

基于多模式生物信息学探讨防治动脉粥样硬化核心中药及潜在作用机制

冯 露¹, 邵瑞洁¹, 王添钰², 王 霄¹, 李佳彦², 吴爱明¹, 聂 波^{1,2*}

1. 北京中医药大学东直门医院, 中医内科学教育部和北京市重点实验室, 北京 100700

2. 北京中医药大学 中药学院, 北京 102488

摘 要: **目的** 采用数据挖掘、网络药理学和分子对接技术, 探讨中药抗动脉粥样硬化 (AS) 的用药规律、核心靶点及潜在作用机制。**方法** 以中国学术期刊全文数据库 (CNKI)、万方数据库 (Wanfang Data)、维普生物医学数据库 (VIP) 3 大数据库近 10 年治疗 AS 的文献为数据来源, 借助古今医案云平台及 Apriori 关联规则函数等进行数据挖掘, 以确定治疗 AS 的核心药物; 通过 TCMSP、Swiss Target Prediction 数据库得到核心中药活性成分及潜在靶点, 与 Genecards 数据库得到的疾病靶点取交集, 利用 Cytoscape3.10.0 构建核心中药-活性成分-交集靶点网络以及蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络, 通过 DAVID 数据库进行基因本体 (GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析; 对中药的核心活性成分及 AS 的核心靶点进行分子对接以验证其有效性。**结果** 从数据库中共筛选出 143 首方剂, 涉及 201 味中药, 药物的性味以甘、苦、辛为主, 归肝、脾、心经居多。Apriori 算法结果表明, “红花-桃仁-赤芍” 为支持度和置信度较高的组合; 通过筛选获得该组合靶点有 332 个, AS 靶点 1 663 个, 交集靶点 228 个; 核心成分为黄芩素、 β -谷甾醇、没食子酸 120 (GA120)、豆甾醇; 核心靶点为肿瘤蛋白 p53 (TP53)、原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Src (SRC)、AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶 (AKT1)、信号转导及转录活化因子 3 (STAT3); GO 分析条目共 1 275 个, KEGG 通路富集分析共 162 条通路, 根据 KEGG 分析, 预测主要通过癌症通路、AGE-RAGE 信号通路、脂质与动脉粥样硬化等信号通路发挥治疗作用; 分子对接结果显示, 药物核心成分与核心靶点都有一定的结合亲和力, 其中 SRC、AKT1 靶点与分子结合较好。**结论** “红花-桃仁-赤芍” 通过多成分、多靶点、多通路发挥抗 AS 的作用, 其靶点可能与 TP53、SRC、AKT1、STAT3 有关。

关键词: 动脉粥样硬化; 核心中药; 数据挖掘; 网络药理学; 分子对接; 红花; 桃仁; 赤芍

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)04-0875-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.04.009

Multimodal bioinformatics-based exploration of core Chinese medicines against atherosclerosis and potential mechanisms of action

FENG Lu¹, SHAO Ruijie¹, WANG Tianyu², WANG Xiao¹, LI Jiayan², WU Aiming¹, NIE Bo^{1,2}

1. Key Laboratory of Chinese Internal Medicine of Ministry of Education/Beijing, Dongzhimen Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China

2. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Objective To explore the dosing pattern, core targets, and potential mechanism of action of traditional Chinese medicine (TCM) against atherosclerosis (AS) using data mining, network pharmacology, and molecular docking techniques. **Methods** Literature from the past 10 years on AS treatment was retrieved from three major databases: China National Knowledge Infrastructure (CNKI), Wanfang Data, and VIP Chinese Biomedical Database. The Ancient and Modern Medical Case Cloud Platform and Apriori association rule algorithm were used to identify core herbs for AS treatment. Active components and potential targets of core herbs were obtained from the TCMSP and Swiss Target Prediction databases. Intersection targets between herb-related targets and AS-related targets (from the Genecards database) were identified. The core herb-active component-intersection target network and protein-protein interaction (PPI) network were constructed using Cytoscape 3.10.0. Gene Ontology (GO) functional annotation and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed using the DAVID database. Molecular

收稿日期: 2024-11-09

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82274488); 2023 科技创新专项 (DZMKJCX-2023-025)

作者简介: 冯 露 (1998—), 女, 硕士研究生。E-mail: fengluuuuu@163.com

*通信作者: 聂 波 (1977—), 女, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中医药防治心血管病。E-mail: nieboww_1977@163.com

docking was performed to validate the binding affinity between core active components of TCM and core targets of AS. **Results** A total of 143 prescriptions involving 201 herbs were screened. The herbs were primarily characterized by sweet, bitter, and pungent flavors and mainly acted on the liver, spleen, and heart meridians. The Apriori algorithm indicated that the combination of *Carthami Flos-Persicae Semen-Paeoniae Radix Rubra* had high support and confidence levels. A total of 332 herb-related targets and 1 663 AS-related targets were identified, with 228 intersection targets. Core active components included baicalein, β -sitosterol, gallic acid (GA120), and stigmasterol. Core targets included tumor protein p53 (TP53), proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src (SRC), AKT serine/threonine kinase 1 (AKT1), and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3). GO analysis yielded 1 275 functional terms, and KEGG pathway enrichment analysis identified 162 pathways, including cancer pathways, AGE-RAGE signaling pathway, and lipid and atherosclerosis pathways. The core active components exhibited binding affinity with the core targets, with SRC and AKT1 showing particularly strong interactions. **Conclusion** The combination of *Carthami Flos-Persicae Semen-Paeoniae Radix Rubra* exerts anti-AS effects through multiple components, targets, and pathways, with potential involvement of TP53, SRC, AKT1, and STAT3. This study provides a scientific basis for the clinical application of TCM in AS treatment.

Key words: atherosclerosis; core Chinese medicine; data mining; network pharmacology; molecular docking; *Carthami Flos*; *Persicae Semen*; *Paeoniae Radix Rubra*

动脉粥样硬化(AS)是发生在血管壁的慢性炎症性疾病,以脂质积累、平滑肌细胞增殖、细胞凋亡和坏死、纤维化以及局部炎症为主要特征^[1]。其作为缺血性心肌病、心肌梗死、卒中等诸多心脑血管疾病的主要病理基础,严重威胁人类的健康和生命安全^[2]。因此,AS的防治始终是当今医学研究的重点领域。而目前研究成熟并广泛用于临床防治AS、稳定斑块的化学药主要是他汀类药物,但该类药主要针对AS的脂质积累这一发病机制,药物作用机制单一,治疗效果有限,且有着不可忽视的药物依赖、横纹肌溶解、肝肾损害等不良反应^[3]。因此,寻找多途径干预且安全有效的药物对AS的防治至关重要。

近年来,中医药因其经济、安全、疗效好且不良反应少等优点被广泛用于AS的治疗,且遵循辨证施治、随证选方的理念,使得中医药治疗更适用于AS发病的各个阶段。诸多临床研究证实解毒活血方、补阳还五汤、四妙勇安汤等传统中药方剂对AS的不同阶段均具有良好的疗效和安全性^[4]。但当前中医药治疗AS的临床报道众多,选方用药繁杂,亟待梳理总结归纳;防治AS中药及活性成分的作用机制也需要深入研究。因此,本研究采用数据挖掘方法、网络药理学、分子对接技术等多种生物信息手段筛选确定防治AS核心中药及其活性成分和作用靶点,探讨其作用机制,为临床应用及药物开发提供参考。

1 资料与方法

1.1 文献数据挖掘确定治疗AS的核心中药

1.1.1 数据来源 本研究纳入的文献来源于中国学术期刊全文数据库(CNKI)、万方数据库(Wanfang Data)、维普生物医学数据库(VIP),具

体检索词如下:“动脉粥样硬化”“中医”“中药”“中医药”,检索词组内用“OR”连接,组间用“AND”连接。检索时间为2013年1月—2024年1月。

1.1.2 文献纳入及排除标准 对检索得到的文献的标题以及摘要进行阅读并筛选,按照下列标准进行纳入及排除。纳入标准:(1)中医方剂或中西医结合治疗AS的相关文献;(2)方剂中药明确完整或根据干预方法描述可查询具体药物组成;(3)临床疗效可靠者。排除标准:(1)非临床试验研究,如动物实验、文献综述、系统评价、理论探讨等非临床对照研究等;(2)外用中药、针刺、注射等非口服汤剂治疗方式;(3)对其他疾病治疗为主,或合并AS的文献;(4)组方药物不完整的文献。

1.1.3 数据标准化处理 根据《中国药典》^[5]、《中华本草》^[6]等对中药名称及性味归经进行规范化处理,如“首乌”规范为“何首乌”,“元参”规范为“玄参”等。未明确炮制方法的药物按原数据录入。

1.1.4 数据录入与统计分析 将数据录入Microsoft Excel 2021后,导入古今医案云平台V2.3.7(<https://www.yiankb.com>),先执行标准化操作后,再加入分析池分析,运用平台中数据挖掘板块,对纳入中药进行频次、性味及归经分析。采用IBM SPSS Modeler 18.0软件的Apriori算法进行关联规则分析,设置最低支持度为10%、最小置信度为80%、最大前项数为2。应用IBM SPSS Statistics 25软件进行聚类分析。

1.2 网络药理学分析

1.2.1 核心中药活性成分及药物靶点筛选 选取“1.1”项数据挖掘确定的核心中药名称为检索词,检索中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP,

<https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>) 数据库中核心中药的化学成分, 以口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (DL) ≥ 0.18 为条件筛选活性成分^[7]。将其导入 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 查询各成分的 2D 结构, 导入数据库 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch>) 中检索各活性成分的靶点, 选择 probability 值 > 0 的靶点为药物靶点。

1.2.2 AS 相关靶点的获取 在 Genecards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 输入关键词 “Atherosclerosis”, 查找相关的靶点基因, 以 Score 值 ≥ 1 选出疾病靶点。

1.2.3 核心中药-活性成分-交集靶点网络构建及核心成分筛选 将药物靶点和疾病靶点导入 Venny2.1.0 平台 (<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/>), 获得 AS 与核心药物的交集靶点并绘制 Venn 图。将交集靶点与药物、活性成分导入 Cytoscape 3.10.0 软件, 构建核心中药-活性成分-交集靶点网络, 并进行网络分析筛选核心成分。

1.2.4 蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建及核心靶点预测 将交集靶点蛋白导入到 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/cgi/input.pl>), 选择物种为 “Homo sapiens”, 相互作用阈值设置为 “high confidence (0.900)”, 隐藏游离靶点, 构建交集靶点 PPI 网络。利用 Cytoscape 3.10.0 软件的 CytoNCA 插件进行网络拓扑分析, 以网络节点度值、中介中心性、紧密中心性均大于平均值的靶点筛选核心靶

点, 将筛选得到的核心靶点作图分析。

1.2.5 基因本体 (GO) 和京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析 将交集靶点导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>), 进行 GO 与 KEGG 信号通路的富集分析, 运用微生物平台 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>) 绘制 GO 功能柱状图和 KEGG 通路富集分析图。

1.3 核心成分与核心靶点的分子对接验证

将 “1.2.3” 项网络图中得分前 4 的化合物作为配体, 在 TCMSP 平台中下载二维结构。将 “1.2.4” 项中得到的前 4 个核心靶点作为受体, 通过 PDB (<https://www.rcsb.org>) 数据库下载蛋白三维结构。利用 AutodockTools1.5.7 软件进行分子对接, 预测核心基因蛋白与化合物小分子间的相互作用, 根据结合能评价核心成分与核心靶点的结合强度与活性。使用 PyMOL 软件对其结果进行可视化, 并通过 Origin 2019b 构建配体与受体结合能热图。

2 结果

2.1 文献数据挖掘结果

2.1.1 纳入文献情况 检索共获得 9 087 篇文献, 删除重复文献 4 685 篇, 余下文献为 4 402 篇, 依据纳入、排除标准, 筛选符合条件的文献, 最终纳入分析文献共 143 篇。

2.1.2 药物使用频次与频率分析 所纳入的处方中共出现中药 201 味, 总使用频次为 1 285 次, 其中使用频次 ≥ 12 的中药有 30 味, 频率前 6 位的中药为丹参、黄芪、川芎、当归、山楂和三七。见表 1。

表 1 高频中药频次与频率 (前 30 位)

Table 1 Occurrence and frequency of high frequency-herbs (top 30)

序号	中药	频次	频率/%	序号	中药	频次	频率/%
1	丹参	72	49.66	16	牛膝	20	13.79
2	黄芪	59	40.69	17	桃仁	19	13.10
3	川芎	49	33.79	18	半夏	17	11.72
4	当归	40	27.59	19	熟地黄	16	11.03
5	山楂	39	26.90	20	制何首乌	16	11.03
6	三七	39	26.90	21	葛根	16	11.03
7	茯苓	32	22.07	22	白术	15	10.34
8	甘草	30	20.69	23	枸杞子	15	10.34
9	赤芍	30	20.69	24	炙甘草	14	9.66
10	地龙	28	19.31	25	黄连	14	9.66
11	泽泻	28	19.31	26	天麻	13	8.97
12	水蛭	27	18.62	27	白芍	13	8.97
13	石菖蒲	24	16.55	28	人参	12	8.28
14	陈皮	23	15.86	29	土鳖虫	12	8.28
15	红花	21	14.48	30	郁金	12	8.28

2.1.3 药物性味和归经分析 对 201 味中药进行四气五味及归经分析, 具体如图 1 所示。其中药性总频次 1 252 次, 以温 (512 次)、寒 (398 次)、平性 (276 次) 为主; 药味频次累计 1 975 次, 以甘 (662 次)、苦 (602 次)、辛 (399 次) 居多; 归经频次累计 2 946 次, 主要

入肝经 (689 次)、脾经 (487 次)、心经 (437 次)。

2.1.4 关联规则分析 采用 Apriori 模型, 设置支持度 $\geq 10\%$, 置信度 $\geq 80\%$, 最大前项数为 2 等条件挖掘出治疗 AS 的重要方剂中潜在的中药组合, 共得到核心中药组合 13 个, 结果见表 2。

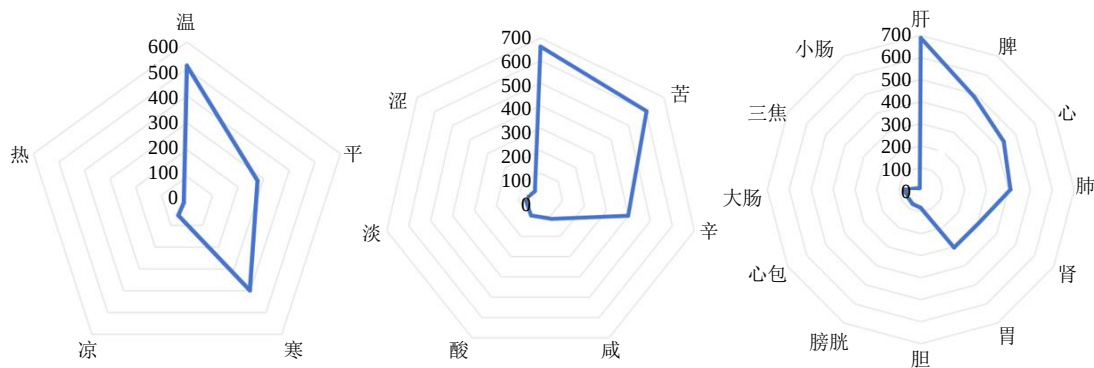


图 1 纳入中药性味归经雷达图

Fig. 1 Radar map of characteristic of included traditional Chinese medicine

表 2 治疗 AS 的高频中药关联规则分析

Table 2 Analysis of high frequency-traditional Chinese medicine association rules for treatment of AS

后项	前项	支持度/%	置信度/%	增益
红花	桃仁, 赤芍	10.20	100.00	6.68
黄芪	地龙, 当归	10.20	100.00	2.49
赤芍	桃仁, 红花	10.88	93.75	4.59
黄芪	当归, 丹参	12.24	88.89	2.21
桃仁	红花, 赤芍	11.56	88.24	6.83
赤芍	红花, 川芎	10.88	87.50	4.29
三七	枸杞子	10.20	86.67	3.27
红花	桃仁	12.93	84.21	5.63
川芎	红花, 赤芍	11.56	82.35	2.47
川芎	桃仁, 红花	10.88	81.25	2.44
桃仁	红花, 川芎	10.88	81.25	6.29
山楂	枸杞子	10.20	80.00	3.02
川芎	桃仁, 赤芍	10.20	80.00	2.40

2.1.5 聚类分析 采用 IBM SPSS Statistics 25 统计软件对频次 ≥ 12 的 30 味高频中药进行聚类分析, 得到如图 2 所示的聚类分析树状图, 通过系统聚类分析共得到 7 类组合, 1 类: 红花、桃仁、赤芍、丹参、黄芪、川芎、当归、地龙、泽泻、石菖蒲、牛膝; 2 类: 甘草、白芍; 3 类: 茯苓、陈皮、白术、天麻、水蛭、半夏; 4 类: 熟地黄、炙甘草; 5 类: 土鳖虫、郁金、三七、山楂、枸杞子; 6 类: 葛根、黄连; 7 类: 制何首乌、人参。

综合频数、关联规则及中药聚类分析, 得到中

医药治疗 AS 的核心中药组“红花-桃仁-赤芍”, 并以此组合作为网络药理学分析的对象。

2.2 网络药理学分析结果

2.2.1 成分筛选及靶点预测 通过 TCMSP 数据库得到“红花-桃仁-赤芍”活性成分共 47 个, 其中红花 19 个、桃仁 20 个、赤芍 13 个, 见表 3。通过 Swiss Target Prediction 数据库去除无对应靶点的活性成分并筛除重复项后, 获得蛋白作用靶点红花 416 个、桃仁 215 个、赤芍 277 个, 经筛选去重后, 共 560 个靶点。通过 Genecards 数据库获得 AS 的

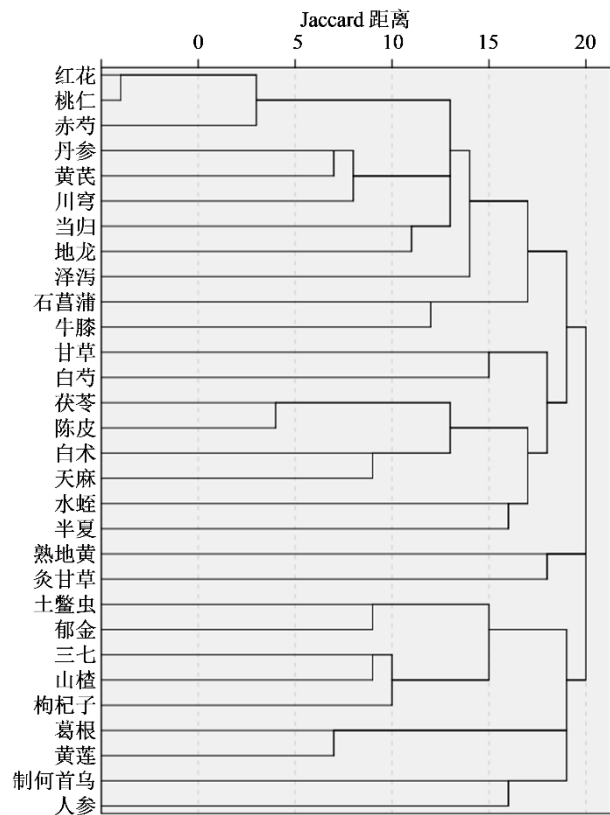


图 2 治疗 AS 的高频中药聚类分析
Fig. 2 Cluster analysis of high-frequency traditional Chinese medicine in treatment of AS

疾病靶点共 1 891 个。将 560 个核心中药活性成分靶点和 1 891 个 AS 疾病靶点输入到 Venny2.1.0 取交集，得到 228 个（10.3%）交集靶点。

2.2.2 核心中药-活性成分-交集靶点网络图的构建运用 Cytoscape 3.10.0 绘制核心中药-活性成分-交集靶点网络图（图 3），度值得分最高的前 4 个化合物分别是黄芩素（B1，MOL002714，baicalein）、β-谷甾醇（A1，MOL000358，β-sitosterol）、没食子酸 120（TR1，MOL001340，GA 120）、豆甾醇（B3，MOL000449，stigmasterol），这 4 种化合物是核心中药发挥作用的核心成分。

2.2.3 PPI 网络构建及核心靶点预测 利用 STRING 软件和 Cytoscape3.8.0 软件对药物-疾病交集靶点进行 PPI 分析并构建 PPI 网络，见图 4。利用 Cytoscape3.10.0 的插件 CytoNCA 进行分析，得到节点平均度值为 6.022 727 273，平均中介中心性为 508.443 182 9，平均紧密中心性为 0.001 536 91。以节点度值、中介中心性、紧密中心性均大于平均值的靶点为核心靶点，得到 21 个核心靶点，包括肿瘤蛋白 p53（TP53）、原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Src（SRC）、AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶 1（AKT1）、信号转导及转录活化因子 3（STAT3）等。

表 3 “红花-桃仁-赤芍” 中药组合的活性成分
Table 3 Active ingredients from “*Carthami Flos-Persicae Semen-Paeoniae Radix Rubra*”

编号	MOL ID	活性成分	OB/%	DL
HH1	MOL002719	6-羟基柚皮素（6-hydroxynaringenin）	33.23	0.24
B1	MOL002714	黄芩素（baicalein）	33.52	0.21
HH2	MOL002698	羽扇豆醇棕榈酸酯（lupeol-palmitate）	33.98	0.32
HH3	MOL000006	木犀草素（luteolin）	36.16	0.25
HH4	MOL001771	γ-谷甾醇（poriferast-5-en-3β-ol）	36.91	0.75
A1	MOL000358	β-谷甾醇（β-sitosterol）	36.91	0.75
HH5	MOL002773	β-胡萝卜素（β-carotene）	37.18	0.58
HH6	MOL000953	胆甾烷醇（CLR）	37.87	0.68
B2	MOL002776	黄芩苷（baicalin）	40.12	0.75
HH7	MOL000422	山柰酚（kaempferol）	41.88	0.24
HH8	MOL002695	木脂素（lignan）	43.32	0.65
B3	MOL000449	豆甾醇（stigmasterol）	43.83	0.76
HH9	MOL002721	槲皮万寿菊素（quercetagetin）	45.01	0.31
HH10	MOL002757	7,8-二甲基-1 <i>H</i> -嘧啶并[5,6- <i>g</i>]喹喔啉-2,4-二酮（7,8-dimethyl-1 <i>H</i> -pyrimido [5,6- <i>g</i>]quinoxaline-2,4-dione）	45.75	0.19
HH11	MOL000098	槲皮素（quercetin）	46.43	0.28
HH12	MOL002710	除虫菊酯 II（pyrethrinII）	48.36	0.35

表 3 (续)

编号	MOL ID	活性成分	OB/%	DL
HH13	MOL002694	4-[(E)-4-(3,5-二甲氧基-4-氧代-1-环己二烯基)丁-2-烯亚基]-2,6-二甲氧基环己二烯-1-酮 (4-[(E)-4-(3,5-dimethoxy-4-oxo-1-cyclohexa-2,5-dienylidene)but-2-enylidene]-2,6-dimethoxycyclohexa-2,5-dien-1-one)	48.47	0.36
HH14	MOL002717	醌式红花苷 (qt_carthamone)	51.03	0.20
HH15	MOL002712	6-羟基山柰酚 (6-hydroxykaempferol)	62.13	0.27
TR1	MOL001340	没食子酸 120 (GA120)	84.85	0.45
TR2	MOL001349	4a-甲酰基-7 α -羟基-1-甲基-8-亚甲基-4 α ,4 β -赤霉烷-1 α ,10 β -二羧酸 (4a-formyl-7 α -hydroxy-1-methyl-8-methylidene-4 α -,4 β -gibbane-1 α -,10 β -dicarboxylicacid)	88.60	0.46
TR3	MOL001339	没食子酸 119 (GA119)	76.36	0.49
TR4	MOL001348	赤霉素 17 (gibberellin17)	94.64	0.49
TR5	MOL001358	赤霉素 7 (gibberellin7)	73.80	0.50
TR6	MOL001343	没食子酸 122 (GA122)	64.79	0.50
TR7	MOL001328	2,3-二脱氢没食子酸 70 (2,3-didehydroGA70)	63.29	0.50
TR8	MOL001360	没食子酸 77 (GA77)	87.89	0.53
TR9	MOL001353	没食子酸 66 (GA60)	93.17	0.53
TR10	MOL001329	2,3-二脱氢没食子酸 77 (2,3-didehydroGA77)	88.08	0.53
TR11	MOL001352	没食子酸 54 (GA54)	64.21	0.53
TR12	MOL001342	没食子酸 121-异内酯 (GA121-isolactone)	72.70	0.54
TR13	MOL001344	没食子酸 122-异内酯 (GA122-isolactone)	88.11	0.54
TR14	MOL001355	没食子酸 63 (GA63)	65.54	0.54
TR15	MOL001350	没食子酸 30 (GA30)	61.72	0.54
TR16	MOL001351	赤霉素 A44 (gibberellinA44)	101.61	0.54
TR17	MOL001361	没食子酸 87 (GA87)	68.85	0.57
TR18	MOL000493	菜油甾醇 (campesterol)	37.58	0.71
A1	MOL000358	β -谷甾醇 (β -sitosterol)	36.91	0.75
TR19	MOL001323	谷甾醇 α 1 (sitosterolalpha1)	43.28	0.78
CS1	MOL002883	油酸乙酯[ethyloleate(NF)]	32.40	0.19
B1	MOL002714	黄芩素 (baicalein)	33.52	0.21
CS2	MOL007016	芍药苷元酮 (paeoniflorigenone)	65.33	0.37
CS3	MOL001925	芍药苷元 (paeoniflorin_qt)	68.18	0.40
CS4	MOL001002	鞣花酸 (ellagicacid)	43.06	0.43
CS5	MOL005043	菜油甾醇 (campest-5-en-3beta-ol)	37.58	0.71
CS6	MOL006999	豆甾-7-烯-3-醇 (stigmast-7-en-3-ol)	37.42	0.75
CS7	MOL000359	谷甾醇 (sitosterol)	36.91	0.75
A1	MOL000358	β -谷甾醇 (β -sitosterol)	36.91	0.75
B2	MOL002776	黄芩苷 (baicalin)	40.12	0.75
CS8	MOL004355	菠菜甾醇 (spinasterol)	42.98	0.76
B3	MOL000449	豆甾醇 (stigmasterol)	43.83	0.76
CS9	MOL001924	芍药苷 (paeoniflorin)	53.87	0.79

HH-红花; TR-桃仁; CS-赤芍; A-红花、桃仁、赤芍; B-红花、赤芍。

HH-Carthami Flos; TR-Persicae Semen; CS-Radix Rubra; A-Carthami Flos, Persicae Semen, Radix Rubra; B-Carthami Flos, Radix Rubra.

2.2.4 GO 和 KEGG 通路富集分析 将 228 个交集靶点导入 DAVID 数据库, 其中 GO 富集分析显示共 1 275 条, 得出生物过程 (BP) 963 条, 主要涉

及炎症反应、对外源性刺激的反应; 细胞组分 (CC) 106 条, 主要涉及膜筏、血浆膜; 分子功能 (MF) 206 条, 主要涉及酶结合、肽链内切酶活性的影响,

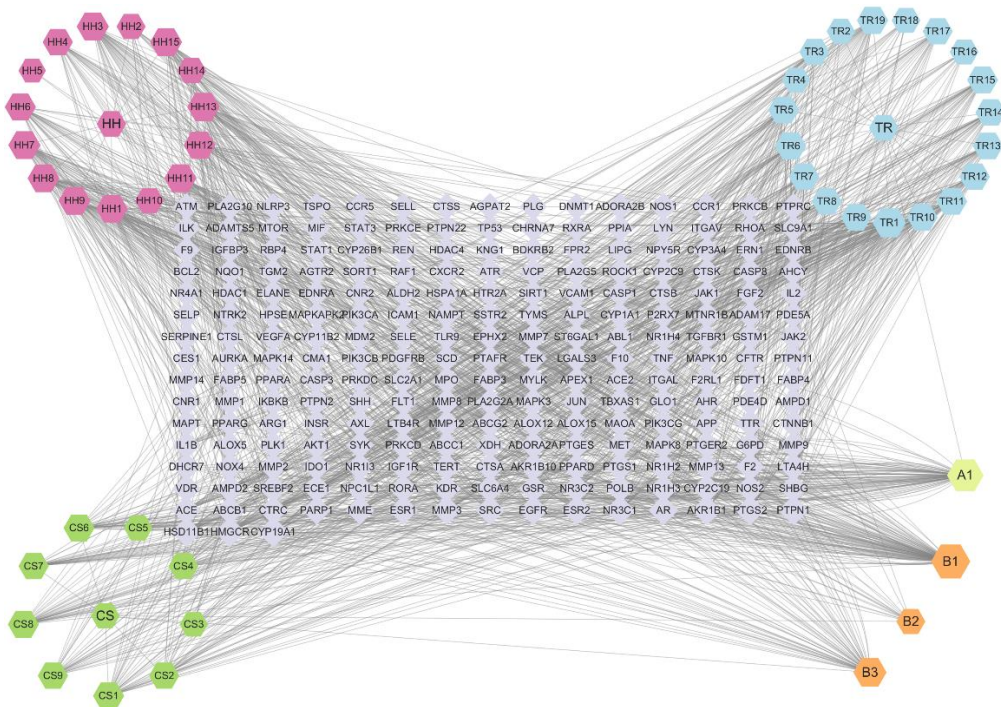


图3 “核心中药-活性成分-交集靶点”网络

Fig. 3 Network diagram of “core traditional Chinese medicine-active ingredients-intersection targets”

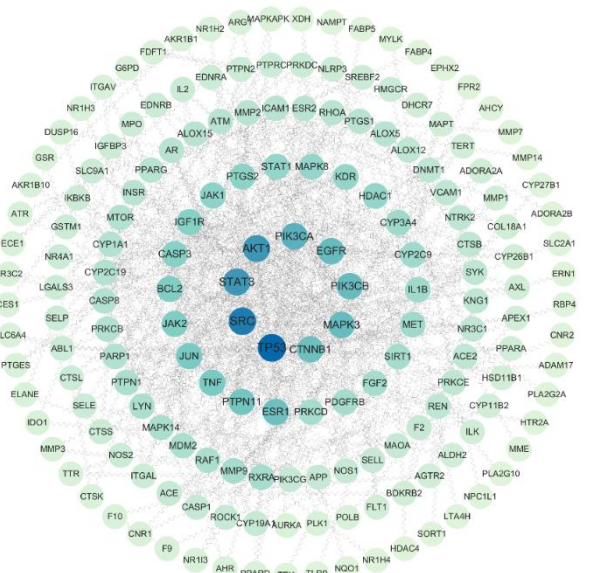


图 4 疾病-成分交集靶点 PPI 网络

Fig. 4 PPI network of disease-ingredients of intersection targets

见图 5。获得 KEGG 信号通路 162 条, 将 *P* 值排序前 20 位的条目绘制气泡图 (图 6)。涉及的通路主要有癌症通路、糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物-糖基化终末产物受体 (AGE-RAGE) 信号通

路、脂质和动脉粥样硬化、C型凝集素受体信号通路、癌症中的蛋白聚糖类、流体剪切力与动脉粥样硬化、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染等。

2.3 分子对接验证结果

将黄芩素、 β -谷甾醇、没食子酸 120、豆甾醇作为配体，TP53 (PDB ID: 7DHZ)、SRC (PDB ID: 2H8H)、AKT1 (PDB ID: 4GV1)、STAT3 (PDB ID: 6NJS) 作为受体进行分子对接，分子对接结合能结果见图 7。其中 SRC、AKT1 靶点与这些成分分子结合较好，将对接结果在 PyMOL 软件中进行可视化处理。见图 8。

3 讨论

冠心病、心肌梗死、脑卒中和外周动脉疾病等主要心血管疾病，在全球死亡和残疾统计中占主导地位，AS 是导致心血管疾病的根本原因^[8]。AS 致病因素较为复杂，目前研究发现主要与炎症反应、脂质代谢紊乱、血管功能障碍、血流动力学改变等有关^[9]。在中医中 AS 为本虚标实之证，本虚为气血阴阳亏虚，标实为痰湿、瘀血、热毒阻滞，中医药治疗 AS 优势独到，常以化痰、活血化瘀、清热解毒为基本思路。

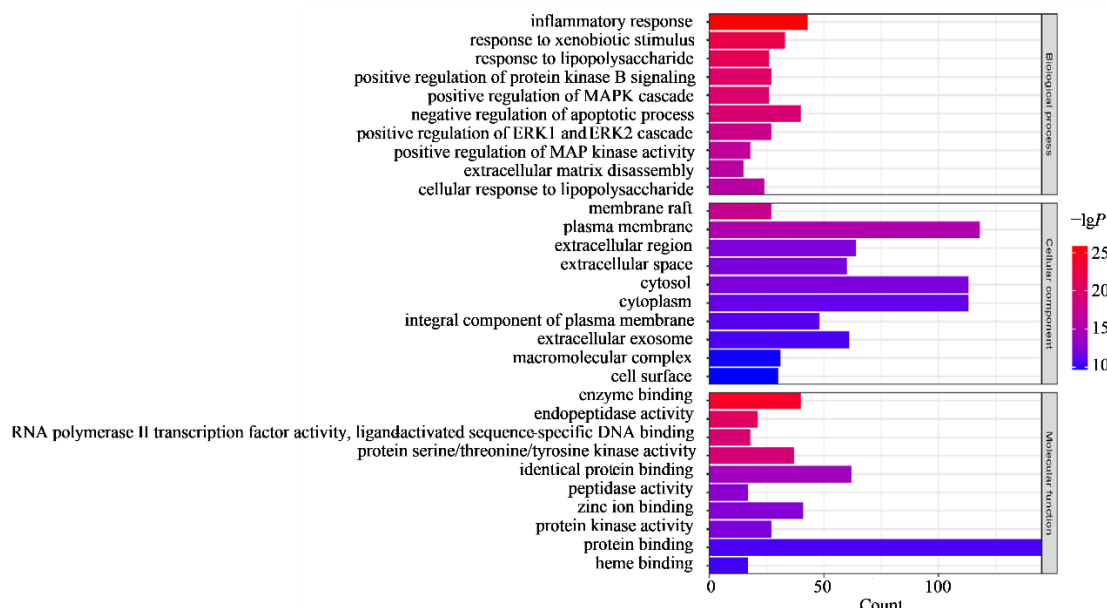


图 5 核心中药抗 AS 靶点 GO 功能分析
Fig. 5 Go annotation of core herbs anti-AS targets

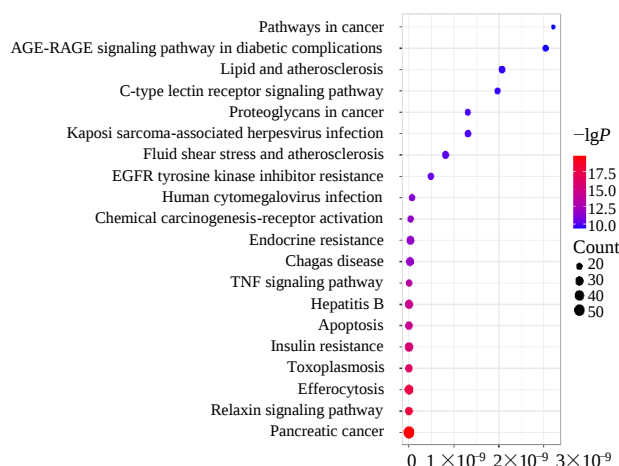


图 6 核心中药抗 AS 靶点 KEGG 通路富集分析
Fig 6 KEGG enrichment analysis of core herbs anti-AS targets

本研究从近 10 年治疗 AS 的临床研究文献报道中共筛选出 143 首方剂, 包含 201 味药物, 药物频次分析结果显示, 中医药治疗 AS 的常用药物是丹参、黄芪、川芎、当归、三七、山楂、茯苓、赤芍等。治疗 AS 的中药药味以甘、苦、辛为主, 归肝、脾、心经居多, 其中甘能补、和、缓, 以补虚扶正^[10]; 苦能泄火、燥湿坚阴, 可清热凉血、消肿散结^[11]; 辛味能行能散, 以通行血脉^[12]。在归经方面, 肝主疏泄调畅气机, 则脉道通利; 脾主运化水谷精微, 则血脉充盈; 心主行血, 推动血行则血行

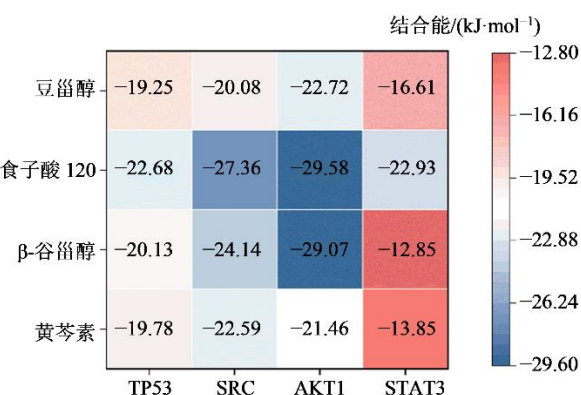


图 7 配体-受体分子对接结合能热图
Fig. 7 Heat map of binding energy for ligand-receptor molecular docking

通畅。根据以上药物的功能主治可以看出治疗 AS 时以活血化瘀、清热解毒为主。根据关联规则分析以及高频药物系统聚类分析, 结合药物的支持度、置信度以及增益, 本研究确定了核心中药组合为“红花-桃仁-赤芍”。红花和桃仁具有活血通经、祛瘀止痛的功效, 而赤芍则擅长清热凉血、散瘀止痛, 三者联用, 针对 AS 病理过程中瘀血和热毒阻滞的病机特点, 协同发挥活血化瘀与清热解毒的功效。相关动物实验证实: 红花可通过调控内皮功能、炎症反应和氧化应激抑制 AS 进展^[13-14]; 桃仁可逆转异常的血脂水平, 下调组织因子的表达, 降低 ApoE^{-/-}小鼠 AS 病

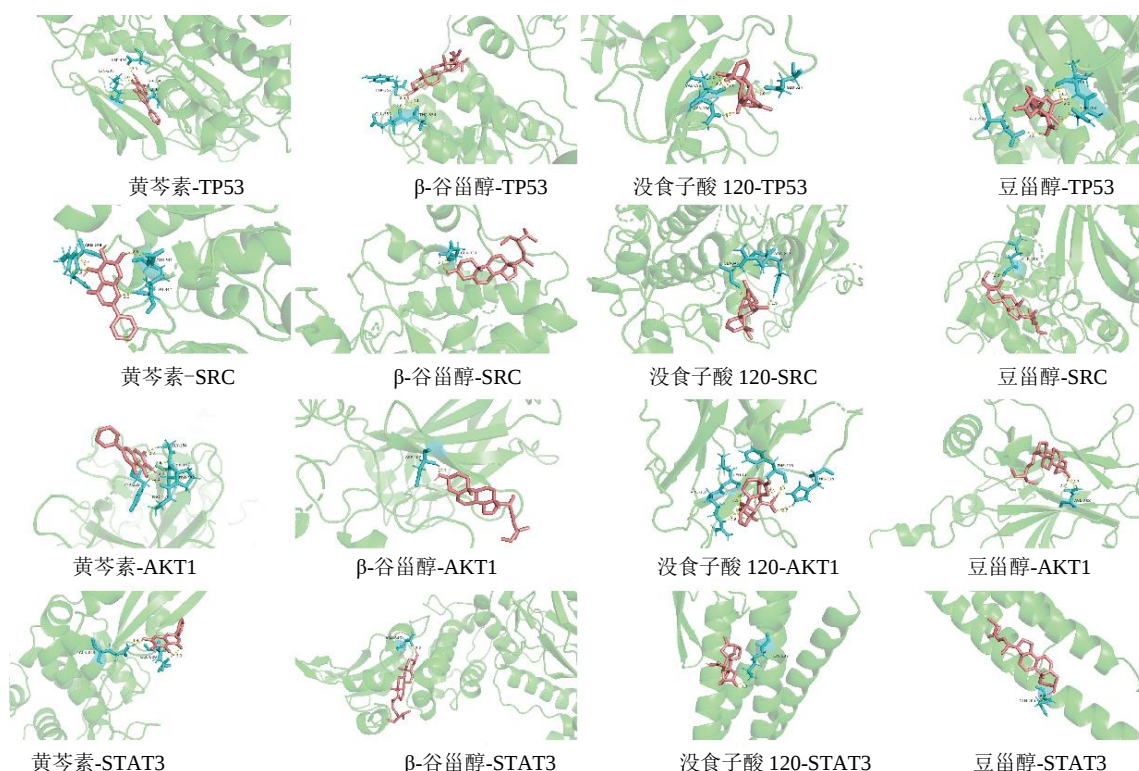


图 8 分子对接结果可视化图

Fig. 8 Visualization of molecular docking

变的程度和面积^[15-16]; 赤芍能够降低 ApoE^{-/-}小鼠总胆固醇以及增加纤维帽厚度, 发挥稳定 AS 斑块的作用^[17-18]。综上所述, “红花-桃仁-赤芍”可作为 AS 防治的重点中药组合进行深入研究。

基于网络药理学, 本研究发现核心中药组合中治疗 AS 的核心成分为黄芩素、β-谷甾醇、没食子酸 120、豆甾醇, 这些核心成分在抗 AS 方面表现出显著的药理活性。研究表明, 黄芩素能够抑制泡沫细胞形成过程中脂质的异常积累, 并通过抑制炎症反应进而降低 AS 的发生风险^[19]。β-谷甾醇和豆甾醇作为天然存在的植物甾醇, 能够降低血浆胆固醇水平, 展现出抗氧化、抗炎和潜在的抗癌等药理活性, 对心血管疾病的预防和治疗具有积极作用^[20]。没食子酸已被评估为具有抗氧化、抗癌、抗菌、抗真菌、抗病毒、抗炎作用的化合物^[21], 能够抑制 ApoE^{-/-}雄性小鼠炎症诱导的促炎细胞因子的表达^[22]。因此, “红花-桃仁-赤芍”这一核心中药组合抗 AS 的核心成分可能是黄芩素、β-谷甾醇、没食子酸 120、豆甾醇, 具有重要研究和应用价值。

PPI 网络拓扑分析结果表明, 核心中药干预 AS 的前 4 位核心靶点是 TP53、SRC、AKT1、STAT3,

度值分别为 36、32、27、27。TP53 是细胞增殖和程序性细胞死亡(凋亡)的关键分子, 其能通过激活核因子-κB (NF-κB) 促进促炎因子白细胞介素-1β (IL-1β) 和白细胞介素-6 (IL-6) 的释放, 增强局部炎症微环境^[23-24], 动物实验进一步表明, TP53 突变通过斑块巨噬细胞的数量直接促进 AS 的发展, 揭示了其在 AS 进展中的关键作用^[25]。SRC 参与多种免疫过程, 如免疫细胞发育、增殖、黏附、迁移、趋化、吞噬和存活等^[26], SRC 的激活可导致内皮细胞炎症反应加剧, 影响血管壁的内皮功能和稳定性。抑制 SRC 激酶的活性已被证明可以减轻由血流紊乱引起的炎症和 AS^[27]。AKT1 作为一种丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK), 主要负责调节细胞生长、分裂及抑制细胞凋亡^[28], 研究表明, AKT1 缺失或功能障碍与 AS 的增加显著相关, 是由于炎症反应加强、内皮细胞功能障碍及巨噬细胞凋亡增加所致^[29]。STAT3 与免疫和炎症密切相关, 通过调控促炎因子和黏附分子的表达, 加剧内皮细胞的功能障碍, 促进单核细胞向血管壁的迁移和黏附, 进一步推动 AS 的发展^[30-31]。综上所述, TP53、SRC、AKT1 和 STAT3 这 4 个靶蛋白在 AS 的病理过程中

涉及多个关键环节, 它们的调控可能为 AS 的治疗提供新的靶点和策略。

GO 功能富集分析结果显示核心中药组合主要通过炎症反应、对外源性刺激的反应、对脂多糖的反应、蛋白激酶 B 的正向调控、丝裂原活化蛋白激酶级联的正调控和凋亡过程的负反馈等途径发挥对 AS 的治疗作用。KEGG 富集获得的 162 条信号通路, 主要涉及癌症通路、AGE-RAGE 信号通路、脂质与动脉粥样硬化等, 癌症通路 AS 之间的关系主要体现在炎症、细胞增殖和凋亡等共同的生物学过程上, 一些在癌症中被研究的信号通路, 如 NF- κ B、磷脂酰肌醇 3-激酶-蛋白激酶 (PI3K-Akt)、雷帕霉素激酶 (mTOR) 通路等, 在 AS 的发病机制中也扮演着重要角色^[32-34]。AGE-RAGE 之间的相互作用在心血管疾病的病理过程中起着关键作用, 涉及炎症、氧化应激和细胞功能障碍等多个方面。通过干预 AGEs 的形成或阻断 RAGE 信号, 可能为心血管疾病的预防和治疗提供新的策略^[35]。脂质与动脉粥样硬化通路通过减少血管壁内的脂质积累、有效控制低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平, 以及增强对血管内壁氧化损伤的抵抗能力, 防止 AS 的发生和发展^[36]。此外, 通过对上述靶点进行分子对接, 评估了核心成分与靶点之间的结合亲和力。对接结合能 < 0 表明配体与受体之间的结合为自发过程, 结合能越低则结合越稳定^[37]。结果表明核心成分与核心靶点均有一定的结合活性, 其中 SRC、AKT1 靶点与这些分子结合较好, 尤其是 AKT1 靶点, 与这些分子的结合强度最佳, 值得进一步关注和研究。

本研究运用数据挖掘、网络药理学和分子对接等多模式生物信息学方法, 系统深入地探讨了治疗 AS 的核心中药及其作用机制。研究发现, “红花-桃仁-赤芍” 组合为治疗 AS 的核心药物, 并筛选出活性成分的核心靶点及可能的作用途径。结果显示, 该中药组合在抗 AS 方面具有多靶点、多机制的特点, 能够通过多种途径发挥综合治疗效果, 为中药治疗 AS 的临床运用和基础研究拓展思路。通过这种方法, 不仅显著提升了中药研究的效率和深度, 还为现代药物发现和开发提供了强有力的支持。然而, 本研究对预测的作用机制未能开展实验验证, 后续研究将进一步完善。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Björkegren J L M, Lusis A J. Atherosclerosis: Recent developments [J]. *Cell*, 2022, 185(10): 1630-1645.
- [2] Weber C, Habenicht A J R, von Hundelshausen P. Novel mechanisms and therapeutic targets in atherosclerosis: Inflammation and beyond [J]. *Eur Heart J*, 2023, 44(29): 2672-2681.
- [3] 国家心血管病专家委员会心血管代谢医学专业委员会. 他汀不耐受的临床诊断与处理中国专家共识 [J]. *中国循环杂志*, 2024, 39(2): 105-115.
National Society of Cardiometabolic Medicine. Chinese expert consensus on the diagnosis and management strategy of patients with statin intolerance [J]. *Chin Circ J*, 2024, 39(2): 105-115.
- [4] 万宛若, 黄丹, 徐婉茹, 等. 中药成分改善动脉粥样硬化及其机制研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(17): 5748-5758.
Wan W R, Huang D, Xu W R, et al. Research progress on improvement of atherosclerosis by traditional Chinese medicine ingredients and its mechanism [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(17): 5748-5758.
- [5] 中国药典 [S]. 三部. 2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume III. 2020.
- [6] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
Editorial Committee of Chinese Materia Medica, State Administration of Traditional Chinese Medicine. *Chinese Materia Medica* [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999.
- [7] 李若男, 陈喜, 赵李娜, 等. 基于网络药理学吴茱萸治疗结直肠癌作用机制探讨及实验验证 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(1): 38-45.
Li R N, Chen X, Zhao L N, et al. Mechanism of *Evodia rutaecarpa* in treatment of colorectal cancer based on network pharmacology and experimental verification [J]. *Drug Eval Res*, 2024, 47(1): 38-45.
- [8] Roy P, Orecchioni M, Ley K. How the immune system shapes atherosclerosis: Roles of innate and adaptive immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(4): 251-265.
- [9] Kotlyarov S. Identification of important genes associated with the development of atherosclerosis [J]. *Curr Gene Ther*, 2024, 24(1): 29-45.
- [10] 李锡岭, 温雅, 张思超. 《温病条辨》甘味药运用规律探讨 [J]. *山东中医药大学学报*, 2023, 47(2): 187-193.
Li X L, Wen Y, Zhang S C. Discussion on medication regularity of sweet medicine in detailed analysis of *Epidemic Warm Diseases* [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin*

- Med, 2023, 47(2): 187-193.
- [11] 张静雅, 曹煌, 龚苏晓, 等. 中药咸味药性表达及在临证配伍中的应用 [J]. 中草药, 2016, 47(16): 2797-2802. Zhang J Y, Cao H, Gong S X, et al. Expression of salt-taste herbs and their applications in clinical compatibility [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2016, 47(16): 2797-2802.
- [12] 孙坤坤, 王加锋. 辛味药药性理论及归经应用 [J]. 山东中医药大学学报, 2021, 45(4): 458-461. Sun K K, Wang J F. Theory of medicinal property of pungent herbs and application of channel tropism [J]. J Shandong Univ Tradit Chin Med, 2021, 45(4): 458-461.
- [13] 白启荣, 郭姣洁, 吴娇. 红花的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 新乡医学院学报, 2024, 41(1): 88-94, 100. Bai Q R, Guo J J, Wu J. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of safflower [J]. J Xinxiang Med Univ, 2024, 41(1): 88-94, 100.
- [14] 刘淑玲, 蔡海荣, 陈燕虹, 等. 红花黄色素对动脉粥样硬化大鼠内皮功能、炎症反应、氧化应激的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(18): 4585-4588. Liu S L, Cai H R, Chen Y H, et al. Effects of safflor yellow on endothelial function, inflammatory response and oxidative stress in rats with arteriosclerosis [J]. Chin J Gerontol, 2019, 39(18): 4585-4588.
- [15] 周国铭, 王玺, 何成峙, 等. 桃仁现代研究进展和炮制方法历史沿革 [J]. 中草药, 2024, 55(13): 4565-4574. Zhou G M, Wang X, He C Z, et al. Research progress and historical evolution on processing methods of *Persicae Semen* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(13): 4565-4574.
- [16] Hao E W, Pang G F, Du Z C, et al. Peach kernel oil downregulates expression of tissue factor and reduces atherosclerosis in ApoE knockout mice [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(2): 405.
- [17] 苗佳勇, 董馨, 况媛媛, 等. 赤芍的研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(10): 236-242. Miao J Y, Dong X, Kuang Y Y, et al. Research progress and quality markers prediction of Chishao (*Paeoniae Radix Rubra*) [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2024, 42(10): 236-242.
- [18] 徐浩, 文川, 陈可冀, 等. 川芎、赤芍及其有效部位配伍对载脂蛋白 E 基因缺陷小鼠动脉粥样硬化斑块稳定性影响的研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2007, 27(6): 513-518. Xu H, Wen C, Chen K J, et al. Study on the effect of *Rhizoma Chuanxiong*, *Radix Paeoniae Rubra* and the compound of their active ingredients, Xiongshao Capsule, on stability of atherosclerotic plaque in ApoE^(-/-) mice [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2007, 27(6): 513-518.
- [19] Zhang Z Z, Yu X H, Tan W H. Baicalein inhibits macrophage lipid accumulation and inflammatory response by activating the PPAR γ /LXR α pathway [J]. Clin Exp Immunol, 2022, 209(3): 316-325.
- [20] Shahzad N, Khan W, Md S, et al. Phytosterols as a natural anticancer agent: Current status and future perspective [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 88: 786-794.
- [21] Al Zahrani N A, El-Shishtawy R M, Asiri A M. Recent developments of gallic acid derivatives and their hybrids in medicinal chemistry: A review [J]. Eur J Med Chem, 2020, 204: 112609.
- [22] Clark M, Centner A M, Ukhonov V, et al. Gallic acid ameliorates atherosclerosis and vascular senescence and remodels the microbiome in a sex-dependent manner in ApoE^{-/-} mice [J]. J Nutr Biochem, 2022, 110: 109132.
- [23] 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.
- [24] Liu J F, Zhang C, Liu S, et al. Tanshinone II_A promotes apoptosis by downregulating BCL2 and upregulating TP53 in triple-negative breast cancer [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2023, 396(2): 365-374.
- [25] Zekavat S M, Viana-Huete V, Matesanz N, et al. TP53-mediated clonal hematopoiesis confers increased risk for incident atherosclerotic disease [J]. Nat Cardiovasc Res, 2023, 2: 144-158.
- [26] Jr R R. Src protein-tyrosine kinase structure, mechanism, and small molecule inhibitors [J]. Pharmacol Res, 2015, 94: 9-25.
- [27] Ding H Y, Jiang M C, Chan A M, et al. Targeting the tyrosine kinase Src in endothelium attenuates inflammation and atherogenesis induced by disturbed flow [J]. Br J Pharmacol, 2024.
- [28] Byeon S E, Yi Y S, Oh J, et al. The role of Src kinase in macrophage-mediated inflammatory responses [J]. Mediators Inflamm, 2012, 2012: 512926.
- [29] Fernández-Hernando C, Ackah E, Yu J, et al. Loss of Akt1 leads to severe atherosclerosis and occlusive coronary artery disease [J]. Cell Metab, 2007, 6(6): 446-457.
- [30] Chen Q, Lv J J, Yang W W, et al. Targeted inhibition of STAT3 as a potential treatment strategy for atherosclerosis [J]. Theranostics, 2019, 9(22): 6424-6442.
- [31] An H J, Gwon M G, Gu H, et al. STAT3/NF- κ B decoy oligodeoxynucleotides inhibit atherosclerosis through regulation of the STAT/NF- κ B signaling pathway in a mouse model of atherosclerosis [J]. Int J Mol Med, 2023,

- 51(5): 37.
- [32] Libby P, Ridker P M, Hansson G K, et al. Inflammation in atherosclerosis: From pathophysiology to practice [J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 54(23): 2129-2138.
- [33] Lu X L, Zhao C H, Yao X L, et al. Quercetin attenuates high fructose feeding-induced atherosclerosis by suppressing inflammation and apoptosis via ROS-regulated PI3K/AKT signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 85: 658-671.
- [34] Zhang X, Evans T D, Chen S, et al. Loss of macrophage mTORC2 drives atherosclerosis via FoxO1 and IL-1 β signaling [J]. Circ Res, 2023, 133(3): 200-219.
- [35] Twarda-Clapa A, Olczak A, Białkowska A M, et al. Advanced glycation end-products (AGEs): Formation, chemistry, classification, receptors, and diseases related to AGEs [J]. Cells, 2022, 11(8): 1312.
- [36] Duan Y J, Gong K, Xu S W, et al. Regulation of cholesterol homeostasis in health and diseases: From mechanisms to targeted therapeutics [J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 265.
- [37] 朱俊霞, 史佩玉, 綦向军, 等. 基于网络药理学和分子对接的半夏泻心汤治疗慢性萎缩性胃炎作用机制探讨 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(1): 98-110.
- Zhu J X, Shen P Y, Qi X J, et al. Mechanism of Banxia-Xiexin Decoction in treatment of chronic atrophic gastritis [J]. Drug Eval Res, 2021, 44(1): 98-110.

[责任编辑 刘东博]