

基于网络药理学、分子对接及分子动力学模拟技术探讨苦鬼臼毒素抗动脉粥样硬化的作用机制

肖大保^{1,2,3}, 曾梦雅^{1,2}, 邓文艺³, 张卓^{1,2,3}, 肖鑫⁴, 冷旭^{1,2,3}, 刘珍³, 陈跃武^{1,2*}

1. 海南医科大学第二附属医院 心血管内科, 海南 海口 570311

2. 海南医科大学第二附属医院 海南省临床医学中心, 海南 海口 570311

3. 海南医科大学, 海南 海口 571199

4. 吉首大学 医学院, 湖南 吉首 416000

摘要: **目的** 探讨苦鬼臼毒素在动脉粥样硬化中的潜在作用靶点及分子机制。**方法** 采用 ADMETlab 3.0 对苦鬼臼毒素的吸收、分布、代谢、排泄及毒性特征进行评估。以苦鬼臼毒素与动脉粥样硬化交集靶点构建蛋白相互作用 (PPI) 网络, 并利用 CytoNCA 筛选 Hub 靶点。采用基因本体 (GO)、京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 及疾病本体 (DO) 富集分析解析功能特征。基于 GSE40231 数据进行差异分析, 并通过 ROC 曲线评估核心基因的诊断效能; 采用分子对接与分子动力学模拟验证靶点蛋白的结合稳定性。**结果** 苦鬼臼毒素在体内具备成药潜力。共获得 196 个与苦鬼臼毒素抗动脉粥样硬化相关的候选靶点, 最终确定 CDC42 为核心靶点。CDC42 在动脉粥样硬化病变组织中高表达, 其 AUC 为 0.893, 具有良好的诊断潜力。相关靶点主要参与血管内皮功能维持、炎症信号调控及细胞迁移过程, 重点涉及磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt)、c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 及血管内皮生长因子 (VEGF) 等关键信号通路。分子对接与分子动力学模拟支持苦鬼臼毒素与 CDC42 之间存在稳定的相互作用。**结论** 苦鬼臼毒素可能是具有抗动脉粥样硬化潜力的木脂素类化合物, 其作用及安全性尚需进一步实验验证。

关键词: 苦鬼臼毒素; 动脉粥样硬化; 分子对接; 分子动力学模拟; CDC42; 磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B; c-Jun 氨基末端激酶; 血管内皮生长因子

中图分类号: R285.5; R286.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2026)07-1939-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.07.010

Mechanism of (+)-picropodophyllotoxin against atherosclerosis based on network pharmacology, molecular docking and molecular dynamics simulation

XIAO Dabao^{1,2,3}, ZENG Mengya^{1,2}, DENG Wenyi³, ZHANG Zhuo^{1,2,3}, XIAO Xin⁴, LENG Xu^{1,2,3}, LIU Zhen³, CHEN Yuewu^{1,2}

1. Department of Cardiology, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570311, China

2. Hainan Provincial Clinical Medical Center, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570311, China

3. Hainan Medical University, Haikou 571199, China

4. School of Medicine, Jishou University, Jishou 416000, China

Abstract: **Objective** To investigate the potential target sites and molecular mechanisms of (+)-picropodophyllotoxin in atherosclerosis. **Methods** The absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity profiles of (+)-picropodophyllotoxin were evaluated using ADMETlab 3.0. PPIs were constructed with (+)-picropodophyllotoxin and atherosclerosis intersection targets, and Hub genes were screened using CytoNCA. GO, KEGG and DO enrichment analyses were used to resolve functional features. Differential analysis was performed based on GSE40231 data, and the diagnostic efficacy of the core genes was evaluated by ROC curves; molecular docking and molecular dynamics simulations were used to verify the binding stability of the target proteins. **Results** (+)-Picropodophyllotoxin have the potential to become drugs *in vivo*. A total of 196 (+)-picropodophyllotoxin were identified as anti-

收稿日期: 2026-02-02

基金项目: 国家自然科学基金地区项目 (82360063); 海南省普通高等学校研究生创新科研课题 (HYYB2024-S002)

作者简介: 肖大保, 男, 硕士, 研究方向为动脉粥样硬化。E-mail: 2479327457@qq.com

*通信作者: 陈跃武, 男, 博士, 主任医师, 博士生导师, 研究方向为动脉粥样硬化。E-mail: eyuewu@126.com

atherosclerosis targets, and CDC42 was identified as the core target, which was highly expressed in atherosclerosis lesions with an AUC of 0.893, and has good diagnostic potential. The target is mainly involved in the maintenance of vascular endothelial function, inflammatory signalling and cell migration, with a focus on key signalling pathways such as PI3K/Akt, JNK, and VEGF. Molecular docking and molecular dynamics simulations confirm the stable interaction between (+)-picropodophyllotoxin and CDC42. **Conclusion** (+)-Picropodophyllotoxin may be a lignan compound with potential anti-atherosclerotic activity, and its effects and safety require further experimental validation.

Key words: (+)-picropodophyllotoxin; atherosclerosis; molecular docking; molecular dynamics simulation; CDC42; PI3K/Akt; JNK; VEGF

心血管疾病和动脉粥样硬化是全球健康面临的重大挑战,对公共卫生造成了沉重负担^[1-2]。动脉粥样硬化的发生发展受到脂质代谢紊乱、血管内皮损伤、炎症反应、氧化应激及免疫调控等多因素影响,对人类健康构成严重威胁^[3-6]。现有药物如他汀类、PCSK9 抑制剂及抗血小板药物等在改善患者预后方面取得一定效果,但仍存在不良反应和疗效局限^[7-9]。在动脉粥样硬化防治过程中,木脂素类化合物通过减轻内皮炎症、抑制氧化低密度脂蛋白生成,协同调控血管稳态,展现出延缓动脉粥样硬化进展的潜力^[10-13]。近期研究显示,苦鬼臼毒素是一种天然来源的芳基四氢萜型木脂素^[14-17],具有抗炎、抗氧化的潜在治疗动脉粥样硬化特性^[18]。网络药理学能通过构建“药物-靶点-疾病”多维相互作用网络,系统评估药物潜在作用及机制^[19-22]。分子对接技术可以预测药物与靶蛋白的结合模式及亲和力^[23-25]。分子动力学模拟则用于分析蛋白质-配体复合物在水溶液中的动态稳定性及相互作用特征。基于此,本研究选取芳基四氢萜型木脂素苦鬼臼毒素作为研究对象。结合网络药理学、分子对接及分子动力学模拟技术,探讨其抗动脉粥样硬化的潜在作用靶点及分子机制。

1 材料与方法

1.1 ADMET 分析

从 PubChem 数据库获取了苦鬼臼毒素的 SMILES 结构,并使用 ADMETlab 3.0 版本对其进行 ADMET (吸收、分布、代谢、排泄和毒性)分析。该平台提供了全面的预测功能,能够评估苦鬼臼毒素在体内的吸收、肝脏代谢、P-糖蛋白 (P-gp) 外排泵底物潜力、细胞色素 P450 (CYP) 酶的抑制作用及其他与毒性相关的参数。

1.2 潜在靶点预测

从 PubChem 数据库获取了苦鬼臼毒素的二维结构式及 SMILES 编码,并将其导入 PharmMapper 数据库进行潜在靶点预测,物种限定为 homo sapiens,

其余参数均采用默认设置。以“atherosclerosis”为关键词,在 GeneCards、DrugBank、OMIM、TTD 数据库中系统检索动脉粥样硬化相关靶点,其中 GeneCards 数据库中相关性评分大于 1 的靶点被纳入后续分析。将获得的药物靶点与疾病靶点统一导入 UniProt 数据库进行标准化处理,去除重复及无效条目,获得用于后续网络分析的标准化靶点集。

1.3 蛋白相互作用网络 (PPI) 构建与枢纽基因 (Hub 基因) 筛选

将药物与疾病交集得到交集靶点导入 STRING 数据库。物种设置为 homo sapiens;最小交互置信度设置为 0.900 (highest confidence);然后导出 TSV 文件,将得到的 TSV 文件导入 Cytoscape v3.10.4,排除自由节点,并使用软件插件 (CytoNCA) 进行筛选。计算 6 项指标:度中心性、介数中心性、紧密中心性、特征向量中心性、局部平均连接度、网络中心性,并计算每个指标的中位数,保留在所有 6 项指标中均高于中位数的节点^[26]。

1.4 功能与通路富集分析

采用 R 语言 (v4.5.2) 中的 clusterProfiler 软件包对筛选的枢纽基因靶点进行基因本体 (GO) 功能富集分析,包括生物过程 (BP)、细胞组分 (CC) 和分子功能 (MF)^[27]。同时开展京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析,以揭示潜在的信号通路机制^[28]。此外,使用 DOSE 软件包对交集靶点进行疾病本体 (DO) 富集分析。统计学显著性阈值设定为 $P < 0.05$ ^[29]。

1.5 差异分析与受试者工作特征 (ROC) 曲线验证

从基因表达综合数据库 (GEO) 中获取 GSE40231 数据集,该数据集包含 40 例动脉粥样硬化病变动脉组织样本和 40 例正常对照动脉组织样本,平台为 GPL570,来源于人类动脉组织,具有较好的生物学可比性^[30]。采用 R 语言对原始表达数据进行标准化处理,并利用 limma 软件包进行差异表达分析,以 $|\log_2FC| > 0.585$ 且 $P < 0.05$ 作为筛选阈

值, 获得显著差异表达基因 (DEGs) [31]。通过将 DEGs 与 CytoNCA 分析筛选得到的枢纽基因取交集, 确定最终核心基因。基于 GSE40231 数据集中动脉粥样硬化组与对照组的表达数据, 对核心基因的表达水平进行可视化分析, 并构建 ROC 曲线, 通过计算曲线下面积 (AUC) 评估核心基因。

1.6 分子对接

为了验证筛选的核心靶点与苦鬼臼毒素之间的潜在相互作用, 采用分子对接方法评估其结合模式及亲和力。从 PubChem 数据库下载苦鬼臼毒素的二维结构并保存为 SDF 格式, 导入 ChemOffice 软件进行能量最小化处理后, 转换并导出为 MOL2 格式。从 PDB 数据库中搜索并下载受体 PDB 文件, 并导入 PyMOL 3.0 软件去除结晶水分子和小分子配体 [32]。利用 AutoDockTools 1.5.7 对配体和受体进行加氢、赋予电荷及格式转换, 并统一导出为 PDBQT 文件, 同时根据蛋白结构大小设置合适的对接网格框 [33]。采用 AutoDock Vina 软件对苦鬼臼毒素与核心靶点进行盲对接, 穷尽性参数设定为 20, 能量范围设定为 5, 共生成 20 种对接构象 [34]。最终, 选取结合能最低的蛋白 - 配体复合物构象, 分别使用 LigPlot v.2.3.1 和 PyMOL 3.0 软件对其关键结合残基、氢键作用、疏水相互作用及其他重要相互作用进行可视化分析 [35]。

1.7 分子动力学模拟

为进一步评估蛋白 - 配体复合物相互作用的动态稳定性并验证分子对接结果的可靠性, 采用 GROMACS 2024 软件对筛选得到的蛋白 - 配体复合物进行分子动力学模拟 [36]。在模拟开始前, 使用 Sobotop 1.0 (<http://sobereva.com/soft/Sobtop>) 生成小分子配体的拓扑文件, 并利用 GROMACS 内置工具对蛋白质结构进行处理并构建相应拓扑文件 [37]。模拟过程中选用 CHARMM36 力场, 溶剂模型采用 SPC 水模型, 并在体系外围构建周期性边界条件。体系在加入适量离子以维持电中性后, 于常温常压 (300 K, 1 atm) 条件下进行模拟, 总模拟时间为 100 ns。能量最小化阶段采用最速下降法和共轭梯度法, 随后进行能量平衡以稳定系统, 完成分子动力学模拟 [38]。为系统评估蛋白 - 配体复合物的结构稳定性与构象变化, 分别利用 $gmx\ rms$ 、 $gmx\ rmsf$ 、 $gmx\ gyrate$ 和 $gmx\ sasa$ 计算体系的均方根偏差 (RMSD)、均方根波动 (RMSF)、回转半径 (Rg) 以及溶剂可及表面积 (SASA); 通过 $gmx\ hbond$ 分析模拟过程

中蛋白 - 配体之间的氢键数量变化 [39]。此外, 提取并整合 RMSD 与 Rg 数据, 确保各时间点参数一一对应, 并基于 GROMACS 中的 $gmx\ sham$ 命令构建自由能形貌图, 以进一步刻画复合物在构象空间中的稳定性分布特征 [40]。

1.8 统计学分析

数据通过 R 软件进行了统计分析。在正态分布组间的比较中使用了两样本 t 检验; 否则则采用 Wilcoxon 秩和检验。所有统计结果均通过 R 软件可视化 and 处理。

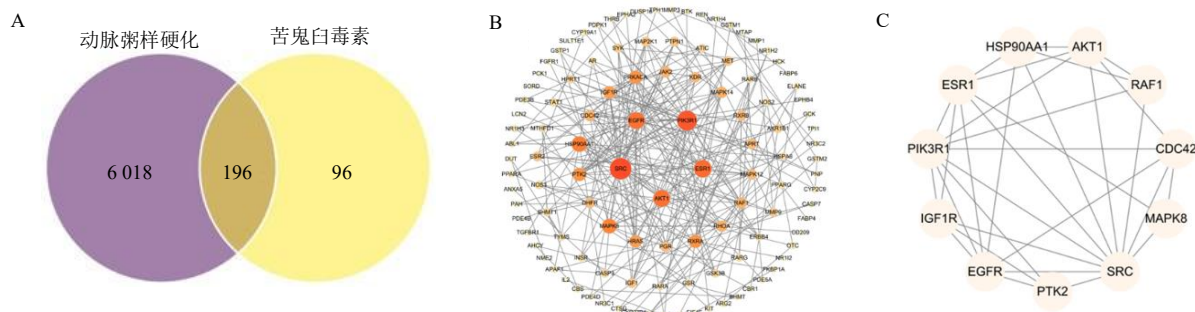
2 结果

2.1 苦鬼臼毒素的 ADMET 分析

ADMETlab 3.0 预测显示, 苦鬼臼毒素在吸收、分布、代谢及排泄方面总体具有良好药动学特征。吸收端, Caco-2 通透性为 -4.944, MDCK 为 0.0, 且 P-gp 底物和抑制风险均低, 提示跨膜转运良好且外排泵影响较小。血浆蛋白结合率高 (PPB 95.4%, F_u 3.9%), 表观分布容积适中 (VD_{ss} 0.55), 预测具有较高血脑屏障通透潜力 (BBB + + +)。转运体预测显示其可能对 OATP1B1/OATP1B3、MRP1、BSEP 存在一定抑制倾向。代谢方面, 苦鬼臼毒素可能与多种 CYP450 酶相互作用, 尤其是 CYP3A4 (底物与抑制剂均为 + + +)、CYP2C9、CYP2B6、CYP2C19。排泄预测显示, 血浆清除率和半衰期分别为 3.559 和 2.937, 均处于合理范围。安全性预测提示其心脏风险总体较低 (hERG 阻断值 0.231), 但仍需关注离子通道影响 ($10\ \mu\text{mol/L}$ 时 0.628); 同时存在肝肾毒性、遗传毒性及潜在致癌风险 (DILI 0.971、人肝毒性 0.781、药物性肾毒性 0.928、遗传毒性 0.937、致癌性 0.776), 并显示一定细胞毒性和皮肤致敏风险。总体而言, 苦鬼臼毒素具有可接受的体内暴露潜力, 为其作为抗动脉粥样硬化候选活性成分提供药动学支持, 但后续仍需结合机制实验对安全性及 CYP/转运体相互作用进行系统验证。

2.2 潜在作用靶点的获取与 Hub 基因的鉴定

从 PubChem 数据库获取苦鬼臼毒素 SMILES 编码 (CID: 443013), 通过 PharmMapper 数据库预测得到 292 个潜在靶点。同时从 GeneCards、DrugBank、OMIM、TTD 数据库检索动脉粥样硬化相关靶点, 共获得 6 214 个潜在靶点。将苦鬼臼毒素靶点与动脉粥样硬化靶点取交集, 见图 1A。得到 196 个可能参与苦鬼臼毒素抗动脉粥样硬化的交集靶点。利用 STRING 数据库构建 PPI, 并在 Cytoscape



A-苦鬼白毒素相关动脉粥样硬化靶点韦恩图, B-PPI 网络图, C-枢纽靶点网络图。
A-Venn diagram of (+)-picropodophyllotoxin-related atherosclerosis targets, B-PPI network diagram, C-Hub target network diagram.

图 1 Hub 基因的鉴定
Fig. 1 Identification of Hub genes

表 1 枢纽靶点的指标

Table 1 Metrics of Hub genes

靶点	度中心性	介数中心性	紧密中心性	特征向量中心性	局部平均连接度	网络中心性
SRC	20	133.553 00	0.434 783	0.365 63	6.000 00	15.380 30
ESR1	16	72.446 32	0.410 959	0.296 46	5.125 00	11.003 10
Akt1	14	117.070 10	0.400 000	0.238 60	3.428 57	7.410 26
EGFR	14	45.492 21	0.394 737	0.270 14	4.714 29	8.468 35
PIK3R1	13	38.197 12	0.394 737	0.269 56	4.923 08	7.716 27
HSP90AA1	11	54.344 20	0.384 615	0.200 08	3.090 91	5.236 90
MAPK8	11	25.483 23	0.375 000	0.201 61	3.818 18	5.904 76
PTK2	10	23.016 52	0.370 370	0.208 80	3.400 00	4.126 98
IGF1R	10	17.171 32	0.370 370	0.212 54	4.600 00	6.059 52
RAF1	9	19.419 29	0.375 000	0.176 96	3.555 56	4.732 14
CDC42	9	12.843 28	0.375 000	0.197 90	3.555 56	4.178 57

中进行可视化(图 1B),网络包含 141 个节点和 297 条边,平均节点度为 4.21,平均聚类系数为 0.411,节点大小和颜色根据度(degree)值变化。随后使用 CytoNCA 插件进行 2 轮中位数筛选,显著提升网络的功能密度,最终鉴定出 11 个 Hub 靶点(图 1C、表 1),这些靶点可能在苦鬼白毒素抗动脉粥样硬化的作用机制中发挥核心调控作用。

2.3 功能富集分析

以 11 个 Hub 靶点作为候选靶点的 GO 功能富集分析(图 2A)显示,在 BP 层面,靶点主要富集于磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(Akt)信号、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)及蛋白磷酸化等通路。CC 分析显示,靶点主要定位于膜外侧组分、黏附斑、细胞-基底膜连接及细胞前缘。MF 分析显示,靶点以跨膜受体酪氨酸激酶活性、蛋白丝/苏氨酸激酶活性及胰岛素受体结合为主,同时富集于激素结合和蛋白磷酸酶结合功能。KEGG 通路富集(图 2B)显示,靶点显著富集于黏附斑信号通路、血管内皮生长因子(VEGF)信号通路、ErbB 信号

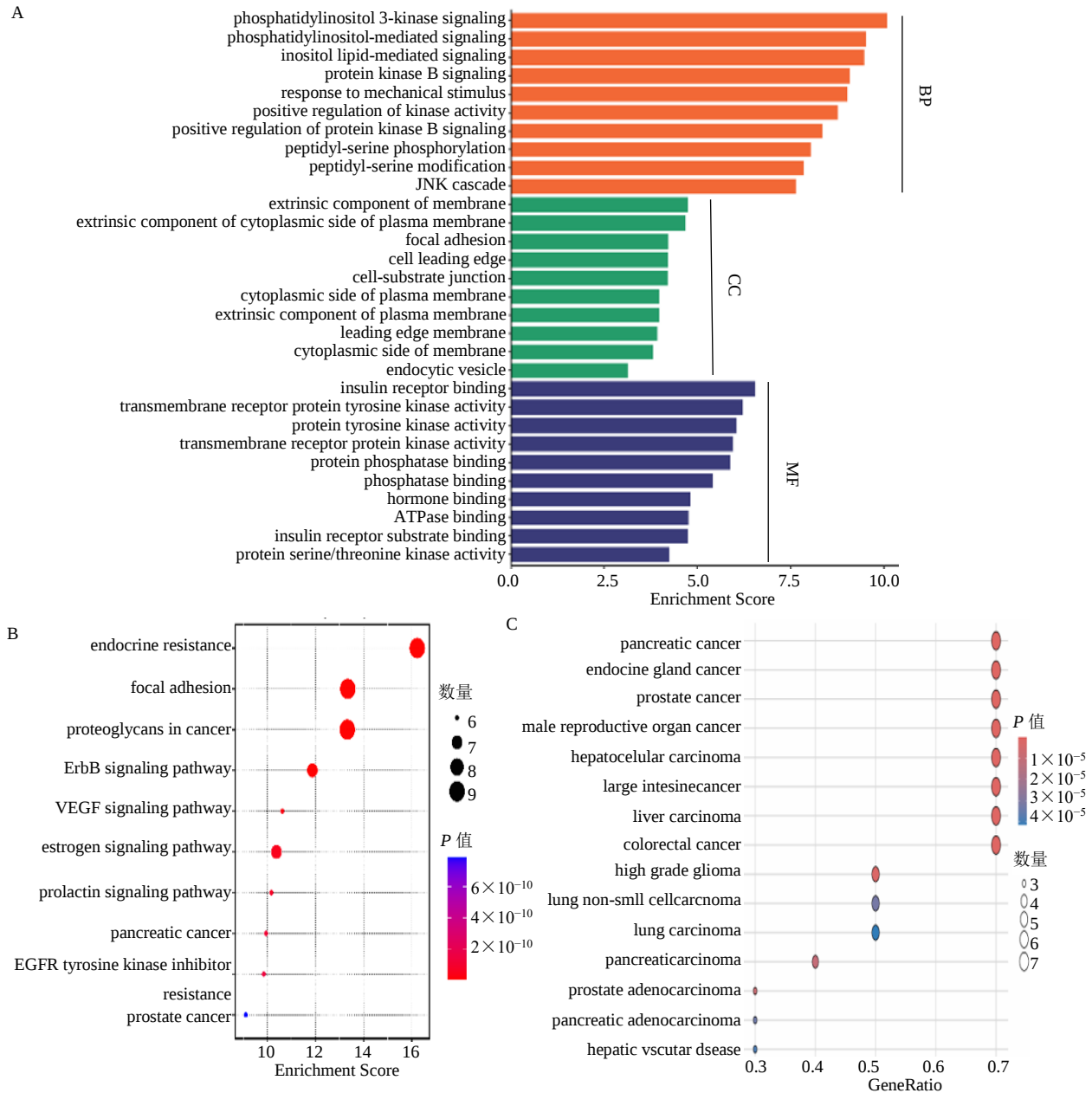
通路、内分泌耐药信号通路以及雌激素信号通路。DO 富集分析(图 2C)显示,靶点涉及肝血管疾病等血管相关病理,并富集于多种实体瘤及内分泌疾病条目。综上,功能与通路富集分析表明,苦鬼白毒素可能通过多靶点、多通路协同调控血管内皮功能、炎症反应及细胞迁移,重点作用于 PI3K/Akt 信号、JNK 级联、黏附斑及 VEGF 信号等关键信号网络,从而发挥抗动脉粥样硬化的潜在作用。

2.4 差异分析

对 GSE40231 转录组数据集进行预处理及批量效应校正后,对照组与动脉粥样硬化组样品分布如图 3A 所示,基因表达水平总体可比。差异表达热图(图 3B)显示两组样本聚类明显分离,部分基因在动脉粥样硬化组中显著上调或下调。火山图(图 3C)进一步验证了差异表达的显著性,共鉴定出 377 个 DEGs,为后续核心基因筛选分析提供基础。

2.5 核心基因鉴定与诊断效果检验

通过将 PPI 网络筛选的 Hub 靶点与 GSE40231 数据集鉴定的 DEGs 进行交集分析,最终确定



A-GO 功能富集分析结果, B-KEGG-通路富集分析结果, C-DO 功能富集分析结果。

A-GO functional enrichment analysis results, B-KEGG pathway enrichment analysis results, C-DO functional enrichment analysis results.

图 2 功能富集分析

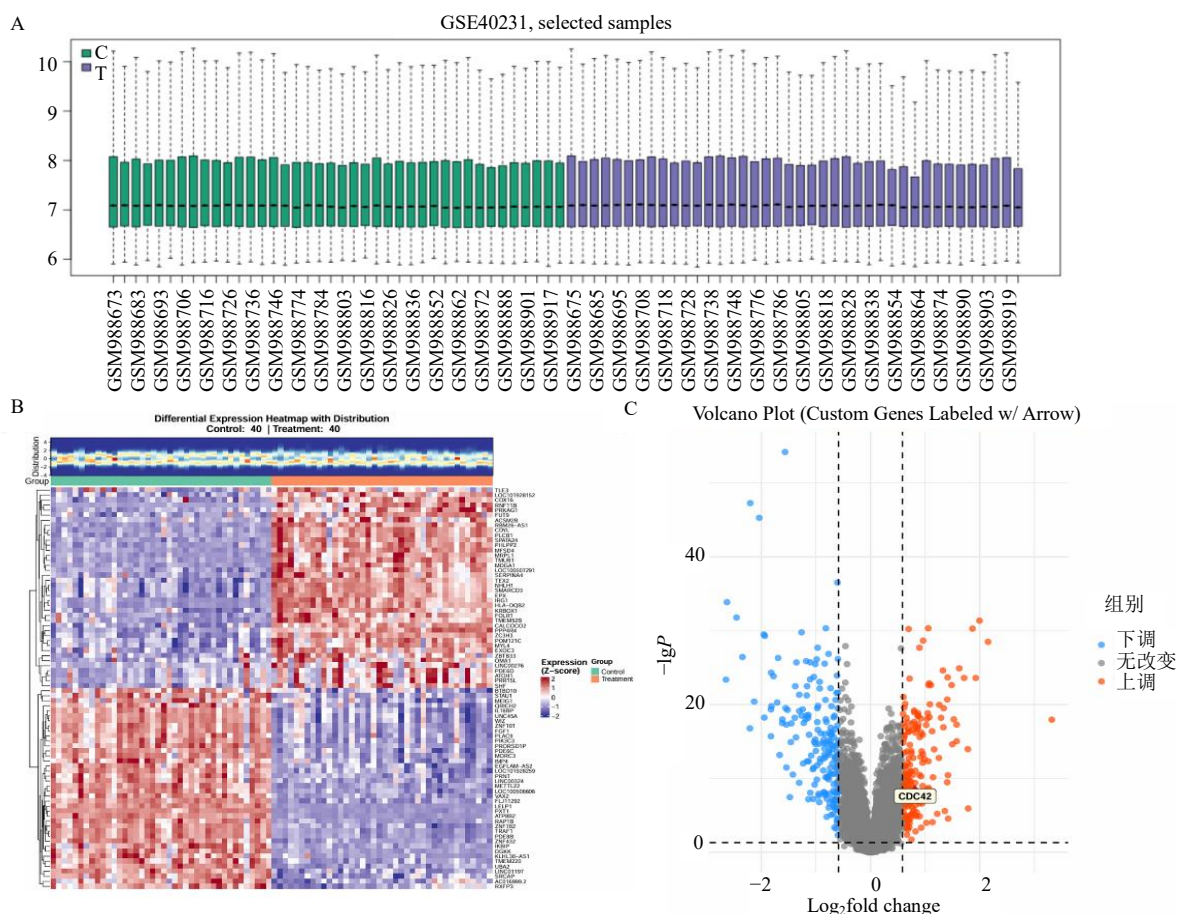
Fig. 2 Functional enrichment analysis

CDC42 为核心基因 (图 4A)。GSE40231 数据集分析显示, CDC42 在动脉粥样硬化病变组织中显著上调, 相较于对照组差异明显 (图 4B), 进一步支持其作为潜在生物标志物的重要性。为评估其在动脉粥样硬化中的核心作用及诊断价值, 构建 ROC 曲线并计算 AUC (图 4C)。结果显示, CDC42 的 AUC 值为 0.893 (95% CI: 0.809~0.959), 提示其能够有效区分动脉粥样硬化病变组织与正常组织, 具有较

高的诊断潜力。

2.6 分子对接验证

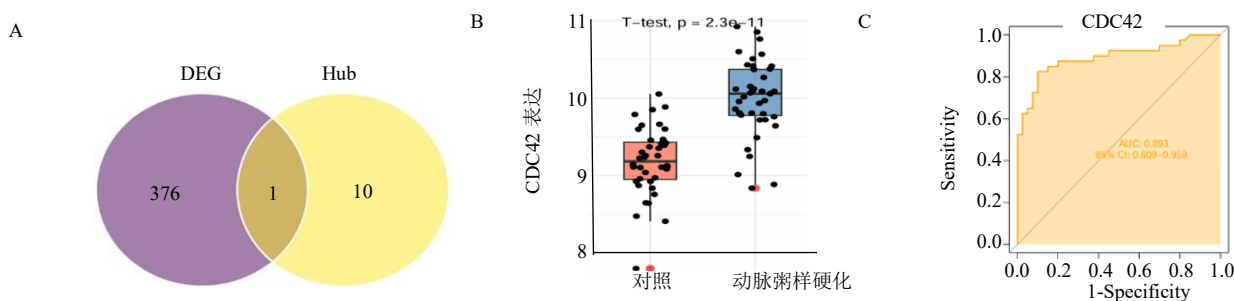
为了验证苦鬼臼毒素与 CDC42 靶点结合稳定性, 使用 AutoDock Vina 对苦鬼臼毒素与核心靶点 CDC42 进行分子对接。对接结果显示, 苦鬼臼毒素与 CDC42 的最低结合能为 -7.7 kcal/mol ($1 \text{ cal} = 4.2 \text{ J}$), 提示其结合较稳定。其中结合能 $< -5.0 \text{ kcal/mol}$ 则表示潜在结合, $< -7.0 \text{ kcal/mol}$ 表示强结合。结



A-数据集的样本分布, B-基因相对表达水平热图, C-基因分布火山图。
A-sample distribution of the dataset, B-heatmap of relative gene expression levels, C-volcano plot of gene distribution.

图 3 差异分析

Fig. 3 Analysis of variances



A-Hub 与 DEG 交集韦恩图, B-动脉粥样硬化病变组织和健康对照组的 CDC42 表达, C-CDC42 的 ROC 曲线评估。

A-Venn diagram representing the intersection of Hub and DEG, B-the expression of CDC42 in atherosclerotic lesion tissues and the healthy control group, C-the ROC curve evaluation of CDC42.

图 4 核心基因确定及诊断效果检验

Fig. 4 Core gene identification and diagnostic effectiveness verification

合能最低的蛋白 - 配体构象经 PyMOL 与 LigPlot 软件分析后显示 (图 5), 苦鬼臼毒素通过与 Asp38 (0.273 nm) 形成氢键, 与 Asp57(A)、Leu20(A)、

Tyr32(A)、Val33(A)、Ile21(A)、Pro34(A)、Asn39(A)、Leu55(A)、Tyr40(A)、Thr17(A)发生疏水相互作用, 从而实现稳定结合。这表明苦鬼臼毒素可能通过直

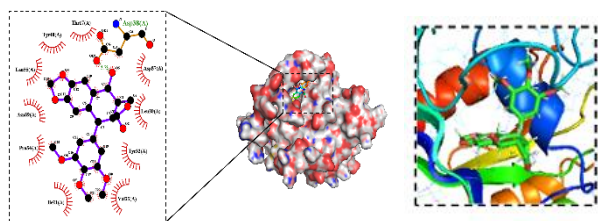
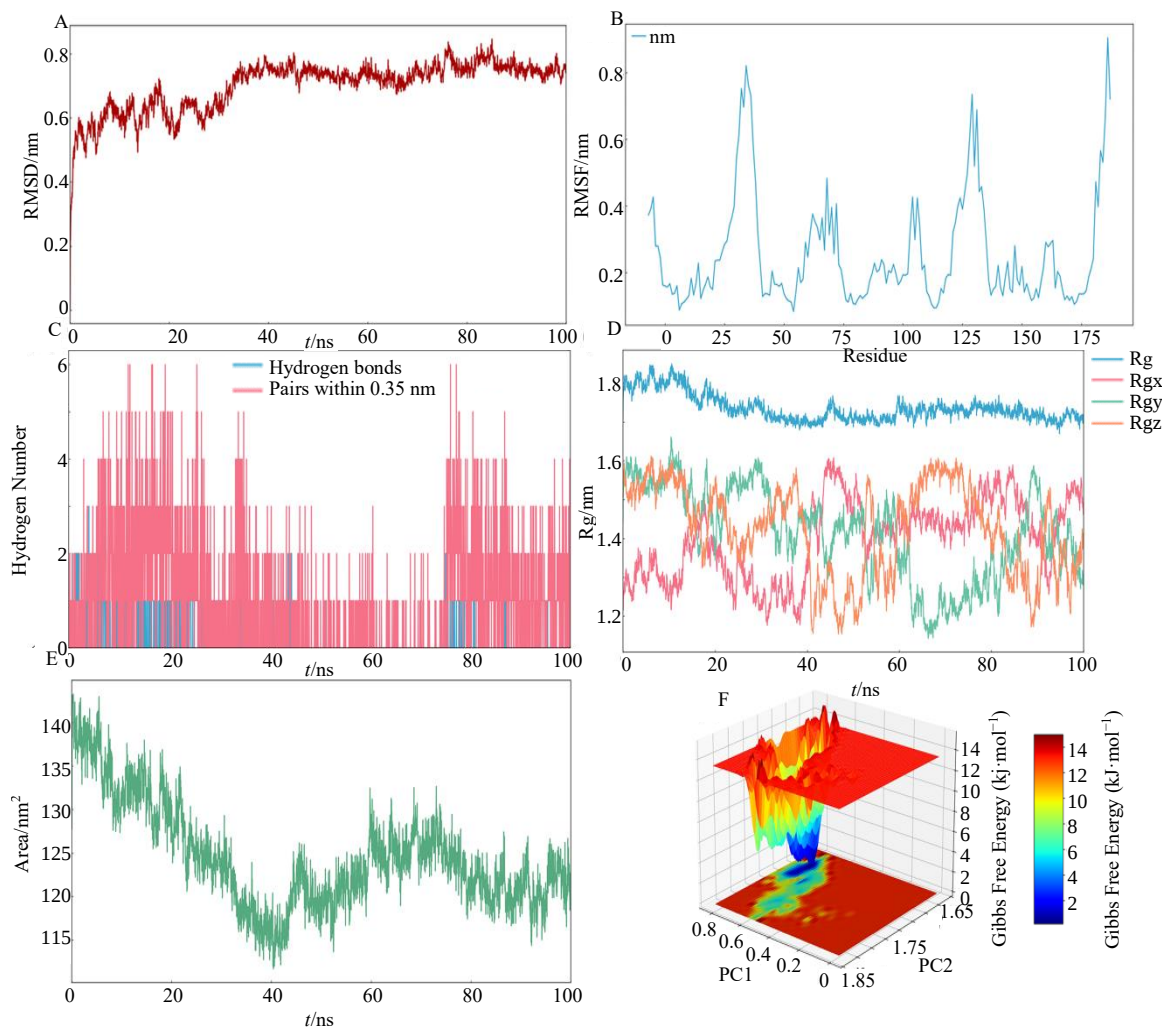


图 5 分子对接图

Fig. 5 Molecular docking diagram



A-RMSD, B-RMSF, C-Rg, D-模拟周期内氢键的数量, E-SASA, F-吉布斯自由能景观图。

A-RMSD, B-RMSF, C-Rg, D-the number of hydrogen bonds within the simulation period, E-SASA, F-Gibbs free energy landscape diagram.

图 6 分子动力学模拟结果图

Fig. 6 Molecular dynamics simulation results

有波动后迅速趋于稳定, 平均 RMSD 为 (0.786 ± 0.079) nm (图 6A), 提示苦鬼白毒素与 CDC42 的结合在生理环境下较为稳定^[43]。RMSF 分析显示, 复合物各残基的波动幅度较小, 整体结构保持良好稳定性 (图 6B)。Rg 分析结果为 (1.735 ± 0.034) nm (图 6C), 表明复合物结构在模拟过程中保持紧凑状态。氢键分析显示复合物形成了稳定的氢键网

络 (图 6D)。SASA 分析显示蛋白表面暴露面积平均 (124.43 ± 5.94) nm² (图 6E), 进一步反映其整体稳定性^[44]。吉布斯自由能景观分析显示, 当 Rg 介于 1.68~1.73 nm, RMSD 介于 0.68~0.78 nm 时, 复合物构象处于最低自由能状态 (图 6F), 进一步验证了其结合的稳定性^[45]。综上, 分子动力学模拟结果表明, 苦鬼白毒素可与 CDC42 形成稳定相互作用。

2.7 分子动力学模拟

为了进一步验证苦鬼白毒素与 CDC42 的结合稳定性, 对其复合物进行了 100 ns 的分子动力学模拟 (图 6)^[41-42]。RMSD 用于评估复合物在模拟过程中的整体结构稳定性, 结果显示复合物在初期略

3 讨论

近年来,木脂素类化合物因其抗氧化、抗炎、抗血脂等多种生物活性以及在治疗动脉粥样硬化中的重要作用而受到越来越多的关注。研究表明,木脂素类化合物存在多种机制有效调节动脉粥样硬化的发生和进展,尤其在抗氧化和抗炎方面表现出显著潜力^[46]。如木脂素通过激活 Nrf2 信号通路,增强抗氧化酶的表达,减少自由基的产生,减轻氧化应激对血管的损伤^[47]。此外,膳食木脂素还被发现能够降低总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇水平,同时提高高密度脂蛋白胆固醇水平,从而改善血脂谱,降低动脉粥样硬化的风险^[48]。本研究基于网络药理学、转录组差异分析、分子对接及分子动力学模拟,系统探讨了苦鬼臼毒素抗动脉粥样硬化的潜在分子机制。

3.1 苦鬼臼毒素作为抗动脉粥样硬化候选化合物的药代学基础

ADMET 分析结果显示,苦鬼臼毒素在吸收与排泄方面整体表现较为有利,提示其具有一定体内暴露潜力,为发挥生物学效应提供了基础。其跨膜通透性及 P-gp 外排风险较低,表明苦鬼臼毒素不易受到外排泵限制,有利于在血管组织中发挥作用。同时预测结果显示苦鬼臼毒素与多种 CYP450 同工酶及转运体存在潜在互作,且在肝肾毒性及遗传毒性方面存在一定风险提示。这一结果提示,苦鬼臼毒素更可能作为天然先导化合物,而非直接作为高剂量单药应用,其安全性与联用风险需通过体内实验进一步验证。

3.2 网络药理学揭示苦鬼臼毒素通过多靶点协同调控动脉粥样硬化关键病理过程

通过 PharmMapper 预测及多数据库整合,本研究共获得 196 个苦鬼臼毒素相关动脉粥样硬化交集靶点,提示苦鬼臼毒素可能通过多靶点协同发挥作用。PPI 网络分析进一步筛选出多个在网络中处于关键地位的枢纽基因,反映其在信号传导网络中的核心调控作用。这一结果符合动脉粥样硬化作为多因素、多通路疾病的病理特征。

3.3 功能与通路富集分析指向内皮功能、炎症与细胞迁移调控

功能富集分析从系统层面揭示了苦鬼臼毒素潜在靶点在动脉粥样硬化关键病理过程中的作用特征。GO 生物过程分析显示,候选靶点富集于 PI3K/Akt 信号、JNK 级联、蛋白磷酸化等通路。

PI3K/Akt 通路在维持血管内皮细胞存活、抑制凋亡及调控炎症中具有核心作用,而 JNK 信号则与炎症放大、内皮损伤及平滑肌细胞迁移密切相关^[49-52]。这些结果提示,苦鬼臼毒素可能通过协同调控多条炎症与应激相关信号轴,干预以内皮功能障碍为特征的动脉粥样硬化早期病理进程。在细胞组分层面,靶点主要定位于膜外侧组分、黏附斑、细胞-基质连接及细胞前缘等关键结构,这些区域是内皮细胞感知力学刺激、调控细胞黏附与迁移以及血管重塑的重要功能单元,进一步支持苦鬼臼毒素参与调节细胞迁移与黏附相关过程。

在分子功能层面,候选靶点主要涉及跨膜受体酪氨酸激酶活性、丝/苏氨酸激酶活性以及激素和蛋白磷酸酶结合功能,提示苦鬼臼毒素可能通过受体介导的信号转导网络,调控炎症、代谢及内分泌信号之间的交叉作用。KEGG 通路分析显示,靶点显著富集于黏附斑信号通路、VEGF 信号通路、ErbB 信号通路、内分泌耐药信号通路以及雌激素信号通路,这些通路在血管新生、内皮修复、细胞迁移及炎症调控中发挥重要作用,与动脉粥样硬化的发生发展高度一致^[43-56]。DO 富集分析中涉及的血管相关疾病条目,进一步从疾病层面支持了苦鬼臼毒素通过多靶点、多通路协同调控血管内皮功能和炎症反应,发挥潜在抗动脉粥样硬化作用的整体机制。

3.4 CDC42 是连接苦鬼臼毒素作用与动脉粥样硬化病理过程的关键节点

通过将 PPI 网络枢纽基因与转录组差异表达基因进行交集分析,本研究最终确定 CDC42 为核心基因。CDC42 属于 Rho GTP 酶家族,在调控细胞骨架重塑、细胞极性、迁移及内皮屏障功能中发挥重要作用^[57-60]。既往研究表明,CDC42 参与内皮细胞炎症激活、血管通透性改变及平滑肌细胞迁移,是动脉粥样硬化发生发展的关键分子之一^[61-64]。此外,ROC 曲线分析显示,CDC42 具有较高的诊断效能,且在动脉粥样硬化病变组织中显著上调,进一步支持其在动脉粥样硬化中的病理学意义。

3.5 分子对接与分子动力学模拟验证苦鬼臼毒素与 CDC42 作用的稳定性

分子对接结果显示,苦鬼臼毒素可与 CDC42 稳定结合,结合能达到 -7.7 kcal/mol,属于强结合范畴。相互作用分析表明,苦鬼臼毒素通过氢键及多重疏水相互作用稳定嵌入 CDC42 活性口袋,为其调控 CDC42 功能提供了结构基础。进一步的分子

动力学模拟结果显示,苦鬼臼毒素 - CDC42 复合物在 100 ns 模拟过程中保持良好稳定性, RMSD、RMSF、Rg、S 动脉粥样硬化 A 及自由能景观分析均支持其构象稳定。这些结果从动力学层面增强了分子对接预测的可靠性,提示苦鬼臼毒素可能通过直接调控 CDC42 的构象与活性,影响下游与细胞迁移和炎症相关的信号通路。

综上,本研究基于网络药理学、转录组分析及分子模拟手段,系统阐明了苦鬼臼毒素在动脉粥样硬化中的潜在作用机制。通过靶点预测与差异分析的交叉验证,明确 CDC42 为关键核心靶点,并证实其在动脉粥样硬化病变组织中的异常高表达及良好的诊断效能。功能与通路富集分析显示,苦鬼臼毒素作用靶点高度聚焦于血管内皮功能维持、炎症信号调控及细胞迁移相关网络,涉及 PI3K/Akt、JNK 及 VEGF 等经典信号通路。分子对接与分子动力学模拟进一步验证了苦鬼臼毒素与 CDC42 之间稳定而特异的相互作用,为网络预测结果提供了结构层面的支持。总体而言,本研究从系统生物学与分子机制层面揭示了苦鬼臼毒素通过多靶点、多通路协同调控动脉粥样硬化关键病理过程的潜在机制,为其作为抗动脉粥样硬化候选天然活性成分进一步实验验证与药物开发提供了理论依据,但其实际应用及安全性仍需通过体外和体内实验进一步验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Chong B, Jayabaskaran J, Jauhari S M, *et al.* Global burden of cardiovascular diseases: Projections from 2025 to 2050 [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2025, 32(11): 1001-1015.
- [2] Nielsen R V, Fuster V, Bundgaard H, *et al.* Personalized intervention based on early detection of atherosclerosis: JACC state-of-the-art review [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2024, 83(21): 2112-2127.
- [3] Libby P. The changing landscape of atherosclerosis [J]. *Nature*, 2021, 592(7855): 524-533.
- [4] Ait-Oufella H, Libby P. Inflammation and atherosclerosis: Prospects for clinical trials [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2024, 44(9): 1899-1905.
- [5] Xing Y M, Lin X. H Challenges and advances in the management of inflammation in atherosclerosis [J]. *J Adv Res*, 2025, 71: 317-335.
- [6] Certo M, Rahimzadeh M, Mauro C. Immunometabolism in atherosclerosis: A new understanding of an old disease [J]. *Trends Biochem Sci*, 2024, 49(9): 791-803.
- [7] Ruscica M, Ferri N, Banach M, *et al.* Side effects of statins: From pathophysiology and epidemiology to diagnostic and therapeutic implications [J]. *Cardiovasc Res*, 2023, 118(17): 3288-3304.
- [8] Li Y, Jiang H Y, Xiong Y J, *et al.* PCSK9 inhibitor failure in a statin-intolerant FH patient with a novel LDLR variant: A case report [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2025, 12: 1644145.
- [9] Schaefer J K, Errickson J, Li Y, *et al.* Adverse events associated with the addition of aspirin to direct oral anticoagulant therapy without a clear indication [J]. *JAMA Intern Med*, 2021, 181(6): 817-824.
- [10] Nakamura Y, Okumura H, Ono Y, *et al.* Sesame lignans reduce LDL oxidative susceptibility by downregulating the platelet-activating factor acetylhydrolase [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(4): 2151-2161.
- [11] Li D, Luo F J, Guo T Y, *et al.* Targeting NF- κ B pathway by dietary lignans in inflammation: Expanding roles of gut microbiota and metabolites [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2023, 63(22): 5967-5983.
- [12] Jia M P, Li Q H, Guo J Y, *et al.* Deletion of BACH1 attenuates atherosclerosis by reducing endothelial inflammation [J]. *Circ Res*, 2022, 130(7): 1038-1055.
- [13] Katare C, Saxena S. Evaluation of flaxseed formulation as a potential therapeutic agent in mitigation of dyslipidemia [J]. *Biomed J*, 2014, 37(6): 386-390.
- [14] Udino L, Abaul J, Bourgeois P, *et al.* Lignans from the seeds of *hernandia Sonora* [J]. *Planta Med*, 1999, 65(3): 279-281.
- [15] Zhao C, Huang J, Nagatsu A, *et al.* Two new podophyllotoxin glucosides from *sinopodophyllum emodi* (WALL.) YING [J]. *Chemi Pharm Bull*, 2001, 49(6): 773-775.
- [16] Jeong G S, Kwon O K, Park B Y, *et al.* Lignans and coumarins from the roots of *anthriscus sylvestris* and their increase of caspase-3 activity in HL-60 cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30(7): 1341-1343.
- [17] Zhou J, He X, Sun R, *et al.* Lignans from *Bupleurum marginatum* and their antioxidant activity [J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36(19): 5016-5021.
- [18] Han G, Kim G E, Bae J S. Picropodophyllotoxin mitigates severe inflammation through HMGB1 inhibition [J]. *Biomolecules*, 2026, 16(5): PP 638-638.
- [19] Zhao L, Zhang H, Li N, *et al.* Network pharmacology, a promising approach to reveal the pharmacology mechanism of chinese medicine formula [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 309: 116306.
- [20] Nogales C, Mamdouh Z M, List M, *et al.* Network

- pharmacology: curing causal mechanisms instead of treating symptoms [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(2): 136-150.
- [21] 苏燃, 陈一镠, 易楚, 等. 整合数据挖掘、网络药理学、分子对接和分子动力学模拟探索延胡索用药规律与机制 [J]. *中草药*, 2025, 56(14): 5135-5150.
- [22] 田书青, 王晓婷, 裴琳秀, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨知母盐制后治疗糖尿病认知障碍的增效机制 [J]. *中草药*, 2025, 56(5): 1640-1651.
- [23] Ślédz P, Caflisch A. Protein structure-based drug design: From docking to molecular dynamics [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2018, 48: 93-102.
- [24] Agu P C, Afiukwa C A, Orji O U, *et al.* Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 13398.
- [25] Crampon K, Giorkallos A, Deldossi M, *et al.* Machine-learning methods for ligand–protein molecular docking [J]. *Drug Discov Today*, 2022, 27(1): 151-164.
- [26] Tang Y, Li M, Wang J X, *et al.* CytoNCA: A cytoscape plugin for centrality analysis and evaluation of protein interaction networks [J]. *Biosystems*, 2015, 127: 67-72.
- [27] Yu G C, Wang L G, Han Y Y, *et al.* clusterProfiler: An R package for comparing biological themes among gene clusters [J]. *OMICS*, 2012, 16(5):284-287.
- [28] Kanehisa M, Goto S. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(1): 27-30.
- [29] Yu G C, Wang L G, Yan G R, *et al.* DOSE: An R/ bioconductor package for disease ontology semantic and enrichment analysis [J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(4): 608-609.
- [30] Edgar R, Domrachev M, Lash A E. Gene expression omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository [J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(1): 207-210.
- [31] Ritchie M E, Phipson B, Wu D, *et al.* Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(7): e47.
- [32] 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.
- [33] Eberhardt J, Santos-Martins D, Tillack A F, *et al.* AutoDock vina 1.2.0: New docking methods, expanded force field, and python bindings [J]. *J Chem Inf Model*, 2021, 61(8): 3891-3898.
- [34] Valdés-Tresanco M S, Valdés-Tresanco M E, Valiente P A, *et al.* AMDock: A versatile graphical tool for assisting molecular docking with autodock vina and Autodock4 [J]. *Biol Direct*, 2020, 15(1): 12.
- [35] Laskowski R A, Swindells M B. LigPlot+: Multiple ligand–protein interaction diagrams for drug discovery [J]. *J Chem Inf Model*, 2011, 51(10): 2778-2786.
- [36] Kutzner C, Knip C, Cherian A, *et al.* GROMACS in the cloud: A global supercomputer to speed up alchemical drug design [J]. *J Chem Inf Model*, 2022, 62(7): 1691-1711.
- [37] Hathout R M, Abdelhamid S G, El-Housseiny G S, *et al.* Comparing cefotaxime and ceftriaxone in combating meningitis through nose-to-brain delivery using bio/chemoinformatics tools [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 21250.
- [38] Krämer A, Pickard F C, Huang J, *et al.* Interactions of water and alkanes: Modifying additive force fields to account for polarization effects [J]. *J Chem Theory Comput*, 2019, 15(6): 3854-3867.
- [39] Chen G H, Niu X L, Chen Y, *et al.* Estrogenic disruption effects and formation mechanisms of transformation products during photolysis of preservative parabens [J]. *Sci Total Environ*, 2024, 924: 171608.
- [40] Castro Anaya L E, Gómez S Y, Orozco G A. Comprehensive automated routine implementation, validation, and benchmark of the anisotropic force field (AUA4) using python and GROMACS [J]. *J Phys Chem A*, 2023, 127(6): 1555-1563.
- [41] Macchiagodena M, Karrenbrock M, Pagliai M, *et al.* Virtual double-system single-box for absolute dissociation free energy calculations in GROMACS [J]. *J Chem Inf Model*, 2021, 61(11): 5320-5326.
- [42] Liu Y, Frank A T. Using selectively scaled molecular dynamics simulations to assess ligand poses in RNA aptamers [J]. *J Chem Theory Comput*, 2022, 18(9): 5703-5709.
- [43] Sarker P, Mitro A, Hoque H, *et al.* Identification of potential novel therapeutic drug target against elizabethkingia anophelis by integrative pan and subtractive genomic analysis: An in silico approach [J]. *Comput Biol Med*, 2023, 165: 107436.
- [44] Rollins Z A, Faller R, George S C. Using molecular dynamics simulations to interrogate T cell receptor non-equilibrium kinetics [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2022, 20: 2124-2133.
- [45] Wang Y F, Jia S J, Wang F, *et al.* 3D-QSAR, scaffold hopping, virtual screening, and molecular dynamics simulations of pyridin-2-one as mIDH1 inhibitors [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(13): 7434.
- [46] Spilioti E, Holmbom B, Papavassiliou A G, *et al.* Lignans

- 7-hydroxymatairesinol and 7-hydroxymatairesinol 2 exhibit anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2014, 58(4): 749-759.
- [47] Hassanein E H M, Althagafy H S, Baraka M A, *et al.* The promising antioxidant effects of lignans: Nrf2 activation comes into view [J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2024, 397(9): 6439-6458.
- [48] Peterson J, Dwyer J, Adlercreutz H, *et al.* Dietary lignans: Physiology and potential for cardiovascular disease risk reduction [J]. *Nutr Rev*, 2010, 68(10): 571-603.
- [49] Cui S Y, Wu H L, He Q, *et al.* Fucoxanthin alleviated atherosclerosis by regulating PI3K/AKT and TLR4/NF κ B mediated pyroptosis in endothelial cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 120: 110370.
- [50] Ku C W, Ho T J, Huang C Y, *et al.* Cordycepin attenuates palmitic acid-induced inflammation and apoptosis of vascular endothelial cells through mediating PI3K/akt/eNOS signaling pathway [J]. *Am J Chin Med*, 2021, 49(7): 1703-1722.
- [51] Yang Y, Pei K, Zhang Q, *et al.* Salvianolic acid B ameliorates atherosclerosis via inhibiting YAP/TAZ/JNK signaling pathway in endothelial cells and pericytes [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2020, 1865(10): 158779.
- [52] Ruan H H, Huang Q, Wan B T, *et al.* Curcumin alleviates lipopolysaccharides-induced inflammation and apoptosis in vascular smooth muscle cells via inhibition of the NF- κ B and JNK signaling pathways [J]. *Inflammopharmacology*, 2022, 30(2): 517-525.
- [53] Xiao Y Y, Mendez P L, Hiepen C, *et al.* NCKAP1 coordinates focal adhesion and adherens junction dynamics in endothelial barrier maintenance and angiogenesis [J]. *iScience*, 2026, 29(5): 115716.
- [54] Simons M, Gordon E, Claesson-Welsh L. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signaling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(10): 611-625.
- [55] Pentassuglia L, Sawyer D B. The role of neuregulin 1 β /ErbB signaling in the heart [J]. *Exp Cell Res*, 2009, 315(4): 627-637.
- [56] Meng Q H, Bi Y H, Feng H, *et al.* Activation of estrogen receptor α inhibits TLR4 signaling in macrophages and alleviates the instability of atherosclerotic plaques in the postmenopausal stage [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 116: 109825.
- [57] Zhong N E, Nong X T, Yang G. WDFY4 promotes the progression of atherosclerosis by regulating ferroptosis mediated by the LAPTM5/CDC42/mTOR/4EBP1/SLC7A11 pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2025, 29(15): e70729.
- [58] Lv J W, Zeng J C, Guo F K, *et al.* Endothelial Cdc42 deficiency impairs endothelial regeneration and vascular repair after inflammatory vascular injury [J]. *Respir Res*, 2018, 19(1): 27.
- [59] Taira H, Li L, Koyama A, *et al.* EGF-induced macropinocytosis promotes NAV1-dependent internalization of occludin in keratinocytes [J]. *FASEB J*, 2025, 39(8): e70564.
- [60] Salat-Canela C, Pérez P, Ayté J, *et al.* Stress-induced cell depolarization through the MAP kinase-Cdc42 axis [J]. *Trends Cell Biol*, 2023, 33(2): 124-137.
- [61] Li J X, Chen Y Y, Gao J N, *et al.* Evala ameliorates atherosclerosis by promoting re-endothelialization of injured arteries via Rac1/Cdc42/Arpc1b [J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(2): 451-461.
- [62] Wang Y S, Wang H Y J, Liao Y C, *et al.* MicroRNA-195 regulates vascular smooth muscle cell phenotype and prevents neointimal formation [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 95(4): 517-526.
- [63] Bond M, Wu Y J, Sala-Newby G B, *et al.* Rho GTPase, Rac1, regulates Skp2 levels, vascular smooth muscle cell proliferation, and intima formation *in vitro* and *in vivo* [J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 80(2): 291-298.
- [64] Yu M H, Lin M C, Huang C N, *et al.* Acarbose inhibits the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells via targeting ras signaling [J]. *Vascul Pharmacol*, 2018, 103-105: 8-15.