

# 临床研究黄芪提取物的抗肝细胞癌作用及其机制的网络药理学初步预测研究

朱飞<sup>1,2</sup>, 冯璟<sup>3</sup>, 秦楠<sup>4</sup>, 刘新宇<sup>1,2</sup>, 连科<sup>5</sup>, 杜根来<sup>1</sup>, 董金焱<sup>6</sup>, 张燕燕<sup>7</sup>, 李清靓<sup>1,2</sup>, 张迅玮<sup>1</sup>, 师如意<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>山西医科大学基础医学院医学细胞生物与遗传学教研室, 山西太原 030001; <sup>2</sup>山西医科大学细胞生理学教育部重点实验室, 山西太原, 030001; <sup>3</sup>山西省人民医院消化科, 山西太原 030012; <sup>4</sup>山西中医药大学中药与食品工程学院, 山西晋中 030619; <sup>5</sup>山西白求恩医院淋巴瘤科(山西医学科学院同济山西医院), 山西太原 030032; <sup>6</sup>山西省肿瘤医院肝胆胰胃外科, 山西太原 030013; <sup>7</sup>山西医科大学第一医院胆胰外科, 山西太原 030001

[中图分类号] R735.7 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.0024.2026.0402

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 朱飞,冯璟,秦楠等.临床研究黄芪提取物的抗肝细胞癌作用及其机制的网络药理学初步预测研究[J].解放军医学杂志, DOI:.

[收稿日期] 2025-03-26 [录用日期] 2026-02-13 [上线日期] 2026-04-02

**[摘要]** **目的** 基于细胞实验、动物实验和网络药理学探究黄芪提取物抗肝细胞癌(HCC)的功能及分子机制。**方法** 以人HCC细胞系MHCC-97H、HCC-LM3细胞作为研究对象,采用MTT法检测不同浓度(0、0.25、0.5、0.75、1.0 mg/ml)的黄芪提取物处理48 h后细胞活力并计算半抑制浓度(IC<sub>50</sub>);通过克隆形成实验检测单个细胞增殖能力;划痕实验、Transwell实验检测细胞的迁移与侵袭能力;流式细胞术检测细胞凋亡情况。通过皮下注射MHCC-97H、HCC-LM3细胞构建裸鼠肝细胞癌模型,将裸鼠随机分为对照组与实验组(n=4),对照组以200 μl纯水灌胃,实验组灌以200 μl浓度为100 mg/kg黄芪提取物,测量瘤体体积与重量探究黄芪提取物在体内对瘤体的影响。通过中药系统药理学(TCMSP)数据库获取黄芪活性成分及作用靶点;GeneCards、DisGeNET、TTD、OMIM数据库汇总HCC疾病靶点。将黄芪-HCC交集基因导入DAVID数据库进行基因本体(GO)和基因组百科全书(KEGG)分析。String在线平台进行蛋白互作分析,ChimeraX 1.8软件进行分子对接。通过细胞免疫荧光检测0.5 mg/ml黄芪提取物处理48 h后相关蛋白表达情况。**结果** MTT实验结果显示,黄芪提取物处理48 h后两种HCC细胞IC<sub>50</sub>值分别为0.462 mg/ml和0.496 mg/ml,二者均接近于0.5 mg/ml,因此,以0 mg/ml黄芪提取物处理组为对照组,0.5 mg/ml黄芪提取物处理组为实验组;且HCC细胞增殖受到明显抑制;与对照组相比,实验组细胞增殖、迁移、侵袭能力明显减弱(P<0.01),凋亡率明显上调(P<0.01)。体内实验表明,经黄芪提取物灌胃处理后不同处理组之间的裸鼠平均体重,体内瘤体重量及体积均无明显差异(P>0.05)。网络药理学结果表明,黄芪与HCC存在52个交集靶点,GO分析结果显示,黄芪抗HCC与凋亡过程的负调控、磷酸化等生物过程;细胞质、含蛋白质的复合物等细胞组分以及蛋白质结合、酶结合等分子功能相关。KEGG结果显示,黄芪抗HCC的关键靶点主要涉及癌症通路、PI3K/AKT信号通路等。疾病-药物-通路-靶点网络图显示黄芪抗HCC的潜在核心活性成分为槲皮素、(3R)-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)色原烯-7-醇、山柰酚、异鼠李素等。蛋白互作网络分析显示黄芪抗HCC的核心靶点为TP53、EGFR、AKT1、MYC、SRC等。分子对接结果显示,槲皮素、(3R)-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)色原烯-7-醇、山柰酚、异鼠李素与TP53、EGFR、MYC的对接结合能均<-7 kcal·mol<sup>-1</sup>,表明二者具有较强的结合活性。细胞免疫荧光结果显示,与对照组相比,0.5 mg/ml黄芪提取物处理48 h后核心基因P53蛋白表达水平显著上调(P<0.01),AKT1蛋白表达水平显著下调(P<0.05)。**结论** 黄芪能够显著抑制HCC细胞增殖、迁移和侵袭,并诱导其凋亡,网络药理学结果提示,黄芪通过多成分、多通路、多靶点来发挥对HCC的抑制作用。其抑癌机制可能与PI3K/AKT信号通路密切相关。

**[关键词]** 黄芪;肝细胞癌;网络药理学;分子对接;作用机制

## Preliminary exploration on the effect and mechanism of Astragali Radix on hepatocellular carcinoma

[基金项目] 山西省研究生科研创新项目(2023KY397);山西省中医药管理局科研项目(2023ZY2043、2024ZY2B043)

[作者简介] 朱飞,硕士研究生,主要从事于中药抗癌方面的研究

[通信作者] 师如意, E-mail: tomruyi@163.com

## by network pharmacology and molecular docking

Zhu Fei<sup>1,2</sup>, Feng Jing<sup>3</sup>, Qin Nan<sup>4</sup>, Liu Xinyu<sup>1,2</sup>, Lian Ke<sup>5</sup>, Du Genlai<sup>1</sup>, Dong Jinyao<sup>6</sup>, Zhang Yanyan<sup>7</sup>, Li Qingliang<sup>1,2</sup>, Zhang Xunwei<sup>1</sup>, Shi Ruyi<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Cell Biology and Genetics, Basic Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China

<sup>2</sup>Key Laboratory of Cell Physiology, Ministry of Education, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030031, China

<sup>3</sup>Department of Gastroenterology, Shanxi Provincial People's Hospital, Taiyuan, Shanxi 030012, China

<sup>4</sup>Institute of Pharmaceutical & Food engineering, Shanxi University of Chinese Medicine, Shanxi Jinzhong 030619, China

<sup>5</sup>Department of Lymphoma, Shanxi Bethune Hospital (Tongji Shanxi Hospital, Shanxi Academy of Medical Sciences), Taiyuan, Shanxi 030032, China

<sup>6</sup>Department of Hepatobiliary, Pancreatic and Gastric Surgery, Shanxi Cancer Hospital, Taiyuan, Shanxi 030013, China

<sup>7</sup>Department of Biliary and Pancreatic Surgery, First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China

\*Corresponding author, Email: tomrui@163.com

This work was supported by The Postgraduate Research and Innovation Project of Shanxi Province (2023KY397), and Shanxi Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine Research Project (2023ZYCC2043, 2024ZYY2B043)

**[Abstract]** **Objective** Based on cell experiments, animal experiments and network pharmacology, the function and molecular mechanism of Astragalus extract against hepatocellular carcinoma (HCC) were explored. **Methods** MHCC-97H and HCC-LM3 cells were used as the research objects. MTT assay was used to detect the cell viability after treatment with different drug concentrations (0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mg/ml) of Astragalus extract for 48 h, and the half inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) was calculated. The proliferation ability of single cells was detected by colony formation assay. Scratch test and Transwell test were used to detect cell migration and invasion ability. Apoptosis was detected by flow cytometry. The hepatocellular carcinoma model of nude mice was constructed by subcutaneous injection of MHCC-97H and HCC-LM3 cells. The nude mice were randomly divided into control group and experimental group (n=4). The control group was given 200  $\mu$ L pure water, and the experimental group was given 200  $\mu$ L concentration of 100 mg/kg Astragalus extract. The volume and weight of the tumor were measured to explore the effect of Astragalus extract on the tumor in vivo. The active components and targets of Astragali Radix were obtained through the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology (TCMSP) database. GeneCards, DisGeNET, TTD and OMIM databases were used to summarize HCC disease targets. The Astragali Radix-HCC intersection genes were imported into the DAVID database for gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analysis. String online platform was used for protein interaction analysis, and ChimeraX 1.8 software was used for molecular docking. The expression of related proteins after 0.5 mg/ml Astragalus extract treatment for 48 h was detected by immunofluorescence. **Results** MTT assay showed that The  $IC_{50}$  values of the two HCC cells were 0.462 mg/ml and 0.496 mg/ml, respectively, after 48 h of treatment with Astragalus extract, and both were close to 0.5 mg/ml. Therefore, the 0 mg/ml Astragalus extract treatment group was the control group, and the 0.5 mg/ml Astragalus extract treatment group was the experimental group. The proliferation of HCC cells was significantly inhibited. Compared with the control group, the number of clones, migration and invasion ability of the experimental group were significantly decreased ( $P<0.01$ ), and the apoptosis rate was significantly increased ( $P<0.01$ ). In vivo experiments showed that there was no significant difference in the average body weight of nude mice between different treatment groups after intragastric administration of Astragalus extract, and there was no significant difference in tumor weight and volume in vivo ( $P>0.05$ ). In terms of network pharmacology, there were 52 intersection targets between Astragali Radix and HCC. The results of GO analysis showed that the anti-HCC of Astragali Radix is related to the negative regulation of apoptosis, phosphorylation and other biological processes. It is also related to cell components such as cytoplasm and protein-containing complexes, as well as molecular functions such as protein binding and enzyme binding. KEGG results showed that the key targets of Astragali Radix against HCC mainly involved pathway in cancer, PI3K/AKT signaling pathway and so on. The network diagram of disease-drug-pathway-target showed that the main active components of Astragali Radix against HCC were quercetin, (3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol, kaempferol, isorhamnetin and so on. Protein-Protein Interaction networks analysis showed that the core targets of Astragali Radix anti-HCC were TP53, EGFR, AKT1, MYC, SRC, etc. The results of molecular docking showed that the docking binding energies of quercetin, (3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol, kaempferol and isorhamnetin with TP53, EGFR and MYC were all  $\leq -7$  kcal/mol, indicating that they had strong binding activity. The results of cellular immunofluorescence showed that compared with the control group, the expression level of P53 protein was significantly up-regulated ( $P<0.01$ ) and the expression level of AKT1 protein was significantly down-regulated ( $P<0.05$ ) after treatment with 0.5 mg/ml Astragalus extract for 48 h. **Conclusion** Astragali Radix can significantly inhibit the proliferation, migration and invasion of HCC cells, and induce apoptosis. The results of network pharmacology suggest that Astragali Radix plays an

inhibitory role in HCC through multiple components, multiple pathways and multiple targets. Its anti-tumor mechanism may be closely related to the PI3K/AKT signaling pathway.

**[Key words]** Astragali Radix; hepatocellular carcinoma; network pharmacology; molecular docking; mechanism of action

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌常见类型,占其总数的80-85%<sup>[1]</sup>,为全球第六大常见恶性肿瘤,同时也是全球第三大癌症死亡原因<sup>[2]</sup>。由于HCC早期无明显临床症状,确诊时患者病情往往已处于疾病的中晚期阶段,其恶性程度显著、治疗反应欠佳、预后较差,因此加强早期筛查、实现精准诊断并实施多模式联合治疗对延长患者生存期、提高生存质量具有重要意义。目前临床中常用HCC的化疗药物包括索拉菲尼<sup>[2,4]</sup>和乐伐替尼<sup>[5]</sup>等,但长期使用会产生乏力、厌食、腹泻<sup>[4,6]</sup>等副作用,且具有耐药性强、价格昂贵等缺点,因此,迫切需要开发安全性高、副作用小的抗癌新药。

近年来,传统中医药因其副作用小,不易在机体内残留,长期使用不产生抗药性和耐药性、价格低廉等优点成为了更具潜力的抗肿瘤药物。黄芪被称为“补气诸药之最”,是肿瘤方剂中的常用药材<sup>[7]</sup>。其为豆科草本植物膜荚黄芪或蒙古黄芪的干燥根<sup>[8]</sup>,具有补虚益气、行滞通痹、增强免疫力等功效<sup>[9]</sup>,可用于改善贫血<sup>[10]</sup>、治疗糖尿病<sup>[11,12]</sup>等多种疾病。现代药理学研究表明,黄芪中的主要活性成分(多糖、黄酮和皂苷)在细胞及动物等临床前模型中显示出抑制肿瘤生长和转移的潜力<sup>[15]</sup>。更重要的是,当与常规化疗药物联合应用时,黄芪及其成分能与之产生协同作用,具体表现为增效减毒、化疗增敏乃至逆转多药耐药<sup>[16]</sup>,这为肿瘤的辅助治疗,特别是开发多靶点协同的整合治疗策略,提供了重要的理论依据和应用前景。因此,本研究基于构建细胞及动物模型验证黄芪对HCC的抑制作用,并结合网络药理学和分子对接对黄芪抗HCC的潜在核心活性成分及信号通路与潜在靶点进行预测,为后续深入探究黄芪抑制肿瘤发生发展甚至研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 主要试剂与仪器材料** DMEM高糖培养基、胎牛血清、PBS缓冲液、胰蛋白酶均购买于武汉普诺赛生物科技有限公司;二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)、噻唑蓝(Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT)、细胞凋亡试剂盒、曲拉通通透剂(TritonX-100)、含DAPI的抗淬灭封片剂均购买于北京索莱宝科技有限公司;4%多聚甲醛与结晶紫均购买于大连美仑生物公司;T25培养瓶购买于美国康宁公司;P53、AKT1抗体购自于深圳优品

生物科技有限公司;20 mm共聚焦显微镜用玻底培养皿、6孔板、24孔板、96孔板均购买于无锡耐思生命科技股份有限公司。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 细胞培养及实验分组** 人HCC细胞系(MHCC-97H、HCC-LM3)保存于山西医科大学基础医学院,将其分为对照组(0 mg/ml黄芪提取物处理)、实验组(前期细胞活力检测分别用0.25、0.5、0.75、1.0 mg/ml黄芪提取物处理细胞,其他后续实验均用0.5 mg/ml黄芪提取物处理细胞)。培养于完全培养基中[含10%的胎牛血清(Fetal Bovine Serum, FBS)],置于5% CO<sub>2</sub>、温度37 °C、湿度为100%的恒温培养箱中。

**1.2.2 黄芪提取物的制备** 称取5.0 g黄芪饮片,置于250 ml圆底烧瓶中,加入蒸馏水,于100 °C水浴锅中提取数次后合并滤液,移入蒸发皿中水浴至滤液浓缩成浸膏,85 °C烘箱中烘干。研磨后溶于DMSO,制成母液保存。

**1.2.3 MTT法检测细胞活性** 将MHCC-97H、HCC-LM3细胞接种于96孔板中,调整细胞密度为 $5 \times 10^3$ /孔,置于5% CO<sub>2</sub>、温度37 °C的恒温培养箱中培养,待细胞贴壁后更换成含不同浓度(0、0.25、0.5、0.75、1.0 mg/ml)黄芪提取物的完全培养基。48 h后,每孔加入20  $\mu$ l (5 g/L)的MTT试剂,置于培养箱中培养。4 h后弃上清,每孔加入200  $\mu$ l DMSO,避光置于摇床上,低速震荡10 min,酶标仪(490nm)测定吸光度(OD)值。计算黄芪提取物作用于MHCC-97H、HCC-LM3细胞48 h后的半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)。将MHCC-97H、HCC-LM3细胞置于含0、0.5、1.0 mg/ml黄芪提取物的完全培养基中培养,分别测定24、48、72、96 h后的OD值。细胞存活率= $[(OD_{\text{实验组}} - OD_{\text{空白组}}) / (OD_{\text{对照组}} - OD_{\text{空白组}})] \times 100\%$ 。

**1.2.4 克隆形成实验** 将对照组与实验组的MHCC-97H、HCC-LM3细胞均匀接种于6孔板中( $5 \times 10^2$ /孔),置于5% CO<sub>2</sub>、温度37 °C的恒温培养箱中培养10 d后,待细胞形成细胞集落后, PBS清洗,加入4%多聚甲醛固定20 min,结晶紫染色30 min, PBS清洗晾干后使用凝胶成像系统曝光拍照, Image J软件进行计数。

**1.2.5 划痕愈合实验** 将对照组与实验组的MHCC-97H、HCC-LM3细胞均匀接种于6孔板中, ( $5 \times 10^5$ /孔),待细胞贴壁后更换为不含血清的DMEM培养

基处理 12~16 h, 细胞铺满成单层后, 使用 200  $\mu\text{l}$  枪尖垂直于 6 孔板十字划线。0、24、48 h 时使用倒置显微镜进行拍照, Image J 软件进行统计分析。迁移率(%)=(0 h 划痕面积-48 h 划痕面积)/0 h 划痕面积 $\times$ 100%。

**1.2.6 细胞侵袭实验** 将基质胶与 DMEM 培养基按 1:6 稀释, 取 75  $\mu\text{l}$  稀释液加入 Transwell 小室中, 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 4 h 使其凝固, 向小室中加入 50  $\mu\text{l}$  DMEM 培养基水化 30 min。使用不含血清的 DMEM 培养基重悬对照组与实验组 MHCC-97H、HCC-LM3 细胞, 小室上层中加入  $5\times 10^4$  个 MHCC-97H 细胞或  $3\times 10^4$  个 HCC-LM3 细胞及 200  $\mu\text{l}$  不含血清的 DMEM 培养基, 下室加入 600  $\mu\text{l}$  含 20% FBS 的完全培养基, 孵育 48 h 后取出小室, 4% 多聚甲醛固定 20 min, 擦去小室上层细胞, 结晶紫染色 30 min, 倒置显微镜下观察, 随机选取 3 个视野进行拍照, Image J 软件进行计数。

**1.2.7 细胞凋亡实验** 收集对照组与实验组 MHCC-97H、HCC-LM3 细胞, 胰酶消化后重悬细胞。离心弃上清后加入 1 $\times$  Binding Buffer 结合缓冲液重悬细胞, 调整细胞密度为  $1\times 10^6$  个/ml。加入 5  $\mu\text{l}$  Annexin-FITC 混合后避光孵育 5 min, 加入 5  $\mu\text{l}$  PI 与 400  $\mu\text{l}$  PBS, 使用流式细胞仪检测细胞凋亡情况, 采用 FlowJo 软件分析。

**1.2.8 裸鼠成瘤实验** 5~6 周龄 SPF 级 BALB/c 雌鼠购买于集萃药康生物科技有限公司, 饲养于山西医科大学实验动物中心, 屏障环境下进行饲养(20~26  $^{\circ}\text{C}$ , 湿度 30~70%), 所用的笼具、垫料、饲料、饮水等都经过严密灭菌消毒。收集对数生长期 MHCC-97H、HCC-LM3 细胞, 经 PBS 洗涤后重悬, 调整细胞浓度为  $1\times 10^7$  个/200  $\mu\text{l}$ 。使用酒精对裸鼠臀部进行擦拭消毒后注射 200  $\mu\text{l}$  MHCC-97H、HCC-LM3 细胞悬液, 记录所有裸鼠接种前后其体重与皮下瘤体增长情况。待瘤体体积约 500  $\text{mm}^3$  时将其随机分为对照组与实验组, 每组 4 只。对照组每日灌以 200  $\mu\text{l}$  纯水, 实验组每日灌以 200  $\mu\text{l}$  黄芪提取物(100 mg/kg), 记录各组裸鼠瘤体直径与体重。5 天后颈椎脱臼处死裸鼠, 分离瘤体并计算瘤体体积。瘤体体积计算方式为:  $V(\text{mm}^3)=[\text{长度}(\text{mm})\times\text{宽度}(\text{mm})^2]/2$ 。所有动物实验获得山西医科大学第一医院实验动物福利伦理委员会审批(DWYJ-2025-308)。

**1.2.9 黄芪活性成分及靶点收集** 以“黄芪”为关键词通过中药系统药理学数据库(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP, <https://www.tcm-sp-e.com>)进行检索, 以口服生物利用度(Oral Bioavailability, OB) $\geq 30\%$  和类药性(Drug-like, DL) $\geq 0.18$  为筛选条件, 整理符合条件的活性成分并汇总其作用靶点, 结合 Swiss

Target Prediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)对未检索到靶点的活性成分进行预测分析, 保留可信值大于 0 的目标。通过通用蛋白质资源数据库(Uniprot; <https://www.uniprot.org/>)对靶点进行标准化和归一化处理。

**1.2.10 HCC 靶点收集** 以“hepatocellular carcinoma”和“HCC”为关键词输入 Gene Cards 数据库(<https://www.genecards.org/>)、DisGeNET 数据库(<https://disgenet.com/>)、OMIM 数据库(<https://www.omim.org/>)、TTD 数据库(<https://db.idrblab.net/ttd/>)检索 HCC 靶点, 合并 4 个数据库汇总到的靶点并删除重复项。

**1.2.11 构建蛋白质-蛋白质相互作用网络图**(protein-protein interaction networks, PPI) 将黄芪作用靶点与 HCC 作用靶点去重后导入 Venny2.1.0 在线平台(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>), 获取交集靶点, 将交集靶点导入 String 在线平台(<https://cn.string-db.org/>), 下载 TSV 格式, 于 Cytoscape3.9.1 中打开, 通过 Centiscape2.2 插件, 以接近中心性(Closeness Centrality, CC)和中介中心性(Betweenness Centrality, BC)的中位值与 Degree 均值均为阈值筛选核心靶点, 构建 PPI 网络。

**1.2.12 基因本体(Gene Ontology, GO)和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)富集分析** 将黄芪与 HCC 交集基因导入 David 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)进行 GO 和 KEGG 富集分析。选择物种为“Homo sapiens”, 标识符为“OFFICIAL\_GENE\_SYMBOL”。选择 GO 富集分析生物过程(biological process, BP)、细胞组分(cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF)三方面的前十项, KEGG 前二十项进行后续分析。

**1.2.13 构建疾病-药物-通路-靶点网络图** 将黄芪活性成分、交集基因、KEGG 前 20 条信号通路导入 Cytoscape 3.9.1 软件中构建“疾病-药物-通路-靶点”可视化交互网络。

**1.2.14 分子对接分析** 在 pubchem 数据库中下载黄芪潜在核心活性成分的 mol2 结构, 布鲁克海文蛋白质数据库(The BrookHaven Protein Data Bank, PDB; <https://www.rcsb.org/>)中搜索核心靶蛋白结构, 下载为 pdb 格式, 导入 CB-Dock2 (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/php/index.php>)在线平台进行受体与配体的对接预测, ChimeraX1.8 软件进行可视化处理。

**1.2.15 细胞免疫荧光检测相关蛋白表达** 将 MHCC-97H、HCC-LM3 细胞接种于共聚焦皿中, 设置对照组与实验组, 加入 4% 多聚甲醛固定 15 min, PBS 洗涤, 0.5% Triton X-100 室温透化 20 min, PBS 洗

涂, 10%山羊血清封闭1h后加入稀释后的一抗(兔抗P53/AKT1, 1:100), 4℃过夜。复温, 加入稀释后的二抗(AF488/AF594, 1:500), 37℃孵育1h后PBS洗涤, 加入含DAPI的抗淬灭封片剂, 激光共聚焦显微镜拍照。

**1.2.16 统计学分析** 采用GraphPad Prism 10.1.2软件进行统计分析。所有数据均为计量资料且符合正态分布, 每个实验至少重复3次, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用t检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 黄芪提取物对HCC细胞增殖作用的影响

MTT法检测黄芪提取物对HCC细胞活性结果显示, 经不同浓度黄芪提取物处理48h后, 两种细胞的 $IC_{50}$ 值分别为0.462 mg/ml与0.496 mg/ml(图1A)。与对照组相比, 0.5、1.0 mg/ml黄芪提取物处理24、48、72、96h后, 细胞活力均显著下降( $P < 0.05$ ; 图1B), 不同浓度下细胞存活率相似, 但0.5 mg/ml时黄芪提取物用量更少, 故选择0.5 mg/ml黄芪提取物开展后续实验。克隆形成实验结果表明, 与对照组相比, 0.5 mg/ml黄芪提取物作用下, MHCC-97H、HCC-LM3细胞形成克隆团的数量明显减少( $P < 0.01$ ; 图1C)。

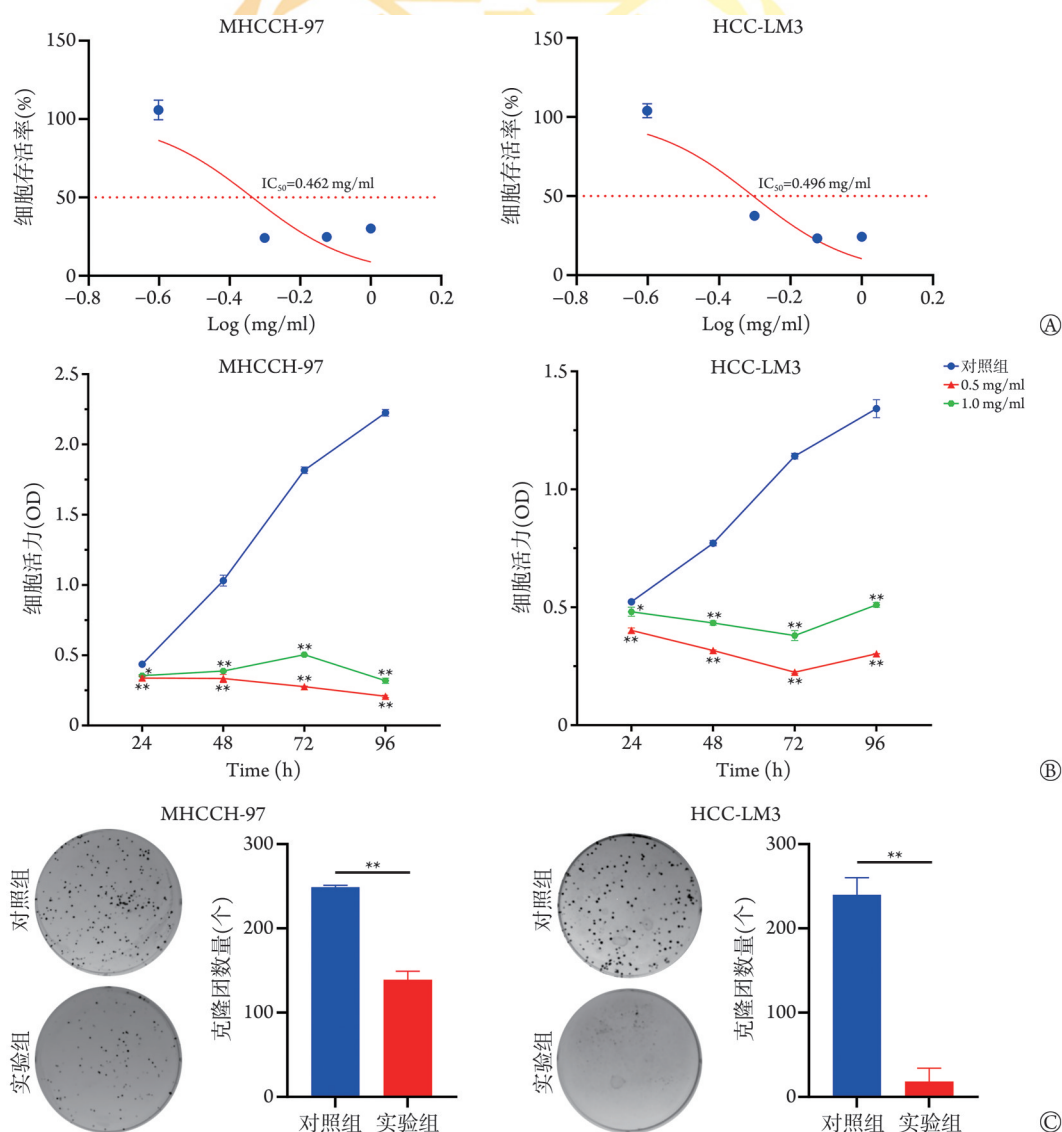


图1 黄芪提取物对HCC细胞增殖和细胞活力的影响

Fig.1 Effects of Astragalus extract on proliferation and viability of HCC cells

A. MHCC-97H与HCC-LM3细胞 $IC_{50}$ 值; 蓝色点: 0.25、0.5、0.75、1.0 mg/ml黄芪提取物处理48h后的细胞存活率; 红色线条: 药物浓度-细胞存活率拟合曲线; B. 黄芪对MHCC-97H与HCC-LM3细胞活力的影响; C. 黄芪提取物抑制MHCC-97H与HCC-LM3细胞的集落形成;  $IC_{50}$ 半抑制浓度; 与对照组相比, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

**2.2 黄芪提取物对HCC细胞迁移、侵袭与凋亡的影响** 与对照组相比,实验组MHCC-97H、HCC-LM3细胞在划痕48 h后的迁移速率和侵袭数量明显降低( $P < 0.01$ ;图2A、B);实验组细胞凋亡率明显升高( $P < 0.01$ ;图2C)。

**2.3 黄芪提取物对裸鼠瘤体的影响** 裸鼠皮下成瘤实验表明,注射HCC-LM3细胞10 d后裸鼠可稳定成瘤。而MHCC-97H组未形成稳定瘤体,故仅对注射HCC-LM3细胞的裸鼠进行后续研究。结果显示,与对照组相比,经黄芪提取物治疗5 d后实验组裸鼠瘤体体积、瘤体重量、灌胃前后裸鼠体重均无明显差异( $P > 0.05$ ;图3A—D)。

**2.4 黄芪-HCC共同靶点预测与PPI网络的构建和分析** 通过TCMSP数据库共检索到20种活性成分,其中16种成分存在明确的作用靶点,其余4种成分在初始分析中未发现其对应的作用靶点,因此采用SwissTargetPrediction数据库对未检索到靶点的活性成分进行补充分析,最终共得到19种活性成分与290个黄芪作用靶点。通过GeneCards数据库、DisGeNET数据库、OMIM数据库、TTD数据库分别获得304、10、59、54个HCC靶点,合并去重后共获得371个靶点。使用Venny2.1.0在线平台获得52个黄芪与HCC交集靶点,即黄芪作用于HCC的潜在靶点(图4A)。将52个交集靶点导入STRING在线平台,获得PPI网络图(图4B)。此网络中共有49个节点、175条边,平均节点Degree值为7.14。通过Centiscape2.2插件,筛选符合条件的核心靶点共19个,其中Degree值排名前5位的靶点分别为TP53、EGFR、AKT1、MYC、SRC(图4C)。

**2.5 GO功能和KEGG通路富集分析** 通过(GO)富集分析共得到603个功能条目,包含460个生物过程(BP)条目、53个细胞组分(CC)条目、90个分子功能(MF)条目。依据P值选择BP、CC、MF排名前10位的富集条目导入微信在线平台绘制条形图进行可视化。结果表明,黄芪抗HCC的机制与凋亡过程的负调控、磷酸化、对外源性刺激的反应、基因表达的正调控、miRNA转录的正调控等生物过程相关,与细胞质、含蛋白质的复合物、细胞核、受体复合物、核质等细胞成分以及蛋白质结合、酶结合、蛋白激酶活性、激酶活性、泛素蛋白连接酶结合等分子功能相关(附图1A)。

通过(KEGG)富集分析共得到159条信号通路,依据P值选择前20位导入微信在线平台绘制条形图进行可视化。结果表明,黄芪抗HCC主要涉及癌症通路、内分泌耐药、癌症中的蛋白聚糖、非小细胞性肺癌、膀胱癌、结直肠癌、乙型肝炎、卡波氏肉瘤相关疱疹病毒感染、肝细胞癌、胰腺癌、EGFR

酪氨酸激酶抑制剂耐药、黑色素瘤、胶质瘤、乳腺癌、前列腺癌、胃癌、人类T细胞白血病病毒1感染、人巨细胞病毒感染、丙型肝炎、磷脂酰肌醇3-激酶(Phosphatidylinositide 3-kinase, PI3K)-丝氨酸/苏氨酸激酶(serine/threonine kinase, Akt)信号通路(附图1B)。

**2.6 疾病-药物-通路-靶点的构建和分析** 利用Cytoscape3.9.1软件绘制疾病-药物-通路-靶点网络图(附图2)。该网络中包含93个节点和558条边,其中包括1个药物节点、1个疾病节点、19种活性成分、20条信号通路和52个核心靶点。依据Degree值大小将活性成分从高到低排列,依次为槲皮素、(3R)-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)色原烯-7-醇、山柰酚、异鼠李素等。

**2.7 分子对接验证** 将槲皮素、(3R)-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)色原烯-7-醇、山柰酚、异鼠李素与核心靶点TP53、EGFR、AKT1、MYC、SRC进行分子对接。结果显示,槲皮素与TP53、EGFR、AKT1、MYC、SRC的对接结合能分别为-7.7、-8、-5.9、-8、-6.6 kcal/mol; (3R)-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)色原烯-7-醇与TP53、EGFR、AKT1、MYC、SRC的对接结合能分别为-7.9、-7.9、-6.2、-7.6、-5.7 kcal/mol; 山柰酚与TP53、EGFR、AKT1、MYC、SRC的对接结合能分别为-7.7、-7.7、-5.6、-7.7、-6.5 kcal/mol; 异鼠李素与TP53、EGFR、AKT1、MYC、SRC的对接结合能分别为-7.9、-7.6、-6.3、-8.5、-6.3 kcal/mol(附图3)。结合能小于0,表明受体与配体可自发结合,结合能越低,结合活性越强。TP53、EGFR、MYC与槲皮素、(3R)-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)色原烯-7-醇、山柰酚、异鼠李素之间的结合能均 $< -7 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,表明TP53、EGFR、MYC与槲皮素、(3R)-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)色原烯-7-醇、山柰酚、异鼠李素之间均存在强烈的结合活性,故对其进行对接结果可视化(图5A-D)。

**2.8 黄芪对HCC细胞中P53、AKT1表达的影响** 网络药理学结果表明,TP53、AKT1是黄芪作用于HCC的核心靶点,且黄芪抗HCC与凋亡过程的负调控以及PI3K/AKT信号通路有关,故通过细胞免疫荧光对P53、AKT1的蛋白表达水平进行了检测。结果显示,与对照组相比,实验组P53蛋白表达水平明显上调( $P < 0.01$ ;图6A、B),AKT1蛋白表达水平明显下调( $P < 0.05$ ;图6C、D)。上述结果提示,黄芪可能通过协同调控AKT1与P53两个关键靶点,抑制PI3K/AKT信号通路的活性并增强P53介导的促凋亡信号通路,从而诱导HCC细胞凋亡。

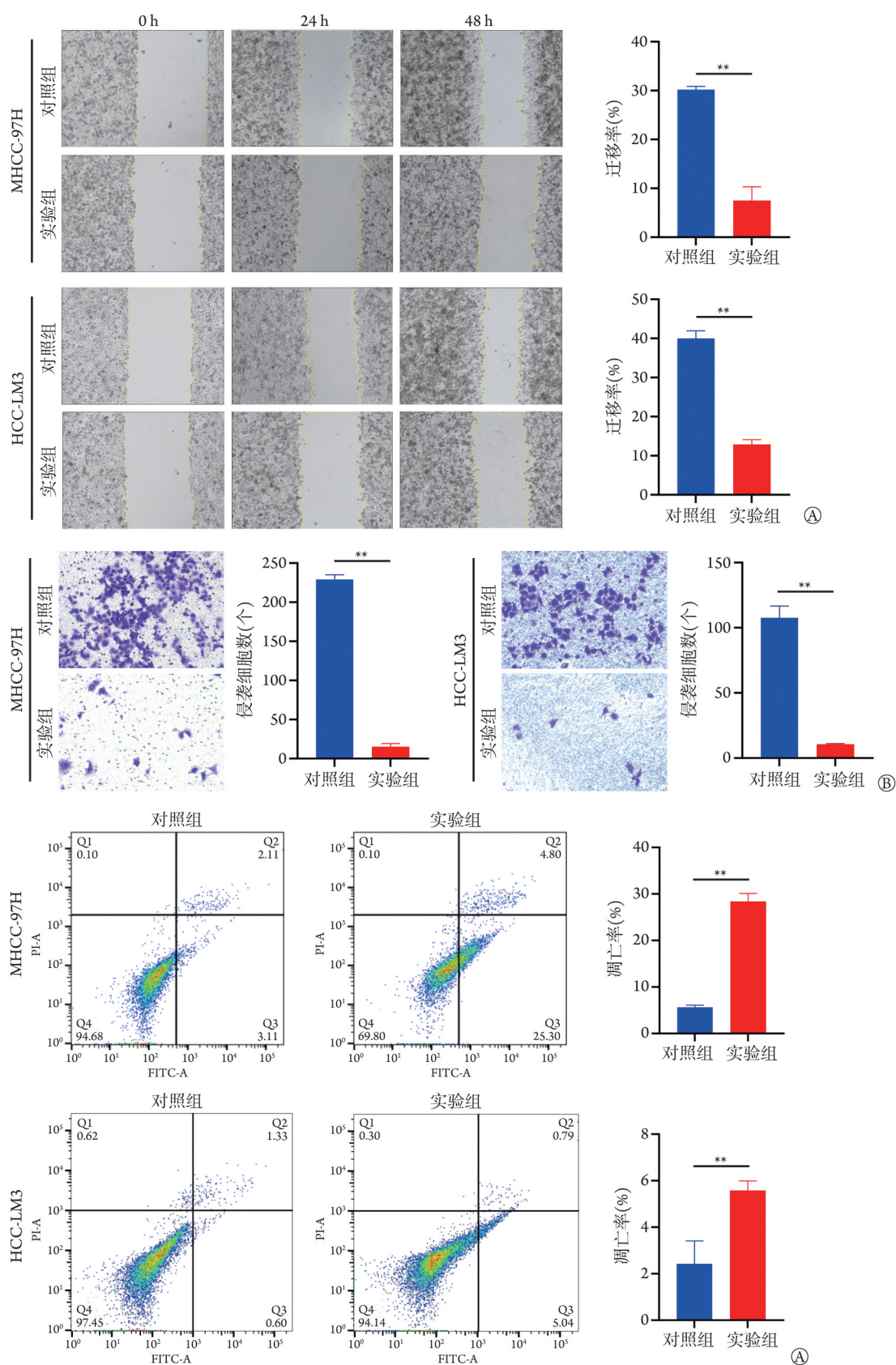


图2 黄芪提取物对HCC细胞迁移、侵袭与凋亡的影响

Fig.2 Effects of Astragalus extract on migration, invasion and apoptosis of HCC cells

A. 黄芪提取物抑制MHCC-97H与HCC-LM3细胞迁移; B. 黄芪提取物抑制MHCC-97与HCC-LM3细胞侵袭; C. 黄芪提取物诱导MHCC-97H与HCC-LM3细胞凋亡; 与对照组相比, \*\* $P < 0.01$

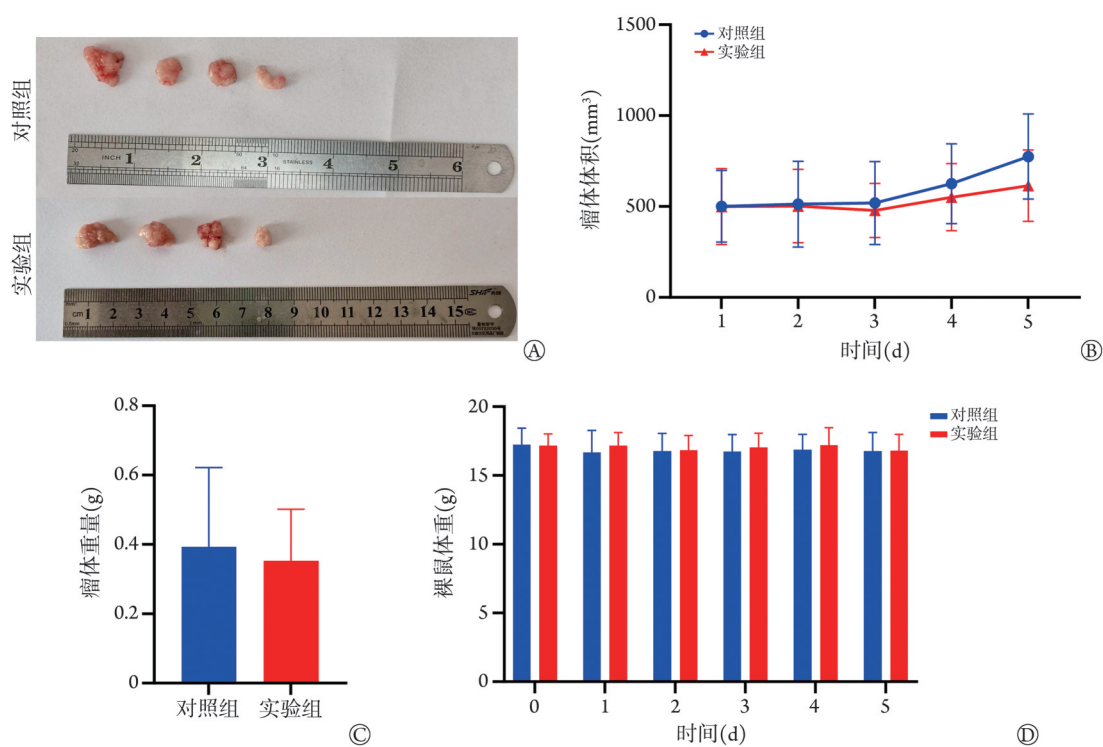


图3 黄芪提取物对裸鼠瘤体的影响

Fig.3 Effect of Astragalus extract on tumor in nude mice

A. 瘤体图; B. 瘤体体积变化; C. 瘤体重量变化; D. 裸鼠体重变化; ns.  $P > 0.05$

### 3 讨 论

肝细胞癌(HCC)是全球范围内常见的恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率持续居于高位,严重威胁人类健康<sup>[19]</sup>。黄芪具有补气升阳、益卫固表等功效,在肿瘤的辅助防治方面显示出潜在的重要价值<sup>[9]</sup>。中医认为,正气亏虚,外邪侵入、情志内伤、饮食失节、痰瘀毒结是肝癌发生发展的主要因素;扶正祛邪为中医防治肝癌的核心策略<sup>[22]</sup>。黄芪作为经典的补气扶正药,被誉为“补气之长”,其主要通过增强机体免疫功能来调节肿瘤微环境;此外,研究还提示其可能具有改善微循环、缓解相关症状的作用,从而为HCC的综合治疗创造更有利的内环境<sup>[7][23]</sup>。但其对HCC的具体作用机制尚未完全明确,仍需进一步深入研究以揭示其在肿瘤治疗中的潜在价值。本研究通过体、内外实验探究了黄芪对HCC的影响,并结合网络药理学对黄芪作用于HCC的核心靶点与机制通路进行了预测。

肿瘤细胞的增殖是推动肿瘤恶性进展的关键因素,因此抑制肿瘤细胞的增殖已成为癌症治疗的核心策略之一<sup>[24]</sup>。在本研究中,MTT法与细胞愈合实验结果显示黄芪提取物能够明显抑制HCC细胞的增殖。此外,克隆形成、划痕与Transwell实验结果表明黄芪提取物可明显抑制HCC细胞的克隆形成能

力。抑制HCC细胞的克隆、迁移与侵袭能力,提示其在抑制肿瘤细胞的转移方面具有潜在作用。流式细胞术检测结果显示黄芪提取物能够促进HCC细胞凋亡,进一步揭示了其抑制肿瘤恶性进展的机制。以上研究结果表明,黄芪提取物在抑制HCC细胞的恶性行为方面具有明显效果。现有研究揭示了黄芪提取物在抑制肝癌进展中的多重机制。毛蕊异黄酮作为黄芪提取物中的关键成分之一,已被证实能够通过下调CDK2/4/6、Cyclin D1和Cyclin E等关键周期蛋白的表达,诱导肝癌细胞周期停滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期<sup>[25,26]</sup>,从而有效抑制其增殖。黄芪甲苷则能抑制血管内皮生长因子(VEGF)的表达以抗血管生成,直接削弱肿瘤细胞的迁移和侵袭能力<sup>[15,27]</sup>。黄芪多糖被证实能够直接诱导HepG2等肝癌细胞发生凋亡<sup>错误! 未找到引用源。</sup>。基于上述主要活性成分的作用机制,可以合理推测黄芪提取物可能通过协同发挥诱导细胞周期阻滞、抑制血管生成及促进细胞凋亡等多重作用,共同抑制HCC进展。这为黄芪作为肝癌综合治疗中的辅助药物提供了重要的理论依据和应用潜力。体内实验表明,经100 mg/kg黄芪灌胃处理5d后,裸鼠体内瘤体体积与重量均未出现显著性差异,可能与灌胃时间不足以及部分药物经胃肠道吸收导致其有效浓度下降有关。

黄芪的主要活性成分以及作用于HCC靶点和信

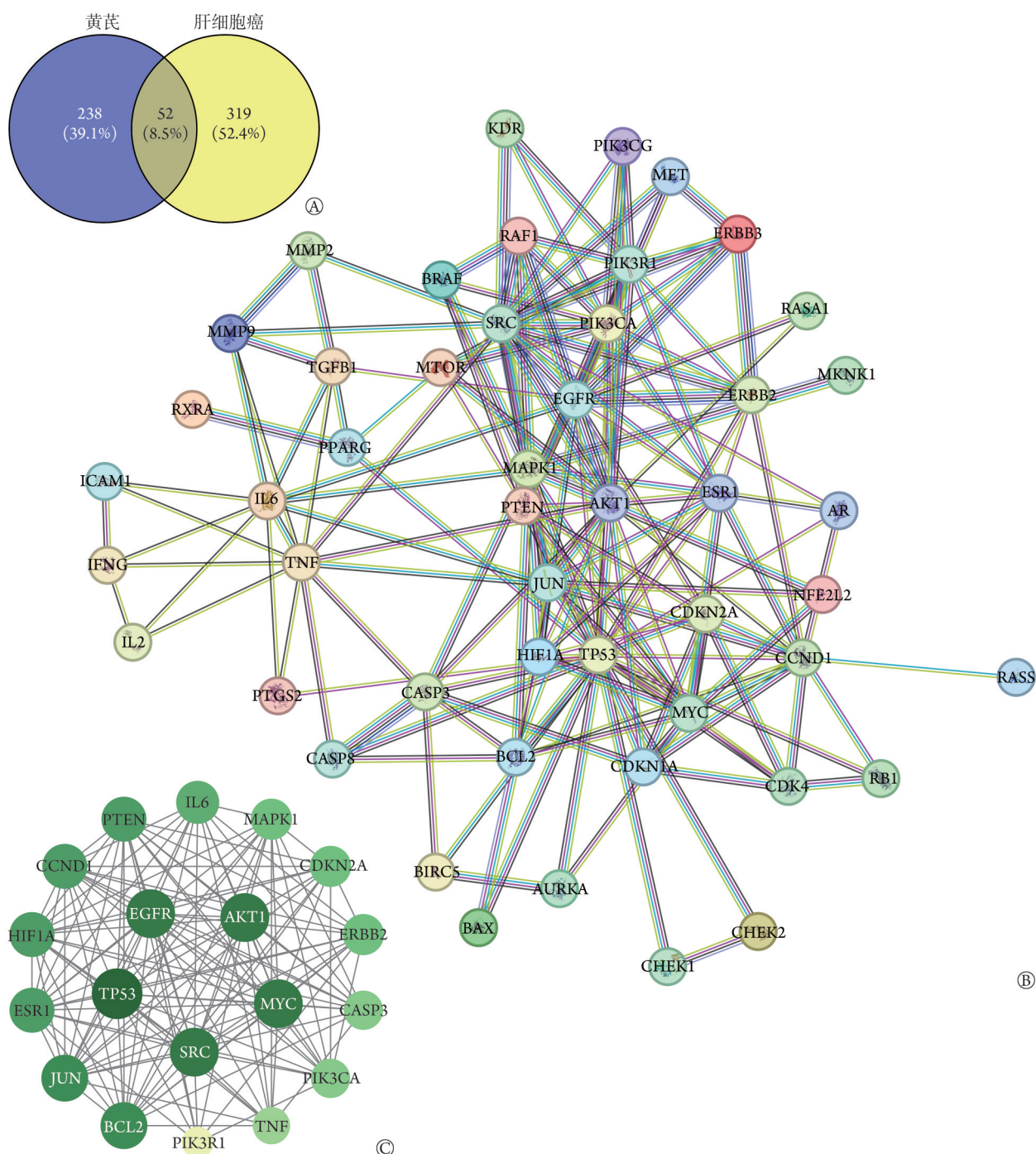


图4 黄芪作用于HCC的潜在靶点

Fig.4 Potential targets of Astragali Radix on HCC

A. 黄芪-HCC交集基因; B. PPI网络图; C. 优化后的PPI网络图; PPI. 蛋白互作网络; HCC. 肝细胞癌

号通路尚未明确。为此，本研究采用网络药理学方法对其抗HCC机制进行了预测。黄芪治疗HCC涉及52个核心靶点。通过对核心靶点的蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络进行分析和可视化，进一步筛选出TP53、EGFR、AKT1、MYC和SRC作为黄芪干预HCC的关键靶点。有研究证明，这些靶点在多种肿瘤进程中发挥关键作用，涉及细胞增殖、凋亡、代谢、侵袭和转移等多个生物过程，是肿瘤研究和治

疗中的重要靶点<sup>[28]</sup>。本研究通过疾病-药物-通路-靶点分析显示黄芪作用于HCC的主要核心成分分别为槲皮素、(3R)-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)色原烯-7-醇、山柰酚、异鼠李素等。其中，槲皮素为黄芪组成成分之一，具有抗氧化及清除自由基、抗肿瘤<sup>[30]</sup>等作用。研究表明槲皮素可以通过PI3K/AKT信号通路促进消化道肿瘤细胞凋亡从而抑制癌症的进展<sup>[31]</sup>。山柰酚是一种广泛存在于天然植物中黄酮类化合物，

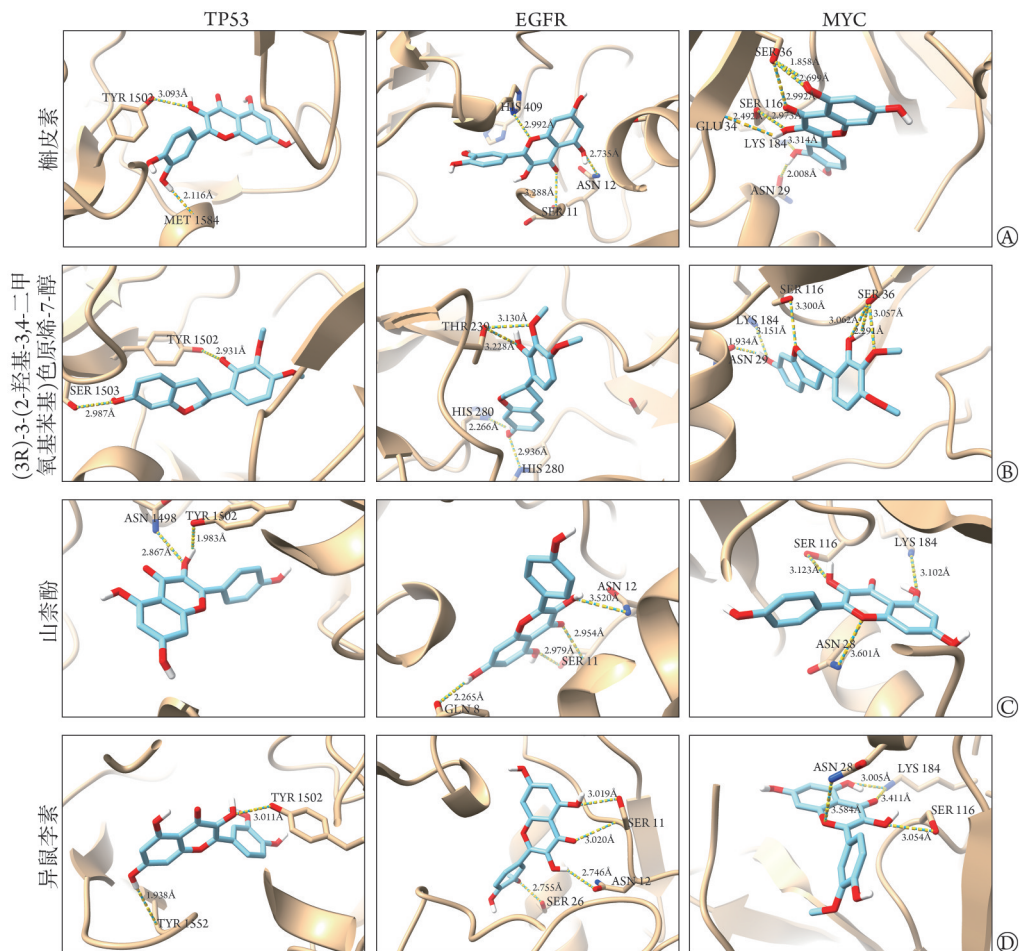


图5 黄芪潜在核心活性成分与核心靶点分子对接图

Fig.5 Molecular docking diagram of potential core active components and core targets of Astragali Radix

A、B、C分别示意槲皮素、(3R)-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)色原烯-7-醇、山奈酚与TP53、EGFR、MYC的对接图；D. 异鼠李素与TP5、EGFR、MYC对接图；TP53. 肿瘤蛋白p53；EGFR. 表皮生长因子受体；MYC. 骨髓细胞瘤癌基因

具有抗氧化、抗炎<sup>[32]</sup>等多种药理作用，众多研究表明其在肺癌<sup>[33]</sup>、乳腺癌<sup>[34]</sup>等多种癌症中发挥了重要作用。山奈酚通过调控 miR21/PTEN/AKT 信号通路从而抑制非小细胞肺癌细胞 A549 的增殖<sup>[33]</sup>。此外，山奈酚还可通过抑制 Met 通路促进非小细胞肺癌细胞自噬<sup>[35]</sup>；抑制肿瘤的血管生成，进而限制肿瘤的增长与转移<sup>[36]</sup>。异鼠李素除了在抗氧化、抗炎、抗病等方面发挥显著优势之外其对多种肿瘤细胞具有抑制作用，涉及细胞周期阻滞、诱导细胞凋亡等生物过程<sup>[37]</sup>。(3R)-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)色原烯-7-醇是一种色原烯类化合物，文献表明，其可能通过靶向 SRC、PTGS2、PTK2 等多个靶点来发挥对胶质瘤的抑制作用<sup>[38]</sup>，但具体机制尚不明确，可作为潜在开发的抗肿瘤药物。综上，黄芪可能通过上述多种活性成分，协同作用于 AKT、SRC 等关键靶点，从诱导凋亡、抑制增殖、阻滞周期、抗血管生成等多途径发挥抗 HCC 作用，体现了中药多成分、多靶点的协同治疗特色。

本研究的 GO 与 KEGG 富集结果显示，黄芪抗 HCC 的机制与细胞凋亡负调控、磷酸化等生物过程以及癌症信号通路、PI3K/AKT 信号通路相关。分子对接结果表明，黄芪中的主要核心成分槲皮素、(3R)-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)色原烯-7-醇、山奈酚、异鼠李素与 TP53、EGFR、MYC 之间可形成氢键，且具有较强的结合亲和力，表明黄芪中核心成分可能作用于这些核心靶点来实现对 HCC 的抑制作用。既往研究证实，抑制 PI3K/AKT 通路能够上调 P53，进而抑制肝癌细胞增殖并诱导凋亡<sup>[39]</sup>。为探究黄芪是否通过此通路发挥作用，我们通过细胞免疫荧光检测了核心靶点 P53 及 AKT1 的表达。结果显示，经黄芪处理后，HCC 细胞中 AKT1 蛋白水平显著下调，P53 蛋白水平显著上调，提示黄芪可能通过抑制 PI3K/AKT 通路活性，上调 P53 表达这一分子机制，发挥抑制肝癌细胞增殖，促进细胞凋亡的生物学效应。

综上所述，本研究通过体外实验验证了黄芪对

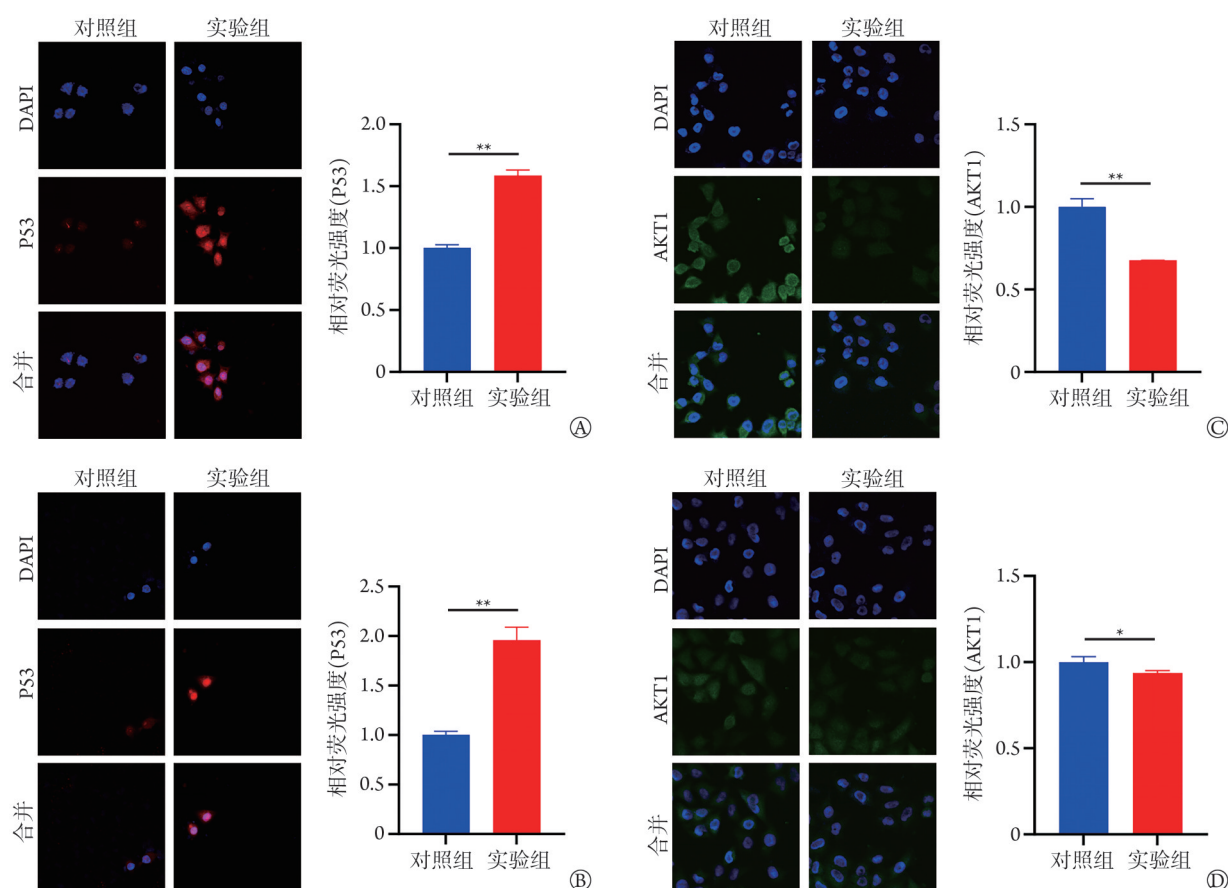


图6 黄芪对P53、AKT1蛋白表达水平的影响

Fig.6 The effect of Astragali Radix on the expression levels of P53 and AKT1 proteins.

A 黄芪对MHCC-97H细胞中P53蛋白表达水平的影响；B：黄芪对HCC-LM3细胞中P53蛋白表达水平的影响；C：黄芪对MHCC-97H细胞中AKT1蛋白表达水平的影响；D：黄芪对HCC-LM3细胞中AKT1蛋白表达水平的影响；P53. 肿瘤蛋白p53；AKT1. 丝氨酸/苏氨酸激酶1；与对照组相比，\* $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$

HCC细胞具有抑制作用，通过网络药理学对黄芪抗HCC的核心靶点及机制通路进行预测，揭示了黄芪在HCC治疗中的潜在应用价值，为未来治疗策略的开发提供了前期理论依据。但本研究亦存在一些不足，如体内实验中黄芪灌胃时间较短、药物作用浓度范围有待优化；对机制的研究主要基于计算方法和数据库信息进行预测，缺乏直接的实验验证等，后续将优化体内实验方案并通过转录组测序等实验对机制通路进行更深入的研究。

#### 【参考文献】

- [1] Lee MH. Public health strategies for hepatocellular carcinoma: from risk factors to prevention and control[J]. *J Liver Cancer*, 2025, 25(2): 204-216.
- [2] Bray F, Laversanne M, Sung H, *et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74: 229-263.
- [3] Kudo M, Ueshima K, Ikeda M, *et al.* Randomised, multicentre prospective trial of transarterial chemoembolisation (TACE) plus sorafenib as compared with TACE alone in patients with hepatocellular carcinoma: TACTICS trial[J]. *Gut*, 2020, 69(8): 1492-1501.
- [4] Ning L, Tian Y, Chen D, *et al.* Sorafenib safety evaluation: Real-world analysis of adverse events from the FAERS database[J]. *Heliyon*, 2024, 10(18): e37348.
- [5] Xue M, Wu Y, Zhu B, *et al.* Advanced hepatocellular carcinoma treated by transcatheter arterial chemoembolization with drug-eluting beads plus lenvatinib versus sorafenib: a propensity score matching retrospective study[J]. *Am J Cancer Res*, 2021, 11(12): 6107-6119.
- [6] Jones A, Degregorio P, Sung MW, *et al.* Characterization and management of adverse reactions in patients with unresectable hepatocellular carcinoma treated with lenvatinib[J]. *J Adv Pract Oncol*, 2023, 14(7): 598-607.
- [7] 徐世一, 刘秀波, 陆佳欣, 等. 黄芪活性成分抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. *中草药*, 2022, 53(23): 7613-7623.
- [8] 马艳春, 胡建辉, 吴文轩, 等. 黄芪化学成分及药理作用研究进展[J]. *中医药学报*, 2022, 50(7): 1-6.
- [9] 叶懿祥, 陈冬梅, 贾立群, 等. 黄芪抗肿瘤药理作用机制与临床应用研究进展[J]. *世界中医药*, 2023, 18(11): 1615-1620.
- [10] 周援, 邵颖, 陈安徽, 等. 黄芪复方浸膏制备工艺优化及对大鼠缺铁性贫血的改善研究[J]. *粮食与油脂*, 2023, 36(6): 97-100.
- [11] 倪慧明, 董哲毅, 陈香美. 黄芪主要活性成分对糖尿病肾病的

- 疗效机制研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2021, 46(3): 294-299.
- [12] 董又滋, 赵泉霖, 王毓国. 基于GEO数据库的黄芪-当归药对治疗糖尿病合并心血管并发症的分子机制研究[J]. 解放军医学杂志, 2022, 47(12): 1190-1200.
- [13] Cui Z, Shang Q. Mechanistic insights into the antitumor effects of astragaloside IV and astragalus polysaccharide in digestive system cancers[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1691011.
- [14] Jeong SH, Kim HH, Park MY, *et al.* Potential anticancer effects of isoflavone prunetin and prunetin glycoside on apoptosis mechanisms[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(21): 11713.
- [15] Xia D, Li W, Tang C, *et al.* Astragaloside IV, as a potential anticancer agent[J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1065505. 有错误
- [16] Sohel M, Shova FTZ, Shuvo S, *et al.* Unveiling the potential anticancer activity of calycosin against multivarious cancers with molecular insights: a promising frontier in cancer research[J]. *Cancer Med*, 2024, 13(3): e6924.
- [17] Li S, Li J, Fan Y, *et al.* The mechanism of formononetin/calycosin compound optimizing the effects of temozolomide on C6 malignant glioma based on metabolomics and network pharmacology[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 153: 113418.
- [18] Xiu W, Zhang Y, Tang D, *et al.* Inhibition of EREG/ErbB/ERK by astragaloside IV reversed taxol-resistance of non-small cell lung cancer through attenuation of stemness via TGF $\beta$  and Hedgehog signal pathway[J]. *Cell Oncol*, 2024, 47(6): 2201-2215.
- [19] Singal AG, Kanwal F, Llovet JM. Global trends in hepatocellular carcinoma epidemiology: implications for screening, prevention and therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(12): 864-884.
- [20] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [21] Llovet JM, Kelley RK, Villanueva A, *et al.* Hepatocellular carcinoma [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7(1): 6.
- [22] 董银星, 宁博, 郭曜宁, 等. 基于积证理论探讨通络消积法在原发性肝癌中的应用[J]. 现代中医临床, 2025, 32(4): 43-48.
- [23] Zhang Y, Chen Z, Chen L, *et al.* Astragali radix (Huangqi): a time-honored nourishing herbal medicine[J]. *Chin Med*, 2024, 19(1): 119.
- [24] Debela DT, Muzazu SG, Heraro KD, *et al.* New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives[J]. *SAGE Open Med*, 2021, 9: 2050312211034366.
- [25] Liu Y, Piao X J, Xu W T, *et al.* Calycosin induces mitochondrial-dependent apoptosis and cell cycle arrest, and inhibits cell migration through a ROS-mediated signaling pathway in HepG2 hepatocellular carcinoma cells[J]. *Toxicol In Vitro*, 2021, 70: 105052.
- [26] 鲍宁, 陈子超, 赵春芹, 等. 黄芪-莪术药对及其活性成分抗肝癌作用机制研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(15): S101-S111.
- [27] 牟坤, 杨福利, 郭晓青, 等. 黄芪甲苷对人源宫颈癌细胞C4-1的生长抑制作用及机制研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2023, 31(06): 1109-1113.
- [28] Jiao J, Yu J, Ji H, *et al.* Synthesis of macromolecular Astragalus polysaccharide-nano selenium complex and the inhibitory effects on HepG2 cells[J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 211: 481-489.
- [29] Ye B, Chen P, Lin C, *et al.* To reveal the potential mechanism of quercetin against NSCLC based on network pharmacology and experimental validation[J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2024.
- [30] Tang S, Deng X, Zhou J, *et al.* Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109604.
- [31] Cao H, Song H, Zhou W, *et al.* Exploring the active ingredients of Banzhilian and its mechanism of action on diabetic gastric cancer based on network pharmacology[J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 1-15.
- [32] Shahbaz M, Imran M, Alsagaby SA, *et al.* Anticancer, antioxidant, ameliorative and therapeutic properties of kaempferol[J]. *Int J Food Prop*, 2023, 26(1): 1140-1166.
- [33] 杨生辉, 黄琰菁, 莫安薇, 等. 山奈酚通过调控miR21抑制非小细胞肺癌A549细胞增殖的研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(13): 1557-1562.
- [34] 李鹰飞, 曾世彬, 邱华平, 等. 山奈酚对乳腺癌细胞增殖及诱导凋亡的作用研究及机制[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(22): 3679-3682.
- [35] Wang R, Deng Z, Zhu Z, *et al.* Kaempferol promotes non-small cell lung cancer cell autophagy via restricting Met pathway[J]. *Phytomedicine*, 2023, 121: 155090.
- [36] Almatroudi A, Allemailem KS, Alwanian WM, *et al.* Effects and mechanisms of kaempferol in the management of cancers through modulation of inflammation and signal transduction pathways[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(10): 8630.
- [37] Gong G, Guan Y, Zhang Z, *et al.* Isorhamnetin: a review of pharmacological effects[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 128: 110301.
- [38] Feng Y, Zhu P, Wu D, *et al.* A network pharmacology prediction and molecular docking-based strategy to explore the potential pharmacological mechanism of Astragalus membranaceus for glioma[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(22): 16306.
- [39] Sun EJ, Wankell M, Palamuthusingam P, *et al.* Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *Biomedicine*, 2021, 9(11): 1639.

(责任编辑: 郭蕊)