

引用:张杰,石佳林,张海峰.基于网络药理学与体外实验探究蒙药古日古木-13降脂作用机制[J].中医药导报,2025,31(11):38-44.

基于网络药理学与体外实验探究蒙药古日古木-13降脂作用机制^{*}

张杰,石佳林,张海峰

(内蒙古医科大学基础医学院,内蒙古 呼和浩特 010050)

[摘要] 目的:运用网络药理学方法研究蒙药古日古木-13治疗高脂血症的活性成分和作用机制,并通过分子对接和细胞实验进行验证。方法:利用TCMSP、PubChem、Swiss Target Prediction、PharmMapper等数据库筛选出古日古木-13治疗高脂血症的活性成分及其作用靶点,挖掘GeneCard、OMIM数据库中高脂血症疾病靶点,采用DAVID数据库进行GO富集分析和KEGG通路富集分析,并利用Cytoscape构建“成分-靶点-通路”网络,最后运用Autodock 4.2软件对活性成分和靶点进行分子对接验证。培养并诱导3T3-L1细胞分化为脂肪细胞,通过MTT和油红O染色检测药物对细胞活力和脂滴积累的影响,同时通过qPCR实验检测关键基因表达。结果:筛选获得古日古木-13的核心活性成分为鞣花酸、诃子次酸、白果内酯、小檗碱、6-羟基山柰酚。筛选出疾病与药物的交集靶点460个,对交集靶点通过构建蛋白互作分析网络,并对网络进行拓扑学分析筛选获得PIK3CA、Akt1、STAT3、TNF等核心作用靶点;对交集靶点进行GO、KEGG富集分析发现,过程涉及多个脂质代谢相关过程。对分析结果进行分子对接验证发现具有良好对接活性,且细胞实验证明古日古木-13可以减少脂质积累、减少细胞TG含量、增加细胞葡萄糖利用率,增加细胞中PI3K、Akt、PGC-1 α 基因表达。结论:古日古木-13能够有效治疗高脂血症并缓解细胞脂质积累,其机制可能为通过鞣花酸、诃子次酸、白果内酯、小檗碱等多个活性成分、多靶点、多途径作用对脂质代谢、PI3K、Akt、PGC-1等核心靶点进行调节,达到减少细胞脂质积累、调节脂代谢,进而缓解高脂血症的作用。

[关键词] 高脂血症;蒙药古日古木-13;网络药理学;靶点

[中图分类号] R285.5;R291.208 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2025)11-0038-07

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.11.007

The Mechanism of Lipid-Lowering Effects of Mongolian Medicine Gurigumu-13
(古日古木-13) Based on Network Pharmacology and In Vitro Experiments

ZHANG Jie, SHI Jialin, ZHANG Haifeng

(Basic Medical College of Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia 010050, China)

[Abstract] Objective: To study the active ingredients and mechanism of Mongolian medicine Gurigumu-13 in the treatment of hyperlipidemia by network pharmacology, and to verify it by molecular docking and cell experiments. Methods: TCMSP, PubChem, Swiss Target Prediction, PharmMapper and other databases were used to screen out the active ingredients and targets of Gurigumu-13 in the treatment of hyperlipidemia, and the disease targets of hyperlipidemia were mined from GeneCard and OMIM databases. DAVID database was used for GO enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis, and Cytoscape was used to construct the "component-target-pathway" network. Finally, Autodock 4.2 software was used to verify the molecular docking between active ingredients and targets. 3T3-L1 cells were cultured and induced to differentiate into adipocytes. The effects of Gurigumu-13 on cell viability and lipid drop accumulation were detected by MTT and oil red O staining, and the expression of key genes was detected by qPCR. Results: The core active components of Gurigumu-13 were screened and obtained as ellagic acid, chebulic acid, bilobalide, berberine and 6-hydroxy-yaanthol. A total of 460 intersection targets of diseases and drugs were screened. The intersection targets were identified by constructing protein interaction analysis network, and the core action targets such as PIK3CA,

*基金项目:内蒙古医科大学面上项目(YKD2023MS045)

通信作者:张海峰,男,教授,研究方向为肝脏类疾病和代谢性疾病的治疗

Akt1, STAT3 and TNF were obtained by topology analysis and screening of the network. GO and KEGG enrichment analysis of intersection targets showed that the process involved several lipid metabolism related processes. Molecular docking verification of the analysis results showed that Gurigumu-13 had good docking activity, and cell experiments showed that Gurigumu-13 could reduce lipid accumulation, reduce cell TG content, increase cell glucose utilization, and increase the expression of PI3K, Akt, and PGC-1 α genes in cells. Conclusion: Gurigumu-13 can effectively treat hyperlipidemia and alleviate cellular lipid accumulation. Its mechanism is likely mediated through multiple active ingredients such as ellagic acid, chebulic acid, bilobalide, and berberine. This multi-component, multi-target, and multi-pathway approach acts by regulating core targets involved in lipid metabolism, including PI3K, Akt, and PGC-1 α , to reduce cellular lipid accumulation and modulate lipid metabolism, thereby alleviating hyperlipidemia.

[Keywords] hyperlipidemia; Mongolian medicine Gurigumu-13; network pharmacology; target point

高脂血症(hyperlipidemia)是血浆中脂质异常升高的一种慢性代谢综合征,临床表现为血浆中甘油三酯和(或)总胆固醇升高,低密度脂蛋白胆固醇升高和高密度脂蛋白胆固醇降低^[1]。高脂血症通常由脂肪摄入过多、脂蛋白合成及代谢过程的异常等因素导致,是心血管疾病的主要危险因素之一。高脂血症患者的血脂持续处于高水平,极大增加了冠心病和动脉粥样硬化等心血管疾病的发病率。现阶段对高脂血症的治疗主要以降低低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)为首要目标,临幊上常依据是否合并冠心病等危症来决定治疗措施及血脂调控的目标水平^[2-7]。据调查我国近年血脂异常的人群逐年增加,严重危害公共健康^[8-9]。

民族医药在治疗高脂血症方面具有独特的优势,近年来的相关研究表明民族医药在调节血脂、改善代谢和降低心血管疾病风险方面表现出显著的疗效^[10-15]。蒙药作为民族医药的重要组成部分之一,在治疗高脂血症时具有疗效好、不良反应小等显著优势。蒙药古日古木-13(SD)是蒙医临幊上常用的减少肝脏脂肪、调节脂代谢、治疗肝脏疾病的药物,被收载于1998年版《中华人民共和国卫生部药品标准(蒙药分册)》。该药由红花、牛黄、麦冬、木香、川楝子、诃子、栀子、紫檀香、人工麝香、水牛角、银朱、丁香、莲子等13味药组成,具有清热燥湿、调节脂代谢的功能,常用于治疗高脂血症、非酒精性脂肪肝等疾病。

网络药理学是一门融合系统生物学、信息网络学、计算机科学和药理学的综合学科,其多成分、多靶点、多通路的分析特点契合传统医药多成分、多靶点、多通路的作用特点^[16-18]。本研究利用网络药理学和分子对接技术探讨古日古木-13与高脂血症靶点之间的相互作用关系,分析并阐释古日古木-13对高脂血症的药效物质基础及其潜在的药理作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验细胞株 本研究选用小鼠胚胎成纤维细胞(前脂肪细胞)系(3T3-L1)细胞株进行实验,所用细胞株购买自浙江美森细胞科技有限公司(货号:CTCC-001-0210),在含5% CO₂的37℃恒温培养箱中培养。

1.1.2 药物与试剂 古日古木-13水丸(内蒙古蒙药股份有限

公司,批号:Z15020395);多烯磷脂酰胆碱胶囊(北京赛诺菲制药有限公司,批号:H20059010);3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(上海源叶生物科技有限公司,批号:N13GS167829);胰岛素(上海源叶生物科技有限公司,批号:CI30213730);地塞米松(北京百瑞极生物科技有限公司,批号:20240228);青链霉素混合液(×100)细胞培养专用(北京索莱宝科技有限公司,批号:240008005);DMEM高糖培养基(批号:6124144)、胎牛血清(批号:2406069)和0.25%Trypsin-EDTA(批号:25200056)均购于美国Gibco公司;MTT细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(批号:20231212)、甘油三酯(TG)测试盒(批号:20231221)、葡萄糖(Glu)测试盒(批号:20221210)和油红O染色液(批号:20231211)均购于南京建成生物工程研究所;逆转录试剂(批号:05276806)和qPCR试剂(批号:05256502)均购于翌圣生物科技(上海)股份有限公司。

1.1.3 主要仪器 生物安全柜(中国苏洁净化设备有限公司,型号:BSC-13000IIB2);RT-PCR仪(美国Applied Biosystems公司,型号:QuantStudio3);多功能酶标仪(美国Bio-Rad公司,型号:CMAX_PLUS);细胞培养箱(美国Thermo公司,型号:3311E);显微镜(日本尼康公司,型号:E200);台式离心机(美国Sigma公司,型号:1-14K);普通冰箱(中国青岛海尔股份有限公司,型号:BCD-283WLHC357XM);细胞计数仪(上海睿钰生物科技有限公司,型号:IC1000);掌上八连排离心机(美国Scilogex公司,型号:S1010E);高温高压灭菌锅(日本Tomy公司,型号:SX-700);超纯水仪(美国Millipore公司,型号:EQ7005)。

1.2 实验方法

1.2.1 古日古木-13溶液配制 古日古木-13药丸研磨成粉,称重后放入烧瓶,加入20倍的超纯水,进行第一遍煎煮,水沸后煎煮1 h。煎煮结束,晾凉后收集上清于干净的培养瓶中,用四层纱布过滤,滤渣加20倍水进行2次煎煮,水沸后煎煮1 h。重复上述步骤,加10倍水于滤渣中,移至烧杯中50℃超声半小时。收集所有上清,进行冷凝浓缩。将浓缩后液体分装至冻干瓶中,体积不超三分之二,瓶盖盖到一档,放入-30℃冰箱冷冻一夜。冻干机提前预冷10 min,将冻干瓶迅速转移到冻干机中,盖好后运行机器。待完全冻干后取出样本,阴凉干燥处

保存。称取3.8 mg古日古木-13冻干粉末,溶于20 mL纯净水中,配置为0.19 mg/mL的母液,通过0.22 μm 尼龙过滤器过滤备用。

1.2.2 古日古木-13活性成分及靶点的收集与筛选 通过检索TCMSP数据库(<https://old.tcmsp-e.com/tcmspsearch.php>)、SYMMAP(<http://www.symmap.org/search>)、TCMIP(<http://www.tcmip.cn/TCMIP/index.php>)数据库及查阅文献收集古日古木-13各药(红花、牛黄、麦冬、木香、川楝子、诃子、栀子、紫檀香、人工麝香、水牛角、银朱、丁香、莲子)的主要化学成分,通过评价成分的体内过程,用口服生物利用度(oral bioavailability, OB)≥30%和类药性(drug likeness, DL)≥0.18筛选古日古木-13的主要活性成分。利用PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)获得主要活性成分的化学结构,并将化学结构导入Swiss Target Prediction数据库(<http://www.swis-targetprediction.ch/>)、Pharm Mapper数据库(<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/submitfile.html>)实现活性成分靶点的准确预测。将蛋白靶点数据输入UniProt数据库(<https://www.uniprot.org/>),选择物种为人,进行统一名称和写法,剔除无对应基因名称的蛋白。整合上述所得结果,即为古日古木-13活性成分相关靶点,将获得数据导入Cytoscape 3.9.1,获得活性成分和蛋白靶点的网络图,并通过Cytohubba插件筛选获得核心活性成分。

1.2.3 疾病靶点的获取与筛选 高脂血症疾病相关靶点筛选以“Hyperlipidemia”为检索关键词,挖掘GeneCards数据库(<https://www.genecards.org>)、OMIM数据库(<https://www.omim.org>)中高脂血症的潜在靶点,建立高脂血症疾病靶点数据集。筛选高脂血症与活性成分的共同靶点,并制作韦恩图,交集靶点定义为古日古木-13治疗高脂血症的核心靶点。

1.2.4 蛋白相互作用网络构建 将筛选得到的古日古木-13治疗高脂血症的核心靶蛋白导入String数据库(<https://cn.string-db.org>),物种选择设置为“Homo sapiens”,构建蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络,并对古日古木-13治疗高脂血症的关键靶点进行分析。将String数据库导出的网络导入Cytoscape 3.9.1软件构建蛋白靶点相互作用网络图,利用软件中网络分析功能及Cytohubba插件进行拓扑学分析,基于网络分析的角度探讨古日古木-13的作用机制。

1.2.5 富集分析 利用DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov>)进行基因本体论(gene ontology, GO)富集分析及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,深入探索主要基因功能注释与重要通路。依托于生物信息学云平台(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)绘制GO富集分析柱状图、KEGG通路富集气泡图,找到古日古木-13治疗高脂血症的重要信号通路。

1.2.6 分子对接核心靶点验证 分别通过PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)和AlphaFold蛋白质结构数据库(<https://www.alphafold.ebi.ac.uk/>)获取活性成分结构及关键蛋白结构,通过Pymol 2.5.4软件和AutoDockTools 4.2.6软件完成分子对接,利用Pymol软件对结果进行可视化操作。

1.2.7 细胞培养及脂肪化模型诱导 采用含10%胎牛血清的高糖型杜尔贝科改良伊格尔培养基(dulbecco's modified eagle medium, DMEM)完全培养基(含青链霉素双抗)培养3T3-L1细胞,置于含5%CO₂及37 °C的培养箱中孵育,待细胞生长至镜下观察可铺满约80%的皿底时,细胞传代处理,选取活性及生长状态最佳的3T3-L1细胞接种到6孔板,用完全培养基培养4 d(隔2 d换液1次),待细胞接触抑制后,使用含10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ INS、0.5 mmol/L IBMX、1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ DEX的完全培养基培养48 h后,换含10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ INS的完全培养基培养48 h,换正常完全培养基培养,继续培养2 d(隔1天换液1次)。诱导分化过程中维持给药,设置空白组(不做任何处理)、模型组(进行诱导分化但不给药)、高剂量给药组(高剂量组)、中剂量给药组(中剂量组)、低剂量给药组(低剂量组)和阳性对照组。

1.2.8 MTT检测细胞活性 取生长状态良好的3T3-L1细胞,以8 000个/孔接种于96孔板中,设置3T3-L1细胞正常(NC)组、古日古木-13浓度19.00 mg/mL、9.50 mg/mL、4.75 mg/mL、2.38 mg/mL、1.19 mg/mL共5个梯度浓度处理组。正常组不做任何处理;古日古木-13加药组药处理24 h。96孔板每孔加入10 μL MTT,使MTT终浓度为0.50 mg/mL,37 °C孵育4 h。每孔吸弃旧液后加150 μL DMSO溶液,低速震荡10 min,使甲臜全部溶解,用多功能酶标仪在490 nm波长处测定其光吸收值(A)。细胞活力=实验组A/空白组A×100%。

1.2.9 油红O检测细胞脂肪积累情况 油红O染液与蒸馏水按照3:2的体积混合,现配油红O染液,六孔板PBS洗后加4%多聚甲醛固定液固定,油红O染液染色20 min后显微镜下观察拍照。镜下可见,细胞内的脂肪滴被染成橘红色,观察细胞中脂肪积累情况。

1.2.10 试剂盒检测细胞甘油三酯(TG)、葡萄糖含量 利用TG测试盒和葡萄糖含量试剂盒检测细胞中TG含量和细胞培养基上清中葡萄糖含量。按照说明书要求加样后,37 °C孵育10 min,多功能酶标仪测定各孔吸光度值。

1.2.11 q-PCR检测目的基因表达水平 用Trizol(苯酚-胍盐法)法提取细胞总RNA,随后用逆转录试剂盒NovoScript[®] Plus All-in-one 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix (gDNA Purge)合成cDNA,配制PCR反应体系后上机。本研究所用引物序列见表1。

表1 q-PCR引物序列

目的基因	序列(5' - 3')	长度/bp
PI3K	上游引物:TACACTGTCCTGTGCTGGCTAC 下游引物:GCTTCTTCTTCACTCTTCCCTA	408
Akt	上游引物:GGAGCGGGAGGAGTGGACAA 下游引物:CGGGACAGCTCGAAGAACAGC	441
PGC-1 α	上游引物:TGGCACCGAGCCCTATT 下游引物:GAGGATCTACTGCCTGGGAC	210
GAPDH	上游引物:GCCACATCGCTCAGACACC 下游引物:GATGGCAACAATATCCACTTTACC	118

1.2.12 统计学方法 实验结果使用Image J和GraphPad Prism9.5软件进行实验结果定量与统计学分析,两组之间比较采用t检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 古日古木-13治疗高脂血症网络药理学分析

2.1.1 古日古木-13成分、对应靶点及高脂血症疾病靶点的筛选 通过TCMSP、SYMMAP、TCMIP、PubChem、Pharm Mapper等数据库匹配到古日古木-13的406个活性成分,共筛选出1012个古日古木-13的潜在基因靶点。将获得的古日古木-13活性成分及其靶点用Cytoscape 3.9.1软件构建活性成分-靶点网络图,运用Network Analyzer、Cytohubba插件分析网络拓扑性质,结合中药方剂“君臣佐使”配伍原则,筛选绘制古日古木-13主要成分-靶点网络图(见图1)。结合数据库筛选结果获得古日古木-13核心化合物成分鞣花酸、诃子次酸、白果内酯、小檗碱、6-羟基山柰酚等。(见表2)

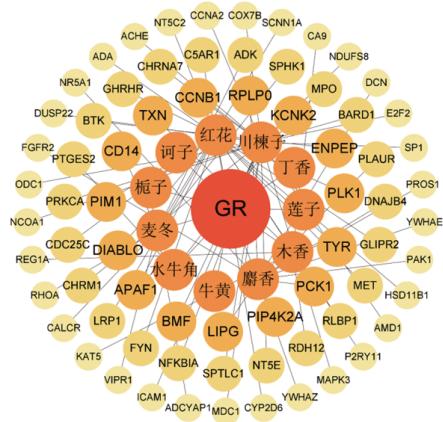


图 1 古日古木-13 活性成分-靶点网络图
表 2 古日古木-13 主要活性成分

MOL ID	化合物名称	化学式	OB/%	DL	PubChem	CID
MOL001002	鞣花酸	C ₁₄ H ₈ O ₈	43.064	6	0.43	5281855
MOL006826	诃子次酸	C ₁₄ H ₁₂ O ₁₁	72.00		0.32	71308174
MOL011578	白果内酯	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	84.42		0.36	73581
MOL001454	小檗碱	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄ ⁺	36.86		0.78	2353
MOL002712	6-羟基山柰酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	62.13		0.27	5281638

在OMIM、GeneCards等数据库中去重后共获得3 165个高脂血症相关靶点,将古日古木-13核心作用靶点与高脂血症相关靶点取交集,绘制Venn图共获得460个交集靶点。(见图2)

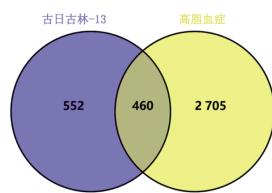


图 2 古日古木-13-高脂血症韦恩图

2.1.2 蛋白质相互作用(PPI)网络分析 将所获得的460个交集靶点通过String数据库进行PPI网络分析,设置物种为“Homo sapiens”,设定最低要求的交互分为最高置信度(0.900),构建古日古木-13-高脂血症PPI网络(见图3)。结果显示457个靶标组成的网络中共存在1 411项相互作用,平均局部聚类系数为0.454,PPI富集 $P<1.0\times10^{-16}$ 。将结果导入Cytoscape 3.9.1软件,利用Cytohubba插件构建高可信度PPI网络,由MCC算法拓扑分析筛选获得核心作用靶标(见图3)。

结果显示,PIK3CA、Akt1、STAT3、TNF等与吉西他滨-13治疗高脂血症作用机制的相关度较高。

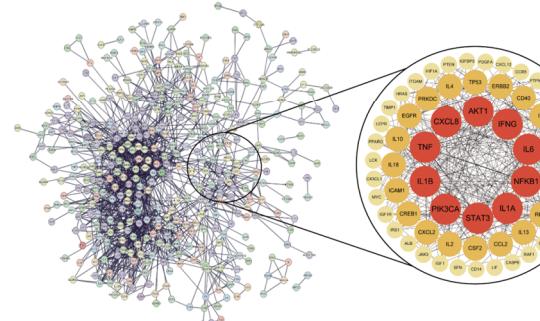


图 3 吉目吉木-13-高脂血症蛋白互作网络

2.1.3 古日古木-13治疗高脂血症的GO功能富集及KEGG生物路径分析 通过DAVID数据库对古日古木-13治疗高脂血症的460个靶点蛋白进行GO功能和KEGG通路富集分析。以 $P < 0.05$ 为筛选条件,共得到1 123条GO条目和163条KEGG相关条目。GO功能共富集生物过程(biological process, BP)592条、细胞组分(cellular component, CC)69条、分子功能(molecular function, MF)29条,按 P 值从小到大排序,选取排名靠前有意义的各10条目(见图4)。KEGG通路富集分析共获得47条有显著意义的通路,与古日古木-13治疗高脂血症相关度较高的前10条通路见图5,主要包括脂质代谢等相关通路。具体通路信息见表3。

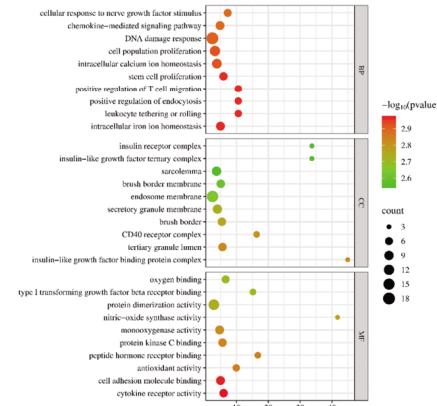


图 4 古日古木-13 治疗高脂血症潜在作用靶点的 GO 功能富集分析

表 3 吉日吉木-13 治疗高脂血症的 KEGG 通路信息

信号通路	基因数	富集倍数
hsa00350 Tyrosine metabolism	8	4.64
hsa00280 Valine, leucine and isoleucine degradation	9	3.91
hsa00330 Arginine and proline metabolism	9	3.75
hsa04750 Inflammatory mediator regulation of TRP channels	13	2.74
hsa04975 Fat digestion and absorption	8	3.88
hsa02010 ABC transporters	8	3.71
hsa00360 Phenylalanine metabolism	5	6.52
hsa04950 Maturity onset diabetes of the young	6	4.81
hsa04973 Carbohydrate digestion and absorption	8	3.21
hsa04310 Wnt signalling pathway	15	1.80
hsa00010 Glycolysis / Gluconeogenesis	8	2.49
hsa00500 Starch and sucrose metabolism	6	3.13

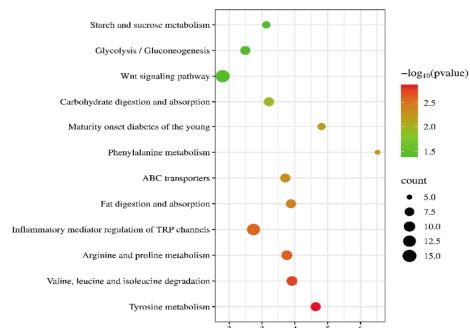
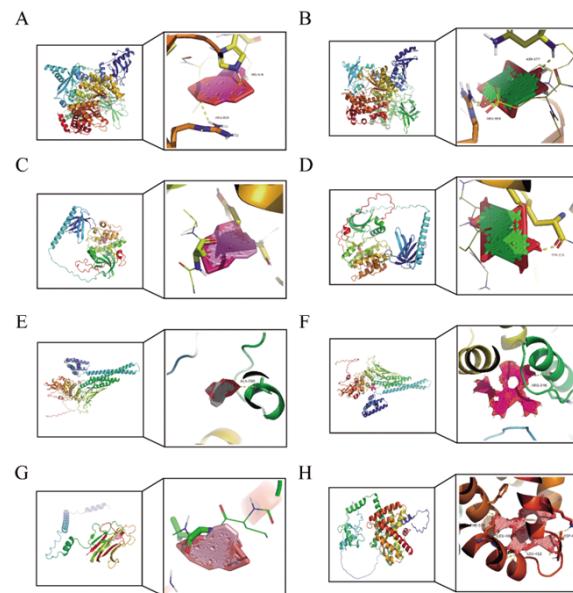


图5 古日古木-13治疗高脂血症潜在作用靶点的KEGG通路富集分析

2.1.4 分子对接验证 利用AutoDock Tools1.5.6对接工具对PPI网络中筛选获得的关键靶点蛋白PIK3CA、Akt1、STAT3、TNF以及脂代谢相关蛋白PGC-1 α 、PPAR- α 与度值最高的前4个主要活性成分进行分子对接,以结合能表示小分子与靶蛋白结合的优劣,结合能计算结果如表4所示。通常结合能小于0 kJ/mol说明有对接活性,当结合能小于-5.0 kJ/mol说明有良好的对接活性,当结合能小于-7.0 kJ/mol说明有很强的对接活性。表4中大多数结合能小于-7.0 kJ/mol,表明对接的古日古木-13活性成分与关键靶点蛋白具有很强的对接活性。选择对接活性较强的对接结果通过PyMOL进行可视化显示。(见图6)

表4 主要活性成分与相应关键靶点分子对接结果

蛋白简称	Uniprot编号	化合物	结合能/(kJ/mol)
PIK3CA	P42336	Chebulic acid	-11.0
PIK3CA	P42336	Bilobalide	-17.8
PIK3CA	P42336	Ellagic acid	-13.1
PIK3CA	P42336	Berberine	-10.8
Akt1	P31749	Chebulic acid	-9.6
Akt1	P31749	Bilobalide	-15.7
Akt1	P31749	Ellagic acid	-11.7
Akt1	P31749	Berberine	-9.7
TNF	P01375	Chebulic acid	-7.9
TNF	P01375	Bilobalide	-11.9
TNF	P01375	Ellagic acid	-11.4
TNF	P01375	Berberine	-10.0
STAT3	P40763	Chebulic acid	-14.8
STAT3	P40763	Bilobalide	-13.4
STAT3	P40763	Ellagic acid	-9.4
STAT3	P40763	Berberine	-8.7
PGC-1 α	Q9UBK2	Chebulic acid	-11.7
PGC-1 α	Q9UBK2	Bilobalide	-11.0
PGC-1 α	Q9UBK2	Berberine	-8.5
PGC-1 α	Q9UBK2	Ellagic acid	-8.3
PPAR α	Q07869	Chebulic acid	-14.0
PPAR α	Q07869	Bilobalide	-11.6
PPAR α	Q07869	Ellagic acid	-9.9
PPAR α	Q07869	Berberine	-9.5



注: A.PIK3CA与白果内酯对接结果; B.PIK3CA与鞣花酸对接结果; C.Akt1与白果内酯对接结果; D.Akt1与鞣花酸对接结果; E.STAT3与白果内酯对接结果; F.STAT3与诃子次酸对接结果; G.TNF与白果内酯对接结果; H.PPAR- α 与诃子次酸对接结果。

图6 主要活性成分与相应关键靶点分子对接图

2.2 古日古木-13对3T3-L1细胞体外实验验证

2.2.1 古日古木-13对3T3-L1细胞活力的影响 低剂量的古日古木-13对3T3-L1细胞的活力影响较小,随古日古木-13给药浓度的增大,细胞活力随之下降($P<0.05$),表明高浓度古日古木-13处理可以降低3T3-L1细胞活力(见图7)。选取古日古木-13处理3T3-L1细胞最大无害浓度用于后续实验。

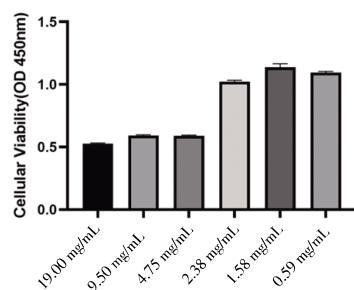


图7 MTT实验检测细胞活力

2.2.2 古日古木-13对3T3-L1细胞脂滴积累的影响 利用高剂量(4.75 mg/mL)、中剂量(2.38 mg/mL)、低剂量(0.59 mg/mL)含药完全培养基作用于脂肪化细胞24 h后,油红O染色发现模型组与空白组比较,模型组脂肪化细胞的细胞质中存在明显的脂肪滴沉积($P<0.05$),而高、中、低剂量组相较于模型组的脂肪滴沉积量明显较少,即古日古木-13能够显著降低脂肪化细胞模型的脂肪沉积(见图8)。同时,TG含量检测发现,古日古木-13能显著减少脂肪化细胞模型中的TG的分泌(见图9)。此外,古日古木-13能够明显增加脂肪化细胞模型摄取葡萄糖的能力,改善细胞胰岛素抵抗情况($P<0.05$),差异有统计学意义。(见图10)

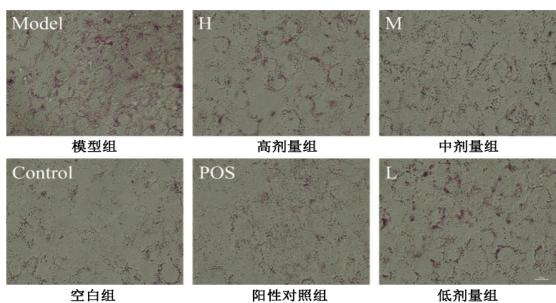
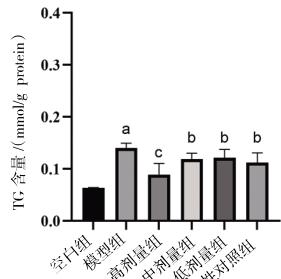
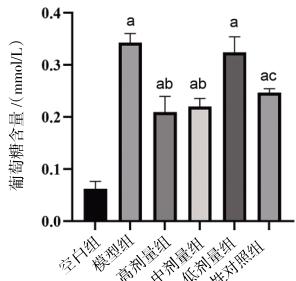


图8 油红O染色检测3T3-L1细胞脂滴积累情况 (×100)



注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$ 。
0.05。

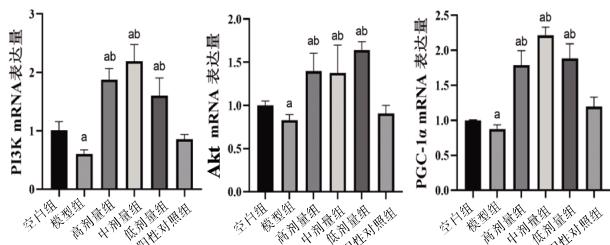
图9 3T3-L1细胞中TG含量



注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$ 。

图10 3T3-L1细胞培养基中葡萄糖含量

2.2.3 古日古木-13对3T3-L1细胞关键基因表达的影响 与空白组比较,模型组3T3-L1细胞中PI3K、Akt、PGC-1 α 基因的表达明显减少($P<0.05$),古日古木-13处理后基因的表达增加($P<0.05$)。提示古日古木-13降脂的作用可能与调控脂肪酸代谢关键基因PGC-1 α 和脂代谢调控通路PI3K/Akt有关。(见图11)



注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.01$ 。

图11 qPCR实验检测3T3-L1细胞关键基因表达

3 讨论

中医药对高脂血症有着深刻的认识。中医临床中患者因脾胃失调、肝胆失利、肾虚不足、情志内伤等所致的膏脂堆积,其症状表现与高脂血症相同,常通过祛湿化痰法结合行

气、利水、消导等法治疗^[19-22]。而蒙医药作为中医药重要组成部分,通过调理运化、清浊化脂、解滞通脉,以缓解高脂血症,在高脂血症的治疗方面具有独特的优势^[23-25]。古日古木-13是蒙医临幊上常用于治疗肝损伤等肝脏疾病的药物。研究发现古日古木-13在调节脂质代谢等方面同样具有卓越的疗效。

本研究基于网络药理学分析方法对古日古木-13治疗高脂血症的作用机制进行预测,并通过分子对接技术和体外细胞实验加以验证,证明了古日古木-13具有减少细胞脂质积累、调节脂代谢的作用。结果得到古日古木-13的核心活性成分为鞣花酸、诃子次酸、白果内酯、小檗碱和6-羟基山柰酚。通过对筛选出疾病与药物的460个交集靶点构建蛋白互作分析网络,并对网络进行拓扑学分析获得PI3CA、Akt1、STAT3、TNF等核心作用靶点,以及对交集靶点进行GO、KEGG富集分析发现,古日古木-13的治疗作用可能涉及脂肪消化吸收、酪氨酸代谢、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的降解、精氨酸和脯氨酸代谢、糖酵解/糖异生、淀粉和蔗糖代谢等多个脂质代谢相关过程和通路。对结果进行分子对接验证发现具有良好对接活性,且细胞实验证明古日古木-13可以减少脂质积累、减少细胞TG含量、增加细胞葡萄糖利用率,增加PI3K、Akt、PGC-1 α 基因表达,提示古日古木-13治疗高脂血症的作用可能与调节脂代谢、减少脂质积累、缓解胰岛素抵抗相关。其机制可能为古日古木-13中鞣花酸、诃子次酸、白果内酯、小檗碱等关键活性成分通过对PI3K、Akt、PGC-1等核心靶点进行调节,减少细胞脂质积累、调节脂代谢,进而缓解高脂血症的作用。

综上,古日古木-13治疗高脂血症的机制具有多活性成分-多核心靶点-多信号通路交互作用的特点。古日古木-13中鞣花酸、诃子次酸、白果内酯、小檗碱等关键活性成分可能通过调节PI3K/Akt、PGC-1 α 等相关通路和靶点治疗高脂血症,以达到控制高脂血症发生、发展的目的。本文基于数据库及现有文献进行了“药材-成分-靶点-通路”的理论分析,并加以体外实验验证,但未对古日古木-13成分的量效关系、化学成分群等进一步分析,因此所得结论存在一定局限。有待后续进行实验验证,进一步明确古日古木-13治疗高脂血症的药效物质基础及其潜在的药理作用机制。

参考文献

- [1] BIAN Y, WU H, JIANG W T, et al. Anti- β diminishes hyperlipidaemia and hepatic steatosis in hamsters and mice by suppressing the mTOR/PPAR γ and mTOR/SREBP1 signalling pathways[J]. Br J Pharmacol, 2025, 182(5):1254-1272.
- [2] CHENG D Y, ZHANG M, ZHENG Y Z, et al. α -Ketoglutarate prevents hyperlipidemia-induced fatty liver mitochondrial dysfunction and oxidative stress by activating the AMPK- $pgc-1\alpha$ /Nrf2 pathway[J]. Redox Biol, 2024, 74: 103230.
- [3] LEE S H, KIM N, KIM M, et al. Single-cell transcriptomics reveal cellular diversity of aortic valve and the

- immunomodulation by PPAR γ during hyperlipidemia [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 5461.
- [4] TUMMALA R, GUPTA M, DEVANABANDA A R, et al. Bempedoic acid and its role in contemporary management of hyperlipidemia in atherosclerosis [J]. Ann Med, 2022, 54(1): 1287–1296.
- [5] WRIGHT J, SUBRAMANIAN S. Therapy for hyperlipidemia [J]. Med Clin North Am, 2024, 108(5): 881–894.
- [6] HUANG W Q, YANG X, ZHANG N Q, et al. PDE5 inhibition mitigates heart failure in hyperlipidemia [J]. Biomed Pharmacother, 2024, 175: 116710.
- [7] TAKAOKA M, ZHAO X H, LIM H Y, et al. Early intermittent hyperlipidaemia alters tissue macrophages to fuel atherosclerosis [J]. Nature, 2024, 634(8033): 457–465.
- [8] 冯锦辉,毛祥正,王文婷,等.山楂决明降脂饮治疗高脂血症及认知障碍的作用机制[J].中药药理与临床,2025,41(3): 21–28.
- [9] LUO Z, HUANG Z J, SUN F, et al. The clinical effects of inclisiran, a first-in-class LDL-C lowering siRNA therapy, on the LDL-C levels in Chinese patients with hypercholesterolemia [J]. J Clin Lipidol, 2023, 17(3): 392–400.
- [10] 李兴强,晁旭,田甜,等.基于p53/SLC7A11/GPX4信号通路研究桂枝茯苓丸抑制肝癌肿瘤组织血管生成及诱导铁死亡的分子机制[J].药学学报,2025,60(6): 1755–1766.
- [11] 张杰,魏颖,苏丽娅,等.蒙医药复方及提取物治疗非酒精性脂肪性肝病的研究进展[J].内蒙古医科大学学报,2024, 46(1): 15–18.
- [12] WANG S J, REN H H, ZHONG H Z, et al. Combined berberine and probiotic treatment as an effective regimen for improving postprandial hyperlipidemia in type 2 diabetes patients: A double blinded placebo controlled randomized study [J]. Gut Microbes, 2022, 14(1): 2003176.
- [13] YIN X J, LI M, WANG Y Z, et al. Herbal medicine formula HuazhuoTiaozhi granule ameliorates dyslipidaemia via regulating histone lactylation and miR-155-5p biogenesis [J]. Clin Epigenetics, 2023, 15(1): 175.
- [14] 葛莎莎,李建良,蔡淑珍,等.基于“活性成分-靶点-通路”网络药理学,探讨蒙药四味石榴散治疗高脂血症的作用机制[J].世界科学技术-中医药现代化,2020,22(5): 1492–1499.
- [15] 娜仁满都拉,孟根杜希,哈申图雅,等.蒙药达日布-8治疗高脂血症动脉粥样硬化的研究进展 [J].世界中医药, 2020, 15(13): 2015–2018.
- [16] 胡峰杰,王彦顺,曹峰铭,等.基于网络药理学与分子对接技术探讨芪茵颗粒治疗非酒精性脂肪肝的机制研究[J/OL].海南医学院学报,2025: 1–16 (2025–03–31).<https://link.cnki.net/doi/10.13210/j.cnki.jhmu.20250331.002>.
- [17] 靳冉,岳枫,裴海莺,等.基于网络药理学和动物实验探讨养血荣筋丸治疗糖尿病微血管病变的作用 [J].中医药导报,2025,31(3): 37–44, 88.
- [18] 周蓉娴,邓斌,张清池,等.基于瓦尔德聚类及网络药理学探讨中药治疗雄激素性脱发的作用机制 [J].中医药导报, 2025, 31(3): 114–121.
- [19] ZHAO L S, LIU R F, KANG Y T, et al. Effects of four main active flavonoids of Coreopsis tinctorianutt. on oleic acid-induced lipid metabolism and oxidative stress in HepG2 cells [J]. Discov Med, 2025, 37(193): 372–382.
- [20] CHENG M J, DING F, LI L Y, et al. Exploring the role of curcumin in mitigating oxidative stress to alleviate lipid metabolism disorders [J]. Front Pharmacol, 2025, 16: 1517174.
- [21] HAN J J, MIAO Y Y, SONG L Z, et al. XuefuZhuyu Decoction improves hyperlipidemia through the MAPK/NF- κ B and MAPK/PPAR α /CPT-1A signaling pathway [J]. FASEB J, 2025, 39(2): e70363.
- [22] 林海鸣,林怡,李心怡,等.针刺结合蜂胶降脂方治疗高脂血症痰瘀互结证患者的随机对照临床研究 [J].中医药学报,2024, 52(12): 67–73.
- [23] 张旭,张晨晨,杨颖,等.基于代谢组学研究保利尔胶囊的调血脂作用 [J].药物评价研究,2025, 48(1): 60–72.
- [24] 卢任玲,马丽杰.红花清肝十三味丸对急性肝损伤大鼠的影响 [J].中成药, 2022, 44(2): 564–568.
- [25] 郝霞,刘静,张谦,等.基于HPLC-Q-Exactive MS和网络药理学探讨红花清肝十三味丸治疗非酒精性脂肪肝的药效物质基础及作用机制 [J].药学前沿, 2024, 27(11): 365–380.

(收稿日期:2025-02-26 编辑:时格格)