

本文引用: 王 晨, 朱爱松. 基于网络药理学及分子对接探讨当归补血汤治疗动脉粥样硬化的机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(9): 754-761, 778. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.09.003.

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2023)31-09-0754-09

## 基于网络药理学及分子对接探讨当归补血汤治疗 动脉粥样硬化的机制

王 晨<sup>1</sup>, 朱爱松<sup>1,2</sup>

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁省沈阳市 110847; 2. 浙江中医药大学, 浙江省杭州市 310053)

**[摘要]** **[目的]** 利用网络药理学及分子对接技术探讨当归补血汤治疗动脉粥样硬化(As)的作用机制。**[方法]** 借助 TC MSP 数据库获得当归补血汤的活性成分, 使用 Swiss Target Prediction 平台预测其潜在作用靶点。应用 GeneCards 及 DisGeNET 数据库筛选 As 靶点, 并将活性成分预测靶点与疾病靶点取交集获得关键交集靶点。采用 STRING 平台构建交集靶点 PPI 互作网络, Cytoscape 软件网络拓扑分析筛选潜在关键靶点。再次使用 Cytoscape 软件构建药物-成分-靶点, 并找到核心活性成分。通过 Metascape 数据库进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析, 最后通过分子对接, 进一步明确其发挥治疗效用的成分与靶点作用机制。**[结果]** 筛选当归补血汤活性成分共 19 个, 预测靶点 204 个, 疾病靶点 5 213 个, 筛选得到治疗 As 的交集靶点 176 个, 排名前 5 位的核心靶点为 Akt1、JUN、TP53、TNF、IL-6。GO 和 KEGG 富集分析主要指向氧化应激反应、转录调节复合物等功能, 参与的信号转导主要包括 FoxO 信号通路、JAK-STAT 信号通路、IL-17 信号通路等。分子对接结果显示 5 个活性成分及 5 个重要核心靶点对接结合能均小于 -5 kJ/mol, 提示其受体蛋白与配体小分子之间结合稳定, 数值越低, 结合稳定性越高, 且结合能排名前 5 位的包含  $\beta$  谷固醇与槲皮素两种活性成分, 其中活性成分  $\beta$  谷固醇与 TNF 结合能最低, 为 -10.52 kJ/mol, 说明  $\beta$  谷固醇与槲皮素两种中药有效成分可能在治疗动脉粥样硬化性疾病中起重要作用。**[结论]** 当归补血汤中槲皮素、 $\beta$  谷固醇等核心活性成分可能通过作用于 Akt1、JUN、TP53、TNF、IL-6 等核心靶点, 调节炎症反应、脂质代谢和其他相关通路, 从而发挥治疗 As 的作用。**[关键词]** 网络药理学; 分子对接; 当归补血汤; 动脉粥样硬化  
**[中图分类号]** R5 **[文献标识码]** A

### Mechanism of Danggui Buxuetang in treating atherosclerosis based on network pharmacology and molecular docking

WANG Chen<sup>1</sup>, ZHU Aisong<sup>1,2</sup>

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning 110847, China; 2. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou, Zhejiang 310053, China)

**[ABSTRACT]** **Aim** To investigate the mechanism of Danggui Buxuetang in treating atherosclerosis (As) by using network pharmacology and molecular docking technology. **Methods** The active ingredients of Danggui Buxuetang were obtained with the help of TC MSP database, and their potential targets were predicted using the Swiss Target Prediction platform. GeneCards and DisGeNET databases were used to screen As targets, and the intersection of active ingredient prediction targets and disease targets was used to obtain key intersection targets. The STRING platform was used to construct the intersection target PPI interaction network, and the Cytoscape software network topology analysis screened potential key targets. Cytoscape software was used to construct drug-ingredient-target and find the core active ingredient. GO function enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were carried out through the Metascape database, and finally, through molecular docking, the components and target mechanism of its therapeutic effect were further clarified. **Results** A total of 19 active ingredients of Danggui Buxue tang were screened, 204 predicted targets, 5 213 disease targets,

[收稿日期] 2023-05-13

[修回日期] 2023-08-09

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81874417)

[作者简介] 王晨, 博士研究生, 研究方向为中医基础理论, E-mail: wangchen315318@163.com。通信作者朱爱松, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为中医基础理论, E-mail: liaoningzhongyi@hotmail.com。

and 176 intersection targets for the treatment of As were screened. The top five core targets were Akt1, JUN, TP53, TNF, IL-6. GO and KEGG enrichment analysis mainly pointed to functions such as oxidative stress response and transcriptional regulatory complex, and the signal transduction involved mainly included FoxO signaling pathway, JAK-STAT signaling pathway and IL-17 signaling pathway, etc. Molecular docking results showed that the docking binding energies of the five active ingredients and five important core targets were all less than  $-5$  kJ/mol, suggesting that the binding between the receptor protein and the ligand small molecule was stable, and the lower the value, the higher the binding stability, and the top five active ingredients in terms of binding energy included  $\beta$ -sitosterol and quercetin, among which the active ingredient  $\beta$ -sitosterol had the lowest binding energy to TNF, which was  $-10.52$  kJ/mol, indicating that  $\beta$ -sitosterol alcohol and quercetin, two active ingredients of traditional Chinese medicine, may play an important role in the treatment of atherosclerotic diseases.

**Conclusion** The core active ingredients such as quercetin and  $\beta$ -sitosterol in Danggui Buxuetang may regulate inflammatory response, lipid metabolism and other related pathways by acting on core targets such as Akt1, JUN, TP53, TNF and IL-6, thereby exerting role in the treatment of atherosclerosis.

[KEY WORDS] network pharmacology; molecular docking; Danggui Buxuetang; atherosclerosis

随着当今社会经济文化的快速发展,人口老龄化增长迅速,据《中国心血管健康与疾病报告 2022》<sup>[1]</sup>统计指出,心血管疾病已逐年成为我国严重危害人类健康的疾病之一。其中,动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)更是作为心血管疾病的病理学基础被广泛研究。当归补血汤源自金元四家之“补土派”李杲的《内外伤辨惑论》,重用黄芪以补脾肺之气,以滋养生血之源,同时气为血帅,配以当归以补血活血之功效。据研究表明,当归补血汤治疗 As 的效果显著<sup>[2-4]</sup>,其中黄芪具有抗肿瘤、扩张心血管、抗炎、提高机体免疫力的作用<sup>[5]</sup>,当归主要有抗炎、抗肿瘤、提高免疫功能、调节心血管等作用<sup>[6]</sup>,但当归补血汤抗 As 的药理学作用机制尚未阐明。因此,本研究借助网络药理学及分子对接的方法综合分析其治疗 As 的活性成分、作用核心靶点及分子对接机制,为临床治疗及进一步的科学研究提供参考和依据。

## 1 资料和方法

### 1.1 筛选当归补血汤潜在有效活性成分

将当归补血汤中的“黄芪”、“当归”作为关键词在 TCMSP 数据库中进行检索,根据 ADME 参数类药性(drug like, DL)  $\geq 0.18$  及口服生物利用度(bio-availability, OB)  $\geq 30\%$  筛选有效活性成分。

### 1.2 活性成分靶点的预测

PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)得到当归补血汤的有效活性成分分子结构以“Canonical SMILES”格式导入到 Swiss Target Prediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch>),查询预测其活性成分靶点,对预测靶点的可靠性进行筛选,筛选条件 Probability  $> 0.1$ ,并删除重复

靶点。

### 1.3 获取动脉粥样硬化性疾病相关靶点

在 GeneCards (<https://www.genecards.org>) 及 DisGeNET (<https://www.disgenet.org>) 平台疾病数据库以“atherosclerosis”为关键词进行检索得到 As 靶点基因,删除重复靶点基因。

### 1.4 构建蛋白互作网络

将当归补血汤中的潜在靶点与 As 相关疾病靶点基因进行一一映射,采用韦恩 2.1 软件(<https://bioinfopg.cn.b.escic.es/tools/venny/>)进行韦恩图绘制获取潜在交集靶点。并将交集得到的靶点基因录入 STRING 数据库平台(<https://string-db.org/Version11.5>),生物种类选择“Homo Sapiens”作为分析对象,置信度得分设置为得分  $\geq 0.7$ ,之后构建蛋白互作网络(protein-protein interaction, PPI)关系,以 Cytoscape 3.9.1 软件对其进行网络可视化并通过 Tools-analyze network 插件功能进行 PPI 拓扑结构分析,并以“度值(Degree)”及“紧密度(closeness centrality, CC)值”作为筛选条件,选取当归补血汤治疗 As 的排名前 5 的作为关键作用靶点。

### 1.5 中药-成分-交集靶点网络构建

将筛选得到的当归补血汤的药物有效活性成分及交集靶点导入到 Cytoscape 软件中构建可视化药物-成分-靶点网络关系,并再次使用 Analyze network 插件对网络进行分析,根据 Degree 及 CC 值,筛选得到当归补血汤排名前 5 的治疗动脉粥样硬化性疾病的关键成分。

### 1.6 分子对接

分子对接技术是通过计算机模拟预测配体与受体之间蛋白结构亲和力程度的操作过程,从而模拟判断主要药效成分及其对应的核心靶点。将筛选得到的 5 个核心靶点基因分别导入 Uniprot (<https://www.uniprot.org/>)

tps://www.uniprot.org) 及 PDB 数据库 (https://www.rcsb.org), 基于文献研究筛选获取分辨率较高的受体蛋白 3D 结构, 并保存为“PDB”格式文件。另将筛选得到的核心成分, 利用 Pubchem 数据库制备以“mol2”为格式的配体小分子文件。将已下载好的受体蛋白结构分别导入到 PyMOL 及 AutoDock-Tools 软件, 对其进行去水、溶剂分子及加氢处理, 并导出以“pdbqt”格式设置为分子对接受体。然后将“mol2”格式配体输入 AutoDockTools 软件, 经过扭转加氢 (torsion hydrogenation) 处理后以“pdbqt”格式输出为配体小分子。最后, 根据所选点位设置对接盒子, 应用 Autogrid 及 AutoDock 软件进行分子对接并计算结合能, 依据结合能大小评估对接结果并验证网络药理学, 使用 Pymol 软件对对接结果进行可视化。

## 1.7 GO 生物功能及 KEGG 通路富集分析

采用 Metascape 数据库 (https://metascape.org) 对上述得到的交集基因进行 GO 功能与 KEGG 信号通路的富集分析, 分别从生物过程 (biological process, BP)、细胞成分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 及信号通路方面进行系统分析, 并使用微生信平台 (https://www.bioinformatics.com.cn/) 对上述结果进行可视化展示。

## 2 结果

### 2.1 当归补血汤活性成分及靶点预测

利用 TCMSP 数据库收集整理当归有效成分 2 个, 黄芪有效成分 17 个 (图 1), 预测潜在靶点 204 个 (去重复靶点)。

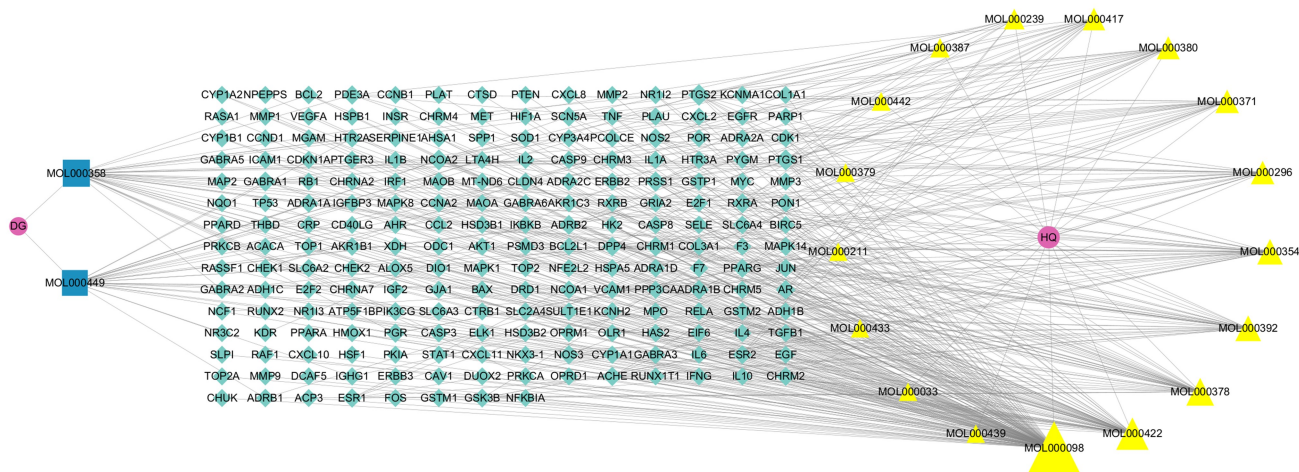


图 1. 当归 (DG)、黄芪 (HQ) 药物-成分-靶点网络图

粉色圆形代表当归、黄芪, 黄色三角形及蓝色正方形代表有效成分, 菱形代表潜在靶点。

Figure 1. Drug-component-target network diagram of Danggui and Huangqi

### 2.2 当归补血汤治疗动脉粥样硬化性疾病潜在靶点

利用 GeneCards 及 DisGeNET 数据库分别获得靶点 4 739 个、2 044 个, 去重后共得到 5 213 个疾病靶点。

### 2.3 PPI 交互网络构建及关键靶点筛选

利用 Venny 2.1 将药物成分预测靶点与动脉粥样硬化性疾病靶点取交集, 获得交集靶点 176 个, 即治疗 As 的关键靶点 (图 2)。将交集靶点录入 STRING 平台得到网络图 (图 3), 该网络相互作用靶点 176 个节点, 平均节点度为 13.2, 平均聚类系数为 0.503, 蛋白互作富集  $P < 1.0E-16$ 。并把蛋白互作数据导入 Cytoscape 3.9.1 进行网络拓扑参数分

析, 根据 Degree 及 CC 值排名前 5 名的基因分别是 Akt1、JUN、TP53、TNF、IL-6 (图 4)。

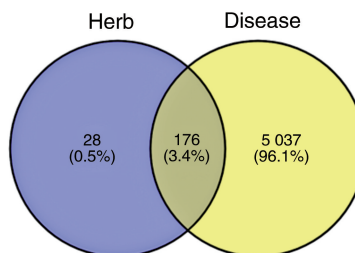


图 2. 当归补血汤与 As 的交集靶点

Figure 2. Intersection targets of Danggui Buxuetang and As



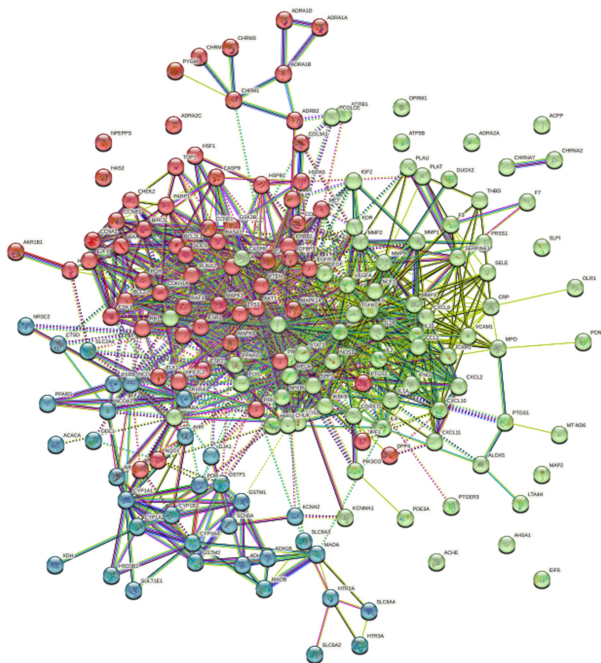


图 3. 当归补血汤治疗 As 的关键蛋白靶点互作网络图  
Figure 3. Diagram of antiatherogenic protein-protein interaction network of Danggui Buxuetang

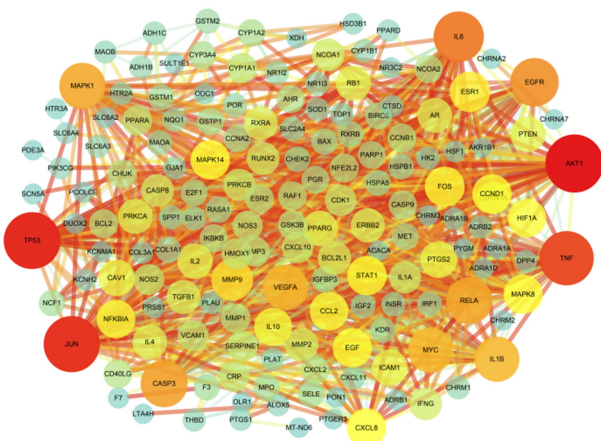


图 4. 当归补血汤与 As 的交集靶点可视化图  
圆形为不同靶点,节点大小及颜色由红色至蓝色随 Degree 及 CC 值由高至低排序。

Figure 4. Visualization of intersection targets of Danggui Buxuetang and As

2.4 当归补血汤中药-成分-交集靶点网络分析  
通过网络拓扑分析构建当归补血汤-有效成分-交集靶点,根据 Degree 及 CC 值筛选得到同时满足上述条件的有效活性成分排名前 5 位的分别是槲皮素( quercetin)、山奈酚( kaempferol)、7-O-甲基异木糖醇(7-O-methylisomucronulatol)、β 谷固醇(β-sitos-terol)、芒柄花黄素( formononetin),是当归补血汤治疗 As 的关键成分。

2.5 核心靶点与药物核心成分对接结果

选择蛋白互作网络中根据 Degree 及 CC 值排名前 5 的核心靶点 Akt1、JUN、TP53、TNF、IL-6,参考文献内容并在 PDB 数据库依次检索并下载受体蛋白结构 ID:4GV1、6Y3V、7DHZ、2E7A、1ALU。与其对应的配体小分子选取网络拓扑分析排名前 5 的活性成分,分别是槲皮素、山奈酚、7-O-甲基异木糖醇、β 谷固醇、芒柄花黄素。分别依次进行受体与配体间的分子对接并对其结果进行可视化处理。分子对接结合能结果小于-5 kJ/mol,说明配体与受体之间结合程度稳定,结合能值越低,说明结合程度越高。其中 β 谷固醇与 TNF 受体蛋白 2E7A 结合能最低,为-10.52 kJ/mol,且以下 25 组对接结合能均小于-5 kJ/mol(表 1),因此可以推测 β 谷固醇、槲皮素等活性成分可能是当归补血汤治疗 As 的主要活性成分,Akt1、JUN、TP53、TNF、IL-6 可能是当归补血汤治疗 As 的关键靶点(图 5)。

表 1. 分子对接结果

Table 1. Molecular docking results

序号	药物成分 ID 号	药物成分	靶点受体 Uniprot ID 号	靶点名称	PDB (ID)	结合能/(kcal/mol)
1	MOL000358	β 谷固醇	P01375	TNF	2E7A	-10.52
2	MOL000358	β 谷固醇	P05231	IL-6	1ALU	-8.57
3	MOL000358	β 谷固醇	P31749	AKT1	4GV1	-8.57
4	MOL000358	β 谷固醇	P04637	TP53	7DHZ	-8.35
5	MOL000098	槲皮素	P31749	AKT1	4GV1	-7.59
6	MOL000392	芒柄花黄素	P31749	AKT1	4GV1	-7.57
7	MOL000378	7-O-甲基异木糖醇	P31749	AKT1	4GV1	-7.24
8	MOL000378	7-O-甲基异木糖醇	P01375	TNF	2E7A	-7.22
9	MOL000392	芒柄花黄素	P01375	TNF	2E7A	-7.14
10	MOL000392	芒柄花黄素	P04637	TP53	7DHZ	-7.08
11	MOL000422	山奈酚	P04637	TP53	7DHZ	-7.08
12	MOL000422	山奈酚	P01375	TNF	2E7A	-7.06
13	MOL000098	槲皮素	P01375	TNF	2E7A	-6.97
14	MOL000422	山奈酚	P31749	AKT1	4GV1	-6.74
15	MOL000358	β 谷固醇	P05412	JUN	6Y3V	-6.69
16	MOL000098	槲皮素	P04637	TP53	7DHZ	-6.55
17	MOL000392	芒柄花黄素	P05231	IL6	1ALU	-6.4
18	MOL000378	7-O-甲基异木糖醇	P05231	IL6	1ALU	-6.26
19	MOL000422	山奈酚	P05231	IL6	1ALU	-6.26
20	MOL000392	芒柄花黄素	P05412	JUN	6Y3V	-6.24
21	MOL000098	槲皮素	P05231	IL6	1ALU	-6.2
22	MOL000422	山奈酚	P05412	JUN	6Y3V	-6.1
23	MOL000378	7-O-甲基异木糖醇	P05412	JUN	6Y3V	-5.85
24	MOL000378	7-O-甲基异木糖醇	P04637	TP53	7DHZ	-5.8
25	MOL000098	槲皮素	P05412	JUN	6Y3V	-5.71



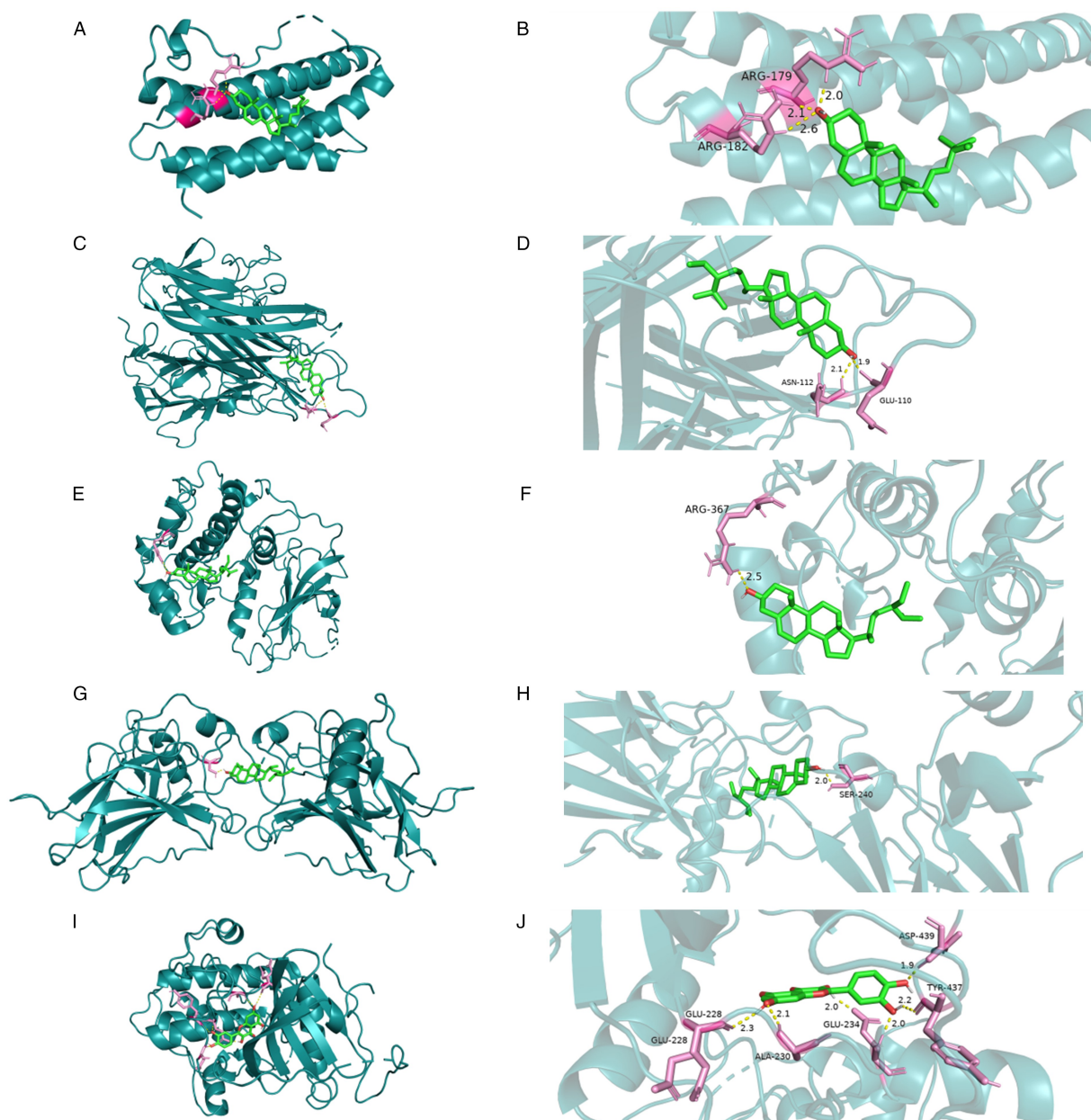


图 5. 分子对接模式图

A、B 为  $\beta$  谷固醇\_IL-6 分子对接; C、D 为  $\beta$  谷固醇\_TNF 分子对接; E、F 为  $\beta$  谷固醇\_Akt1 分子对接;  
G、H 为  $\beta$  谷固醇\_TP53 分子对接; I、J 为 槲皮素\_Akt1 分子对接。

Figure 5. Map of docking patterns

## 2.6 GO 生物功能与 KEGG 通路富集分析

将交集靶点上传 Metascape 数据库进行 GO 功能分析, 得到 BP、CC、MF 三组结果, 将这 3 组数据以  $P < 0.05$  的条件分别进行筛选, 各取前 15 个条目, 并将组成的 45 个条目在“微生信”平台中进行可视化。富集结果显示当归补血汤治疗 As 主要涉及以下方面。BP 前 10 名分别是: 对无机物质的反应、对活性氧的反应、氧化应激反应、细胞对化学应激的反应、细胞对活性氧的反应、细胞对外源性刺

激的反应、对激素的反应等。CC 前 10 名分别是: 薄膜筏、转录调节复合物、RNA 聚合酶 II 转录调节复合物、质膜信号受体复合物、跨膜转运蛋白复合体、离子通道复合体等。MF 前 10 名包括: DNA 结合转录因子结合、RNA 聚合酶 II 特异性 DNA 结合转录因子结合、核受体活性、转录协同调节因子结合、DNA 结合转录激活剂活性、RNA 聚合酶 II 特异性、细胞因子受体结合、信号受体调节器活性、信号受体激活剂活性等。

交集靶点载入 Metascope 数据库进行 KEGG 富集分析,得到相关性最高的前 45 条信号通路( $P < 0.05$ ),富集通路结果以  $P$  值从小到大为序排列。结果包括癌症通路、脂质与动脉粥样硬化、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用、流体剪切应力和动脉粥样硬化、化学致癌作用-受体激活、

乙型肝炎、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、IL-17 信号通路、前列腺癌、人类巨细胞病毒感染、肿瘤坏死因子信号通路、PI3K/Akt 信号通路等,说明交集靶点主要参与炎症反应、经典脂质代谢和 PI3K/Akt 通路对改善动脉粥样硬化的调节(图 6)。

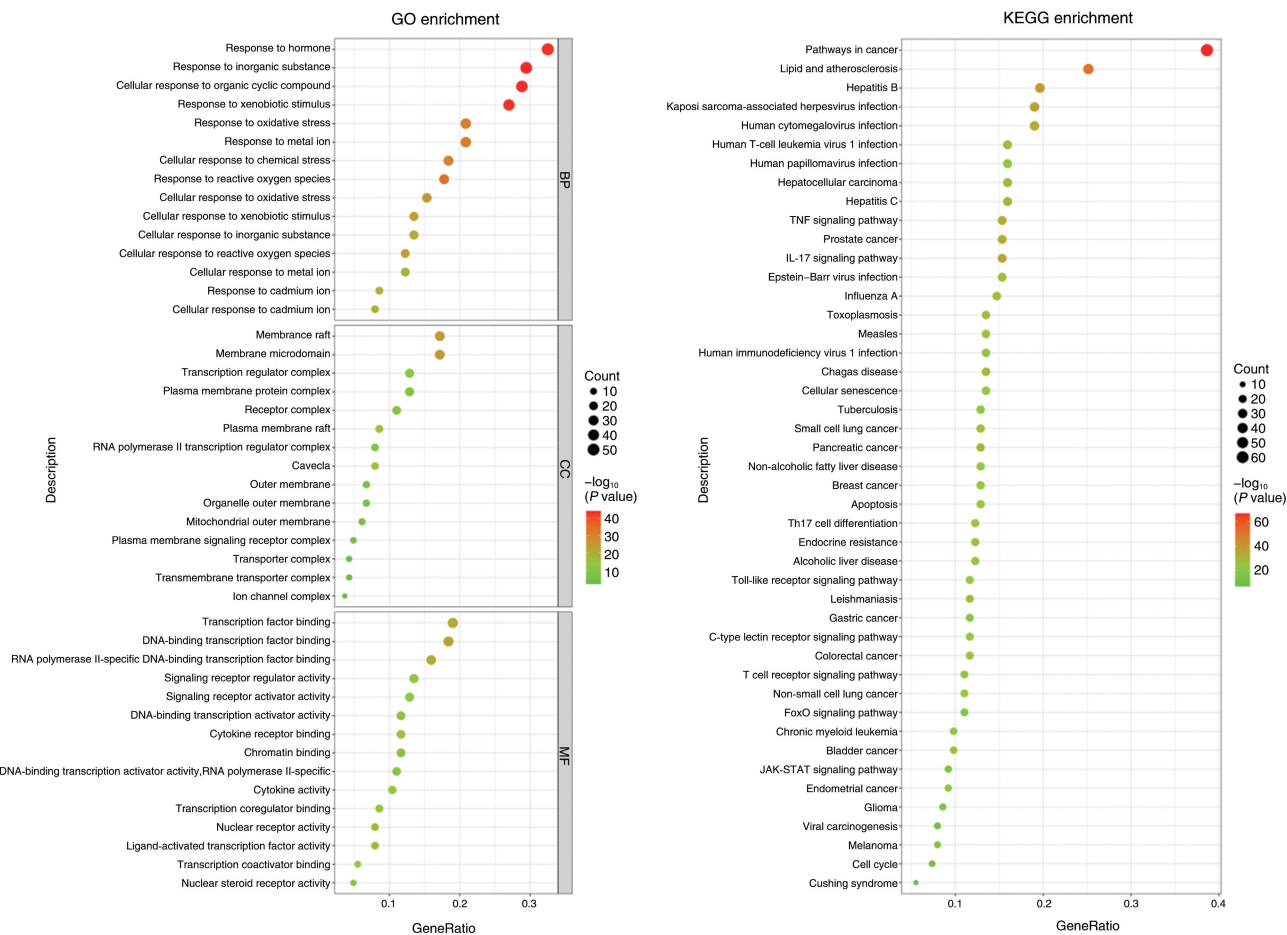


图 6. GO 与 KEGG 富集分析

左图为 GO 生物过程分析结果,从上至下依次为 BP、CC、MF 结果,x 轴代表被 GO 富集相关基因数目,y 轴代表着 GO 的功能。  
右图代表 KEGG 通路富集结果,x 轴表示被 KEGG 富集基因的数目,y 轴表示 KEGG 的功能。图中圆圈面积大小表示靶点数量,渐变色从绿到红表示矫正后的  $P$  值, $P < 0.05$  作为显著富集阈值。偏绿说明富集程度低,偏红则富集程度越高。

Figure 6. GO and KEGG enrichment analysis

### 3 讨论

As 是一种发生于血管内壁的慢性炎症性病理变化,以内皮细胞受损、脂质类沉积及免疫细胞浸润为特征的病理演变过程<sup>[7]</sup>。

本研究通过网络药理学分析结果可知,当归补血汤中含有多种活性成分,Degree 排名前 5 名的分别是槲皮素、山奈酚、7-O-甲基异木糖醇、 $\beta$  谷固醇、芒柄花黄素。其中,槲皮素作为一种黄酮类化合物

其来源广泛,据相关实验研究表明<sup>[8-10]</sup>,槲皮素对动脉粥样硬化性疾病的发生发展具有抑制作用,包括降低斑块形成和抗炎、修复血管内皮细胞等功能<sup>[11-12]</sup>。山奈酚通过抗炎、抑制过氧化及调节血管紧张度来改善 As<sup>[13-14]</sup>。据报道,含有  $\beta$  谷固醇的中药可以有效降低载脂蛋白 E 基因敲除 (apolipoprotein E knocked-out, ApoE<sup>-/-</sup>) 小鼠总胆固醇的血浆浓度<sup>[15]</sup>,同时缓解脂质代谢及炎症反应,并提高抗氧化能力<sup>[16]</sup>。另外,在研究芒柄花黄素治

疗 As 的实验<sup>[17]</sup>中发现, 芒柄花黄素在一定程度上抑制炎性病变、介导降低氧化应激与凋亡, 有效改善和延缓 As 的发生发展进程。通过以上研究证实, 当归补血汤中多种活性成分如槲皮素等在一定程度上可以治疗 As。

当归补血汤与 As 二者共同靶点有 176 个, 蛋白互作网络分析主要包括 Akt1、JUN、TP53、TNF、IL-6 等 5 个潜在重要核心靶点基因。首先, Akt1 是 PI3K 通路中重要的下游效应蛋白, 参与调节内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 及一氧化氮 (nitric oxide, NO) 生成<sup>[18]</sup>, 具有稳定 As 斑块的作用, 同时它也具有不同的亚型, 分别通过调控炎症反应和凋亡等作用机制预防和治疗 As<sup>[19]</sup>。其次 TNF、IL-6 为促炎细胞因子, IL-6 也是上游调节因子, 在介导下游炎症反应中发挥核心作用<sup>[20]</sup>, TNF 是通过介导肿瘤坏死因子  $\alpha$ /核因子  $\kappa$ B (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ /nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 信号通路形成炎症反应, 影响 As 的病理发展过程<sup>[21]</sup>, 故有效抑制 IL-6、TNF- $\alpha$  的表达, 可能会减缓 As 的形成。另外, TP53 调节巨噬细胞的脂质代谢以参与 As 发生, Guevara 等<sup>[22]</sup>研究证实缺乏 TP53 与 As 病变、脂蛋白的大小负相关, 通过抑制 TP53 的表达可有效改善 As。c-Jun 氨基末端激酶也同时在心血管调控及炎症反应中起到关键作用, 在 Ji 等<sup>[23]</sup>的实验研究中发现敲除 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠的 TRIM7 基因有效抑制了血管平滑肌细胞的增殖和迁移, 并干扰 c-Jun/AP-1 炎症信号通路, 从而缓解 As 病变。基于上述结果发现核心靶点主要涉及在炎症反应、细胞增殖分化、凋亡等方面, 也体现了当归补血汤治疗 As 的多靶点、多途径协同的优势。

分子对接结果显示 5 个活性成分及 5 个重要核心靶点对接结合能均小于 -5 kJ/mol, 提示其受体蛋白与配体小分子之间结合稳定, 数值越低, 结合稳定性越高, 说明其相互作用力越强<sup>[24]</sup>, 其中活性成分  $\beta$  谷固醇与 TNF 结合能最低, 为 -10.52 kJ/mol, 次之分别与 IL-6 及 Akt1, 排在结合能前 5 位的  $\beta$  谷固醇占前 4 位, 槲皮素在第 5 位, 说明  $\beta$  谷固醇与槲皮素两种中药有效成分在治疗动脉粥样硬化性疾病中起重要主导作用。另外, Akt1 在分子对接排名前 5 位中占 2 位, 说明其核心靶点的重要性, 同时 Akt 又是 PI3K/Akt 炎症通路中重要的下游蛋白, 为后续炎症通路研究治疗 As 提供思路。

从 GO 功能富集结果分析显示核心靶点主要参与的生物过程包括对活性氧的反应、氧化应激反应、细胞对化学应激的反应、细胞对活性氧的反应

等, 细胞组成主要包括转录调节复合物、RNA 聚合酶 II 转录调节复合物等, 分子过程包括 DNA 结合转录因子结合、核受体活性、转录协同调节因子结合等。KEGG 富集通路分析发现, 当归补血汤治疗 As 主要作用通路包括癌症通路、FoxO 信号通路、JAK-STAT 信号通路、脂质代谢、IL-17 信号通路、TNF 信号通路、PI3K/Akt、细胞凋亡、Toll 样受体信号通路、NF- $\kappa$ B 信号通路等。FoxO 家族, 其中包括 FoxO4, 可以调节内皮细胞稳态<sup>[25]</sup>。据文献研究报道, FoxO4 可通过影响血管平滑肌、骨髓来源细胞或 NF- $\kappa$ B 激活的炎性细胞因子的表达来调节 As。实验结果也证实 FoxO4 通过影响内皮细胞功能以促进 As 的进展<sup>[26]</sup>。JAK/STAT 信号通路从血管平滑肌细胞增殖及迁移、炎症细胞浸润等诸多方面介导 As 形成<sup>[27]</sup>。此外, 富集得到的脂质与动脉粥样硬化信号通路也验证了重要核心靶点可能通过脂质代谢影响动脉粥样硬化性疾病的发生发展过程。IL-17 信号通路当中的 IL-17A 在炎症部位介导巨噬细胞, 促使斑块的形成与破裂, 这可能是炎症的双重机制<sup>[28]</sup>。临床试验也表明, 与其他炎症因子比较, IL-17A 与斑块的产生和心血管疾病的关系更加紧密<sup>[29-30]</sup>。另外, 董国华等<sup>[31]</sup>实验研究表明 miRNA-21 抑制剂 (antagomiR-21) 可借助上调 SIRT1 基因表达并激活 PI3K/Akt/eNOS 通路, 从而改善大鼠冠状动脉内皮的舒张性。TNF 信号通路、NF- $\kappa$ B 信号通路均是经典的炎症信号通路, 伏江龙等<sup>[32]</sup>的实验研究表明抑制 NF- $\kappa$ B 通路具有调节其脂质代谢、抑制炎症发生、减少细胞增殖与迁移等作用。

综上所述, 本研究借助网络药理学及分子对接分析当归补血汤治疗 As 的潜在核心靶点, 发现其主要活性成分为槲皮素及  $\beta$  谷固醇等, 潜在核心靶点是 Akt1、JUN、TP53、TNF、IL-6, 并包括 JAK-STAT、PI3K/Akt 信号通路、脂质代谢、IL-17 信号通路, 体现了其通过多成分、多靶点、多通路协同机制, 对治疗 As 做出了整体性预测, 为当归补血汤的作用机制提供依据和参考方向。但本研究尚存在局限性, 如仅通过相关生物信息技术解释其机制, 未考虑用药的君臣佐使、药物配比以及煎煮方法的影响, 因此, 值得在后续研究中围绕上述问题进一步地深入开展动物实验及临床研究。

#### [参考文献]

- [1] 马丽媛, 王增武, 樊静, 等. 《中国心血管健康与疾病报告 2022》要点解读[J]. 中国全科医学, 2023, 26(32): 3975-3994.



- MA L Y, WANG Z W, FAN J, et al. Interpretation of report on cardiovascular health and diseases in China 2022 [J]. *Chin Gen Pract*, 2023, 26(32): 3975-3994.
- [2] 陈苑, 黎宝留, 许二巾, 等. 基于血流剪切力与炎症反应探讨当归补血汤治疗动脉粥样硬化的作用机制[J]. *中药新药与临床药理*, 2022, 33(6): 786-793.
- CHEN Y, LI B L, XU E J, et al. Exploration on the mechanism of Danggui Buxue Decoction in the treatment of atherosclerosis based on fluid shear stress and inflammatory response [J]. *Trad Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 2022, 33(6): 786-793.
- [3] 李秋芳, 王文恺, 龚曼, 等. 当归补血汤及其活性成分通过 NLRP3/ASC/caspase-1 通路调控糖尿病大鼠动脉粥样硬化及网络药理学研究[J]. *中成药*, 2022, 44(6): 1987-1992.
- LI Q F, WANG W K, GONG M, et al. Danggui Buxue decoction and its active ingredients regulate atherosclerosis and network pharmacology in diabetic rats through NLRP3/ASC/caspase-1 pathway [J]. *Chin Trad Patent Med*, 2022, 44(6): 1987-1992.
- [4] 许二巾. 当归补血汤抗 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化的作用及机制的研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2019.
- XU E J. The study on the protective effect of Danggui Buxue Tang in ApoE knockout mice atherosclerosis and its mechanism[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2019.
- [5] 邵长鑫, 林欢欢, 靳晓杰, 等. 黄芪的炮制历史沿革及现代研究进展[J]. *中草药*, 2023, 54(15): 5057-5074.
- SHAO C X, LIN H H, JIN X J, et al. Historical evolution and modern research progress of Astragali Radix processing [J]. *Chin Trad Herbal Drugs*, 2023, 54(15): 5057-5074.
- [6] 马燕, 张育贵, 石露萍, 等. 当归炮制品及其化学成分和药理作用研究进展[J/OL]. *中国中药杂志*, 2023: 1-10 [2023-07-19]. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjmm.20230717.301>.
- MA Y, ZHANG Y G, SHI L P, et al. Research progress on pharmacological effects of Angelica sinensis prepared products and their chemical constituents [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2023: 1-10 [2023-07-19]. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjmm.20230717.301>.
- [7] POLLER W C, NAHRENDORF M, SWIRSKI F K. Hematopoiesis and cardiovascular disease [J]. *Circ Res*, 2020, 126(8): 1061-1085.
- [8] 罗纲, 向露, 姚平, 等. 槲皮素调控巨噬细胞胆固醇稳态改善载脂蛋白 E 敲除小鼠动脉粥样硬化[J]. *中国药理学通报*, 2022, 38(9): 1395-1400.
- LUO G, XIANG L, YAO P, et al. Quercetin attenuates atherosclerosis in ApoE KO mice by regulating macrophage cholesterol homeostasis[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2022, 38(9): 1395-1400.
- [9] ZHANG F W, FENG J, ZHANG J Y, et al. Quercetin modulates AMPK/SIRT1/NF- $\kappa$ B signaling to inhibit inflammatory/oxidative stress responses in diabetic high fat diet-induced atherosclerosis in the rat carotid artery[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(6): 280.
- [10] LUO M J, TIAN R, LU N H. Quercetin inhibited endothelial dysfunction and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice; critical roles for NADPH oxidase and Heme oxygenase-1[J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(39): 10875-10883.
- [11] PATEL R V, MISTRY B M, SHINDE S K, et al. Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 155: 889-904.
- [12] XIAO L, LIU L, GUO X P, et al. Quercetin attenuates high fat diet-induced atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice; a critical role of NADPH oxidase [J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 105: 22-33.
- [13] CHEN M J, XIAO J B, EL-SEEDI H R, et al. Kaempferol and atherosclerosis; from mechanism to medicine [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2022: 1-19.
- [14] FENG Z, WANG C, Yue, et al. Kaempferol-induced GPER up-regulation attenuates atherosclerosis via the PI3K/AKT/Nrf2 pathway [J]. *Pharm Biol*, 2021, 59(1): 1106-1116.
- [15] KOO H J, PARK H J, BYEON H E, et al. Chinese YAM extracts containing  $\beta$ -sitosterol and ethyl linoleate protect against atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice and inhibit muscular expression of VCAM-1 *in vitro* [J]. *J Food Sci*, 2014, 79(4): H719-H729.
- [16] WU W, LIU W, WANG H, et al.  $\beta$ -sitosterol inhibits trimethylamine production by regulating the gut microbiota and attenuates atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022. DOI: 10.3389/fcvm.2022.986905.
- [17] ZHANG B H, HAO Z W, ZHOU W L, et al. Formononetin protects against ox-LDL-induced endothelial dysfunction by activating PPAR- $\gamma$  signaling based on network pharmacology and experimental validation [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 4887-4898.
- [18] 孟中华, 尚莎莎, 王建茹, 等. 巨噬细胞 PI3K/Akt 通路与动脉粥样硬化的研究进展[J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(1): 102-106.
- MENG Z H, SHANG S S, WANG J R, et al. Research progress on macrophage PI3K/Akt pathway and atherosclerosis [J]. *Chin J Immunol*, 2022, 38(1): 102-106.
- [19] 刘珍竹, 李靖, 何丹, 等. PI3K 信号通路调控动脉粥样硬化发生发展的研究进展[J]. *基础医学与临床*, 2022, 42(9): 1428-1432.
- LIU Z Z, LI J, HE D, et al. Research progress of PI3K signaling pathway regulating the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Basic Clin Med*, 2022, 42(9): 1428-1432.
- [20] 哈略, 崔莹雪, 林瑶, 等. 艾灸及艾烟对 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠血清 IL-1、IL-6、IL-10 的影响[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(9): 2284-2286.
- HA L, CUI Y X, LIN Y, et al. Influence of moxibustion and moxa smoke on IL-1, IL-6, IL-10 in ApoE knockout mice [J]. *Lishizhen Med Materia Med Res*, 2019, 30(9): 2284-2286.
- [21] 冯伟, 魏海燕, 师艳艳. 基于 TLR4/NF- $\kappa$ B 途径探究左西孟旦调控巨噬细胞极化减轻动脉粥样硬化的作用[J]. *药物评价研究*, 2021, 44(12): 2578-2586.
- FENG W, WEI H Y, SHI Y Y. Exploring effect of levosimendan in regulating macrophage polarization and reducing atherosclerosis based on TLR4/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Drug Eval Res*, 2021, 44(12): 2578-2586.
- [22] GUEVARA N V, KIM H S, ANTONOVA E I, et al. The absence of p53 accelerates atherosclerosis by increasing cell proliferation *in vivo* [J]. *Nat Med*, 1999, 5(3): 335-339.
- [23] JI R J, GU Y Y, ZHANG J, et al. TRIM7 promotes proliferation and migration of vascular smooth muscle cells in atherosclerosis through activating c-Jun/AP-1 [J]. *IUBMB Life*, 2020, 72(2): 247-258.

- [12] 刘莉芳, 赵 桁, 张云良, 等. 2 型糖尿病患者血清 Nesfatin-1、HSP60 与下肢血管病变的相关性研究[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(11): 965-970.
- LIU L F, ZHAO H, ZHANG Y L, et al. Study on the correlation between serum Nesfatin-1, HSP60 and lower extremity vascular disease in patients with type 2 diabetes[J]. Chin J Arterioscler, 2021, 29(11): 965-970.
- [13] POPYHOVA E B, STEPANOVA T V, LAGUTINA D D, et al. The role of diabetes in the onset and development of endothelial dysfunction[J]. Probl Endokrinol, 2020, 66(1): 47-55.
- [14] VEITCH S, NJOCK M S, CHANDY M, et al. MiR-30 promotes fatty acid beta-oxidation and endothelial cell dysfunction and is a circulating biomarker of coronary microvascular dysfunction in pre-clinical models of diabetes[J]. Cardiovasc Diabetol, 2022, 21(1): 31.
- [15] CHENG C K, SHANG W B, LIU J, et al. Activation of AMPK/miR-181b axis alleviates endothelial dysfunction and vascular inflammation in diabetic mice[J]. Antioxidants, 2022, 11(6): 1137.
- [16] WU J, LIANG W, TIAN Y, et al. Inhibition of P53/miR-34a improves diabetic endothelial dysfunction via activation of SIRT1[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(5): 3538-3548.
- [17] VIEIRA C P, HAMMER S S, MCFARLAND D, et al. Fasting and fasting-mimicking treatment activate SIRT1/LXR $\alpha$  and alleviate diabetes-induced systemic and microvascular dysfunction [J]. Diabetologia, 2021, 64(7): 1674-1689.
- [18] 侯延丽, 王 鹏, 王娅宁. 芍药色素下调 miR-21 并激活 SIRT1/FOXO1 通路进而保护 CCl<sub>4</sub> 诱导的大鼠急性肝损伤[J]. 毒理学杂志, 2021, 35(5): 405-411.
- HOU Y L, WANG P, WANG Y N. The protective effect of peonidin through SIRT1/FOXO1 pathway via miR-21 on CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury in rats[J]. J Toxicol, 2021, 35(5): 405-411.
- [19] XU Z Y, XIE X H, TIAN J, et al. Down-regulation of miR-21 alleviates lung injury induced by burns through activating silent mating type information regulation 2 homolog 1 (SIRT1)-protein kinase B (Akt)-nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) pathway[J]. J Biomater Tissue Eng, 2020, 10(4): 576-581.
- [20] LEE Y N, IM E. Regulation of miRNAs by natural antioxidants in cardiovascular diseases: focus on SIRT1 and eNOS[J]. Antioxidants, 2021, 10(3): 377.
- [21] SIRAGUSA M, OLIVEIRA JUSTO A F, MALACARNE P F, et al. VE-PTP inhibition elicits eNOS phosphorylation to blunt endothelial dysfunction and hypertension in diabetes[J]. Cardiovasc Res, 2021, 117(6): 1546-1556.
- [22] 郭 芬. 柚皮苷调控 PI3K/Akt/eNOS 通路控制 2 型糖尿病大鼠脑血管内皮氧化损伤的作用探讨[J]. 安徽医药, 2021, 25(4): 645-648.
- GUO F. Naringin regulates PI3K/Akt/eNOS pathway to control cerebral vascular endothelial oxidative damage in type 2 diabetic rats[J]. Anhui Med Pharm J, 2021, 25(4): 645-648.
- [23] WANG P, TIAN X, TANG J, et al. Artemisinin protects endothelial function and vasodilation from oxidative damage via activation of PI3K/AKT/eNOS pathway[J]. Exp Gerontol, 2021, 147: 111270.
- [24] CARRIZZO A, CONTE G M, SOMMELLA E, et al. Novel potent decameric peptide of spirulina platensis reduces blood pressure levels through a PI3K/AKT/eNOS-dependent mechanism[J]. Hypertension, 2019, 73(2): 449-457.
- [25] HUANG L, CAI H A, ZHANG M S, et al. Ginsenoside Rg1 promoted the wound healing in diabetic foot ulcers via miR-489-3p/Sirt1 axis[J]. J Pharmacol Sci, 2021, 147(3): 271-283.
- [26] DING Y, WANG J, ZHANG H, et al. Long noncoding RNA-GASS attenuates progression of glioma by eliminating microRNA-10b and Sirtuin 1 in U251 and A172 cells[J]. Biofactors, 2020, 46(3): 487-496.
- (此文编辑 文玉珊)

(上接第 761 页)

- [24] KAUR T, MADGULKAR A, BHALEKAR M, et al. Molecular docking in formulation and development[J]. Curr Drug Discov Technol, 2019, 16(1): 30-39.
- [25] WANG J, WANG W N, XU S B, et al. MicroRNA-214-3p: a link between autophagy and endothelial cell dysfunction in atherosclerosis [J]. Acta Physiol (Oxf), 2018, 222(3): 10.1111/apha.12973.
- [26] QIN X, GUO J. MicroRNA-328-3p protects vascular endothelial cells against oxidized low-density lipoprotein induced injury via targeting forkhead box protein O4 (FOXO4) in atherosclerosis[J]. Med Sci Monit, 2020, 26: e921877.
- [27] 张 风, 郑 刚, 齐 婧, 等. 动脉粥样硬化相关的炎症信号通路的研究进展[J]. 实用临床医药杂志, 2022, 26(10): 144-148.
- ZHANG F, ZHENG G, QI J. Research progress of inflammatory signaling pathway associated with atherosclerosis[J]. J Clin Med Pract, 2022, 26(10): 144-148.
- [28] WANG B, HOU X T, SUN Y N, et al. Interleukin-17a influences the vulnerability rather than the size of established atherosclerotic plaques in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Open Life Sci, 2022, 17(1): 1104-1115.
- [29] ERBEL C, DENGLER T J, WANGLER S, et al. Expression of IL-17A in human atherosclerotic lesions is associated with increased inflammation and plaque vulnerability[J]. Basic Res Cardiol, 2011, 106(1): 125-134.
- [30] LIU Z D, LU F H, PAN H, et al. Correlation of peripheral Th17 cells and Th17-associated cytokines to the severity of carotid artery plaque and its clinical implication[J]. Atherosclerosis, 2012, 221(1): 232-241.
- [31] 董国华, 杜银苹, 耿 猛, 等. antagomiR-21 上调 SIRT1 激活 PI3K/AKT/eNOS 信号通路改善 T2DM 大鼠冠状动脉内皮依赖性舒张[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(9): 763-770.
- DONG G H, DU Y P, GENG M, et al. AntagomiR-21 upregulates SIRT1 to activate PI3K/AKT/eNOS signal pathway and improves endothelium-dependent relaxation of coronary arteries in T2DM rats [J]. Chin J Arterioscler, 2023, 31(9): 763-770.
- [32] 伏江龙, 杨 雪, 万宛若, 等. 中药单体通过 NF- $\kappa$ B 信号通路防治动脉粥样硬化研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(17): 195-208.
- FU J L, YANG X, WAN W R. Chinese medicine monomers regulate atherosclerosis through NF- $\kappa$ B pathway: a review[J]. Chin J Exp Trad Med Form, 2022, 28(17): 195-208.
- (此文编辑 许雪梅)