



主持人: 韩 谦, 刘萌萌

Open Access



海南产火炭母抗鸡白痢的作用初探

孙羽伶[#], 何 婷, 符美虹, 李天森^{*}

(海南大学 热带农林学院, 海南 海口 570228 中国)

摘 要: 为了探究海南产火炭母 (*Polygonum chinense*) 抗鸡白痢的可能性和潜在分子机制, 通过网络药理学筛选海南产火炭母核心活性成分和核心靶点并进行分子对接验证, 同时利用四因素三水平 $L_9(3^4)$ 正交试验和牛津杯抑菌试验确定海南产火炭母最佳提取条件, 并检测其最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC)。结果表明, 海南产火炭母活性成分与鸡白痢有 61 个交集靶点。从 GO 功能分析中获得 45 个生物过程、15 个细胞组分和 12 个分子功能, KEGG 通路富集到 18 条信号通路。分子对接结果显示, 5 种核心活性成分和 5 个核心靶点的结合自由能均小于 $-5.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。正交试验结果表明, 海南产火炭母最佳提取条件为料液比 1 : 60, 70 °C 提取 45 min, 提取 2 次, 其 MIC 和 MBC 相同, 均为 $128 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。综上所述, 海南产火炭母可能通过槲皮素、山柰酚等多种活性成分调控 MMP9、PPARG 等多个靶点, 从而影响 MAPK、Toll 样受体信号通路等多条途径发挥抗鸡白痢作用。现已证明, 海南产火炭母以黄酮类成分为主, 多成分协同效应为辅起抗鸡白痢作用。

关键词: 网络药理学; 海南产火炭母; 鸡白痢; 正交试验

中图分类号: R282.71

文献标志码: A

文章编号: 1674 - 7054(2025)06 - 0909 - 11

孙羽伶, 何婷, 符美虹, 等. 海南产火炭母抗鸡白痢的作用初探 [J]. 热带生物学报, 2025, 16(6): 909-919. doi:

10.15886/j.cnki.rdswwb.20250074

鸡白痢是由鸡白痢沙门氏菌引起的常见禽类传染病, 以白色下痢和急性败血症为主要特征, 其感染范围广、发病率和死亡率高, 高度流行于中国大多数省市, 严重威胁了中国禽类养殖业的健康发展^[1-2]。目前, 主要通过种鸡净化 and 抗生素对鸡白痢进行防治, 但因抗生素易引起药物残留、细菌耐药性等危害, “减抗替抗”已成为当前禽类养殖业的重要发展方向。天然中草药因其毒副作用小、残留量低、效果多样等特点, 逐渐作为抗生素替代品用于防治鸡白痢的临床实践当中。

火炭母 (*Polygonum chinense*) 为广泛分布于中国岭南地区 (广东、福建、广西和海南等) 的蓼科蓼属植物, 具有清热解毒、凉血利湿、明目退翳等多种功效, 临床上主要用于治疗痈肿疼痛、腹泻、痢疾、角膜云翳及各类炎症等^[3-4], 研究表明, 火炭母对多种血清型的沙门氏菌均有抑制能力^[5-6]。目

前的研究多以广西产火炭母为主, 针对海南产火炭母及其抗鸡白痢作用的研究鲜见报道, 因此, 本实验拟利用网络药理学探究海南产火炭母的主要有效成分及潜在分子机制, 通过正交试验确定其最佳提取工艺并对其粗提物抑菌效果进行初步验证, 旨在为海南产火炭母的临床应用及新药研发提供理论支持和实验依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料 海南产火炭母粉末 (保存于本实验室); 无水乙醇 (西陇科学股份有限公司); 硫酸庆大霉素 (合肥博美生物技术有限公司); LB 肉汤培养基 (杭州微生物试剂有限公司); MH 肉汤培养基 (北京路桥技术股份有限公司); 琼脂粉 (赛国生物科技有限公司); 无菌生理盐水 (广西裕源药业有限公司); 鸡白痢沙门氏菌标准株 (ATCC10398, 保存于本实验室)。

收稿日期: 2025 - 06 - 03

修回日期: 2025 - 07 - 30

基金项目: 海南省自然科学基金高层次人才项目 (823RC468)

[#]第一作者: 孙羽伶 (2001—), 女, 海南大学热带农林学院 2023 级硕士研究生。E-mail: 779203970@qq.com

^{*}通信作者: 李天森 (1987—), 男, 讲师。研究方向: 动物疫病防控。E-mail: 993914@hainanu.edu.cn

1.2 网络药理学分析 将海南产火炭母粉末送至江苏三泰生物科技有限公司进行中药非靶代谢组学检测,获得海南产火炭母化学成分,随后利用 TCMSP 数据库 (<https://www.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)和 SwissADME 数据库 (<http://www.swissadme.ch/>)筛选活性成分,通过 SwissTargetPrediction 数据库 (<http://swisstargetprediction.ch/>)和 PharmMapper 数据库 (<https://lilab-ecust.cn/pharmmapper/index.html>)预测活性成分作用靶点。在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)和 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>)中,以“Pullorum disease”和“*Salmonella pullorum*”为关键词收集鸡白痢相关靶点。通过 Venny 2.1 在线网站(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)获得二者的交集靶点。

将交集靶点导入 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)获得蛋白质相互作用(PPI)网络图并利用 Cytoscape 3.10.0 软件的 CytoNAC 插件对 PPI 网络图的度中心性(degree centrality, DC)、紧密中心性(closeness centrality, CC)、介数中心性(between centrality, BC)、特征向量中心性(eigenvector centrality, EC)、局部平均连接(local average connectivity, LAC)和网络中心(network center, NC)6 个参数进行分析。

将交集靶点导入 DAVID 数据库 (<https://davidbioinformatics.nih.gov/tools.jsp>),选择物种“*Gallus*”后进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。

将海南产火炭母及其活性成分、交集靶点、KEGG 通路和鸡白痢导入 Cytoscape 3.10.0 软件,获得“药物-活性成分-交集靶点-通路-疾病”网络图,取 Degree 值前 10 名的交集靶点与主要靶点的交集为核心靶点。在“药物-活性成分-交集靶点-通路-疾病”网络图的基础上绘制“主要靶点-成分”网络图,对 2 张图中 Degree 值前 10 名活性成

分取交集,将成分代谢物峰值排前 5 名的成分视为核心活性成分。

1.3 分子对接 利用 Chem3D 软件优化核心活性成分结构。通过 SWISS-MODEL 在线网站(<https://swissmodel.expasy.org/interactive>)构建核心靶点蛋白模型。对核心活性成分结构和核心靶点蛋白模型进行预处理,然后利用 Auto Dock Vina 软件进行分子对接,记录对接结果并进行可视化。

1.4 正交试验优化火炭母提取工艺

1.4.1 正交试验设计 根据网络药理学筛选结果选择 70%(v/v) 乙醇溶液为提取溶剂以富集总黄酮^[7],采用热水浸提法进行提取并利用 SPSSAU 在线网站(<https://spssau.com/index.html>)设计 4 因素 3 水平 $L_9(3^4)$ 正交试验以最大化保留总黄酮及其他预测抗菌成分,条件设置见表 1。将提取液用纱布过滤、合并后旋蒸除醇,将生药浓缩至 $1\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

1.4.2 牛津杯抑菌实验 将对数生长期的鸡白痢沙门氏菌稀释至 $1.5\times 10^6\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$,无菌棉签蘸取后涂布于 LB 琼脂培养基,涂布 3 次,每次旋转 60° ,待菌液稍干后置于牛津杯中,然后加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ $0.5\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 海南产火炭母粗提物, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $\phi=5\%\text{CO}_2$ 培养 20 h。以硫酸庆大霉素($50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)为阳性对照,无菌生理盐水为阴性对照。使用游标卡尺通过十字交叉法进行测量,结果取均值,重复实验 3 次。

1.5 最佳工艺验证 按照最佳提取条件重新提取 3 份海南产火炭母粗提物,通过牛津杯抑菌试验检测其抗菌活性,并计算 3 份海南产火炭母粗提物抑菌结果的平均值和相对标准偏差(Relative standard deviation, RSD),对最佳提取条件进行验证,重复实验 3 次,结果取均值。

1.6 最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC) 通过微量肉汤稀释法倍比稀释海南产火炭母粗提

表 1 正交试验条件

Tab. 1 Orthogonal test condition

水平 Level	因素 Factor			
	A.提取温度/ $^\circ\text{C}$ A.Extraction temperature/ $^\circ\text{C}$	B.料液比(g : mL) B.Ratio of raw material to liquid(g : mL)	C.提取时间/min C.Extraction time/min	D.提取次数/次 D.Number of extractions
1	50	1 : 60	35	1
2	60	1 : 70	45	2
3	70	1 : 80	55	3

物,加入菌液,37 ℃、5%(v/v)CO₂ 培养 24 h 后,肉眼观察无菌生长的最低浓度为 MIC。吸取药液-菌液混合液于 MH 琼脂培养基上均匀涂布,37 ℃、5%(v/v)CO₂ 培养 24 h 后,无菌落浓度为 MBC 浓度。MH 肉汤培养基为空白对照组,MH 肉汤培养基+菌液为细菌对照组。

1.7 数据的统计分析 采用 Microsoft Excel 软件对实验数据进行整理,实验数据以“平均值”表示,并精确到小数点后 2 位,采用方差分析对正交试验结果进行显著性分析, $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著, $P>0.05$ 表示差异不显著。

2 结果与分析

2.1 海南产火炭母与鸡白痢的交集靶点及其韦恩图 中药非靶代谢组学检测发现,海南产火炭母含有 331 种成分,经过 TCMSP 数据库和 SwissADME 数据库筛选获得 122 个活性成分,通过对 SwissTargetPrediction 数据库和 PharmMapper 数据库预测的靶点进行筛选、合并、去重后共获得 1 024 个活性成分靶点。GeneCards 数据库和 OMIM 数据库获得的靶点进行筛选、合并、去重后共获得 507 个疾病靶点。二者取交集,获得交集靶点有 61 个,即海南产火炭母抗鸡白痢的可能靶点(图 1)。

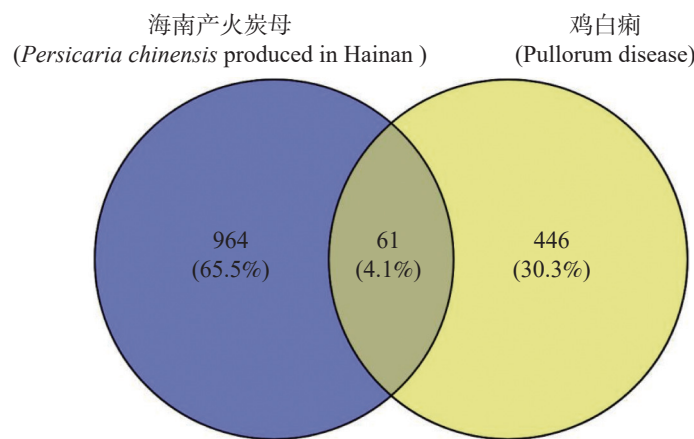


图 1 交集靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of the intersection target

2.2 PPI 网络图 在 STRING 数据库导入交集靶点进行蛋白质互作分析,通过 Cytoscape 3.10.0 软件进行可视化,如图 2 所示,图中节点颜色越深,半径越大,说明其 Degree 值越大,相互作用的

蛋白质越多。利用 CytoNAC 插件对 PPI 网络图的 DC、CC、BC、EC、LAC 和 NC 等 6 个参数进行分析,筛选出各参数均大于中位值的靶点视为主要靶点(图 3)。

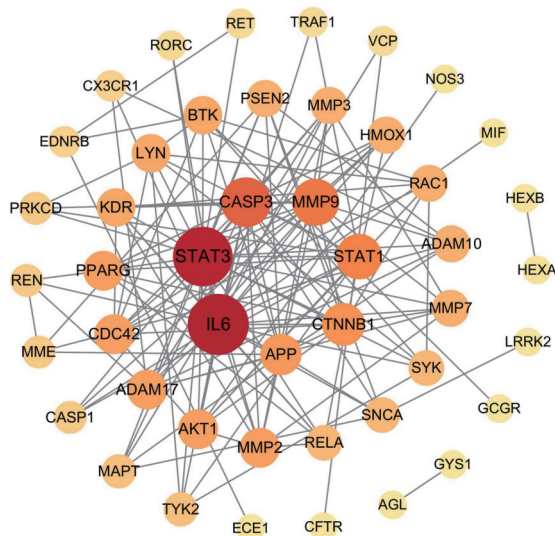


图 2 PPI 网络图

Fig. 2 PPI network diagram

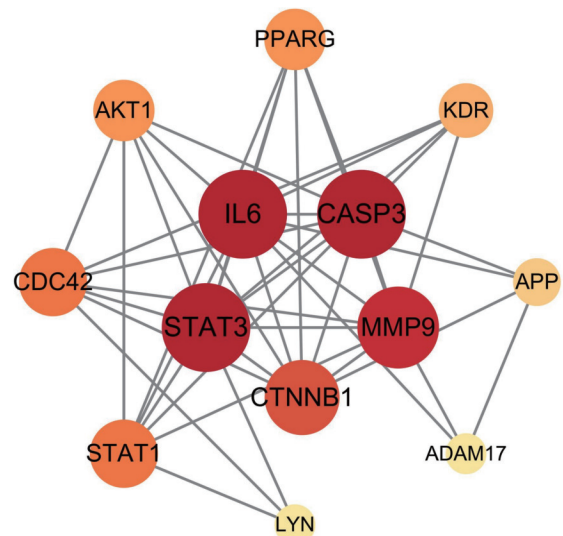


图 3 主要靶点网络图

Fig. 3 Main target network diagram

2.3 GO 功能和 KEGG 通路富集分析 将交集靶点导入 DAVID 数据库, 选择物种“*Gallus*”后进行 GO 和 KEGG 富集分析, 获得生物过程(biological process, BP)45 个、细胞组分(cellular component, CC)15 个、分子功能(molecular function, MF)12 个以及 KEGG 通路 18 条。由图 4 可知, 靶点参与蛋白水解、蛋白质磷酸化、细胞内信号转导等多个

生物过程, 涉及细胞膜、细胞质、细胞溶质等多个细胞组分, 涵盖 ATP 结合、金属离子结合、金属内肽酶活性等多个分子功能。由图 5 所示, KEGG 通路包括 C 型凝集素受体信号通路、VEGF 信号通路、Toll 样受体信号通路、MAPK 信号通路等。

2.4 核心靶点和核心活性成分筛选 如图 6 所示, 海南产火炭母通过多成分、多靶点、多通路对

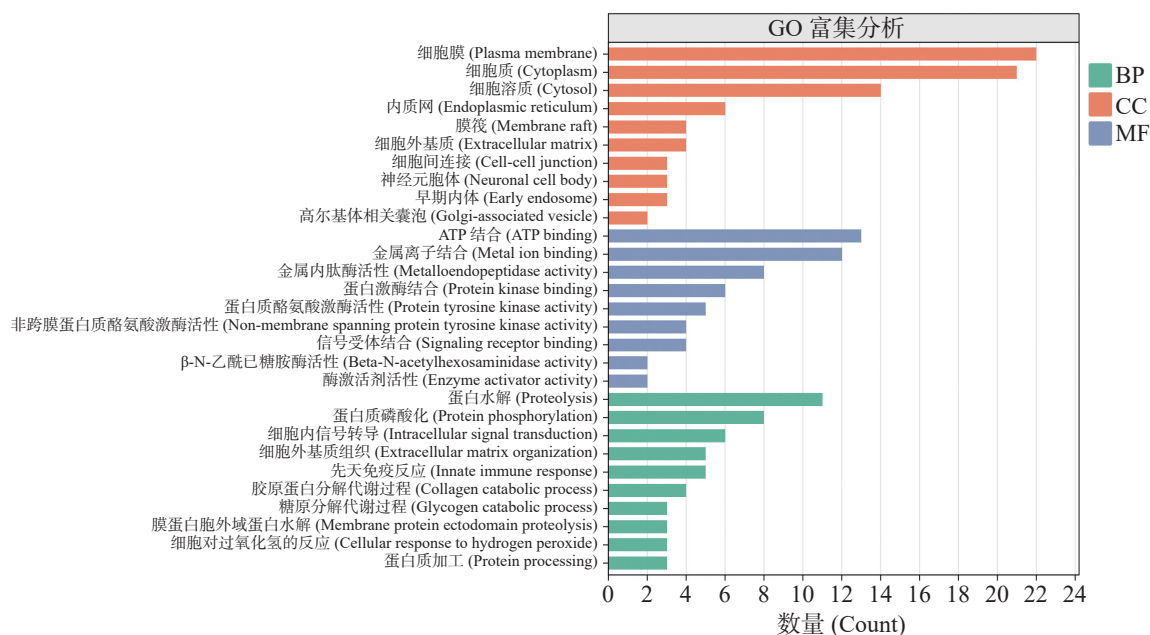


图 4 GO 富集图

Fig. 4 GO enrichment diagram

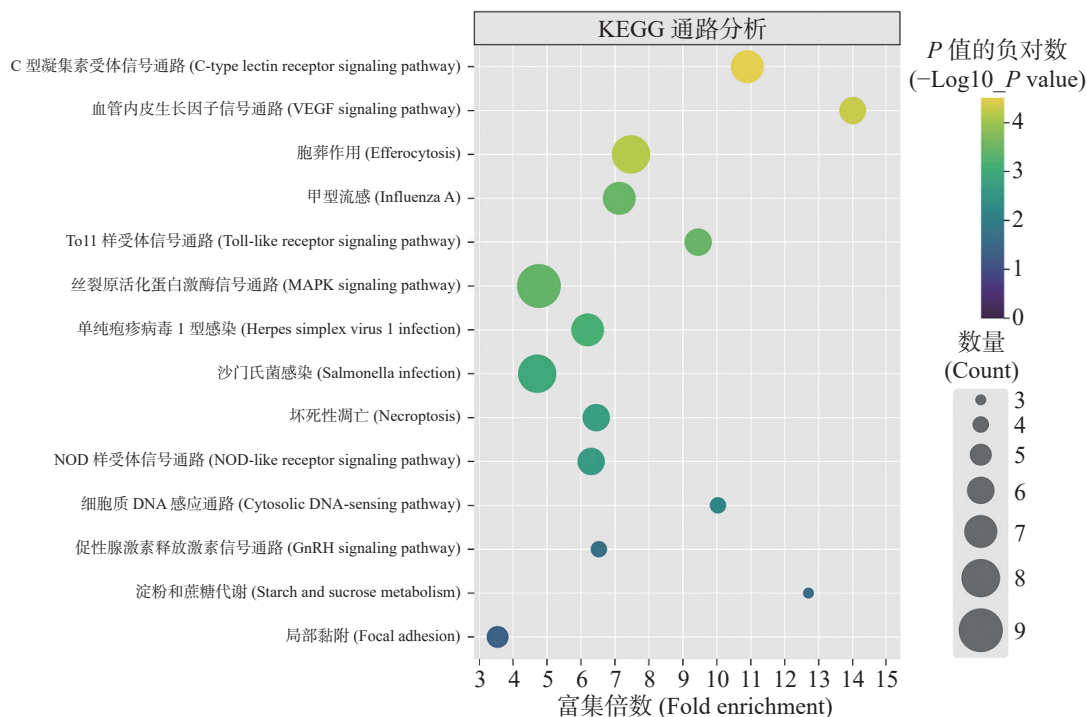
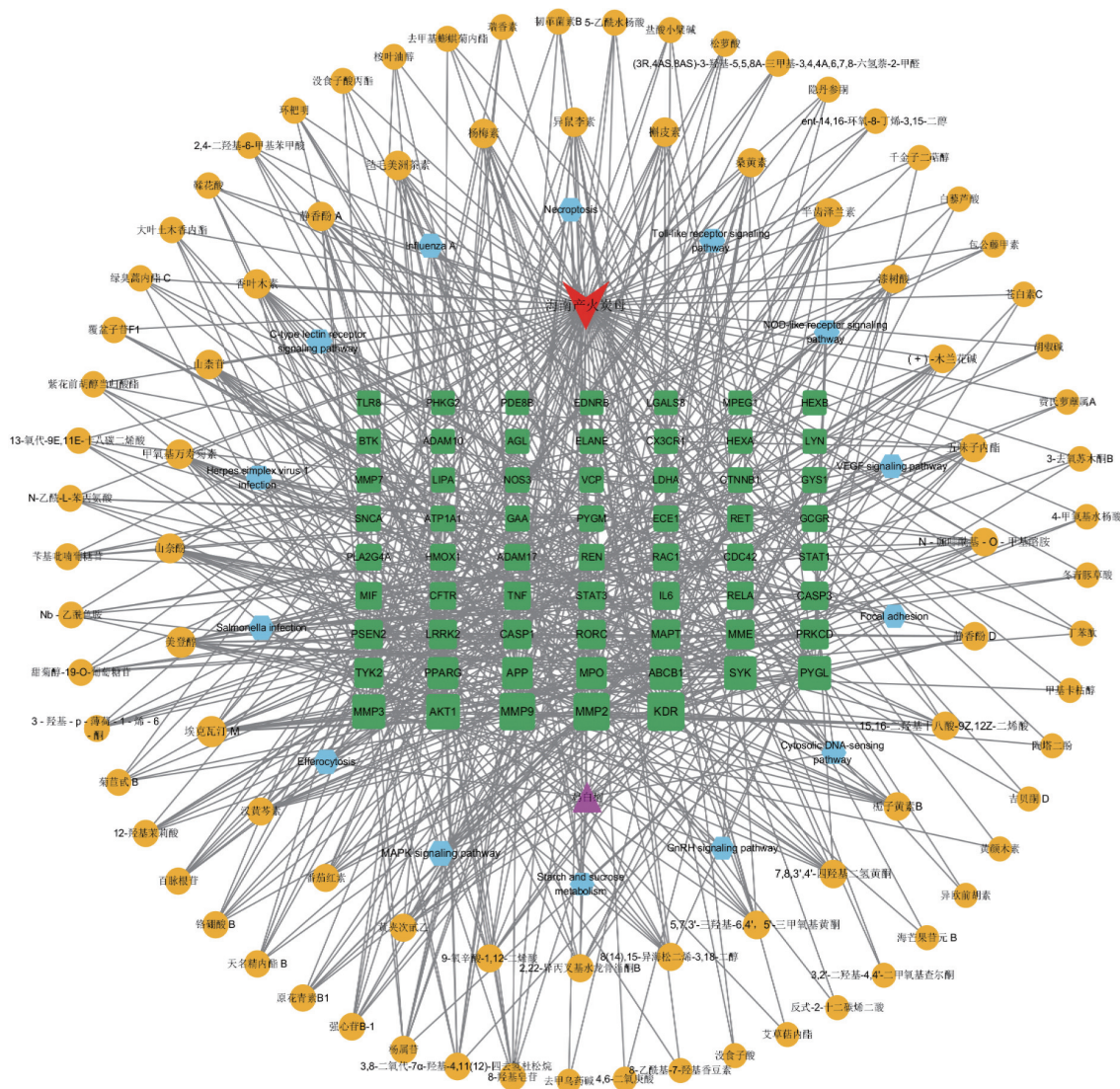


图 5 KEGG 富集图

Fig. 5 KEGG enrichment diagram



红色箭头为海南产火炭母,黄色圆形为活性成分,绿色方块为交集靶点,蓝色多边形为通路,紫色三角形为鸡白痢。
The red arrowhead is the *Persicaria chinensis* produced in Hainan, the yellow circle is the active ingredient, the green square is the intersection target, the blue polygon is the pathway, and the purple triangle is the chicken white dysentery.

图 6 “药物-成分-交集靶点-通路-疾病”网络图
Fig. 6 Drug-ingredient-intersection target-pathway-disease network diagram

鸡白痢发挥作用。取 Degree 值前 10 名的交集靶点与主要靶点的交集为核心靶点,即 MMP9、PPARG、AKT1、KDR、APP。

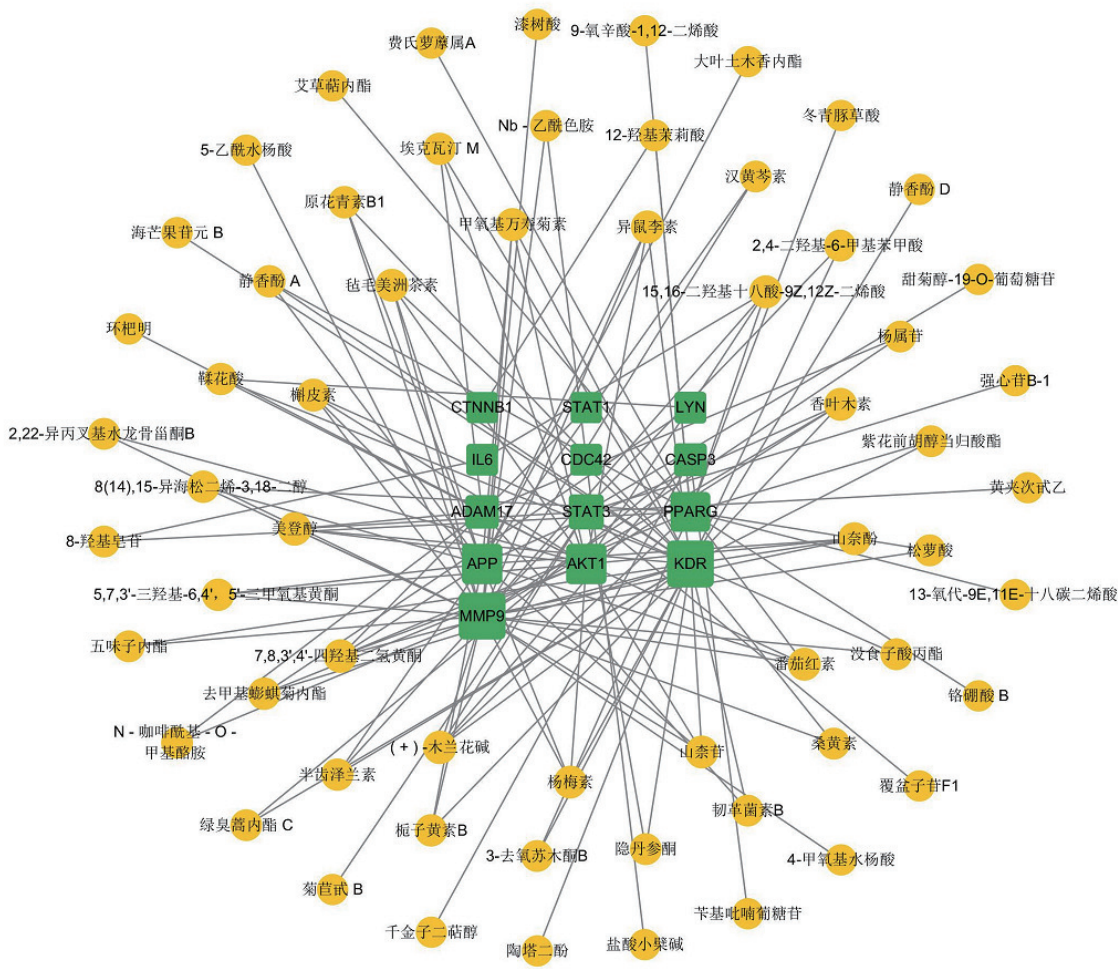
在“药物-活性成分-交集靶点-通路-疾病”网络图的基础上绘制“主要靶点-成分”网络图,结果如图 7。对 2 张图中 Degree 值前 10 名活性成分取交集,再取中药非靶代谢组学中峰度值排前 5 的成分为核心活性成分,即槲皮素(Quercetin)、山柰酚(Kaempferol)、毡毛美洲茶素(Velutin)、杨梅素(Myricetin)、香叶木素(Diosmetin)。

2.5 分子对接 由图 8 可知,海南产火炭母 5 个核心活性成分与 5 个核心靶点的自由结合能均小

于 $-5.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$,表明海南产火炭母活性成分与靶点蛋白具有良好的结合能力,其中香叶木素与 MMP9 结合力最强,其次是毡毛美洲茶素和杨梅素与 AKT1,对接图如图 9 所示。

2.6 正交试验 根据正交试验结果(表 2)的极差 R 可知,提取温度极差最大,为影响海南产火炭母粗提物抑菌效果的关键因子,其次是提取次数、提取时间和料液比。根据各水平的均值 k 可初步判断 $A_3B_1C_2D_2$ 为海南产火炭母粗提物的最佳提取条件,即料液比(m/v)为 1 : 60, 70 °C 提取 45 min, 提取 2 次。

由表 3 可知,提取温度、料液比、提取时间、



绿色方块为主要靶点、黄色圆形为活性成分。

The green square is the main target, and the yellow circle is the active ingredient.

图 7 “主要靶点-成分”网络图

Fig. 7 Main target- ingredient network diagram

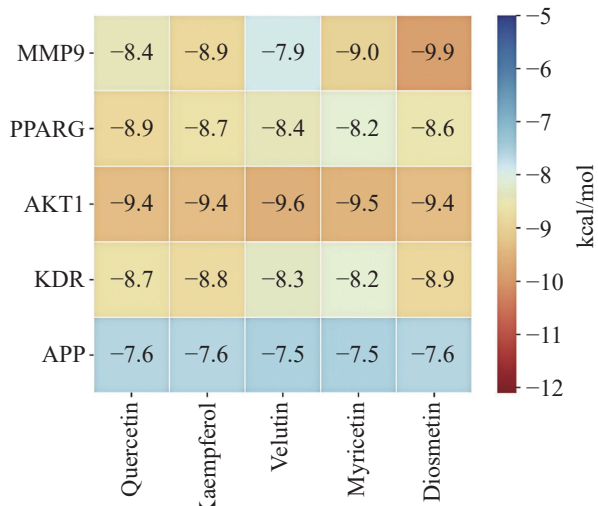


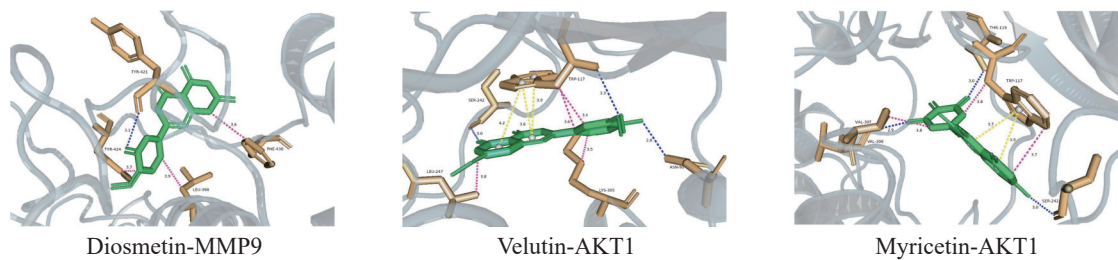
图 8 “成分-靶点”对接结合能图

Fig. 8 Ingredient-target docking binding energy diagram

提取次数对试验均有极显著影响;由 F 值可知,影响抑菌圈直径的因素依次是提取温度、提取次数、提取时间和料液比,与正交试验结果一致。

2.7 验证实验 由表 4 可知,在 $A_3B_1C_2D_2$ 条件下进行 3 次重复实验,海南产火炭母粗提物抑菌效果较好,其平均抑菌圈直径达到 21.38 mm,明显优于其他工艺条件的抑菌效果。实验结果的相对标准偏差较小,仅为 1.83%,表明该提取工艺具有优良的重复性和稳定性。

2.8 海南产火炭母粗提物的 MIC 和 MBC 由表 5 和图 10 可知,当海南产火炭母粗提物质量浓度为 $128\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,不仅能抑制鸡白痢沙门氏菌的生长,还能有效杀灭该菌,说明该粗提物对鸡白痢沙门氏菌的 MIC 和 MBC 相同,均为 $128\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。



蓝色虚线为氢键, 粉色虚线为疏水作用力, 黄色虚线为 π - π 堆积。
The blue dotted line is hydrogen bond, the pink dotted line is hydrophobic force, and the yellow dotted line is π - π stacking.

图 9 分子对接图

Fig. 9 Molecular docking diagram

表 2 正交试验结果

Tab. 2 Orthogonal test results

编号 NO.	A.提取温度 A.Extraction temperature	B.料液比 B.Ratio of raw material to liquid	C.提取时间 C.Extraction time	D.提取次数 D.Number of extractions	抑菌圈直径/mm Inhibition zone diameter/mm		
					结果1 result 1	结果2 result 2	结果3 result 3
1	1	1	1	1	15.32	15.83	15.40
2	1	2	3	2	15.70	16.24	15.88
3	1	3	2	3	14.43	14.72	14.52
4	2	1	3	3	13.73	13.54	13.65
5	2	2	2	1	16.09	15.81	15.97
6	2	3	1	2	16.81	16.46	16.75
7	3	1	2	2	21.26	21.50	21.05
8	3	2	1	3	16.26	16.31	16.07
9	3	3	3	1	18.29	18.57	18.14
k_1	15.33	16.81	16.13	16.60			
k_2	15.42	16.03	17.26	17.96			
k_3	18.60	16.52	15.97	14.80			
R	3.27	0.77	1.29	3.16			

表 3 正交试验方差分析结果

Tab. 3 Orthogonal test variance analysis results

方差来源 Source of variance	离差平方和 Sum of squares of deviations	自由度 degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value
提取温度	62.491	2	31.245	801.641	<0.01
料液比	2.75	2	1.375	35.276	<0.01
提取时间	8.874	2	4.437	113.837	<0.01
提取次数	45.164	2	22.582	579.368	<0.01

表 4 验证实验结果

Tab. 4 Validation test results

编号NO.	抑菌圈直径/mm Inhibition zone diameter/mm	平均值/mm Mean value/mm	相对标准偏差/% RSD/%
1	21.48	21.38	1.83
2	21.72		
3	20.96		

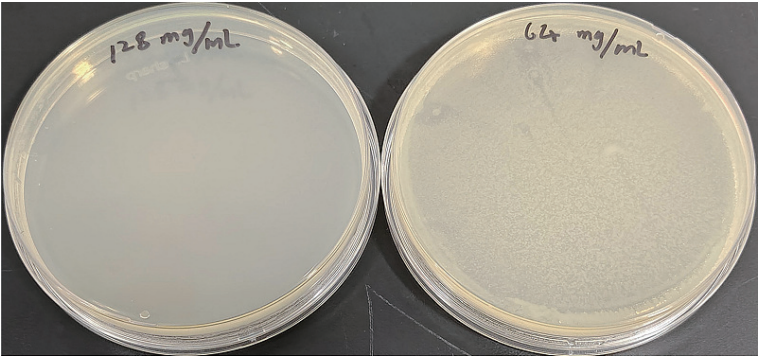
表 5 海南产火炭母粗提物 MIC 结果

Tab. 5 MIC results of crude extract of *Persicaria chinensis* produced in Hainan

分组Group	药液质量浓度/(g·L ⁻¹) Concentration of chemical/(g·L ⁻¹)									细菌对照组	空白对照组
	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	Bacterial control group	blank control group
鸡白痢沙门氏菌 (<i>Salmonella pullorum</i>)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

注：“+”表示有细菌生长，“-”表示无细菌生长。

Note: “+” indicates bacterial growth, “-” indicates no bacterial growth.



左为 128 g·L⁻¹ 药液-菌液混合液涂布结果, 右为 64 g·L⁻¹ 药液-菌液混合液涂布结果。

The left is the coating result of 128 g·L⁻¹ liquid-bacterial solution mixture, and the right is the coating result of 64 g·L⁻¹ liquid-bacterial solution mixture.

图 10 海南产火炭母粗提物 MBC 结果

Fig. 10 MBC results of the crude extract of *Persicaria chinensis* produced in Hainan

3 讨论

3.1 海南产火炭母核心活性成分 本研究通过中药非靶代谢组学鉴定了海南产火炭母的 331 个成分, 并利用网络药理学技术筛选出槲皮素、山柰酚、毡毛美洲茶素、杨梅素和香叶木素 5 种可能抗鸡白痢的核心活性成分。这 5 种成分均属于黄酮类化合物, 具有抗癌、抗炎、抗氧化、抗肿瘤和抗菌抗病毒等多种作用, 能够有效改善机体代谢、调节免疫力、保护神经和提高动物的生长性能等。槲皮素能通过抗炎和抗氧化作用缓解脂多糖导致的鸡肺炎症及鸡胚十二指肠和心脏损伤^[8-9]。山柰酚能直接抑制鸡肠炎沙门菌和鼠伤寒沙门氏菌毒力基因的表达, 减弱细菌的黏附能力及生物被膜形成能力, 还能缓解炎症导致的肠道和肝脏损伤^[10-11]。与山柰酚类似, 杨梅素通过下调与鸡白痢沙门菌生物被膜形成和黏附侵袭相关的基因表达发挥抗感染作用, 在 1/2MIC 时, 即可发挥明显的体外杀菌效果^[12-13]。香叶木素对肾炎、肠炎等各类炎症均有明显的改善作用, 能减缓肝、肺损伤, 促进伤口愈合, 还有一定的神经系统保护、调节作用^[14-19]。目前, 毡毛美洲茶素的相关研究较少, 但

基于其结构特征及黄酮类物质的共性生物学特性, 可合理推测其同样具有黄酮类化合物的抗炎、抗氧化、免疫调节等功能。综合以上信息, 海南产火炭母可能通过发挥黄酮类成分的抗炎、抗氧化、抗菌等多种功能从而起到抗鸡白痢的作用。此外, 根据“药物-成分-交集靶点-通路-疾病”网络图推测, 海南产火炭母可能还通过多种活性成分的协同作用实现抗鸡白痢的效果。

3.2 海南产火炭母抗鸡白痢核心靶点 本研究共筛选出海南产火炭母抗鸡白痢的 MMP9、PPARG、AKT1、KDR 和 APP 共 5 个核心靶点。MMP9 属于锌依赖性内肽酶家族, 在组织重塑、炎症、肿瘤转移等过程中发挥重要作用。有研究表明, 在巨噬细胞感染鼠伤寒沙门氏菌后释放的囊泡中 MMP9 的含量显著增加, 从而提高巨噬细胞迁移能力, 但过量的 MMP9 同时又增强炎症导致组织损伤^[20-21]。PPARG 是核激素受体超家族中的一员, 具有抗炎、抗肿瘤、调节新陈代谢和免疫反应等功能。研究发现, PPARG 还与肠道健康相关, 其介导的 PPAR- γ 信号通路能维持肠道内环境稳定^[22-23]。AKT1 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 参与细胞增殖、存活、代谢和免疫反应, 对炎症有双重

调控作用, 不仅能通过激活 PI3K/AKT 信号通路介导炎症反应, 还可以阻断 TLR4 和 NF- κ B 途径从而缓解炎症^[24-26]。KDR 又称 VEGFR-2, 是血管生成和内皮细胞功能调控的关键分子, 在病理条件下, KDR 促进血管内皮细胞释放多种血管活性因子, 调节炎症细胞激活和黏附及血管张力^[27]。APP 是 β -淀粉样蛋白的前体蛋白, 在肺部感染时, 降低肺微血管内皮细胞 APP 的表达会导致细胞增殖受损、屏障形成不良和抵抗力降低^[28]。综合以上信息, 海南产火炭母可能通过调控 MMP9、PPARG 及 AKT1 等多个靶点协同调节机体免疫、平衡炎症、维持和修复组织屏障等多种生理过程, 从而发挥其抗鸡白痢的药理作用。

3.3 GO 功能和 KEGG 通路富集分析 GO 功能富集分析显示, 海南产火炭母通过蛋白水解、蛋白质磷酸化、细胞内信号转导等生物过程抗鸡白痢, 这些过程可能涉及细胞膜、细胞质、细胞溶质等相关细胞组分, 主要涉及 ATP 结合、金属离子结合、金属内肽酶活性等相关分子的功能表达。KEGG 通路富集分析结果发现, 海南产火炭母抗鸡白痢可能通过多靶点协同调控实现, 其作用机制涉及 C 型凝集素受体信号通路、VEGF 信号通路、Toll 样受体信号通路、MAPK 信号通路等。C 型凝集素样受体是一种重要的模式识别受体, 参与对病原体的识别和诱导免疫反应, 还能维持肠道内环境稳态^[29-30]。VEGF 信号通路是调控血管生成和血管通透性的核心通路, 还与炎症调控有关, 研究表明在病理条件下抑制 VEGF 信号通路可减轻炎症^[31-32]。Toll 样受体信号通路在免疫反应中起着关键作用, 其受体能够识别病原体并介导信号至下游通路从而启动免疫反应, 但免疫反应过度激活会导致炎症损伤^[33-34]。MAPK 信号通路对于调控炎症反应、细胞凋亡和免疫防御至关重要, 病原体入侵时 MAPK 信号通路立即被激活, 启动免疫防御抑制感染, 但病原体过度激活 MAPK 信号通路也会导致炎症从而促进病原侵袭^[35-37]。因此, 适当调节 Toll 样受体信号通路和 MAPK 信号通路非常重要。综合以上信息, 海南产火炭母可能通过参与多种生物学过程调控炎症反应、激活免疫防御等相关信号通路发挥抗鸡白痢作用。

3.4 体外抑菌实验结果分析 本研究根据网络药理学的结果在通过醇提法富集总黄酮的基础上正

交优化获得具有最大抑菌效果的海南产火炭母粗提物, 其 MIC 和 MBC 检测结果显示, 该粗提物在 $128 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时能直接杀灭鸡白痢沙门氏菌, 综合验证了“海南产火炭母以黄酮类成分为主、多成分协同效应为辅起抗鸡白痢作用”的预测。

3.5 本研究的局限性 本研究基于网络药理学的结果提出了海南产火炭母具有抗鸡白痢效果及其潜在作用机制的预测, 随后对海南产火炭母粗提物的体外抑菌活性进行了初步验证, 但研究未进行海南产火炭母粗提物的体内抑菌实验。由于药物在机体中会受到吸收、代谢、机体免疫情况等多种干扰, 其在体内是否起效、作用机制是否与预测一致将是未来研究工作的核心内容。此外, 作为深入探究海南产火炭母抗菌机制的重要延伸, 对筛选出的单一活性成分进行体内外抗菌实验, 不仅能进一步明确单一成分的抗菌效能, 还能与粗提物的整体作用相互印证, 有助于完善海南产火炭母抗菌体系, 为其在鸡白痢防治中的应用提供更全面、扎实的理论依据。

综上所述, 网络药理学预测海南产火炭母可能通过槲皮素、山柰酚等多种活性成分调控 MMP9、PPARG 等多个靶点, 从而影响 MAPK、Toll 样受体信号通路等多条途径发挥抗鸡白痢作用。以 70% (v/v) 乙醇为溶剂, 在料液比 (m/v) 为 1 : 60, 70 $^{\circ}\text{C}$ 提取 45 min, 提取 2 次的条件下, 获得的海南产火炭母粗提物在质量浓度为 $128 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 能直接杀灭鸡白痢沙门氏菌, 证明海南产火炭母以黄酮类成分为主、多成分协同效应为辅起抗鸡白痢作用。

参考文献:

- [1] CHENG Y L, ZHANG J G, HUANG Q, et al. Genome-based analysis of genetic diversity, antimicrobial susceptibility, and virulence gene distribution in *Salmonella* Pullorum isolates from poultry in China[J]. *Animals*, 2024, 14(18): 2675.
- [2] LV Q B, RAN X H, QIU H Y, et al. Seroprevalence of pullorum disease in chicken across Chinese mainland from 1982 to 2020: a systematic review and meta-analysis[J]. *Research in Veterinary Science*, 2022, 152: 156 - 166.
- [3] 韦安达, 朱华, 谢凤凤, 等. 火炭母的本草考证[J]. *湖北农业科学*, 2022, 61(11): 101 - 106.
- [4] 韦安达, 朱华, 谢凤凤, 等. 民族药材火炭母的研究进展[J]. *中国现代中药*, 2020, 22(9): 1580 - 1586.

- [5] 刘富来, 冯翠兰, 王林川. 中草药对肠炎沙门氏菌的体外抑菌试验[J]. *中国兽药杂志*, 2004, 38(11): 28–30.
- [6] 张易安, 郭琰娜, 刘妍, 等. 火炭母通过调控 TLR4-TBK1 信号通路改善鼠伤寒沙门菌感染小鼠空肠的炎症反应[J]. *中国兽医杂志*, 2023, 59(11): 132–139.
- [7] 罗静, 韦安达, 朱华, 等. 广西产火炭母总黄酮提取工艺优化及含量测定[J]. *湖北农业科学*, 2024, 63(1): 164–168.
- [8] 倪晓彤. 槲皮素对脂多糖诱导鸡肺损伤的保护作用[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2024. doi:10.27708/d.cnki.gtlmd.2024.000264
- [9] 于晋海. 槲皮素对鼠伤寒沙门氏菌脂多糖诱导鸡胚十二指肠和心脏损伤的保护效应[D]. 南昌: 江西农业大学, 2023. doi:10.27177/d.cnki.gjxnu.2023.000004
- [10] 李连涛, 马畅, 赵茜, 等. 亚抑菌浓度山奈酚对鼠伤寒沙门氏菌侵袭鸡肠道上皮细胞的抑制作用研究[J]. *中国预防兽医学报*, 2017, 39(7): 534–539.
- [11] REHMAN T. 山奈酚抗鸡肠炎沙门菌感染的作用及机制研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2023. doi:10.27345/d.cnki.gsnnyu.2023.001136
- [12] 姜博达, 张文婷, 张腾飞, 等. 杨梅素和二氢杨梅素抑菌效果评估及其在杨树花中含量的测定[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2023(19): 107–111.
- [13] 姜博达. 杨梅素及二氢杨梅素对鸡白痢沙门菌的抑菌效果评估及初步机制研究[D]. 荆州: 长江大学, 2023. doi:10.26981/d.cnki.gjhsc.2023.001051
- [14] 许孟霞, 黄忠明, 唐洪英, 等. 香叶木素缓解 MRL/lpr 狼疮性肾炎小鼠肾炎症反应的作用及可能机制[J]. *陆军军医大学学报*, 2022, 44(12): 1237–1242.
- [15] 杨子, 赵天豪, 程阳, 等. 香叶木素通过调节小鼠的肠道免疫平衡减轻克罗恩病样结肠炎: 基于抑制 PI3K/AKT 通路[J]. *南方医科大学学报*, 2023, 43(3): 474–482.
- [16] 余伟, 黄长山, 丁月超, 等. 香叶木素预处理通过抗炎和抗氧化发挥对小鼠肝缺血/再灌注的保护作用[J]. *中国药理学通报*, 2022, 38(7): 1017–1022.
- [17] 李俊宏. 香叶木素促进 LPS 诱导的肺上皮细胞修复的分子机制研究[D]. 重庆: 重庆理工大学, 2023. doi:10.27753/d.cnki.gcqgx.2023.000083
- [18] 廖思捷. 香叶木素的类酶活性及其用于感染伤口愈合的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2023. doi:10.27136/d.cnki.ghunu.2023.000427
- [19] 肖聚慧, 刘小军. 香叶木素对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用研究[J]. *中医药信息*, 2021, 38(5): 22–27.
- [20] HUANG H. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) as a cancer biomarker and MMP-9 biosensors: recent advances[J]. *Sensors*, 2018, 18(10): 3249.
- [21] NUDELMAN A, SHENOY A, ALLOUCHE-ARNON H, et al. Proteolytic vesicles derived from *Salmonella enterica* serovar typhimurium-infected macrophages: enhancing MMP-9-mediated invasion and EV accumulation[J]. *Biomedicines*, 2024, 12(2): 434.
- [22] 涂永梅, 彭洁, 龙子, 等. PPAR- γ 在巨噬细胞炎症调控中的作用及机制的研究进展[J]. *癌变·畸变·突变*, 2022, 34(2): 158–161.
- [23] BYNDLOSS M X, OLSAN E E, RIVERA-CHÁVEZ F, et al. Microbiota-activated PPAR- γ signaling inhibits dysbiotic Enterobacteriaceae expansion[J]. *Science*, 2017, 357(6351): 570–575.
- [24] 嵇莹莹, 龚国清. PI3K/Akt/mTOR 通路在炎症相关疾病中分子机制研究进展[J]. *药学研究*, 2018, 37(4): 226–229.
- [25] YOU X L, ZHAO M L, LIU Y R, et al. *Hypericum perforatum* L. protects against renal function decline in ovariectomy rat model by regulating expressions of NOS3 and AKT1 in AGE-RAGE pathway[J]. *Phytomedicine*, 2024, 123: 155160.
- [26] 张进, 武慧宁, 赵林露, 等. 基于网络药理学和分子对接探究罗汉果提取物抗炎作用机制[J]. *动物营养学报*, 2025, 37(2): 1325–1339.
- [27] 熊彦. VEGFR2 调节血管炎症和血管新生的机制[D]. 北京: 北京大学, 2012.
- [28] VOTH S B, CHOI C S, MORROW K A, et al. Amyloid-beta precursor protein: essential to lung capillary barrier defense during acute infection[J]. *The FASEB Journal*, 2022, 36(S1). doi:10.1096/FASEBJ.2022.36.S1.R5635
- [29] BERMEJO-JAMBRINA M, EDER J, HELGERS L C, et al. C-type lectin receptors in antiviral immunity and viral escape[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 590.
- [30] LI M H, ZHANG R F, LI J, et al. The role of C-type lectin receptor signaling in the intestinal microbiota-inflammation-cancer axis[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 894445.
- [31] PENG W, XIA Q X, ZHANG Y, et al. VEGF and EGFR signaling pathways are involved in the baicalin attenuation of OVA-induced airway inflammation and airway remodeling in mice[J]. *Respiratory Research*, 2024, 25(1): 10.
- [32] LI X Q, SHAN C, WU Z H, et al. Emodin alleviated pulmonary inflammation in rats with LPS-induced acute lung injury through inhibiting the mTOR/HIF-1 α /VEGF signaling pathway[J]. *Inflammation Research*, 2020, 69(4): 365–373.
- [33] KO H, KIM B S, LEE Y E, et al. Anti-inflammatory effects of Gingerenone A through modulation of toll-like receptor signaling pathways[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2024, 983: 176997.
- [34] 刘爱军, 黄晓兵, 张传亮, 等. 布鲁氏菌与宿主天然免疫信号通路相互作用的研究进展[J]. *畜牧兽医学报*, 2025, 56(4): 1561–1574.
- [35] CUI L, LI X F, LIU Z Y, et al. MAPK pathway orchestrates gallid alphaherpesvirus 1 infection through the biphasic activation of MEK/ERK and p38 MAPK signaling[J]. *Virology*, 2024, 597: 110159.
- [36] ZHANG L, SUN Y, XU W, et al. Baicalin inhibits *Salmonella typhimurium*-induced inflammation and mediates autophagy through TLR4/MAPK/NF- κ B signalling

pathway[J]. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2021, 128(2): 241 – 255.

[37] CAI L L, XIE Y T, SHAO L T, et al. SaaS sRNA pro-

notes *Salmonella* intestinal invasion via modulating MAPK inflammatory pathway[J]. *Gut Microbes*, 2023,

15(1): 2211184.

Preliminary study on the effect of *Persicaria chinensis* produced in Hainan against pullorum disease

SUN Yuling[#], HE Ting, FU Meihong, LI Tiansen^{*}

(School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou 570228 China)

Abstract: In order to explore the possibility and potential molecular mechanism of *Persicaria chinensis* produced in Hainan against pullorum disease, the core active ingredients and their core targets were screened by network pharmacology and verified by molecular docking. Four factors and three levels of orthogonal test and Oxford cup bacteriostatic test were used to determine the optimum extraction conditions of *Persicaria chinensis* produced in Hainan, and the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were detected. The results showed that there were 61 intersection targets between the active components of Hainan-produced charcoal mother and pullorum disease. In GO functional analysis, 45 biological processes, 15 cell components and 12 molecular functions were enriched, and KEGG pathway was enriched to 18 signaling pathways. The results of macromolecular docking showed that the binding free energy of five active ingredients and five key targets were less than $-5.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$. The results of orthogonal test showed that the optimum extraction conditions were as follows: the ratio of material to liquid was 1 : 60, the extraction temperature was 70 °C, the extraction time was 45 min, and the extraction was twice. The MIC and MBC were the same, both of which were $128 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. In summary, *Persicaria chinensis* produced in Hainan may regulate multiple targets such as MMP9 and PPARG through various active ingredients such as Quercetin and Kaempferol, thus affecting multiple pathways such as MAPK and Toll-like receptor signaling pathways to exert anti-pullorum effect. Among them, it has been proved that *Persicaria chinensis* produced in Hainan is mainly composed of flavonoids and multi-component synergistic effects to play an anti-pullorum effect.

Keywords: network pharmacology; *Persicaria chinensis* produced in Hainan; pullorum disease; orthogonal test

(责任编辑: 潘学峰)