

# 基于网络药理学 探讨金银花抗动脉粥样硬化的作用机制\*

曾长林<sup>1</sup> 胡子毅<sup>2</sup> 魏明全<sup>2\*</sup> 李人亮<sup>3</sup> 张平<sup>3</sup> 易莹<sup>3</sup>

(1.江西省永修县人民医院中医科,江西永修 330300;2.江西中医药大学附属医院急诊科,江西 南昌 330006;  
3.江西中医药大学,江西 南昌 330004)

**摘要:**目的 运用网络药理学方法探究金银花治疗动脉粥样硬化的分子作用机制。方法 通过多个数据库查找并筛选金银花的活性成分、作用靶点和动脉粥样硬化基因。通过 Cytoscape 3.7.2 软件构建“药物-活性成分-靶点-疾病”网络。运用 R 4.0.4 软件进行 GO 功能分析及 KEGG 通路分析。结果 筛选出 17 个活性成分,196 个靶标蛋白,2419 个疾病基因,129 个药物-疾病交集基因。GO 功能富集分析得到 GO 条目 2584 个,包括生物过程 2328 个,分子功能 172 个和细胞组分 84 个。KEGG 通路富集筛选得到信号通路 162 条,主要涉及血脂和动脉粥样硬化、流体剪切应力和动脉粥样硬化等。结论 金银花可能主要通过  $\beta$ -胡萝卜素、木樨草素、山柰酚和槲皮素等多种活性成分作用于 JUN、RELA、IL1B、IL6 和 MAPK1 等基因,直接调控血脂和动脉粥样硬化以及流体剪切应力和动脉粥样硬化通路起到抗动脉粥样硬化作用。

**关键词:**网络药理学;金银花;动脉粥样硬化

doi:10.3969/j.issn.1672-2779.2022.05.059

文章编号:1672-2779(2022)-05-0154-04

## Discussion on the Mechanism of Anti-Atherosclerosis of Flos Lonicerae Based on Network Pharmacology

ZENG Changlin<sup>1</sup>, HU Ziyi<sup>2</sup>, WEI Mingquan<sup>2\*</sup>, LI Renliang<sup>3</sup>, ZHANG Ping<sup>3</sup>, YI Ying<sup>3</sup>

(1.Department of Traditional Chinese Medicine, Yongxiu County People's Hospital, Jiangxi Province, Yongxiu 330300, China;

2. Emergency Department, the Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi Province, Nanchang 330006, China;

3. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi Province, Nanchang 330004, China)

**Abstract: Objective** Using the method of network pharmacology to explore the molecular mechanism of Flos Lonicerae in the treatment of atherosclerosis. **Methods** The active components, action targets and atherosclerosis genes of Lonicerae japonica were searched and screened through multiple databases. PPI network and drug-active component-targets-disease network were mapped by Cytoscape 3.7.2 software. Functional enrichment and main action pathway analysis were carried out through R 4.0.4 software. **Results** 17 active ingredients, 196 target proteins, 2419 disease genes and 129 drug-disease intersection genes were screened out. A total of 2584 GO items were obtained by GO functional enrichment analysis, including 2328 biological processes, 172 molecular functions and 84 cellular components. A total of 162 signaling pathways were obtained by KEGG pathway enrichment and screening, mainly involving Lipid and atherosclerosis, Fluid shear stress and atherosclerosis, etc. **Conclusions** Flos Lonicerae may directly regulate blood lipid and atherosclerosis as well as fluid shear stress and atherosclerosis pathway by acting on genes such as JUN, RELA, IL1B, IL6 and MAPK1 mainly through  $\beta$ -carotene, luteolin, kaumferol and quercetin.

**Keywords:** network pharmacology; Flos Lonicerae; atherosclerosis

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心血管疾病最普遍的病变基础。由于脂质沉积在动脉血管内壁,并

伴有平滑肌细胞和纤维基质增生,逐渐形成分散或成片的粥样斑块,导致血管管腔变窄不稳定的粥样斑块还容

益母草,用盐、醋、姜和酒混合液拌匀吸尽后,蒸2小时,晒干……”。本研究结果提示,蒸制对盐酸益母草碱影响较大,蒸制后盐酸益母草碱含量明显减少,马恩耀<sup>[1]</sup>研究发现蒸制超过1h的四制益母草中盐酸水苏碱和盐酸益母草碱均减少,因此认为蒸制2h是不合理的。本研究只是初步探讨蒸制和浸泡对四制益母草盐酸水苏碱、盐酸益母草碱和水溶性浸出物的影响,研究结果可

能没有全面系统地反映蒸制和浸泡对四制益母草质量的影响,今后将进一步深入研究阐明蒸制和浸泡对四制益母草质量的影响,为优化四制益母草炮制方法提供参考。

### 参考文献

- [1] 清·何克谦.生草药性备要[M].影印本.广州:广东科技出版社,2009:39.
- [2] 广东省卫生厅.广东省中药炮制规范[M].广州:广东省卫生厅,1984:198.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)[M].北京:中国医药科技出版社,2015:104,202.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[M].北京:中国医药科技出版社,2015:290-291.
- [5] 马恩耀.四制益母草炮制工艺和质量标准研究[D].广东:广州中医药大学,2017.

\* 基金项目:江西省中医药中青年骨干人才培养计划[No.赣中医药科教学[2020]2号];江西省卫生健康委科技计划项目[No.202130558];江西中医药大学附属医院中医药循证能力建设基金项目[No.2019XZZX-LG005]

※通讯作者:282344043@qq.com

(本文责编:王璞松皓 本文校对:邓桂珠 收稿日期:2021-03-23)

易破裂出血形成血栓,从而导致急性心脑血管疾病的发生<sup>[1]</sup>。金银花首载于《名医别录》,味甘,性寒,归肺、胃、大肠经,具有清热解毒之功。现代药理研究<sup>[2,3]</sup>发现金银花具有抗炎、抑制血小板凝聚、抗氧化、提高免疫力等诸多功用。近年来有学者<sup>[4]</sup>提出运用清热解毒法防治AS。因此,本文拟通过网络药理学方法探讨金银花的药物活性成分及其治疗AS可能的作用机制,为该药对改善AS的体内外研究提供基础。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 本研究所涉及数据库包括:中药系统药理学技术平台(TCMSP)数据库(<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>)、Uniprot数据库(<https://www.uniprot.org/>)、GeneCards数据库(<http://www.genecards.org/>)、Drugbank数据库(<https://www.drugbank.ca/>)、PharmGkb数据库(<https://www.pharmgkb.org/>)、TTD数据库(<http://db.idrblab.net/ttd/>)、String数据库(<https://string-db.org/>)。

**1.2 金银花活性成分的获取及靶点的筛选** 通过TCMSP数据库对金银花的化学成分进行检索,设置口服吸收利用率(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18进行活性成分的筛选<sup>[5]</sup>,在Drugbank数据库中查找金银花活性成分对应的有效靶点。

**1.3 动脉粥样硬化靶点的预测** 以“Atherosclerosis”为关键词,通过GeneCards、Drugbank、PharmGkb和TTD数据库进行检索,去除重复及假阳性的靶点后取并集,从而获取AS的靶标基因。

**1.4 蛋白互作网络(PPI)与“药物-活性成分-靶点-疾病”网络的构建** 通过Venn diagrams在线工具将上述所获得的药物靶标与疾病靶标进行映射,取交集基因后,利用String数据库进行靶标蛋白互作分析,物种设为“Homo sapiens”(人类),最低相互作用阈值设为最高置信度0.9“highest confidence”,其余参数保持默认设置<sup>[6]</sup>。通过Cytoscape 3.7.2软件绘制“药物-活性成分-靶点-疾病”网络图,运用cytoHubba插件进行核心靶点的筛选。

**1.5 基因本体论(GO)分类富集分析及京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析** 通过R 4.0.4软件中的Bioconductor包进行GO和KEGG富集分析。

## 2 结果

**2.1 金银花的有效成分与靶点** 通过TCMSP数据库筛选出17个活性成分,对应196个靶标蛋白。

**2.2 动脉粥样硬化靶点的预测** 通过GeneCards数据库检索出4481个疾病靶标,设置相关系数≥1后筛选出2371个靶标,通过Drugbank数据库检索出46个疾病靶标,通过PharmGkb数据库检索出26个疾病靶标,通过TTD数据库检索出22个疾病靶标。对上述结果进行去并集并剔除重复值后,最终获得2419个AS靶标。

**2.3 PPI网络与“药物-成分-靶点-疾病”网络的构建** 通过Venn diagrams在线工具将金银花对应靶标与AS靶标进行映射,共获得129个共有靶标,即为金银花治疗AS的关键靶标。利用String数据库将映射所得的129个靶点制作成PPI网络,见图1。利用cytoHubba插

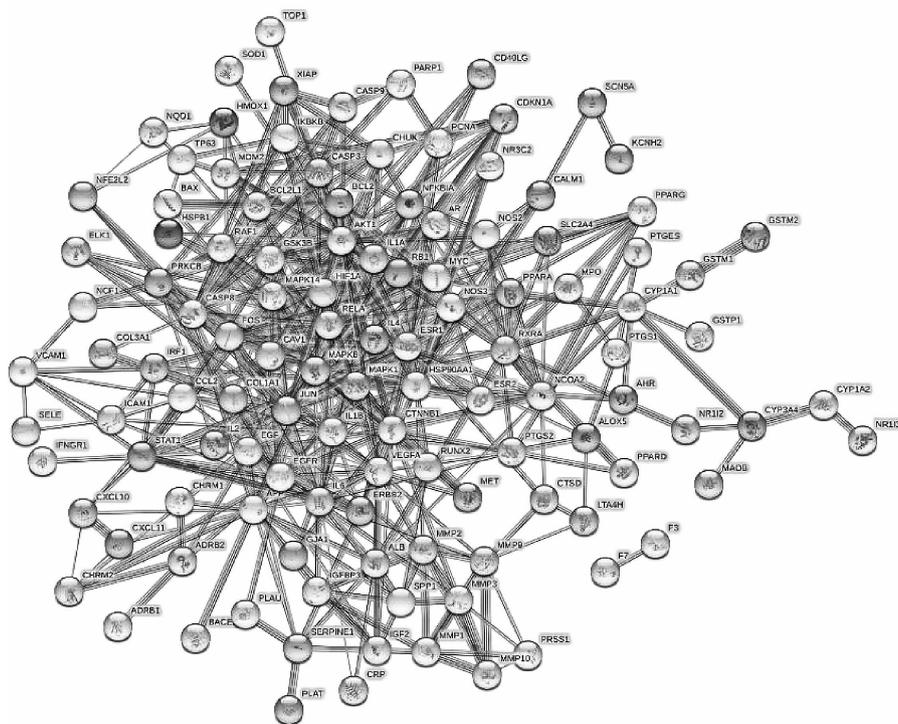
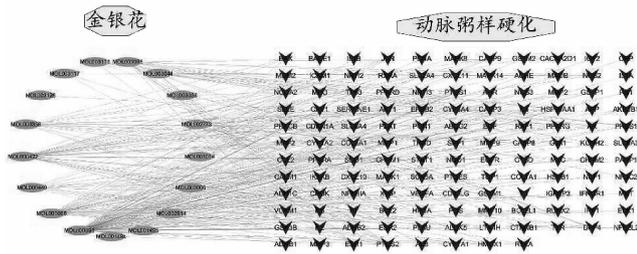


图1 金银花治疗AS的PPI网络图

件筛选出得分最高的 10 位基因依次为 JUN、RELA、MAPK1、MYC、IL6、IL4、IL1B、AKT1、MAPK14 和 IL2。将整理得到金银花活性成分及关键靶点导入 Cytoscape 3.7.2 软件构建“药物-成分-靶点-疾病”网络图，见图 2。其中，槲皮素 (Quercetin)、山柰酚(Kaempferol)、木犀草素 (Luteolin)、 $\beta$ -谷甾醇(beta-sitosterol)和豆甾醇(Stigmasterol)等的度值较高，均能与 25 个以上的靶点相连接，因此推测这 5 个成分可能是金银花发挥治疗 AS 作用的主要活性成分。



注：“○”为金银花的主要活性成分，“V”为金银花作用于 AS 的主要靶点。

图 2 药物-成分-靶点-疾病网络

2.4 GO 与 KEGG 富集分析 利用 R 4.0.2 软件中的 Bioconductor 软件包对 129 个关键靶点进行功能富集和主要作用通路分析，其中 GO 功能富集分析得到 GO 条目 2584 个 ( $P < 0.01$ )，包括生物过程(BP)2328 个，分子功能(MF)172 个和细胞组分(CC)84 个。KEGG 通路富集筛选得到信号通路 162 条 ( $P < 0.01$ )，选取排名在前 20 位的通路绘制气泡图，见图 3。

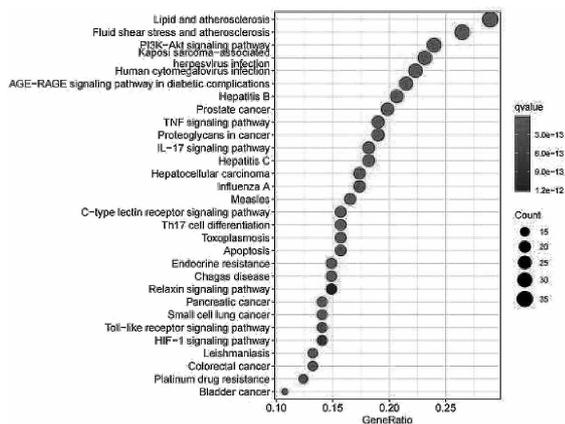


图 3 金银花治疗 AS 关键靶标的 KEGG 通路富集分析

### 3 讨论

AS 在中医学中无相对应病名。脂质代谢紊乱作为 AS 形成的主要病因，由于其临床表现与痰浊类的表现一致，故常将其归属于“痰浊”。也有学者认为 AS 当属于中医的“浊毒”，认为“浊毒”与细胞炎症通路之间可能存在着一定的关联，提出浊邪伏脉是 AS 形成的关键病机，进一步从“浊毒”理论探讨了 AS 治疗策略 [7,8]。中药网络药理学是通过构建“成分-靶点-疾病”复杂网络，从

整体和系统出发，阐释和分析研究对象的药理学机制，为研究中药成分复杂作用机制提供新的思路。

本研究筛选出金银花与 AS 的交集基因 129 个，通过构建“药物-成分-靶点-疾病”网络，我们发现槲皮素、山柰酚、木犀草素、 $\beta$ -谷甾醇和豆甾醇这 5 个成分可能是金银花发挥治疗 AS 作用的主要活性成分。研究显示槲皮素抑制小鼠腹腔巨噬细胞中氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)刺激的活性氧物种的过量生产来减轻 AS [9]。山柰酚可通过其抗氧化和抗炎作用治疗 AS，并通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路和增加内皮细胞自噬来缓解 ox-LDL 诱导的细胞凋亡 [10,11]。木犀草素可通过在体外抑制信号转导和转录激活因子 3 (STAT3)，减少 ox-LDL 诱导的炎症，显著减轻高脂饮食诱导的 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠的 AS [12]。 $\beta$ -谷甾醇可通过增加 p21<sup>cipl</sup> 蛋白水平抑制 VSMC 增殖，进而抑制 CDK2 活性，最终阻断细胞周期的进展，从而发挥抗 AS 的活性 [13]。豆甾醇是一种与胆固醇结构相似的植物甾醇，因其抗 AS、降低胆固醇的作用而被广泛研究，修饰脂蛋白中豆甾醇的存在促进了胆固醇外流，抑制了巨噬泡沫细胞对脂质负荷的炎症细胞因子分泌 [14]。

本研究通过 MCC 算法筛选出金银花治疗 AS 的 10 个关键基因，即 JUN、RELA、MAPK1、MYC、IL6、IL4、IL1B、AKT1、MAPK14 和 IL2。其中 IL1B、IL2、IL4 和 IL6 均属于白细胞介素家族，白细胞介素在传递信息，激活与调节免疫细胞，介导 T、B 细胞活化、增殖与分化及在炎症反应中起重要作用。MAPK1 和 MAPK14 属于丝裂原激活的蛋白激酶，与巨噬细胞胆固醇稳态和 AS 基因表达有关 [15]。研究 JUN 证明与高胆固醇血症诱导的 AS 有关 [16]。RELA 是 NF- $\kappa$ B 家族最重要的功能子单位，而 NF- $\kappa$ B 又是炎症过程的主要调节器，在 AS 中起着关键作用 [7]。MYC 基因是较早发现的一组癌基因，包括 c-Myc、N-Myc 和 L-Myc。原癌基因 c-Myc 的表达改变与细胞内氧化应激和增加的 DNA 损伤有关，参与了体外和体内早期 AS 形成的氧化敏感机制的启动 [18]。研究 [19] 显示 AKT1 可通过抑制 FoxO3a 及其下游基因包括凋亡蛋白酶激活因子 1 (Apaf-1)，在血管重塑和 AS 形成过程中是 VSMCs 存活的主要调节因子，AKT1 的下调抑制了血管平滑肌细胞的迁移和存活，并改善了 AS 过程中斑块薄弱和心功能不全的特征。

基于 KEGG 通路富集分析发现，金银花可直接作用于血脂和 AS 以及流体剪切应力和 AS 通路。此外还可作用于 PI3K-Akt 信号通路、糖尿病并发症中 AGE-RAGE 信号通路、TNF 信号通路等与 AS 发生发展相关的信号通路。PI3K-Akt 信号通路是细胞中经典的信号通路，参与细胞增殖、细胞周期、细胞凋亡、炎症、缺血损伤和肿瘤进展等多种生理病理过程。晚期糖基化终末产物 (AGEs) 被广泛认为是糖尿病动脉硬化发病的重要诱导因素，糖尿病患者体内产生的 AGEs 通过激活 AGE-RAGE 信号通路，

然后激活 FSTL1 的表达,从而促使 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等炎症因子的表达,进一步导致 AS 的发生<sup>[20]</sup>。另外 TNF 信号通路也与炎症反应有关,参与 AS 的发展过程<sup>[21]</sup>。

综上所述,金银花可能主要通过  $\beta$ -胡萝卜素、木犀草素、山柰酚和槲皮素等多种活性成分作用于 JUN、RELA、IL1B、IL6 和 MAPK1 等基因,可直接调控血脂和 AS、流体剪切应力和 AS 通路起到抗动脉粥样硬化作用。本研究发现金银花在治疗动脉粥样硬化方面具有很大潜力,值得进一步通过体内外实验进行验证。

#### 参考文献

[1] 安冬青,吴宗贵.动脉粥样硬化中西医结合诊疗专家共识[J].中国全科医学,2017,20(5):507-511.  
[2] 吴娇,王聪,于海川.金银花中的化学成分及其药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(4):225-234.  
[3] 张家燕.中药金银花的药用成分及药理作用分析[J].中国医药指南,2019,17(17):177-178.  
[4] 雷雅伦,杨化冰,刘洪涛.动脉粥样硬化内生热毒病机及清热解毒法运用探讨[J].湖北中医药大学学报,2020,22(4):48-51.  
[5] 林娟,李玲慧,李丹,等.基于网络药理学探讨抗感方抗病毒作用机制[J].中国中医药现代远程教育,2021,19(3):48-50.  
[6] 李人亮,胡子毅,张平.基于网络药理学探讨温胆汤治疗高血压的作用机制[J].中医药通报,2021,20(1):38-43.  
[7] 胡芳,沈金峰,邓鹏,等.基于中医的“浊”与核因子- $\kappa$ B探讨动脉粥样硬化的病机[J].中华中医药学刊,2019,37(10):2421-2423.  
[8] 胡芳,沈金峰,刘中勇.从“浊毒”探析动脉粥样硬化病机及治疗[J].辽宁中医杂志,2019,46(5):956-958.  
[9] 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.  
[10] FENG H,CAO J L,ZHANG G Y,et al.Kaempferol Attenuates Cardiac Hypertrophy via Regulation of ASK1/MAPK Signaling Pathway and Oxidative Stress[J].Planta Med,2017,83(10):837-845.  
[11] CHE J B,LIANG B,ZHANG Y,et al.Kaempferol alleviates ox-LDL-induced apoptosis by up-regulation of autophagy via in-

hibiting PI3K/Akt/mTOR pathway in human endothelial cells[J]. Cardiovasc Pathol,2017,31:57-62.

[12] DING X J,ZHENG L L,YANG B,et al.Luteolin Attenuates Atherosclerosis Via Modulating Signal Transducer And Activator Of Transcription 3-Mediated Inflammatory Response[J]. Drug Des Devel Ther,2019,13:3899-3911.  
[13] CHIEN M H,LEE T S,LIANG Y C,et al. $\beta$ -Sitosterol inhibits cell cycle progression of rat aortic smooth muscle cells through increases of p21cip1 protein[J].J Agric Food Chem,2010,58(18):10064-10069.  
[14] SABEVA N S,MCPHAUL C M,LI X G,et al.Phytosterols differentially influence ABC transporter expression,cholesterol efflux and inflammatory cytokine secretion in macrophage foam cells[J].J Nutr Biochem,2011,22(8):777-783.  
[15] DETMERS P A,HERNANDEZ M,MUDGETT J,et al.Deficiency in inducible nitric oxide synthase results in reduced atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice[J].J Immunol,2000,165(6):3430-3435.  
[16] SOZEN E,KARADEMIR B,YAZGAN B,et al.Potential role of proteasome on c-jun related signaling in hypercholesterolemia induced atherosclerosis[J].Redox Biol,2014,2:732-738.  
[17] GAO W,LIU H B,YUAN J,et al.Exosomes derived from mature dendritic cells increase endothelial inflammation and atherosclerosis via membrane TNF- $\alpha$ mediated NF- $\kappa$ B pathway[J].J Cell Mol Med,2016,20(12):2318-2327.  
[18] DE NIGRIS F,BALESTRIERI M L,Napoli C.Targeting c-Myc,Ras and IGF cascade to treat cancer and vascular disorders[J].Cell Cycle,2006,5(15):1621-1628.  
[19] ROTLLAN N,WANSCHER A C,FERNÁNDEZ-HERNANDO A,et al.Genetic Evidence Supports a Major Role for Akt1 in VSMCs During Atherogenesis[J].Circ Res,2015,116(11):1744-1752.  
[20] 陈媛媛,陈亚芬,孙学然,等.糖基化终末产物调控糖尿病合并动脉粥样硬化中FSTL1表达的机制研究[J].国际心血管病杂志,2019,46(1):31-35.  
[21] KIM C W,OH E T,PARK H J.A strategy to prevent atherosclerosis via TNF receptor regulation[J].Faseb j,2021,35(3):e21391.

(本文责编:王璞松皓 本文校对:叶菁 收稿日期:2021-05-11)

(上接第150页)白夏芬等<sup>[8]</sup>发现苓甘五味姜辛汤治疗寒饮伏肺型肺部疾患效果良好,但对其机制尚不十分明确。有学者发现<sup>[9]</sup>,厚朴煎剂有广谱抗菌作用,对多种革兰阳性及阴性菌及常见致病性皮肤真菌有抑菌作用。半夏厚朴汤对于卒中相关性肺炎有明显的效果,而且对神经系统的恢复也有一定作用,能够改善患者症状及体征,且未发现明显不良反应<sup>[10]</sup>。

#### 参考文献

[1] 清·吴谦.医宗金鉴[M].北京:人民卫生出版社,2006:75.  
[2] 王庆国.伤寒论选读[M].北京:中国中医药出版社,2012:7.  
[3] 林昶,杨长福,杨红梅,等.半夏厚朴汤的现代药理研究进展[J].贵阳中医学院学报,2016,38(6):92-95.  
[4] 汉·张仲景.伤寒论[M].钱超尘,郝万山,整理.北京:人民卫生出版

社,2005:37.

[5] 孟大平.小青龙汤加减治疗感冒后咳嗽的临床效果分析[J].中国处方药,2019,18(3):122-123.  
[6] 张莹,周小莉.小柴胡汤对机体免疫系统的影响及临床应用[J].中医药导报,2016,22(8):116-118.  
[7] 柴小梅,李英,秦雪梅.小柴胡汤临床应用与药理作用研究进展[J].山西中医学院学报,2007,8(3):59-60.  
[8] 白夏芬,卢林,孙琳林.苓甘五味姜辛汤治疗肺部疾病的研究进展[J].中国老年学杂志,2019,39(18):3.  
[9] 杨熙东.厚朴的药理作用及临床应用[J].中国社区医师,2011,13(26):151.  
[10] 郭欢.半夏厚朴汤加减治疗卒中相关性肺炎的临床观察[J].中国中医急症,2016,25(7):1447-1449.

(本文责编:王璞松皓 本文校对:邱婧 收稿日期:2020-11-04)