

黄芩抗原发性胆汁性胆管炎机制的网络药理学探索



王春霞^{1, 2, 3}, 赵 瓚^{1, 2, 3}, 郭庆红^{1, 2, 3}

1. 兰州大学第一临床医学院 (兰州 730000)
2. 兰州大学第一医院消化内科 (兰州 730000)
3. 甘肃省消化系统疾病临床医学研究中心 (兰州 730000)

【摘要】目的 利用网络药理学、分子对接和分子动力学模拟方法, 探讨黄芩治疗原发性胆汁性胆管炎 (PBC) 的潜在靶点和作用机制。**方法** 从 TCMSP 数据库筛选出黄芩的活性成分及其对应的靶点, 使用 UniPort 数据库标准化。基于 GeneCards 平台获取疾病相关靶点信息, 并与黄芩活性成分的作用靶点进行交集分析, 构建蛋白质-蛋白质互作网络, 并借助 Cytoscape 可视化软件绘制疾病靶点图。利用 DAVID 生物信息学资源对核心靶点进行功能注释分析, 再通过计算机辅助药物设计技术, 验证关键活性成分与靶标蛋白的结合特性。**结果** 网络药理学分析表明, 黄芩治疗 PBC 的核心药物活性成分主要有金合欢素、汉黄芩素、黄芩苷、5,7,4'-三羟基-8-甲基二氢黄酮、去甲汉黄芩素, 核心靶点有肿瘤蛋白 p53 (TP53)、肿瘤坏死因子 (TNF)、蛋白激酶 B1 (AKT1)、RELA、白细胞介素 (IL)-6, 主要通过癌症、炎症、糖尿病、病毒感染、细胞凋亡与衰老、磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K-AKT) 和 IL-17 等信号通路治疗 PBC。分子对接验证结果提示, 核心靶点与核心药物活性成分具有较强的结合力。分子动力学模拟进一步验证了 TP53 与核心成分黄芩素和去甲汉黄芩素之间形成了稳定而强烈的结合。**结论** 初步揭示了黄芩治疗 PBC 的活性成分及可能的作用机制, 为深入研究药效物质基础、作用机制以及临床应用提供了参考。

【关键词】 原发性胆汁性胆管炎; 黄芩; 网络药理学; 分子对接; 分子动力学模拟; 信号通路; GO 功能分析; KEGG 通路富集分析

【中图分类号】 R575.2; R259

【文献标识码】 A

Network pharmacological exploration of the mechanism of *Scutellaria baicalensis* antigenic primary biliary cholangitis

WANG Chunxia^{1,2,3}, ZHAO Zan^{1,2,3}, GUO Qinghong^{1,2,3}

1. First Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

2. Department of Gastroenterology, First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

3. Digestive System Diseases Clinical Medical Research Center of Gansu Province, Lanzhou 730000, China

Corresponding author: GUO Qinghong, Email: gqh@lzu.edu

【Abstract】Objective To explore the potential targets and mechanisms of *Scutellaria baicalensis* in the treatment of primary biliary cholangitis (PBC) based on network pharmacology, molecular docking and molecular dynamics simulation. **Methods** The active components and

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202511016

基金项目: 甘肃省联合科研基金科技计划项目 (23JRRA1487); 甘肃省卫生健康行业科研项目 (GSWSQN2023-02)

通信作者: 郭庆红, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, Email: gqh@lzu.edu

<https://yxqy.whuzhmedj.com>

corresponding targets of *Scutellaria baicalensis* were screened out by TCMSP, and the targets were standardized by UniPort database. GeneCards database was used to screen targets related to PBC. The intersection targets of *Scutellaria baicalensis* and PBC were selected and imported into STRING database to construct protein-protein interaction network. Cytoscape software was used to construct drug-disease target network map. The DAVID bioinformatics resource was utilized to conduct functional annotation analysis on core targets, followed by the application of computer-aided drug design techniques to validate the binding characteristics of key active components with target proteins. **Results** Network pharmacological analysis showed that the core active components of *Scutellaria baicalensis* in treating PBC were acacetin, wogonin, baicalin, 5,7,4'-trihydroxy-8-methylidihydroflavone and nor wogonin, and the core targets were tumor protein p53 (TP53), tumor necrosis factor (TNF), protein kinase B1 (AKT1), RELA, and interleukin (IL)-6. The treatment of PBC was mainly through signal pathways such as cancer, inflammation, diabetes mellitus, virus infection, apoptosis and aging, PI3K-AKT and IL-17. Molecular docking results suggest that the core target has strong binding force with the active ingredients of the core drug. Molecular dynamics simulation further confirmed that TP53 formed stable and strong binding with scutellarin and norwogonin. **Conclusion** The active components and possible mechanism of *Scutellaria baicalensis* in the treatment of PBC were preliminarily revealed, which provided scientific reference for further study on the effective substance basis, mechanism and clinical application. The conclusions obtained in this study are based on computational simulation predictions and still require subsequent experimental verification.

【Keywords】 Primary biliary cholangitis; *Scutellaria baicalensis*; Network pharmacology; Molecular docking; Molecular dynamics simulation; Signaling pathways; GO function analysis; KEGG pathway enrichment analysis

原发性胆汁性胆管炎 (primary biliary cholangitis, PBC) 又称原发性胆汁性肝硬化, 是一种慢性胆汁淤积性免疫性肝病, 其特征是持续性胆汁淤积、小叶间胆管损伤、肝纤维化, 最终导致肝硬化和死亡^[1-3]。PBC 在欧洲的总体患病率为 22.27 例/100 000 居民, 合并发病率为每年 1.7 例/100 000 居民, 其中女性占多数^[2, 4]。胆道上皮稳态失衡被认为是 PBC 发生和进展的重要病理基础, 其中胆管上皮细胞衰老、凋亡增加以及碳酸氢盐分泌功能受损, 共同促进慢性炎症反应和胆汁酸滞留^[5]。熊去氧胆酸 (ursodeoxycholic acid, UDCA) 作为 PBC 的一线治疗药物, 临床疗效显著, 但仍有 30%~40% 的患者疗效欠佳。对于 UDCA 应答不佳的患者, 二线治疗的选择包括奥贝胆酸和贝特类药物 (如苯扎贝特或非诺贝特)^[5-8]。然而, 近年来越来越多研究表明, UDCA 联合中药对 UDCA 不耐受或应答不佳的 PBC 患者具有较好的疗效^[9-14]。黄芩的提取物及其主要黄酮类化合物如黄芩苷、黄芩素等具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、抗纤维化、抗病毒、保肝和保护心血管及神经系统等作用^[9, 15-18]。当前, 分子动力学模拟已成为网络药理学研究的重要补

充工具, 其通过模拟蛋白质-配体复合物的动态行为, 可弥补静态分子对接的局限性。本研究旨在通过网络药理学和分子对接研究黄芩治疗 PBC 的有效成分及可能的作用机理, 为 PBC 患者的治疗提供更多可能。

1 资料与方法

1.1 黄芩活性成分的筛选与靶点的预测

以“黄芩”为检索词在 TCMSP (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform) 数据库 (<https://www.tcmsp-e.com>) 查找黄芩的活性成分, 规定口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 且类药性 (drug likeness, DL) ≥ 0.18 ^[19-20] 为筛选条件, 据此从黄芩中筛选出具有潜在药理活性的化合物。随后通过 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 对这些成分的作用靶点进行标准化处理。

1.2 PBC 相关靶点的筛选

以“primary biliary cholangitis”为关键词从 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 检索该疾病相关的靶点, 并筛选出得分 ≥ 10 ^[20-21] 的疾病靶点。

1.3 黄芩与PBC的交集靶点的预测

利用在线工具 Venn 2.1.0 (<https://bioinfo.gp.cnbc.csic.es/tools/venny/>) 绘制药物与疾病的交集靶点韦恩图。

1.4 黄芩成分-疾病靶点网络图的构建

通过 Cytoscape 3.10.2 软件中的网络分析功能, 获得核心药物成分-靶点-疾病以及相互作用网络图。

1.5 交集靶点PPI的制作及核心靶点的筛选

通过 STRING 数据库 (<https://stringdb.org/>) 对药物与疾病的共同靶点进行蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interactions, PPI) 网络构建, 其中物种选为“Homo sapiens”, 设置度 (degree) 值 > 0.9, 得到蛋白互作图, 随后将获得的网络导入 Cytoscape 软件进行可视化分析并筛选出核心靶点。

1.6 GO和KEGG通路分析

利用 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 对交集靶点进行生物学功能 GO 功能注释, 同时通过 KEGG 对信号通路进行富集分析。

1.7 分子对接

采用分子对接技术对筛选获得的关键靶点与黄芩活性成分的相互作用进行验证。首先, 基于网络拓扑分析确定的核心靶点与药物-疾病网络中鉴定的黄芩有效成分进行分析。小分子配体的三维构象数据从 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取, 而靶点蛋白的晶体结构则来源于 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>)。在结构预处理阶段, 运用 PyMOL 分子可视化软件对蛋白质结构进行优化, 包括移除非必需的小分子配体及溶剂分子。随后, 通过 AutoDockTools 程序对受体蛋白进行氢原子添加和文件格式转换操作。分子对接计算采用 AutoDock Vina 软件完成, 获得各复合物的特异性结合位点信息及相应的结合自由能数值。最终, 利用 PyMOL 软件平台实现对接结果的三维可视化呈现, 绘制出分子对接构象图。

1.8 分子动力学模拟和结合自由能计算

为进一步验证分子对接结果的可靠性, 本研究采用分子动力学模拟方法, 系统评估蛋白质-配体复合物的动态稳定性。基于分子对接结果, 使用 GROMACS (Groningen Machine for Chemicals Simulations) 5.0 软件包^[22] 和 CHARMM (Chemistry

at Harvard Macromolecular Mechanics) 36 力场^[23] 在分子的周期性边界条件下对最佳位置的复合物进行分子动力学模拟研究。使用 CHARMM 通用力场生成配体拓扑文件^[24]。通过加入离子来中和系统的电荷。使用最陡梯度法将能量降至最低, 以消除任何密切接触。采用粒子网格 Ewald (Particle Mesh Ewald, PME) 方法进行能量计算以及静电和范德华 (van der Waals) 相互作用。将系统在网络虚拟终端 (network virtual terminal, NVT) 系综中平衡 50 000 步, 然后在非分组式终端 (non-packet terminal, NPT) 系综中平衡另外 50 000 步。最后, 在 300 K 下以 2.0 fs 的时间步长进行 100 ns 的分子动力学模拟, 并以每皮秒 (ps) 保存坐标供分析^[25-26]。使用 gmx_MMPBSA 在线工具, 通过分子力场-泊松玻尔兹曼表面积法 (molecular mechanics-Poisson Boltzmann surface area, MM/PBSA) 计算活性化合物与蛋白质的结合自由能^[27]。

2 结果

2.1 黄芩中主要活性成分及作用靶点

基于预设的筛选标准 (OB ≥ 30%, DL ≥ 0.18), 从 TCMSP 数据库中共获得 36 个黄芩活性成分。经 UniProt 数据库转换和去重后, 最终确定 107 个潜在作用靶点。

2.2 PBC相关靶点

以“primary biliary cholangitis”为关键词在 GeneCards 数据库检索疾病相关的靶点, 筛选出疾病相关靶点 560 个。

2.3 交集靶点及成分-疾病的网络图

取黄芩和 PBC 作用的共同靶点为两者的交集靶点 (获得的 26 个共同靶点) 并绘制韦恩图 (图 1A)。采用 Cytoscape 3.10.2 软件整合药物活性成分、有效靶点基因和疾病靶点, 并进行网络构建及可视化分析, 最后得到 73 个节点 (图 1B)。

2.4 PPI网络及核心靶点的筛选

将上述获得的 26 个共同靶点导入 STRING 数据库进行 PPI 分析, 然后使用 Cytoscape 3.10.2 软件构建共同组分靶点的相互作用网络。颜色和圆圈大小根据 degree 值进行调整, 颜色越深, 圆圈越大, 表示目标与其他目标的交互更紧密。图中有 26 个节点和 52 条边。

此外，使用 cytoHubba 插件分析网络拓扑，选择前 10 个靶点：肿瘤蛋白 p53 (tumor protein p53, TP53)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、蛋白激酶 B1 (AKT serine/threonine kinase 1, AKT1)、RELA、白细胞介素 (interleukin, IL)-6、核因子 κ B 亚基 1 (nuclear factor kappa B subunit 1, NFKB1)、纤维连接蛋白 1 (fibronectin 1, FN1)、雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2) 以及趋化因子配体 8 (CXC chemokine ligand 8, CXCL8) 作为治疗的核心靶点 (图 1C)。其中，颜色越深代表 degree 值越高。

2.5 黄芩—PBC交集靶点的富集分析

将交集靶点导入 DAVID 数据库中进行 GO 注释分析与 KEGG 通路分析。GO 分析中得到了 235 个生物过程 (biological process, BP)、27 个细胞成分 (cellular component, CC) 和 47 个分子功能 (molecular function, MF) 条目。将这些条目按 P 值排名，并选择前 10 个条目进行可视化分析 (图 2A)。KEGG 信号通路中富集了 158 条信号通路，并可可视化了按 P 值排名前 20 条的通路 (图 2B)。结果表明，黄芩治疗 PBC 主要涉及癌症、磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K)-AKT、IL-17、炎症、糖尿病、病毒感染、细胞凋亡与衰老等信号通路。

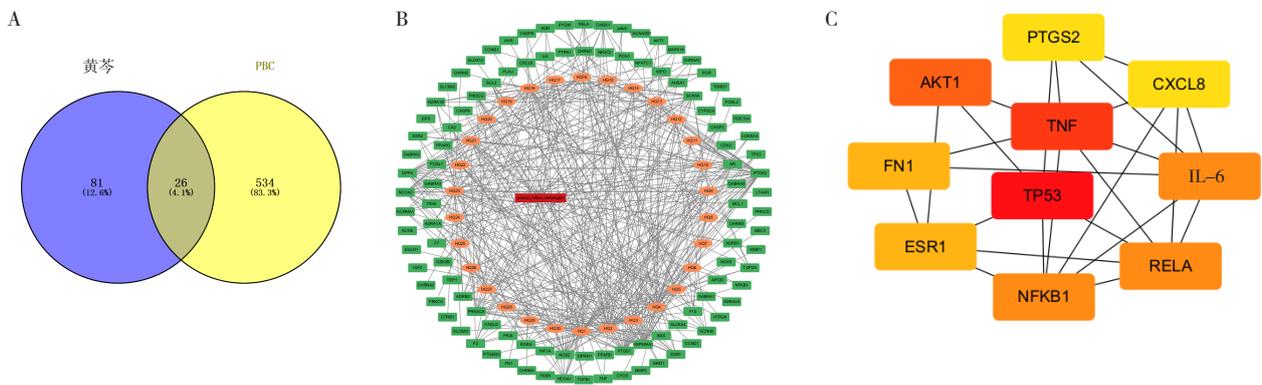


图1 黄芩治疗PBC的共同靶点及网络分析

Figure 1. Common targets and network analysis of *Scutellaria baicalensis* in treating PBC

注：A. 药物-疾病韦恩图；B. “药物-成分-靶点-疾病”网络图；C. PPI网络核心靶点图。

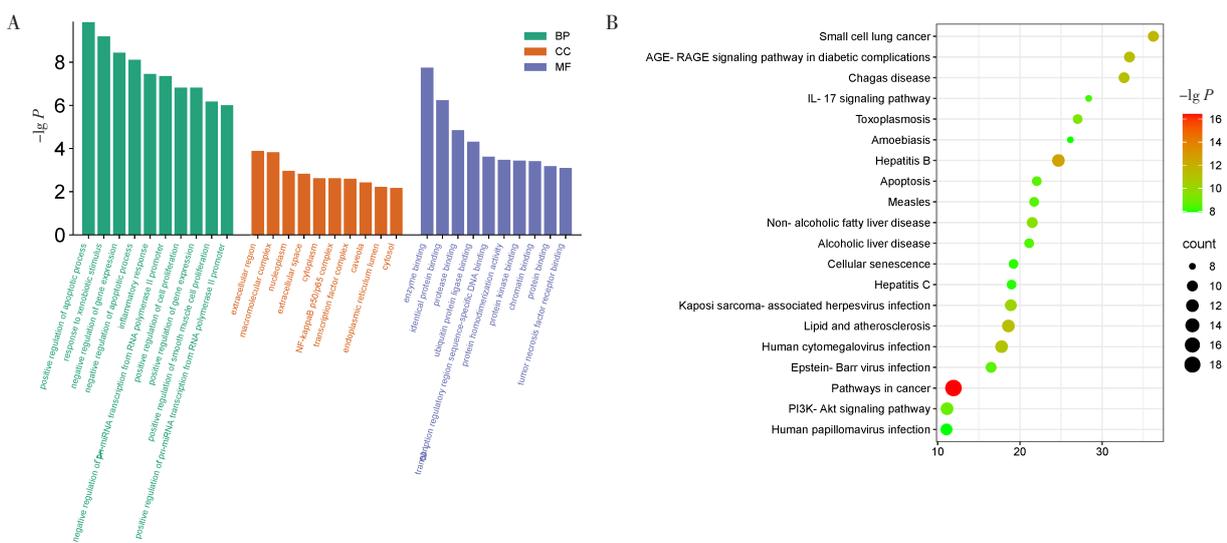


图2 黄芩—PBC共同靶点的GO功能与KEGG通路富集分析

Figure 2. GO functional and KEGG pathway enrichment analysis of common targets between *Scutellaria baicalensis* and PBC

注：A. GO功能富集分析条形图，纵轴为富集条目，横轴为富集因子，颜色代表 P 值；B. KEGG通路富集分析气泡图，纵轴为通路名称，横轴为富集因子，气泡大小代表靶点数量，颜色代表 P 值。

2.6 分子对接

分子对接能够预测分子间的结合模式与亲和力，一般认为结合能 ≤ -5 kcal/mol 的物质与靶点结合性较好。选取网络拓扑分析得到的前 5 个核心靶点与“药物成分-疾病靶点”网络图中 degree 值最高的 5 种黄芩活性成分分别进行分子对接（表1），其中去甲汉黄芩素、黄芩素与 TP53 的结合能最低，表明其与结合的稳定性更好。根据分子对接结果绘制热图，直观呈现各成分与靶点之间的结合可能性（图 3A）。选取对接较好的靶点 TP53 与成分黄芩素和去甲汉黄芩素进行可视化（图 3B~3C）。

2.7 分子动力学模拟

在分子对接结果的基础上，本研究对 TP53 与黄芩素及去甲汉黄芩素进行了 100 ns 的分子动力学模拟，以深入验证这些小分子配体与蛋白质结合的稳定性。蛋白质骨架的均方根偏差（root mean square deviation, RMSD）分析是衡量蛋白质-配体复合物稳定性的重要参数，曲线的平稳程度直接反映了复合物的稳定性。从 RMSD 结果（图 4A）可以看出，TP53 与黄芩素的结合在整

个模拟过程中保持稳定，而 TP53 与去甲汉黄芩素的复合物在模拟进行到 2 ns 后达到了平衡状态，曲线波动明显减小，趋于平稳。均方根波动（root mean square fluctuation, RMSF）曲线揭示了蛋白骨架原子在模拟过程中的平均位置波动程度。RMSF 结果（图 4B）显示，RMSF 值较低，表明蛋白骨架在模拟过程中波动较小，结构相对稳定。回旋半径（radius of gyration, Rg）曲线则用于描述结构的紧凑程度及其稳定性。根据 Rg 的结果（图 4C），TP53 与黄芩素和去甲汉黄芩素的复合物在模拟过程中的回旋半径保持在 1.6~1.8 nm，这表明复合体系在模拟中保持了较好的稳定性。氢键数量变化曲线反映了模拟过程中配体和蛋白之间氢键数量的动态变化。氢键分析结果（图 4D）显示，黄芩素和去甲汉黄芩素与 TP53 蛋白之间形成了数量众多且稳定的氢键，这表明小分子配体与蛋白之间具有较高的亲和力。最后，吉布斯自由能形貌图（图 4E~4F）用于揭示蛋白质是否具有稳定的空间构象及其可能的构象数目。通常 1 个能量井代表蛋白质的 1 种稳定构象，是蛋白质稳定性的直观证据。

表1 黄芩主要成分与核心靶点分子对接结果

Table 1. Docking results of main components of *Scutellaria baicalensis* and core target molecules

药效成分	结合能 (kcal/mol)				
	TP53	TNF	AKT1	RELA	IL-6
金合欢素	-7.19	-5.44	-5.7	-6.40	-6.05
汉黄芩素	-7.24	-6.05	-5.63	-4.93	-3.58
黄芩素	-7.45	-6.27	-5.87	-5.28	-6.10
5,7,4'-三羟基-8-二甲氧基黄酮	-7.43	-5.98	-5.74	-4.92	-5.75
去甲汉黄芩素	-7.53	-6.12	-5.90	-4.84	-6.29

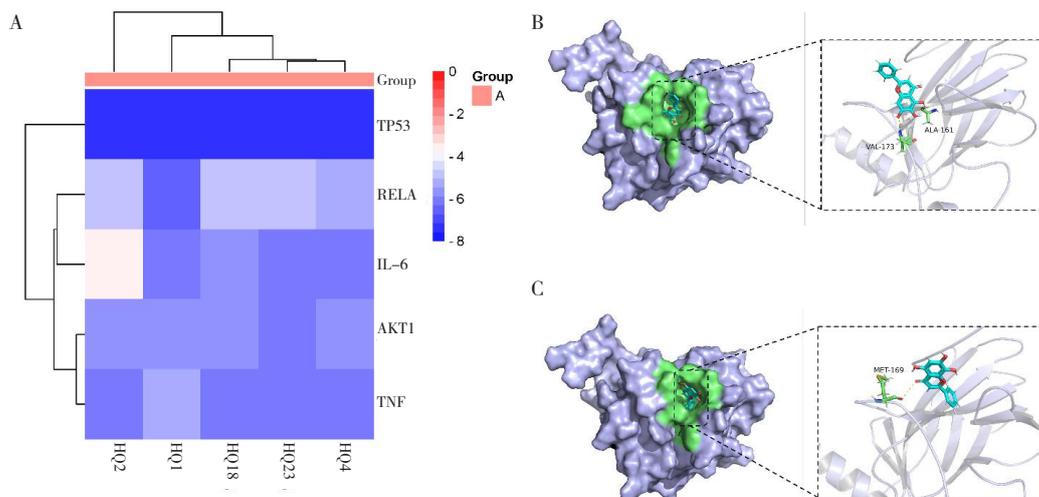


图3 核心成分与核心靶点的分子对接结果

Figure 3. Molecular docking results of core components and core targets

注：A. 分子对接结合能热图；B. 黄芩素与 TP53 蛋白结合能最低的配体-受体复合物的三维结合构象；C. 去甲汉黄芩素与 TP53 蛋白结合能最低的配体-受体复合物的三维结合构象，显示了小分子在蛋白质口袋中的具体结合位置与相互作用。Hq1: 金合欢素；Hq2: 汉黄芩素；Hq4: 黄芩素；Hq18: 5,7,4'-三羟基-8-二甲氧基黄酮；Hq23: 去甲汉黄芩素。

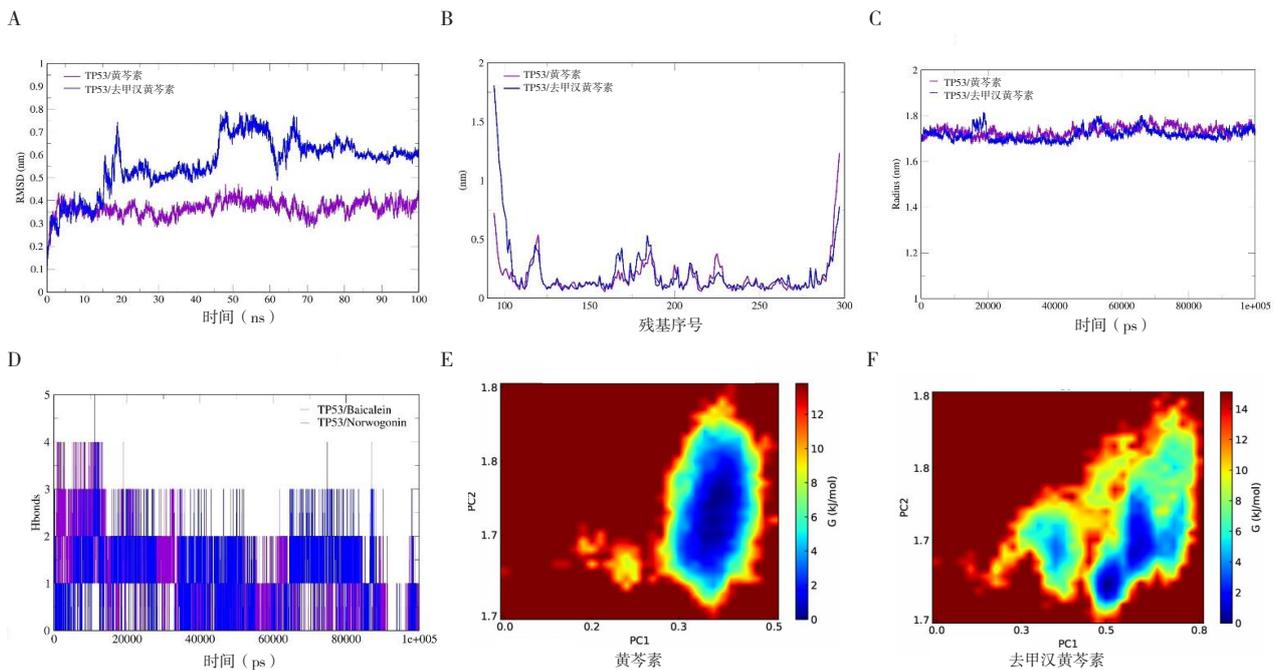


图4 TP53-配体复合物分子动力学模拟分析结果

Figure 4. Molecular dynamics simulation analysis results of the TP53-ligand complex

注: A. 蛋白骨架RMSD随时间变化曲线,反映了蛋白质-配体复合物在100 ns模拟过程中的结构稳定性,曲线平稳表明复合物已达到平衡状态; B. 蛋白残基RMSF分布图,反映了蛋白质各氨基酸残基在模拟过程中的柔性程度,峰值区域通常为环区或无规卷曲; C. 复合物Rg随时间变化曲线,描述了复合物在模拟过程中的结构紧凑性与整体维度的变化,值越稳定表明结构越紧密; D. 分子间氢键数量随时间变化曲线,展示了配体与受体蛋白之间形成的氢键数量在模拟过程中的动态变化,表明两者之间存在稳定且持续的相互作用; E和F. 自由能形貌图,分别为TP53-黄芩素和TP53-去甲汉黄芩素复合物的构象自由能分布,图中清晰的能量洼地(蓝色)代表最稳定的优势构象。

3 讨论

本研究通过网络药理学、分子对接及分子动力学模拟,系统揭示了黄芩治疗PBC的多成分、多靶点、多通路作用机制。以下结合现有研究,对本研究的发现进行分层讨论。

3.1 黄芩核心成分的肝保护作用与机制拓展

本研究筛选出的核心成分(金合欢素、汉黄芩素、黄芩苷等)其肝保护作用已在诸多文献中得到印证^[9, 15, 28-31]。例如,黄芩苷的抗炎保肝作用与去乙酰化酶1/法尼醇X受体(hepatic sirtuin/farnesoid X receptor, Sirt1/FXR)通路激活密切相关^[31],汉黄芩素则通过抑制肝星状细胞活化发挥抗纤维化效应^[29],这与本研究结果一致。然而,既往研究多聚焦于单一成分或单一通路。本研究的创新之处在于系统识别出5,7,4'-三羟基-8-甲基二氢黄酮和去甲汉黄芩素作为治疗PBC的潜力成分,并通过网络分析表明,这些成分通过协同作用,共同调控一个复杂的网络,从而在抑制炎症、抗氧化应激和抗纤维化等方面发挥综合效应,为理解黄芩的整体药效物质基础提供了新视角。

3.2 核心靶点网络在PBC病理中的协同作用与靶点发现

本研究鉴定出的核心靶点(如TNF、IL-6、AKT1、RELA)是公认的炎症与免疫调控关键分子,与PBC的病理过程高度相关^[32-37]。例如,TP53作为重要的转录调控因子,参与多种细胞生命活动包括DNA损伤修复、细胞周期调控等过程^[38]。此外,有证据表明,TP53的遗传变异与环境适应有关^[39]。TNF是炎症的主要介质,低表达与自身免疫性疾病相关,而过表达时可引起慢性炎症^[32]。AKT1是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,是细胞生长和存活过程的关键介质,包括葡萄糖代谢、细胞凋亡、转录、细胞增殖和迁移,其在大多数人类癌症中过度磷酸化和过度活跃^[33]。RELA编码p65蛋白,这是NF- κ B家族的5种转录因子之一。NF- κ B信号转导减少会促进TNF驱动的黏膜凋亡,上皮修复受损,而NF- κ B信号转导增加会驱动促炎细胞因子的产生^[34-35]。IL-6作为炎症细胞因子中的重要成员,能够诱导慢性炎症和自身免疫功能失调,进而导致正常细胞癌变^[36-37]。NFKB1是NF- κ B家族的重要成员。

在炎症、癌症和衰老中起关键作用^[40]。FN1 是一种细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 蛋白, 在胚胎发育、组织修复、细胞迁移和细胞的增值分化中至关重要^[41]。ESR1 是雌激素发挥生理功能的关键受体, 并参与调节骨密度。PTGS2 是合成前列腺素的关键酶, 在一些慢性炎症性疾病 (如类风湿关节炎、炎症性肠病等) 中, PTGS2 的过度表达与疾病的进展密切相关^[42]。CXCL8 是趋化因子家族的一员, 作用于 CXC 趋化因子受体 (CXC chemokine receptor, CXCR) 1 和 CXCR2。CXCL8 和受体有助于消除病原体, 但也可能与疾病相关过程有重大关系, 包括组织损伤、纤维化、血管生成和肿瘤发生^[43]。本研究的重要发现在于: 通过 PPI 网络拓扑分析, 揭示了 TP53 在这一靶点网络中的核心枢纽地位。传统上, TP53 更多地被关联于肿瘤抑制, 但新近研究表明其也参与调节细胞衰老、代谢和自身免疫^[38-39]。本研究预测黄芩成分可与之稳定结合, 提示其可能通过稳定 TP53 功能, 调控胆管上皮细胞的凋亡与衰老进程, 这为理解 PBC 的胆管损伤机制及黄芩的干预作用提供了一个新颖的、值得深入探究的靶点方向。

3.3 通路富集揭示的多机制协同干预策略

KEGG 富集分析结果表明, 黄芩干预 PBC 涉及癌症、PI3K-AKT、IL-17、肝炎等多条通路。这与 PBC 作为一种涉及自身免疫、慢性炎症和胆汁淤积的复杂疾病特征相吻合。现有治疗策略 (如 UDCA) 主要侧重于促进胆汁分泌和细胞保护。本研究的突出价值在于: 从系统生物学层面阐明, 黄芩的治疗潜力可能源于其对免疫炎症 (IL-17、TNF 信号通路)、细胞凋亡与存活 (PI3K-AKT、p53 信号通路) 及纤维化 (癌症通路中的 ECM-受体相互作用) 等多维病理过程的协同调控。这种多通路协同作用的模式, 为解释中药复方或单一中药治疗复杂疾病的优势提供了理论依据, 也为开发针对多靶点的联合治疗策略提供了思路。

3.4 分子模拟为靶点互作提供高可靠性结构证据

分子对接与动力学模拟是连接预测与实验验证的关键桥梁。本研究不仅通过分子对接初步验证了结合亲和力, 更进一步通过 100 ns 分子动力学模拟与 MM/PBSA 计算结合自由能, 证实了黄芩素和去甲汉黄芩素与 TP53 蛋白复合物的动

态稳定性与高结合亲和力。相较于多数同类研究仅停留在分子对接^[32], 本研究采用的整合计算策略 (网络药理学-分子对接-分子动力学) 显著提高了预测结果的可靠性, 为后续针对 TP53 靶点的功能性实验奠定了坚实的结构生物学基础。本研究的局限性在于尚未进行实验验证, 结论仍属预测性质。相较于已有实验支撑的网络药理学研究^[44-45], 本研究仍需通过功能实验来证实。为进一步验证本研究预测结果, 下一步工作将利用 PBC 细胞模型 (如人胆管上皮细胞), 通过 qPCR、Western Blot、免疫荧光等技术检测黄芩核心成分对 TP53、TNF、IL-6 等靶点表达及 PI3K-AKT、IL-17 通路活性的影响, 在体外验证黄芩及其核心成分对 TP53 等靶点及下游通路的调控作用, 并在动物模型中进行功效验证, 以完成从计算预测到实验验证的完整证据链。

3.5 结论

本研究阐明黄芩可能通过金合欢素、汉黄芩素、黄芩苷、5,7,4'-三羟基-8-甲基二氢黄酮以及去甲汉黄芩素等多种活性成分, 协同作用于 TP53、TNF、AKT1 等核心靶点, 经由 PI3K-AKT、IL-17 及 p53 等信号通路, 在抑制炎症、调控免疫、缓解氧化应激及抗纤维化等环节综合干预 PBC 进程。分子动力学模拟为关键相互作用提供了高可信度的结构依据。本研究初步揭示了黄芩治疗 PBC 的潜在成分与机制, 为后续实验验证与深入机制研究提供了方向。

参考文献

- 1 Floreani A, Gabbia D, De Martin S. Current perspectives on the molecular and clinical relationships between primary biliary cholangitis and hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(4): 2194. DOI: 10.3390/ijms25042194.
- 2 Pariente A, Chazouilleres O, Causse X, et al. Management of primary biliary cholangitis: results from a large real-life observational study in France and Belgium[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2021, 33(1S): e197-e205. DOI: 10.1097/MEG.0000000000002011.
- 3 Trivella J, John BV, Levy C. Primary biliary cholangitis: epidemiology, prognosis, and treatment[J]. *Hepatol Commun*, 2023, 7(6): e0179. DOI: 10.1097/HC9.000000000000179.
- 4 Beery RMM, Vaziri H, Forouhar F. Primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis: a review featuring a women's health perspective[J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2014, 2(4): 266. DOI: 10.14218/JCTH.2014.00024.
- 5 Levy C, Manns M, Hirschfield G. New treatment paradigms in

- primary biliary cholangitis[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2023, 21(8): 2076–2087. DOI: [10.1016/j.cgh.2023.02.005](https://doi.org/10.1016/j.cgh.2023.02.005).
- 6 Liu CH, Bowlus CL. Treatment of primary biliary cholangitis: first-line and second-line therapies[J]. Clin Liver Dis, 2022, 26(4): 705–726. DOI: [10.1016/j.cld.2022.06.012](https://doi.org/10.1016/j.cld.2022.06.012).
 - 7 Phaw NA, Dyson JK, Jones D. Emerging drugs for the treatment of primary biliary cholangitis[J]. Expert Opin Emerg Drugs, 2020, 25(2): 101–112. DOI: [10.1080/14728214.2020.1751814](https://doi.org/10.1080/14728214.2020.1751814).
 - 8 Yao TT, Qian JD, Wang GQ. Efficacy of ursodeoxycholic acid combined with prednisolone and immunosuppressant triple therapy in the treatment of refractory primary biliary cholangitis[J]. Med Clin (Barc), 2020, 155(4): 165–170. DOI: [10.1016/j.medcli.2020.03.013](https://doi.org/10.1016/j.medcli.2020.03.013).
 - 9 Bi C, Dong X, Zhong X, et al. Acacetin protects mice from *Staphylococcus aureus* bloodstream infection by inhibiting the activity of sortase A[J]. Molecules, 2016, 21(10): 1285. DOI: [10.3390/molecules21101285](https://doi.org/10.3390/molecules21101285).
 - 10 刘蒙. 基于数据挖掘探析中医药治疗原发性胆汁性胆管炎的组方用药规律[D]. 广州: 广州中医药大学, 2023. <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10572-1024006148.htm>.
 - 11 孙亚男. 复方生脉饮治疗气阴两虚型原发性胆汁性胆管炎的疗效观察[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2023. <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10162-1023661190.htm>.
 - 12 沈健豪. 当归补血汤对熊去氧胆酸应答不良的原发性胆汁性胆管炎细胞免疫的研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2019. <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10315-1019052364.htm>.
 - 13 游丽萍, 郑超, 张景豪, 等. 中药联合熊去氧胆酸治疗原发性胆汁性胆管炎临床疗效 Meta 分析[J]. 中西医结合肝病杂志, 2020, 30(1): 60–64, 99. [You LP, Zheng C, Zhang JH, et al. Efficacy of traditional Chinese medicine combined with ursodeoxycholic acid for primary biliary cirrhosis with Meta-analysis[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine on Liver Diseases, 2020, 30(1): 60–64, 99.] DOI: [10.3969/j.issn.1005-0264.2020.01.018](https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-0264.2020.01.018).
 - 14 邵志琴, 曾武武, 石伟. 疏肝利胆汤加味联合熊去氧胆酸治疗原发性胆汁性胆管炎肝胆湿热证的疗效研究[J]. 辽宁中医杂志, 2023, 50(6): 130–133. [Shao ZQ, Zeng WW, Shi W. Efficacy research of Shugan Lidan decoction combined with ursodeoxycholic acid treating primary biliary cholangitis with syndrome of damp and heat in liver and gallbladder[J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2023, 50(6): 130–133.] DOI: [10.13192/j.issn.1000-1719.2023.06.035](https://doi.org/10.13192/j.issn.1000-1719.2023.06.035).
 - 15 Wang ZL, Wang S, Kuang Y, et al. A comprehensive review on phytochemistry, pharmacology, and flavonoid biosynthesis of *Scutellaria baicalensis*[J]. Pharm Biol, 2018, 56(1): 465–484. DOI: [10.1080/13880209.2018.1492620](https://doi.org/10.1080/13880209.2018.1492620).
 - 16 刘晓龙, 李春燕, 陈奇剑, 等. 黄芩主要活性成分和药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2023, 40(10): 979–985, 990. [Liu XL, Li CY, Chen QJ, et al. Research progress on the main active ingredients and pharmacological effects of *Scutellariae Radix*[J]. Journal of Xinxiang Medical University, 2023, 40(10): 979–985, 990.] DOI: [10.7683/xyxyxb.2023.10.014](https://doi.org/10.7683/xyxyxb.2023.10.014).
 - 17 刘朋良, 许二平, 张楠, 等. 黄芩汤在消化系统疾病中的临床应用及其抗炎机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2025, 43(5): 139–143. [Liu PL, Xu EP, Zhang N, et al. Clinical application of Huangqin decoction in digestive system disease and research progress of its anti-inflammatory mechanism[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2025, 43(5): 139–143.] DOI: [10.13193/j.issn.1673-7717.2025.05.027](https://doi.org/10.13193/j.issn.1673-7717.2025.05.027).
 - 18 郝娟, 张珊, 樊月月, 等. 黄芩药理作用研究进展[J]. 河北中医, 2024, 46(9): 1567–1570. [Hao J, Zhang S, Fan YY, et al. Research progress on pharmacological effects of *Scutellaria baicalensis*[J]. Hebei Journal of Traditional Chinese Medicine, 2024, 46(9): 1567–1570.] DOI: [10.3969/j.issn.1002-2619.2024.09.034](https://doi.org/10.3969/j.issn.1002-2619.2024.09.034).
 - 19 Xu X, Zhang W, Huang C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(6): 6964–6982. DOI: [10.3390/ijms13066964](https://doi.org/10.3390/ijms13066964).
 - 20 王晓雨, 李冀, 付殷, 等. 基于网络药理学探讨健脾疏肝方治疗非酒精性脂肪性肝病作用机制[J/OL]. 中国中医药信息杂志, 2025–12–04. [Wang XY, Li J, Fu Y, et al. Exploration on the mechanism of Jianpi Shugan prescription in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease based on network pharmacology[J/OL]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2025–12–04.] DOI: [10.19879/j.cnki.1005-5304.202508547](https://doi.org/10.19879/j.cnki.1005-5304.202508547).
 - 21 王建超, 张志杰, 叶剑, 等. 基于网络药理学及动物实验探讨健脾饮治疗肝硬化的作用机制[J]. 广西医学, 2025, 47(11): 1621–1631. [Wang JC, Zhang ZJ, Ye J, et al. Mechanism of Shipi Yin for the treatment of liver cirrhosis based on network pharmacology and animal experiments[J]. Guangxi Medical Journal, 2025, 47(11): 1621–1631.] DOI: [10.11675/j.issn.0253-4304.2025.11.13](https://doi.org/10.11675/j.issn.0253-4304.2025.11.13).
 - 22 Abraham MJ, Murtola T, Schulz R, et al. GROMACS: high performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers[J]. SoftwareX, 2015, 1: 19–25. DOI: [10.1016/j.softx.2015.06.001](https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001).
 - 23 Huang J, MacKerell Jr AD. CHARMM36 all-atom additive protein force field: validation based on comparison to NMR data[J]. J Comput Chem, 2013, 34(25): 2135–2145. DOI: [10.1002/jcc.23354](https://doi.org/10.1002/jcc.23354).
 - 24 Vanommeslaeghe K, Hatcher E, Acharya C, et al. CHARMM general force field: a force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields[J]. J Comput Chem, 2010, 31(4): 671–690. DOI: [10.1002/jcc.21367](https://doi.org/10.1002/jcc.21367).
 - 25 Dolezal R, Soukup O, Malinak D, et al. Towards understanding the mechanism of action of antibacterial N-alkyl-3-hydroxypyridinium salts: biological activities, molecular modeling and QSAR studies[J]. Eur J Med Chem, 2016, 121: 699–711. DOI: [10.1016/j.ejmech.2016.05.058](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.05.058).
 - 26 Childers MC, Daggett V. Validating molecular dynamics simulations against experimental observables in light of underlying conformational ensembles[J]. J Phys Chem B, 2018, 122(26): 6673–6689. DOI: [10.1021/acs.jpcc.8b02144](https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.8b02144).
 - 27 Valdés-Tresanco MS, Valdés-Tresanco ME, Valiente PA, et

- al. gmx_MMPBSA: a new tool to perform end-state free energy calculations with GROMACS[J]. *J Chem Theory Comput*, 2021, 17(10): 6281–6291. DOI: [10.1021/acs.jctc.1c00645](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c00645).
- 28 杨安银, 刘红丽, 陈妙洋, 等. 基于网络药理学方法探析汉黄芩素治疗肝细胞癌作用机制和体外实验研究[J]. *中国全科医学*, 2024, 27(32): 4040–4049. [Yang AY, Liu HL, Chen MY, et al. Mechanism and in vitro experiment of wogonin in treatment of hepatocellular carcinoma based on network pharmacology[J]. *Chinese General Practice*, 2024, 27(32): 4040–4049.] DOI: [10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0238](https://doi.org/10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0238).
- 29 杨茂辉, 冉恒泉, 王何斌, 等. 汉黄芩素调节 Hippo/YAP 信号通路对肝硬化大鼠肝纤维化的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2024, 44(7): 1160–1166. [Yang MH, Ran HQ, Wang HB, et al. Effects of wogonin on liver fibrosis in cirrhotic rats by regulating the Hippo/YAP signaling pathway[J]. *Journal of Hunan University of Chinese Medicine*, 2024, 44(7): 1160–1166.] DOI: [10.3969/j.issn.1674-070X.2024.07.003](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-070X.2024.07.003).
- 30 Hou Y, Pi C, Feng X, et al. Antitumor activity *in vivo* and *in vitro* of new chiral derivatives of baicalin and induced apoptosis via the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2020, 19: 67–78. DOI: [10.1016/j.omto.2020.08.018](https://doi.org/10.1016/j.omto.2020.08.018).
- 31 Yang J, Xiang D, Xiang D, et al. Baicalin protects against 17 α -ethinylestradiol-induced cholestasis via the sirtuin 1/hepatic nuclear receptor-1 α /farnesoid X receptor pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 10: 1685. DOI: [10.3389/fphar.2019.01685](https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01685).
- 32 Kollias G. TNF pathophysiology in murine models of chronic inflammation and autoimmunity[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2005, 34(5): 3–6. DOI: [10.1016/j.semarthrit.2005.01.002](https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2005.01.002).
- 33 Siddika T, Balasuriya N, Frederick MI, et al. Delivery of active AKT1 to human cells[J]. *Cells*, 2022, 11(23): 3834. DOI: [10.3390/cells11233834](https://doi.org/10.3390/cells11233834).
- 34 Barnabei L, Laplantine E, Mbongo W, et al. NF- κ B: at the borders of autoimmunity and inflammation[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 716469. DOI: [10.3389/fimmu.2021.716469](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.716469).
- 35 Schnappauf O, Aksentijevich I. Mendelian diseases of dysregulated canonical NF- κ B signaling: From immunodeficiency to inflammation[J]. *J Leukoc Biol*, 2020, 108(2): 573–589. DOI: [10.1002/JLB.2MR0520-166R](https://doi.org/10.1002/JLB.2MR0520-166R).
- 36 Forcina L, Franceschi C, Musarò A. The hormetic and hermetic role of IL-6[J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 80: 101697. DOI: [10.1016/j.arr.2022.101697](https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101697).
- 37 Roxburgh CSD, McMillan DC. Therapeutics targeting innate immune/inflammatory responses through the interleukin-6/JAK/STAT signal transduction pathway in patients with cancer[J]. *Transl Res*, 2016, 167(1): 61–66. DOI: [10.1016/j.trsl.2015.08.013](https://doi.org/10.1016/j.trsl.2015.08.013).
- 38 刘浩, 杨洪柳, 柳志诚, 等. 基于网络药理学和分子对接研究黄芩治疗白癜风的作用机制[J]. *现代药物与临床*, 2023, 38(8): 1872–1880. [Liu H, Yang HL, Liu ZC, et al. Exploring the mechanism of Scutellariae Radix in treatment of vitiligo based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Drugs & Clinic*, 2023, 38(8): 1872–1880.] DOI: [10.7501/j.issn.1674-5515.2023.08.010](https://doi.org/10.7501/j.issn.1674-5515.2023.08.010).
- 39 Voskarides K, Giannopoulou N. The role of TP53 in adaptation and evolution[J]. *Cells*, 2023, 12(3): 512. DOI: [10.3390/cells12030512](https://doi.org/10.3390/cells12030512).
- 40 Cartwright T, Perkins ND, Wilson CL. NFKB1: a suppressor of inflammation, ageing and cancer[J]. *FEBS J*, 2016, 283(10): 1812–1822. DOI: [10.1111/febs.13627](https://doi.org/10.1111/febs.13627).
- 41 Zhang H, Chen X, Xue P, et al. FN1 promotes chondrocyte differentiation and collagen production via TGF- β /PI3K/Akt pathway in mice with femoral fracture[J]. *Gene*, 2021, 769: 145253. DOI: [10.1016/j.gene.2020.145253](https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145253).
- 42 Martín-Vázquez E, Cobo-Vuilleumier N, López-Noriega L, et al. The PTGS2/COX2-PGE2 signaling cascade in inflammation: Pro or anti? A case study with type 1 diabetes mellitus[J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(13): 4157. DOI: [10.7150/ijbs.86492](https://doi.org/10.7150/ijbs.86492).
- 43 Russo RC, Garcia CC, Teixeira MM, et al. The CXCL8/IL-8 chemokine family and its receptors in inflammatory diseases[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2014, 10(5): 593–619. DOI: [10.1586/1744666X.2014.894886](https://doi.org/10.1586/1744666X.2014.894886).
- 44 Liu Y, Liu Y, Tian W, et al. Qi-Gui-Sheng-Jiang-San decoction regulating hypoxia response through non-oxygen-dependent pathway improves diabetic kidney disease: coupling network pharmacology with experimental verification[J]. *J Diabetes Res*, 2025, 2025: 6399010. DOI: [10.1155/jdr/6399010](https://doi.org/10.1155/jdr/6399010).
- 45 蒋欣琪, 王楚皓, 魏东升, 等. 基于网络药理学与分子对接、动物实验验证探究四物汤调节免疫功能的雌激素样效应及机制[J/OL]. *环球中医药*, 2025-12-02. [Jiang XQ, Wang CH, Wei DS, et al. Exploring the estrogen like effects and mechanisms of Siwu decoction in regulating immune function based on network pharmacology, molecular docking, and animal experimental validation [J/OL]. *Global Traditional Chinese Medicine*, 2025-12-02.] <https://link.cnki.net/urlid/11.5652.R.20260105.1716.004>.

收稿日期: 2025 年 11 月 07 日 修回日期: 2025 年 12 月 15 日
本文编辑: 马琳璐 钟巧妮