

金花葵抗疲劳作用及基于网络药理学潜在机制的研究



杜军霞^{1,2}, 朱秀敏¹, 刘华梁^{1,2}

1. 邢台学院食品科学与生物工程学院 (河北邢台 054000)
2. 河北省“邢枣仁”利用技术创新中心 (河北邢台 054000)

【摘要】目的 探究金花葵的抗疲劳功效及其潜在作用机制, 为金花葵资源的高值化开发及抗疲劳功能食品的研发提供依据。**方法** 采用昆明小鼠负重游泳力竭实验评价金花葵水提物的抗疲劳活性, 及对小鼠血乳酸、肝糖原及肌糖原含量的影响。基于网络药理学方法筛选金花葵活性成分, 预测其作用靶点, 与疲劳相关靶点取交集后构建蛋白质-蛋白质相互作用网络, 并进行基因本体论功能注释和京都基因与基因组百科全书通路富集分析, 预测其抗疲劳潜在机制。通过分子对接验证核心成分与关键靶点的结合能力。**结果** 研究共纳入32只小鼠, 金花葵水提物可显著延长小鼠负重游泳力竭时间, 降低血乳酸水平, 提高肝糖原与肌糖原含量 ($P < 0.05$)。共筛选得到金花葵15种关键活性成分 (以黄酮类、生物碱及氨基酸衍生物为主) 及13个核心靶点, 主要涉及有氧化电子传递链、无氧糖酵解及炎症反应等生物过程。分子对接结果显示, 白杨素等关键成分与核心靶点具有良好的结合活性。**结论** 金花葵可能通过其黄酮类、生物碱等活性成分, 调控蛋白激酶B α 、热休克蛋白90 α 1等关键靶点及相关通路, 发挥抗疲劳作用。

【关键词】 金花葵; 抗疲劳; 负重游泳实验; 网络药理学; 分子对接; 炎症反应; 蛋白激酶B α ; 热休克蛋白90 α 1

【中图分类号】 R966

【文献标识码】 A

Anti-fatigue effect of *Hibiscus manihot* L. and its potential mechanism based on network pharmacology

DU Junxia^{1,2}, ZHU Xiumin¹, LIU Hualiang^{1,2}

1. School of Food Science and Bioengineering, Xingtai University, Xingtai 054000, Hebei Province, China
 2. Hebei Xingzaoren Utilization Technology Innovation Center, Xingtai 054000, Hebei Province, China
- Corresponding author: DU Junxia, Email: 201420659@xttc.edu.cn

【Abstract】Objective To investigate the anti-fatigue efficacy of *Hibiscus manihot* L. and its potential mechanism, providing scientific basis and data support for the high-value utilization of *Hibiscus manihot* L. resources and the development of anti-fatigue functional foods. **Methods** The anti-fatigue activity of *Hibiscus manihot* L. aqueous extract was evaluated using a weight-loaded forced swimming test in Kunming mice. The levels of blood lactic acid, hepatic glycogen, and muscle glycogen in mice were determined. The components of *Hibiscus manihot* L. were screened

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202603098

基金项目: 中央引导地方科技发展资金项目 (246Z2505G); 河北省重点研发计划项目 (21322902D)

通信作者: 杜军霞, 博士, 副教授, Email: 201420659@xttc.edu.cn

by network pharmacology, and their potential targets were predicted. The intersection of these targets and fatigue-related targets was obtained to construct a protein-protein interaction network. Gene ontology functional annotation and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway enrichment analysis were further performed to explore the potential anti-fatigue mechanism. Molecular docking was performed to verify the binding affinity between core components and key target proteins. **Results** A total of 32 mice were included in this study. The aqueous extract of *Hibiscus manihot* L. significantly prolonged the exhaustive swimming time with load, reduced blood lactic acid levels, and increased the contents of hepatic glycogen and muscle glycogen in mice ($P < 0.05$). A total of 15 key components (mainly flavonoids, alkaloids, and amino acid derivatives) and 13 core targets were identified, which were mainly involved in biological processes such as aerobic oxidation electron chain transport, anaerobic glycolysis, and inflammatory response. Molecular docking results showed that core components such as chrysin had good binding activity with multiple core targets. **Conclusion** *Hibiscus manihot* L. may exert anti-fatigue effects by regulating AKT1, HSP90AA1, and related pathways through flavonoids, alkaloids and other active components.

【Keywords】 *Hibiscus manihot* L.; Anti-fatigue; Weight loaded swimming test; Network pharmacology; Molecular docking; Inflammatory response; AKT1; HSP90AA1

疲劳是机体身心层面共同出现的能量代谢衰减状态,其中身体和认知功能因表现疲劳度和感知疲劳度之间的相互作用而受到限制^[1]。疲劳可能是一种原发性的症状表现,也可能是由于其他疾病导致的继发性症状,并与多种疾病密切相关,例如癌症性疲劳、慢性肾病性疲劳,以及肌肉硬化综合征等^[2-3]。根据疲劳发生的部位和机制不同可以分为中枢性疲劳和外周性疲劳,也会在心理或身体方面分别有所表现,进而不同程度地影响生活质量^[4]。疲劳研究具有多学科性和碎片化特征,这种复杂性与研究视角的局限性,使得疲劳的分子调控机制尚未完全阐明,其临床干预与治疗均受到显著限制^[1]。中医药因其多成分、多靶点、多途径的特点,在治疗疲劳方面展现出独特优势,可通过多种途径缓解疲劳^[5-7]。中药活性成分如多糖、生物碱、黄酮类物质等,可通过调节能量代谢、清除氧化自由基、抑制神经炎症等途径发挥抗疲劳作用^[5-6]。多种药食同源物质及营养素在抗疲劳方面也有出色表现,且具有安全性高、易开发的优势,更具应用潜力^[8-13]。

金花葵(*Hibiscus manihot* L.)别名菜芙蓉等,在中国具有悠久的栽种和食用历史记载,含有丰富的营养物质和生物活性成分,包括生物碱、不饱和脂肪酸、有机多糖、黄酮类化合物等,这些成分均为天然产物中常见的抗疲劳活性物质类型^[14-15]。研究证实,金花葵具有解热抗炎、调节血脂、抗氧美白、抑制肿瘤、改善心脑血管、保

护肝脏等多种生物学作用,其中抗氧化、抗炎及调节代谢的作用,与机体疲劳发生过程中的氧化应激、炎症反应、能量代谢紊乱等病理环节密切相关^[16-17]。同属锦葵科的黄秋葵已被证实具有一定抗疲劳作用,但相关活性成分与分子机制仍有待深入探究^[18-20]。与黄秋葵相似,金花葵兼具丰富的营养与药用价值,且含有大量黄酮类、多糖类等潜在抗疲劳活性成分,但其抗疲劳相关研究仍较为匮乏。基于此,本研究结合动物体内药效实验与网络药理学对金花葵的抗疲劳作用进行研究,明确金花葵的抗疲劳作用效果,预测其作用靶标和生物学机制,为金花葵药食同源开发、抗疲劳功能产品研发以及中药抗疲劳的机制研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与设备

TG16-WS台式高速离心机(湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司);TDL-5-A离心机(上海安亭科学仪器厂);UV1800紫外分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司);DKM610C烘干机(上海亨东仪器有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

金花葵药材在邢台学院试验田内种植采收,经邢台学院食品科学与生物工程学院刘华梁讲师鉴定为锦葵科秋葵属植物金花葵(*Hibiscus manihot* L.)全株。

对羟基联苯（上海麦克林生化科技有限公司，分析纯）；氟化钠（天津市大茂化学试剂厂，分析纯）；无水乙醇（天津益力化学试剂有限公司，分析纯）；DL-乳酸锂（上海麦克林生化科技有限公司，纯度97%）；硫酸铜（天津市化工三厂有限公司，分析纯）；三氯乙酸（天津市大茂化学试剂厂，分析纯）；石油醚（天津益力化学试剂有限公司，分析纯）；浓硫酸（天津市大茂化学试剂厂，分析纯）；标准葡萄糖溶液（天津市大茂化学试剂厂，分析纯）；蒽酮（国药集团化学试剂有限公司，分析纯）。0.9%氯化钠溶液：氯化钠（天津市大茂化学试剂厂，分析纯），加超纯水配制成分数0.9%的氯化钠溶液，分装后121℃高压蒸汽灭菌30 min，冷却至室温后用于小鼠灌胃操作。

1.3 动物

6~8周龄雄性昆明小鼠，体重 (20 ± 2) g，购自河北医科大学实验动物中心，生产许可证号：SCXK（冀）2018-004，饲养于清洁的室温22~25℃的动物房内，给予正常昼夜节律光照，自由饮水摄食。动物实验已经通过华北医疗健康集团邢台总医院实验动物福利伦理委员会审批（批件：XTZYY-21-2412-04）。

1.4 网络药理学数据与软件

TCMSP (<https://old.tcmisp-e.com/tcmisp.php>)、PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)、ChemicalBook (<https://www.chemicalbook.com/ProductIndex.aspx>) PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、中国知网 (<https://www.cnki.net/>)、SwissTargetPrediction 网站 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)、SEA Search Server 网站 (<https://sea.bkslab.org/>)、蛋白质数据库UniProt (<https://www.uniprot.org/>)、韦恩图 (<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/>)、GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)、PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>)、DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>)、微生物在线生物信息学分析平台 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>)、Cytoscape 3.10.3 软件、Open Babel GUI、Autodock tools 软件、PyMOL 3.1 软件。

1.5 体外实验方法

1.5.1 金花葵提取液的制备

金花葵全株50~60℃烘干至恒重后研磨粉碎，过60目筛，称取质量后按药液比1:10 (g/mL)

的比例加入适量石油醚，室温震荡脱脂6 h，置于通风处过夜，待石油醚完全挥发晾干后称定质量，加入20倍量的蒸馏水，90℃水浴2 h，提取液离心 $(700 \times g)$ 10 min取上清液，然后40℃浓缩至含原药0.50 g/mL，并分别配成含原药0.15 g/mL、0.30 g/mL的溶液，置于4℃冰箱备用。

1.5.2 动物分组与负重游泳力竭实验

将32只小鼠随机分为4组（每组8只），分别给予生理盐水（NS组）和低（0.15 g/mL，L组）、中（0.30 g/mL，M组）、高（0.50 g/mL，H组）浓度金花葵水提液灌胃，1次/d，0.1 mL/次，连续灌胃14 d，期间对小鼠做1次适应性训练，实验前后各称量1次体重。L组有1只小鼠意外溺水死亡，其余动物在实验过程中均正常。

将小鼠尾部缠绕自身体重5%的铅丝，依次置于游泳箱中游泳 [游泳箱水深大约30 cm、温度 (30 ± 1) ℃]，随时用温度计测量水温，保持水温的恒定。当小鼠开始30 s内连续呛水5次或5次以上时即代表小鼠力竭，此时立即将小鼠捞出，记录小鼠自下水至力竭的时间。力竭小鼠捞出后迅速摘取眼球取血，随后采用脱颈法处死小鼠取肝脏及腿部肌肉组织，进行后续实验^[5]。

1.5.3 生化指标测定

血乳酸含量测定^[21]：将血液置于室温环境中静置，凝固后离心 $(1370 \times g)$ 15 min，取上清液即得血清。取0.01 mL血清加入0.48 mL 1%氟化钠和1.5 mL 10%三氯乙酸溶液，混匀后离心10 min，取上清液0.5 mL置于带塞刻度试管中，先后加入4%硫酸铜溶液0.03 mL和3 mL浓硫酸，沸水浴15 min后取出，冰浴至15℃，滴加0.05 mL 1.5%对羟基联苯溶液并摇匀，转温水浴15 min，每5 min摇晃均匀1次，取出，沸水浴90 s，冷却，同时配置标准与空白，于560 nm波长处进行比色测定。

肝糖原和肌糖原含量测定^[22]：小鼠肝脏置于0℃生理盐水中清洗并吸干表面水分，称取1 g置于研钵中，加入少量石英砂和1 mL 10%三氯乙酸、2 mL 5%三氯乙酸研磨充分，离心 $(700 \times g)$ 10 min，取上清液加入等体积的95%乙醇静置20 min，离心 $(700 \times g)$ 10 min，弃去上清液，在滤纸上将离心管倒放5 min，然后向沉淀中加入2 mL蒸馏水，摇晃均匀即为糖原提取液，同时配置空白与标准，分别加入蒽酮试剂10 mL，摇晃

均匀,待温度冷却,沸水浴 15 min,冷却后于 620 nm 波长处进行比色测定。另取小鼠腿部肌肉 2 g,按上述步骤制作糖原提取液,采用蒽酮法测定肌糖原含量。

1.6 网络药理学研究

1.6.1 金花葵活性成分与相关靶点筛选

使用 TC MSP、PubMed、中国知网以“金花葵”“*Hibiscus manihot* L”为关键词搜索化学成分。在 ChemicalBook 网站查询化合物 CAS 号,并输入 PubChem 数据库获取化合物 2D 结构文件 sdf 格式,利用 Open Babel GUI 软件转化为 SMILES 格式,在 SwissADME 数据库筛选活性成分(以胃肠吸收率为“high”,且 Lipinski、Ghose、Veber、Egan、Muegge 中至少有 4 项为“yes”为筛选条件),并整理成表格。使用 SwissTargetPrediction 数据库(设置 Probability > 0)和 SEA 数据库(设置 $P \leq 0.01$)进行潜在活性成分靶点预测。

1.6.2 疲劳相关靶点筛选

“fatigue”为疲劳对应的英文术语,登录 GeneCards 数据库后输入疾病名称,设置类别为“protein coding”,检索疲劳疾病的相关靶点。

1.6.3 韦恩图的制作

使用在线 Venny 2.1.0 绘图工具通过导入金花葵活性成分靶点与疲劳靶点取交集,绘制韦恩图,得到交集作用靶点。

1.6.4 蛋白质-蛋白质相互作用网络模型和“成分-靶点”网络构建

在 STRING 数据库中导入交集靶点,物种参数设定为智人“*Homo Sapiens*”,最小互作可信度分值(minimum required interaction score)设置为 0.7,得到蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络图和数据,下载 tsv 格式数据表,导入 Cytoscape 3.10.3 软件进一步可视化处理,绘制 PPI 图,利用 Cytoscape 插件进行重要靶点分析,用 MCODE 插件进行靶点聚类分析。建立 network 和 tape 格式数据集,导入 Cytoscape 3.10.3 软件呈现成分与靶点的关系网络图,同时采用 Network Analyzer 模块进行拓扑结构解析,筛选出金花葵抗疲劳的核心活性成分。

1.6.5 京都基因与基因组百科全书通路及基因本体论功能富集分析

用 DAVID 数据库进行基因本体论(gene

ontology, GO)功能注释和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。选择基本参数物种“*Homo Sapiens*”,提取生物过程(biological process, BP)、细胞组分(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF)3组数据集,得出交集靶点富集的生物学通路,解析金花葵抗疲劳的潜在生物学机制。按 P 值升序排序,取前 10 条 GO 功能注释条目和前 20 条 KEGG 通路,导入微生信在线生物信息学分析平台进行可视化分析。

1.6.6 “成分-靶点-通路”网络构建

使用 Cytoscape 3.10.3 软件,对筛选出的核心成分、重要靶点、重点通路进行网络化展示,构建“成分-靶点-通路”网络图。

1.6.7 分子对接

从 UniProt 数据库查找靶蛋白 UniProt ID,再从 PDB 数据库下载蛋白三维晶体结构 pdb 格式文件。核心活性成分作为小分子配体,自 PubChem 数据库获取其 3D 结构 sdf 格式,并用 Open Babel GUI 软件将小分子转化为 mol2 格式,用 Autodock 软件进行检测和选择扭转键,作为配体保存为 pdbqt 格式。用 PyMOL 软件剔除靶蛋白结构内的水分子、无机盐及配体等组分,保存为 pdb 格式,再用 Autodock 软件对其进行加氢、计算 Gasteiger 电荷、确定刚性结构等操作,作为大分子受体保存为 pdbqt 格式。用 Autodock 软件将核心活性成分与靶蛋白进行半柔性对接,参数选择默认,设置对接次数 50 次,选择结合能最低的配对形式进行数据保存及可视化。用 PyMOL 软件进行结合位点的可视化操作,打开 pdbqt 文件,将背景修改为白色,通过 find 选项寻找结合的氢键,并将结合的氨基酸显示和标记,调整 3D 视图合适的视野和角度,保存图片。

1.7 统计学分析

所有实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 GraphPad Prism 5 软件进行统计学分析,采用箱线图四分位数法识别并剔除异常值。基于预设仅比较金花葵各剂量组与 NS 组的实验设计,为保证各指标统计方法的一致性与稳健性,统一采用 Mann-Whitney U 检验分别进行独立组间比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 金花葵提取液抗疲劳效果

各组小鼠实验末期体重无明显差异 ($P > 0.05$)；相比NS组，H组游泳时长显著增加 ($P < 0.05$)，M、H组小鼠血乳酸含量显著下降 ($P < 0.05$)，H组小鼠肌糖原含量显著升高 ($P <$

0.05)，各实验组小鼠肝糖原含量均显著升高 ($P < 0.05$)。具体见图1。

2.2 金花葵活性成分与靶点

通过数据库和文献检索得到金花葵活性物质381个，通过胃肠吸收率和类药性指标筛选后获得具有高类药性的潜在活性成分99个，其中96个成分共得到对应作用靶点1036个(表1)。

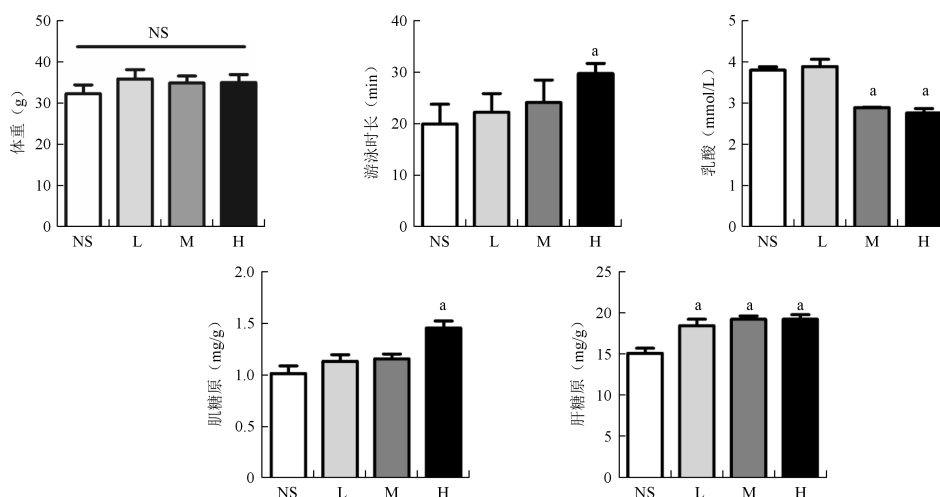


图1 金花葵对小鼠体重、游泳时长和血清指标的影响

Figure 1. Effects of *Hibiscus manihot* L. on body weight, exhaustive swimming time and serum biochemical indexes in mice

注：与对照组相比，^a $P < 0.05$ 。

表1 金花葵活性成分

Table 1. Active ingredients of *Hibiscus manihot* L.

序号	CAS号	化合物名称	序号	CAS号	化合物名称
mol1	458-35-5	松柏醇 (coniferyl alcohol)	mol49	92-61-5	东莨菪亭 (scopoletin)
mol2	94-09-7	苯佐卡因 (benzocaine)	mol50	485-72-3	芒柄花素 (formononetin)
mol3	1025996-92-2	甲基山柰酚 (methyl kaempferol)	mol51	574-84-5	秦皮素 (fraxetin)
mol4	104954-58-7	6-乙酰氧基正己酸甲酯 (6-methyl 6-acetoxylhexanoate)	mol52	1188-21-2	N-乙酰-L-亮氨酸 (N-acetyl-L-leucine)
mol5	117-39-5	quercetin	mol53	486-66-8	黄豆苷元 (daidzein)
mol6	1210-83-9	N-乙酰-5-羟基色胺 (N-acetyl-5-hydroxytryptamine)	mol54	505-52-2	十三烷二酸 (brassylic acid)
mol7	1979171-10-2	N6-乙酰-L-赖氨酸 (N6-acetyl-L-lysine)	mol55	6402-36-4	2-十二碳烯二酸 (2-traumatic acid)
mol8	28047-15-6	N-苯乙酰基-L-谷氨酰胺 (phenylacetyl-L-glutamine)	mol56	434-13-9	石胆酸 (lithocholic acid)
mol9	2899-60-7	Z-甘氨酸-N-琥珀酰亚胺酯 (Z-glycine-N-succinimidylester)	mol57	40817-07-0	半棉酚 (hemigossypol)
mol10	4423-37-4	丁香亭 (syringetin)	mol58	501-16-6	咖啡酸 (caffeic acid)
mol11	480-16-0	桑黄素 (morin)	mol59	505-48-6	辛二酸 (suberic acid)
mol12	480-19-3	异鼠李素 (isorhamnetin)	mol60	491-80-5	鹰嘴豆黄素 (Abiochamin A)
mol13	480-40-0	白杨素 (chrysin)	mol61	552-59-0	二氢樱黄素 (padmakastein)
mol14	491-70-3	木犀草素 (luteolin)	mol62	54-12-6	DL-色氨酸 (tryptophan)
mol15	491-71-4	金圣草黄素 (chrysoeriol)	mol63	20733-94-2	芥子酸甲酯 (methyl sinapate)
mol16	520-11-6	泽兰黄酮 (nepetin)	mol64	61-54-1	色胺 (tryptamine)
mol17	520-18-3	山柰酚 (kaempferol)	mol65	60-82-2	根皮素 (phloretin)

续表 1

序号	CAS号	化合物名称	序号	CAS号	化合物名称
mol18	520-36-5	芹菜素 (apigenin)	mol66	73-22-3	L-色氨酸 (L-tryptophan)
mol19	529-53-3	野黄芩素 (scutellarein)	mol67	20554-84-1	小白菊内酯 (parthenolide)
mol20	578-86-9	甘草素 (liquiritigenin)	mol68	5843-65-2	去甲乌药碱 (higenamine)
mol21	580-72-3	罗汉松脂素 (matairesinol)	mol69	154-23-4	(+)-儿茶 [(+)-catechin]
mol22	66648-43-9	N-反式阿魏酰酪胺 (N-feruloyltyramine)	mol70	564-20-5	香紫苏内酯 (sclareolide)
mol23	80-75-1	11 α -孕酮 (11 α hydroxyprogesterone)	mol71	2491-18-1	L-蛋氨酸甲酯 (L-methionine methylester)
mol24	84575-10-0	臭矢菜素 C (cleomiscosin C)	mol72	56-69-9	5-羟基色氨酸 (5-hydroxy-L-tryptophan)
mol25	112-12-9	2-十一酮 (2-undecanone)	mol73	4501-31-9	对香豆酸 (p-coumaric acid)
mol26	480-41-1	柚皮素 (naringenin)	mol74	121-34-6	香草酸 (vanillicacid)
mol27	492-14-8	紫柳素 (butin)	mol75	501-98-4	p-香豆酸 (p-coumaric acid)
mol28	958-09-8	2'-脱氧腺苷 (2'-deoxyadenosine)	mol76	62-31-7	盐酸多巴胺 (dopamine hydrochloride)
mol29	487-06-9	5,7-二甲氧基香豆素 (5,7-dimethoxycoumarin)	mol77	480-18-2	花旗松素 (taxifolin)
mol30	446-72-0	金雀异黄酮 (genistein)	mol78	15099-85-1	L-苯丙氨酸 (L-phenylalanine)
mol31	143-07-7	月桂酸 (十二烷酸) (lauric acid)	mol79	556-03-6	DL-酪氨酸 (DL-tyrosine)
mol32	73-03-0	虫草素 (cordycepin)	mol80	77-53-2	雪松醇 (cedrol)
mol33	530-59-6	芥子酸 (sinapic acid)	mol81	490-46-0	表儿茶素 [(-)-epicatechin]
mol34	1999-45-7	DL-丙氨酰基-DL-苯丙氨酸 (DL-alanyl-DL-phenylalanine)	mol82	7295-85-4	儿茶素 [(\pm)-catechin]
mol35	4049-38-1	圣草酚 (eriodictyol)	mol83	50-89-5	胸苷 (thymidine)
mol36	3943-97-3	对香豆酸甲酯 (methylp-coumarate)	mol84	3595-05-9	大麦芽碱 (hordenine)
mol37	27167-53-9	Z-D-丙氨酸 (Z-D-alanine)	mol85	5986-55-0	百秋李醇 (patchouli alcohol)
mol38	722-01-0	苯乙酸乙酯 (phenyl phenylacetate)	mol86	951-77-9	脱氧胞苷 (deoxycytidine)
mol39	481-74-3	大黄酚 (chrysophanol)	mol87	10338-51-9	红景天苷 (salidroside)
mol40	1135-24-6	阿魏酸 (ferulic acid)	mol88	104486-98-8	二氢山奈酚 (dihydrokaempferol)
mol41	118-58-1	水杨酸苄酯 (benzyl salicylate)	mol89	20347-65-3	L-乙酸冰片酯 (L-bornyl acetate)
mol42	61012-31-5	阿魏酸精胺 (fer-agsmatine)	mol90	1086-80-2	7,8-二甲基咯嗪 (lumichrome)
mol43	97-54-1	异丁香酚 (isoeugenol)	mol91	13921-90-9	苯丙氨酸 (phenylalanine)
mol44	80368-74-7	2-羟基巴戟酮 (3-hydroxy-morindone)	mol92	124151-33-3	松柏苷 (coniferin)
mol45	830-09-1	4-甲氧基肉桂酸 (4-methoxycinnamic acid)	mol93	6790-58-5	降龙涎香醚 (ambroxane)
mol46	334-48-5	癸酸 (decanoic acid)	mol94	82-82-6	3-吡哆酸 (4-pyridoxic acid)
mol47	50-67-9	5-羟色胺 (serotonin)	mol95	33570-04-6	白果内酯 (bilobalide)
mol48	531-28-2	草夹竹桃苷 (androsin)	mol96	65-23-6	吡哆素 (pyridoxine)

2.3 疾病靶点获取和韦恩图分析

从 GeneCards 数据库和 OMIM 数据库分别搜索得到 8 885 个和 247 个疲劳相关疾病靶点，取 GeneCards 结果中 Relevance score 降序排列前 1 500 个靶点与 OMIM 靶点合并去重后，获得 1 521 个疾病靶点，取金花葵作用靶点与疲劳疾病靶点交集，共获得 305 个金花葵-疲劳相关靶点 (图 2)。

2.4 PPI 网络分析及成分-靶点图的构建

基于 STRING 数据库构建交集靶点 PPI 网络 (图 3-A)，去除孤立的与其他蛋白没有联系的靶点，得到 292 个节点和 2 337 条边的网络图 (图 3-B)。用 cytohubba 插件对所有节点进行拓扑分

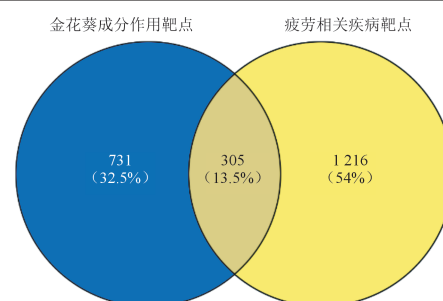


图 2 金花葵作用靶点与疲劳疾病靶点韦恩图
Figure 2. Venn diagram of action targets of *Hibiscus manihot* L. and fatigue-related targets

析，取度值降序排列前 10 个靶点、接近中心性排序前 10 个靶点和中介中心性排序前 10 靶点，筛

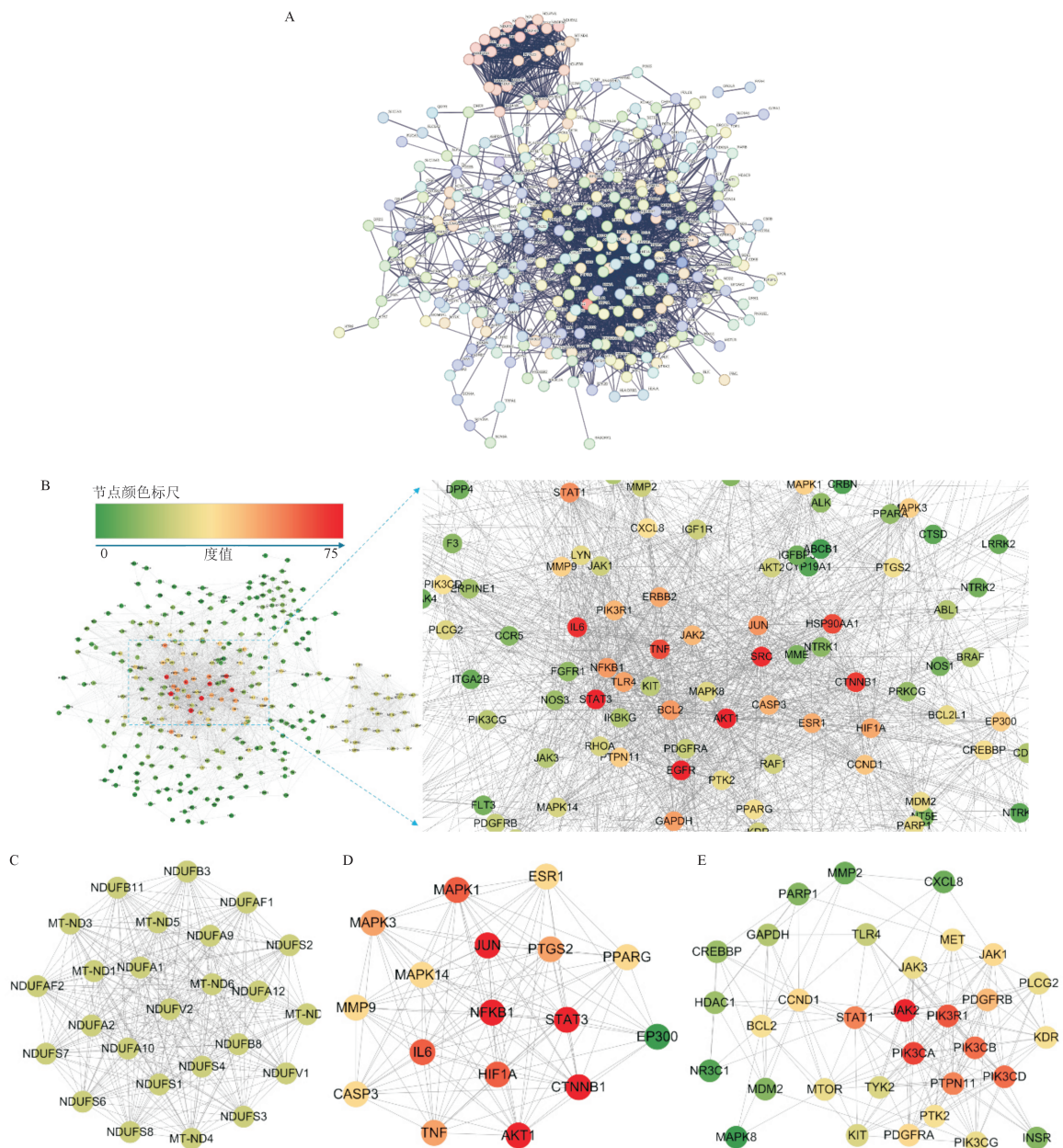


图3 金花葵治疗疲劳靶点PPI图

Figure 3. PPI network of fatigue-related therapeutic targets of *Hibiscus manihot* L.

注：A. 基于STRING构建的原始PPI网络图；B. 去除孤立靶点后的PPI网络图；C. MCODE分析结果聚类1；D. MCODE分析结果聚类2；E. MCODE分析结果聚类3。

选出13个靶点为关联度最高的核心靶点进行分析(表2)。用MCODE插件对PPI网络进行聚类子网络分析,发现3个重要子网络,分别命名为cluster1、cluster2、cluster3(图3-C~E)。

金花葵“成分-靶点”网络共包含93个成分节点和305个靶点节点,对网络进行拓扑属性分析,按节点度值降序筛选出前15的活性成分为核心成分进行后续分析(表3和图4)。结果显示,金花葵抗疲劳的重要活性成分主要包括黄酮类物质、生物碱、氨基酸衍生物等。

2.5 GO和KEGG通路富集分析

将305个交集靶点数据导入DAVID数据库进行分析,GO功能注释分析得到BP条目982个,CC条目124个,MF条目244个。按照P值由小到大排序,将每组数据前10的条目进行可视化展示(图5-A)。KEGG通路富集分析共获取189条通路。按P值由小到大排序,选取前20条通路作气泡图(图5-B)。结果显示,金花葵抗疲劳作用主要涉及三大类:癌症发生发展的相关通路(如癌症相关通路、化学致癌作用-活性氧);糖尿病及

表2 核心靶点关联度参数

Table 2. Correlation parameters of the core target

序号	靶点名称	度值	中心性	中介中心性
1	EGFR	75	171.116 67	4 716.365 79
2	AKT1	75	169.283 33	3 680.565 54
3	STAT3	75	166.150 00	3 115.152 32
4	SRC	72	169.566 67	8 995.023 24
5	IL-6	71	165.533 33	4 220.994 65
6	CTNBN1	69	167.166 67	4 021.496 46
7	HSP90AA1	66	165.450 00	4 934.423 52
8	TNF	66	162.033 33	3 118.646 44
9	STAT1	54	154.700 00	1 782.783 18
10	JUN	53	156.566 67	1 036.075 76
11	GAPDH	51	157.783 33	4 373.857 10
12	ESR1	48	154.233 33	2 286.914 61
13	CASP3	47	153.650 00	3 054.690 84

注：EGFR.表皮生长因子受体；AKT1.蛋白激酶B α ；STAT3.信号转导与转录激活因子3；SRC.原癌基因酪氨酸蛋白激酶ser；IL-6.白细胞介素6；CTNBN1. β -连环蛋白1；HSP90AA1.热休克蛋白90 α A1；TNF.肿瘤坏死因子；STAT1.信号转导与转录激活因子1；JUN. Jun原癌基因；GAPDH.甘油醛-3-磷酸脱氢酶；ESR1.雌激素受体1；CASP3.胱天蛋白酶3。

糖尿病并发症相关通路 [如糖尿病性心脏病、糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物-晚期糖基化终末产物受体 (advanced glycation end products-receptor for advanced glycation end products, AGE-

RAGE) 信号通路]；与病毒感染和肝脏损伤密切相关的通路（如卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、乙型肝炎）。其中癌症通路、卡波西肉瘤和乙肝病毒通路、糖尿病AGE-RAGE信号通路、缺氧诱导因子-1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1) 信号等通路包含较多靶蛋白。

对上述获得的3个核心网络簇分别进行GO和KEGG分析，结果显示：cluster1所涉及基因均与线粒体能量代谢过程中的电子链传递相关；而cluster2则主要涉及癌症相关通路、糖尿病并发症、乙肝感染等分子通路；cluster3和cluster2类似，还涉及卡波西肉瘤、磷脂酰肌醇3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)-AKT 信号通路、JAK 激酶 (Janus kinase, JAK)-STAT 信号通路、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药性等通路。结果与交集靶点的GO和KEGG通路富集结果大致相符。

2.6 成分-靶点-通路网络图构建

采用Cytoscape 3.10.3软件绘制“核心成分-靶点-通路”网络，包含15个核心成分、与疲劳相关的20条通路，以及相应的靶点 (图6)。结果表明，金花葵核心成分主要通过作用于246个靶点蛋白调控20条相关通路，发挥抗疲劳的作用。

表3 金花葵抗疲劳核心成分信息

Table 3. Information of core anti-fatigue ingredients in *Hibiscus manihot* L.

成分编号	名称	二级分类	SMILE号
mol9	Z-甘氨酸-N-琥珀酰亚胺酯		C(=O)(CNC(=O)OCc1cccc1)ON1C(=O)CCC1=O
mol1	松柏醇	酚酸	c1(c(cc1)C=CCO)OC
mol6	N-乙酰-5-羟基色胺	生物碱	C(=O)(C)NCCc1c[nH]c2c1cc(cc2)O
mol7	N6-乙酰-L-赖氨酸	氨基酸及其衍生物	C(=O)([C@@H](N)CCCCNC(=O)C)OC(C)(C)C
mol3	甲基山奈酚	黄酮	O=c1c2c(oc(c1OC)c1ccc(O)cc1)cc(C)cc2O
mol13	白杨素	黄酮	c1(cc(=O)c2c(o1)cc(cc2O)O)c1cccc1
mol21	罗汉松脂素	木质素和香豆素	O1C(=O)[C@@H]([C@H](C1)Cc1cc(c(cc1)O)OC)Cc1cc(c(cc1)O)OC
mol24	臭矢菜素C	香豆素类	O1[C@@H]([C@H](Oe2c1c(cc1c2oc(=O)cc1)OC)CO)c1cc(c(c1)OC)O)OC
mol4	6-乙酰氧基正己酸甲酯	酯类	C(=O)(CCCCOC(=O)C)OC
mol10	丁香亭	黄酮醇	c1(c(c(=O)c2c(o1)cc(cc2O)O)O)c1cc(c(c1)OC)O)OC
mol15	金圣草黄素	黄酮	c1(cc(=O)c2c(o1)cc(cc2O)O)c1cc(c(cc1)O)OC
mol30	染料木素	黄酮	c1c(c(=O)c2c(o1)cc(cc2O)O)c1ccc(cc1)O
mol12	异鼠李素	黄酮	c1(c(c(=O)c2c(o1)cc(cc2O)O)O)c1cc(c(cc1)O)OC
mol18	芹菜素	黄酮	c1(cc(=O)c2c(o1)cc(cc2O)O)c1ccc(cc1)O
mol25	2-十一酮	挥发类物质	CC(=O)CCCCCCCC

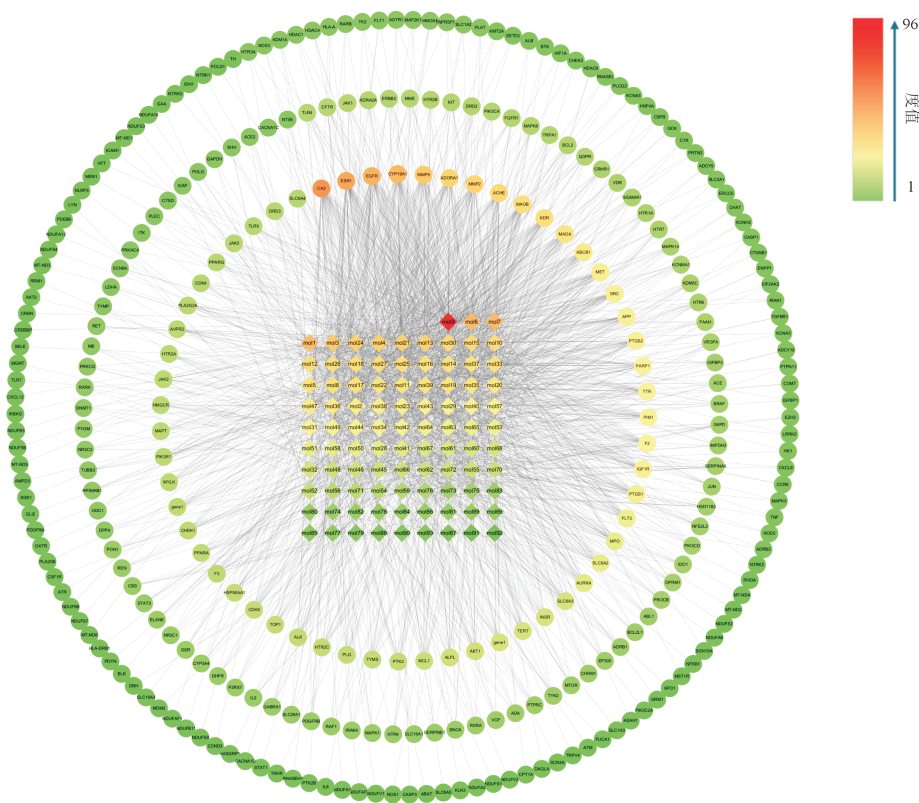


图4 金花葵抗疲劳成分-靶点图

Figure 4. Component-target network of anti-fatigue ingredients from *Hibiscus manihot* L.

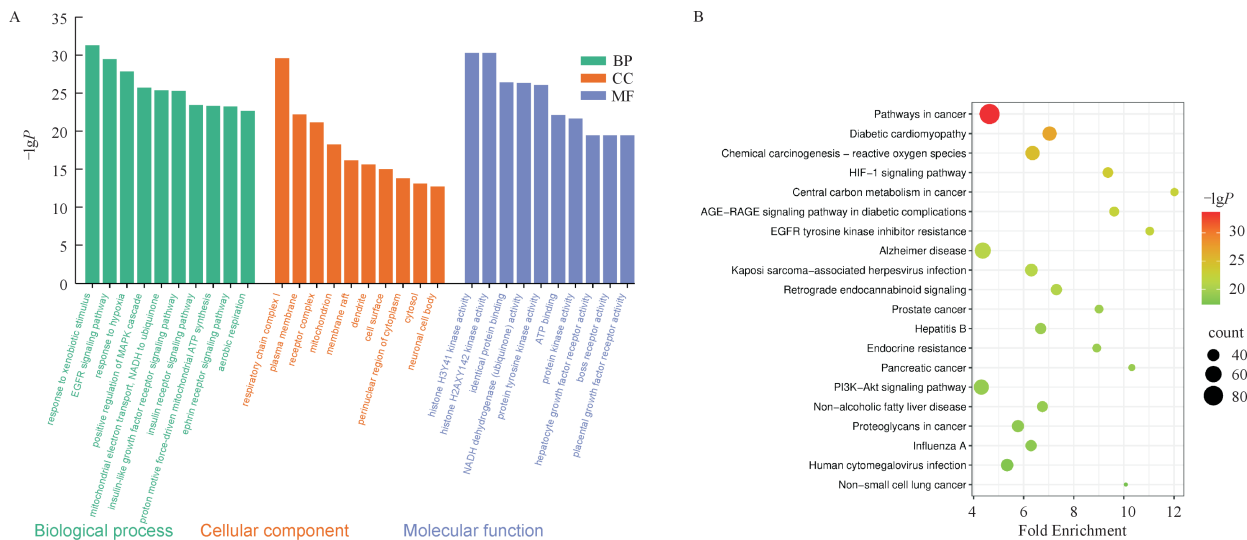


图5 GO功能注释及KEGG通路分析

Figure 5. GO functional annotation and KEGG pathway enrichment analysis

注：A.GO 功能注释分析前10个条目可视化图；B.KEGG 通路富集分析前20条通路气泡图。

2.7 分子对接结果

上述13个核心靶点中，EGFR、SRC、ESR1、AKT1、HSP90AA1、JUN 6个核心靶点与关键成分有对应关系。将此6个靶点蛋白分别与对应的关键成分进行分子对接，以进一步分析核心成分对靶点的潜在直接作用能力。使用 AutoDock tools

软件将6个核心靶点与相应关键成分进行分子对接，结果显示上述分子对结合能均小于0，具有较强的亲和力（表4）。将结合能小于-6 kcal/mol且相对最低的蛋白-小分子复合物，使用PyMOL软件可视化，以表征小分子与关键氨基酸的作用方式（图7）。

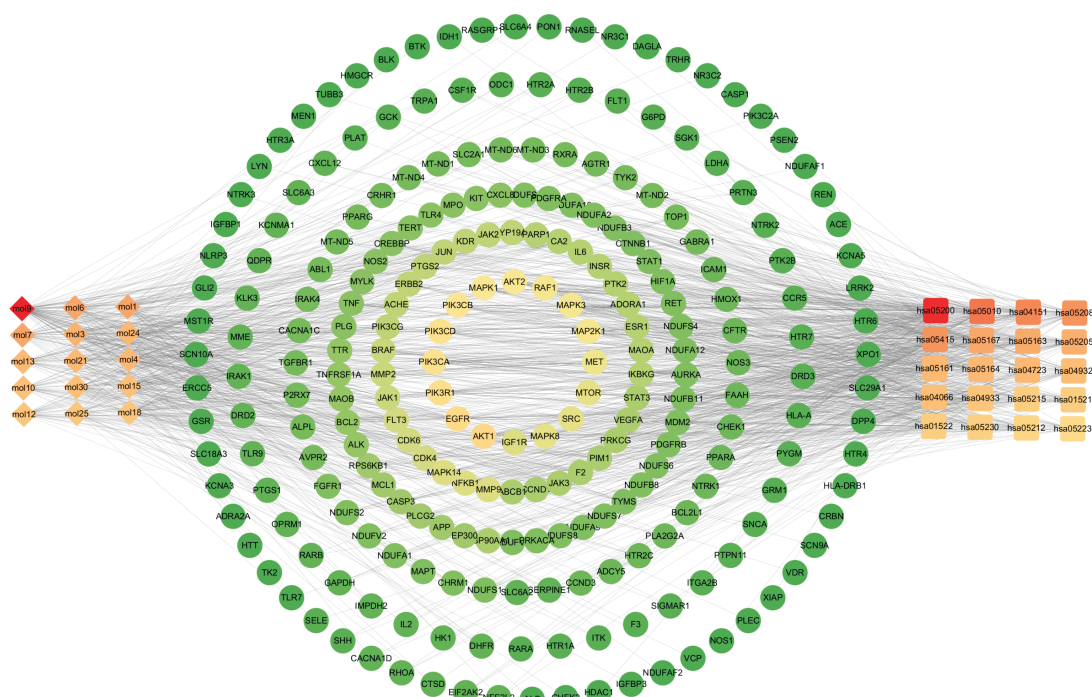


图6 核心成分-靶点-通路

Figure 6. Core component-target-pathway network

注：圆形代表靶点，菱形代表活性成分，正方形代表通路。

表4 金花葵核心成分与核心靶点分子对接结果

Table 4. Molecular docking results between core ingredients and core targets of *Hibiscus manihot* L.

靶点蛋白名称	PDB ID	化合物序号	化合物名称	结合能 (kcal/mol)
EGFR	3IKA	mol13	白杨素	-5.77
EGFR	3IKA	mol30	染料木素	-5.27
EGFR	3IKA	mol6	N-乙酰-5-羟基色胺	-4.98
EGFR	3IKA	mol24	臭矢菜素 C	-4.61
EGFR	3IKA	mol18	芹菜素	-4.57
EGFR	3IKA	mol3	甲基山柰酚	-4.43
EGFR	3IKA	mol15	金圣草黄素	-4.38
EGFR	3IKA	mol12	异鼠李素	-4.32
EGFR	3IKA	mol9	Z-甘氨酸-N-琥珀酰亚胺酯	-4.19
EGFR	3IKA	mol10	丁香亭	-3.85
EGFR	3IKA	mol4	6-乙酰氧基正己酸甲酯	-3.2
EGFR	3IKA	mol7	N6-乙酰-L-赖氨酸	-3.02
SRC	7NG7	mol9	Z-甘氨酸-N-琥珀酰亚胺酯	-6.87
SRC	7NG7	mol13	白杨素	-6.71
SRC	7NG7	mol18	芹菜素	-6.47
SRC	7NG7	mol3	甲基山柰酚	-6.37
SRC	7NG7	mol15	金圣草黄素	-5.89
SRC	7NG7	mol12	异鼠李素	-5.46
SRC	7NG7	mol10	丁香亭	-5.26
SRC	7NG7	mol7	N6-乙酰-L-赖氨酸	-5.04
AKT1	7NH5	mol3	甲基山柰酚	-7.27
AKT1	7NH5	mol24	臭矢菜素 C	-6.77
AKT1	7NH5	mol18	芹菜素	-6.72

续表4

靶点蛋白名称	PDB ID	化合物序号	化合物名称	结合能 (kcal/mol)
AKT1	7NH5	mol12	异鼠李素	-6.69
AKT1	7NH5	mol15	金圣草黄素	-6.65
AKT1	7NH5	mol10	丁香亭	-5.88
AKT1	7NH5	mol4	6-乙酰氧基正己酸甲酯	-4.5
HSP90AA1	300I	mol9	Z-甘氨酸-N-琥珀酰亚胺酯	-7.13
HSP90AA1	300I	mol3	甲基山柰酚	-6.88
HSP90AA1	300I	mol24	臭矢菜素C	-6.84
HSP90AA1	300I	mol7	N6-乙酰-L-赖氨酸	-6.69
HSP90AA1	300I	mol25	2-十一酮	-5.86
HSP90AA1	300I	mol21	罗汉松脂素	-5.73
JUN	5T01	mol9	Z-甘氨酸-N-琥珀酰亚胺酯	-5.94
JUN	5T01	mol21	罗汉松脂素	-4.48
JUN	5T01	mol1	松柏醇	-4.45
JUN	5T01	mol24	臭矢菜素C	-4.34
ESR1	9BQE	mol30	染料木素	-4.61
ESR1	9BQE	mol18	芹菜素	-4.48
ESR1	9BQE	mol3	甲基山柰酚	-4.22
ESR1	9BQE	mol13	白杨素	-3.98
ESR1	9BQE	mol15	金圣草黄素	-3.96
ESR1	9BQE	mol7	N6-乙酰-L-赖氨酸	-3.68
ESR1	9BQE	mol21	罗汉松脂素	-2.53
ESR1	9BQE	mol25	2-十一酮	-1.94

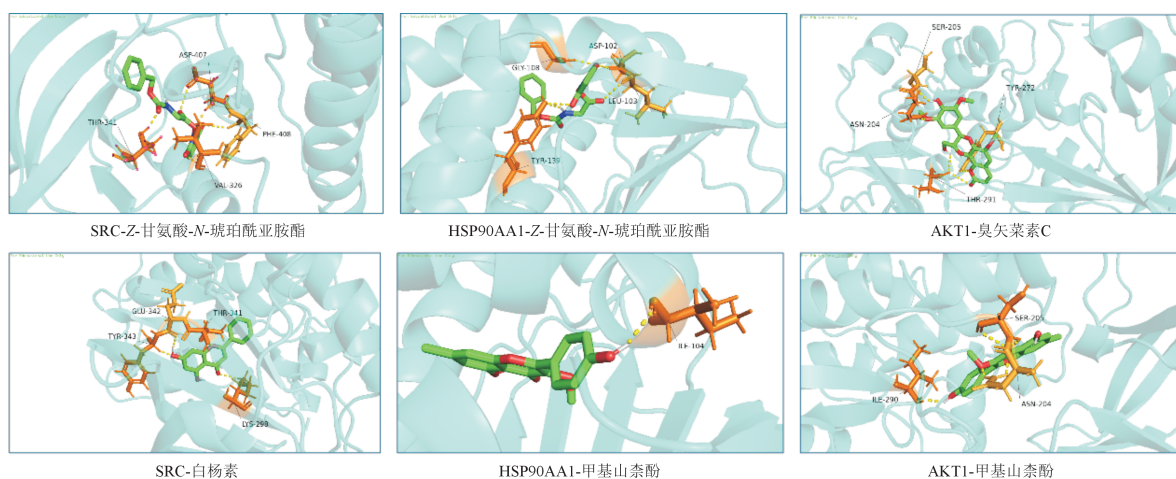


图7 分子对接可视化图

Figure 7. Visualization diagram of molecular docking

3 讨论

基于金花葵丰富的活性成分及其潜在的抗疲劳作用价值,用小鼠负重游泳实验进行了初步观察验证。该模型属于检测生理性疲劳的诱发性疲劳模型,具有制作简单、成本低、重复性良好等特点,适合初步筛选抗疲劳物质^[5]。本研究结果发现,金花葵提取液能显著延长小鼠的负重游泳

时长,同时提高动物的肝糖原、肌糖原储备量,降低运动后血液中乳酸水平,金花葵提取液具有良好的抗疲劳效果。研究还发现,在游泳时长及3项生化指标检测中,金花葵低、中剂量组抗疲劳效果不显著,虽呈现一定剂量依赖趋势,但未形成完整的剂量-效应关系。本研究为预设药效验证加剂量梯度探索,所设置的浓度梯度区间未完全覆盖金花葵有效剂量窗口;该结果仅提示游

泳、肌糖原指标下低、中剂量未达起效阈值,不影响高剂量下金花葵具有显著抗疲劳作用的核心结论。

中药的多糖、多酚、黄酮类、氨基酸等活性物质可通过提高糖原储存、减少乳酸堆积、富有抗氧化活性等不同途径发挥抗疲劳作用^[6, 12]。金花葵的活性成分十分丰富,其中黄酮类物质,尤其金丝桃苷,不仅含量较高,并且被认为是其发挥药理作用的主要成分^[16]。但经口服用是药食同源食物的主要利用途径,其各种作用效果均受机体肠道吸收效率和分子转化等生理学过程的影响^[23]。本次实验筛选出的96个有作用靶点的活性成分中,根据成分与靶点蛋白相关联的度值进一步筛选出15个关键成分,以黄酮类物质为主,另外包括生物碱、氨基酸衍生物、香豆素类等,表明金花葵发挥上述抗疲劳作用的主要活性物质可能是黄酮类物质。

MCODE分析筛选出3个蛋白簇形成的子网络(cluster1、cluster2、cluster3),其中cluster1的节点全部由线粒体呼吸链的复合物亚基蛋白组成,而靶向这些蛋白的活性物质只有松柏醇1种。松柏醇是一种天然的萜类植物次生代谢产物,广泛存在于植物中,具有醇基和松柏酸基的结构,在植物中起到多种生理功能,如抗氧化、抗菌、抗逆境等。此外,松柏醇还具有镇静、抗焦虑、抗抑郁等药理学活性,因此在药物和香料行业具有重要的应用价值,实验室合成的松柏醇在动物体内外实验中显示出明显的抗炎镇痛效果,但目前关于松柏醇自身的生物学作用研究较少^[24]。

中药抗疲劳机制研究侧重“整体观”“辩证观”的思维,如一些疏肝理气类中药五味子、酸枣仁等均有一定的抗疲劳作用。由GO功能注释结果可知,金花葵抗疲劳机制与多维度生物学过程密切相关。BP层面,其或可通过调控线粒体电子传递、三磷酸腺苷合成、有氧呼吸过程改善缺氧状态下的能量代谢,同时参与胰岛素、雌激素受体通路、丝裂原活化蛋白激酶级联反应调控,协同缓解机体疲劳。CC层面,作用靶点集中于线粒体、质膜及受体复合物等,为能量合成与信号传导提供结构基础。MF方面,或通过影响还原型辅酶I(NADH)脱氢酶等酶活性、各类受体活性及蛋白结合能力,从分子层面调控能量代谢与信号通路,多途径发挥抗疲劳作用。以上结果

与目前认为的中药抗疲劳作用机制观点大致相符^[25]。

研究结果筛选出的13个关联度最高的核心靶点多数都与癌症发生发展、病毒感染、无氧酵解等生物过程密切相关,提示金花葵的抗疲劳作用可能通过上述途径实现。癌症相关通路中,HIF-1通路可调控细胞缺氧适应与能量代谢^[26],EGFR经PI3K-AKT1通路、IL-6经JAK/STAT3通路协同调控HIF-1 α ,活性氧通路可缓解氧化应激损伤,共同改善缺氧与应激诱导的疲劳;IL-6、TNF- α 可通过STAT3/STAT1与AKT1介导炎症、氧化应激及细胞凋亡^[27];病毒感染与肝脏损伤相关通路中,PI3K-AKT信号通路调控能量代谢与糖原合成^[28],肝脏保护相关通路则能够维持物质代谢平衡,减少感染及器官损伤导致的能量消耗与疲劳。上述通路或从代谢调控、氧化应激缓解、器官功能保护多维度协同,协同介导金花葵抗疲劳的通路网络。

将有相互映射关系的核心活性成分和核心靶点进行了分子对接分析,结果显示,所有配体-受体之间均有结合能力,其中SRC、AKT1、HSP90AA1 3个靶蛋白与对应的配体均有较好的结合活性。从成分层面分析,甲基山柰酚可强效结合AKT1、较好结合HSP90AA1;Z-甘氨酸-N-N琥珀酰亚胺酯强效结合HSP90AA1、较好结合SRC;白杨素与SRC结合能力最优,臭矢菜素C与AKT1结合能力最优。SRC为src基因编码的非受体酪氨酸激酶,作为信号枢纽调控基因转录、细胞凋亡、迁移等生物学过程,同时可介导葡萄糖摄取、糖酵解等代谢通路^[29]。AKT1是核心信号分子,调控细胞存活与代谢,激活后可促使细胞代谢由线粒体氧化磷酸化转向糖酵解^[30]。HSP90AA1为应激诱导型热休克蛋白,参与蛋白稳态维持,可协同HIF-1 α 、STAT1调控炎症与糖酵解过程,且其表达水平与机体疲劳程度显著相关^[31-32]。现有研究证实,AKT1是多种中药发挥抗疲劳作用的关键靶点^[33-36],本研究也发现,金花葵黄酮类核心成分可与AKT1高度结合。结合本研究分子对接结果,推测金花葵中白杨素、臭矢菜素C、甲基山柰酚等黄酮类成分,或通过结合/调控AKT1、SRC、HSP90AA1靶点,参与能量代谢与氧化应激过程,进而潜在缓解机体疲劳。

本研究仍存在一定局限性。首先,体内抗疲

劳药效评价仅采用小鼠负重游泳模型，且仅检测负重游泳时长和肝糖原、肌糖原、血乳酸等生化指标，评价体系较为单一，缺少氧化应激、炎症因子、线粒体功能等更深层次的分子指标验证，无法全面解析金花葵调控疲劳的多维度生理机制。其次，网络药理学与分子对接仅为计算机层面的虚拟预测分析，未开展细胞水平、分子蛋白层面实验对核心靶点、通路进行实验验证，成分-靶点-通路的因果关系仍有待进一步证实。此外，本研究仅探究金花葵水提物整体的抗疲劳活性，未分离单体活性成分开展剂量-效应与机制验证，无法明确发挥药效的关键物质基础。后续研究可通过扩大评价指标体系、开展细胞与分子实验、分离单体成分等方式，进一步完善金花葵抗疲劳作用的机制研究。

参考文献

- Behrens M, Gube M, Chaabene H, et al. Fatigue and human performance: an updated framework[J]. *Sports Med*, 2023, 53(1): 7–31. DOI: [10.1007/s40279-022-01748-2](https://doi.org/10.1007/s40279-022-01748-2).
- Al Maqbali M. Cancer-related fatigue: an overview[J]. *Br J Nurs*, 2021, 30(4): S36–S43. DOI: [10.12968/bjon.2021.30.4.S36](https://doi.org/10.12968/bjon.2021.30.4.S36).
- Gregg LP, Bossola M, Ostrosky-Frid M, et al. Fatigue in CKD: epidemiology, pathophysiology, and treatment[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2021, 16(9): 1445–1455. DOI: [10.2215/CJN.19891220](https://doi.org/10.2215/CJN.19891220).
- Tornero-Aguilera JF, Jimenez-Morcillo J, Rubio-Zarapuz A, et al. Central and peripheral fatigue in physical exercise explained: a narrative review[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19(7): 3909. DOI: [10.3390/ijerph19073909](https://doi.org/10.3390/ijerph19073909).
- 黄保年, 车环宇, 刘雪坤, 等. 疲劳模型的建立及中药抗疲劳作用研究进展[J]. *中草药*, 2025, 56(5): 1805–1816. [Huang BN, Che HY, Liu XK, et al. Establishment of fatigue model and research progress of anti-fatigue effect of traditional Chinese medicine[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2025, 31(5): 1805–1816.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2025.05.029](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2025.05.029).
- Yu W, Song C, Lei Z, et al. Anti-fatigue effect of traditional Chinese medicines: a review[J]. *Saudi Pharm J*, 2023, 31(4): 597–604. DOI: [10.1016/j.jsps.2023.02.013](https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.02.013).
- 屈媛媛, 冯楚文, 孙维伯, 等. 近五年慢性疲劳综合征动物模型行为学评价方法应用进展[J]. *中国实验动物学报*, 2024, 32(11): 1433–1444. [Qu YY, Feng CW, Sun WB, et al. Progress in the application of behavioral evaluation methods for animal models of chronic fatigue syndrome[J]. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 2024, 32(11): 1433–1444.] DOI: [10.3969/j.issn.1005-4847.2024.11.008](https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-4847.2024.11.008).
- 汪睿, 周志奎, 田琦, 等. 抗疲劳类食物物质研究进展[J]. *药物生物技术*, 2023, 30(6): 652–656. [Wang RQ, Zhou ZK, Tian Q, et al. Research progress on anti-fatigue food and drug homologous substances[J]. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2023, 30(6): 652–656.] DOI: [10.19526/j.cnki.1005-8915.20230620](https://doi.org/10.19526/j.cnki.1005-8915.20230620).
- 李开莹, 郑娟, 胡露, 等. 药食同源物品抗疲劳作用研究进展[J]. *食品安全导刊*, 2022, (29): 125–127+180. [Li KY, Zheng J, Hu L, et al. Research progress on anti-fatigue effects of food and drug homologous substances[J]. *Journal of Food Safety Guide*, 2022(29): 125–127+180.] DOI: [10.16043/j.cnki.cfs.2022.29.052](https://doi.org/10.16043/j.cnki.cfs.2022.29.052).
- 熊武青, 麻秀萍, 郭江涛, 等. 食源性复方人参水提物的抗疲劳作用[J]. *食品与机械*, 2025, 41(1): 180–185. [Xiong WQ, Ma XP, Guo JT, et al. Anti-fatigue effect of food-derived compound ginseng aqueous extracts[J]. *Food & Machinery*, 2025, 41(1): 180–185.] DOI: [10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80835](https://doi.org/10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80835).
- 郑怡菲, 李涛, 赵余庆. 人参有效成分抗疲劳作用机制的研究进展[J]. *药物评价研究*, 2023, 46(11): 2496–2504. [Zheng YF, Li T, Zhao YQ. Research progress on anti-fatigue mechanisms of active components in ginseng[J]. *Drug Evaluation Research*, 2023, 46(11): 2496–2504.] DOI: [10.7501/j.issn.1674-6376.2023.11.028](https://doi.org/10.7501/j.issn.1674-6376.2023.11.028).
- Zhou Y, Chu Z, Luo Y, et al. Dietary polysaccharides exert anti-fatigue functions via the gut-muscle axis: advances and perspectives[J]. *Foods*, 2023, 12(16): 3083. DOI: [10.3390/foods12163083](https://doi.org/10.3390/foods12163083).
- Lee MC, Hsu YJ, Shen SY, et al. A functional evaluation of anti-fatigue and exercise performance improvement following vitamin B complex supplementation in healthy humans, a randomized double-blind trial[J]. *Int J Med Sci*, 2023, 20(10): 1272–1281. DOI: [10.7150/ijms.86738](https://doi.org/10.7150/ijms.86738).
- 马鹰, 路娟, 夏念桐, 等. 金花葵的化学成分和药理作用研究进展[J]. *化学与生物工程*, 2024, 41(9): 7–14. [Ma Y, Lu J, Xia NT, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Abelmoschus manihot*[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2024, 41(9): 7–14.] DOI: [10.3969/j.issn.1672-5425.2024.09.002](https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-5425.2024.09.002).
- Zhou S S, Jiang J G. Anti-fatigue effects of active ingredients from traditional Chinese medicine: a review[J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(10): 1833–1848. DOI: [10.2174/0929867324666170414164607](https://doi.org/10.2174/0929867324666170414164607).
- 王瑞君, 田雨, 吴佳文, 等. 金花葵花中药用成分分析[J]. *天然产物研究与开发*, 2022, 34(4): 588–597, 721. [Wang RJ, Tian Y, Wu JW, et al. Analysis of medicinal components in flowers of *Abelmoschus manihot*[J]. *Natural Product Research and Development*, 2022, 34(4): 588–597, 721.] DOI: [10.16333/j.1001-6880.2022.4.006](https://doi.org/10.16333/j.1001-6880.2022.4.006).
- Constantin-Teodosiu D, Constantin D. Molecular mechanisms of muscle fatigue[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11587. DOI: [10.3390/ijms222111587](https://doi.org/10.3390/ijms222111587).
- Li YX, Yang ZH, Lin Y, et al. Antifatigue effects of ethanol extracts and polysaccharides isolated from *abelmoschus esculentus*[J]. *Pharmacogn Mag*, 2016, 12(47): 219–224. DOI: [10.4103/0973-1296.186341](https://doi.org/10.4103/0973-1296.186341).
- Gao H, Zhang W, Wang B, et al. Purification, characterization and anti-fatigue activity of polysaccharide fractions from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)[J]. *Food Funct*, 2018, 9(2): 1088–1101. DOI: [10.1039/c7fo01821e](https://doi.org/10.1039/c7fo01821e).
- Li Y, Deng Y, Li Z, et al. Composition, physicochemical properties,

- and anti-fatigue activity of water-soluble okra (*Abelmoschus esculentus*) stem pectins[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 165(Pt B): 2630–2639. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.10.167.
- 21 乌兰, 刘睿, 杜倩, 等. 核桃肽对小鼠的抗疲劳作用[J]. *中国食物与营养*, 2018, 24(12): 50–54. [Wu L, Liu R, Du Q, et al. Anti-fatigue effect of walnut peptides in mice[J]. *Food and Nutrition in China*, 2018, 24(12): 50–54.] DOI: 10.3969/j.issn.1006-9577.2018.12.012.
- 22 杨柳, 郭海云, 邵长健, 等. 糖原检测方法研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(1): 175–179. [Yang L, Guo HY, Shao CJ, et al. Research progress on detection methods of glycogen[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2018, 18(1): 175–179.] DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.01.038.
- 23 Kang YG, Jang S, Kim B, et al. Inducing a synergistic anti-obesity effect by increasing the bioavailability of the flavonoid rutin with a *L. plantarum* strain[J]. *Food Chem*, 2025, 495(Pt 2): 146498. DOI: 10.1016/j.foodchem.2025.146498.
- 24 王朝群, 白育军, 杨燕, 等. 松柏醇的化学合成及抗炎镇痛活性研究[J]. *遵义医科大学学报*, 2021, 44(5): 594–599, 606. [Wang CQ, Bai YJ, Yang Y, et al. Chemical synthesis and anti-inflammatory and analgesic activities of coniferyl alcohol[J]. *Journal of Zunyi Medical University*, 2021, 44(5): 594–599, 606.] DOI: 10.14169/j.cnki.zunyiixuebao.2021.0094.
- 25 杨言言, 李惠珍, 艾志福, 等. 中药防治疲劳作用机制的研究进展[J]. *中草药*, 2023, 54(7): 2309–2318. [Yang YY, Li HZ, Ai ZF, et al. Research progress on the mechanism of traditional Chinese medicine in preventing and treating fatigue[J]. *Chinese Herbal Medicines*, 2023, 54(7): 2309–2318.] DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.07.031.
- 26 Shi Y, Gilkes DM. HIF-1 and HIF-2 in cancer: structure, regulation, and therapeutic prospects[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2025, 82(1): 44. DOI: 10.1007/s00018-024-05537-0.
- 27 Cheng X, Zhao S, Chen Y, et al. Protocatechualdehyde attenuates oxidative stress in diabetic cataract via GLO1-mediated inhibition of AGE/RAGE glycosylation[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1586173. DOI: 10.3389/fphar.2025.1586173.
- 28 曾婷, 杨然, 李庆军, 等. 基于 PI3K/AKT/Gsk-3 β 通路研究山药多糖对运动疲劳小鼠的影响[J]. *山东科学*, 2024, 37(6): 51–58. [Zeng T, Yang R, Li QJ, et al. Effects of Chinese yam polysaccharides on exercise fatigue mice based on PI3K/AKT/Gsk-3 β signaling pathway[J]. *Shandong Science*, 2024, 37(6): 51–58.] DOI: 10.3976/j.issn.1002-4026.20240034.
- 29 Pelaz S G, Taberero A. Src: coordinating metabolism in cancer[J]. *Oncogene*, 2022, 41(45): 4917–4928. DOI: 10.1038/s41388-022-02487-4.
- 30 Chen T, Xie S, Cheng J, et al. AKT1 phosphorylation of cytoplasmic ME2 induces a metabolic switch to glycolysis for tumorigenesis[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 686. DOI: 10.1038/s41467-024-44772-8.
- 31 Chen T, Ai L, Shuang R, et al. Shanzhiside methyl ester attenuated cognitive impairment in diabetic mice by inhibiting neuroinflammation and glycolysis via HSP90AA1/HIF1A/STAT1[J]. *Phytomedicine*, 2025, 146: 157103. DOI: 10.1016/j.phymed.2025.157103.
- 32 傅钰诗, 赵吉超. 基于网络药理学和分子对接探讨大补元煎治疗慢性疲劳综合征作用机制[J]. *中国中医药图书情报杂志*, 2024, 48(6): 35–41. [Fu YS, Zhao JC. Mechanism of Dabuyuan Jian in treating chronic fatigue syndrome based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Chinese Journal of Library and Information Science for Traditional Chinese Medicine*, 2024, 48(6): 35–41.] DOI: 10.3969/j.issn.2095-5707.202310099.
- 33 Grimstad T, Kvikvik I, Kvaløy JT, et al. Heat-shock protein 90 α in plasma reflects severity of fatigue in patients with Crohn's disease[J]. *Innate Immun*, 2020, 26(2): 146–151. DOI: 10.1177/1753425919879988.
- 34 盛雨琦, 陈明显, 嵇冰. 健脾祛湿方异病同治慢性腹泻和慢性疲劳综合征的网络药理学作用机制探讨[J]. *中药新药与临床药理*, 2025, 36(1): 72–80. [Sheng YQ, Chen MX, Ji B. Network pharmacological mechanism of Jianpi Qushi decoction in treating chronic diarrhea and chronic fatigue syndrome with same treatment for different diseases[J]. *Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology*, 2025, 36(1): 72–80.] DOI: 10.19378/j.issn.1003-9783.2025.01.009.
- 35 刘飞祥, 林子璇, 张怀亮, 等. 人参抗疲劳的作用机制和潜在靶点研究[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(24): 5479–5487. [Liu FX, Lin ZX, Zhang HL, et al. Study on anti-fatigue mechanism and potential targets of ginseng[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2019, 44(24): 5479–5487.] DOI: 10.19540/j.cnki.cjmm.20190805.401.
- 36 Ma P, Li J, Huang Q, et al. Exploring the mechanism of anti-fatigue of resveratrol based on network pharmacology and molecular docking, and *in vitro* studies[J]. *Sci Rep*, 2023, 13: 2894. DOI: 10.1038/s41598-023-30141-w.

收稿日期: 2026 年 03 月 27 日 修回日期: 2026 年 05 月 28 日
本文编辑: 李 阳 洗静怡