

民间饮料植物红芽木叶抗急性肠胃炎作用机制研究

宋雅雅^{ab}, 龙春林^{abc}, 陈玮哲^b, 李昕阳^b, 冯丹丹^b, 刘立亚^{ab*}

(中央民族大学 a. 民族地区生态环境国家民委重点实验室; b. 生命与环境科学学院;
c. 民族医药教育部重点实验室, 北京 100081)

摘要 通过网络药理学和体外实验探讨了红芽木叶抗急性肠胃炎的作用机制. 结合文献和数据库筛选红芽木叶活性成分, 并搜集和筛选药物和疾病靶点; 绘制交集靶点的蛋白质相互作用网络图及红芽木叶有效成分与靶点网络图, 并进行GO富集分析和KEGG通路富集分析和分子对接. 体外实验检测了红芽木叶水提取物总酚和类黄酮含量及其体外抗氧化能力; 建立了脂多糖诱导的RAW264.7细胞炎症模型, 检测细胞培养基中NO、TNF- α 和IL-6的水平, 并检测了细胞内活性氧(ROS)水平, 利用Western Blot检测PI3K和Akt表达及磷酸化水平. 结果表明: 红芽木叶可通过Vismione D、Vismione B、Madagascine等关键成分, 作用于STAT3、SRC、PIK3CA等核心靶点, 调控PI3K-Akt信号通路等起到抗急性肠胃炎作用; 体外实验显示红芽木叶总酚和类黄酮含量高, 抗氧化能力强, 可降低细胞中的炎症因子释放和ROS水平, 抑制PI3K和Akt蛋白的磷酸化. 结论: 红芽木叶可能通过多成分、多靶点减轻细胞内氧化应激并抑制PI3K-Akt信号通路活化而发挥治疗急性肠胃炎的作用, 研究为红芽木的进一步开发利用提供了实验依据.

关键词 红芽木; 急性肠胃炎; 网络药理学; 氧化应激; PI3K-Akt信号通路

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1672-4321(2025)06-0817-09

doi: 10.20056/j.cnki.ZNMDZK.20250820

Cratoxylum formosum ssp. *pruniflorum* alleviates inflammatory response by ROS production and PI3K-Akt signaling pathway

SONG Yaya^{ab}, LONG Chunlin^{abc}, CHEN Weizhe^b, LI Xinyang^b, FENG Dandan^b, LIU Liya^{ab*}

(Minzu University of China, a. Key Laboratory of National Ethnic Affairs Commission of Ecology and Environment in Minority Areas; b. College of Life and Environmental Sciences; c. Key Laboratory of Ethnomedicine of Ministry of Education, Beijing 100081, China)

Abstract To investigate the mechanism of *Cratoxylum formosum* ssp. *pruniflorum* (CF) against acute gastroenteritis by using network pharmacology, molecular docking, and *in vitro* experimental validation. The active ingredients were collected by combining literatures and databases, and the disease targets of acute gastroenteritis were obtained. Next, the protein-protein interaction network and the "active ingredient of CF - target" network were mapped, then GO enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were performed. Additionally, molecular docking on the core targets and key components of CF were performed. *In vitro* experiments, the phenolic and flavonoid content of CF leaves were measured, and then antioxidant capacity of CF leaves was evaluated by DPPH, ABTS and FRAP methods. A lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation model of RAW264.7 cells was established to assess the anti-inflammatory activity of CF. The release of NO, TNF- α and IL-6 were detected by Griess method and ELISA method, respectively. The level of reactive oxygen species in the cells was measured also, and the expression and phosphorylation levels of Akt and PI3K were determined by West Blot. Network pharmacological analysis revealed that CF leaves could act on core targets (such as

收稿日期 2024-02-06

* 通信作者 刘立亚(1980-), 男, 高级实验师, 博士, 研究方向: 民族药/中药药理学研究, E-mail: sclar@muc.edu.cn

基金项目 国家自然科学基金资助项目(32370407, 31870316); 中央民族大学本科生创新训练计划项目(URTP2023110067); 民族地区生态环境国家民委重点实验室(中央民族大学)自主课题(KLEEMA202202)

STAT3, SRC, PI3KCA, HSP90AA1, MAPK1, AKT1, *et al*) through key active ingredients (such as Vismione D, Vismione B, Madagascine, Parietin, Vismiaquinone A), and regulate PI3K-Akt signaling pathway, Rap1 signaling pathway, AGE-RAGE signaling pathway and other pathways to play an anti-acute gastroenteritis effect. CF demonstrated a high total phenolic and flavonoid content and a strong antioxidant potential, according to the results of *in vitro* research. The cellular experiment showed that CF leaves may significantly diminish the release of inflammatory factors NO, TNF- α and IL-6 induced by LPS, decrease intracellular ROS levels, and inhibit the phosphorylation of PI3K and Akt. Conclusion: CF leaves may exert therapeutic effects on acute gastroenteritis by reducing intracellular oxidative stress and inhibiting the activation of PI3K-Akt signaling pathway through multi-components and multi-targets, which provides experimental basis for the further development and utilization of of CF.

Keywords *Cratoxylum formosum* ssp. *pruniflorum*; acute gastroenteritis; network pharmacology; oxidative stress; PI3K-Akt signaling pathway

急性胃肠炎是一种影响广泛的疾病,其致病因素繁多,包括病毒、细菌、寄生虫感染及毒素等,症状轻重不一,如腹痛、痉挛、腹胀、恶心、呕吐、腹泻、发烧及脱水等^[1]。常用药物抗生素由于耐药性导致疗效逐渐减弱,同时抗生素可能引发过敏反应和肠道微生物群紊乱等副作用^[2-4]。相比之下,中医药在治疗急性胃肠炎方面展现出独特的优势,疗效显著、副作用较少,不易产生耐药性。

藤黄科黄牛木属植物红芽木(*Cratoxylum formosum* ssp. *pruniflorum*, CF)为越南黄牛木的亚种,广泛分布于我国的广东、广西和云南等地,以及东南亚各国^[5]。是制作“苦丁茶”的常用植物来源之一^[6]。广西壮族常用其叶泡茶来缓解肠胃不适和食欲不振^[7]。据《桂药编》和《中华本草》记载,红芽木可用于治疗阿米巴痢疾和牛马肠胃炎等病症。本课题组通过民族植物学调查研究也发现,红芽木叶具有清热解毒、健胃消食、化湿消滞的功效,可用于治疗中暑发热、赤白下痢、急性肠胃炎等^[8-9]。

红芽木具有抗菌、抗炎、抗癌、神经保护作用等多种药理活性^[9-13]。红芽木叶中含有多个具有抗炎活性成分,包括 dulcixanthone B^[14]、toxyloxanthone B 和 vismione D^[15]等。然而目前关于其传统药理作用——治疗急性肠胃炎的研究较少,本研究以红芽木治疗肠胃炎的传统用法为切入点,通过网络药理学和体外建立脂多糖(LPS)诱导 RAW264.7 细胞炎症模型的方法,初步探讨了红芽木叶抗急性肠胃炎的作用机制,旨在为红芽木抗炎保健食品或药品的开发提供实验依据和理论基础。

1 材料与试剂

红芽木叶于 2019 年 4 月底采自西双版纳傣族

自治州景洪市基诺山,并由中央民族大学生命与环境科学学院龙春林教授鉴定为 *Cratoxylum formosum* ssp. *Pruniflorum*, 标本保存于生命与环境科学学院内。称取红芽木叶 20 g,置于 700 mL 超纯水中,100 °C 煎煮 30 min,纱布过滤后收集上清;滤渣再重复煎煮 2 次;合并上清,使用旋蒸仪浓缩粗提液后,冻干,-20 °C 保存。

植物总酚(TP)含量检测试剂盒和植物类黄酮含量检测试剂盒(北京索莱宝);总抗氧化能力检测试剂盒(ABTS法)、总抗氧化能力检测试剂盒(FRAP法)和一氧化氮(NO)检测试剂盒(上海碧云天);LPS 来源于大肠杆菌(美国 Sigma);RAW264.7 细胞株及其专用完全培养基(武汉普诺赛);DPPH 抗氧化能力检测试剂盒、Cell Counting Kit-8(CCK-8)细胞增殖毒性检测试剂盒和 ROS 检测试剂盒(上海东仁化学);小鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白介素 6(IL-6) ELISA 试剂盒(杭州联科);兔源 Akt1、p-Akt1 (Ser473)、PI3K p85 (Y458)、p-PI3K p85 (Y458)和 GAPDH 抗体以及 HRP 标记的山羊抗兔 IgG(H+L)二抗(美国 CST 公司)。

2 实验方法

2.1 网络药理学研究

2.1.1 红芽木叶有效成分收集与筛选

以“红芽木”和“*Cratoxylum formosum* ssp. *pruniflorum*”为关键词检索收集红芽木叶在文献中的化学成分,并利用 Pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)和 SwissADME 数据库(<http://www.swissadme.ch>)进行筛选。

2.1.2 红芽木叶有效成分相关靶点搜集筛选

通过 SEA(<https://sea.bkslab.org/>)、SwissTargetPrediction

(<http://swisstargetprediction.ch/>)以及PharmMapper(<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)三个在线数据库获取活性成分的作用靶点,去重后,利用Uniprot数据库(<https://www.uniprot.org>)对靶点蛋白名称进行基因名标准化。

2.1.3 急性肠胃炎疾病靶点收集

以“acute enteritis”、“acute gastritis”和“acute gastroenteritis”为关键词,通过GeneCards数据库(<https://www.genecards.org>)、OMIM数据库(<https://omim.org>)获取急性肠胃炎疾病靶点,靶点合并去重后通过Uniprot数据库将靶点名称进行基因名标准化。

2.1.4 有效成分-疾病交集靶点的获取及蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络的构建与分析

hiplot在线做图软件(<https://hiplot.com.cn/basic/eulerr>)做出韦恩图,得到红芽木叶-急性肠胃炎交集靶点,并导入STRING在线数据库(<https://cn.string-db.org>),物种设定为“Homo sapiens”,置信度Score ≥ 0.900 ,得到TSV格式数据,导入Cytoscape3.9.1软件进行可视化分析,并构建PPI网络图。利用Network Analyzer程序分析度值(Degree)、中介中心度(betweenness centrality, BC)、接近中心度(closeness centrality, CC),并进一步筛选出红芽木叶抗急性肠胃炎的核心靶点。

2.1.5 “红芽木叶有效成分-靶点”网络构建

通过Cytoscape 3.9.1对有效成分、成分相关靶点进行可视化分析,构建“红芽木叶有效成分-靶点”网络,并运行CytoHubba程序的MCC(Maximal Clique Centrality)算法,筛选出发挥药效的关键成分。

2.1.6 基因本体(gene ontology, GO)富集分析和京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路分析

将交集靶点导入DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov>)进行GO富集分析和KEGG通路分析,设置富集结果P值小于0.05时有统计意义。

2.1.7 分子对接

通过RCSB PDB(<https://www.rcsb.org/>)数据库检索蛋白质三维结构,下载核心靶点的3D结构;通过PubChem数据库搜集红芽木叶关键成分,下载sdf格式,通过软件Open Babel GUI转化为mol2格式,运用AutodockTool 1.5.6软件进行分子对接,计算结合能;最后使用PyMOL软件绘制可视化分子对接图。

2.2 体外实验验证

2.2.1 总酚和黄酮含量测定

采用植物总酚(TP)含量检测试剂盒、植物类黄酮含量检测试剂盒进行检测,详细方法参考试剂盒说明书。

2.2.2 红芽木叶体外抗氧化能力测定

采用DPPH法、ABTS法和FRAP法的抗氧化能力检测试剂盒进行检测,详细方法参考试剂盒说明书。

2.2.3 细胞培养

RAW264.7细胞用其专用培养基于37℃、5%CO₂条件下的培养箱(ESCO公司)中进行培养。细胞融合度达到70%~80%时,对细胞进行传代培养。

2.2.4 CCK-8法检测红芽木叶对RAW264.7细胞活力的影响

调整细胞密度为 4×10^5 cells/mL,按每孔100 μ L接种至96孔细胞培养板,待细胞贴壁生长,弃上清。加入不同浓度红芽木叶水提取物(0、20、30、40、50、60、70 μ g·mL⁻¹)孵育24 h后,每孔加10% CCK-8溶液100 μ L继续培养2 h,Epoch™型酶标仪(美国BioTeK公司)450 nm处检测各孔吸光度值,计算细胞活力。

2.2.5 ELISA法检测培养基上清中炎症因子NO、TNF- α 和IL-6的水平

参考文献[16]构建LPS诱导的RAW264.7细胞炎症模型。RAW264.7细胞在6孔板(4×10^5 cells/孔,2.0 mL培养基/孔)中培养过夜后,分别设置空白组、LPS组和红芽木叶给药组。空白组、LPS组加入DMEM高糖培养基,红芽木叶给药组加入不同浓度的红芽木叶水提取物(12.5、25、50 μ g·mL⁻¹),继续孵育6 h后,LPS组、红芽木叶给药组再分别加入LPS溶液(终浓度为1 μ g·mL⁻¹)刺激细胞,继续培养18 h。收集每孔培养基上清,检测上清液中NO、TNF- α 和IL-6水平。

2.2.6 细胞内活性氧(ROS)水平的检测

实验分组及给药方法同2.2.5。药物处理后,加入DCFH-DA探针,使用IX81倒置荧光显微镜(日本OLYMPUS)进行荧光显微镜检测和分析。

2.2.7 Western Blot检测相关蛋白及其磷酸化水平

实验分组及给药方法同2.2.5。药物处理后,在细胞培养瓶中加入RIPA细胞裂解液(含1%蛋白酶/磷酸化酶抑制剂),冰上裂解15 min后,4℃,12000 r·min⁻¹离心10 min收集细胞裂解样品;BCA

试剂盒测蛋白浓度;调整蛋白质浓度后,加入 Loading Buffer,沸水中变性 5 min,制备蛋白样品;蛋白样品在 10% SDS-PAGE 电泳中进行分离,然后转膜;5% 脱脂奶粉封闭孵育 1 h 后,将膜置于一抗中 4 °C 孵育过夜;TBST 洗涤 3 次(5 min/次)后用二抗孵育 1 h;TBST 洗涤 3 次(5 min/次)后,滴加 ECL 化学发光试剂避光反应 1 min, Tanon4200 化学发光成像分析系统(上海天能公司)采集图像并进行分析。

2.2.8 统计分析

以上实验均重复 3 次,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用软件 SPSS 21.0 来进行统计学处理,其中组间比较使用单因素方差分析(One-Way ANOVA)方法,当 $P < 0.05$ 时,认为差异具有统计学意义。

3 实验结果

3.1 网络药理学

3.1.1 网络药理学探究红芽木叶抗急性肠胃炎作用机制研究

通过文献检索和数据库筛选,最终获得 163 个红芽木叶抗急性肠胃炎疾病靶点(图 1(a)). 在 Cytoscape 软件中绘制 PPI 网络图,如图 1(b)所示. 利用 Analyze Network 分析,核心靶点筛选条件设置为大于 Degree、BC 的 2 倍平均数,CC 平均数,最终得到 11 个核心靶点: STAT3, SRC, PIK3CA, HSP90AA1, MAPK1, AKT1, VEGFA, HDAC1, MAPK8, ESR1, MAPK14. 其拓扑学参数见表 1. Cytoscape 软件构建“红芽木叶有效成分-靶点”网络图,见图 1(c). 通过 CytoHubba 软件分析,最终得到 5 个关键成分,分别是 Vismione D, Vismione B, Madagascine, Parietin, Vismiaquinone A. 其化学结构式见图 1(d). GO 富集结果显示,有 740 个 GO 条目 ($P < 0.05$),包括 555 个生物过程条目,70 个细胞组分条目和 115 个分子功能条目,按照 P 值分别选择前 10 条目,绘制富集条形图,如图 1(e)所示. KEGG 通路富集分析共获得 147 条通路 ($P < 0.05$),基于 P 值筛选前 20 条通路,如图 1(f)所示. 由 KEGG 通路富集分析结果可知,红芽木叶治疗急性肠胃炎的相关信号通路包括: PI3K-Akt 信号通路、Rap1 信号通路、AGE-RAGE 信号通路等,说明红芽木叶可能通过这些炎症相关信号通路起到治疗急性肠胃炎的作用。

3.1.2 分子对接

将红芽木叶的关键成分与治疗急性肠胃炎的核心靶点进行分子对接验证. 红芽木 5 种关键成分和 11 个核心靶点共产生 25 对相互作用,对接结合能结果见图 2(a),其结合能均 $\leq -7.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$,可被认为具有强烈的结合活性^[17]. 并对接结构结合能小于 $-9.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 的结果进行可视化显示见图 2(b)).

3.2 红芽木叶中总酚、类黄酮含量检测及体外抗氧化能力评价

如表 2 所示,红芽木叶具有较高的总酚、类黄酮含量,并表现出较好的体外抗氧化活性。

3.3 细胞实验验证

3.3.1 红芽木叶对 RAW264.7 细胞活力的影响

如图 3 所示,与对照组相比,在一定浓度范围内 ($20 \sim 50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),红芽木叶对 RAW264.7 细胞活力无显著影响,而当药物浓度大于 $60 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,红芽木叶水提物处理后细胞活力显著降低,显示出细胞毒性作用. 因此,后续实验选取 $\leq 50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的药物浓度开展红芽木叶抗炎作用的研究。

3.3.2 红芽木叶对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症因子释放的影响

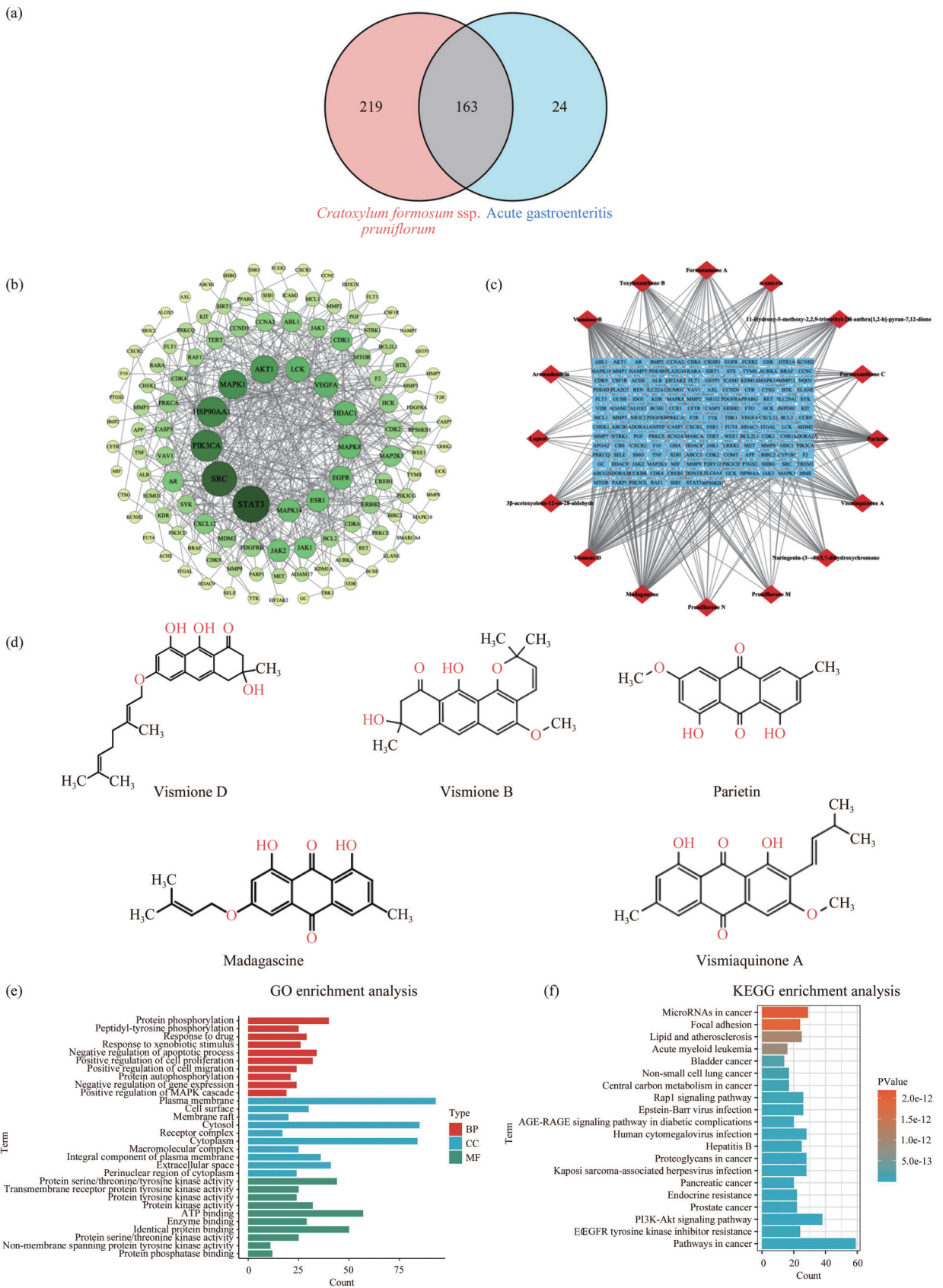
NO、TNF- α 和 IL-6 释放量是炎症发生进程中的经典指标^[18]. 与对照组相比,LPS 组中 RAW264.7 细胞的 NO、TNF- α 和 IL-6 释放量显著升高,表明炎症细胞模型建立成功;由图 4 可见,与 LPS 组相比,红芽木叶处理组 ($25, 50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 均能显著抑制 NO、TNF- α 和 IL-6 释放,表现出一定的抗炎活性。

3.3.3 红芽木叶对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞内 ROS 水平的影响

由图 5 可见,与对照组比较,模型组细胞内荧光强度提高,表明 LPS 可诱导 RAW264.7 细胞内 ROS 水平升高;与 LPS 组比较,红芽木叶处理组内荧光强度下降,并呈现一定的剂量依赖关系,说明红芽木叶可清除 RAW264.7 细胞内 ROS,此实验结果与红芽木叶含有较高水平的总酚、类黄酮,以及在体外展现出的良好抗氧化能力相一致,进一步验证了其抗炎作用机制。

3.3.4 红芽木叶对 Akt 和 PI3K 蛋白表达水平及其磷酸化水平的影响

如图 6 所示,与对照组比较,LPS 组细胞中 PI3K 及 Akt 蛋白磷酸化水平显著升高 ($P < 0.05$),表明 LPS 激活了 PI3K-Akt 信号通路;而与 LPS 组比较,红芽木叶处理组细胞内 PI3K 和 Akt 的磷酸化水平随



(a) 红芽木叶有效成分与急性肠胃炎交集靶点 Venn 图; (b) 红芽木叶与急性肠胃炎交集靶点的 PPI 网络图; (c) “红芽木叶有效成分-靶点”网络图; (d) 红芽木叶抗急性肠胃炎关键成分化学结构式; (e-f) 红芽木叶治疗急性肠胃炎靶点的 GO 功能分析和 KEGG 通路富集图

图 1 网络药理学研究红芽木叶抗急性肠胃炎机制

Fig. 1 Network pharmacology analysis for the mechanisms of *Cratoxylum formosum* ssp. *pruniflorum* (CF) against acute gastroenteritis

表1 红芽木治疗急性肠胃炎靶点及其拓扑学参数

Tab. 1 The core targets of CF against acute gastroenteritis and their topological parameters

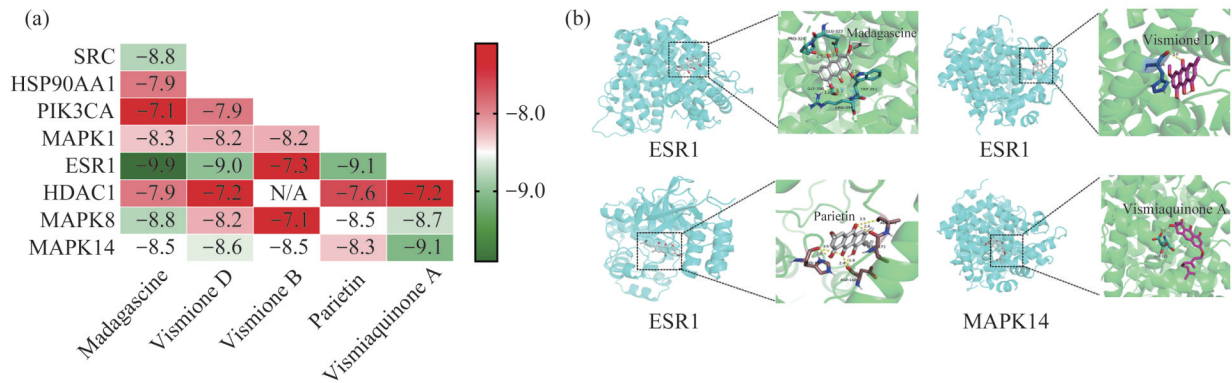
Number	Target name	Degree	BC	CC
1	STAT3	41	0.263 570	0.552 995
2	SRC	39	0.113 079	0.521 739
3	PIK3CA	33	0.049 839	0.485 830
4	HSP90AA1	31	0.111 052	0.489 796
5	MAPK1	29	0.066 635	0.495 868
6	AKT1	27	0.065 047	0.487 805
7	VEGFA	22	0.059 258	0.456 274
8	HDAC1	21	0.072 420	0.434 783
9	MAPK8	20	0.072 627	0.424 028
10	ESR1	19	0.038 796	0.466 926
11	MAPK14	19	0.031 192	0.461 538

浓度增加而逐渐降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 表明红芽木叶可通过抑制 PI3K-Akt 信号通路活化而发挥抗

炎作用.

4 讨论

当胃肠道受到病原体侵袭时, 巨噬细胞会在胃黏膜下层聚集并活化, 进而分泌多种炎症因子, 如 IL-1 β 、IL-8、TNF- α 等^[2]. 此外, 急性肠胃炎还伴随着肠道微环境的破坏, 导致大量炎症因子的释放和 ROS 的过量产生, 从而引发氧化应激反应. 过量的 ROS 对肠道细胞造成损伤, 加速粘膜溃疡, 并进一步加剧炎症反应. 有研究表明, 肠炎患者的肠液中 ROS 浓度比健康人高出 10~100 倍^[19]. 因此, 抗氧化治疗被认为是治疗急性肠胃炎的有效手段之一.



(a) 分子对接结合能热图; (b) 结合能排序前 4 名的分子对接可视化图

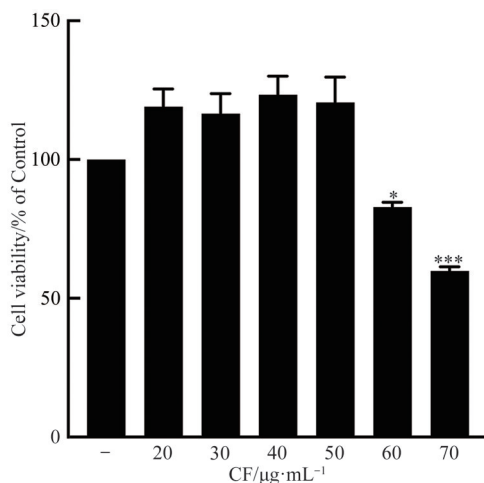
图2 关键成分和核心靶点分子对接

Fig. 2 Docking binding energy of key components and core targets

红芽木叶水提取物中多酚和类黄酮含量较高, 并表现出优异的体外抗氧化能力, 该实验结果与裴文平等的结果一致, 他们也发现红芽木甲醇提取物中

含有大量黄酮类化合物, 且具有很强的抗氧化活性, 能通过清除自由基和活性氧而避免氧化损伤^[20-22]. LPS 可诱导 RAW264.7 细胞内产生过量的 ROS^[23], 而红芽木叶则可清除这些过量产生的 ROS, 进而减少 LPS 诱导的细胞炎症因子 NO、TNF- α 和 IL-6 等的释放. 因此, 本研究初步证明红芽木叶可通过清除 ROS, 减轻细胞的氧化应激, 降低炎症反应, 从而有助于缓解急性肠胃炎的症状.

网络药理学分析表明红芽木叶治疗急性肠胃炎涉及的核心通路是 PI3K/Akt 信号通路, 多个核心靶点如 Akt1、PIK3CA、HSP90AA1、MAPK1 等也参与其中. PI3K 作为一种细胞质脂类激酶, 在磷酸化过程中能够招募并引发 Akt 的磷酸化, 进而调控氧化应激、炎症反应等多种生物过程^[24-25]. PI3K/Akt 信号通路通过调控下游效应分子来调节炎症反应, 并参与多种炎症因子的释放, 与趋化因子介导的免疫细胞向炎症部位的迁移密切相关^[26]. PI3K/Akt 信号通



与对照组比较, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$.

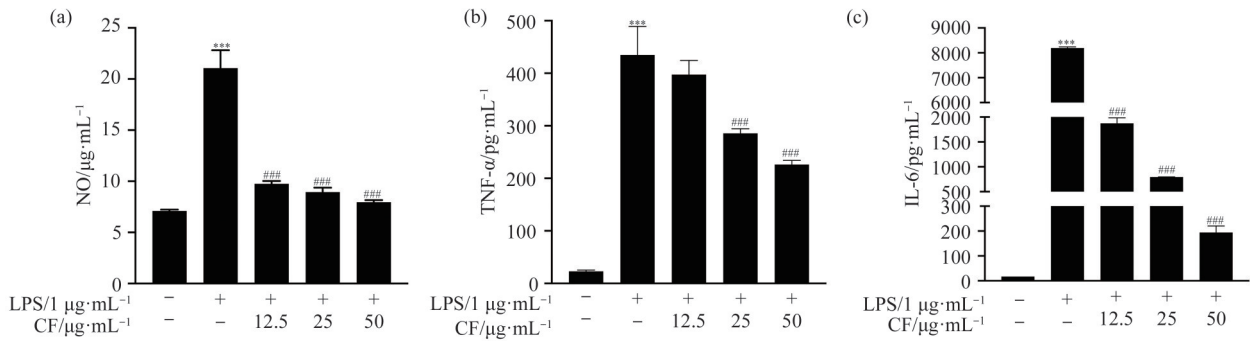
图3 红芽木叶对 RAW264.7 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 3 Toxic effect of CF on RAW264.7 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

表 2 红芽木叶水提取物的总酚和类黄酮含量及其体外抗氧化能力

Tab. 2 Total phenolic and flavonoid content of aqueous extract of CF leaves and its antioxidant capacity *in vitro*

样品	总酚含量 /(mg GAE·g ⁻¹ md)	类黄酮含量 /(mg Rutin·g ⁻¹ md)	DPPH /(mmol TE·g ⁻¹)	ABTS /(mmol TE·g ⁻¹)	FRAP /(mmol Fe ²⁺ ·g ⁻¹)
红芽木叶	345.42±8.79	1025.02±67.38	13.45±2.48	1.48±0.72	1.33±0.23



与对照组比较,****P*<0.01;与LPS组比较,###*P*<0.001.

图 4 红芽木叶对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞 NO、TNF-α 和 IL-6 释放的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 4 Effect of CF on LPS-induced NO, TNF-α and IL-6 release from RAW264.7 cells($\bar{x}\pm s, n=3$)

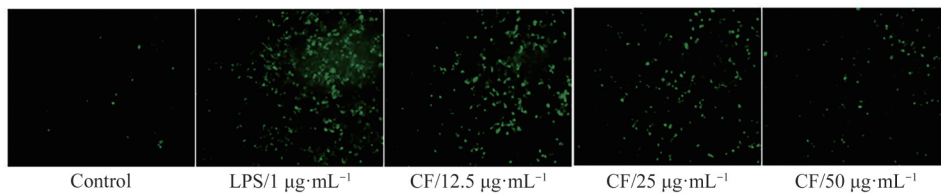
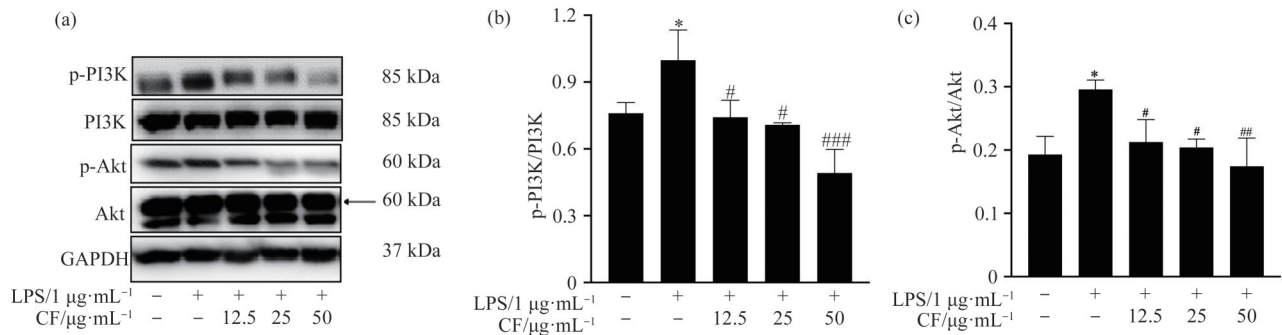


图 5 红芽木叶对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中活性氧水平的影响

Fig. 5 Effect of CF on LPS-induced ROS levels in RAW264.7 cells



与对照组比较,**P*<0.05;与LPS组比较,#*P*<0.05,###*P*<0.01,####*P*<0.001.

图 6 红芽木叶对 RAW264.7 细胞中 PI3K 和 Akt 蛋白表达及其磷酸化水平的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 6 Effects of CF on the expression or phosphorylation levels of PI3K and Akt in RAW264.7 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

路在肠胃炎发生发展过程中被激活^[27-28],同时也有研究发现,抑制 PI3K/Akt 信号通路中相关蛋白的活化,可以减少炎症因子释放以及巨噬细胞活化^[28-32].因此通过抑制 PI3K/Akt 信号通路的活化可能是红芽木叶发挥抗炎功能的重要机制之一. Western Blot 检测表明,红芽木叶能够显著抑制 PI3K 和 Akt 的磷酸化,从而证实红芽木叶通过抑制 PI3K/Akt 信号通路的活化发挥抗炎作用.

综上所述,本研究通过网络药理学和体外实验初步证明了红芽木叶具有一定的抗炎作用,挖掘出

5 个关键成分、11 个核心靶点及相关信号通路. 体外实验进一步证实了红芽木叶具备良好的抗氧化能力,并显著减轻了 LPS 诱导的 RAW246.7 细胞炎症因子释放和活性氧水平,这一保护作用很可能与其抑制 PI3K/AKT 信号通路的激活紧密相关. 这些研究成果不仅为红芽木叶在急性肠胃炎治疗中的潜在应用提供了科学支撑,也验证了民间以红芽木叶作为茶饮治疗肠胃不适的传统智慧. 未来可通过动物实验进一步确证其抗急性肠胃炎作用并探索和确证其作用机制,为红芽木叶抗急性肠胃炎的研究

及其相关产品的研发提供实验依据.

参 考 文 献

- [1] GRAVES N S. Acute gastroenteritis [J]. Primary Care: Clinics in Office Practice, 2013, 40(3): 727-741.
- [2] 杨贵珍, 孙锦霞, 王莉新, 等. 半夏泻心汤通过介导 MAPK 信号通路抑制巨噬细胞炎症因子的分泌[J]. 上海中医药大学学报, 2018, 32(5): 67-72.
- [3] XU H, YUN J, LI R, et al. Antibiotics resistance prevalence of *Helicobacter pylori* strains in Northwest China [J]. Infection and Drug Resistance, 2022, 15: 5519-5528.
- [4] 张玉. 急性肠胃炎患者血清 CRP、IL-6、EGF 水平测定及其意义[J]. 临床医学, 2020, 40(1): 66-67.
- [5] POCASAP P, WEERAPREEYAKUL N, WONGPOOMCHAI R. Chemopreventive effect of *Cratoxylum formosum* (Jack) ssp. *pruniflorum* on initial stage hepatocarcinogenesis in rats[J]. Molecules, 2021, 26(14): 4235.
- [6] 谷婧, 彭勇, 许利嘉, 等. 苦丁茶商品的原植物调查与性状鉴别[J]. 中药材, 2011, 34(2): 196-199.
- [7] 屈信成, 胡琦敏, 李文琪, 等. 壮药红芽木的性状及显微鉴别[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(14): 10-11, 14.
- [8] 李官华. 藤黄科植物红芽木的资源状况与传统药用知识评价[D]. 北京: 中央民族大学, 2021.
- [9] 贾敏如, 张艺. 中国民族药辞典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2016.
- [10] KEOWKASER, WEERAPREEYAKULN. *Cratoxylum formosum* extract protects against amyloid-beta toxicity in a *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's Disease [J]. Planta Medica, 2016, 82(6): 516-523.
- [11] 丁艳娇, 左国营, 郝小燕. 8种滇产中草药体外抑菌活性筛选[J]. 贵阳医学院学报, 2013, 38(2): 111-114, 119.
- [12] NONPUNYA A, WEERAPREEYAKUL N, BARUSRUX S. *Cratoxylum formosum* (Jack) Dyer ssp. *pruniflorum* (Kurz) Gogel. (Hóng yá mù) extract induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells through caspase-dependent pathways [J]. Chinese Medicine, 2014, 9(1): 12.
- [13] VU T T, KIM H, TRAN V K, et al. *In vitro* antibacterial activity of selected medicinal plants traditionally used in Vietnam against human pathogenic bacteria [J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2016, 16: 32.
- [14] BOONNAK N, CHANTRAPROMMA S, TEWTRAKUL S, et al. Inhibition of nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated RAW264.7 macrophages by isolated xanthenes from the roots of *Cratoxylum formosum* ssp. *pruniflorum* [J]. Archives of Pharmacal Research, 2014, 37(10): 1329-1335.
- [15] XIONG J, LIU X H, BUI V B, et al. Phenolic constituents from the leaves of *Cratoxylum formosum* ssp. *pruniflorum* [J]. Fitoterapia, 2014, 94: 114-119.
- [16] LIU L, CAI F, LU Y, et al. Comparative lipidomic and metabolomic analyses reveal the mystery of lacquer oil from *Toxicodendron vernicifluum* for the treatment of "yuezi" disease in Nujiang, China: From anti-inflammation and anti-postpartum depression perspective [J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 914951.
- [17] HSIN K Y, GHOSH S, KITANO H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology [J]. PLoS One, 2013, 8(12): e83922.
- [18] WANG X, CHENG K, LIU Z, et al. Bioactive constituents of *Mosla chinensis*-cv. Jiangxiangru ameliorate inflammation through MAPK signaling pathways and modify intestinal microbiota in DSS-induced colitis mice [J]. Phytomedicine, 2021, 93: 153804.
- [19] 孙伟. 槲皮素基抗氧化剂及其在预防和治疗肠炎中的应用[D]. 长春: 吉林大学, 2023.
- [20] 裴文平. 三种药用植物的化学成分及其生物活性研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2013.
- [21] 李文琪, 陆国寿, 胡筱希, 等. 液相色谱-质谱法分析鉴定红芽木的功能性成分及其生物活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(20): 119-128.
- [22] AN H, THANH L N, KHANH L Q, et al. Characterization of antioxidant and α -Glucosidase inhibitory compounds of *Cratoxylum formosum* ssp. *pruniflorum* and optimization of extraction condition [J]. Antioxidants, 2023, 12(2): 511.
- [23] 何彩静, 秦德新, 梁帅, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨黄芩治疗炎症性肠病作用机制[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2022, 41(1): 19-26.
- [24] 刘鑫澜, 朱朋艳, 马金蓉, 等. 基于网络药理学及体外实验探究野蚕豆根抗氧化活性及其作用机制[J]. 天然产物研究与开发, 2023, 36(1): 155-166.
- [25] FRUMAN D A, CHIU H, HOPKINS B D, et al. The PI3K pathway in human disease [J]. Cell, 2017, 170(4): 605-635.
- [26] YEUNG Y T, AZIZ F, GUERRERO-CASTILLA A, et al. Signaling pathways in inflammation and anti-inflammatory therapies [J]. Current Pharmaceutical Design, 2018, 24(14): 1449-1484.
- [27] WANG X, LIU B, WEN F, et al. MicroRNA-454 inhibits the malignant biological behaviours of gastric cancer cells by directly targeting mitogen-activated

- protein kinase 1 [J]. *Oncology Reports*, 2018, 39(3): 1494-1504.
- [28] SOKOLOVA O, VIETH M, GNAD T, et al. Helicobacter pylori promotes eukaryotic protein translation by activating phosphatidylinositol 3 kinase/mTOR [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2014, 55: 157-163.
- [29] XIE S, CHEN M, YAN B, et al. Identification of a role for the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in innate immune cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94496.
- [30] FOSTER J G, BLUNT M D, CARTER E, et al. Inhibition of PI3K signaling spurs new therapeutic opportunities in inflammatory/autoimmune diseases and hematological malignancies [J]. *Pharmacological Reviews*, 2012, 64(4): 1027-1054.
- [31] 光彪,李瑞灵,高翔,等. 机器学习联合分子对接分析左归丸治疗肝癌作用机制 [J]. *中南民族大学学报(自然科学版)*, 2025, 44(2): 193-200.
- [32] 张宗星,江露,刘道忠,等. 基于 PI3K/AKT/mTOR 通路的三百棒促进脂多糖诱导的 RAW 264.7 细胞自噬并抑制炎症 [J]. *天然产物研究与开发*, 2023, 35(4): 573-583.

(责编&校对 姚春娜)