

基于网络药理学与分子对接探究小茴香治疗肝细胞癌的分子机制



邓夏颖¹, 赵相轩^{1, 2}

1. 辽宁中医药大学药学院 (大连 116600)
2. 辽宁中医药大学实验动物医学院 (沈阳 110847)

【摘要】目的 运用网络药理学预测小茴香抗肝细胞癌的潜在作用机制。方法 梳理小茴香中具有抗肝细胞癌潜力的活性成分, 采用网络药理学方法, 通过活性成分筛选 (口服生物利用度 $\geq 30\%$, 类药性 ≥ 0.18)、多数据库 (TCMSP 和 HERB) 靶点预测、蛋白质-蛋白质互作 (PPI) 网络构建、GO/KEGG 富集分析及分子对接验证, 构建“药物-成分-靶点-通路-疾病”多维网络。结果 共筛选出 19 个潜在活性成分, 对应 140 个肝细胞癌交集靶点; PPI 网络分析获得酪氨酸激酶 (SRC)、丝/苏氨酸蛋白激酶 1 (AKT1)、表皮生长因子受体 (EGFR) 等 14 个核心靶点。富集分析揭示这些靶点显著富集于 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药、癌症中的中央碳代谢等信号通路。分子对接显示核心成分 (如芹菜脑、伞形花内酯) 与关键靶点具有较好的结合活性。药代动力学与毒性预测提示多数成分具有良好的口服吸收潜力与代谢安全性。结论 本研究初步揭示了小茴香通过多成分、多靶点、多通路协同发挥抗肝细胞癌作用的潜在机制, 为其后续深度开发提供了理论依据与研究方向。

【关键词】小茴香; 网络药理学; 网络靶标; 肝细胞癌; 作用机制; 分子对接; 靶向治疗; 天然产物

【中图分类号】 R285

【文献标识码】 A

Integrating network pharmacology and molecular docking to elucidate the therapeutic mechanisms of *Foeniculum vulgare* against hepatocellular carcinoma

DENG Xiaying¹, ZHAO Xiangxuan^{1,2}

1. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600 110847, China

2. College of Laboratory Animal Medicine, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China

Corresponding author: ZHAO Xiangxuan, Email: xiangxuanzhao@163.com

【Abstract】Objective To predict the underlying mechanisms of *Foeniculum vulgare* against hepatocellular carcinoma (HCC) using an integrated network pharmacology approach. Methods Active constituents of *Foeniculum vulgare* with reported anti-HCC activity were first identified. Subsequently, a network pharmacology framework was applied, involving the screening of bioactive compounds (oral bioavailability $\geq 30\%$, drug-likeness ≥ 0.18), target prediction from multiple databases (TCMSP and HERB), construction of a protein-protein interaction (PPI) network, GO and KEGG enrichment analysis, and validation via molecular docking. A multidimensional “herb-compound-target-pathway-

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202512059

基金项目: 辽宁省教育厅自然科学类高校基本科研项目 (LJ212510162011)

通信作者: 赵相轩, 博士, 教授, 博士研究生导师, Email: xiangxuanzhao@163.com

<https://yxqy.whuzhmedj.com>

disease” network was thereby established. **Results** 19 candidate bioactive compounds were screened, corresponding to 140 potential HCC-related targets. PPI analysis identified 14 hub targets, including tyrosine kinase (SRC), AKT serine/threonine kinase 1 (AKT1), and epidermal growth factor receptor (EGFR). Enrichment analysis revealed significant associations with key oncogenic pathways, such as EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance and central carbon metabolism in cancer. Molecular docking indicated strong binding affinities between core compounds (e.g., apiole, umbelliferone) and key targets. ADMET profiling suggested that most compounds exhibit favorable pharmacokinetic profiles, including promising oral bioavailability and metabolic stability. **Conclusion** This integrative study elucidates a potential multi-compound, multi-target, and multi-pathway mechanism underlying the anti-HCC effects of *Foeniculum vulgare*, providing a theoretical foundation and strategic direction for its further development as a candidate therapeutic agent.

【Keywords】 *Foeniculum vulgare*; Network pharmacology; Network targets; Hepatocellular carcinoma; Mechanism of action; Molecular docking; Targeted therapy; Natural products

小茴香为伞形科植物茴香 (*Foeniculum vulgare* Mill.) 的干燥成熟果实, 始载于《唐本草》, 又名“土茴香”或“谷香”^[1]。茴香入药历史悠久, 最早见于《药性论》, 并在《新修本草》《本草纲目》等典籍中均有记载^[2]; 其味辛性温, 归肝、肾、胃经, 具有散寒止痛、理气和胃之功效, 常用于寒疝腹痛、痛经及脘腹胀痛等^[1]。小茴香为多种经典方剂的重要组成部分, 《中国药典(2025年版)》^[1] 收载含小茴香的成方制剂达 22 种, 包括少腹逐瘀丸、十滴水软胶囊、千金止带丸等。此外, 小茴香兼具药食两用价值, 广泛应用于食品、医药及化妆品领域^[3]。化学成分研究表明, 小茴香富含挥发油、脂肪油、氨基酸及甾醇等活性成分, 并具有抗菌、抗炎、抗氧化及保肝等多种药理作用^[4]。

我国为肝癌高发国家之一, 其中肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 约占原发性肝癌的 75%~85%。由于 HCC 起病隐匿且早期症状不典型, 多数患者确诊时已处于中晚期, 仅不足 30% 的患者可接受根治性治疗, 整体预后较差, 中晚期患者 5 年生存率不足 10%^[5]。近年来, 多种药用植物提取物因其多靶点作用及低毒副作用在抗 HCC 研究中受到关注^[6]。研究表明, 小茴香提取物对多种肿瘤具有抑制增殖和诱导凋亡的作用^[7-8]。在肝癌研究中, 其甲醇提取物对 HepG2 细胞具有显著细胞毒性, 并可通过调节氧化应激水平 (降低丙二醛、提高谷胱甘肽及过氧化氢酶活性) 发挥抗肿瘤作用^[9]; 其精油亦可诱导 HepG2 细胞发生剂量依赖性凋亡^[10]。动物实验进一步证实, 小茴香乙醇提取物可抑制 HCC 细胞活力、阻滞迁移并诱导凋亡, 其机制可能与下调 survivin 表达及激活半胱氨

酸蛋白酶-3 依赖性通路有关^[11]。此外, 小茴香还可减轻环磷酰胺所致肝毒性, 具有一定的肝保护作用^[12]。总体而言, 小茴香抗 HCC 作用呈现多成分、多靶点及多通路特征, 但其关键活性成分及分子机制仍有待深入阐明。

基于此, 本研究拟采用网络药理学与分子对接方法, 整合成分筛选、靶点预测及通路分析等手段, 系统揭示小茴香抗 HCC 的潜在活性成分及其分子作用网络, 为其进一步开发为安全有效的抗肝癌候选药物提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 小茴香活性成分及作用靶点信息的收集

在中药系统药理学分析平台 (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TC MSP) 数据库 (<https://www.tcmsp-e.com>) 检索小茴香活性成分, 规定口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 且类药性 (drug likeness, DL) ≥ 0.18 筛选活性成分; HERB (A High-throughput Experiment- and Reference-guided Database of Traditional Chinese Medicine) 数据库 (<http://herb.ac.cn/>) 按 Lipinski 五原则, 以分子量 (molecular weight, MW) ≤ 500 Da、 $\text{miLogP} \leq 5$ 、 $\text{nOHNH} \leq 5$ 、 $\text{nOH} \leq 10$ 进行筛选, 合并去重后得到活性成分, 并利用 SwissADME 在线工具 (<https://swissadme.ch/>) 进一步筛选。随后利用 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取成分的结构文件, 保存为“SDF”格式。将各结构文件上传至 SwissTargetPrediction 平台 ([<https://yxqy.whuzhmedj.com>](http://</p></div><div data-bbox=)

swisstargetprediction.ch/), 检索活性成分靶点 (probability>0), 获得小茴香活性成分对应靶点。

1.2 HCC疾病靶点的获取

以“Hepatocellular Carcinoma”或“HCC”为关键词在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、毒理学数据库 (Comparative Toxicogenomics Database, CTD, <http://ctdbase.Org>)、药物靶标数据库 (Therapeutic Target Database, TTD, <https://db.idrblab.net/ttd/>) 以及在线人类孟德尔遗传 (Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM) 数据库 (<https://www.omim.org/>) 中进行检索, 搜索人类疾病相关靶点。合并各数据库检索结果, 去除重复靶点后建立 HCC 疾病靶点数据集。

1.3 小茴香治疗HCC潜在靶点筛选

使用微生信绘制工具 (<http://www.bioinformatics.com.cn>) 可视化活性化合物与 HCC 的交集靶点, 导出作为小茴香治疗 HCC 的潜在靶点。

1.4 药物-化合物-靶点-疾病网络的构建

将交集靶点及对应化合物信息导入 Cytoscape 3.7.0 软件, 构建“药物-化合物-靶点-疾病”相互作用网络。利用网络拓扑分析功能, 以度 (degree) 值为主要指标筛选关键化合物节点。

1.5 蛋白质-蛋白质互作网络与关键靶点

将交集靶点提交至 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>), 构建蛋白质-蛋白质互作 (protein-protein interaction, PPI) 网络。设置物种为“Homo sapiens”, 最小相互作用阈值设为中等置信度 (medium confidence, >0.700)。将 PPI 网络导入 Cytoscape 3.7.0 软件, 采用 CytoNCA 插件进行拓扑分析, 以度中心性 (degree centrality)、介数中心性 (betweenness centrality)、接近中心性 (closeness centrality)、特征向量中心性 (eigenvector centrality)、局部平均连通性 (local average connectivity) 和网络中心性 (network centrality) 6 种参数进行综合评价。以各参数中位值为阈值进行两轮筛选, 获得核心靶点。

1.6 GO与KEGG富集分析

将小茴香治疗 HCC 关键靶点导入 Metascape 在线分析平台 (<http://metascape.org>) 进行 GO 功能注释与 KEGG 通路富集分析。GO 分析包括 3 个部分: 生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF), 分析设定物种为“Homo

sapiens”, 并采用默认参数。选取排名前 10 的 BP、CC、MF 条目及排名前 20 的 KEGG 通路, 利用微生信在线平台进行可视化分析。

1.7 分子对接验证

在 PubChem 数据库中下载活性成分二维结构的 pdb 格式文件, 利用 Chem3D 软件中最小能量优化分子, 转化为 mol2 格式的文件。从蛋白质结构数据库 (Protein Data Bank, PDB, <https://www.rcsb.org/>) 下载靶点蛋白的三维结构, 并利用 PyMol 软件去除水分子和配体。通过 AutoDock Vina 软件进行分子对接, 计算结合能, 结合能越低表示配体与受体结合越稳定。同时, 选取与核心靶点对应的已知临床抑制剂作为阳性对照进行对比验证。采用 PLIP (Protein-Ligand Interaction Profiler) [13] 工具分析蛋白-配体间的氢键、疏水作用等关键相互作用, 并使用 PyMol 软件对对接结果进行可视化。

1.8 药代动力学与毒性预测

采用 SwissADME 平台对核心活性成分进行药代动力学与毒性 [即吸收、分布、代谢、排泄和毒性 (absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity, ADMET)] 预测, 评估其口服吸收、血脑屏障透过性、P-糖蛋白底物特性、细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP) 酶抑制潜力及药物相似性等指标。

2 结果

2.1 小茴香活性成分和靶点的筛选

通过 TCMSp 和 HERB 数据库检索并结合 OB \geq 30%、DL \geq 0.18 及 Lipinski 规则筛选, 经 SwissADME 平台进一步验证后, 最终获得 19 个小茴香潜在活性成分。经 SwissTargetPrediction 数据库筛选得到 338 个作用靶点。

2.2 HCC基因靶点的筛选

从 GeneCards、CTD、TTD 及 OMIM 数据库中检索合并去重后, 共获得 2 596 个 HCC 相关疾病靶点。

2.3 小茴香活性成分与HCC交集靶点

将小茴香活性成分靶点与 HCC 基因靶点导入微生信平台, 得到 140 个交集靶点 (图 1)。

2.4 药物-化合物-靶点-疾病网络的构建与分析

将小茴香治疗 HCC 的交集靶点与药物化合物、疾病信息一同导入 Cytoscape, 构建“药物-化合物-靶点-疾病”网络, 共获得 159 个节点, 439

条边，每条边代表小茴香与活性化合物、活性化合物与靶点以及靶点与 HCC 之间的关系。在网络中，degree 值代表连接到节点的边数（图 2）。通过网络拓扑分析，以 degree 值为指标筛选关键化合物，其中 degree 值排名前 7 的化合物分别为芹菜脑（degree 值为 46）、伞形花内酯（degree 值为 37）、欧前胡素（degree 值为 31）、阿米丁（degree 值为 31）、佛手柑内酯（degree 值为 20）、藜本内酯（degree 值为 20）和茴香脑（degree 值为 17），这些化合物可能在网络中发挥关键作用。

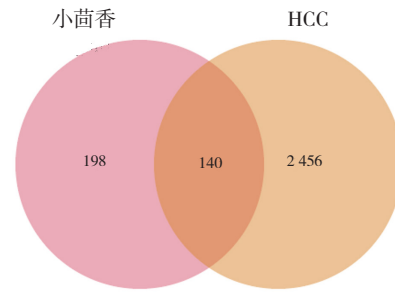


图1 小茴香与HCC交集靶点维恩图
Figure 1. Venn diagram of overlapping targets between *Foeniculum vulgare* and HCC

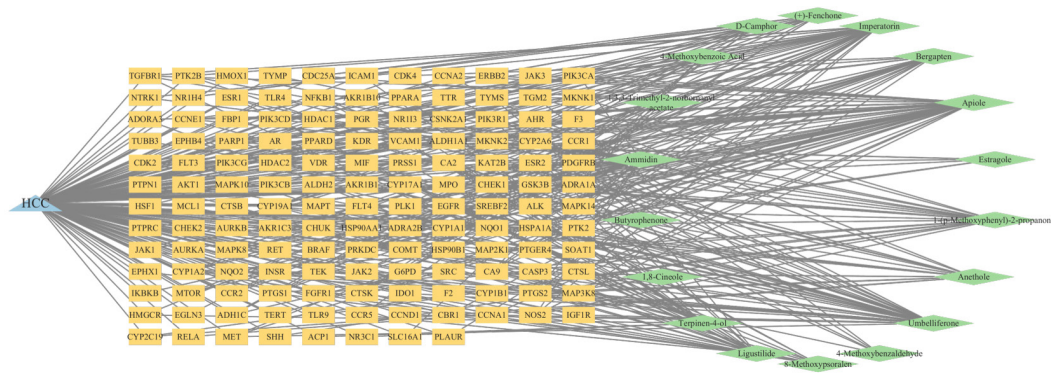


图2 小茴香-化合物-靶点-HCC网络图
Figure 2. Network diagram of *Foeniculum vulgare*-compound-target-HCC

2.5 PPI网络构建与关键靶点的筛选

将 140 个交集靶点提交至 STRING 平台构建 PPI 网络（图 3）。利用 CytoNCA 插件进行拓扑分析，以 6 种拓扑参数的中位值为阈值进行两轮筛选，最终获得 14 个核心靶点，包括哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin, mTOR）、ErbB2受体酪氨酸激酶 2（erb-b2 receptor tyrosine kinase 2, ERBB2）、孕激素受体（progesterone receptor, PGR）、Janus 激酶 2（janus kinase 2, JAK2）、细胞周期蛋白 D1（cyclin D1, CCND1）、热休克蛋白 90α 家族 A 类成员 1（heat shock protein 90 alpha family class A member 1, HSP90AA1）、核因子 κB 亚基 1（nuclear factor kappa B subunit 1, NFKB1）、Toll 样受体 4（Toll like receptor 4, TLR4）、酪氨酸激酶（non-receptor tyrosine kinase, SRC）、丝/苏氨酸蛋白激酶 1（AKT serine/threonine kinase 1, AKT1）、雌激素受体 1（estrogen receptor 1, ESR1）、磷脂酰肌醇-3-激酶调节亚基 1（phosphoinositide-3-kinase regulatory subunit 1, PIK3R1）、表皮生长因子

受体（epidermal growth factor receptor, EGFR）以及磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α（phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha, PIK3CA）（图 4 和表 1）。

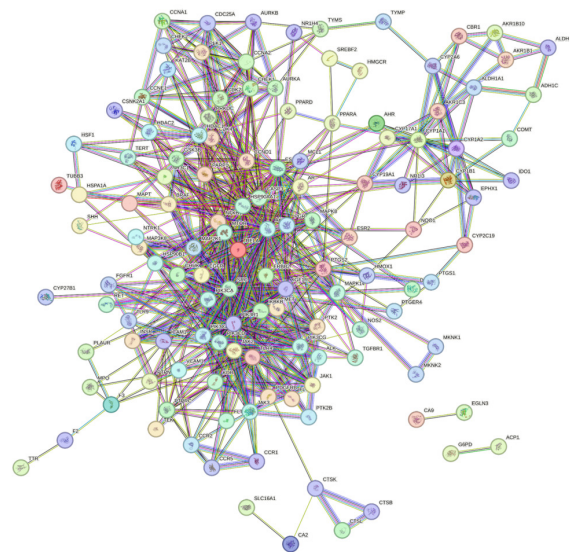


图3 PPI网络图
Figure 3. PPI network diagram

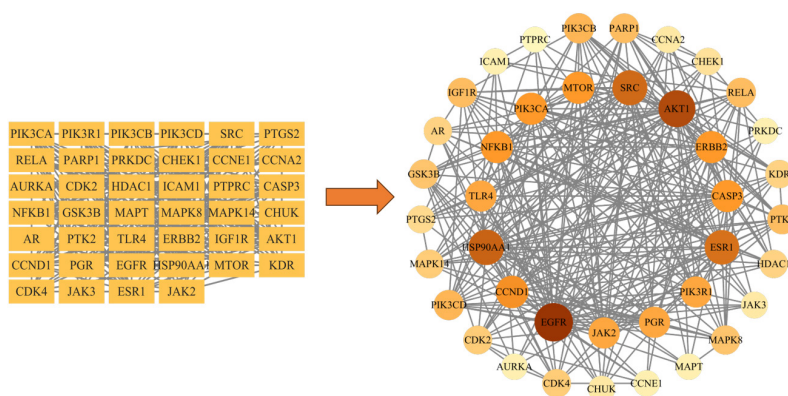


图4 核心靶点PPI网络图

Figure 4. PPI network diagram of core targets

表1 核心靶点的特征

Table 1. Characteristics of core targets

靶点	degree值	betweenness centrality
EGFR	32	189.919 70
AKT1	29	129.974 40
HSP90AA1	26	92.310 15
SRC	25	53.071 52
ESR1	24	73.923 35
CCND1	20	35.756 21
mTOR	19	36.029 65
ERBB2	19	26.838 30
NFKB1	19	49.658 30
PIK3CA	19	25.861 43
PGR	17	24.688 97
JAK2	17	17.337 90
TLR4	17	32.614 90
PIK3R1	17	9.954 36

分析，共得到 155 条通路，按 *P* 值分析排名前 20 的通路，可视化结果见图 6。其中富集最显著的通路包括癌症中的中央碳代谢（central carbon metabolism in cancer）、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药（EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance）等。

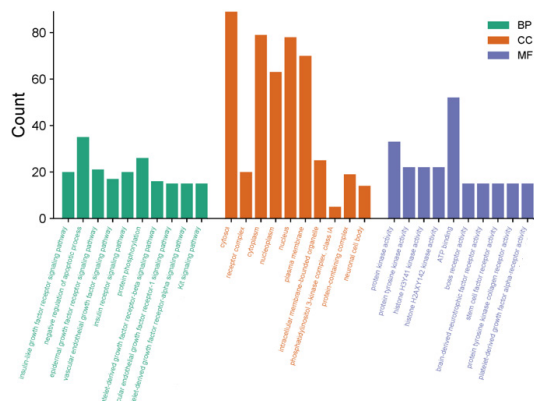


图5 GO富集分析

Figure 5. GO enrichment analysis

2.6 GO与KEGG富集分析结果

2.6.1 GO富集分析

GO 富集分析共富集到 821 个 GO 条目，包括 550 个 BP、83 个 CC 和 188 个 MF 条目。按 *P* 值排名前 10 的 BP、CC 和 MF 条目共 30 个，利用微生信绘图，具体见图 5。GO 富集分析显示，小茴香参与抗 HCC 的 BP 有胰岛素样生长因子受体信号通路（insulin-like growth factor receptor signaling pathway）、细胞凋亡过程的负调控（negative regulation of apoptotic process）、EGFR 信号通路（signaling pathway）等；CC 有细胞质溶胶（cytosol）、受体复合物（receptor complex）、细胞质（cytoplasm）等；MF 有蛋白激酶活性（protein kinase activity）、蛋白酪氨酸激酶活性（protein tyrosine kinase activity）、组蛋白 H3Y41 激酶活性（histone H3Y41 kinase activity）等。

2.6.2 KEGG富集分析

通过 Metascape 在线分析平台进行 KEGG

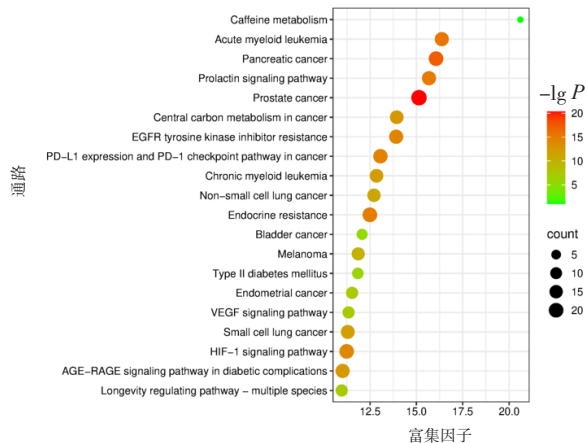


图6 KEGG富集分析

Figure 6. KEGG enrichment analysis

2.7 分子对接

基于网络药理拓扑分析,以 degree 值作为衡量成分的核心指标。选取 degree 值最高的 3 个成分:芹菜脑、伞形花内酯、欧前胡素。其次,考虑到茴香脑作为小茴香中含量最高的活性成分,且具有大量独立抗 HCC 的研究证据,因此纳入。根据 degree 值与 betweenness centrality,选取 degree 值大于 20 的 6 个核心靶点:EGFR、AKT1、HSP90AA1、SRC、ESR1、

CCND1,同时考虑到小茴香中的活性成分可能通过作用于 PIK3CA、mTOR 等靶点抑制 PI3K-AKT 通路的活化,而 PI3K-AKT 通路作为细胞内重要的促生存信号通路,在 HCC 中常被异常激活^[14-20],因此将其纳入。

分子对接结果显示,小茴香核心活性成分与关键靶点具有较强的结合亲和力(表 2)。选取每种配体与蛋白复合物结合能排名前 3 进行绘图(图 7)。

表2 分子对接结合能 (kcal/mol)

Table 2. Molecular docking binding energy (kcal/mol)

靶点	芹菜脑	伞形花内酯	欧前胡素	茴香脑
EGFR	-5.4	-5.8	-6.9	-4.9
AKT1	-4.7	-5.5	-6.8	-4.7
HSP90AA1	-5.8	-6.0	-7.4	-4.9
SRC	-5.3	-6.4	-7.3	-4.8
ESR1	-6.0	-6.9	-8.2	-5.7
CCND1	-6.1	-6.6	-7.8	-5.5
mTOR	-5.4	-5.8	-7.4	-5.1
PIK3CA	-4.6	-5.1	-5.6	-4.2

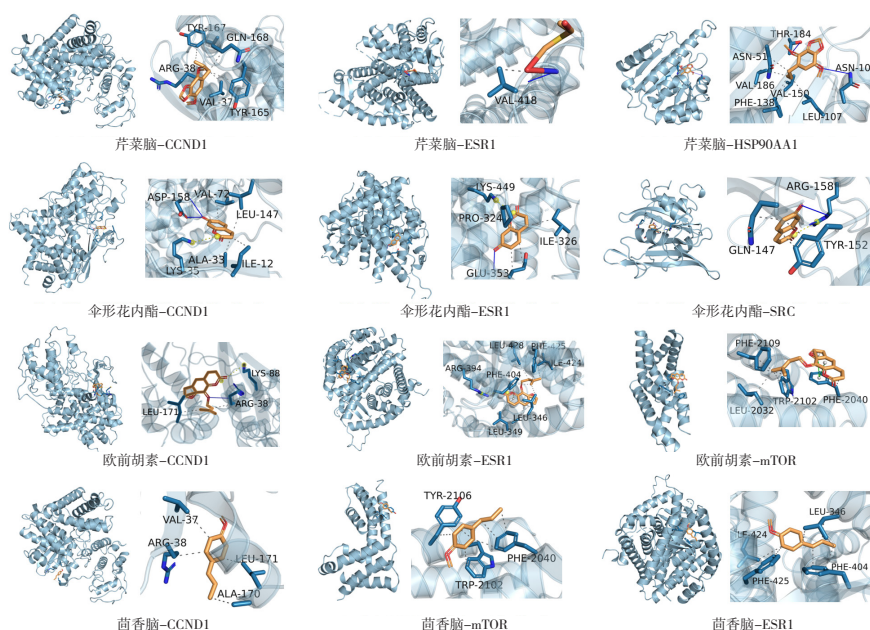


图7 重要化合物与选定靶点的分子对接可视化图

Figure 7. Molecular docking visualization diagram of important compounds with selected targets

同时本研究选取了与核心靶点相关、具有明确高亲和力的已知商业售卖的核心靶点抑制剂作为阳性对照。鉴于 CCND1 通过形成 CCND1-CDK4/6 复合物驱动细胞周期,选用 CDK4/6 抑制剂帕博西尼 (palbociclib) 作为芹菜脑、伞形花内酯、欧前胡素、茴香脑与 CCND1 结合的阳性对照^[21]; ESR1 抑制剂氟维司群 (fulvestrant) 作为芹菜脑、伞形花内

酯、欧前胡素、茴香脑与 ESR1 结合的阳性对照^[22]; HSP90AA1 抑制剂格尔德霉素 (geldanamycin) 作为芹菜脑与 HSP90AA1 结合的阳性对照^[23]; mTOR 抑制剂雷帕霉素 (rapamycin) 作为茴香脑、欧前胡素与 mTOR 结合的阳性对照^[24]; SRC 抑制剂达沙替尼 (dasatinib) 作为伞形花内酯与 SRC 结合的阳性对照^[25]。具体结合能数据见表 3。

表3 阳性对照分子结合能 (kcal/mol)

Table 3. Molecular docking binding energy of positive controls (kcal/mol)

靶点	阳性对照药物	结合能
CCND1	帕博西尼	-7.8
ESR1	氟维司群	-9.1
HSP90AA1	格尔德霉素	-6.7
mTOR	雷帕霉素	-9.1
SRC	达沙替尼	-8.7

2.8 ADMET预测

ADMET 预测结果显示 (表 4) , 小茴香按 degree 值排名前 7 的活性成分均表现出良好的口服吸收潜力和体内分布特性。均符合 Lipinski、Veber 和 Egan 规则, 展现了其具有理

想的口服药物分子物理化学性质。在吸收与分布方面, 所有成分均被预测为胃肠道高吸收、可透过血脑屏障且非 P-糖蛋白底物, 体现其具备良好的口服生物利用潜力、中枢神经系统作用及在体内的有效滞留。在代谢与相互作用方面, 均表现出低代谢干扰风险, 但同时又有一定风险差异性, 如欧前胡素与阿米丁被预测能抑制 CYP2C9 与 CYP2C19, 体现其代谢干扰风险相对更高; 而芹菜脑、伞形花内酯、佛手柑内酯、藜本内酯及茴香脑仅对 CYP1A2 显示抑制活性, 对 CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及 CYP3A4 均无抑制, 展现了更优的代谢安全性基础。

表4 重要化合物的ADMET分析

Table 4. ADMET analysis of important compounds

参数名称	芹菜脑	伞形花内酯	欧前胡素	阿米丁	佛手柑内酯	藜本内酯	茴香脑
胃肠道吸收	High	High	High	High	High	High	High
血脑屏障通透性	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
P-糖蛋白底物	No	No	No	No	No	Yes	No
Lipinski规则	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Ghose规则	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Veber规则	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Egan规则	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Muegge规则	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
生物利用度评分	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
CYP1A2抑制剂	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
CYP2C19抑制剂	No	No	Yes	Yes	No	No	No
CYP2C9抑制剂	No	No	Yes	Yes	No	No	No
CYP2D6抑制剂	No	No	No	No	No	No	No
CYP3A4抑制剂	No	No	No	No	No	No	No

注: High: 高; Yes: 是; No: 否。

3 讨论

当前, 世界范围内肝癌新发病例约有 50% 分布在中国, 是我国人民健康面临的一大挑战。小茴香作为药食同源性调味品, 已被证实对包括肝癌在内的多种恶性肿瘤具有显著抑制效果。对于这种与人们饮食朝夕相伴的中药对肝脏健康的影响以及抗肝癌作用处于相对零碎的片段式研究。本文拟通过网络药理学、分子对接和分子动力模拟等方法初步建立小茴香化合物与肝癌蛋白网络之间的映射关系图谱。通过与现有的被实验证实了的化合物 (阳性对照) 作对比, 找到最有潜力的候选化合物和靶向分子。

3.1 抗肝癌化合物和靶点

本研究共筛选出 19 个具有良好药代动力学特性的活性化学成分, 将这些成分的潜在作用蛋白与

HCC 疾病分子取交集后, 获得 140 个共同靶点, 显示出小茴香抗肝癌作用的网络多靶点特性。进一步的 PPI 分析使用 6 种拓扑参数进行两次筛选, 最终确定了 mTOR、ERBB2、PGR、JAK2、CCND1、HSP90AA1、NFKB1、TLR4、SRC、AKT1、ESR1、PIK3R1、EGFR 以及 PIK3CA 这 14 个核心靶点。这些靶点在网络中具有高度关联性, 显示了其在小茴香抗肝癌功效中可能发挥重要的整合性调控功能。

同时, 进一步对所筛选出的 19 个活性成分进行网络拓扑分析, 识别出以芹菜脑、伞形花内酯、欧前胡素、茴香脑为代表的核心化合物组。芹菜脑作为苯丙素衍生物, 有研究发现其对结肠癌具有促凋亡机制^[26]。通过对芹菜脑进行化学结构改造得到衍生物 AP-02, 其在抗癌活性和选择性上均得到显著提升, 初步筛选显示 AP-02 对包括肝癌细胞在内的多种癌细胞活力均有显著抑制

活性^[27]。茴香脑同为苯丙素类衍生物，也显示出显著的抗肝癌活性，相关研究显示其可通过激活线粒体介导的凋亡途径诱导人肝癌细胞凋亡^[28]。伞形花内酯作为一种天然香豆素，具有抗炎、抗肿瘤等生物活性。包裹有伞形花内酯的纳米粒子具有明显的抗炎、抗癌效果^[29]。欧前胡素作为一种天然呋喃香豆素，具有多种药理活性，包括抗癌、神经保护、抗炎等。一项研究显示，欧前胡素可选择性地抑制体外和体内信号转导和转录激活因子3的磷酸化，从而有效缓解癌症恶病质导致的骨骼肌萎缩，展现了其在癌症辅助治疗中的重要潜力^[30]。综上所述，这些成分共同构成了一个多靶点协同的作用网络，展现了良好的基础研究与转化应用前景。

3.2 抗肝癌作用信号通路

基于前述网络拓扑分析筛选出的14个核心靶点，GO与KEGG富集分析进一步揭示了小茴香潜在抗肝癌作用所关联的BP与信号通路网络，这些通路已知的肝癌发生发展机制较高度吻合，并为后续分子对接验证提供了关键的理论背景。

为深入解析其核心机制，对相关通路进行分析，发现多个通路代谢密切相关，例如咖啡因代谢、癌症中的中央碳代谢等，这些通路揭示了小茴香抗肝癌可能与调控代谢有关。值得注意的是，相关流行病学研究表明，经常饮用咖啡可降低患肝病的风险，延缓肝纤维化、肝硬化、HCC的进展^[31]。在中央碳代谢中，有氧糖酵解作为其核心环节，最早在HCC中发现，是肝癌的标志物，负责调节HCC的增殖、免疫逃避、侵袭、转移、血管生成和耐药性^[32]；此外，还包括多个信号转导通路，其中EGFR酪氨酸激酶抑制剂耐药通路尤其值得关注，近几年相关研究显示，在肝癌中，多激酶抑制剂乐伐替尼会因抑制EGFR而引发EGFR-P21激活激酶2-细胞外信号调节激酶5信号轴的反馈性激活，联合使用EGFR抑制剂可阻断此通路，产生“合成致死”效应，在临床模型及晚期HCC患者中显示出强大的抗肿瘤潜力^[33]；同时，富集到胰腺癌、前列腺癌、非小细胞肺癌等疾病通路可以体现小茴香调控的靶点为多种癌症共通。

结合网络拓扑分析筛选出的核心化合物芹菜脑、伞形花内酯、欧前胡素及茴香脑，这些成分很可能通过作用于上述通路，协同调控肿瘤细胞

的增殖、凋亡、代谢及耐药性网络，从而发挥多靶点抗肝癌效应。

3.3 分子对接验证

分子对接结果表明，核心活性成分与关键靶点表现出较好的结合亲和力，初步验证了网络预测结果的可靠性。其中欧前胡素与ESR1的结合能最低（-8.2 kcal/mol），表明其可能具有最强的结合稳定性与潜在生物活性。需要特别指出的是，这是首次通过分子对接计算预测到欧前胡素与ESR1蛋白之间存在较强的直接结合作用。这一新发现的相互作用为小茴香抗肝癌的作用机制提供了一个全新的潜在视角。ESR1作为核受体超家族中的关键成员，在多种激素依赖性癌症（如乳腺癌、宫颈癌、肝癌等）中，其信号通路的异常激活是驱动肿瘤发生与发展的重要机制。例如，ESR1在人HCC中丢失或减弱，表明雌激素信号在HCC中有潜在保护作用，而雌激素信号缺陷可能导致HCC^[34]。因此，本研究所预测的欧前胡素与ESR1的强结合，为通过干预雌激素相关信号通路抑制HCC提供了分子层面的依据。此外，欧前胡素与CCND1的结合能也较低（-7.8 kcal/mol），表明其可能通过调控细胞周期相关靶点发挥抗增殖作用。CCND1作为细胞周期G1/S期转换的核心调控蛋白，其异常积累可显著促进肝癌细胞增殖与迁移。研究表明，E3泛素连接酶能够直接结合CCND1，并通过K63连接的多泛素化修饰增强CCND1的稳定性，抑制其经蛋白酶体途径的降解，从而导致CCND1在肝癌细胞内异常积累^[35]。该结果显示欧前胡素可能通过直接作用于CCND1，干扰其功能或稳定性，进而将肝癌细胞阻滞于G1期，发挥抗增殖作用。伞形花内酯与ESR1（-6.9 kcal/mol）及CCND1（-6.4 kcal/mol）也展现出较强结合，展现该成分可能通过干预雌激素相关信号通路或CCND1驱动的细胞周期进展，从而发挥抑制肝癌细胞的潜在作用。芹菜脑与各靶点结合能相对前两者较低（与CCND1为-6.1 kcal/mol，ESR1为-6.0 kcal/mol），然而其在网络中具有最高的连接度（degree值为46），体现其可能通过多靶点相互作用协同调控网络。茴香脑与CCND1、ESR1等靶点的结合能虽略低于其他成分，但其作为小茴香挥发油中最主要的成分之一，现代药理学研究表明，其可通过多种机制发挥抗癌作用，

包括诱导细胞凋亡、导致细胞周期停滞、抑制细胞增殖与血管生成,体外与体内实验证实,其对肝癌、乳腺癌、前列腺癌、肺癌及结直肠癌等多种恶性肿瘤均显示出抑制作用^[36]。

为进一步验证小茴香核心活性成分与关键靶点结合能力的可靠性,本研究引入了与核心靶点相关的临床已知抑制剂作为阳性对照进行比较。阳性对照的选择基于其与靶点之间已明确的高亲和力及临床应用的可靠性。对接结果显示,阳性对照与对应靶点均表现出较强的结合亲和力,其中氟维司群与 ESR1 (-9.1 kcal/mol) 及雷帕霉素与 mTOR (-9.1 kcal/mol) 的结合能尤为突出,反映了这些临床抑制剂在结构优化后所具有的高效靶向能力。相比之下,小茴香的活性成分如欧前胡素与 ESR1 的结合能为 -8.2 kcal/mol,虽略高于氟维司群,但仍显示出较强的结合潜力;同样,欧前胡素与 CCND1 的结合能 (-7.8 kcal/mol) 与帕博西尼 (-7.8 kcal/mol) 持平,提示其可能具备类似的细胞周期调控潜力。此外,伞形花内酯与 SRC 的结合能 (-6.4 kcal/mol) 虽低于达沙替尼,但仍处生物活性的范围 (<-5 kcal/mol)。特别指出的是,对接结果显示,伞形花内酯与 SRC 蛋白的 3 个关键结合残基在 SRC 与阳性对照达沙替尼的结合模式中均出现,表明两者在 SRC 中可能共享部分结合位点。这一发现显示伞形花内酯具备成为 SRC 天然抑制剂的结构基础。

3.4 ADMET预测与成药性评估

ADMET 预测分析从成药性角度评估了这些活性成分的开发潜力。结果显示,多数核心成分具有较好的口服吸收性、血脑屏障穿透潜力,且 CYP2C9、CYP2D、CYP3A4 的抑制风险较低,展现较低的代谢药物相互作用风险和良好的体内处置特性。这些预测结果为后续的活性成分结构优化、剂型设计及临床前药代动力学研究提供了关键信息。

3.5 小结

本研究构建的“药物-成分-靶点-通路-疾病”多维网络,为小茴香抗肝癌的系统生物学机制提供了理论框架,也为后续针对肝癌的天然药物研发与膳食辅助策略奠定了预测性基础。未来仍需通过体外与体内实验进一步验证关键成分的药效与机制,并对其安全性、有效性及协同效应开展深入研究,以推动小茴香在肝癌防治中的转化应用。

参考文献

- 1 中国药典 2025 版.一部[S]. 2025: 50.
- 2 彭成,主编.中华道地药材[M].北京:中国中医药出版社, 2011: 4030.
- 3 付起凤,张艳丽,许树军,等.小茴香化学成分及药理作用的研究进展[J].中医药信息,2008,25(5): 24-26. [Fu QF, Zhang YL, Xu SJ, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Foeniculum vulgare*[J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2008, 25(5): 24-26.] DOI: 10.19656/j.cnki.1002-2406.2008.05.011.
- 4 Rafieian F, Amani R, Rezaei A, et al. Exploring fennel (*Foeniculum vulgare*): composition, functional properties, potential health benefits, and safety[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2024, 64(20): 6924-6941. DOI: 10.1080/10408398.2023.2176817.
- 5 Wang Y, Deng B. Hepatocellular carcinoma: molecular mechanism, targeted therapy, and biomarkers[J]. Cancer Metastasis Rev, 2023, 42(3): 629-652. DOI: 10.1007/s10555-023-10084-4.
- 6 Nooreen Z, Harer S, Rai AK, et al. An insight into research advances on herbal and phytochemical approaches to the management of hepatocellular carcinoma from January 2020 to July 2024[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2025, 25(15): 1049-1076. DOI: 10.2174/0118715206348951241120120918.
- 7 Elkady AI. Anethole Inhibits the proliferation of human prostate cancer cells via induction of cell cycle arrest and apoptosis[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2018, 18(2): 216-236. DOI: 10.2174/1871520617666170725165717.
- 8 Mehralikhani A, Movahedi M, Larypoor M, et al. Evaluation of the effect of *foeniculum vulgare* on the expression of E-Cadherin, dysadherin and Ki-67 in BALB/C mice with 4T1 model of breast cancer[J]. Nutr Cancer, 2021, 73(2): 318-328. DOI: 10.1080/01635581.2020.1746365.
- 9 Mohamad RH, El-Bastawesy AM, Abdel-Monem MG, et al. Antioxidant and anticarcinogenic effects of methanolic extract and volatile oil of fennel seeds (*Foeniculum vulgare*)[J]. J Med Food, 2011, 14(9): 986-1001. DOI: 10.1089/jmf.2008.0255.
- 10 Levorato S, Dominici L, Fatigoni C, et al. *In vitro* toxicity evaluation of estragole-containing preparations derived from *Foeniculum vulgare* Mill. (fennel) on HepG2 cells[J]. Food Chem Toxicol, 2018, 111(1): 616-622. DOI: 10.1016/j.fct.2017.12.014.
- 11 Ke W, Wang H, Zhao X, et al. *Foeniculum vulgare* seed extract exerts anti-cancer effects on hepatocellular carcinoma[J]. Food Funct, 2021, 12(4): 1482-1497. DOI: 10.1039/d0fo02243h.
- 12 Sheweita SA, El-Hosseiny LS, Nashashibi MA. Protective effects of essential oils as natural antioxidants against hepatotoxicity induced by cyclophosphamide in mice[J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0165667. DOI: 10.1371/journal.pone.0165667.
- 13 Schake P, Bolz SN, Linnemann K, et al. PLIP 2025: introducing protein-protein interactions to the protein-ligand interaction profiler[J]. Nucleic Acids Res, 2025, 53(W1): W463-W465. DOI: 10.1093/nar/gkaf361.
- 14 Campani C, Imbeaud S, Couchy G, et al. Circulating tumour DNA in patients with hepatocellular carcinoma across tumour stages and treatments[J]. Gut, 2024, 73(11): 1870-1882. DOI: 10.1136/

- [gutjnl-2024-331956](#).
- 15 Liu W, Zheng L, Zhang R, et al. Circ-ZEB1 promotes PIK3CA expression by silencing miR-199a-3p and affects the proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 72. DOI: [10.1186/s12943-022-01529-5](#).
 - 16 Xiong HJ, Yu HQ, Zhang J, et al. Elevated FBXL6 activates both wild-type KRAS and mutant KRASG12D and drives HCC tumorigenesis via the ERK/mTOR/PRELI2/ROS axis in mice[J]. *Mil Med Res*, 2024, 11(6): 818–838. DOI: [10.1186/s40779-023-00501-8](#).
 - 17 Zhang H, Su X, Burley SK, et al. mTOR regulates aerobic glycolysis through NEAT1 and nuclear paraspeckle-mediated mechanism in hepatocellular carcinoma[J]. *Theranostics*, 2022, 12(7): 3518–3533. DOI: [10.7150/thno.72581](#).
 - 18 Tian LY, Smit DJ, Jücker M. The role of PI3K/AKT/mTOR signaling in hepatocellular carcinoma metabolism[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2652. DOI: [10.3390/ijms24032652](#).
 - 19 Zhou C, Liu C, Liu W, et al. SLFN11 inhibits hepatocellular carcinoma tumorigenesis and metastasis by targeting RPS4X via mTOR pathway[J]. *Theranostics*, 2020, 10(10): 4627–4643. DOI: [10.7150/thno.42869](#).
 - 20 Scheiter A, Evert K, Reibenspies L, et al. RASSF1A independence and early galectin-1 upregulation in PIK3CA-induced hepatocarcinogenesis: new therapeutic venues[J]. *Mol Oncol*, 2022, 16(5): 1091–1118. DOI: [10.1002/1878-0261.13135](#).
 - 21 Ngamphaiboon N, Pattaranutaporn P, Lukerak S, et al. A phase I study of the CDK4/6 inhibitor palbociclib in combination with cetuximab and radiotherapy for locally advanced head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2024, 30(2): 294–303. DOI: [10.1158/1078-0432.Ccr-23-2303](#).
 - 22 Oliveira M, Pominchuk D, Nowecki Z, et al. Camizestrant, a next-generation oral SERD, versus fulvestrant in post-menopausal women with oestrogen receptor-positive, HER2-negative advanced breast cancer (SERENA-2): a multi-dose, open-label, randomised, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2024, 25(11): 1424–1439. DOI: [10.1016/s1470-2045\(24\)00387-5](#).
 - 23 Yin XH, Han YL, Zhuang Y, et al. Geldanamycin inhibits Fas signaling pathway and protects neurons against ischemia[J]. *Neurosci Res*, 2017, 124(1): 33–39. DOI: [10.1016/j.neures.2017.05.003](#).
 - 24 Kezic A, Popovic L, Lalic K. mTOR inhibitor therapy and metabolic consequences: where do we stand?[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 2640342. DOI: [10.1155/2018/2640342](#).
 - 25 Redin E, Garmendia I, Lozano T, et al. SRC family kinase (SFK) inhibitor dasatinib improves the antitumor activity of anti-PD-1 in NSCLC models by inhibiting Treg cell conversion and proliferation[J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(3): e001496. DOI: [10.1136/jitc-2020-001496](#).
 - 26 Wei PL, Tu SH, Lien HM, et al. The *in vivo* antitumor effects on human COLO 205 cancer cells of the 4,7-dimethoxy-5-(2-propen-1-yl)-1,3-benzodioxole (apiole) derivative of 5-substituted 4,7-dimethoxy-5-methyl-1,3-benzodioxole (SY-1) isolated from the fruiting body of *Antrodia camphorate*[J]. *J Cancer Res Ther*, 2012, 8(4): 532–536. DOI: [10.4103/0973-1482.106529](#).
 - 27 Wu KH, Lee WJ, Cheng TC, et al. Study of the antitumor mechanisms of apirole derivatives (AP-02) from *Petroselinum crispum* through induction of G0/G1 phase cell cycle arrest in human COLO 205 cancer cells[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2019, 19(1): 188. DOI: [10.1186/s12906-019-2590-9](#).
 - 28 Harakeh S, Al-Raddadi R, Alamri T, et al. Apoptosis induction in human hepatoma cell line HepG2 cells by trans-anethole via activation of mitochondria-mediated apoptotic pathways[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 165(1): 115236. DOI: [10.1016/j.biopha.2023.115236](#).
 - 29 Kornicka A, Balewski Ł, Lahutta M, et al. Umbelliferone and its synthetic derivatives as suitable molecules for the development of agents with biological activities: a review of their pharmacological and therapeutic potential[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, 16(12): 1732. DOI: [10.3390/ph16121732](#).
 - 30 Chen L, Xu W, Yang Q, et al. Imperatorin alleviates cancer cachexia and prevents muscle wasting via directly inhibiting STAT3[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 158(1): 104871. DOI: [10.1016/j.phrs.2020.104871](#).
 - 31 Vargas-Pozada EE, Ramos-Tovar E, Márquez-Quiroga LV, et al. Coffee for the liver: a mechanistic approach[J]. *Biochem Pharmacol*, 2025, 242(Pt 2): 117338. DOI: [10.1016/j.bcp.2025.117338](#).
 - 32 Feng J, Li J, Wu L, et al. Emerging roles and the regulation of aerobic glycolysis in hepatocellular carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 126. DOI: [10.1186/s13046-020-01629-4](#).
 - 33 Jin H, Shi Y, Lv Y, et al. EGFR activation limits the response of liver cancer to lenvatinib[J]. *Nature*, 2021, 595(7869): 730–734. DOI: [10.1038/s41586-021-03741-7](#).
 - 34 韩潇文. ESR1 和 ACOX2 在肝细胞癌中的表达及其意义 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2021. DOI: [10.26921/d.enki.ganyu.2021.000147](#).
 - 35 Li CM, Zhang J, Wu W, et al. FBXO43 increases CCND1 stability to promote hepatocellular carcinoma cell proliferation and migration[J]. *Front Oncol*, 2023, 13(1): 1138348. DOI: [10.3389/fonc.2023.1138348](#).
 - 36 Raposo A, Raheem D, Zandonadi RP, et al. Anethole in cancer therapy: mechanisms, synergistic potential, and clinical challenges[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 180(1): 117449. DOI: [10.1016/j.biopha.2024.117449](#).

收稿日期: 2025 年 12 月 17 日 修回日期: 2026 年 02 月 27 日
 本文编辑: 马琳璐 李阳