K,et al. Protective Effect of Baicalin on Chlorpyrifos-Induced Liver Injury and Its Mechanism[J].Molecules:2023,28(23):7771.

[14]Hosack T,Damry D,Biswas S.Drug-induced liver injury: a comprehensive review[J].Therap Adv Gastroenterol,2023,16:17562848231163410.

作者简介:

张聪聪(1992--),女,汉族,浙江绍兴人,硕士,讲师,研究方向:药理研究。