

本文引用: 孟天伟, 常虹, 李呈佳, 等. 基于网络药理学与分子对接技术探究三棱-莪术药对治疗动脉粥样硬化的作用机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(10): 861-870. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2022.10.005.

[文章编号] 1007-3949(2022)30-10-0861-10

· 实验研究 ·

## 基于网络药理学与分子对接技术探究三棱-莪术药对 治疗动脉粥样硬化的作用机制

孟天伟<sup>1</sup>, 常虹<sup>2</sup>, 李呈佳<sup>1</sup>, 李东旭<sup>1</sup>, 蒋希成<sup>3</sup>

(1. 黑龙江中医药大学研究生院, 黑龙江省哈尔滨市 150036; 2. 内蒙古科技大学包头医学院药学院, 内蒙古包头市 014040; 3. 黑龙江中医药大学基础医学院, 黑龙江省哈尔滨市 150036)

**[摘要]** **[目的]** 运用网络药理学与分子对接技术探究三棱-莪术药对治疗动脉粥样硬化(As)的作用机制。**[方法]** 通过 TCSP、Swiss Target Prediction、STRING 数据库和 Cytoscape 软件发现并探究相关治疗靶点的作用关系,通过 Omicshare 平台进行 GO 富集分析与 KEGG 通路富集分析,运用 DockThor 平台进行分子对接。**[结果]** 研究结果发现 158 个相关治疗靶点,其中丝氨酸/苏氨酸激酶 1、SRC 原癌基因、肿瘤坏死因子、丝裂原激活蛋白激酶 3、白细胞介素 6 等 49 个靶点为核心靶点。GO 富集分析发现三棱-莪术药对可以在多方面影响 As 的发生发展。KEGG 通路富集分析发现,三棱-莪术药对可能通过 C 型凝集素受体信号通路、癌症通路等多条代谢通路来发挥治疗 As 的作用。分子对接显示靶点 TNF 与常春藤皂苷元的结合活性最高。**[结论]** 三棱-莪术药对治疗 As 的作用机制复杂,主要通过 C 型凝集素受体信号通路、癌症通路等多条代谢通路发挥作用。**[关键词]** 网络药理学; 分子对接; 三棱-莪术药对; 动脉粥样硬化  
**[中图分类号]** R54 **[文献标识码]** A

## Exploring the mechanism of action of Sanleng-Ezhu herbal pair in the treatment of atherosclerosis based on network pharmacology and molecular docking technology

MENG Tianwei<sup>1</sup>, CHANG Hong<sup>2</sup>, LI Chengjia<sup>1</sup>, LI Dongxu<sup>1</sup>, JIANG Xicheng<sup>3</sup>

(1. Graduate School of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 150036, China; 2. Department of Pharmacy, Baotou Medical College of Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou, Inner Mongolia 014040, China; 3. Basic Medical College of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 150036, China)

**[ABSTRACT]** **Aim** To explore the mechanism of action of Sanleng-Ezhu herbal pair in the treatment of atherosclerosis (As) by using network pharmacology and molecular docking technology. **Methods** The relationship between related therapeutic targets was discovered and explored through TCSP, Swiss Target Prediction, STRING database and Cytoscape software. GO enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were performed through the Omicshare platform. Molecular docking was performed by using the DockThor platform. **Results** 158 related therapeutic targets were found in the research results, including 49 core targets such as serine/threonine protein kinase 1, SRC proto-oncogene, tumor necrosis factor, mitogen-activated protein kinase 3, and interleukin-6. GO enrichment analysis found that the Sanleng-Ezhu herbal pair could affect the occurrence and development of As in many ways. KEGG pathway enrichment analysis found that the Sanleng-Ezhu herbal pair may play a role in the treatment of As through multiple metabolic pathways such as the C-type lectin receptor signaling pathway and the cancer pathway. Molecular docking showed that the binding activity of target TNF with hederagenin was the highest. **Conclusion** The mechanism of action of Sanleng-Ezhu herbal pair in the treatment of As is complex, and it mainly acts through multiple metabolic pathways such as C-type lectin receptor signaling pathway and cancer pathway.

**[KEY WORDS]** network pharmacology; molecular docking; Sanleng-Ezhu herbal pair; atherosclerosis

[收稿日期] 2021-07-02

[修回日期] 2021-08-27

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82060784)

[作者简介] 孟天伟, 硕士研究生, 医师, 研究方向为中医药防治心血管疾病, E-mail: 965130748@qq.com。通信作者蒋希成, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为仲景杂病辨证论治规律研究, E-mail: jiangxicheng5303@163.com。

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)导致的心脑血管疾病已成为我国乃至全球范围内位居前列的死亡原因<sup>[1]</sup>。As是冠心病、脑梗死、外周血管病的主要病理基础,表现为大动脉及中动脉的血管内膜出现脂质和复合糖类积聚,形成分散或成片的粥样斑块<sup>[2]</sup>。中医将该病称为“脉痹”、“中风”等,《灵枢·经脉篇》有云:“经脉者,所以能决死生,处百病,调虚实,不可不通。”《素问·痹论篇》有云:“痹在于脉则血凝而不流。”经过历代医家总结发现本病为本虚标实证,由于正气不足,六淫夹杂而至,侵袭血脉,致血液凝涩,脉道闭阻。本虚主要是以气虚、阳虚、阴虚为主,病位主要在肝、脾、肾三脏。标实主要有血瘀、气滞、痰湿等,其中血瘀为该病最主要的病理特点,且常常夹杂于其他实邪之中。中医以活血化瘀为主要治法,益气养血、化痰通络、解毒等方法辅助,在临床治疗As中一直有着显著的疗效。三棱、莪术作为活血化瘀、行气的代表药,两者性味、归经以及功效都十分相似,性平,味辛、苦,归肝、脾经;具有破血行气、消积止痛的功效。临床上两者常相须配伍用于治疗As,但其作用机制尚不明确。本次研究运用网络药理学探究三棱-莪术药对治疗As的潜在机制。

## 1 资料和方法

### 1.1 三棱-莪术药对化学成分获取及相关靶点筛选

通过中药系统药理数据库及分析平台TCMSP(<https://tcmspw.com/tcmsp.php>)以口服生物利用度(oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$  且类药性(drug-like, DL)  $\geq 0.18$  作为筛选指标<sup>[3]</sup>,筛选出三棱、莪术的有效成分。运用Pubchem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)及Swiss Target Prediction平台(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)查找药物靶点。通过UniProt数据库(<https://www.uniprot.org/>)校正靶点名称。

### 1.2 As相关靶点筛选

以“atherosclerosis”为关键词,在TTD数据库(<http://db.idrblab.net/ttd/>)、OMIM数据库(<http://www.omim.org/>)、DisGENET数据库(<http://www.disgenet.org/>)以及DrugBank数据库(<http://www.drugbank.ca/>)中检索,获得疾病相关靶点。

### 1.3 三棱-莪术药对治疗As的核心靶点筛选

将三棱-莪术药对与As的交集靶点导入STRING数据库(<https://string-db.org/>)构建蛋白-蛋白相互作用网络(protein-protein interaction, PPI),筛选置信度高

于0.900的靶点<sup>[4]</sup>。使用Cytoscape 3.8.0软件构建可视化网络<sup>[5]</sup>,并通过软件中的Network Analyzer功能进行网络拓扑分析,在网络中,某个节点的自由度代表在本网络中该节点与其他节点相互作用的数目,若自由度的值越大,则证明该节点的重要性越高,因此筛选节点自由度大于平均值的靶点作为核心靶点,节点自由度排名前5的靶点为关键靶点。

### 1.4 GO富集分析和KEGG通路富集分析

使用BioMart及Omicshare平台(<http://www.omicshare.com/tools/index.php/>),对核心靶点分别进行基因本体论二级分类富集分析(gene ontology, GO)与京都基因和基因组百科全书通路富集分析(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)<sup>[6]</sup>。在GO富集分析中获得生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)、细胞成分(cellular component, CC)的分析结果,并筛选P值最小的前20个结果进行研究。在KEGG通路富集分析结果中筛选 $P < 0.001$ 、频次10以上的条目,认为这些通路在三棱-莪术药对治疗As的过程中起到重要作用,以此来获得显著性较高的分析结果。

### 1.5 “靶点-通路”网络构建

利用Cytoscape软件对靶点与通路之间的关系进行可视化处理,构建“靶点-通路”的网络药理图,以便于后续的分析研究。

### 1.6 分子对接

通过Pubchem数据库下载化合物的3D结构,在PDB数据库中筛选并下载分辨率小于2.5 Å且与该晶体附合有小分子化合物的蛋白结构,将化合物与靶点蛋白导入受体-配体对接网站DockThor(<https://dockthor.lncc.br/v2/>)中进行分子对接,运用PyMol 2.4.0对分子对接得分排名靠前的结果进行可视化处理<sup>[7]</sup>,通过观察对接亲和力得分来反映分子间结合的稳定性。

## 2 结果

### 2.1 药物活性成分及靶点筛选

TCMSP平台共收录三棱的主要化学成分为30个,莪术主要化学成分为81个,符合筛选条件的三棱有效成分5个,莪术有效成分3个,其中常春藤皂苷元为两者共同成分,有效化合物的相关信息如表1所示。运用Swiss Target Prediction网站检索药物成分靶点后共获得靶点716个,剔除重复后共获得靶点363个。

表 1. 三棱、莪术化合物相关信息

Table 1. Information about the compounds of Sanleng and Ezhu

药物	英文名称	中文名称	口服生物利用度/%	类药性
三棱	Trans-11-eicosenoic acid	反式-11-二十碳烯酸	30.70	0.20
三棱	$\beta$ -sitosterol	$\beta$ -谷甾醇	36.91	0.75
三棱	Formononetin	芒柄花黄素	69.67	0.21
三棱	Stigmasterol	豆甾醇	43.83	0.76
莪术	Bisdemethoxycurcumin	双去甲氧基姜黄素	77.38	0.26
莪术	Wenjine	无	47.93	0.27
三棱、莪术	Hederagenin	常春藤皂苷元	36.91	0.75

2.2 As 相关靶点的筛选

在 TTD 数据库中共检索到疾病靶点数量为 22 个,OMIM 数据库中共检索到疾病靶点数量为 3 个,DrugBank 数据库中共检索到疾病靶点数量为 46 个,DisGENET 数据库中共检索到疾病靶点数量为 2 044 个,4 个数据库共获得靶点 2 115 个,筛除重复靶点后最终获得靶点数量 2 085 个。

2.3 三棱-莪术药对治疗 As 的核心靶点筛选及可视化网络图构建

将药物靶点与疾病靶点取交集后获得治疗靶点数量为 158 个,通过 STRING 数据库获得靶蛋白相互作用信息 414 个,如图 1 所示。将蛋白相互作用信息导入 Cytoscape 中,通过网络拓扑分析筛选出

网络中节点自由度大于平均值 6.369 的靶点作为三棱-莪术药对治疗 As 的核心靶点,共获得核心靶点 49 个。核心靶点相互作用网络图,如图 2 所示;靶点拓扑分析如表 2 所示。丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (serine/threonine protein kinase 1, AKT1)、SRC 原癌基因、非受体酪氨酸激酶、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、丝裂原激活蛋白激酶 3 (mitogen-activated protein kinase 3, MAPK3)、白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 为关键靶点。其中 AKT1 在治疗靶点相互作用中的自由度为 26,在核心靶点相互作用中的自由度为 39,均为自由度值最大的靶点,因此三棱-莪术药对治疗 As 的过程中,该靶点起到至关重要的作用。

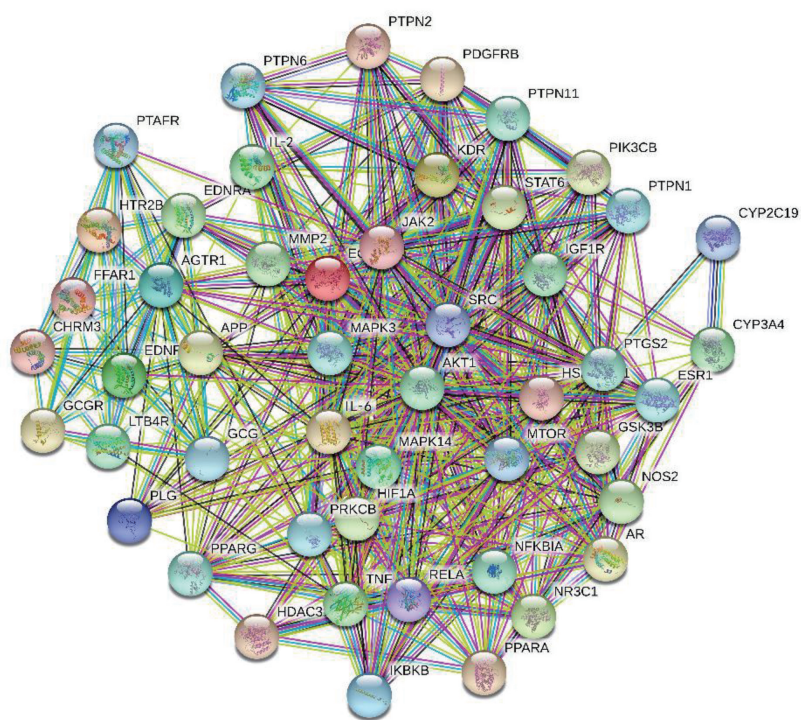


图 1. 三棱-莪术药对治疗 As 的核心靶点相互作用网络

Figure 1. The core target interaction network of Sanleng-Ezhu herbal pair in the treatment of As



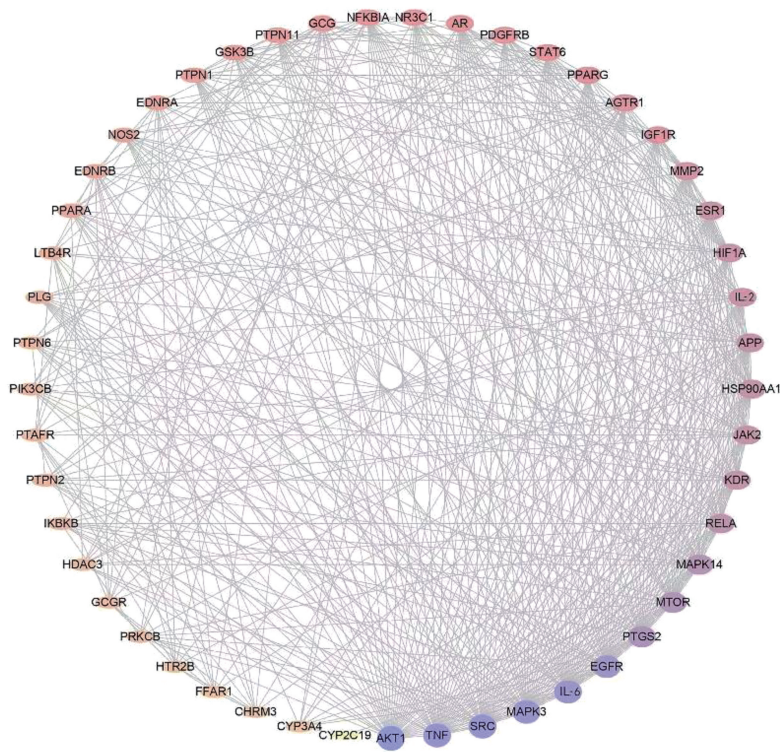


图 2. 核心靶点相互作用网络图

从黄色渐变至红色,再渐变至蓝色,代表节点的自由度从低到高,每个节点的大小也代表其自由度的大小。

Figure 2. Core target interaction network diagram

表 2. 核心靶点拓扑分析

Table 2. Core target topology analysis

靶点	中文名称	自由度	靶点	中文名称	自由度
AKT1	丝氨酸/苏氨酸激酶 1	39	SRC	SRC 原癌基因、非受体酪氨酸激酶	37
TNF	肿瘤坏死因子	37	MAPK3	丝裂原激活蛋白激酶 3	36
IL-6	白细胞介素 6	35	EGFR	表皮生长因子受体	34
PTGS2	环加氧酶 2	31	mTOR	哺乳动物雷帕霉素靶蛋白	30
MAPK14	丝裂原激活蛋白激酶 14	29	RELA	RELA 原癌基因、核因子 $\kappa$ B 亚基	27
APP	淀粉样 $\beta$ 前体蛋白	26	HSP90 $\alpha$ A1	热休克蛋白 90 $\alpha$ 家族 A 类成员 1	26
JAK2	Janus 激酶 2	26	KDR	激酶插入结构域受体	26
ESR1	雌激素受体 1	25	HIF1 $\alpha$	缺氧诱导因子 1 $\alpha$ 亚基	25
IL-2	白细胞介素 2	25	MMP-2	基质金属蛋白酶 2	24
AGTR1	1 型血管紧张素 II 受体	22	IGF1R	胰岛素样生长因子 1 受体	22
PPAR $\gamma$	过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$	22	AR	雄激素受体	21
PDGFR $\beta$	血小板衍生生长因子受体 $\beta$	21	STAT6	信号转导子和转录激活子 6	21
NFKB1 $\alpha$	NFKB 抑制剂 $\alpha$	20	NR3C1	核受体亚家族 3C 组成员 1	20
GCG	胰高血糖素	19	GSK3 $\beta$	糖原合酶激酶 3 $\beta$	18
PTPN11	蛋白酪氨酸磷酸酶非受体 11 型	18	PTPN1	蛋白酪氨酸磷酸酶非受体 1 型	17
EDNRA	内皮素 A 型受体	16	NOS2	一氧化氮合酶 2	16
EDNRB	内皮素受体 B	15	PPAR $\alpha$	过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha$	15



续表

靶点	中文名称	自由度	靶点	中文名称	自由度
LTB4R	白三烯 B4 受体	13	PLG	纤溶酶原	13
IκBκβ	B 细胞中 κ 轻型多肽基因增强子的抑制剂刺激酶 β	12	PIK3Cβ	磷脂酰肌醇-4,5-双磷酸 3-激酶催化亚基 β	12
PTAFR	血小板活化因子受体	12	PTPN2	蛋白酪氨酸磷酸酶非受体 2 型	12
PTPN6	蛋白酪氨酸磷酸酶非受体 6 型	12	GCGR	胰高血糖素受体	11
HDAC3	组蛋白去乙酰化酶 3	11	PRKCβ	蛋白激酶 Cβ	11
CHRM3	毒蕈碱型胆碱受体 M3	10	CYP3A4	细胞色素 P450 家族 3 亚家族 A 成员 4	10
FFAR1	游离脂肪酸受体 1	10	HTR2B	5-羟色胺受体 2B	10
CYP2C19	细胞色素 P450 家族 2 亚家族 C 成员 19	2			

2.4 GO 富集分析与 KEGG 通路富集分析

三棱-莪术药对治疗 As 的 GO 富集分析如图 3, 由图可知,这些核心靶点可以通过细胞对刺激的反应、细胞过程调节、细胞生物过程、细胞对含氧化合物的反应、对激素的反应等方面影响生物过程;通过细胞自身、细胞器、膜结合细胞器等方面影响细胞组成;通过蛋白质结合、催化活性、杂环化合物合成、有机环状化合物结合、离子结合等方面影响分子功能。

以  $P<0.001$ 、频次 10 以上的条目为筛选条件,共筛选出三棱-莪术药对治疗 As 的 KEGG 通路富集

分析 51 条,选取  $P$  值最小的前 20 条通路并制作成圆圈图及气泡图,如图 4、图 5 所示,具体通路结果如表 3 所示,其中  $P$  值最小的通路为 C 型凝集素受体信号通路。利用 Cytoscape 软件对三棱-莪术药对治疗 As 的核心靶点与通路之间的关系进行可视化处理,构建“靶点-通路”的网络图,如图 6 所示。根据拓扑分析发现节点自由度最大的通路为癌症通路,自由度值为 27;而自由度最大的靶点是 RELA 原癌基因 (RELA proto-oncogene, RELA),自由度值为 41;该通路与该靶点可能在三棱-莪术药对治疗 As 的过程中起到了关键的作用。

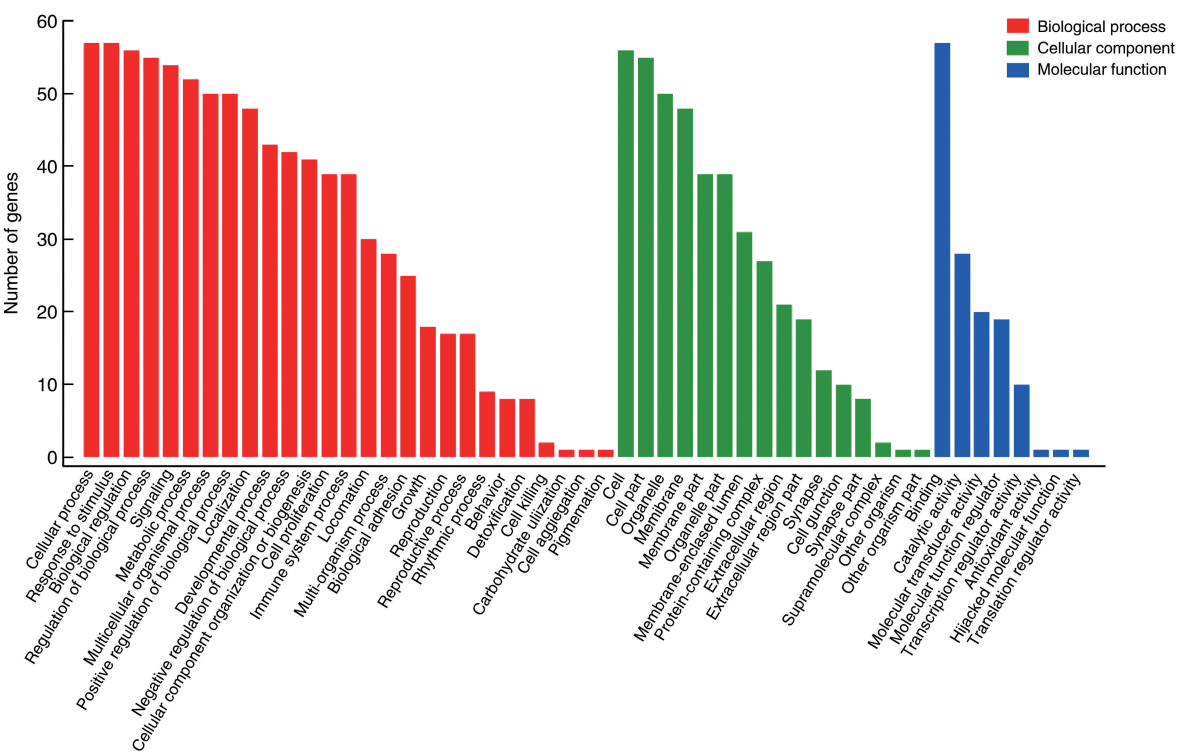


图 3. 三棱-莪术药对治疗 As 的 GO 富集分析柱状图

Figure 3. Histogram of GO enrichment analysis of Sanleng-Ezhu herbal pair in the treatment of As

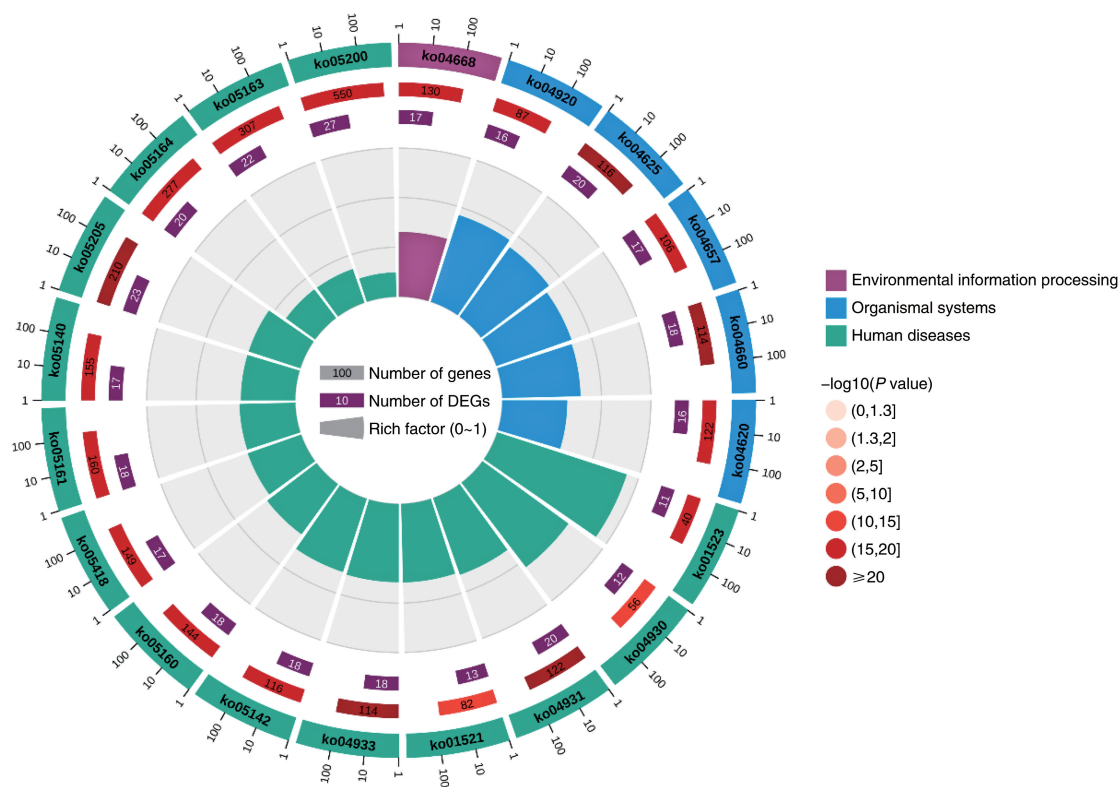


图 4. 三棱-莪术药对治疗 As 的 KEGG 通路富集分析圆圈图

圈外为基因数目的坐标尺。第 1 圈为富集的分类与通路 ID,绿色代表人类疾病,蓝色代表生物系统,紫色代表环境信息处理;  
第 2 圈的条形长度对应背景基因数,颜色的深浅对应 P 值,颜色越深 P 值越小;第 3 圈为前景基因的总数目;  
第 4 圈为富集因子 (Rich factor) 值,背景辅助线每一个小格表示 0.1,富集因子值越大,表示富集的程度越大。

Figure 4. KEGG pathway enrichment analysis circle diagram of Sanleng-Ezhu herbal pair in the treatment of As

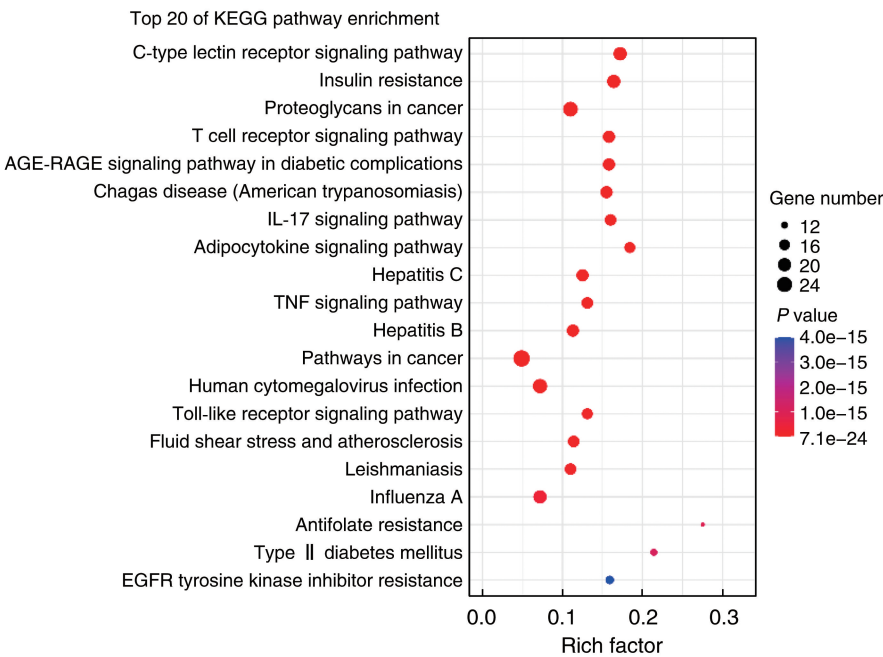


图 5. 三棱-莪术药对治疗 As 的 KEGG 通路富集分析气泡图

Figure 5. Bubble chart of KEGG pathway enrichment analysis of Sanleng-Ezhu herbal pair in the treatment of As

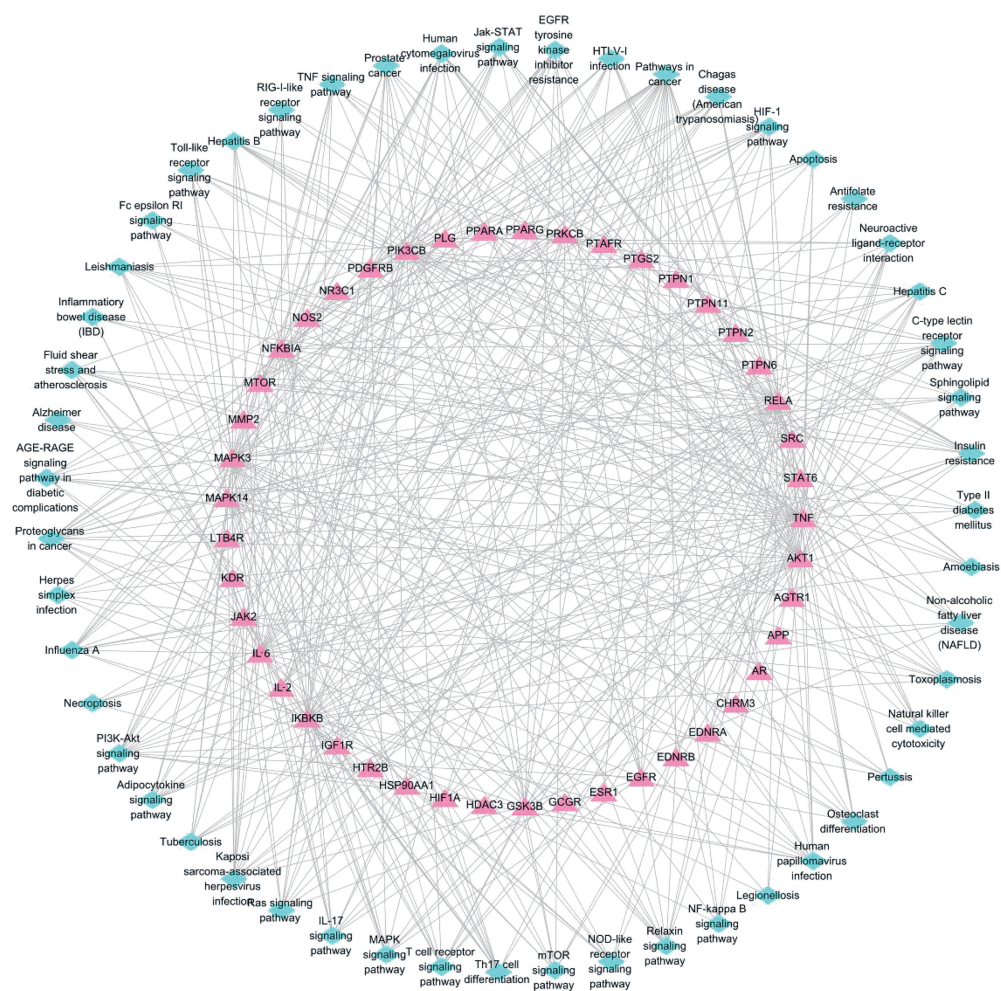


图 6. 三棱-莪术药对治疗 As 的“靶点-通路”网络图  
外圈蓝色菱形为通路,内圈三角形为核心靶点。

Figure 6. “Target-pathway” network diagram of Sanleng-Ezhu herbal pair in the treatment of As

表 3. 三棱-莪术药对治疗 As 的 KEGG 通路富集分析

Table 3. KEGG pathway enrichment analysis of Sanleng-Ezhu herbal pair in the treatment of As

英文名称	中文名称	频次	P 值
C-type lectin receptor signaling pathway	C 型凝集素受体信号通路	20	$7.08 \times 10^{-24}$
Insulin resistance	胰岛素抵抗	20	$2.07 \times 10^{-23}$
Proteoglycans in cancer	癌症中的蛋白多糖	23	$7.90 \times 10^{-23}$
T cell receptor signaling pathway	T 细胞受体信号通路	18	$9.63 \times 10^{-21}$
AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路	18	$9.63 \times 10^{-21}$
Chagas disease ( American trypanosomiasis )	恰加斯病 ( 美洲锥虫病 )	18	$1.34 \times 10^{-20}$
IL-17 signaling pathway	IL-17 信号通路	17	$1.02 \times 10^{-19}$
Adipocytokine signaling pathway	脂肪细胞因子信号通路	16	$1.38 \times 10^{-19}$
Hepatitis C	丙型肝炎	18	$7.70 \times 10^{-19}$
TNF signaling pathway	TNF 信号通路	17	$3.82 \times 10^{-18}$
Hepatitis B	乙型肝炎	18	$5.36 \times 10^{-18}$
Pathways in cancer	癌症通路	27	$9.14 \times 10^{-18}$



续表

英文名称	中文名称	频次	P 值
Human cytomegalovirus infection	人类巨细胞病毒感染	22	$9.50\times10^{-18}$
Toll-like receptor signaling pathway	Toll 样受体信号通路	16	$4.09\times10^{-17}$
Fluid shear stress and atherosclerosis	流体剪切应力和 As	17	$4.12\times10^{-17}$
Leishmaniasis	利什曼病	17	$8.15\times10^{-17}$
Influenza A	甲型流感	20	$3.67\times10^{-16}$
Antifolate resistance	抗叶酸	11	$8.71\times10^{-16}$
Type 2 diabetes mellitus	2 型糖尿病	12	$1.06\times10^{-15}$
EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药	13	$3.98\times10^{-15}$

2.5 分子对接分析

将关键靶点(即节点自由度最大的 5 个靶点)与三棱、莪术中的化合物成分进行分子对接,经过 DockThor 分析发现分子间稳定性最高的是化合物常春藤皂苷元与靶点 TNF,结果为-9.372 kCal/mol,分子间稳定性排名前 20 的对接结果如表 4。将化合物常春藤皂苷元与靶点 TNF 和化合物 β-谷甾醇与靶点 SRC 的对接结果通过 PyMol 进行可视化处理,化合物与靶点结合的最优构象以氢键的方式呈现,如图 7 所示,常春藤皂苷元和靶点 TNF 对接中与第 75 位精氨酸形成 2 个氢键,与第 36 位谷氨酸形成 1 个氢键;β-谷甾醇和靶点 SRC 对接中与第 237 位赖氨酸形成 1 个氢键,与第 236 位谷氨酸形成 1 个氢键。

表 4. 分子对接结果

Table 4. Molecular docking results

靶点	蛋白库编号	化合物名称	对接亲和力/(kCal/mol)
TNF	1CA9	常春藤皂苷元	-9.372
TNF	1CA9	β-谷甾醇	-9.192
SRC	2H8H	β-谷甾醇	-9.173
SRC	2H8H	芒柄花黄素	-8.938
SRC	2H8H	豆甾醇	-8.937
IL-6	4O9H	β-谷甾醇	-8.858
TNF	1CA9	豆甾醇	-8.391
IL-6	4O9H	豆甾醇	-8.379
IL-6	4O9H	常春藤皂苷元	-8.257
SRC	2H8H	常春藤皂苷元	-8.231
AKT1	4EJN	芒柄花黄素	-8.158
AKT1	4EJN	β-谷甾醇	-8.133
AKT1	4EJN	常春藤皂苷元	-8.127
AKT1	4EJN	豆甾醇	-8.088

续表

靶点	蛋白库编号	化合物名称	对接亲和力/(kCal/mol)
IL-6	4O9H	双去甲氧基姜黄素	-7.879
TNF	1CA9	Wenjine	-7.789
MAPK3	4QTB	β-谷甾醇	-7.783
MAPK3	4QTB	豆甾醇	-7.753
AKT1	4EJN	双去甲氧基姜黄素	-7.706
IL-6	4O9H	Wenjine	-7.691

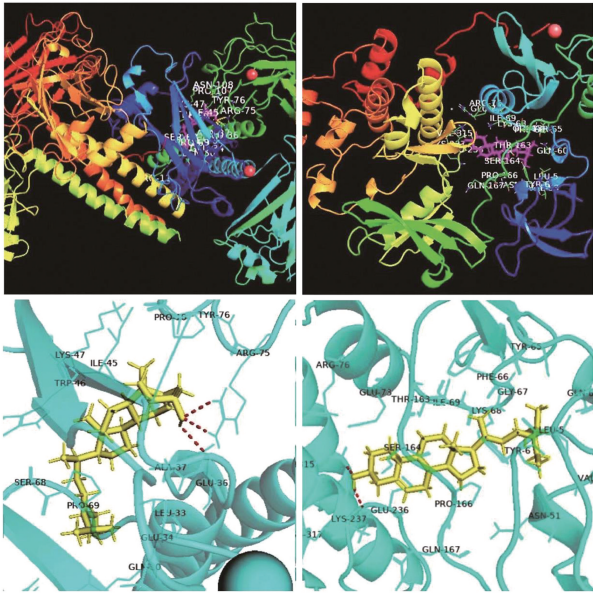


图 7. 分子对接的可视化图

上排图为化合物与靶点对接的全貌;下排图为分子对接特写,蓝色为靶点,黄色为化合物结构,红色虚线为氢键。左侧图为常春藤皂苷元与靶点 TNF 的对接图;右侧图为 β-谷甾醇与靶点 SRC 的对接图。

Figure 7. Visualization of molecular docking

3 讨论

As 是对血管局部损伤的一种保护性的炎症反

应,当损伤持续一定时间后,血管纤维出现增殖,最终形成斑块<sup>[8]</sup>。中医主要以活血化瘀、理气止痛为治疗原则,中药三棱与莪术的功效为破血行气、消积止痛,两者的区别在于三棱偏重于破血,莪术偏重于行气,两者相辅相成,临床上常作为药对治疗疾病。本次研究通过网络药理学的方法揭示了三棱-莪术药对治疗 As 的作用机制。

三棱中的有效成分可以减少冠状动脉阻力,抑制血栓形成;同时还具有降低心肌细胞耗氧量、改善心肌缺氧耐受力等作用。莪术中的有效成分具有抑制血小板聚集、抗血栓、抗炎等作用。临床工作中,莪术油注射剂静脉滴注治疗血栓闭塞性脉管炎获较好疗效,在恶性淋巴瘤、卵巢癌、肝癌等多种癌症的治疗中也起到一定疗效。常春藤皂苷元是三棱和莪术共有的化合物,具有抗肿瘤、抗抑郁、抗菌抗炎、抗糖尿病等多种药理作用。Li 等<sup>[9]</sup>研究发现常春藤皂苷元通过减少炎症,可以有效改善 2 型糖尿病所致的心功能障碍,减低心肌肥厚和纤维化程度。 $\beta$ -谷甾醇在本次研究中与多个关键靶点的分子对接都具有较高的亲和力,大量实验证明  $\beta$ -谷甾醇有降低总胆固醇、参与免疫调节、抗炎等作用,临床常用于治疗 II 型高脂血症、As 以及其他炎症。Rogelio 等<sup>[10]</sup>发现  $\beta$ -谷甾醇可以减少大鼠胸膜渗出液体积,降低中性粒细胞数量,进而有效地抑制了炎症反应。由此可以推断常春藤皂苷元与  $\beta$ -谷甾醇可以通过抗炎作用来治疗 As。

在本次研究中 AKT1 是核心靶点中自由度最高的,RELA 是与通路相关性最高的靶点,TNF 是分子对接中与化合物亲和力最高的靶点,这 3 个靶点在三棱-莪术药对治疗 As 的过程中可能起到了至关重要的作用。AKT1 可以调节细胞的生长和发育,在细胞凋亡、葡萄糖代谢以及免疫应答活动中也起着不可或缺的作用。Kete 等<sup>[11]</sup>发现,AKT1 通过促进淋巴细胞活化和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1 信号来调节尼罗罗非鱼的适应性免疫反应。Reinartz 等<sup>[12]</sup>发现部分磷脂蛋白可以支持 AKT 与兴奋-收缩偶联的连接,进而对心肌细胞的生长、存活和新陈代谢产生重要影响。RELA 原癌基因除了和多种类型的癌症有关,还可以结合微小 RNA (miRNA,miR)作用于 As。Lei 等<sup>[13]</sup>发现 miR-520c-3p 可以通过与 RELA 靶向结合,抑制巨噬细胞的炎症应答,调节细胞因子的产生。Wang 等<sup>[14]</sup>发现 miR-520c-3p 通过靶向 RELA 抑制主动脉平滑肌细胞的增殖和迁移,降低主动脉瓣中的硬化斑块大小。

Jiao 等<sup>[15]</sup>发现诱导 AKT 和核因子  $\kappa$ B 信号通路中 RELA 的下调,可以降低细胞黏附,抑制细胞凋亡,保护内皮细胞的活力,从而影响 As 的发展。TNF 具有杀伤和抑制肿瘤细胞、促进细胞增殖和分化等生物学活性。因此,TNF 不仅是一种可引起肿瘤坏死的细胞因子,同时也被确定为调节炎症反应的关键因子。有研究表明,血管内皮细胞对 TNF 的反应包括增加白细胞黏附、跨内皮迁移、血管渗漏和促进血栓形成等一系列促炎症改变<sup>[16]</sup>。因此推测 AKT1、RELA、TNF 可以从调控心肌细胞的生长、主动脉平滑肌细胞的增殖以及炎症反应等方面作用于 As。

本次研究中 C 型凝集素受体信号通路是 P 值最小的通路,癌症通路是与核心靶点相互作用中自由度值最大的通路,故认为这两条通路在三棱-莪术药对治疗 As 的过程中起到了关键作用。C 型凝集素受体有助于抗原呈递,进而微调适应性免疫反应,还可以直接激活获得性免疫<sup>[17]</sup>。Jiang 等<sup>[18]</sup>发现猪体内胱天蛋白酶富集域家族成员 9、B 细胞淋巴瘤因子 10 和人类黏膜相关淋巴组织蛋白 1 的活性和配比能影响 C 型凝集素受体信号通路的传导功能,进而影响 C 型凝集素受体在抗真菌感染中的作用。癌症通路包括诸如血管生成和细胞增殖等相关过程。肿瘤生长和发展需要肿瘤细胞和基质细胞的协作,细胞信号转导、炎症、血管再生和免疫调节是细胞协作中的关键因素<sup>[19]</sup>。凝血因子和血小板不仅作用于 As,同时也影响癌症的发生发展,血小板释放的生长因子可以促进肿瘤的生长和侵袭。同时,血小板可以促进癌细胞对内皮的黏附,从而促进癌细胞跨内皮的外渗和迁移<sup>[20]</sup>。

本研究通过网络药理学和分子对接技术相结合的方法,发现三棱-莪术药对的多个化合物成分主要通过抗炎来治疗 As。研究过程中发现的主要治疗靶点:AKT1、RELA、TNF 调控心肌细胞的生长、主动脉平滑肌细胞的增殖以及炎症反应等;C 型凝集素受体信号通路、癌症通路等多条通路参与凝血因子以及免疫应答的调控。证明了三棱-莪术药对可以从多方面、多角度治疗 As。现阶段对于三棱-莪术药对治疗 As 的通路研究并不全面,此次研究不仅佐证了前期对三棱-莪术药对治疗 As 的研究结论,同时探索出新的治疗 As 的靶点与相关通路,为后续的研究提供新的思路 and 方向。虽然网络药理学技术已逐渐走向成熟,但仍需要实验验证以确保其结果的可信性。同时,希望未来新兴学科在中医药事业的发展中起到有力的推动作用。

## [参考文献]

- [1] ZHOU M G, WANG H D, ZENG X Y, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990—2017: a systematic analysis for the global burden of disease study 2017 [J]. *Lancet*, 2019, 394 (10204): 1145-1158.
- [2] LIBBY P, BURING J E, BADIMON L, et al. Atherosclerosis[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1): 56.
- [3] VEBER D F, JOHNSON S R, CHENG H Y, et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates[J]. *J Med Chem*, 2002, 45(12): 2615-2623.
- [4] FRANCESCHINI A, SZKLARCZYK D, FRANKILD S, et al. STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(1): 808-815.
- [5] SHANNON P, MARKEIL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [6] SMEDLEY D, HAIDER S, BALLESTER B, et al. BioMart: biological queries made easy[J]. *BMC Genomics*, 2009, 10(22): 10-22.
- [7] SEELIGER D, DE GROOT B L. Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina[J]. *J Comput Aided Mol Des*, 2010, 24(5): 417-422.
- [8] ASGHARZADEH F, BARNEH F, FAKHRAIE M, et al. Metformin inhibits polyphosphate-induced hyper-permeability and inflammation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 99(1): 107937.
- [9] LI Y, DONG J, SHANG Y, et al. Anti-inflammatory effects of hederagenin on diabetic cardiomyopathy via inhibiting NF- $\kappa$ B and Smads signaling pathways in a type-2 diabetic mice model[J]. *RSC Adv*, 2019, 9(45): 26238-26247.
- [10] ROGELIO P P, GABRIELA F M, CELIA R L, et al. Evaluation of the anti-inflammatory capacity of beta-sitosterol in rodent assays[J]. *Afr J Tradit Complem*, 2017, 14(1): 123-130.
- [11] KETE A, JIE Y, KANG L, et al. Akt1/mTORC1 signaling modulates adaptive immune response of Nile tilapia by promoting lymphocyte activation and proliferation[J]. *Dev Comp Immunol*, 2021, 119: 104042.
- [12] REINARTZ M, RAUPACH A, KAISERS W, et al. AKT1 and AKT2 induce distinct phosphorylation patterns in HL-1 cardiac myocytes[J]. *J Proteome Res*, 2014, 13(10): 4232-4245.
- [13] LEI C J, YAO C, LI D K, et al. Effect of co-transfection of miR-520c-3p and miR-132 on proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma Huh7[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(9): 898-902.
- [14] WANG J Y, HU X Y, HU X X, et al. MicroRNA-520c-3p targeting of RelA/p65 suppresses atherosclerotic plaque formation[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2021, 131: 105873.
- [15] JIAO Y, ZHAO D D, GAO F H, et al. MicroRNA-520c-3p suppresses vascular endothelium dysfunction by targeting RELA and regulating the AKT and NF- $\kappa$ B signaling pathways[J]. *J Physiol Biochem*, 2021, 77(1): 47-61.
- [16] BRADLEY J R. TNF-mediated inflammatory disease[J]. *J Pathol*, 2008, 214(2): 149-160.
- [17] DROUIN M, SAENZ J, CHIFFOLEAU E. C-type lectin-like receptors: head or tail in cell death immunity[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 251.
- [18] JIANG S, AO D, NI J H, et al. The signaling relations between three adaptors of porcine C-type lectin receptor pathway[J]. *Dev Comp Immunol*, 2020, 104: 103555.
- [19] 杨新玲. 长非编码 RNAs 与癌症通路[J]. *生理科学进展*, 2017, 48(4): 309-314.
- YANG X L. Long noncoding RNAs and cancer pathways[J]. *Prog Physiol Sci*, 2017, 48(4): 309-314.
- [20] TAKEMOTO A, MIYATA K, FUJITA N. Platelet-activating factor podoplanin: from discovery to drug development[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2017, 36(2): 225-234.

(此文编辑 曾学清)