

引用:葛洁倩,王成喆,易爽,马梓翔,赵燕.基于网络药理学和实验验证探讨四物汤养血安神的作用机制[J].中医导报,2025,31(10):41-49,96.

# 基于网络药理学和实验验证探讨四物汤 养血安神的作用机制\*

葛洁倩,王成喆,易爽,马梓翔,赵燕  
(北京中医药大学中医学院,北京 102409)

[摘要] 目的:探讨四物汤通过调节外周及脑内铁代谢发挥养血安神的作用机制,并通过动物实验进行验证。方法:利用在线数据库检索四物汤的活性成分和疾病靶点并取两者交集,构建“活性成分-靶点-疾病”网络图,对交集靶点进行PPI分析、KEGG富集分析及GO富集分析;采用失血法制备血虚大鼠模型,观察大鼠血虚表征,检测外周血红细胞参数和血清铁(SI)含量变化,qRT-PCR法检测大鼠脾脏组织蛋白激酶B(Akt)mRNA、核因子E2相关因子2(Nrf2)mRNA、血红素氧合酶1(HMOX-1)mRNA相对含量;睡眠监测实验观察大鼠的睡眠潜伏期和睡眠持续时间,蛋白质印迹法(Western blotting)检测海马体Akt、Nrf2、HMOX-1蛋白的表达;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测海马体5-羟色胺(5-HT)、多巴胺(DA)、Fe含量;HE染色观察海马体的病理变化。结果:四物汤的有效活性成分为 $\beta$ -谷甾醇、豆甾醇、山柰酚、杨梅酮等;对贫血和失眠起作用的靶点是Akt1、HMOX-1、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子TNF;KEGG富集分析显示四物汤治疗贫血和失眠的靶点富集在相同的信号通路,GO富集分析显示四物汤治疗贫血和失眠具有相同的生物过程和分子功能。动物实验显示:与空白组比较,造模后四物组和模型组大鼠红细胞计数(RBC)、血红蛋白(HGB)、红细胞压积(HCT)均明显降低( $P<0.01$ )。给药后,与模型组比较,四物组大鼠HGB、HCT明显升高( $P<0.05$ );与空白组比较,模型组大鼠RBC、HGB、HCT更低;与模型组比较,四物组大鼠脾脏Akt mRNA、Nrf2 mRNA、HMOX-1 mRNA水平和SI含量显著升高( $P<0.01$ );与空白组比较,模型组大鼠Nrf2 mRNA、HO-1 mRNA和SI含量更低( $P<0.05$ )。造模后,与空白组比较,四物组和模型组大鼠睡眠潜伏期显著延长( $P<0.05$ ),睡眠持续时间明显缩短( $P<0.01$ )。给药后,各组睡眠潜伏期变化差异不明显;与模型组比较,四物组大鼠睡眠持续时间显著延长( $P<0.01$ );与空白组比较,模型组大鼠睡眠持续时间更短( $P<0.05$ );与模型组比较,四物组大鼠Akt蛋白相对含量具有升高趋势;Nrf2、HMOX-1蛋白的相对含量和脑内铁含量显著升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );与空白组比较,模型组大鼠Nrf2蛋白相对含量更低( $P<0.05$ ),Akt和HMOX-1蛋白相对含量无明显变化,脑内铁含量更低( $P<0.05$ );与模型组比较,四物组大鼠海马体5-HT含量显著升高( $P<0.05$ ),DA含量显著下降( $P<0.05$ );与空白组比较,模型组大鼠海马体5-HT含量无明显变化,DA含量显著增加( $P<0.01$ )。四物组和空白组大鼠海马体锥体细胞排列整齐规则,细胞浸润减少,胞质和胞核形态正常;模型组大鼠海马体锥体细胞排列紊乱,细胞浸润严重,细胞形态不规则伴有胞核增大、胞质减少。结论:四物汤可通过激活Akt/Nrf2/HMOX-1通路实现铁代谢双重调控,促进外周铁代谢参与血红蛋白合成以养血,提升脑内铁含量为5-HT、DA等神经递质的合成提供物质基础,发挥安神作用。该发现阐明“养血-安神”的协同机制,证实其通过铁代谢桥梁作用实现外周造血与中枢神经保护的系统整合。

[关键词] 四物汤;Akt/Nrf2/HMOX-1通路;养血安神;铁代谢;网络药理学;大鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)10-0041-09

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.20250530.001

## Exploration on the Mechanism of Siwu Decoction (四物汤) in Nourishing Blood and Tranquilizing Based on Network Pharmacology and Experimental Verification

GE Jieqian, WANG Chengzhe, YI Shuang, MA Zixiang, ZHAO Yan

(School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102409, China)

\*基金项目:国家自然科学基金项目(81674100)

通信作者:赵燕,女,教授,研究方向为中医情志研究及症、证规范化

[Abstract] Objective: To investigate the mechanism of Siwu decoction (SWD) in nourishing blood and tranquilizing by regulating iron metabolism in peripheral tissues and the brain, and to validate it through animal experiments. Methods: Active components of SWD and disease targets were retrieved from online databases with intersection taken to construct a "active ingredient–target–disease" network diagram. PPI analysis, KEGG enrichment analysis, and GO enrichment analysis were performed on the intersecting targets. A blood-deficiency rat model was established using blood loss method. Blood deficiency manifestations, peripheral blood erythrocyte parameters and serum iron (SI) content changes were observed. The qRT-PCR was used to detect the relative content of Akt mRNA, Nrf2 mRNA, and HMOX-1 mRNA in spleen tissue. Sleep monitoring experiments were conducted to observe the sleep latency and duration of rats, and Western blotting was used to detect the expression of Akt, Nrf2, and HMOX-1 proteins in the hippocampus. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of 5-HT, DA, and Fe in the hippocampus. HE staining was used to observe the pathological changes in the hippocampus. Results: The effective active components of SWD included  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, kaempferol, and myricetin. Core targets for anemia and insomnia included Akt1, HMOX-1, IL-6, and TNF. KEGG enrichment analysis showed that the targets of SWD in treating anemia and insomnia were enriched in the same signaling pathway, while GO enrichment analysis showed that SWD had the same biological processes and molecular functions in treating anemia and insomnia. Animal experiments showed that compared with the blank group, RBC, HGB, and HCT levels decreased significantly in the SW group and model group after modeling ( $P<0.01$ ). After administration, HGB and HCT levels in the SW group were significantly higher than those in the model group ( $P<0.05$ ), and the model group showed lower RBC, HGB, and HCT levels than the blank group. The SW group exhibited significantly higher levels of Akt mRNA, Nrf2 mRNA, HMOX-1 mRNA, and SI in the spleen compared with the model group ( $P<0.01$ ), while the model group showed lower Nrf2 mRNA, HO-1 mRNA, and SI levels than the blank group ( $P<0.05$ ). After modeling, sleep latency was significantly prolonged ( $P<0.05$ ) and sleep duration significantly shortened ( $P<0.01$ ) in the SW group and model group compared with the blank group. After administration, sleep latency did not differ significantly between groups, but sleep duration in the SW group was significantly longer than those in the model group ( $P<0.01$ ), and the model group showed shorter sleep duration than blank group ( $P<0.05$ ). The SW group showed a trend of increased Akt protein expression, significantly higher Nrf2 and HO-1 protein levels, and higher brain iron content compared with the model group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). The model group showed lower Nrf2 protein levels than the blank group ( $P<0.05$ ), with no significant changes in Akt and HO-1 proteins and lower brain iron content ( $P<0.05$ ). Compared with the model group, the content of 5-HT in the hippocampus of rats in the SW group was significantly increased ( $P<0.05$ ), while the content of DA was significantly decreased ( $P<0.05$ ). Compared with the blank group, there was no significant change in the content of 5-HT in the hippocampus of rats in the model group, but the content of DA was significantly increased ( $P<0.01$ ). Hippocampal pyramidal cells in the SW group and blank group were neatly arranged with reduced cell infiltration and normal cytoplasm and nucleus morphology, whereas the model group showed disordered cell arrangement, severe cell infiltration, irregular cell morphology, and enlarged nuclei with reduced cytoplasm. Conclusion: This study reveals that SWD can achieve dual iron metabolism regulation by activating the Akt/Nrf2/HO-1 pathway, promoting peripheral iron metabolism to participate in hemoglobin synthesis for blood nourishment, and increasing brain iron content to provide a material basis for the synthesis of neurotransmitters such as 5-HT and DA, exerting a tranquilizing effect. This discovery elucidates the synergistic mechanism of "nourishing blood and tranquilizing", confirming its systemic integration of peripheral hematopoiesis and central nervous system protection through the bridging effect of iron metabolism.

[Keywords] Siwu decoction; Akt/Nrf2/HMOX-1 pathway; nourishing blood and tranquilizing; iron metabolism; network pharmacology; rat

四物汤是中医经典名方,出自《仙授理伤续断秘方》,由熟地黄、白芍、当归、川芎组成。其主要功效为养血活血,常用于治疗贫血、血虚等病症。如黄琪等<sup>[1]</sup>用四物汤治疗了29例血虚证患者,发现临床总有效率为96.88%。近年来,四物汤养血

安神的作用备受关注,其常被用于失眠疾病的治疗,尤其是血虚失眠。洪治平<sup>[2]</sup>用四物汤治疗中老年女性失眠患者,临床效果较佳;李惠玲<sup>[3]</sup>用加味四物汤治疗阴血亏虚型患者,服药月余,失眠、头昏、心烦健忘等症皆除。

虽然四物汤在临床上治疗贫血、血虚失眠确有效果,但其养血安神的作用机制尚不明确。既往相关研究较少并且多侧重于养血方面,何丹等<sup>[4]</sup>研究发现四物汤在促进骨髓造血、改善外周血象及修复受损红细胞、修复肝损伤等方面具有显著作用,但是缺乏四物汤安神机制的研究。

本研究应用网络药理学方法,将四物汤与贫血、失眠两种疾病相结合,探讨养血安神的协同机制,并基于中医神理论设计动物实验对关键通路及作用靶点进行验证,阐释养血与安神的协同机制及现代生物学内涵。

## 1 材料与方法

### 1.1 网络药理学

1.1.1 四物汤有效成分及对应靶点筛选 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)在线数据平台(old.tcmsp-e.com/tcmsp.php),以药物口服生物利用度(OB)≥30%且类药性(DL)≥0.18为筛选条件检索四物汤中当归、熟地黄、白芍、川芎的有效化合物及其对应靶点,并利用Uniprot数据库对检索到的靶点名称进行标准化处理。

1.1.2 贫血、失眠相关疾病靶点筛选 通过人类基因数据库(GeneCards, www.genecards.org/)、药物数据库(DrugBank, www.drugbank.com/)、人类孟德尔遗传数据库(OMIM, omim.org/),分别以“anemia”“insomnia”为关键词进行检索,收集贫血、失眠的疾病靶点,将收集到的所有疾病靶点进行整合,并通过查阅文献对疾病靶点进行补充。

1.1.3 绘制“四物汤有效成分-靶点-疾病”网络 将“1.1.1”和“1.1.2”中所得数据制作Network和Type文件,导入Cytoscape 3.7.2(<http://www.cytoscape.org/>)软件,绘制“有效成分-靶点-疾病”网络,其中节点代表活性成分、基因靶点、疾病,边代表节点之间的相互作用。利用Cytoscape自带插件对全部节点进行度值分析,节点度值和与节点相连的边的数量有关,度值(degree centrality, DC)越大,节点颜色越深。

1.1.4 构建四物汤-贫血、四物汤-失眠疾病靶点蛋白质相互作用(PPI)网络 利用在线数据库EYenn(<http://www.ehbio.com/test/venn/>)将有效化合物靶点和疾病靶点取交集,分别得到四物汤与贫血、失眠的交集靶点,将所得交集靶点分别导入String(<http://cn.string-db.org/>)数据库,物种设置为“Homo Sapiens”,置信度≥0.4,构建四物汤与疾病之间的蛋白相互作用网络,将结果导入Cytoscape 3.7.2利用MCODE插件进行可视化。

1.1.5 京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析和基因本体论(GO)富集分析 利用DAVID数据库(david.ncifcrf.gov/)对交集靶点进行KEGG通路分析和GO富集分析。KEGG通路富集分析,设定 $P<0.05$ ,按照 $P$ 值从小到大的顺序,借助微生信在线数据平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)分别对前20条通路进行可视化分析。GO富集分析包括生物过程(biological process, BP)、细胞组分(cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF)三部分,设定 $P<0.05$ ,分别对聚类前10进行可视化分析。

1.1.6 分子对接 分别在TCMSP数据库和PDB数据库(<https://www.rcsb.org/>)检索四物汤有效活性成分和交集靶点的3D结构,利用AutoDockTools 1.5.7把有效活性成分和交集靶点进行分子对接处理,并用PYMOL软件将对接结果可视化。

1.2 实验动物 SPF级雌性SD大鼠25只,体质量200~220g,由北京斯贝福生物科技有限公司提供,生产许可证号:SCXK(京)2024-0001,合格证号:110324241103359433。大鼠饲养于SPF级动物房,温度为(23±3)℃,相对湿度恒定,昼夜交替时间为12/12 h,适应性喂养1周。实验已通过北京中医药大学动物伦理委员会批准(伦理号:BUCM-2024102302-4054)。

1.3 药物与试剂 四物汤(熟地黄15 g,当归10 g,白芍10 g,川芎6 g,购于北京中医药大学东方医院中药房,药物均由北京中医药大学中药实验室进行鉴定);戊巴比妥钠(批号:20170308)购于美国Sigma公司;酶联免疫吸附试验试剂盒(批号:WZ12FH4J6983、WZ110D644482)、总铁离子比色法试剂盒(批号:WZ106DTV1199)均购于武汉普诺赛生命科技有限公司;SDS-PAGE凝胶制备试剂盒(批号:Ba1012)、电泳液(批号:Ba1013)、转膜液(批号:Ba1015)、TBS(批号:Ba1024)均购于武汉百仟度生物科技有限公司;RIPA总蛋白裂解液(批号:BL504A)购于碧云天生物技术有限公司;BCA蛋白质浓度测定试剂盒(批号:G2026-1000T)、PMSF(批号:G2008-1ML)、磷酸化蛋白酶抑制剂(批号:G2007-1ML)均购于武汉赛维尔生物科技有限公司;ECL化学发光检测试剂盒(批号:MA0186)购于美伦生物技术有限公司;内参(GDPDH)、蛋白激酶B(Akt,批号:60203-2-Ig)均购于美国Proteintech公司;核因子E2相关因子2(Nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2,批号:AF0639)一抗购于美国Affinity公司;血红素氧合酶-1[Heme Oxygenase-1, HMOX-1(HO-1)]一抗(批号:R24541)购于成都正能生物技术有限公司;Trizol裂解液(批号:G3013)购于武汉赛维尔生物科技有限公司;Molecular Biology Grade Water(批号:GNM14002)购于吉诺生物医药技术有限公司;RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit(批号:#K1622)购于美国Thermo公司;HieffTM qPCR SYBR Green Master Mix(批号:11201ES03)购于上海翊圣生物科技有限公司;无水乙醇(批号:100092683)、二甲苯(批号:10023418)、中性树胶(批号:10004160)、三氯甲烷(批号:10006818)、异丙醇(批号:80109218)均购于国药集团化学试剂有限公司;HE染液(批号:B1003)、分化液(批号:B1004)、返蓝液(批号:B1005)均购于武汉百仟度生物科技有限公司。

1.4 主要仪器 全自动血细胞分析仪(NIHON KOHDEN公司,型号:MEX-7300);全自动生化分析仪(美国Bechman Coulter公司,型号:DXC700AU);电泳仪(北京凯元信瑞仪器有限公司,型号:PP-1105);酶标仪(Diatek公司,型号:DR-200Bs);台式离心机(上海安亭科学仪器厂,型号:TGL-16c);冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,型号:TGL-16);高温低温组织研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司,型号:KZIII-F);脱色摇床(北京市六一仪器厂,型号:WD-9405A);水浴锅(金坛市江南仪器厂,型号:HH-W-600);化学发光仪(上海培清科技有限公司,型号:JS-1070P);脱水机(型号:JJ-12J)、包埋机(型号:JB-P5)、冻台(JB-L5)、组织摊片机(型号:KD-P)均购自武汉俊杰电子有限公司;载玻片(江苏世泰实验器械有限公司,型号:REF.10127105P-G);成像系统(日本尼康有限公司,型号:NIKON DS-U3);荧光定量PCR仪(北京酷博科技有限公司,型号:Quantagene q225);超净工

作台(江苏苏净集团有限公司,型号:SW-CJ-1FD);超微量分光光度计(美国Thermo公司,型号:NanoDrop2000);标准试剂型纯水仪(青岛富勒姆科技有限公司,型号:FBZ2001-up-p);病理切片机(上海徕卡仪器有限公司,型号:RM2016);烤箱(天津市莱玻瑞仪器设备有限公司,型号:GFL-230);正置光学显微镜(日本尼康有限公司,型号:NIKON Eclipse ci)。

1.5 造模与分组 大鼠适应性喂养1周后,随机选取8只为空白组,正常饲养,剩余大鼠根据参考文献[5]结合前期摸索制备血虚大鼠模型:固定大鼠,将鼠尾浸入温水中浸泡1 min,使尾部血管充盈,擦干鼠尾,在尾尖2~3 mm处剪断鼠尾放血,放血量为7.5 mL/kg,1次/d,连续放血12 d。造模成功的标准为:大鼠口、唇、爪甲、舌、耳朵颜色表现为淡白或苍白色,毛发蓬松暗淡偏黄无光泽,活动减少,精神萎靡,且RBC或HGB下降超过空白组20%。

1.6 实验给药 造模结束后,将造模成功的大鼠随机分为四物组和模型组( $n=8$ )。四物组根据人与大鼠体表面积换算公式换算出给药剂量为4.3 g/kg,为保证实验效果,本实验采用高剂量8.6 g/kg,给药体积10 mL/kg,于每日08:00:00给药,连续给药14 d。模型组和空白组给予等量生理盐水灌胃,10 mL/kg,每日08:00:00灌胃,连续14 d。

1.7 观察指标

1.7.1 大鼠血虚表征评价 观察造模前后、给药后各组大鼠口唇、舌、耳朵以及爪甲颜色,毛发质量、活动量以及精神状态等。

1.7.2 大鼠血常规红细胞计数(RBC)、血红蛋白(HGB)、红细胞压积(HCT)水平变化 在造模后、给药后各检测一次血常规,尾静脉采血0.5 mL至EDTA抗凝采血管中,运用全自动血细胞分析仪检测大鼠RBC、HGB含量及HCT水平变化。

1.7.3 血清铁(SI)生化检测 末次给药结束后,2%戊巴比妥钠溶液麻醉大鼠,腹主动脉取血,4 ℃,3 000 r/min(离心半径12 cm)离心15 min,分离血清,取150  $\mu$ L血清运用全自动生化分析仪检测SI含量。

1.7.4 qRT-PCR法检测大鼠脾脏组织Akt mRNA、Nrf2 mRNA、HO-1 mRNA相对含量 提取大鼠脾脏组织总RNA,进一步逆转录为cDNA,设计引物,利用Talent荧光定量检测试剂盒(SYBR Green)配制反应液,在荧光定量PCR仪上进行扩增反应,以内参引物GAPDH为对照,生物学重复3次,利用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对含量,引物序列见表1。

表1 引物序列表

目的基因	上游引物	下游引物	扩增产物长度/bp
Akt	GATGGACTCAAACGGCAGGA	CTCGTTCATCGTCACACGGT	126
Nrf2	CCACTGCTCCGACTAGCCAT	AATCAATCCATGCTCCTGCTGGG	150
HO-1	AGGGAAGGCTTTAAGCTGGTG	GGGCATAGACTGGGTCTGC	97
GAPDH	AGACAGCCGATCTTCTTGT	CTTGCCGTGGGTAGATCAT	166

1.7.5 睡眠监测实验 各组大鼠在造模后与给药结束后第1天腹腔注射2%戊巴比妥钠溶液(40 mg/kg),记录注射时间,观察大鼠的睡眠状态,大鼠呈仰卧姿势60 s内不再自主翻正即为翻正反射消失时间;同理仰卧放置的大鼠60 s内能自主翻正,重复3次,视为大鼠翻正反射恢复时间。腹腔注射结束

到大鼠翻正反射消失的时间为睡眠潜伏期,翻正反射消失的时间至翻正反射恢复时间为睡眠持续时间<sup>[5-6]</sup>。

1.7.6 Western blotting法检测大鼠海马体Akt、Nrf2、HO-1蛋白相对含量 提取组织总蛋白,使用BCA试剂盒测定样品蛋白浓度;处理样本,加入5 $\times$ 上样缓冲液,沸水浴5 min变性;配制分离胶和浓缩胶,插入梳子。上样后50 V浓缩胶电泳,120 V分离胶电泳;甲醇活化PVDF膜,组装转膜夹层,100 V恒压转膜,时间依蛋白分子量调整;5%脱脂牛奶封闭1 h;一抗4 ℃孵育过夜;TBST洗3次;HRP二抗室温孵育30 min,TBST洗4次。最后,ECL显影后化学发光仪曝光,IPWIN60软件分析条带的光密度值。

1.7.7 脑内铁含量 取新鲜海马组织,按比例加入试剂匀浆,12 000 g/min(离心半径12 cm)离心15 min,取上清液按试剂盒说明操作。

1.7.8 ELISA法检测大鼠海马体内5-羟色胺(5-HT)、多巴胺(DA)的含量 取大鼠海马组织,称重,加入PBS裂解液后充分研磨,最后将匀浆液于4 ℃,5 000 g/min(离心半径12 cm)离心10 min,取上清液按照试剂盒说明进行操作。

1.7.9 海马体HE染色 取大鼠半脑,4%多聚甲醛常温固定,脱水包埋,对组织进行HE染色,最后显微镜镜检,采集图像。

1.8 统计学方法 采用SPSS 26.0统计学软件进行数据分析,计量资料用“均数 $\pm$ 标准差”( $\bar{x}\pm s$ )表示,符合正态分布且方差齐的数据采用单因素方差分析(ANOVA),采用LSD方法进行组间比较,不符合正态分布的数据采用Kruskal-Wallis  $H$ 检验。 $P<0.05$ 表示有统计学意义。

2 结 果

2.1 网络药理学

2.1.1 四物汤有效成分及靶点 通过TCMSP检索到四物汤中当归、熟地黄、白芍、川芎有效药物成分共475个,其中125个来自当归,76个来自熟地黄,85个来自白芍,189个来自川芎,以OB $\geq 30\%$ 且DL $\geq 0.18$ 为条件,检索出有效活性化合物18个,分别是当归2个,熟地黄2个,白芍8个,川芎6个(见表2)。当归成分的作用靶点62个、熟地黄作用靶点31个,白芍靶点111个,川芎靶点36个,共计240个,合并后去重共得到靶点104个。

表2 四物汤中有效化合物的基本信息

MOLID	活性成分	OB/%	DL	中药
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	当归
MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76	当归
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	熟地黄
MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76	熟地黄
MOL001918	paeoniflorgenone	87.59	0.37	白芍
MOL001919	(3S,5R,8R,9R,10S,14S)-3,17-dihydroxy-4,4,8,10,14-pentamethyl-2,3,5,6,7,9-hexahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-15,16-dione	43.56	0.53	白芍
MOL001924	paeoniflorin	53.87	0.79	白芍
MOL000211	Mairin	55.38	0.78	白芍
MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	白芍
MOL000492	(+)-catechin	54.83	0.24	白芍

续表2:

MOLID	活性成分	OB/%	DL	中药
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	白芍
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	白芍
MOL001494	Mandenol	42.00	0.19	川芎
MOL002135	Myricanone	40.6	0.51	川芎
MOL002140	Perlolyrine	65.95	0.27	川芎
MOL002157	wallichilide	42.31	0.71	川芎
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	川芎
MOL000433	FA	68.96	0.71	川芎

2.1.2 药物、疾病交集靶点 从GeneCards数据库获得贫血靶点7 369个,失眠靶点2 923个,设定Score>2倍中位数的目标靶点为潜在靶点,并结合OMIM、DRUGBANK数据库补充相关靶点,分别得到贫血靶点1 200个,失眠靶点694个,与四物汤靶点相交集分别为19个、46个。两个疾病的靶点和四物汤靶点取交集,共同靶点8个,分别是TNF、IL-6、Akt1、CYP3A4、ICAM1、SELE、VCAM1、CAT。(见图1)

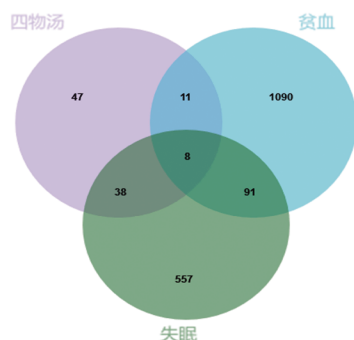


图1 四物汤治疗贫血、失眠的靶点韦恩图

2.1.3 “活性成分-靶点-疾病”网络 利用Cytoscape软件构建“活性成分-靶点-疾病”网络图(见图2)。菱形节点代表活性成分、矩形代表基因靶点、倒三角代表疾病,该网络图中共有123个节点、323条边。根据Network Analyze计算各节点度值,其中度值 $\geq 2$ 倍中位数的活性成分依次为 $\beta$ -谷甾醇(beta-sitosterol)、山柰酚(Kaempferol)、豆甾醇(Stigmasterol)、杨梅酮(Myricanone)、谷甾醇(sitosterol),具体度值见表3。

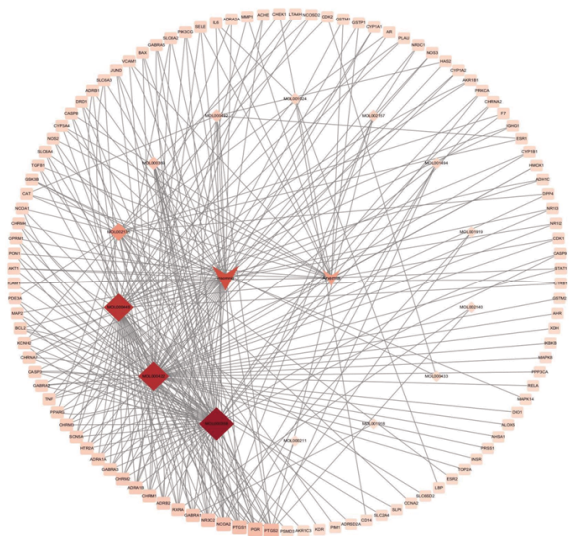


图2 “成分-靶点-疾病”网络

表3 度值 $\geq 2$ 倍中位数的活性成分

MOLID	化合物中文名称	化合物英文名称	度值	中药
MOL000358	$\beta$ -谷甾醇	beta-sitosterol	70	当归、白芍
MOL000422	山柰酚	kaempferol	58	白芍
MOL000449	豆甾醇	Stigmasterol	55	当归、熟地黄、
MOL002135	杨梅酮	Myricanone	22	川芎
MOL000359	谷甾醇	sitosterol	9	熟地黄、白芍、川芎

2.1.4 四物汤靶点与疾病的PPI网络 为了进一步探索药物靶点与疾病的相互作用关系,分别将19个、46个交集靶点带入String数据库得出蛋白互作网络,将其结果导入Cytoscape进行可视化分析,度值越大,说明该靶点在疾病的调控过程中作用越显著。四物汤治疗贫血的作用靶点主要集中在Akt1、HO-1、TNF、IL-6;治疗失眠的靶点主要集中在Akt1、IL-6、TNF、PPARG,可见Akt1蛋白在四物汤对贫血和失眠的治疗中起关键作用。(见图3~4)

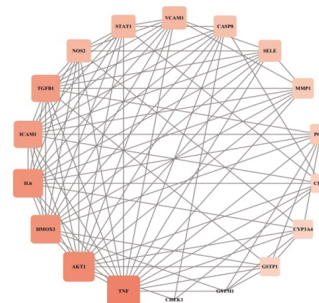


图3 四物汤治疗贫血蛋白质互作网络

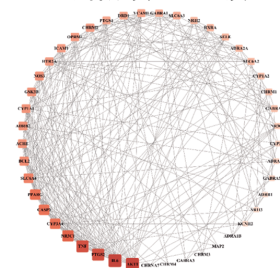


图4 四物汤治疗失眠蛋白质互作网络

2.1.5 KEGG通路分析和GO富集分析 分别将上述交集靶点导入DAVID数据库进行KEGG通路富集分析,根据P值,以聚类前20的通路为主要研究对象,绘制气泡图(见图5~6)。四物汤治疗贫血的靶点主要富集在AGE-RAGE信号通路、脂质与动脉粥样硬化、TNF信号通路;失眠的靶点主要集中在神经活动配体-受体信号通路、脂质与动脉粥样硬化、AGE-RAGE信号通路、TNF信号通路。

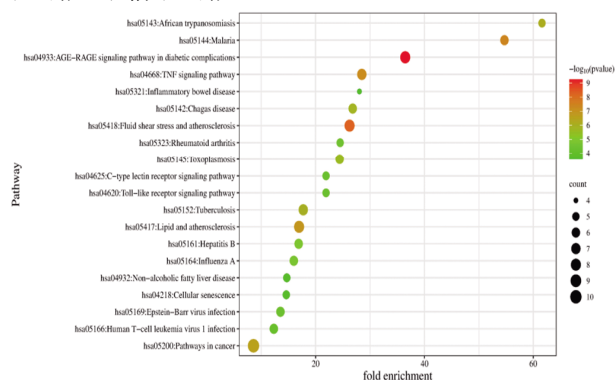


图5 四物汤治疗贫血的KEGG通路富集分析



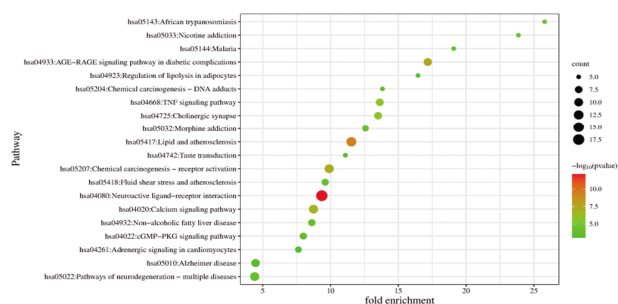


图6 四物汤治疗失眠的KEGG通路富集分析

GO富集分析结果显示,在四物汤治疗贫血的生物过程中,交集靶点主要参与细胞对有机环状化合物的反应、对缺氧的反应、对药物的反应以及炎症反应等,细胞组分主要涉及细胞外间隙、胞外区、细胞质、膜筏等部位,分子功能主要参与血红素结合、酶结合、相同蛋白结合等生物过程;失眠的生物过程主要参与对药物的反应、对异种刺激的反应以及化学突触传递等,细胞组分的交集靶点主要涉及质膜整体、突触及突触后膜、神经元等部位;分子功能主要参与血红素结合、神经递质受体活性。(见图7~8)

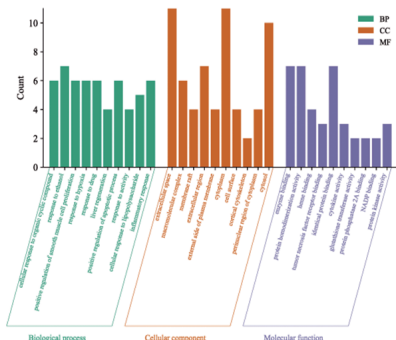


图7 四物汤治疗贫血的GO富集分析

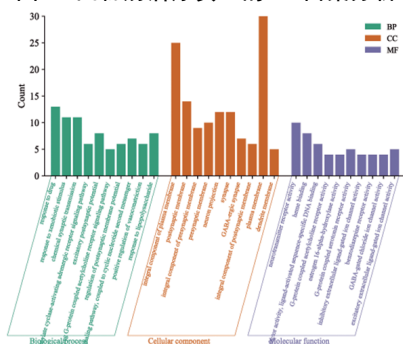
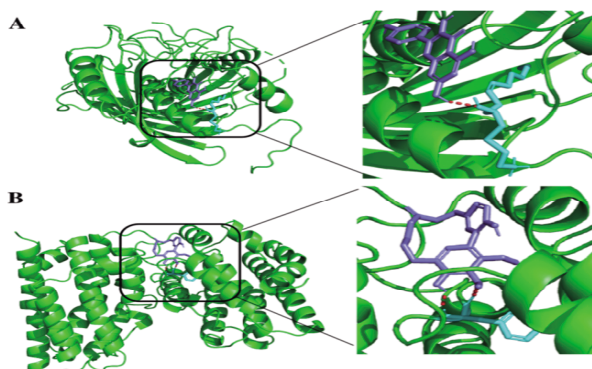


图8 四物汤治疗失眠的GO富集分析



注:A.山柰酚-Akt1;B.杨梅酮-HO-1;C.山柰酚-TNF;D.山柰酚-HO-1。

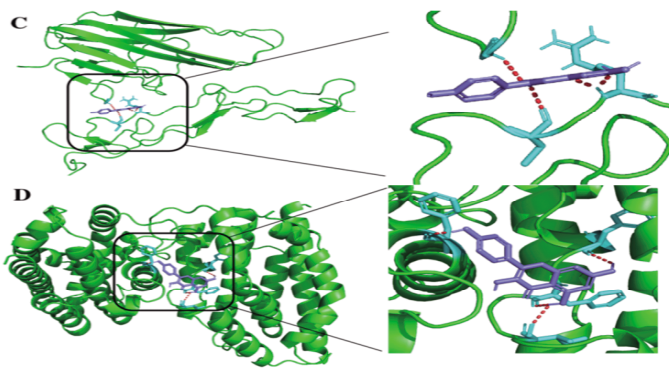


图9 部分分子对接结果

2.1.6 关键靶点的分子对接结果 分别选取贫血和失眠PPI排名前5的蛋白靶点与四物汤主要活性成分进行分子对接,结合能如下(见表4)。一般认为,结合能<-7 kcal/mol表示活性成分和蛋白靶点之间具有强烈的结合活性,结合能<-5 kcal/mol表示活性成分和蛋白靶点之间具有较好的结合活性,结合能<-4.25 kcal/mol表示活性成分和蛋白靶点之间有一定的结合活性。豆甾醇与各蛋白靶点均具有强烈的结合活性, $\beta$ -谷甾醇、山柰酚、杨梅酮与各蛋白靶点同样具有较好的结合活性,部分可视化结果见图9。

表4 四物汤活性成分与关键靶点的分子对接结果

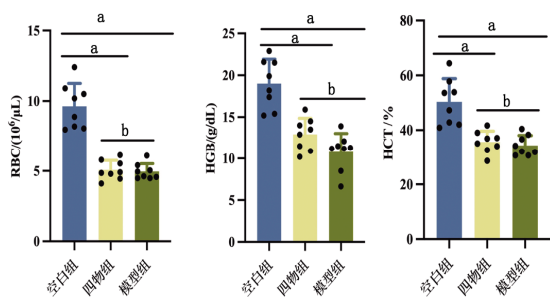
MOLID	活性成分	结合能/(kcal/mol)						
		Akt1	CAT	HO-1	TNF	IL-6	PPARG	CASP3
MOL000358	$\beta$ -谷甾醇	-6.75	-6.75	-6.59	-7.24	-6.96	-6.27	-6.63
MOL000449	豆甾醇	-7.22	-7.04	-7.59	-7.09	-7.07	-7.02	-6.63
MOL000422	山柰酚	-4.62	-4.26	-5.43	-5.17	-4.95	-4.94	-4.31
MOL002135	杨梅酮	-4.97	-5.93	-5.3	-4.6	-5.33	-5.34	-5.81

## 2.2 动物实验结果

2.2.1 大鼠血虚表征变化 造模前各组大鼠生长情况良好。口唇、爪甲、舌以及耳朵呈现淡红色,毛发色白有光泽不易脱落,目光有神,精神状态正常,活动正常。造模后四物组和模型组大鼠体质量生长缓慢,口唇、爪甲、舌以及耳朵呈现苍白色;毛发干枯蓬松,无光泽易脱落;目光无神,精神萎靡易扎堆;活动量减少,易激惹。空白组大鼠一般情况良好。治疗后,四物组大鼠口唇、爪甲、舌以及耳朵呈现淡红色;毛发情况改善,精神状态有所恢复,活动量较治疗前增加;模型组大鼠一般情况与造模后比较无明显改善;空白组大鼠一般情况良好。

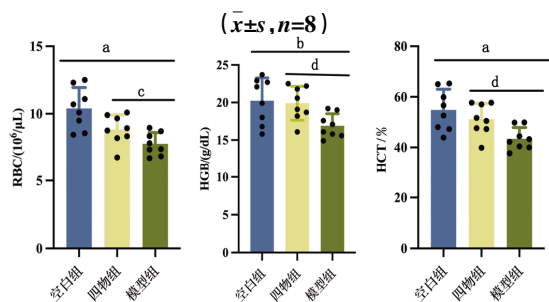
2.2.2 大鼠外周血RBC、HGB、HCT水平变化 造模后,与空白组比较,四物组和模型组大鼠RBC、HGB、HCT含量明显降低且下降率超过20%,结合大鼠血虚表征变化,说明血虚大鼠模型造模成功,差异均有统计学意义( $P<0.01$ )(见图10)。给药后,与模型组比较,四物组大鼠HGB、HCT含量明显升高,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );与空白组比较,模型组大鼠RBC、HGB、HCT含量更低,差异均有统计学意义( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )(见图11)

2.2.3 各组大鼠血清铁(SI)含量比较 给药后,与模型组比较,四物组大鼠SI水平显著升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ );与空白组比较,模型组SI含量更低,差异有统计学意义( $P<0.05$ )(见图12)



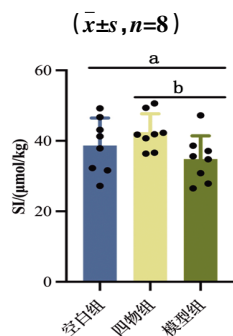
注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

图10 造模后各组大鼠外周血RBC、HGB及HCT水平变化



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

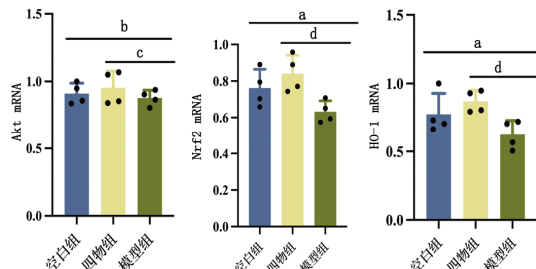
图11 给药后各组大鼠外周血RBC、HGB及HCT水平变化



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

图12 给药后各组大鼠外周血SI含量变化 ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

2.2.4 各组大鼠脾脏组织Akt mRNA、Nrf2 mRNA、HO-1 mRNA含量比较 给药后,与模型组比较,四物组大鼠脾脏组织Akt mRNA具有升高趋势,差异无统计学意义( $P>0.05$ );Nrf2 mRNA和HO-1 mRNA相对含量显著升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。与空白组比较,模型组Nrf2 mRNA和HO-1 mRNA相对含量更低,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。(见图13)

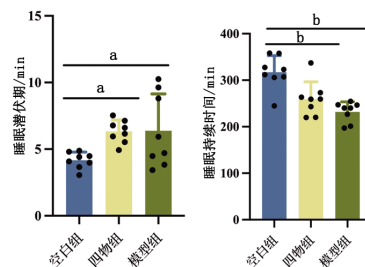


注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ,<sup>b</sup> $P>0.05$ ;与模型组比较,<sup>c</sup> $P>0.05$ ,<sup>d</sup> $P<0.01$ 。

图13 给药后各组大鼠脾脏Akt mRNA、Nrf2 mRNA和HO-1 mRNA相对含量变化 ( $\bar{x}\pm s, n=4$ )

2.2.5 各组大鼠睡眠时间比较 造模后,与空白组比较,四物

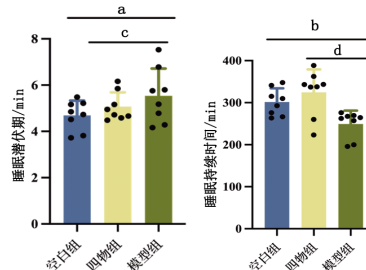
组和模型组的睡眠潜伏期显著延长,差异有统计学意义( $P<0.05$ );睡眠持续时间明显缩短,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。(见图14)



注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ,<sup>b</sup> $P<0.01$ 。

图14 造模后各组大鼠睡眠时间变化 ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

给药后,各组睡眠潜伏期变化差异不明显。与模型组比较,四物组的睡眠持续时间显著延长,差异有统计学意义( $P<0.01$ );与空白组比较,模型组的睡眠持续时间更短,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。(见图15)



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

图15 给药后各组大鼠睡眠时间变化 ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

2.2.6 各组大鼠海马体Akt、Nrf2、HO-1蛋白相对含量比较 给药后,与模型组比较,四物组大鼠Akt蛋白的相对含量具有上升趋势,Nrf2和HO-1蛋白的相对含量显著升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ );与空白组比较,模型组Nrf2蛋白相对含量更低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),但Akt和HO-1蛋白相对含量变化不明显。(见图16~17)

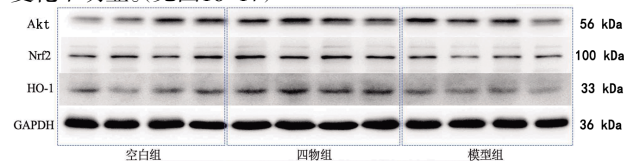
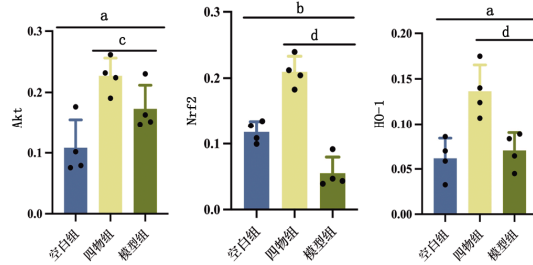


图16 Akt、Nrf2、HO-1蛋白条带图



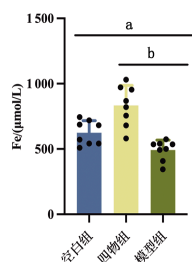
注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P>0.05$ ,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>c</sup> $P>0.05$ ,<sup>d</sup> $P<0.01$ 。

图17 给药后各组大鼠海马体AKT、Nrf2和HO-1蛋白相对含量变化 ( $n=4$ )

2.2.7 各组大鼠脑内铁含量比较 给药后,与模型组比较,四物组大鼠的脑内铁含量显著升高,差异有统计学意义( $P<$



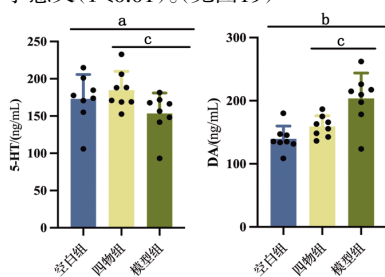
0.01);与空白组比较,模型组大鼠脑内铁含量更低,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。(见图18)



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

图18 给药后各组大鼠脑内铁含量变化 ( $n=8$ )

2.2.8 各组大鼠海马体5-HT、DA含量比较 给药后,与模型组比较,四物组大鼠海马体内5-HT含量显著增加,DA含量显著降低,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );与空白组比较,模型组大鼠海马体内5-HT含量变化不明显,但DA含量显著增加,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。(见图19)



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

图19 给药后各组大鼠脑内5-HT、DA含量变化 ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

2.2.9 各组大鼠海马体病理变化 给药后,四物组大鼠海马体锥体细胞排列整齐规则,细胞浸润减少,细胞质和细胞核形态接近空白组;模型组大鼠海马体锥体细胞排列紊乱,细胞浸润严重,细胞形态不规则伴有细胞核增大、细胞质减少;空白组大鼠海马体锥体细胞排列整齐,密度适中,形态正常,胞核清晰,胞质丰富。(见图20)

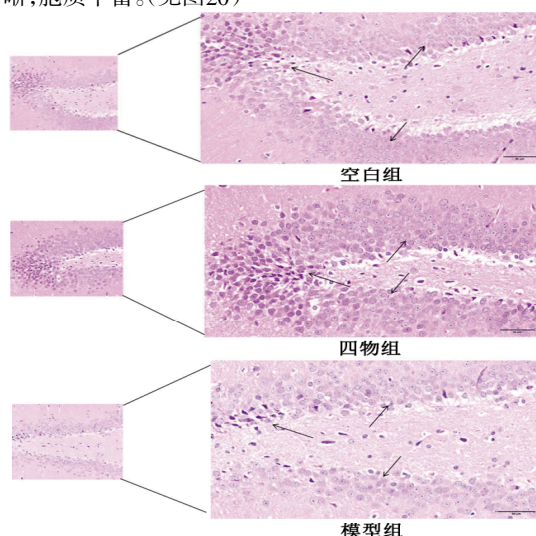


图20 给药后各组大鼠海马体病理切片 (HE, ×35)

### 3 讨 论

外周铁稳态对血红蛋白的合成具有重要调节作用。铁是合成血红蛋白的关键原料。血液中游离的铁离子在亚铁螯合酶的作用插入到原卟啉IX环中,合成血红素<sup>[7-8]</sup>。血红素中心

的 $\text{Fe}^{2+}$ 与珠蛋白的近端组氨酸形成配位键使进入细胞质的血红素与珠蛋白紧密结合,最终形成血红蛋白四聚体<sup>[9]</sup>。由此可见,铁参与从血红素到血红蛋白的多个合成步骤,不仅是血红素的结构中心,更是血红蛋白合成与功能的核心调控因子<sup>[10-11]</sup>。四物汤具有补血功效,有研究显示当归能够促进肠道对铁的吸收,从而增加铁的摄入量和利用率<sup>[12]</sup>。熟地黄、川芎、白芍、当归能够改善造血微环境,促进骨髓造血干细胞的增殖与分化,提高血红蛋白含量。

脑内铁稳态是调控神经递质正常合成的基础。现代医学研究发现神经递质分泌异常与失眠密切相关,以DA、NE为代表的兴奋性神经递质过度兴奋和以5-HT为代表的抑制性神经递质抑制不足是导致失眠的重要病理机制之一。而神经递质的分泌又受脑内铁稳态的影响,脑内铁离子的动态平衡是神经递质正常分泌的基础<sup>[13-14]</sup>。血清铁在转铁蛋白和转铁蛋白受体(Tf-TfR)的作用下通过血脑屏障(BBB)进入中枢神经系统,在维持神经系统正常功能的过程中具有重要的作用。铁稳态失衡,则会引起一系列神经递质分泌异常。研究发现,脑铁代谢异常将影响游离色氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸的合成,进而导致5-HT分泌减少,DA、去甲肾上腺素(NE)分泌增多<sup>[12,15]</sup>。HARE D等<sup>[16]</sup>在脑缺铁模型中发现,神经元降低对儿茶酚胺神经递质的摄取,影响儿茶酚胺代谢,同时也影响到DA合成和表达。研究表明5-HT是睡眠调节最为重要的神经递质之一,其对慢波睡眠的发生及维持起着重要的作用<sup>[17]</sup>;DA、NE具有维持觉醒和行为兴奋的作用<sup>[18]</sup>。抑制性神经递质减少,兴奋性因子增加则会导致失眠的发生。

Akt/Nrf2/HO-1通路是调节外周和脑内铁稳态的重要通路。HO-1是血红素分解的限速酶,可以将血红素分解为胆绿素、一氧化碳和铁。机体内HO-1的失调会引发铁和红细胞疾病,具体表现为铁稳态失衡和贫血<sup>[19-20]</sup>。HO-1在造血干细胞骨髓微环境中表达,保持造血干细胞的正常自我更新和分化。造血干细胞分化为造血祖细胞,进入红细胞末端分化,消耗大量铁来合成血红素和血红蛋白。此通路激活时,Akt蛋白激酶磷酸化水平的增加,可上调其下游转录因子Nrf2的表达,促进“Nrf2-Keap1”复合体解离,游离p-Nrf2核转位后与抗氧化反应元件ARE结合而上调HO-1的转录表达<sup>[21]</sup>。HO-1是调节体内铁平衡的关键靶点<sup>[22]</sup>,一方面,由血红素分解产生的铁离子可通过转铁蛋白和转铁蛋白受体入脑,有效补充脑内 $\text{Fe}^{2+}$ 含量;另一方面,HO-1直接分解脑内血红素,调节铁含量,实现脑内铁稳态。

网络药理学结果显示四物汤治疗贫血和失眠的主要活性成分为 $\beta$ -谷甾醇、豆甾醇、山柰酚、杨梅酮等。 $\beta$ -谷甾醇作为植物甾醇的代表,不仅可以通过下调B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2),激活胱天蛋白酶-3(Caspase-3)有效治疗白血病<sup>[23]</sup>,还具有剂量依赖性的抗氧化和保护中枢神经系统作用<sup>[24-25]</sup>。袁明洲等<sup>[26]</sup>通过实验证明 $\beta$ -谷甾醇可以调控大鼠脑内Nrf2/HO-1蛋白表达从而保护大鼠的多巴胺神经元细胞。GO富集分析显示 $\beta$ -谷甾醇在神经营养素信号通路上与酪氨酸激酶受体或神经营养素受体结合以促进神经发育提升学习与记忆能力<sup>[27]</sup>;豆甾醇可以通过SLC6A4基因调控色氨酸的合成,维持5-HT稳态,发挥改善睡眠的作用<sup>[28-29]</sup>;山柰酚通过调控细胞凋亡以及



胆碱能系统、减少促炎因子的释放发挥神经保护作用<sup>[9]</sup>。贺文彬等<sup>[10]</sup>发现杨梅酮可以易化突触可塑性,改善大鼠的学习记忆能力。由上可见,除了基本的养血活血作用,四物汤中的主要有效活性成分还可以协同发挥神经保护、改善睡眠的作用。PPI蛋白互作网络显示四物汤治疗贫血的主要靶点是Akt1、CAT、HO-1、IL-6、TNF,涉及细胞保护、炎症反应、内源性物质代谢,尤其是Akt1和HO-1<sup>[32]</sup>;四物汤治疗失眠的靶点是Akt1、IL-6、TNF、PPARG,以上靶点参与了炎症、学习记忆、细胞凋亡等过程。GO富集分析结果显示:四物汤参与对药物的反应和血红素的结合等生物过程。Akt1、HO-1两个关键靶点在四物汤对贫血和失眠的治疗过程中具有重要作用,推测四物汤可以通过关键通路Akt/Nrf2/HO-1发挥养血安神的作用。

本动物实验研究表明,失血法制备血虚大鼠模型是真实可靠的。中医认为“血为神之舍”。本研究中大鼠在失血后亦出现了相应的神志改变,主要体现在失血后除一般血虚表征之外,还出现了对外界刺激敏感、易激惹、易惊醒以及睡眠持续时间缩短等行为表现。经过四物汤治疗后,四物组大鼠脾脏组织Nrf2 mRNA、HO-1 mRNA相对含量均比模型组显著增加,Akt mRNA转录水平具有增加趋势,外周血RBC、HGB、HCT、SI含量显著增加,提示四物汤激活了外周Akt/Nrf2/HO-1通路,增加了外周可用性铁含量,为提升RBC、HGB、HCT水平提供物质基础,从而达到养血的目的。外周血清铁含量增加的同时,为Tf-TfR转运铁离子入脑提供可靠来源。四物组大鼠海马体HO-1蛋白相对含量增加,脑内铁含量升高,可维持5-HT和DA的动态平衡,增加血虚大鼠活动量,并改善其睡眠时长及对外界刺激的高敏感性。四物组大鼠海马体锥体细胞排列规则、胞质丰富再次证明了四物汤的神经保护作用。总之,四物汤能通过调控Akt/Nrf2/HO-1通路关键蛋白靶点协同调控血清铁水平和脑内铁水平,调节外周血红蛋白和红细胞水平以及脑内5-HT、DA等神经递质的合成,协同发挥养血安神的作用。

综合以上研究结果,四物汤的养血安神作用依托铁代谢呈现多层次的特点:增加外周血铁含量为恢复血象和入脑铁离子提供物质基础,增加脑内铁含量用于神经递质的合成与正常作用,而Akt/Nrf2/HO-1通路在此过程中发挥关键作用。这种养血-安神的作用模式,既符合中医“心主血脉”的理论框架,也为当下药理学研究提供了新的探索角度,更为四物汤在临床应用提供了数据支撑。

## 参考文献

- [1] 黄琪,雷鹏,李新中,等.四物汤配方颗粒汤剂治疗血虚证临床疗效观察[J].时珍国医国药,2015,26(1):127-128.
- [2] 林乐乙,庞敏.洪治平四物汤从肝论治心脑疾病[J].实用中医内科杂志,2015,29(7):21-23.
- [3] 李惠玲.加味四物汤治疗失眠86例分析[J].实用中医内科杂志,2005,19(3):254.
- [4] 何丹,万丹,舒骏,等.四物汤物质基础、药理作用及临床应用研究进展[J].中药药理与临床,2020,36(6):221-229.
- [5] 王艺璇,汤玲,孙天琳,等.更欣汤对围绝经期失眠模型大鼠下丘脑生物钟基因表达的影响[J].中医杂志,2023,64(8):835-840.
- [6] 周衡朴,颜美秋,苏洁,等.白术水提物对拟人不良生活方式致失眠大鼠的作用及机制[J].中华中医药杂志,2025,40(2):835-840.
- [7] REEDER B J, SVISTUNENKO D A, WILSON M T. Hell's gate globin-I from *Methylobacillus thermophilus* displays a unique temperature-independent pH sensing mechanism utilized a lipid-induced conformational change[J]. Int J Mol Sci, 2024,25(12):6794.
- [8] THOMAS W J, KOENIG H M, LIGHTSEY A L Jr, et al. Free erythrocyte porphyrin: Hemoglobin ratios, serum ferritin, and transferrin saturation levels during treatment of infants with iron-deficiency Anemia [J]. Blood, 1977,49(3):455-462.
- [9] GENOVESE G, MARONESE C A, MOLTRASIO C, et al. Ultraviolet A phototest positivity is associated with higher free erythrocyte protoporphyrin IX concentration and lower transferrin saturation values in erythropoietic protoporphyria[J]. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2022,38 (2):141-149.
- [10] MUKISA A, KASOZI D, AGUTTU C, et al. Relationship between blood Lead status and Anemia in Ugandan children with malaria infection[J]. BMC Pediatr, 2020,20 (1):521.
- [11] 张喜才,刘斌,刘欢.谷氨酸钠对缺铁大鼠铁代谢的影响[J].食品研究与开发,2017,38(13):29-31.
- [12] 孙欣欣,李怡芳,陈庆淑,等.不同中药铁剂配方产品对大鼠缺铁性贫血功能的影响[J].中医药导报,2024,30(12):28-32.
- [13] 魏洁.“精血”理论下的轻度认知功能障碍治疗的临床观察[D].成都:成都中医药大学,2015.
- [14] BERTHOUS C, ILIOU J P, BARBA D. Iron, neuro-bioavailability and depression[J]. E J Haem, 2021,3(1):263-275.
- [15] ERIKSON K M, JONES B C, HESS E J, et al. Iron deficiency decreases dopamine D1 and D2 receptors in rat brain [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2001,69 (3-4):409-418.
- [16] HARE D, AYTON S, BUSH A, et al. A delicate balance: Iron metabolism and diseases of the brain[J]. Front Aging Neurosci, 2013,5:34.
- [17] 吴雪芬,郑雪娜,郭鑫,等.针刺对失眠大鼠5-HT及其受体、HPA轴相关激素影响的研究进展[J].中华中医药学刊,2018,36(1):127-129.
- [18] 王秀峰,张瑜,曾雪爱,等.松郁安神方对失眠大鼠基底核腺苷受体与多巴胺受体的影响[J].中医学,2021(1):52-59.
- [19] LIU R, ZHANG X Z, NIE L, et al. Heme oxygenase 1 in erythropoiesis: An important regulator beyond catalyzing heme catabolism[J]. Ann Hematol, 2023,102(6):1323-1332.

(下转第96页)

- 作用[J].中国动脉硬化杂志,2024,32(3):185-193.
- [71] KILLIPS B, HEATON E J B, AUGUSTO L, et al. Cxiella burnetii inhibits nuclear translocation of TFEB, the master transcription factor for lysosomal biogenesis[J]. J Bacteriol, 2024, 206(8):e0015024.
- [72] 刘哲,李俊良,周义翔,等.去氢二异丁香酚通过TFEB/自噬溶酶体途径抵抗H1N1病毒感染[J].中国中药杂志, 2025,50(6):1650-1658.
- [73] 董秋童,李敏,张美琦,等.葛根通过转录因子EB促进溶酶体生物发生抵抗病毒感染[J].中草药, 2024, 55(16): 5503-5513.
- [74] KHOMICH O A, KOCHETKOV S N, BARTOSCH B, et al. Redox biology of respiratory viral infections [J]. Viruses, 2018, 10(8):392.
- [75] CHEN F, ELGAHER W M, WINTERHOFF M, et al. Citraconate inhibits ACOD1 (IRG1) catalysis, reduces interferon responses and oxidative stress, and modulates inflammation and cell metabolism[J]. Nat Metab, 2022, 4(5):534-546.
- [76] BEHERA J, KUMAR M P, FEMELA A I, et al. miRNA-15/IL-10R $\alpha$  axis promotes Kabasura Kudineer (Indian traditional Siddha formulation) induced immunomodulation by suppressing oxidative stress [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 305:116032.
- [77] TKACZENKO H, KURHALUK N. Antioxidant -rich functional foods and exercise: Unlocking metabolic health through Nrf2 and related pathways[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(3):1098.
- [78] ULASOV A V, ROSENKRANZ A A, GEORGIEV G P, et al. Nrf2/Keap1/ARE signaling: Towards specific regulation[J]. Life Sci, 2022, 291:120111.
- [79] ZHOU R H, HU J N, QIU J N, et al. Phenolic compound SG-1 from *Balanophora harlandii* and its derivatives exert anti-influenza A virus activity via activation of the Nrf2/HO-1 pathway[J]. Biochem Pharmacol, 2023, 210: 115495.
- [80] WANG H J, JIA X, ZHANG M Q, et al. Isoliquiritigenin inhibits virus replication and virus-mediated inflammation via NRF2 signaling[J]. Phytomedicine, 2023, 114:154786.
- [81] LIU X Y, KE S Y, WANG X Y, et al. Interpretation of the anti-influenza active ingredients and potential mechanisms of Ge Gen Decoction based on spectrum-effect relationships and network analysis[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319(Pt2):117290.
- (收稿日期:2025-03-17 编辑:罗英姣)

# (上接第49页)

- [20] SZADE A, SZADE K, MAHDI M, et al. The role of heme oxygenase-1 in hematopoietic system and its microenvironment[J]. Cell Mol Life Sci, 2021,78(10):4639-4651.
- [21] LAI T T, YANG C M, YANG C H. Astaxanthin protects retinal photoreceptor cells against high glucose-induced oxidative stress by induction of antioxidant enzymes via the PI3K/Akt/Nrf2 pathway[J]. Antioxidants (Basel), 2020, 9(8):729.
- [22] SINGH N, BHATLA S C. Heme oxygenase-nitric oxide crosstalk-mediated iron homeostasis in plants under oxidative stress[J]. Free Radic Biol Med, 2022,182:192-205.
- [23] NANDI S, NAG A, KHATUA S, et al. Anticancer activity and other biomedical properties of  $\beta$ -sitosterol: Bridging phytochemistry and current pharmacological evidence for future translational approaches[J]. Phytother Res, 2024,38 (2):592-619.
- [24] PANIAGUA -P?REZ R, MADRIGAL -BUJAIDAR E, REYES-CADENA S, et al. Cell protection induced by beta-sitosterol: Inhibition of genotoxic damage, stimulation of lymphocyte production, and determination of its antioxidant capacity[J]. Arch Toxicol, 2008,82(9):615-622.
- [25] 刘威良,姬昱,黄艾祥. $\beta$ -谷甾醇的研究及开发进展[J].农产品加工,2019(1):77-79,82.
- [26] 袁明洲,袁欣欣,林瑶,等. $\beta$ -谷甾醇对帕金森病模型大鼠脑氧化应激损伤及Nrf2/HO-1蛋白通路的影响[J].福建中医药,2024,55(3):32-35.
- [27] 王旭红,刘改霞,李耀辉,等.基于网络药理学探寻 $\beta$ -谷甾醇的作用机制[J].世界中医药,2022,17(2):172-176.
- [28] 高文荣,蔡建,赵冬梅,等.基于网络药理学及动物实验探究云南辣木籽油和天麻素复合物改善睡眠作用及机制[JOL].中国油脂,2024:1-15[2024-08-05].<https://link.cnki.net/doi/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.240321>.
- [29] 朱丽云,钟钰,柳小莉,等.基于网络药理学研究当归挥发油治疗失眠的作用机制[J].中成药,2022,44(3):1000-1005.
- [30] WANG M M, XIA Y Z, AI S, et al. Kaempferol improves Pb-induced cognitive impairments via inhibiting autophagy[J]. J Nutr Biochem, 2024,125:109556.
- [31] 贺文彬,张俊龙,薛薇,等.黄酮类化合物杨梅酮促进大鼠海马长时程增强的作用[J].中国新药杂志,2009,18(24):2306-2308,2315.
- [32] 杨轶涵,展希,方育.血红素加氧酶1对肝缺血再灌注损伤的细胞保护机制进展[J].医学综述,2022,28(14):2733-2738.
- (收稿日期:2025-02-22 编辑:时格格)