

DOI: 10.13907/j.cnki.nykxyj.20250515.001

大柴胡汤治疗奶牛脂肪肝的网络药理学效应机制

孙 宇, 杨文慧, 郭延生

(宁夏大学 动物科技学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要:大柴胡汤治疗奶牛脂肪肝的作用机制涉及多靶点、多通路的调控。基于TCMSP数据库筛选获得大柴胡汤 136 个有效成分及其作用靶点,同时通过 GeneCards、PharmGKB 等疾病数据库收集到 2 925 个奶牛脂肪肝相关靶点。网络药理学分析显示药物-疾病交集靶点 73 个,其中 PPI 网络筛选出 8 个关键靶基因。GO 功能分析表明,大柴胡汤主要调控胰岛素分泌调节、脂多糖介导的信号通路和成纤维细胞增殖等生物学过程。KEGG 通路分析揭示其通过 HIF-1 信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化通路、白细胞介素-17 信号通路等发挥作用。分子对接验证显示,奶牛脂肪肝关键基因 CASP3、BCL2、ESR1、HIF1A 能够与大柴胡汤活性成分黄芩苷、汉黄芩素、木蝴蝶素 A、异甘草素稳定结合。这些发现表明大柴胡汤通过多成分-多靶点-多通路的方式发挥治疗作用,为深入阐明其治疗奶牛脂肪肝的分子机制提供了理论依据。

关键词:网络药理学;大柴胡汤;分子对接;奶牛脂肪肝

中图分类号:S859.3

文献标志码:A

奶牛脂肪肝是奶牛产业中一种高发的围产期营养代谢性疾病^[1],在泌乳初期高产奶牛中多见此病。奶牛在围产期代谢机能和生理状态会发生巨大改变,几乎所有高产奶牛在泌乳早期都会因能量摄取无法满足泌乳需求而导致能量负平衡(negative energy balance, NEB)。为了弥补能量负平衡,奶牛自身会大量动员脂肪储备用于更多能量的产出,脂肪动员过程中会产生大量非酯化脂肪酸(non-esterified fatty acid, NEFA),通过血液输送到肝脏参与氧化。当肝脏存储达到限度时,就会形成酮体,继而出现酮体过度蓄积,引发脂肪肝。发病后,奶牛的繁殖力、免疫力下降,身体状况和产奶量也会降低,经常还会出现一些产后疾病,如乳房炎、胎衣不下等^[2],严重威胁到奶牛的生产性能和繁殖性能。目前,在西兽医临床上尚无特效药治疗奶牛脂肪肝,中药在治疗人类脂肪肝上已展现出了明显

优势,因此寻求天然无毒副作用的中药复方是治疗奶牛脂肪肝的有效途径之一,这也与绿色健康养殖观念相符合。大柴胡汤临床已使用 1 800 多年,是由柴胡、黄芩、大黄、枳实、芍药、大枣、半夏、姜 8 味中药组方而成,可外解少阳病,内泄热结症。近年来发现大柴胡汤具有保护肝脏、促进胆汁分泌、抗炎、降低血糖和血脂等功效^[3-6]。临床研究表明,大柴胡汤加减治疗人类脂肪肝临床有显著的效果,可减少总胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白、胆固醇等的含量,减少恶心、呕吐、腹痛等不良反应的发生率^[7]。由于中药复方药效成分的复杂性,其确切作用机制尚不清楚。在兽医研究领域,奶牛脂肪肝的发病机制和中药复方的防治机理也尚处于初期研究阶段。网络药理学的诞生为深入理解中药复方的功效机理开辟了新的视角和路径。基于此,本研究采用网络药理学方法,结合分子对接技术探究大

收稿日期:2024-07-06

基金项目:国家自然科学基金“产后能量负平衡奶牛瘤胃微生物区系-代谢物互作机制及四君子散的干预作用”(32160848)

作者简介:孙宇(2000—),硕士研究生,主要从事临床兽医学研究。

通信作者:郭延生,教授,博士,主要从事中兽医学研究,电子邮箱:guoyansheng1978@163.com。

引用格式:孙宇,杨文慧,郭延生.大柴胡汤治疗奶牛脂肪肝的网络药理学效应机制[J].农业科学研究(中英文),2026,47(3):73-83.

Citation:Sun Yu, Yang Wenhui, Guo Yansheng. Network pharmacology-based investigation of the mechanisms of Dachaihu Decoction in treating fatty liver disease in dairy cows[J]. Journal of Agricultural Sciences, 2026, 47(3): 73-83.

柴胡汤治疗奶牛围产期脂肪肝的可能作用机制,研究结果可为深入揭示中药复方防治奶牛脂肪肝的作用机制及新兽药研发提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 数据库与分析工具

主要在线数据库见表1。主要分析工具为Cytoscape 软件(3.9.1 版本)、SybylX 软件(2.2.1 版本)。

表1 主要在线数据库
Tab. 1 Major online databases

数据库	网址
TCMSP	http://tcmspw.com/tcmsp.php
UniProt	http://www.uniprot.org/
GeneCards	https://www.genecards.org/
OMIM	https://www.omim.org/
PharmGKB	https://www.pharmgkb.org/
TTD	http://db.idrblab.net/ttd/
DrugBank	https://go.drugbank.com/
Pubchem	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
Pdb	http://www.rcsb.org/
KOBAS	http://kobas.cbi.pku.edu.cn/
微生物	https://www.bioinformatics.com.cn/

1.2 大柴胡汤活性成分、靶点筛选

在TCMSP数据库中分别搜索“柴胡”“黄芩”“白芍”“半夏”“大枣”“生姜”“黄芩”“大黄”8味中药,获取大柴胡汤所有药物的成分,以口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 、类药性(drug-like, DL) ≥ 0.18 为条件筛选出大柴胡汤的活性成分。然后通过该数据库获得有效成分的作用靶点,进而把得到的靶点导入UniProt数据库中,物种选择为“Bovine”,提取其Gene Name和Gene ID。

1.3 奶牛脂肪肝相关靶点筛选

在PharmGKB、OMIM、TTD、GeneCards和DrugBank数据库中以“non-alcoholic fatty liver disease”为关键词搜索奶牛脂肪肝相关靶点,将其靶点数据整合,排除重复靶点,获得奶牛脂肪肝相关靶点。

1.4 “大柴胡汤药物-活性成分-疾病作用靶点”网络的构建

为研究大柴胡汤药物活性成分与疾病靶点之间的相互作用,将所获得的大柴胡汤有效成分及靶点与脂肪肝靶点结合,获得大柴胡汤各药味治疗奶

牛脂肪肝的靶点。在Cytoscape 3.9.1软件中构建药物-药效活性成分-疾病作用靶点网络模型,并对其进行分析。

1.5 大柴胡汤-奶牛脂肪肝PPI网络构建及核心靶点筛选

将大柴胡汤与脂肪肝的交集靶点数据导入STRING数据库,用“Bos taurus”来界定物种,构建大柴胡汤治疗奶牛脂肪肝的蛋白互作网络(PPI网络),导出高分辨率图片及TSV文件。在Cytoscape 3.9.1软件中导入TSV文件,分析药物-疾病交集靶点,选取网络中节点的连接度,以一个节点与其他节点的连接数量值(degree值)大于平均水平,筛选大柴胡汤治疗奶牛脂肪肝的核心靶点。

1.6 GO富集分析及KEGG通路分析

使用Kobas数据库对大柴胡汤-奶牛脂肪肝的交集靶点进行GO功能富集分析和KEGG通路富集分析,物种选择为“Bos taurus”。使用微生信平台绘制GO功能双侧柱形图和KEGG通路气泡图。

1.7 核心成分-关键靶点的分子对接验证

将筛选出的关键靶蛋白分子对接到其对应的药物活性成分上。从Pubchem网站下载中药成分结构,利用Chem3D软件进行能量最小化处理,导出为“MOL2”格式;然后从UniProt数据库和PDB数据库获得3D结构的核心蛋白。利用Sybyl X2.2.1软件除去关键靶蛋白的水分,添加极性氢,将小分子配体柔性键设置为可旋转等操作后进行分子对接。

2 结果与分析

2.1 大柴胡汤活性成分、靶点筛选结果

通过筛选和删除重复成分后得到大柴胡汤活性成分177个,其中柴胡27个、黄芩43个、大黄23个、枳实27个、白芍18个、大枣34个、半夏16个、生姜12个,16个成分为大柴胡汤各药味共有成分(表2)。筛选得到药物活性靶点白芍126个、半夏53个、柴胡128个、大黄164个、大枣59个、黄芩158个、生姜44个、枳实53个,诸味药物靶点合并后删除重复值得到大柴胡汤活性靶点374个。运用UniProt数据库对药物活性化合物成分的预测靶点进行再筛查,去除无关靶点,并将预测靶点转化成基因靶点,最终得到149个基因靶点。

表 2 大柴胡汤各药味共有成分

Tab. 2 Compounds shared among the medicinal herbs in Dachaihu Decoction

MOLD ID	中文名称	中药
MOL000211	丁子香蓆	白芍、大枣
MOL000358	β -谷甾醇	白芍、半夏、柴胡、大枣、黄芩、生姜
MOL000359	谷甾醇	白芍、黄芩
MOL001402	二十八烷	白芍、柴胡
MOL000492	儿茶素	白芍、大枣
MOL000422	山柰酚	白芍、柴胡
MOL000842	蔗糖酯	白芍、大枣
MOL013068	汉黄芩苷	柴胡、黄芩
MOL000449	豆甾醇	半夏、柴胡、大枣、黄芩、生姜
MOL002776	黄芩苷	半夏、柴胡
MOL000458	菜油甾醇	半夏、黄芩
MOL002714	黄芩素	半夏、黄芩
MOL002936	5,8-二羟基-6,7-二甲氧基黄酮	柴胡、黄芩
MOL000098	槲皮素	柴胡、大枣
MOL000096	儿茶素1形	大黄、大枣
MOL002914	黄烷酮	黄芩、枳实

2.2 奶牛脂肪肝候选基因及潜在治疗靶点

从OMIM数据库获得奶牛脂肪肝相关基因 200 个, GeneCards 数据库 2 547 个, PharmGKB 数据库 110 个, DrugBank 数据库 386 个, TTD 数据库 14 个。将 5 个数据库获取的数据取并集, 最终得到 2 925 个奶牛脂肪肝相关基因(图 1)。奶牛脂肪肝靶点与大柴胡汤复方有效成分集靶点 73 个, 见图 2。

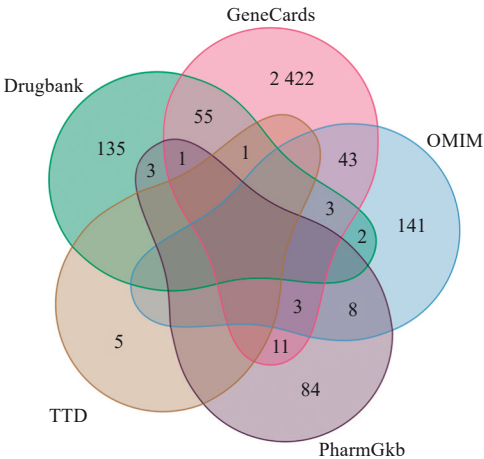


图 1 5 个数据库脂肪肝相关靶点 venn 图

Fig. 1 Venn diagram of fatty liver-related targets obtained from five databases

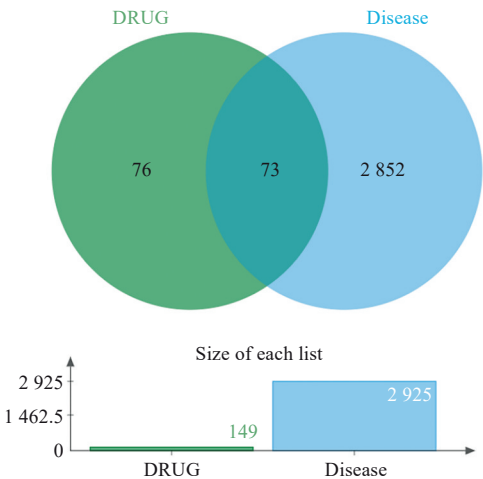


图 2 大柴胡汤活性成分与脂肪肝靶点 venn 图

Fig. 2 Venn diagram of the targets of the active compounds in Dachaihu Decoction and fatty liver-related targets

2.3 “大柴胡汤药物-活性成分-疾病作用靶点”网络

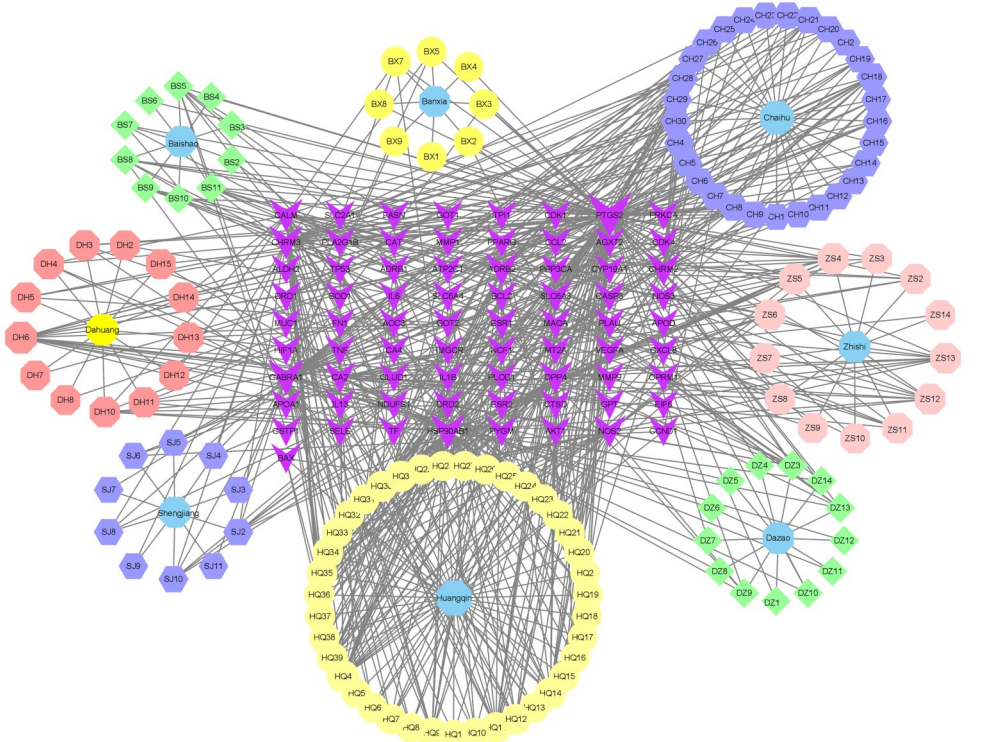
构建的大柴胡汤与脂肪肝相关的 136 种主要有效成分及 73 个交集靶点的“大柴胡汤药物-有效成分-疾病作用靶点”网络, 见图 3。该网络由 216 个节点和 713 条边组成。经软件中网络分析工具分析计算各成分度值(degree), 筛选出度值最大的 10 个成分, 见表 3。

2.4 大柴胡汤-奶牛脂肪肝 PPI 网络构建及核心靶点筛选

隐藏网络中已中断的节点, 得到大柴胡汤-奶牛脂肪肝 PPI 网络, 见图 4。共有 73 个靶点蛋白节点、443 条蛋白与蛋白质间的联系的边, 连接度平均值 12.1。采用 Cytoscape 3.9.1 软件筛选核心靶点, 过程详见图 5。在 degree 值高于平均值的条件下进行 2 次筛选, 第 1 次平均度值为 13, 第 2 次平均度值为 15, 最终得到 8 个核心靶点, 关键靶点信息见表 4。

2.5 GO 功能富集分析

将得到的 73 个核心靶点输入 Kobas 数据库中进行 GO 功能富集分析, 筛选 $P < 0.05$ 的项共得到 1 178 条大柴胡汤治疗奶牛脂肪肝的相关条目。选择排名前十的生物过程、分子功能、细胞组分进行 GO 功能双侧柱形图绘制(图 6)。其中生物过程 BP (biological process) 主要包括凋亡线粒体改变、炎症反应、凋亡过程、胰岛素分泌的调节、序列特异性 DNA 结合转录因子活性的正调控、活性氧的代谢过程、脂多糖介导的信号通路、成纤维细胞增殖、负调节血压、白细胞介素-8 生成的正向调节; 细胞组分 CC (cellular component) 主要包括线粒体、内质网、



注:绿色菱形分别代表白芍(Baishao)和大枣(Dazao)的活性成分;黄色圆形分别代表半夏(Banxia)和黄芩(Huangqin)的活性成分;紫色六边形分别代表柴胡(Chaihu)和生姜(Shengjiang)的活性成分;玫红色八边形分别代表大黄(Dahuang)和枳实(Zhishi)的活性成分;紫色箭头形代表大柴胡汤复方的药物靶点。

图 3 大柴胡汤药物-活性成分-疾病作用靶点网络

Fig. 3 Drug-active compound-disease target network of Dachaihu Decoction

表 3 大柴胡汤药物-活性成分-疾病作用靶点网络度值前 10 活性成分

Tab. 3 Top 10 active compounds ranked by degree in the drug-active compound-disease target network of Dachaihu Decoction

MOL ID	中文名	结构	度值	中药	MOL ID	中文名	结构	度值	中药
MOL000173	汉黄芩素		23	黄芩	MOL001689	刺槐素		13	黄芩
MOL001880	草酸		17	大黄	MOL000254	丁香酚		13	黄芩
MOL002714	黄芩素		15	黄芩	MOL002029	花侧柏烯		11	柴胡
MOL000358	β -谷甾醇		14	黄芩	MOL012921	光千金藤碱		11	大枣
MOL001789	异甘草素		13	柴胡	MOL000228	7-羟基-5-甲氧基-2-黄烷酮		11	黄芩

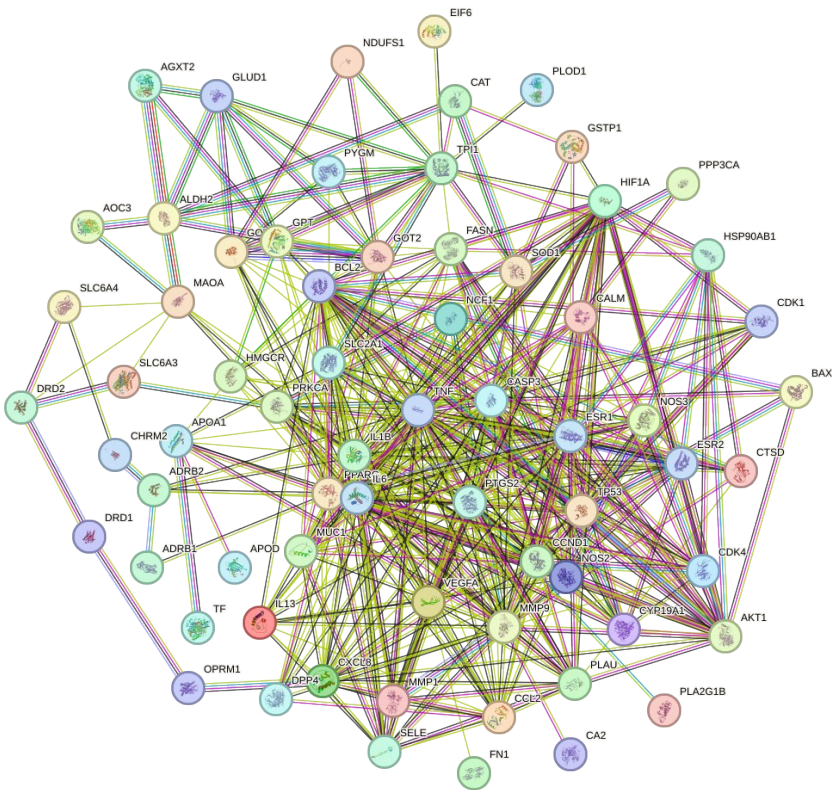
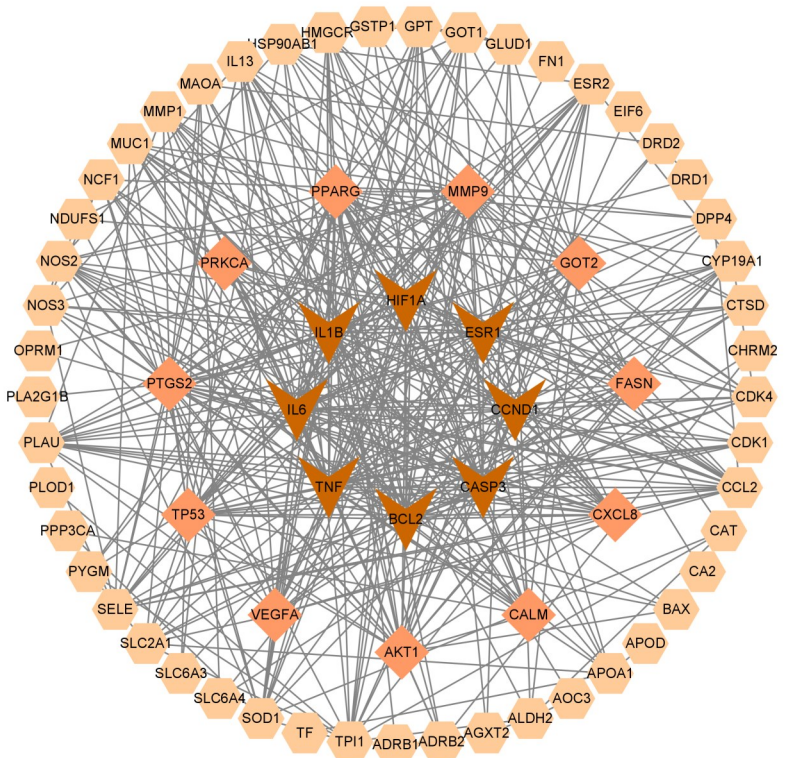


图 4 大柴胡汤-奶牛脂肪肝交集靶点 PPI 网络

Fig. 4 PPI network of overlapping targets between Dachaihu Decoction and fatty liver disease in dairy cows



注:3 种颜色变化表示 2 次筛选结果;菱形节点表示第 1 次筛选后的成分-疾病靶点;箭头形节点表示第 2 次筛选后的成分-疾病靶点即核心靶点。

图 5 大柴胡汤-奶牛脂肪肝核心靶点筛选图

Fig. 5 Screening of key targets shared between Dachaihu Decoction and fatty liver disease in dairy cows

表4 大柴胡汤治疗奶牛脂肪肝的关键靶点

Tab. 4 Key targets of Dachaihu Decoction in the treatment of fatty liver disease in dairy cows

关键靶点	中文名称	度值
IL1B	白细胞介素1 β	37
CASP3	胱天蛋白酶3	39
BCL2	B淋巴细胞瘤-2基因	34
ESR1	雌激素受体1	29
HIF1A	缺氧诱导因子1	31
TNF	肿瘤坏死因子	40
CCND1	G1/S-特异性周期蛋白-D1	24
IL6	白细胞介素-6	39

细胞外区域、胞质、细胞表面、顶质膜、质膜的组成部分、细胞质、内质网膜、细胞质核周区;分子功能MF(molecular function)主要包括雌激素反应元件结合、脂肪胺氧化酶活性、蛋白同型二聚化活性、蛋白酶结合、锌离子结合、酶结合、雌激素受体活性、细胞因子活性、蛋白结合、相同的蛋白质结合。

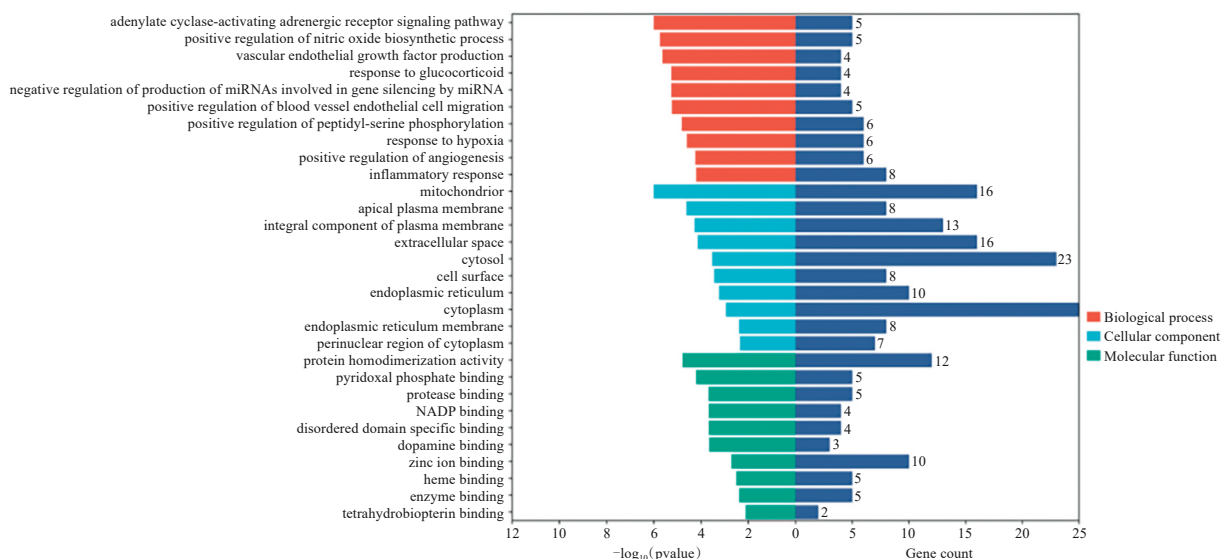


图6 GO功能富集分析结果

Fig. 6 Results of GO functional enrichment analysis

2.7 分子对接验证

将筛选出的8个关键靶蛋白分别与“大柴胡汤药物-活性成分-疾病作用靶点”网络中与之相互作用的活性成分进行分子对接,对接结果见表5。随着总评分增加,配体与受体的结合会更加稳定,且总评分 ≥ 5 时药物分子与对应的蛋白靶点间有很强的交互作用。选取总评分 ≥ 5 的分子对接结果进行可视化展示,见图9。

2.6 KEGG富集通路分析

对73个交集靶点进行KEGG通路富集分析,筛选出 $P < 0.05$ 具有统计学意义的通路,共199条,去除与奶牛脂肪肝相关性小的通路后选取 P 值最小的前10条通路进行气泡图绘制(图7)。大柴胡汤治疗奶牛脂肪肝主要集中在晚期糖基化终末产物(AGE)-晚期糖基化终末产物受体(RAGE)、HIF-1(HIF-1 signaling pathway)、肿瘤坏死因子(TNF signaling pathway)、白细胞介素-17(IL-17 signaling pathway)、流体剪切应力与动脉粥样硬化(fluid shear stress and atherosclerosis)等信号通路。AGE-RAGE通路是除癌症通路外交集靶点基因存在最多的通路,有16个靶点基因在其中发挥作用。定位渲染结果显示,16个靶蛋白位于通路的多个关键节点位置,见图8。

3 讨论

3.1 大柴胡汤活性成分分析

大柴胡汤由多种药材组成,在中医方剂理论中,各药材按照君、臣、佐、使的原则分工,以协同发挥治疗作用。柴胡作为君药,是方剂的核心成分,主要作用是疏肝解郁,和解表里,调节肝胆气机。黄芩和半夏作为臣药,与柴胡相配,辅助君药加强疗效。黄芩具有清热燥湿、泻火解毒的功效,半夏

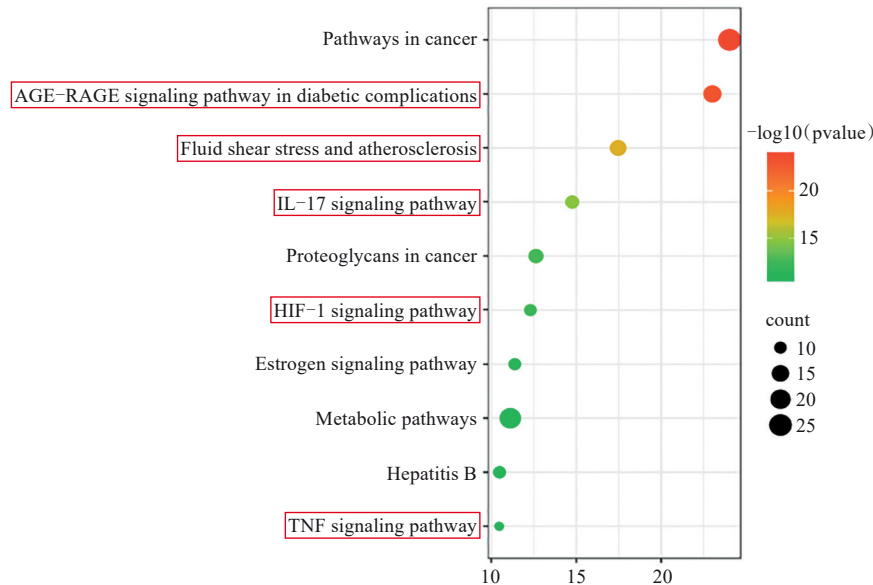


图 7 大柴胡汤治疗奶牛脂肪肝的 KEGG 通路分析

Fig. 7 KEGG pathway enrichment analysis of Dachaihu Decoction in the treatment of fatty liver disease in dairy cows

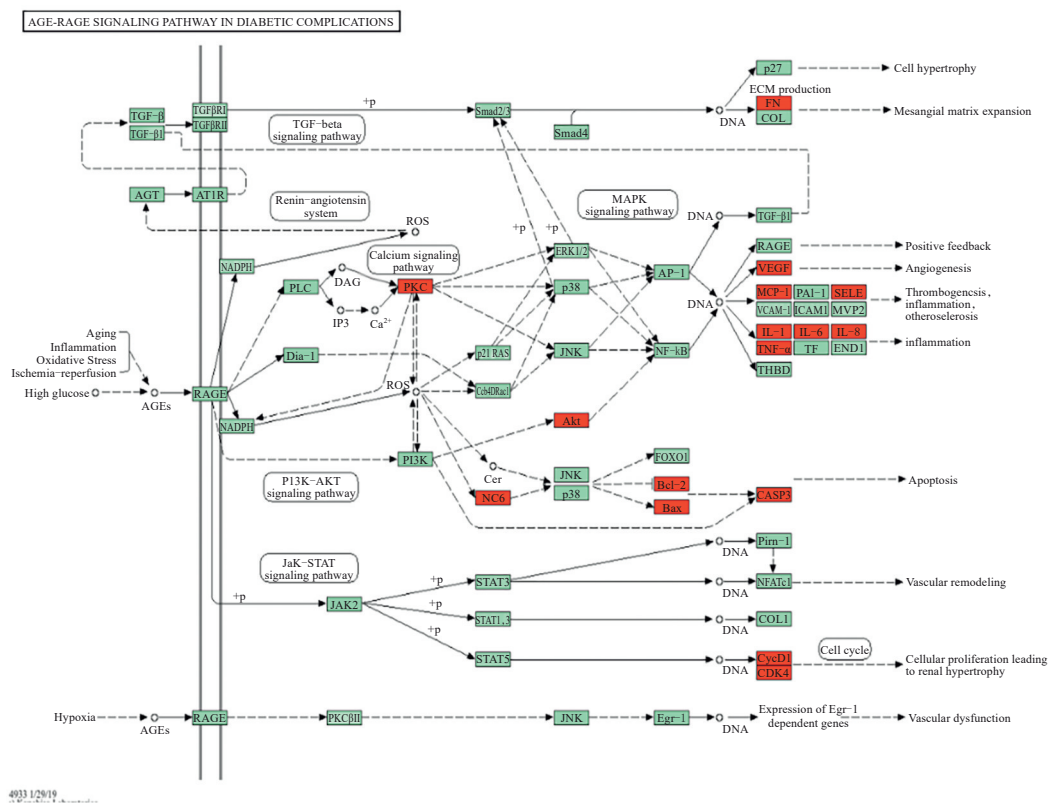


图 8 16 个交集靶点在 AGE-RAGE 信号通路中发挥作用的过程

Fig. 8 Roles of 16 overlapping targets in the AGE-RAGE signaling pathway

则能燥湿化痰、和胃降逆,两者分别针对热邪和痰湿病机,增强治疗效果。生姜、枳实及大黄作为佐药,进一步强化君药和臣药的功效,扩大治疗范围,同时调和或减轻君臣药物的药性,以防对机体产生不良反应。生姜温中止呕、和胃散寒,协助半夏化痰降逆,缓解恶心呕吐;枳实则破气消积、化痰除

满,帮助疏肝理气,助柴胡、半夏调畅气机;大黄则通过泻下攻积、清热解毒,排除体内积滞,促进肝胆湿热的排泄。大枣作为使药,具有补中益气、调和药性的作用,能够缓和药物的寒凉或峻泻之性,使方剂整体更加温和,避免损伤正气。同时,它还能补中益气,增强脾胃功能,确保方剂在治疗过程中

表5 分子对接信息
Tab. 5 Molecular docking information

靶点蛋白	PDB 编号	化合物(MOL ID)	总评分
IL1B	1XPC	-	-
CASP3	1NME	刺槐素	4.638 0
		汉黄芩素	3.923 6
		刺槐素	3.353 3
		木蝴蝶素 A	4.450 6
		野黄芩苷	5.982 5
		β -谷甾醇	4.675 3
BCL2	4LXD	刺槐素	4.688 3
		汉黄芩素	4.254 7
		刺槐素	4.623 4
		木蝴蝶素 A	5.523 2
		β -谷甾醇	2.543 9
		枸橼苷	-
ESR1	1SJ0	异甜橙黄酮	-
		7-羟基-5-甲氧基-2-黄烷酮	-
		异甘草素	6.919 3
		决明素 A	0.161 0
		汉黄芩素	6.373 3
		5,7,4-三羟基-8-甲氧萜	6.445 2
HIF1A	6GFX	新黄芩苷	4.411 1
		没食子儿茶素	4.943 5
TNF	5UUI	黄芩苷	5.895 0
		汉黄芩素	2.668 1
CCND1	6P8F	柠檬醛	2.631 2
		香叶醇	6.977 8
IL6	4N17	汉黄芩素	5.570 8
		木蝴蝶素 A	3.159 4
			2.263 6

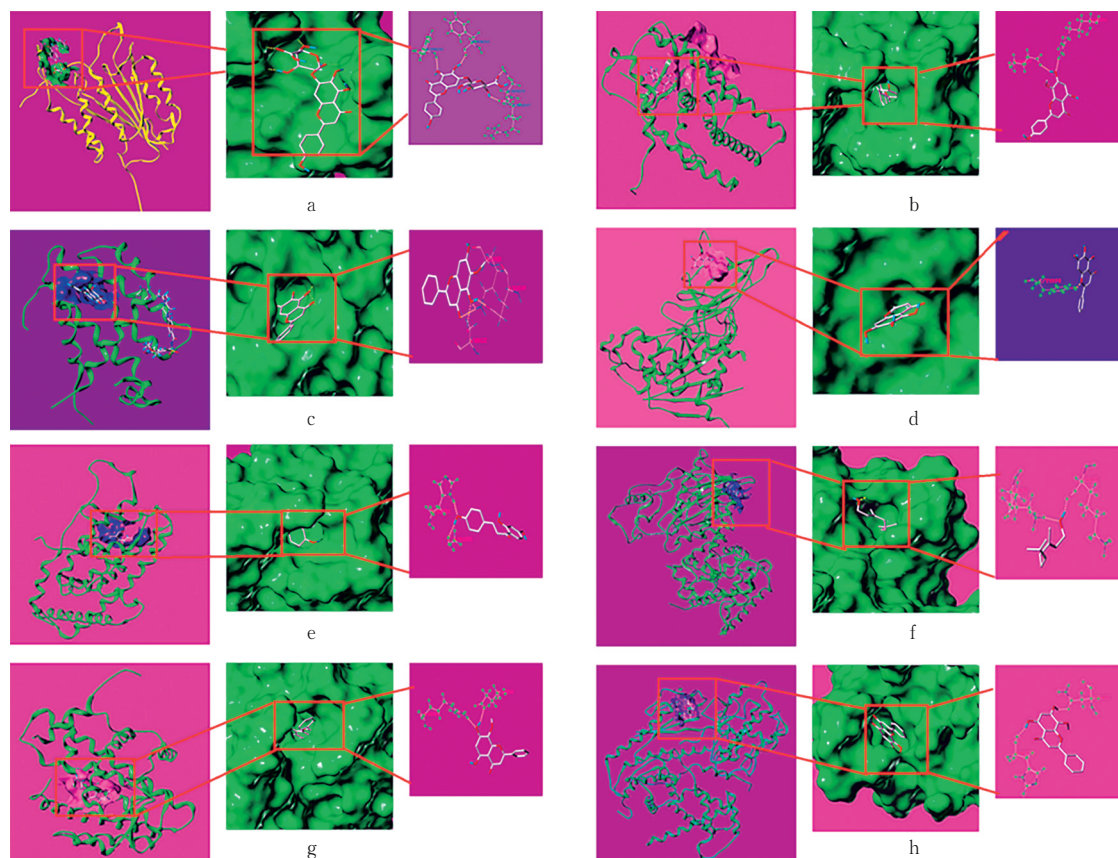
不伤正气,维持整体平衡。

同时,本研究采用网络药理学发现,大柴胡汤可能通过黄芩苷、异甘草素、 β -谷甾醇、木蝴蝶素 A、野黄芩苷等有效成分的发挥治疗奶牛脂肪肝。众多研究表明,黄芩苷能够通过多种途径干预非酒精性脂肪肝(NAFLD)的发生与发展。Zhu 等^[8]发现黄芩苷能够通过 mTOR 途径来维持溶酶体 V-ATPase 酶的组装,进而抑制肝脏内的溶酶体酸化,发挥治疗 NAFLD 的作用。Sun 等^[9]以油酸诱导的 HepG2 细胞和高脂饮食诱导的非胰岛素抵抗小鼠为研究对象,发现黄芩苷可以通过激活 AMPK 通路、抑制 SREBP1 因子裂解减少肝脏脂肪积累,降低 TC(总胆固醇)和 LDLC(低密度脂蛋白胆固醇)、升高 HDLC(高密度脂蛋白胆固醇)、影响抗氧化活性^[9]。此外,黄芩苷还能够通过抑制肝细胞的新生

脂肪生成,调控 Sestrin2 的表达来降低肝脏脂质积累和肝因子分泌来改善 NAFLD^[10-11]。异甘草素是从甘草属植物根部分离得到的一种黄酮类化合物,在本方剂中来源于中药柴胡。异甘草素具有抗炎、抗癌、保护肝脏和心脏等功能^[12-15]。曾海燕等^[16]发现异甘草素能够明显提高小鼠肠道有益菌(*Odoribacter* 等)相对丰度,降低肠道有害菌(*desulfovibrio* 等)相对丰度,改善肠黏膜屏障相关蛋白表达水平,从而抑制 NAFLD 的发生发展。 β -谷甾醇是一种天然的甾体类化合物,其作为真核生物细胞膜的重要组成部分,不仅具有良好的自由基清除作用,还具有化学预防高血脂、动脉硬化和炎症等疾病的作用^[17-19]。Gumede 等^[20]发现, β -谷甾醇可预防高果糖饮食诱导的雄性大鼠的巨泡性肝脏脂肪变性,并可防止非酒精性脂肪肝病发展为脂肪性肝炎。此外,体外研究还表明 β -谷甾醇能够显著抑制肝癌细胞 SMMC-7221 的生长,使肿瘤细胞周期停滞于 G2/M 期,抑制肿瘤生长^[21]。木蝴蝶素也是从黄芩中分离出来的一种黄酮类成分,具有很好的抗肝损伤功能,已有研究显示木蝴蝶素可降低脂类合成关键基因的表达,如 *SREBP-1c*、*Fasn*、*Scd1* 等;上调脂肪酸氧化相关基因的表达,从而缓解酒精引起的 L02 细胞内脂类沉积^[22]。野黄芩苷又叫灯盏乙素,来源于中药黄芩的叶、茎、全草等。野黄芩苷具有广泛的药理活性,如抗心肌肥厚,减轻心肌缺血再灌注损伤等^[23-24],有研究发现,野黄芩苷可通过 IRE1/XBP1 途径增强自噬,抑制内质网应激。而内质网应激和自噬在脂质积累中起着重要作用^[25]。因此野黄芩苷可改善肝脏脂质积累。以上结果提示本研究筛选出的治疗奶牛脂肪肝的大柴胡汤活性成分具有较高的可靠性。

3.2 大柴胡汤治疗奶牛脂肪肝核心靶点分析

蛋白质互作结果分析显示,大柴胡汤治疗奶牛脂肪肝的关键靶点为 IL1B、CASP3、ESR1、HIF1A、TNF、CCND1、IL6 等。CASP3 是半胱天冬酶的原型,在细胞凋亡机制中起核心作用。肝细胞死亡是脂肪肝的一个重要特征。有研究发现,CASP3 激活在非酒精脂肪肝相关的细胞凋亡和纤维化中起重要作用,其作用机制是通过 CCR2 依赖性的 Ly6c 阳性单核细胞浸润所介导^[26]。性腺激素,尤其是雌激素,在调节新陈代谢中起着重要作用。雌激素受体 α (ESR1)是动物肝脏中的主要受体,它介导肝脏对



注:a为CASP3(1nme)与野黄芩苷(scutellarin);b为BCL2(4lxd)与木蝴蝶素A(oroxylin a);c为ERS1(1SJ0)与异甘草素(isoliquiritigenin);d为ERS1(1SJ0)与汉黄芩素(wogonin);e为ERS1(1SJ0)与5,7,4'-三羟基-8-甲氧基黄酮(5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone);f为HIF1A(6GFX)与黄芩苷(baicalein);g为CCND1(6P8F)和汉黄芩素;h为CCND1(6P8F)和香叶醇(geraniol)。

图9 分子对接可视化结果

Fig. 9 Visualization of the molecular docking results

雌激素的反应。研究发现ESR1表达的破坏会导致胰岛素抵抗,肥胖增强,葡萄糖耐量受损,肝脂肪变性以及炎性浸润^[27]。*Esr1*基因敲除后,雌鼠体内脂肪含量显著升高,同时减少了雄性大鼠的正常生长。虽然*Esr1*基因缺失的雄性大鼠体质量减轻,但它们表现出了明显的肝脂沉积及糖耐量异常^[28]。肿瘤坏死因子家族(TNF)是一类能够诱导细胞死亡或凋亡的调节性细胞因子,其主要来源为巨噬细胞、单核细胞和部分脂肪细胞。伴有非酒精性脂肪肝严重程度较高的Ⅲ级肥胖个体(体质量指数 $\geq 40.0 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$)在白色脂肪组织中有较高的TNF- α 表达^[29]。TNF- α 通过与肿瘤坏死因子受体-1(TNF-R1)和肿瘤坏死因子受体-2(TNF-R2)相互作用促进肝脏和全身炎症、肝损伤和胰岛素抵抗^[30]。胰岛素抵抗与奶牛脂肪肝之间有重要的联系^[31]。

3.3 KEGG通路富集分析

KEGG通路富集分析发现,大柴胡汤治疗奶牛脂肪肝是通过流体剪切应力与动脉粥样硬化、HIF-1、

TNF、IL-17等信号通路。IL-17信号通路中的IL-17A是IL-17家族中最重要的炎症因子,已有研究表明IL-17A可通过多种途径参与NAFLD的发生发展,如炎症、纤维化、胰岛素抵抗、脂肪变性、肿瘤恶性转化及肝癌的发生发展^[32]。HIF-1信号通路中的HIF1A(缺氧诱导因子1 α)也是PPI网络中筛选的关键靶蛋白之一。HIF1A是一种转录因子,参与调节许多基因的表达。肝纤维化是一种伤口愈合反应,主要是由非酒精性脂肪肝等慢性肝病和肝脏刺激导致的慢性肝损伤所引起。其特征是肝星状细胞(HSC)的活化,研究发现HIF1A可通过抑制糖酵解的方法来减少HSC活化从而减轻肝纤维化。此外,HIF-1 α 还可上调促炎症因子的释放量,导致胰岛素抵抗^[33]。剪切应力是指流体与血管内皮之间的摩擦,是一种重要的生理功能,在血液流动及往复运动过程中,低剪切应力可使血管内皮细胞内基因及蛋白表达水平升高,进而引起血管壁氧化及炎症反应,引起动脉粥样硬化和脂代谢紊乱^[34]。

4 结论

本研究基于网络药理学和分子对接技术分析大柴胡汤治疗奶牛脂肪肝的药效成分及其作用机制。结果表明,大柴胡汤药效成分黄芩苷、异甘草素、 β -谷甾醇、木蝴蝶素A和野黄芩苷等可通过调控TNF、IL-17、HIF-1信号通路中IL1B、CASP3、ESR1、TNF、CCND1、IL6等关键靶点发挥治疗奶牛脂肪肝的作用。研究结果为大柴胡汤防控奶牛脂肪肝提供了一定的理论依据。

参考文献:

- [1] Gerspach C, Imhasly S, Gubler M, et al. Altered plasma lipidome profile of dairy cows with fatty liver disease[J]. Research in Veterinary Science, 2017, 110: 47-59.
- [2] 王维忠,艾润华,秦尚升.围产期奶牛脂肪肝的病症及综合防治[J].养殖技术顾问,2009(1):54.
- [3] 肖黄满,尚海涛,张静宇,等.加味大柴胡汤对梗阻性黄疸大鼠肝损伤及JNK、Bcl-2表达的影响[J].天津医药,2020,48(9):834-838.
- [4] 李林,王茂材,罗赤苗,等.大柴胡汤联合运动对阻塞性黄疸大鼠肝脏炎症细胞因子的影响[J].中国运动医学杂志,2011,30(9):836-841.
- [5] 张卫欢,李秋云,杨春伟,等.大柴胡汤加减联合利拉鲁肽对肥胖2型糖尿病患者胰岛素抵抗、 β -细胞功能和低度炎症反应的影响[J].现代中西医结合杂志,2018,27(1):23-26.
- [6] 梁天坚,李黎明,李本杰,等.基于网络药理学分析大柴胡汤治疗高脂血症的作用机制[J].中成药,2021,43(6):1645-1652.
- [7] 马俊梅.大柴胡汤治疗脂肪肝临床研究[J].光明中医,2021,36(8):1257-1258.
- [8] Zhu X H, Yao P, Liu J J, et al. Baicalein attenuates impairment of hepatic lysosomal acidification induced by high fat diet via maintaining V-ATPase assembly[J]. Food and Chemical Toxicology, 2020, 136: 110990.
- [9] Sun W L, Liu P P, Wang T Q, et al. Baicalein reduces hepatic fat accumulation by activating AMPK in oleic acid-induced HepG2 cells and high-fat diet-induced non-insulin-resistant mice. [J]. Food & Function, 2020, 11(1):711-721.
- [10] Xing Y, Ren X X, Li X, et al. Baicalein enhances the effect of acarbose on the improvement of nonalcoholic fatty liver disease associated with prediabetes via the inhibition of De novo lipogenesis[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(34):9822-9836.
- [11] 祝鑫红,姚平,姜纯杰,等.黄芩素对高脂诱导的肝细胞氧化损伤的保护效应[J].中华肝脏病杂志,2021,29(5):462-467.
- [12] Li M M, Lu G C, Ma X, et al. Anti-inflammation of isoliquiritigenin via the inhibition of NF- κ B and MAPK in LPS-stimulated MAC-T cells[J]. BMC Veterinary Research, 2022, 18(1):320.
- [13] Cui Y M, Wu Y L, Wang C, et al. Isoliquiritigenin inhibits non-small cell lung cancer progression via m6A/IGF₂BP₃-dependent TWIST1 mRNA stabilization[J]. Phytomedicine, 2022, 104: 154299.
- [14] 刘娜.异甘草素对酒精性肝纤维化的保护作用及机制研究[D].石河子:石河子大学,2023.
- [15] Liang S, Zhang L J, Liang S S. Targeted delivery of isoliquiritigenin by ultrasonic microbubbles attenuate myocardial injury via suppressing inflammation and oxidative stress and activating AMPK/SIRT1/ENOS signaling pathway in rats[J]. Applied Biological Chemistry, 2023, 66(1):49.
- [16] 曾海燕,简丽娜,吴辉星,等.异甘草素调控肠道菌群和肠屏障功能改善小鼠非酒精性脂肪性肝病的作用机制[J].中国药房,2023,34(23):2848-2854.
- [17] Iyer D, Patil U K. Efficacy of β -sitosterol isolated from *Evolvulus alsinoides* L. as anti-hyperlipidemic and anti-tumor agent: evidence from animal studies[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2014.
- [18] Wu W P, Liu W G, Wang H F, et al. β -sitosterol inhibits trimethylamine production by regulating the gut microbiota and attenuates atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice [J]. Frontiers in Cardiovascular Medicine, 2022, 9: 986905.
- [19] Fan Y T, Shen J L, Liu X L, et al. β -sitosterol suppresses lipopolysaccharide-induced inflammation and lipogenesis disorder in bovine mammary epithelial cells [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(19):14644.
- [20] Gumede N M, Lembede B W, Nkomozepi P, et al. β -sitosterol mitigates the development of high-fructose diet-induced nonalcoholic fatty liver disease in growing male Sprague-Dawley rats[J]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 2020, 98(1):44-50.
- [21] 李庆勇,姜春菲,张黎,等. β -谷甾醇、豆甾醇诱导人肝癌细胞SMMC-7721凋亡[J].时珍国医国药,2012,23(5):1173-1175.
- [22] Jin H H, Lian N Q, Bian M L, et al. Oroxyn A prevents alcohol-induced hepatic steatosis through inhibi-

- tion of hypoxia inducible factor 1 α [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2018, 285: 14-20.
- [23] Shi X J, Hu Y J, Jiang Y X, et al. Scutellarein protects against cardiac hypertrophy via suppressing TRAF2/NF- κ B signaling pathway[J]. *Molecular Biology Reports*, 2022, 49(3): 2085-2095.
- [24] Wu H Y, Jia L. Scutellarin attenuates hypoxia/reoxygenation injury in hepatocytes by inhibiting apoptosis and oxidative stress through regulating Keap1/Nrf2/ARE signaling[J]. *Bioscience Reports*, 2019, 39(11): BSR20192501.
- [25] Zhang X Y, Huo Z J, Luan H L, et al. Scutellarin ameliorates hepatic lipid accumulation by enhancing autophagy and suppressing IRE1 α /XBP1 pathway[J]. *Phytotherapy Research*, 2022, 36(1): 433-447.
- [26] Thapaliya S, Wree A, Povero D, et al. Caspase 3 inactivation protects against hepatic cell death and ameliorates fibrogenesis in a diet-induced NASH model[J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2014, 59(6): 1197-1206.
- [27] Winn N C, Jurrisen T J, Grunewald Z I, et al. Estrogen receptor- α signaling maintains immunometabolic function in males and is obligatory for exercise-induced amelioration of nonalcoholic fatty liver[J]. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 2019, 316(2): E156-E167.
- [28] Khristi V, Ratri A, Ghosh S, et al. Disruption of ESR1 alters the expression of genes regulating hepatic lipid and carbohydrate metabolism in male rats[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2019, 490: 47-56.
- [29] Jorge A S B, Andrade J M O, ParaiSo A F, et al. Body mass index and the visceral adipose tissue expression of IL-6 and TNF- α are associated with the morphological severity of non-alcoholic fatty liver disease in individuals with class III obesity[J]. *Obesity Research & Clinical Practice*, 2018, 12(1): 1-8.
- [30] Li Y R, Chen X Q, Chen Y L, et al. Berberine improves TNF- α -induced hepatic insulin resistance by targeting MEKK1/MEK pathway[J]. *Inflammation*, 2022, 45(5): 2016-2026.
- [31] 樊瑞锋. 奶牛胰岛素抵抗与脂肪肝发病关系的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2014.
- [32] Ma H Y, Yamamoto G, Xu J, et al. IL-17 signaling in steatotic hepatocytes and macrophages promotes hepatocellular carcinoma in alcohol-related liver disease[J]. *Journal of Hepatology*, 2020, 72(5): 946-959.
- [33] Wang X J, De Carvalho Ribeiro M, Iracheta-Vellve A, et al. Macrophage-specific hypoxia-inducible factor-1 α contributes to impaired autophagic flux in nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Hepatology*, 2019, 69(2): 545-563.
- [34] Quan M X, Lü H Z, Liu Z N, et al. MST1 suppresses disturbed flow induced atherosclerosis[J]. *Circulation Research*, 2022, 131(9): 748-764.

Network pharmacology-based investigation of the mechanisms of Dachaihu Decoction in treating fatty liver disease in dairy cows

Sun Yu, Yang Wenhui, Guo Yansheng

(School of Animal Science and Technology, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: Dachaihu Decoction exerts therapeutic effects on fatty liver disease in dairy cows through the regulation of multiple targets and pathways. Based on the TCMSP database, 136 active compounds of Dachaihu Decoction and their corresponding targets were identified. Meanwhile, 2 925 targets associated with fatty liver disease in dairy cows were collected from disease-related databases, including GeneCards and PharmGKB. Network pharmacology analysis identified 73 overlapping drug-disease targets, of which eight key target genes were selected from the protein-protein interaction (PPI) network. Gene Ontology (GO) functional enrichment analysis showed that Dachaihu Decoction primarily regulates biological processes such as the regulation of insulin secretion, lipopolysaccharide-mediated signaling pathways, and fibroblast proliferation. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis indicated that its therapeutic effects are mediated through the HIF-1 signaling pathway, the fluid shear stress and atherosclerosis pathway, and the IL-17 signaling pathway, among others. Molecular docking analysis showed that the key targets CASP3, BCL2, ESR1, and HIF1A exhibited stable binding to the active compounds of Dachaihu Decoction, including baicalin, wogonin, oroxylin A, and isoliquiritigenin. These findings suggest that Dachaihu Decoction exerts therapeutic effects on fatty liver disease in dairy cows through a multi-component, multi-target, and multi-pathway mechanism, providing a theoretical basis for further elucidating its underlying molecular mechanisms.

Keywords: network pharmacology; Dachaihu Decoction; molecular docking; fatty liver disease in dairy cows

(责任编辑 魏 乐)