基于化学生物信息学方法探讨黄芪通过调节能量代谢发挥“补气”功效的物质基础和分子机制

后叶虎[a]，邱璐[a]，靳晓杰[a,b*]，张敏[b]，林佳[b]，刘伟[b]，魏本君[a]，姚娟[a,b]，李亚玲[a]，刘永琦[a,c*](甘肃中医药大学，a.甘肃省高校重大疾病分子医学与中医药防治研究重点实验室，b.药学院，c.敦煌医学与转化教育部重点实验室，兰州 730000)

摘要：目的 阐释黄芪发挥“补气”功效调节能量代谢的物质基础和生物学机制。**方法** TCMSP 数据库及文献检索收集黄芪潜在活性成分，SEA 数据库进行基于结构相似性的靶点预测，GeneCards、OMIM、TTD 数据库获取能量代谢靶点。Cytoscape 软件构建黄芪调节能量代谢靶点蛋白-蛋白相互作用网络图，并进行 GO 和 KEGG 富集分析。黄芪全成分与关键靶点进行分子对接和层次聚类分析评估靶点-成分亲和力，采用 CCK-8 法、流式细胞术、ATP 试剂盒检测黄芪代表性化合物对 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞能量代谢的影响，并进行结合模式分析。**结果** 网络药理学结果显示，黄芪调节能量代谢潜在作用靶点有 126 个；GO 和 KEGG 富集分析表明，黄芪调节能量代谢可能与氧化还原过程、蛋白及酶合成的基因表达有关。其中，SIRT1 及 PPARγ 是参与能量代谢调节的关键靶点。分子对接及层次聚类显示黄芪成分对 SIRT1 及 PPARγ 具有较好的靶向性，结合分子对接打分值筛选出 3 个代表性化合物进行体外实验验证；槲皮素、山柰酚能够促进 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞能量代谢。结合模式分析表明，槲皮素、山柰酚与 SIRT1、PPARγ 之间具有较好的结合能力。**结论** 本研究通过中医药化学生物信息学方法初步阐释了黄芪调节能量代谢的物质基础和生物机制，为黄芪通过“补气”发挥行滞通痹功效的中医内涵提供了科学依据。

关键词：黄芪；补气；能量代谢；化学生物信息学

中图分类号：R966　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1007-7693(2023)14-1906-11

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20222530

引用本文：后叶虎，邱璐，靳晓杰，等. 基于化学生物信息学方法探讨黄芪通过调节能量代谢发挥“补气”功效的物质基础和分子机制[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(14): 1906-1916.

Exploration on Material Basis and Molecular Mechanism of Astragali Radix Exerting the Effect of “Invigorating Qi” Through Regulating Energy Metabolism Based on Chemo-bio Informatics Methods

HOU Yehu[a], QIU Lu[a], JIN Xiaojie[a,b*], ZHANG Min[b], LIN Jia[b], LIU Wei[b], WEI Benjun[a], YAO Juan[a,b], LI Yaling[a], LIU Yongqi[a,c*] (*Gansu University of Chinese Medicine, a.Gansu University Key Laboratory for Molecular Medicine & Chinese Medicine Prevention and Treatment of Major Diseases, b.School of Pharmacy, c.Key Laboratory of Dunhuang Medicine, Ministry of Education, Lanzhou 730000, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explain the material basis and biological mechanism of Astragali Radix’s “invigorating Qi” effect to regulate energy metabolism. **METHODS** The TCMSP database and literature search collected potential active components of Astragali Radix, the SEA database performed target prediction based on structural similarity, and the GeneCards, OMIM, and TTD databases obtained energy metabolism targets. Cytoscape software was used to construct protein-protein interaction network maps of Astragali Radix regulated energy metabolism targets, and GO and KEGG enrichment analyses were performed. Molecular docking and hierarchical cluster analysis were performed to evaluate the target-component affinity between the whole constituents of Astragali Radix and key targets, and the effects of representative compounds of Astragali Radix on the energy metabolism of H9C2 cardiomyocytes and GES-1 gastric epithelial cells were detected, and the binding mode analysis was conducted. **RESULTS** Network pharmacology results showed that there were 126 potential targets of Astragali Radix regulating energy metabolism. GO and KEGG enrichment analysis showed that Astragali Radix regulating energy metabolism might be related to gene expression of oxidation-reduction process, protein and enzyme synthesis. Among them, SIRT1 and PPARγ were key targets involved in the regulation of energy metabolism. Molecular docking and hierarchical clustering showed that Astragali Radix components had superior targeting to SIRT1 and PPARγ, and three representative compounds were selected for *in vitro* experimental verification in combination with molecular docking scores. Quercetin and kaempferol could promote energy

基金项目：甘肃省基础研究创新群体(20JR10RA332)；甘肃省自然科学基金项目(20JR10RA312)；2022 年度甘肃省高等学校产业支撑计划项目(2022CYZC-54)；国家自然科学基金青年基金项目(82104370)；甘肃省中医药研究中心开放课题(zyzx-2020-17)

作者简介：后叶虎，男，硕士生　E-mail: houyehu1897@163.com　***通信作者：**刘永琦，男，博士，教授　E-mail: liuyongqi73@163.com
靳晓杰，男，博士，副教授　E-mail: jinlovedream@163.com

metabolism in H9C2 cardiomyocytes and GES-1 gastric epithelial cells. The binding mode analysis showed that quercetin and kaempferol had preferable binding ability to SIRT1 and PPARγ. **CONCLUSION** In this study, the material basis and biological mechanism of Astragali Radix regulating energy metabolism are preliminarily explained by traditional Chinese medicine chemo-bio informatics methods, which provide a scientific basis for the connotation of Astragali Radix exerting the effect of stagnation and arthralgia through "invigorating Qi" in traditional Chinese medicine.
KEYWORDS: Astragali Radix; invigorating Qi; energy metabolism; chemo-bio informatics

黄芪为补药之长，尤善补气，疗诸脏之虚；《神农本草经》中将黄芪列为“上品”[1]，常用于治疗气虚乏力、表虚自汗、气虚水肿、血虚萎黄等[2]。自古以来，黄芪是最为推崇的补气药之一，《本草求真》称黄芪为“补气诸药之最”。补气作为黄芪的主功效，能补益人体正气，使气旺以促血行[3]。研究表明黄芪具有调节能量代谢作用[4-5]，可增强线粒体中 ATP 的生成[6-7]，促进人体机能活动，改善血液循环，促进组织修复。有临床研究对黄芪及黄芪类方补气功效、调节机体能量代谢等方面进行阐释，通过补气行血、改善微循环[8]，达到抵御病邪、行滞通痹的效果，但其物质基础及其作用机制尚不清楚。现代生物学认为能量是机体各种生命活动的推动力，能量之源线粒体则成为其内在“气”的象征[9]。在 *Science* 杂志推出的《中医专刊》中初步阐释了补气药具有促进能量代谢的功效[10]，已有研究表明补气药的多种成分具有纠正能量代谢的功能[11]，并通过揭示中药补气成分发挥补气功效调节能量代谢的作用机制[12]，进一步说明了补气功效与能量代谢的相关性。

目前，黄芪的研究多集中于疾病模型，从主功效出发对正常细胞能量代谢报道较少，缺乏对其发挥“补气”主功效科学内涵的阐释。黄芪擅补中焦，大补脾胃之气以资化源[13]，化生气血，灌注于心脉，心气充盛则心主血脉功能正常，得以濡养五脏六腑[14]。因此，选择与黄芪“补气”功效密切相关的胃上皮细胞和心肌细胞进行体外实验验证。通过检测细胞增殖率、线粒体活性及 ATP 生成验证黄芪发挥补气功效与能量代谢的关系[15]；基于课题组前期建立的挖掘中医药主功效化学生物信息学方法[16-17]，本研究将对黄芪发挥补气功效调节能量代谢的物质基础和生物机制进行化学生物信息学分析。

1 材料与方法

1.1 细胞来源与试剂

大鼠 H9C2 心肌细胞购自中国科学院细胞库。人胃上皮细胞株 GES-1 购自上海富衡生物科技有限公司。1640 培养基(Hyclone，货号：AF29520450)；胎牛血清(BI 公司，货号：1919555)；CCK-8 细胞增殖检测试剂盒(MCE 公司，货号：HY-K0301)；JC-10 细胞线粒体膜电位(mitochondrial membrance potential，MMP)活细胞荧光染料(美国 AAT 公司，货号：2191362)；ATP 含量检测试剂盒(Solarbio 公司，货号：BC0300)。山奈酚、槲皮素、异鼠李素(批号：HS20701B2，HR20119B1，HR131124B1)均购自陕西宝鸡辰光生物有限公司。

1.2 仪器

SKYJH-1112 二氧化碳培养箱(美国 Thermo)；FACSCelesta^{TM} 流式细胞仪(美国 BD 公司)；Epoch 酶标仪(美国 BioTek)。

1.3 化学生物信息学分析黄芪调节能量代谢的作用机制

1.3.1 化合物成分收集-靶点预测-交集网络构建 利用中药成分系统药理学数据库TCMSP[18]获取黄芪化合物成分，通过口服利用度(OB)≥ 30%，类药性(DL)≥0.18 筛选获得黄芪潜在活性化合物成分，并通过中国知网、万方数据库、PubMed 数据库检索国内外文献，纳入实验研究型文献中黄芪活性化合物[19]。SEA 数据库获取黄芪潜在活性化合物作用靶点。以“energy metabolism”为关键词进行检索，在 Genecards、TTD、OMIM 数据库中获得能量代谢靶点。其中 GeneCards 数据库中以相关性系数≥10[20]为标准进行筛选。将黄芪成分潜在靶点与能量代谢靶点取交集获取共有靶点，并导入 String 数据库，限定物种为“homo sapiens”，蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction，PPI)综合得分>0.700，构建 PPI 网络，并在 Cytoscape 3.7.2 软件进行可视化和复杂网络分析。

1.3.2 生物学过程和通路富集分析 将黄芪调节能量代谢潜在作用靶点导入生物学信息注释数据库 DAVID[21]中，Select identifier 设置为“official gene symbol”，List type 设置为“gene list”，限定物种为“homo sapiens”，阈值 P<0.05。进行基因本体论(Genetic Ontology，GO)功能分析和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes

and Ggenomes，KEGG)通路富集分析[22]。

1.3.3 分子对接及层次聚类分析 将收集到的黄芪化合物结构导入 Schrödinger 2020-4 软件，利用 LigPrep 模块，采用 OPLS_2005 力场进行结构优化，Epik 28 以 pH (7.0±2.0)为条件分配电离状态。选择 SIRT1(PDB ID：4I5I)[23]及 PPARγ(PDB ID：2VST)[24]晶体结构作为分子对接的受体。利用 PrepWiz 模块进行蛋白优化并生成格点文件。使用 Glide 的标准精度方法进行分子对接。采用 R 语言对分子对接筛选到的潜在靶向活性化合物的结构进行最长距离法的层次聚类分析。

1.4 细胞培养及浓度筛选

选择生长状态良好的 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞，将细胞以每孔 5×10^3 个接种到 96 孔板中，至对数期进行实验[25]，每组设置 5~6 个复孔。选择 0，5，10，20 μmol·L^{-1} 山奈酚[26-27]、槲皮素[28-29]、异鼠李素处理 24 h 后，弃培养基，每孔加入 90 μL 新鲜培养基和 10 μL CCK-8 溶液，于恒温培养箱中避光孵育 1 h，全波长酶标仪测波长 450 nm 下各孔 OD 值[30]，并计算细胞增殖率。

1.5 流式细胞术检测细胞 MMP

取细胞悬液接种到 6 孔板内，分别用山奈酚、槲皮素及异鼠李素干预 24 h，镜下观察后用胰酶消化细胞，收集细胞到 EP 管中，再加入 MMP 荧光染料，37 ℃避光孵育 30 min，使用流式细胞仪检测细胞 MMP。

1.6 ATP 试剂盒检测 ATP 含量

前期处理同“1.5”项，收集细胞至离心管中加入 ATP 提取液，超声波破碎 1 min，10 000 ×g 离心 10 min，取上清液至另一 EP 管中，加入 500 μL 的氯仿充分震荡混匀，10 000 ×g 离心 3 min，取上清，置冰上用 ATP 检测试剂盒检测 ATP 含量。

1.7 统计学处理

应用 SPSS 25.0 统计软件分析。结果采用 $\bar{x}\pm s$ 表示。全部试验重复次数≥3 次，多组间均数的比较采用 one-way ANOVA，P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 化学生物信息学分析黄芪调节能量代谢的作用机制

2.1.1 黄芪调节能量代谢关键靶点筛选及 PPI 网络分析 利用 TCMSP 数据库共检索到黄芪化合物成分 87 个，通过口服利用度(OB)≥30%，类药性(DL)≥0.18 筛选后获得 20 个潜在活性成分。并通过文献检索，补充了黄芪甲苷[31]、龙胆黄素[32]、大黄素[33]、熊果酸[34]、汉黄芩素[35]、芒柄花苷[36]、香草酸[37]、异槲皮素[38]、大豆苷元[39]、没食子酸[40]、大豆皂苷[41]、β-谷甾醇[42]、胡萝卜苷[43]、甘草查尔酮 B[44]、金雀异黄酮[45]和黄豆黄素[46]等 16 个文献报道的活性成分。SEA 数据库预测潜在活性成分靶点 1 085 个。在 Genecards、TTD、OMIM 数据库中，以“energy metabolism”为关键词，筛选获得能量代谢靶点 512 个。黄芪化合物靶点与能量代谢靶点取交集后获得黄芪调节能量代谢潜在作用靶点 126 个(图 1A)。将黄芪调节能量代谢的潜在作用靶点导入 String 数据库获得 PPI 关系，在 Cytoscape3.7.2 中构建 PPI 网络，并使用 MCODE 插件进行模块化分析，得到由 113 个关键靶点构成的 5 个子网络(图 1B)，图中节点代表蛋白，边代表蛋白之间的相互关系。

MTOR[47](mammalian target of rapamycin)、TLR4[47](toll like receptor 4)、SIRT1[48](sirtuin-1)、PPARG[49](peroxisome proliferator-activated receptors γ)等形成的子网络主要与细胞能量代谢、生物合成、炎症过程有关。CYP11B2(aldosterone synthase)、CYP2C19(cytochrome P450 2C19)、HSD11B2(corticosteroid 11-beta-dehydrogenase 2)等形成的子网络主要与药物代谢、激素分泌等有关。ESR1(estrogen seceptor 1)、ACE(angiotensin-converting enzyme)、HK1/2(hexokinase1/2)等形成的子网络主要与生殖发育、细胞代谢等过程的调节有关。以 MT-ND[50](mitochondrial DNA)等形成的子网络主要与线粒体产生能量和其他代谢发挥重要作用。PIK3CA(PI3-kinase alpha)、IGF1R(insulin like growth factor 1 receptor)、APP(Amyloid beta A4 protein)等形成的子网络主要与细胞合成代谢、信号传递等有关。

SIRT1、PPARγ 在黄芪调节能量代谢的关键靶点网络模块分析中度值排名前 10。SIRT1 作为一种能量代谢的关键感应器，能够直接将细胞代谢状态与基因表达调控联系起来[51]，从而在细胞能量代谢中发挥重要的生物功能[52]。PPARγ 是能量平衡的关键调节因子[53]，主要调节脂肪细胞的分化、脂质储存和胰岛素敏感性，在调节脂质生物合成和能量平衡中起关键作用[54]。综合考虑 113 个关键靶点形成 PPI 网络的功能及成药性，最终选

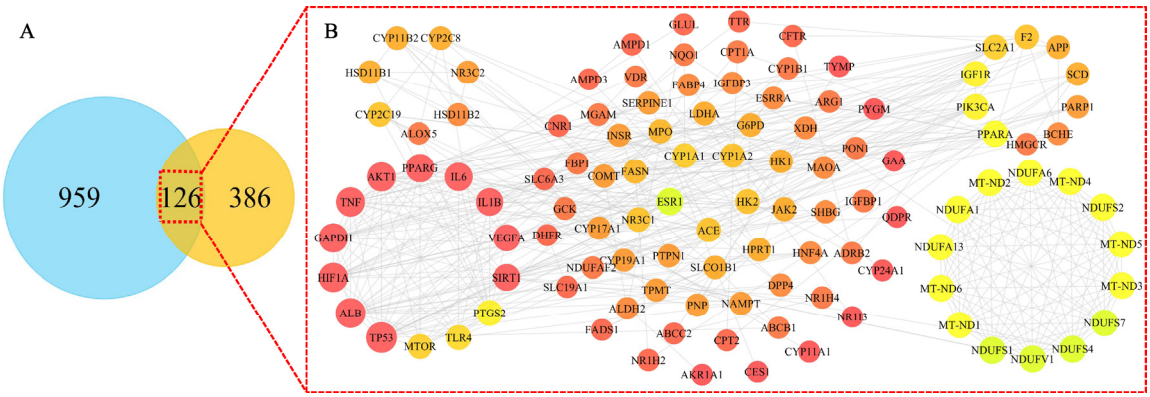

图 1 黄芪成分靶点与能量代谢靶点韦恩图(A)和 PPI 模块化分析网络图(B)

Fig. 1 Venn diagram(A) and PPI modular analysis network diagram(B) of Astragali Radix component targets and energy metabolism targets

择成药性靶点 SIRT1 和 PPARγ 作为黄芪调节能量代谢靶向成分分子对接的靶点。

2.1.2 黄芪调节能量代谢关键靶点的 GO 功能富集分析和KEGG通路富集分析 利用DAVID数据库对黄芪调节能量代谢作用靶点进行 GO 功能富集分析及 KEGG 通路富集分析。生物过程主要涉及 RNA 聚合酶 II 启动子(RNA polymerase II promoter)及药物反应(response to drug)等；细胞组分主要涉及胞质(cytosol)及膜的组成部分(integral component of membrane)等；分子功能主要涉及蛋白结合(protein binding)。各类别 count 值排名前 10 的 GO 分析见图 2A，结果表明调节生物合成和细胞代谢等可能是黄芪发挥补气功效的生物学途径。

KEGG 通路富集分析结果显示，存在代谢通路(metabolic pathways)、糖尿病性心肌病(diabetic cardiomyopathy)、AMPK 信号通路(AMPK signaling pathway)等信号通路，count 值排名前 20 的 KEGG 通路见图 2B。其中，代谢通路、AMPK 信号通路与能量代谢直接相关，代谢是机体生命活动的基本特征，包括能量代谢与物质代谢；AMPK 则被称作是能量代谢感受器，通过激活下游 PPAR、PGC-1α 介导能量代谢途径，维持细胞 ATP 水平，调控能量平衡[55]。AMPK/SIRT1/PGC-1α 信号通路能够改善线粒体能量代谢，减轻氧化应激[56]。结果表明黄芪可通过氧化应激、蛋白质合成、葡萄糖代谢等通路参与能量代谢调节来发挥补气作用。

2.1.3 分子对接及层次聚类分析 为了验证黄芪成分与 SIRT1、PPARγ 之间是否具有靶向性，本研究选择成药性靶点 SIRT1、PPARγ 的晶体结构与黄芪的 99 个成分进行分子对接，使用 R 语言的 hclust 函数对分子对接结果进行最长距离法的层次聚类分析，结果见图 3。图中颜色越红表示化合物与靶点的结合能力越好，从对接数据层面反映出黄芪不同成分对 SIRT1、PPARγ 具有一定的靶向性。

本研究认为打分值≤−5 的成分具有潜在活性，与 SIRT1、PPARγ 靶点打分值排名前 20 的化合物见表 1。其中共有成分槲皮素、山柰酚、异鼠李素打分值较高。研究表明，槲皮素可通过调节能量和脂质代谢、增强抗氧化防御系统[57]；山柰酚可以减轻线粒体功能障碍和减少线粒体活性氧的产生[58]；异鼠李素更是被证明具有保护心血管、抗氧化等多种作用[59]。但槲皮素、山柰酚、异鼠李素作为黄芪代表性成分，在探究正常细胞能量代谢方面缺乏中医药化学生物信息学分析，因此本研究选择槲皮素、山柰酚、异鼠李素进行体外实验验证。

2.2 黄芪潜在代表性成分调节能量代谢实验验证

2.2.1 槲皮素、山柰酚、异鼠李素对 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞增殖能力的影响 通过 CCK-8 法检测槲皮素、山柰酚、异鼠李素溶液干预 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞 24 h 后对其增殖能力的影响。结果显示，与空白对照组相比，20 μmol·L^{-1} 的槲皮素、山柰酚溶液对 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞均有明显的增殖作用(P<0.05 或 P<0.01)，结果见图 4。选取 20 μmol·L^{-1} 的槲皮素、山柰酚来干预 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞，观察线粒体活性及 ATP 生成的变化。

2.2.2 槲皮素、山柰酚对 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞线粒体膜电位的影响 通过流式细胞术检测 20 μmol·L^{-1} 槲皮素、山柰酚对 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞干预 24 h 后线粒体膜电位的影响。结果显示，与空白对照组相比，20 μmol·L^{-1}

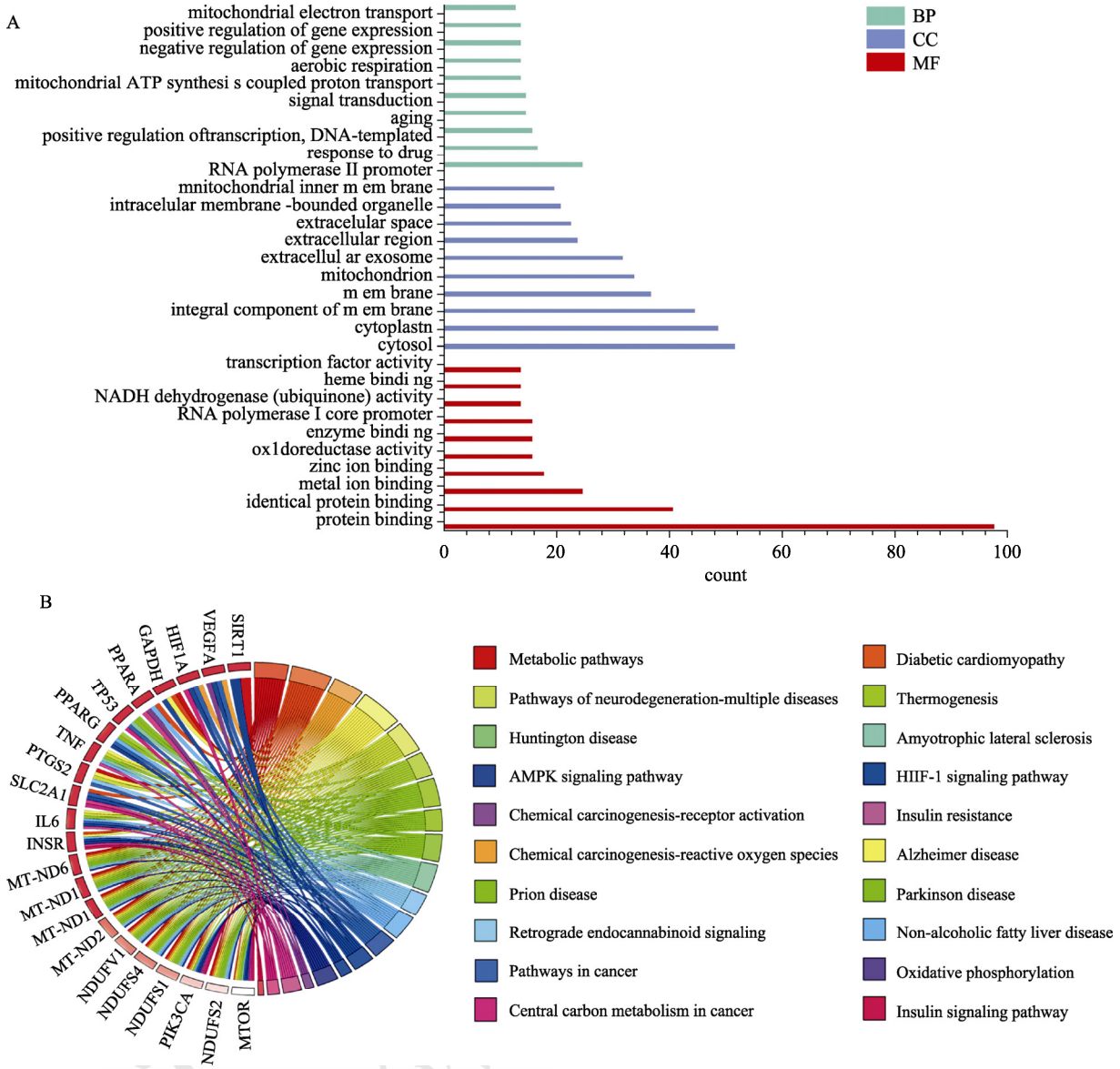

图 2　黄芪调节能量代谢关键靶点 GO 功能富集分析(A)和 KEGG 通路富集分析(B)

Fig. 2　GO functional enrichment analysis(A) and KEGG pathway enrichment analysis(B) of key targets of Astragali Radix regulating energy metabolism

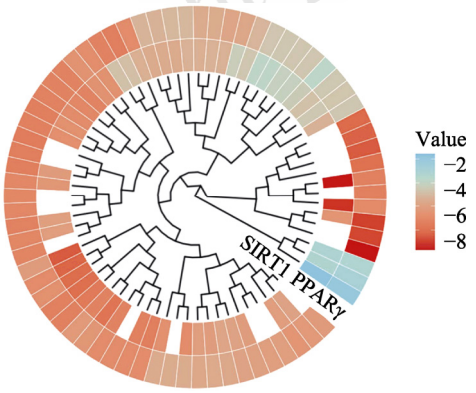

图 3　黄芪 99 个成分与 SIRT1、PPARγ 分子对接的层次聚类分析

Fig. 3　Hierarchical cluster analysis of 99 components of Astragali Radix docking with SIRT1 and PPARγ molecules

槲皮素、山奈酚干预 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞后线粒体膜电位均有升高，而 20 μmol·L^{-1} 槲皮素干预 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞后线粒体膜电位升高明显，20 μmol·L^{-1} 山奈酚干预 H9C2 心肌细胞线粒体膜电位升高明显，差异有统计学意义(P<0.05 或 P<0.01)，结果见图 5。实验表明槲皮素、山奈酚能够增加 H9C2 心肌细胞、GES-1 线粒体活性，改善细胞能量代谢。

2.2.3　槲皮素、山奈酚对 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞 ATP 含量的影响　利用 ATP 试剂盒检测槲皮素、山奈酚对 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞 ATP 含量的影响。结果显示，与空白对照组相比，20 μmol·L^{-1} 槲皮素、山奈酚干预 H9C2 心肌

表 1 黄芪化合物与 SIRT1、PPARγ 对接结果

Tab. 1 Docking results of Astragali Radix compounds with SIRT1 and PPARγ

靶点名称	化合物	对接打分	靶点名称	化合物	对接打分
SIRT1	叶酸(FA)	–9.59	PPARγ	芦丁(Rutin)	–9.64
SIRT1	大黄素(Emodin)	–9.11	PPARγ	3’-Hydroxy-4’-methoxyisoflavone-7-*O*-beta-D-glucoside	–8.87
SIRT1	龙胆黄素(Gentisin)	–8.38	PPARγ	5’-Hydroxyiso-muronulatol-2’,5’’-di-*O*-glucoside_qt	–8.76
SIRT1	落叶松树脂醇(Lariciresinol)	–8.18	PPARγ	Rhamnocitrin-3-*O*-glucoside	–8.38
SIRT1	5,6,2’,4’-四羟基二氢异黄酮(5,6,2’,4’-Tetrahydroxyisoflavone)	–7.95	PPARγ	维生素 B2(Flavaxin)	–8.21
SIRT1	黄豆黄素(Glycitein)	–7.62	PPARγ	异懈皮苷(Hirsutrin)	–8.09
SIRT1	尖剑豆酚(Mucronulatol)	–7.51	PPARγ	Isomucronulatol-7,2’-di-*O*-glucosiole	–7.83
SIRT1	刺芒柄花素(Formononetin)	–7.30	PPARγ	Dimethoxypterocarpan-3-*O*-*β*-*D*-glucoside	–7.38
SIRT1	大豆苷元(Daidzein)	–7.08	PPARγ	芒柄花苷(Ononin)	–7.29
SIRT1	鼠李柠檬素(Rhamnocitrin)	–7.05	PPARγ	7,2’-dihydroxy-3’,4’-dimethoxyisoflavone-7-*O*-*β*-*D*-glucoside	–7.27
SIRT1	异甘草素(Isoliquiritigenin)	–7.02	PPARγ	槲皮素(Quercetin)	–7.25
SIRT1	绿原酸(Heriguard)	–6.87	PPARγ	常春藤皂苷元(Hederagenin)	–7.22
SIRT1	山奈酚(Kaempferol)	–6.71	PPARγ	叶酸(FA)	–7.19
SIRT1	异鼠李素(Isorhamnetin)	–6.56	PPARγ	异鼠李素(Isorhamnetin)	–7.18
SIRT1	槲皮素(quercetin)	–6.54	PPARγ	5,6,2’,4’-四羟基二氢异黄酮(5,6,2’,4’-Tetrahydroxyisoflavone)	–7.16
SIRT1	咖啡酸(Caffeate)	–6.50	PPARγ	Mucronulatol	–7.16
SIRT1	华良姜素(Jaranol)	–6.48	PPARγ	山奈酚(Kaempferol)	–7.15
SIRT1	美迪紫檀素(Methylnissolin)	–6.47	PPARγ	金雀异黄酮(Genistein)	–7.13
SIRT1	毛蕊异黄酮苷(Calycosin-7-*O*-*β*-D-glucoside)	–6.35	PPARγ	Astraisoflavanin	–7.09
SIRT1	毛蕊异黄酮(Calycosin)	–6.24	PPARγ	(*Z*)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-en-1-one	–7.07

注：以分子量<500，氢键给体数目<5，氢键受体数目<10，脂水分配系数<5，可旋转键的数量≤10 为筛选条件，选取各靶点对接打分前 20 化合物进行信息汇总。

Note: Molecular weight<500, hydrogen bond donors<5, hydrogen bond acceptors<10, lipid-water partition coefficient<5, number of rotatable bonds≤10 was the screening condition, and the information of each targets first 20 points was selected to summarize.

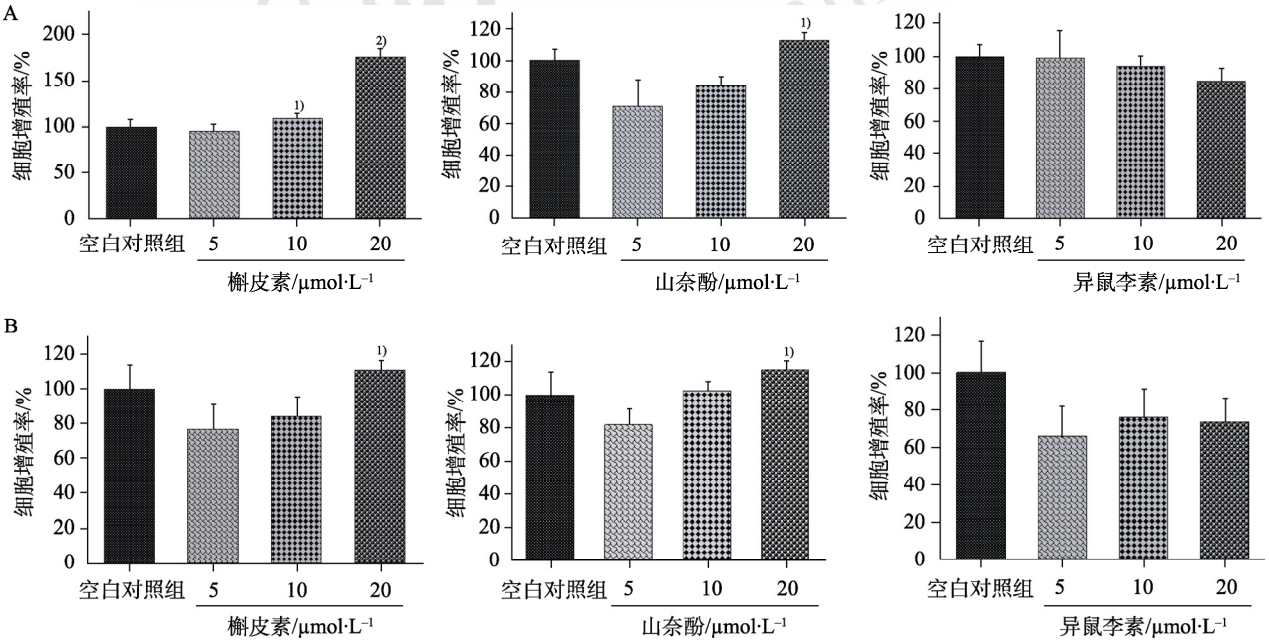

图 4 黄芪潜在代表性成分对 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞增殖率的影响

A–槲皮素、山奈酚、异鼠李素对 H9C2 心肌细胞增殖率的影响；B–槲皮素、山奈酚、异鼠李素对 GES-1 胃上皮细胞增殖率的影响；与空白对照组相比，$^{1)}P<0.05$，$^{2)}P<0.01$。

Fig. 4 Effect of potential representative components of Astragali Radix on the proliferation rate of H9C2 cardiomyocytes and GES-1 gastric epithelial cells

A–effect of quercetin, kaempferol and isorhamnetin on proliferation rate of H9C2 cardiomyocytes; B–effect of quercetin, kaempferol and isorhamnetin on proliferation rate of GES-1 gastric epithelial cells; compared with the blank control group, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$.

细胞、GES-1 胃上皮细胞 24 h 后，H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞 ATP 含量均升高明显，差异有统计学意义(P<0.05 或 P<0.01)，见图 6。表明槲皮素、山奈酚能够促进 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞 ATP 生成。

2.3 黄芪潜在代表性成分的结合模式分析

为了进一步明确化合物与药物靶点之间的结合模式，对槲皮素、山奈酚分别与 SIRT1、PPARγ 进行结合模式分析。槲皮素、山奈酚均与靶蛋白 SIRT1 的残基 PHE-273 和 HIS-363 之间存在 π-π 相互作用。山奈酚与残基 PHE-297 之间也存在 π-π 相互作用，见图 7A~B。槲皮素、山奈酚均与靶蛋白 PPARγ 的残基 GLU-295 之间存在氢键作用见图 7C~D。通过结合模式分析表明，在分子层面上所选化合物与靶蛋白之间具有较好的结合能力。

3 讨论

黄芪，味甘、性微温，归脾、肺经，除了具有补气升阳、固表止汗、利水消肿、生津养血等功效外[60]，中国药典 2010 年版中还加入了行滞通痹的功效。现代药理学研究发现黄芪在调节免疫、抗肿瘤、抗衰老及调节能量代谢等方面发挥重要作用[61-62]。改善能量代谢可能是治疗气虚证的药理基础，龙专等[63]以“气-能量”为切入点，对气虚-心肌能量代谢重塑进行了中西结合理论探讨。韩晶岩[64]通过阐释心气虚血瘀的科学内涵，通过发挥黄芪类复方补气活血、行滞通痹的作用，改善心脏微循环障碍、心肌能量代谢异常和氧化应激损伤。可见，补气功效更多地体现在调节能量代谢方面。

化学生物信息学作为新兴学科，在药物研究中应用广泛[65]，尤其在中医药研究中为探究中药发挥功效的物质基础和生物机制提供科学依据。因此，基于黄芪发挥补气功效多成分的治疗优势，本研究选择与补气密切相关的正常心肌细胞、胃上皮细胞进行实验验证[66-67]。心脏是人体主要的耗能器官，心肌细胞充足的能量供应是维持心脏自身需求与泵血功能的保证[68]。越来越多的证据表明改善心肌细胞能量代谢可以使心脏病患者临床获益[69]。现代药理学研究表明，黄芪通过调理气机来改善胃动力并保护胃黏膜[70-71]。而胃黏膜的更新和防护很大程度上取决于胃上皮细胞的增殖和代谢，胃上皮细胞线粒体损伤及 ATP 生成障碍时，脾胃的能量代谢功能受到影响。

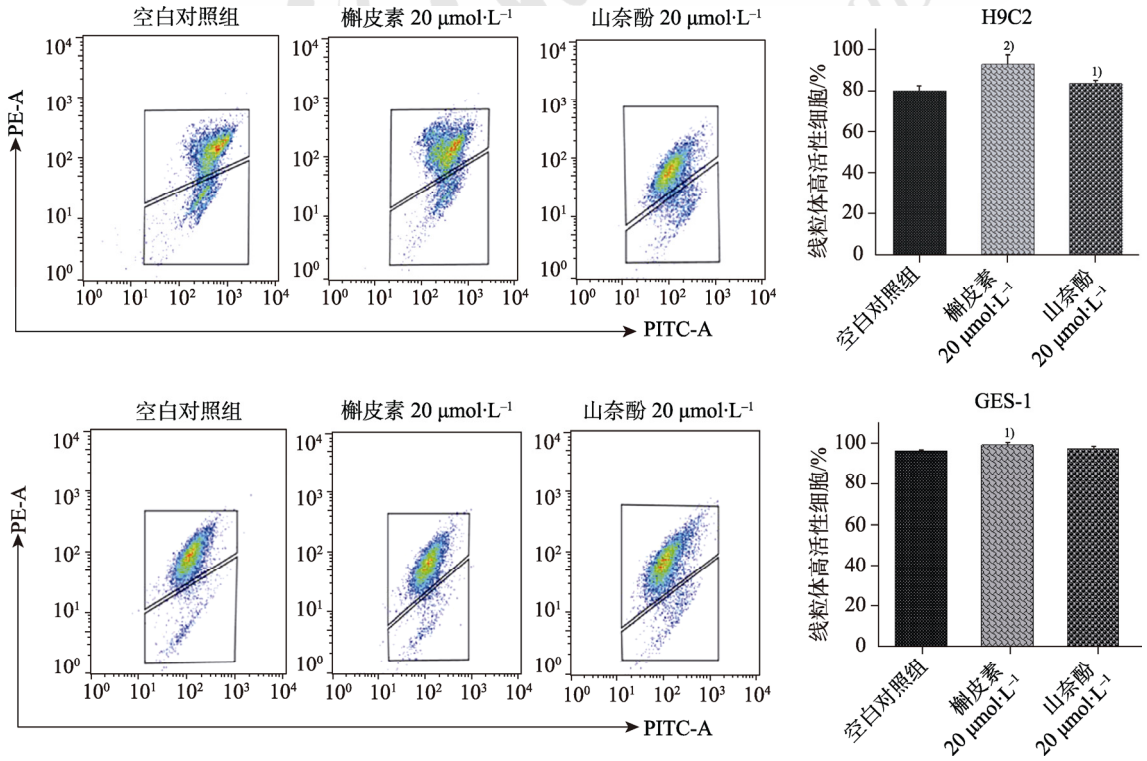

图 5 槲皮素、山奈酚对 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞线粒体膜电位的影响

与空白对照组相比，[1)]P<0.05，[2)]P<0.01。

Fig. 5 Effects of quercetin and kaempferol on mitochondrial membrane potential in H9C2 cardiomyocytes and GES-1 gastric epithelial cells

Compared with the blank control group, [1)]P<0.05, [2)]P<0.01.

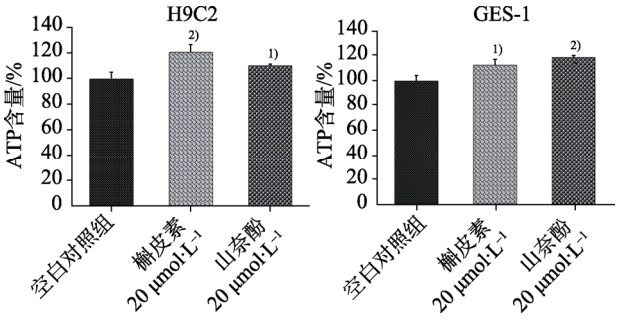

图 6 槲皮素、山柰酚对 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞 ATP 生成的影响

与空白对照组相比，$^{1)}P<0.05$，$^{2)}P<0.01$。

Fig. 6 Effects of quercetin and kaempferol on ATP production in H9C2 cardiomyocytes and GES-1 gastric epithelial cells

Compared with the blank control group, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$.

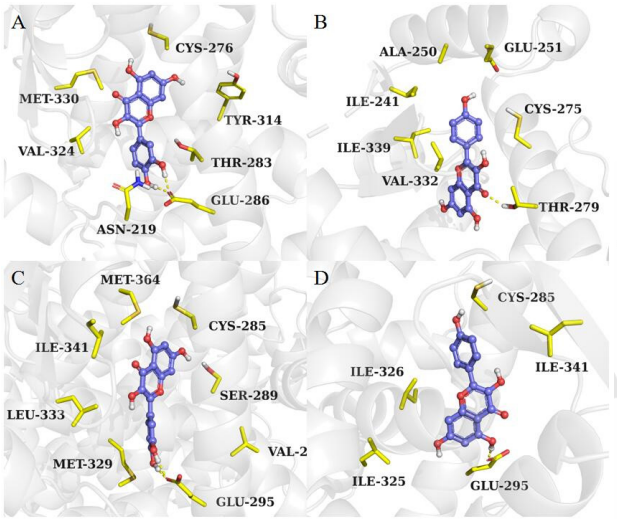

图 7 黄芪潜在代表性成分与核心靶点的结合模式图

A–槲皮素与 SIRT1 相互作用；B–山柰酚与 SIRT1 相互作用；C–槲皮素与 PPARγ 相互作用；D–山柰酚与 PPARγ 相互作用；其中，黄色虚线代表氢键相互作用，红色虚线代表 π-π 作用。

Fig. 7 Binding pattern diagram of potential representative components of Astragali Radix to core targets

A–quercetin interacts with SIRT1; B–kaempferol interacts with SIRT1; C–quercetin interacts with PPARγ; D–kaempferol interacts with PPARγ; where yellow dashed lines represented hydrogen bond interactions and red dashed lines represented π-π interactions.

本研究通过网络药理学分析结果表明黄芪成分可能通过线粒体氧化磷酸化、能量平衡和生物合成的成药性靶点 SIRT1、PPARγ 发挥调节能量代谢作用；GO 和 KEGG 富集分析表明黄芪可能通过氧化还原过程、细胞代谢等发挥调节能量代谢的作用。细胞的能量代谢通过线粒体氧化磷酸化产生 ATP 在细胞的生物合成过程中发挥重要作用[72]，如糖异生、脂质和蛋白质合成等都需要依赖能量 ATP 的调控作用[73]。因此，促进细胞生物合成、代谢等，进而达到调节能量代谢的作用。

通过黄芪全成分与能量代谢靶点 SIRT1、PPARγ 进行分子对接和聚类分析，结果显示黄芪对于 SIRT1、PPARγ 具有明显的靶向性，根据共有化合物对接打分及网络药理学分析选择槲皮素、山柰酚、异鼠李素进行体外实验。体外实验表明槲皮素、山柰酚能够促进 H9C2 心肌细胞、GES-1 胃上皮细胞增殖，增加细胞线粒体活性和 ATP 含量。结合模式分析表明，槲皮素、山柰酚与靶蛋白 SIRT1、PPARγ 之间具有较好的结合能力。此外，已有研究表明槲皮素对心肌细胞的保护作用被证实与改善线粒体功能损伤具有重要相关性[74]；在胃上皮细胞中，槲皮素可显著降低细胞内活性氧和恢复 H_2O_2 诱导的线粒体膜电位耗散，这可能归因于其抑制氧化应激、调节线粒体功能障碍和抑制细胞凋亡[75]。山柰酚可利用线粒体依赖途径对抗阿霉素诱导的心脏毒性[76]。这些研究均表明槲皮素、山柰酚具有很广泛的药理学活性，并作为一种有前景的化合物对心脏及胃黏膜的能量代谢调节具有重要意义和应用前景。

综上所述，本研究在黄芪调节能量代谢体外实验验证基础上，通过化学生物信息学方法阐明黄芪发挥补气功效调节能量代谢的物质基础和生物机制，为黄芪发挥补气功效的研究应用提供一定的借鉴和参考。基于此，应对黄芪防治优势病种的科学原理进行深入研究，借助中医药化学生物信息学联合多组学、化学生物学等方法，进一步探索黄芪的药理作用机制。

REFERENCES

[1] 谢席胜, 汪明. 冯志荣应用黄芪经方治疗肾脏病经验[J]. 四川中医, 2015, 33(4): 1-2.

[2] 中国药典. 一部[S]. 2020: 315.

[3] ZHANG H, WANG Y L, LIU Q Y, et al. The application of drug pair of Huangqi(*Astragalus*) in prescription compatibility[J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm(中医药导报), 2016, 22(16): 52-54.

[4] JIN Y C, CHEN Q, LI X, et al. Astragali Radix protects myocardium from ischemia injury by modulating energy metabolism[J]. Int J Cardiol, 2014, 176(3): 1312-1315.

[5] YU W C, ZHAO H J, ZONG X, et al. The effects of Radix Astragali water abstract on energy metabolism in rat Yang-deficiency cold syndrome model through PPAR signaling pathway[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2018(2018): 9194362.

[6] KO K M, LEON T Y, MAK D H, et al. A characteristic pharmacological action of 'Yang-invigorating' Chinese tonifying herbs: Enhancement of myocardial ATP-generation capacity[J]. Phytomedicine, 2006, 13(9/10): 636-642.

[7] LEONG P K, WONG H S, CHEN J H, et al. Yang/Qi invigoration: An herbal therapy for chronic fatigue syndrome with Yang deficiency?[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015(2015): 945901.
[8] 阴永辉, 辛颖倩, 董楠, 等. 黄芪类方在黄芪体质糖尿病患者中的临床应用[J]. 山东中医杂志, 2021, 40(12): 1368-1372.
[9] LIN F, GUO L L, WANG J. Expounding the functions of qi in TCM based on the effect of mitochondria[J]. Chin J Integr Tradit West Med(中国中西医结合杂志), 2014, 34(8): 903-906.
[10] WANG Y H, XU A L. Zheng: A systems biology approach to diagnosis and treatments[J]. Science, 2014, 346(6216): S13-S15.
[11] JIANG W R, WANG J. Relationship between pectoral qi and myocardial mitochondria in patients with chronic heart failure[J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2017, 32(5): 2084-2086.
[12] 韩晶岩. 芪参益气滴丸补气活血和补气固摄的作用机理[C]//2013 年中国药学大会暨第十三届中国药师周报告集. 南宁: 中国药学会, 2013: 429-430.
[13] WANG Q, ZHOU S Q, LIU F, et al. Medication rules of national TCM master Liu Zuyi's prescriptions with Astragal Radix based on data mining[J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol(世界科学技术-中医药现代化), 2019, 21(6): 1257-1263.
[14] WANG W S, LIU S Z, WANG P. Preliminary study on the theory of treating senile encephalopathy from 'blood is the spirit' in Huangdi Neijing[J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2021, 36(8): 4595-4598.
[15] ZHANG M, WANG X D. Effect and mechanism of astragaloside Ⅳ on energy metabolism reprogramming induced by hypoxia/reoxygenation in rat cardiomyocytes[J]. Shandong Med J(山东医药), 2021, 61(31): 13-16.
[16] LI L, JIN X J, LI J W, et al. Systematic insight into the active constituents and mechanism of Guiqi Baizhu for the treatment of gastric cancer[J]. Cancer Sci, 2021, 112(5): 1772-1784.
[17] LIN J, YAO J, ZHANG M, et al. Material basis and molecular mechanism of Angelicae Sinensis Radix in activating blood: Based on computer-aided drug design[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2022, 47(7): 1942-1954.
[18] RU J L, LI P, WANG J N, et al. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform, 2014(6): 13.
[19] ZHANG M, QIU L, LIN J, et al. Explore the molecular mechanism of treating osteoarthritis with Huoluo pill based on computer aided drug design and network pharmacology[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2022, 39(4): 450-460.
[20] XIONG Z C, ZHENG C, CHANG Y N, et al. Exploring the pharmacological mechanism of Duhuo jisheng decoction in treating osteoporosis based on network pharmacology[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021(2021): 5510290.
[21] HUANG D W, SHERMAN B T, LEMPICKI R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. Nat Protoc, 2009, 4(1): 44-57.
[22] JIN X J, WANG Y R, WANG Y, et al. Explore the material basis of treating pulmonary fibrosis with Yifei Jianpi prescription based on network pharmacology, molecular docking and chemical informatics[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2020, 37(8): 897-906.
[23] ZHAO X, ALLISON D, CONDON B, et al. The 2.5 Å crystal structure of the SIRT1 catalytic domain bound to nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+) and an indole (EX527 analogue) reveals a novel mechanism of histone deacetylase inhibition[J]. J Med Chem, 2013, 56(3): 963-969.
[24] ITOH T, FAIRALL L, AMIN K, et al. Structural basis for the activation of PPARgamma by oxidized fatty acids[J]. Nat Struct Mol Biol, 2008, 15(9): 924-931.
[25] JIN J, DONG X G, LIU L, et al. Study on mechanism of Shenqi Yixin formula in inhibiting adriamycin induced apoptosis of rats H9c2 cells[J]. Chin J Integr Tradit West Med(中国中西医结合杂志), 2021, 41(6): 729-735.
[26] WANG C, GUO C L, LI X, et al. Protective effects of Kaempferol on hypoxic injury of myocardial cells through activation of mTOR pathway[J]. Chin J Immunol(中国免疫学杂志), 2019, 35(7): 781-785.
[27] ZHAO X S. Effect of kaempferol on apoptosis of rat cardiomyocyte H9c2[D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2019.
[28] LUO Y W. Effects of quercetin on homocysteine-induced apoptosis of H9C2 cardiomyocytes[D]. Luzhou: Southwest Medical University, 2017.
[29] HUO K Y, CHANG H, WANG Y, et al. Protective mechanism of quercetin on oxidative injury in H9C2 cardiomyocytes[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2016, 22(15): 122-127.
[30] LIU Y F. The protection of lncRNA SNHG8 on hypoxia-reoxygenation H9C2 cell injury[D]. Nanchang: Nanchang University, 2021.
[31] XIAO L, DAI Z W, TANG W J, et al. Astragaloside IV alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury through NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis inhibition via activating Nrf2[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021(2021): 9925561.
[32] ŠOBOT A V, DRAKULIĆ D, JOKSIĆ G, et al. Yellow Gentian root extract provokes concentration- and time-dependent response in peripheral blood mononuclear cells[J]. Arh Hig Rada Toksikol, 2020, 71(4): 320-328.
[33] CUI Y, CHEN L J, HUANG T, et al. The pharmacology, toxicology and therapeutic potential of anthraquinone derivative emodin[J]. Chin J Nat Med, 2020, 18(6): 425-435.
[34] PARK H J, JO D S, CHOI D S, et al. Ursolic acid inhibits pigmentation by increasing melanosomal autophagy in B16F1 cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 531(2): 209-214.
[35] KHAN N M, HASEEB A, ANSARI M Y, et al. Wogonin, a plant derived small molecule, exerts potent anti-inflammatory and chondroprotective effects through the activation of ROS/ERK/Nrf2 signaling pathways in human Osteoarthritis chondrocytes[J]. Free Radic Biol Med, 2017(106): 288-301.
[36] MENG Y, JI J, XIAO X, et al. Ononin induces cell apoptosis and reduces inflammation in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes by alleviating MAPK and NF-κB signaling pathways[J]. Acta Biochim Pol, 2021, 68(2): 239-245.

[37] LUBBERS R J M, DILOKPIMOL A, NOUSIAINEN P A, et al. Vanillic acid and methoxyhydroquinone production from guaiacyl units and related aromatic compounds using *Aspergillus niger* cell factories[J]. Microb Cell Fact, 2021, 20(1): 151.

[38] CHEN H H, GONG S X, ZHANG T J, et al. Chemical constituents and pharmacological function of stems and leaves of Radix Astragali and their application[J]. Drug Eval Res(药物评价研究), 2011, 34(2): 134-137.

[39] XI L, WANG C, MA Y H, et al. A preliminary study of the protective effects of daidzein against cardiotoxicity induced by doxorubicin[J]. J Xuzhou Med Univ(徐州医科大学学报), 2021, 41(7): 475-479.

[40] KANPIENGJAI A, KHANONGNUCH C, LUMYONG S, et al. Co-production of Gallic acid and a novel cell-associated tannase by a pigment-producing yeast, *Sporidiobolus ruineniae* A45.2[J]. Microb Cell Fact, 2020, 19(1): 95.

[41] TSAI W T, NAKAMURA Y, AKASAKA T, et al. Soyasaponin ameliorates obesity and reduces hepatic triacylglycerol accumulation by suppressing lipogenesis in high-fat diet-fed mice[J]. J Food Sci, 2021, 86(5): 2103-2117.

[42] ZHOU Q, ZHANG K, LI F Q, et al. B-sitosterol alleviated inflammation response and fibrosis in rats with LPS-induced acute lung injury[J]. Med J West China(西部医学), 2022, 34(6): 813-818.

[43] WANG X P, WU L L, LI L L, et al. Protective effect of daucosterol on acute liver injury induced by concanavalin A[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2020, 37(19): 2305-2310.

[44] RAN F, WANG A H, YUAN X, et al. Apoptosis-inducing effect of licochalcone B on mouse melanoma and its mechanism[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2013, 19(9): 220-224.

[45] LIN Z J, YANG S L. Effect of genistein on the myocardial cell injury induced by hypoxia/reoxygenation by regulating the expression of $TAGLN_2$[J]. Anhui Med Pharm J(安徽医药), 2022, 26(3): 448-452.

[46] ZANG Y Q, FENG Y Y, LUO Y H, et al. Glycitein induces reactive oxygen species-dependent apoptosis and G0/G1 cell cycle arrest through the MAPK/STAT3/NF-κB pathway in human gastric cancer cells[J]. Drug Dev Res, 2019, 80(5): 573-584.

[47] LIU G Y, SABATINI D M. mTOR at the *Nexus* of nutrition, growth, ageing and disease[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(4): 183-203.

[48] DONG H W, ZHANG L F, BAO S L. AMPK regulates energy metabolism through the SIRT1 signaling pathway to improve myocardial hypertrophy[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(9): 2757-2766.

[49] CHENG H S, TAN W R, LOW Z S, et al. Exploration and development of PPAR modulators in health and disease: An update of clinical evidence[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(20): 5055.

[50] SHARMA P, SAMPATH H. Mitochondrial DNA integrity: Role in health and disease[J]. Cells, 2019, 8(2): 100.

[51] LI X L. SIRT1 and energy metabolism[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2013, 45(1): 51-60.

[52] REN Z H, HE H Y, ZUO Z C, et al. The role of different SIRT1-mediated signaling pathways in toxic injury[J]. Cell Mol Biol Lett, 2019(24): 36.

[53] CECIL J E, WATT P, PALMER C N, et al. Energy balance and food intake: The role of PPARγ gene polymorphisms[J]. Physiol Behav, 2006, 88(3): 227-233.

[54] YASUDA K. *PPARG* gene polymorphism and disease susceptibility[J]. Nihon Rinsho, 2010, 68(2): 194-200.

[55] LAU A W, LIU P D, INUZUKA H, et al. SIRT1 phosphorylation by AMP-activated protein kinase regulates p53 acetylation[J]. Am J Cancer Res, 2014, 4(3): 245-255.

[56] 《中成药治疗优势病种临床应用指南》标准化项目组. 中成药治疗膝骨关节炎临床应用指南(2020 年)[J]. 中国中西医结合杂志, 2021, 41(5): 522-533.

[57] LIU Y, ZHANG X, GUAN T, et al. Effects of quercetin on cadmium-induced toxicity in rat urine using metabonomics techniques[J]. Hum Exp Toxicol, 2020, 39(4): 524-536.

[58] HAN X J, ZHAO S N, SONG H, et al. Kaempferol alleviates LD-mitochondrial damage by promoting autophagy: Implications in Parkinson's disease[J]. Redox Biol, 2021(41): 101911.

[59] ZHAO T T, YANG T L, GONG L, et al. Isorhamnetin protects against hypoxia/reoxygenation-induced injure by attenuating apoptosis and oxidative stress in H9c2 cardiomyocytes[J]. Gene, 2018(666): 92-99.

[60] WANG C N, CHENG D Y, WANG J, et al. Research progress on bidirectional immunoregulation of Huangqi(Astragali Radix) and its compound preparations[J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2021, 39(5): 126-129.

[61] ZHENG Y J, REN W Y, ZHANG L N, et al. A review of the pharmacological action of *Astragalus polysaccharide*[J]. Front Pharmacol, 2020(11): 349.

[62] YANG F J, XIU M H, YANG S P, et al. Extension of *Drosophila lifespan* by *Astragalus polysaccharide* through a mechanism dependent on antioxidant and insulin/IGF-1 signaling[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021(2021): 6686748.

[63] LONG Z, OUYANG G, WANG M, et al. Discussion on the action mechanism of Mawangdui Daoyin therapy in chronic heart failure based on "Qi deficiency-energy metabolism remodeling"[J]. J Hunan Univ Chin Med(湖南中医药大学学报), 2020, 40(11): 1350-1354.

[64] HAN J Y. Scientific connotation of cardiac qi deficiency and stasis of blood, and the mechanism of qishen Yiqi dropping pills in invigorating Qi and activating blood[J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol(世界科学技术-中医药现代化), 2019, 21(2): 139-147.

[65] CAO D S. Studies on new methods of chemo-bio informatics and their applications to medicine[D]. Changsha: Central South University, 2013.

[66] YU Y, WANG S R, NIE B, et al. Effect of Astragali Radix injection on myocardial cell mitochondrial structure and function in process of reversing myocardial cell hypertrophy[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2012, 37(7): 979-984.

[67] 陆为民, 吴静, 沈洪, 等. 益气清热方对I型幽门螺杆菌感染

裸鼠胃黏膜 P53、Bcl-2 表达的影响[C]//第二十三届全国中西医结合消化系统疾病学术会议暨消化疾病诊治进展学习班论文汇编. 太原: 中国中西医结合学会, 2011: 358-361.
[68] STANLEY W C, RECCHIA F A, LOPASCHUK G D. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart[J]. Physiol Rev, 2005, 85(3): 1093-1129.
[69] LAI L, LEONE T C, KELLER M P, et al. Energy metabolic reprogramming in the hypertrophied and early stage failing heart: A multisystems approach[J]. Circ Heart Fail, 2014, 7(6): 1022-1031.
[70] 郭军鹏, 孟超, 刘宏岩. 补气中药对小鼠胃肠动力和激素水平的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(11): 2920-2921.
[71] LIN J Y, HUANG K E, QIN S M, et al. Effect of drug pair Huangqi-Gegen on protecting rat gastric mucosa from injury induced by indomethacin[J]. Tradit Chin Drug Res & Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2017, 28(1): 32-35.
[72] SHEN Y P, LIAO Y L, LU Q, et al. ATP and NADPH engineering of *Escherichia coli* to improve the production of 4-hydroxyphenylacetic acid using CRISPRi[J]. Biotechnol Biofuels, 2021, 14(1): 100.
[73] JIANG P, REN L J, ZHI L, et al. Negative regulation of AMPK signaling by high glucose via E3 ubiquitin ligase MG53[J]. Mol Cell, 2021, 81(3): 629-637.e5.
[74] CHEN X Y, PENG X P, LUO Y, et al. Quercetin protects cardiomyocytes against doxorubicin-induced toxicity by suppressing oxidative stress and improving mitochondrial function via 14-3-3γ[J]. Toxicol Mech Methods, 2019, 29(5): 344-354.
[75] HU X T, DING C, ZHOU N, et al. Quercetin protects gastric epithelial cell from oxidative damage *in vitro* and *in vivo*[J]. Eur J Pharmacol, 2015(754): 115-124.
[76] XIAO J, SUN G B, SUN B, et al. Kaempferol protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity *in vivo* and *in vitro*[J]. Toxicology, 2012, 292(1): 53-62.

收稿日期：2022-07-18
(本文责编：沈倩)

中国现代应用药学 http://www.chinjmap.com