

◆网络药理学◆

基于网络药理学和实验验证探究桃红饮治疗动脉粥样硬化作用机制

郭长学¹, 赵晓乐², 李小伟²

1. 漯河市中心医院, 河南 漯河 462300; 2. 河南中医药大学, 河南 郑州 450002

[摘要] 目的: 基于网络药理学和实验验证探讨桃红饮治疗动脉粥样硬化(AS)的作用机制。方法: 利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)获得桃红饮的活性成分及靶标, 通过蛋白质相互作用(PPI)分析筛选桃红饮治疗AS的潜在活性成分及核心靶标, 并对核心靶标进行基因本体(GO)及基因组百科全书(KEGG)通路富集分析, 采用Cytoscape软件构建“疾病-中药-成分-核心靶点”多维关联可视化网络, 获得桃红饮治疗AS的关键活性成分及靶标; 采用AutoDock软件对部分化合物及靶标进行分子对接。利用ApoE^{-/-}雄性小鼠高脂饮食喂养建立AS模型, 采用桃红饮干预进行实验验证。结果: 共获得桃红饮37个活性成分, 603个靶标, 获得桃红饮干预AS的靶标92个, 核心靶标23个, 主要为白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、重组人趋化因子8(CXCL8)、基质金属蛋白酶9(MMP9)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)等。关键通路为辅助性T细胞17(Th17)免疫调节信号通路、IL-17信号通路等。分子对接结果显示关键化合物赤霉素7、常春藤皂苷元、木犀草素、洋川芎醌、恩比宁等5种活性成分和关键靶标(CXCL8、MMP9、IL-1 β 、IL-6)分子对接良好。动物实验发现, 桃红饮能够抑制小鼠主动脉管腔内动脉粥样硬化斑块形成, 降低血清甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平和血清IL-1 β 、IL-6水平, 调控核心靶点CXCL8、MMP9的表达。结论: 桃红饮中赤霉素7、常春藤皂苷元、木犀草素、洋川芎醌、恩比宁等成分能够作用于IL-1 β 、IL-6、CXCL8、MMP9等靶点, 其机制可能与IL-17信号通路调节有关。

[关键词] 动脉粥样硬化; 桃红饮; 网络药理学; 分子对接; 动物实验; 小鼠

[中图分类号] R285 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415(2025)07-0021-10

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2025.07.004

Exploring Mechanism of Action of Taohong Decoction in Treating Atherosclerosis Based on Network Pharmacology and Experimental Validation

GUO Changxue¹, ZHAO Xiaole², LI Xiaowei²

1. Luohe Central Hospital, Luohe Henan 462300, China; 2. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou Henan 450002, China

Abstract: **Objective:** To explore the mechanism of action of Taohong Decoction in the treatment of atherosclerosis (AS) based on network pharmacology and experimental validation. **Methods:** The active components and targets of Taohong Decoction were obtained using the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). The potential active components and core targets of Taohong Decoction in treating AS were screened through protein-protein interaction (PPI) analysis. The core targets were subjected to Gene

[收稿日期] 2023-12-11

[修回日期] 2025-01-20

[基金项目] 河南省高等学校重点科研项目(22A360005)

[作者简介] 郭长学(1975-), 男, 副主任医师, E-mail: gcxue@126.com。

[通信作者] 赵晓乐(2000-), 女, 在读硕士研究生, E-mail: zhaoxle@126.com。

Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. The "disease-medicinals-component-core target" multi-dimensional association visualization network was constructed using Cytoscape software to obtain the key active components and targets of Taohong Decoction in treating AS. Molecular docking of some compounds and targets was performed using AutoDock software. An AS model was established by feeding ApoE^{-/-} male mice with a high-fat diet, and Taohong Decoction intervention was used for experimental validation. **Results:** A total of 37 active components and 603 targets of Taohong Decoction were obtained, with 92 targets for Taohong Decoction intervention in AS and 23 core targets, mainly including interleukin-17 (IL-17), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor (TNF), interleukin-1 β (IL-1 β), recombinant human chemokine 8 (CXCL8), matrix metalloproteinase 9 (MMP9), and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1). The key pathways were the Th17 immune regulation signaling pathway and the IL-17 signaling pathway. Molecular docking results showed that the key compounds giberellin 7, hederagenin, luteolin, ligustrazine, and emodin, among five active components, had good molecular docking with key targets (CXCL8, MMP9, IL-1 β , and IL-6). Animal experiments found that Taohong Decoction could inhibit the formation of atherosclerotic plaques in the aortic lumen of mice, reduce the levels of serum triglyceride (TG), cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), IL-1 β , and IL-6, and regulate the expression of core targets CXCL8 and MMP9. **Conclusion:** The components giberellin 7, hederagenin, luteolin, ligustrazine, and emodin in Taohong Decoction can act on targets such as IL-1 β , IL-6, CXCL8, and MMP9, and their mechanism may be related to the regulation of the IL-17 signaling pathway.

Keywords: Atherosclerosis; Taohong Decoction; Network Pharmacology; Molecular Docking; Animal Experiment; Mice

动脉粥样硬化(AS)是一种慢性免疫性炎性动脉壁疾病,是导致缺血性心脑血管疾病发生发展的主要病理基础^[1-2]。研究认为AS的发病机制与脂质代谢紊乱、炎症反应、氧化应激、血小板活化、内皮细胞的损伤、铁死亡、平滑肌细胞的增殖和迁移等相关^[3-4]。目前西药治疗AS通常采用阿托伐他汀和阿司匹林等药物进行干预,但这些他汀类和抗血小板类药物具有明显的不良反应,例如长期服用会诱发胃肠道反应,导致脏器或者黏膜出血,肝肾功异常等^[5]。中医将AS归属于胸痹、脉痹、中风等范畴。治疗应以活血化瘀、通脉除痹为主要治则。桃红饮源自《类证治裁》,由桃仁、红花、川芎、当归尾、威灵仙等药物组成,具有活血化瘀、通脉除痹的作用。本研究运用网络药理学和分子对接探讨桃红饮治疗AS的作用机制,并通过动物实验验证桃红饮治疗AS的具体机制,以期桃红饮治疗AS提供更多参考。

1 实验材料与方法

1.1 实验动物 健康雄性载脂蛋白E基因敲

除(ApoE^{-/-})小鼠60只,体质量(20 $\pm$ 2)g;C57BL/6健康雄性ApoE^{-/-}小鼠15只,体质量(20 $\pm$ 2)g,8周龄,SPF级,均购自杭州子源实验动物科技有限公司[动物许可证号:SCXK(浙)2019-0004]。所有动物饲养、实验操作均在河南中医药大学动物实验中心进行。本动物实验经河南中医药大学实验动物伦理委员会审核批准(IACUC-202301001)。

1.2 实验药物、试剂与仪器 桃红饮由桃仁、红花、川芎、当归尾、威灵仙各9g组成,饮片购自河南中医药大学第二附属医院。BCA蛋白提取试剂盒购自上海碧云天生物技术股份有限公司;趋化因子8(CXCL8)抗体、基质金属蛋白酶9(MMP9)抗体均购自Affinity Biosciences公司;总RNA提取试剂盒、GAPDH抗体、抗小鼠/兔通用型免疫组化检测试剂盒均购自武汉三鹰生物技术有限公司;白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、酶联免疫吸附试验(ELISA)测定试剂盒及饱和油红O染色液、苏木素伊红(HE)染色试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司。徕卡全自

动树脂处理机、徕卡全自动超薄切片机、JT-12J型电脑生物组织脱水机均购自武汉俊杰电子有限公司;HD-310型石蜡包埋机、HD-320型切片机、HD-330型摊片烤片机均购自湖北慧达仪器有限公司;正置荧光显微镜、生物显微镜均购自NIKON公司;凝胶电泳仪、化学发光凝胶成像仪均购自美国BIO RAD公司。

1.3 模型复制、分组及给药 将60只ApoE^{-/-}小鼠采用高脂饲料喂养12周制备AS模型。造模12周后随机抽取2只ApoE^{-/-}小鼠进行主动脉大体油红O染色观察主动脉内壁是否有斑块形成,以确定造模成功。采用随机数字表法将58只造模成功ApoE^{-/-}小鼠随机分为模型组、桃红饮低、中、高剂量组,其中模型组13只,桃红饮给药组各15只。15只C57BL/6J小鼠采用普通饲料喂养,作为正常组。桃红饮饮片加水1 000 mL充分浸泡后,煎煮2次,每次30 min,将2次煎煮的药液混合,过滤。根据人与动物等效剂量换算公式进行换算,按照人和动物体表面积折算的等效剂量比率表换算成中等剂量为43.2 g/(kg·d),相当于60 kg成人临床用量等效量的11.6倍,医院煎药房按照要求煎煮浓缩成生药含量1.738 g/mL,桃红饮低、中、高剂量组分别按21.6 g/(kg·d)、43.2 g/(kg·d)、86.4 g/(kg·d)进行灌胃。连续灌胃8周。去除动物造模鉴定时处死小鼠和实验过程死亡小鼠(因相互撕咬模型组死亡1只,高剂量组死亡2只,中剂量组死亡1只,低剂量组死亡3只;因灌胃致死高剂量组1只,中剂量组2只),最后各组进入统计的小鼠均为12只。

1.4 血脂检测 取材前小鼠禁食不禁水24 h,戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,眼眶取血1.5 mL,常温静置2~3 h,3 000 r/min,离心半径13.5 cm,离心10 min后,取上清液,-80℃冰箱保存待用。采用生物自动分析仪测定血清中甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量。

1.5 主动脉组织HE染色 将各组小鼠心脏于4%多聚甲醛固定后,用石蜡包埋、切片,HE染液洗染,甘油明胶封片,在光学显微镜下观察主动脉斑块。

1.6 炎症因子检测 收集小鼠血液,离心分离血清。

严格按照ELISA试剂盒说明书的方法检测各组小鼠血清IL-1β、IL-6水平。

1.7 主动脉CXCL8、MMP9蛋白水平检测 取各组小鼠主动脉约25 mg,加入RIPA裂解液后混匀,冰上裂解1 h后离心,抽取组织上清液,采用BCA法测定蛋白浓度。采用凝胶电泳(浓缩胶80 V,30 min;分离胶180 V,30 min)分离蛋白,用恒流250 mA进行90 min转膜,采用5%脱脂奶粉室温封闭2 h,一抗(GAPDH,1:5 000;CXCL8,1:5 000;MMP9,1:1 500)4℃摇床孵育过夜,TBST溶液洗膜(5 min×6次)后,兔二抗(1:5 000)室温摇床孵育1 h,TBST溶液洗膜(5 min×6次)后显影,通过Image J软件对条带灰度值进行定量分析。

1.8 主动脉CXCL8、MMP9的mRNA表达水平检测 取各组小鼠主动脉,采用Trizol提取卵巢组织总RNA,测定浓度,反转录为cDNA,内参基因选用β-actin,按照2^{-ΔΔCT}计算目的基因的相对表达量。引物序列如下,CXCL8上游引物:5'-CACACTTGCAATCAACTGCT-3';下游引物:5'-TCTCAGACTTACTCAAGATC-3'。MMP9上游引物:5'-GACTGTTGCACATATCTGGAG-3';下游引物:5'-TGCACAATAATGAGCATACAGTATC-3'。GAPDH上游引物:5'-AACATGACAAACACGTAGATC-3';下游引物:5'-ATCACCTACACTATGTCTACCA-3'。PCR反应条件:95℃60 s,95℃60 s,58℃30 s,72℃30 s,36次循环。

1.9 统计学方法 采用SPSS19.0统计学软件分析数据。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD-*t*检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 网络药理学研究方法

2.1 桃红饮的活性成分及其作用靶点筛选 在中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)检索桃仁、红花、川芎、当归尾、威灵仙,并以口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18为条件筛选出各味药物活性成分^[6]。将得到的化学成分通过PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中的Canonical SMILES结构,在Swiss Target Prediction数据库(<http://www.swisstarget-prediction.ch/>)中找到活性成分靶点。将上述靶点信

息合并后去重,获得桃红饮的潜在靶点。

2.2 AS相关靶点的筛选 以 atherosclerosis 为检索词,在人类基因数据库(GeneCards, <https://www.genecards.org/>)^[7]中进行检索,因GeneCards中AS的靶点相关性得分密切相关,故设置条件满足相关性得分 ≥ 3 作为AS的相关靶点。

2.3 关键活性成分及核心靶点筛选 利用在线绘图软件微生信(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)对获得的桃红饮作用靶点和AS靶点进行重合,取交集并绘制韦恩图,得到桃红饮抗AS的潜在靶点。将桃红饮抗AS的交集靶点上传至STRING 11.5(<https://cn.string-db.org/>)平台,将物种限定为“Homo sapiens”,最小互作用阈值设定为“medium confidence > 0.4”,并设置为隐藏网络中断开的节点,导出构建桃红饮靶标-AS靶标的PPI网络图。以tsv格式下载保存,导入Cytoscape 3.9.0软件中进行可视化分析^[8],并根据度值(Degree)、介数中心性(Betweenness centrality)、紧密中心性(Closeness centrality)3个拓扑参数均大于中位数的靶点作为核心靶点。采用Cytoscape 3.9.0软件,根据桃红饮和AS的共同核心靶点,构建“疾病-中药-成分-靶点”多维关联网络。

2.4 基因本体(GO)功能及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 通过Metascape(<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)平台^[9],将桃红饮和AS的共同靶点进行GO的生物过程(BP)、分子功能(MF)、细胞组分(CC)功能富集及KEGG通路

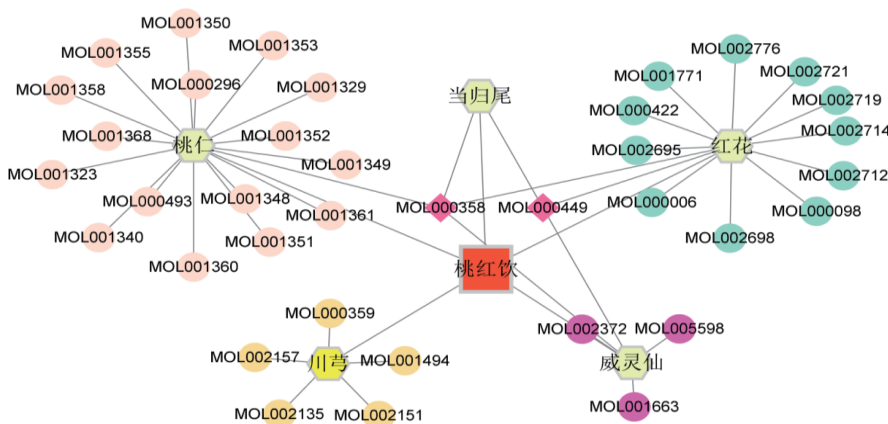
富集分析,同时将富集结果使用微生信进行可视化处理。

2.5 分子对接验证 从Pub Chem数据库找出桃红饮活性成分二维化学结构式,并在Open babel GUL软件中转化mol2格式。通过PDB(<https://www.rcsb.org/>)数据库^[10],获取核心靶点的3D受体蛋白结构,并以PDB格式保存。使用pyMOL 2.5.4软件对受体蛋白进行去水、分离原始配体和加氢等操作。将上述处理后的受体蛋白和桃红饮活性成分3D结构式导入AutoDock Tools 1.5.7软件转换为pdbqt格式^[11]。最后采用pyMOL 2.4.5对分子对接结果进行可视化显示。

3 结果

3.1 桃红饮的活性成分及作用靶点筛选 见图1。各中药活性成分为桃仁17个,红花13个,川芎5个,当归尾2个,威灵仙5个。去重后共筛选出37个活性成分。见图2,上述成分通过PubChem和SwissTarget Prediction数据库,去重后共筛选出靶点603个。GeneCards筛选出AS的相关靶点450个。桃红饮作用AS相关基因靶点92个。

3.2 桃红饮治疗AS潜在靶点蛋白质相互作用(PPI)网络 见表1、图3。将92个交集靶点导入STRING 11.5,获得PPI网络,共涉及92个节点,2 488条边,并在Cytoscape 3.9.0软件进行蛋白网络可视化显示。使用Cytoscape 3.9.0软件对交集靶点进行分析,利用拓扑分析,一共筛选出23个核心靶点。



注:正方形代表桃红饮,六边形代表药物,圆形代表活性成分,菱形代表药物的共同成分(MOL000358为桃仁、红花、当归尾、威灵仙共有成分;MOL000449为红花、当归尾、威灵仙共有成分)

图1 桃红饮活性成分网络图

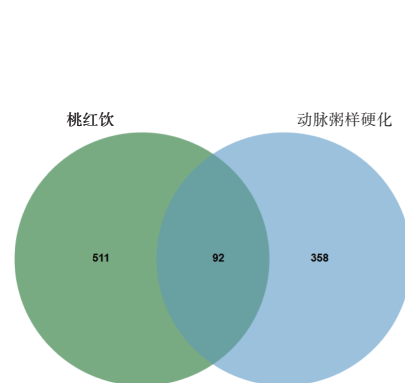


图2 桃红饮和AS共有靶点韦恩图

表 1 桃红饮治疗 AS 核心靶点基本信息

序号	核心靶点	Degree	介数 中心性	紧密 中心性	序号	核心靶点	Degree	介数 中心性	紧密 中心性
1	IL-6	150	605.72	0.85	13	丝氨酸蛋白酶抑制因子肽酶抑制因子(SERPINE1)	90	100.24	0.65
2	肿瘤坏死因子(TNF)	146	562.23	0.83	14	B 类清道夫受体 1(SCARB1)	88	126.82	0.65
3	IL-1β	138	406.74	0.80	15	血管紧张素转化酶(ACE)	88	217.87	0.65
4	蛋白激酶 B(AKT1)	126	367.04	0.76	16	载脂蛋白 B(APOB)	86	216.66	0.64
5	过氧化物酶体增生激活受体 γ(PPARG)	124	353.14	0.75	17	过氧化物酶体增殖物激活受体 α(PPARA)	82	153.05	0.64
6	前列腺素内过氧化物合酶(PTGS2)	114	245.44	0.72	18	髓过氧化物酶(MPO)	78	116.00	0.63
7	MMP9	112	137.46	0.72	19	淀粉样前体蛋白(APP)	70	153.20	0.61
8	CXCL8	106	108.43	0.70	20	肾素(REN)	70	70.81	0.61
9	信号转导和转录激活因子 3(STAT3)	106	260.19	0.70	21	人激肽原 1(KNG1)	66	93.82	0.60
10	细胞间黏附分子 1(ICAM1)	104	96.14	0.70	22	3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶(HMGCR)	66	82.08	0.60
11	6 号染色体的基因(ESR1)	102	198.81	0.69	23	丝裂原活化蛋白激酶 1(MAPK1)	64	174.16	0.60
12	17 号染色体的基因(TP53)	102	128.63	0.69					

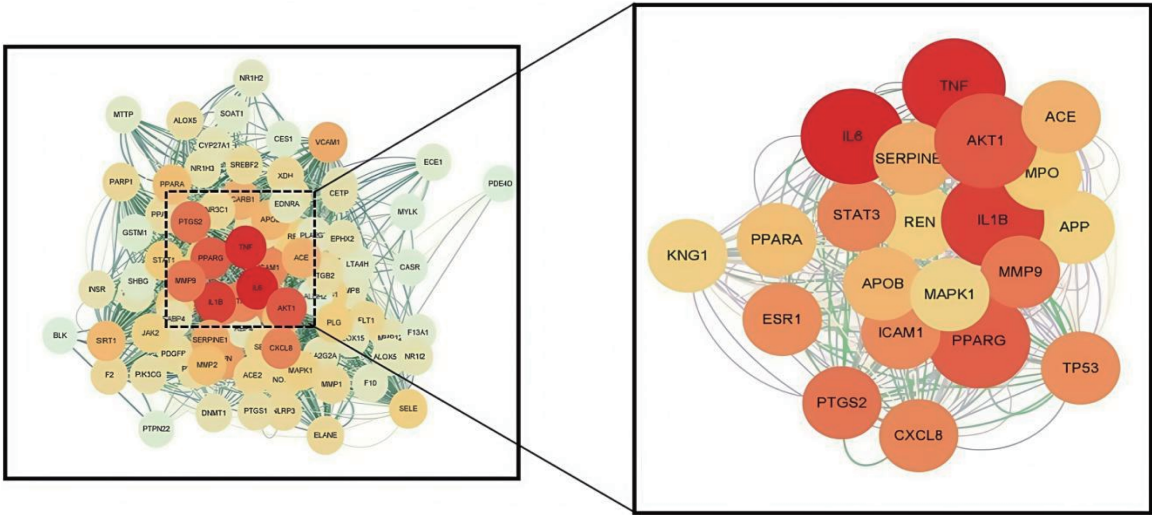


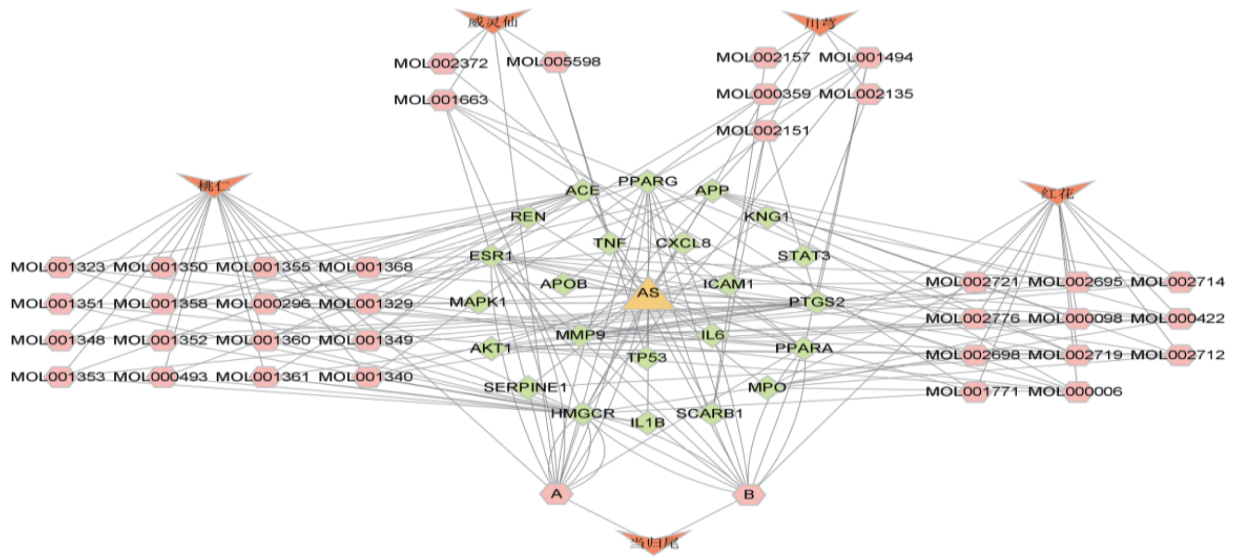
图 3 桃红饮治疗 AS 的 PPI 网络图

3.3 疾病-中药-成分-核心靶点图构建 见图4。采用Cytoscape3.9.0软件构建疾病-中药-成分-核心靶点多维关联网络。该网络共包含66个节点和205个边，其中节点包括5个药材、37个化合物、23个核心靶标和1个疾病。

3.4 富集分析 见图5。GO富集一共得到1257条生物过程(BP)，118项分子功能(MF)相关，52项细胞组成(CC)相关。BP主要涉及炎症反应调节、细胞对脂质的反应、细胞因子的调节等。MF主要涉及核受体活性、转录因子结合、核受体固醇受体活性等。CC主要涉及质膜整体成分、膜筏、血浆膜蛋白复合

物等。KEGG总共富集到158条信号通路，主要包括脂质和AS、Th17免疫调节信号通路、IL-17信号通路和TNF信号通路等。去除前20条通路中与AS疾病非相关的通路，其余通过气泡图进行可视化分析。Th17免疫调节信号通路共富集到4个核心靶标，分别为IL-1β、IL-6、MAPK1、STAT3；在IL-17信号通路共富集到7个核心靶标，分别为IL-1β、IL-6、CXCL8、MMP9、MAPK1、PTGS2、TNF。见图6。

3.5 分子对接 见表2。将上述所筛选的基因进一步分析其所对应的活性成分，得出每个基因所对应的活性成分，关键化合物赤霉素7、常春藤皂苷元、



注：A为beta-sitosterol (MOL000358) 为桃仁、红花、当归尾、威灵仙共有成分；B为 Stigmasterol (MOL000449) 为红花、当归尾、威灵仙共有成分

图4 疾病-中药-成分-核心靶点网络图

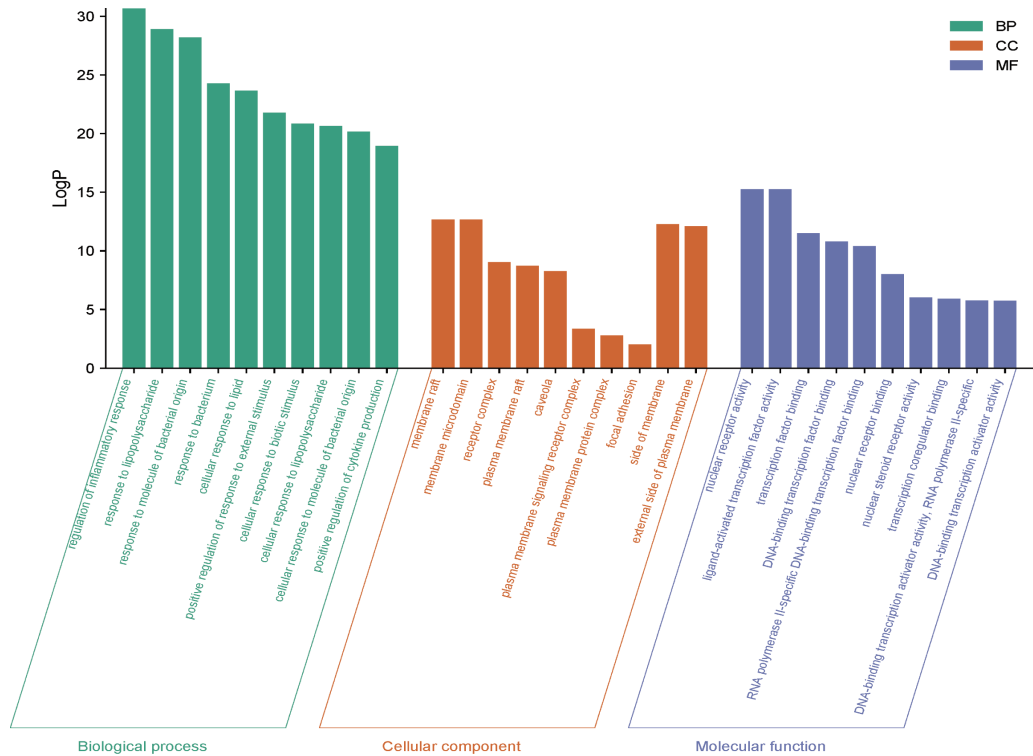


图5 GO功能富集分析结果 (前10)

木犀草素、洋川芎醌、恩比宁等5种活性成分和关键靶标 CXCL8、MMP9、IL-1 β 、IL-6 均能直接相互作用，采用 pyMOL2.5.4 软件将分子对接结果可视化显示，见图7。

3.6 各组小鼠血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平

比较 见表3。与正常组比较，模型组小鼠血清 TC、TG 和 LDL-C 水平升高 ($P < 0.05$)，HDL-C 水平降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较，桃红饮低、中、高剂量组小鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平降低 ($P < 0.05$)，HDL-C 水平升高 ($P < 0.05$)。

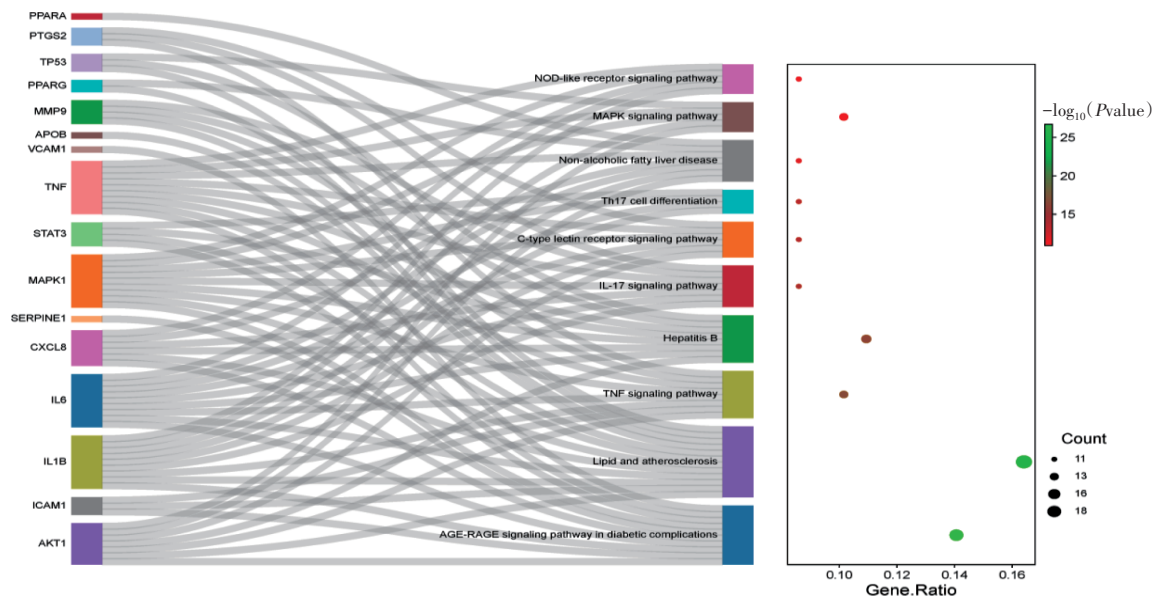


图6 KEGG通路富集分析

表2 靶点与活性成分分子对接结合自由能

kcal/mol

靶点名称	PDB ID	活性成分	结合能	靶点名称	PDB ID	活性成分	结合能
IL-6	5SFK	常春藤皂苷元(hederagenin)	-6.52	MMP9	4WZV	2,3-二脱氢(2,3-didehydro)	-6.38
IL-1 β	6Y8I	GA120	-7.26	CXCL8	6LFM	木脂素(lignan)	-7.11
		GA87	-7.53			赤霉素 A7(gibberellin 7)	-7.45

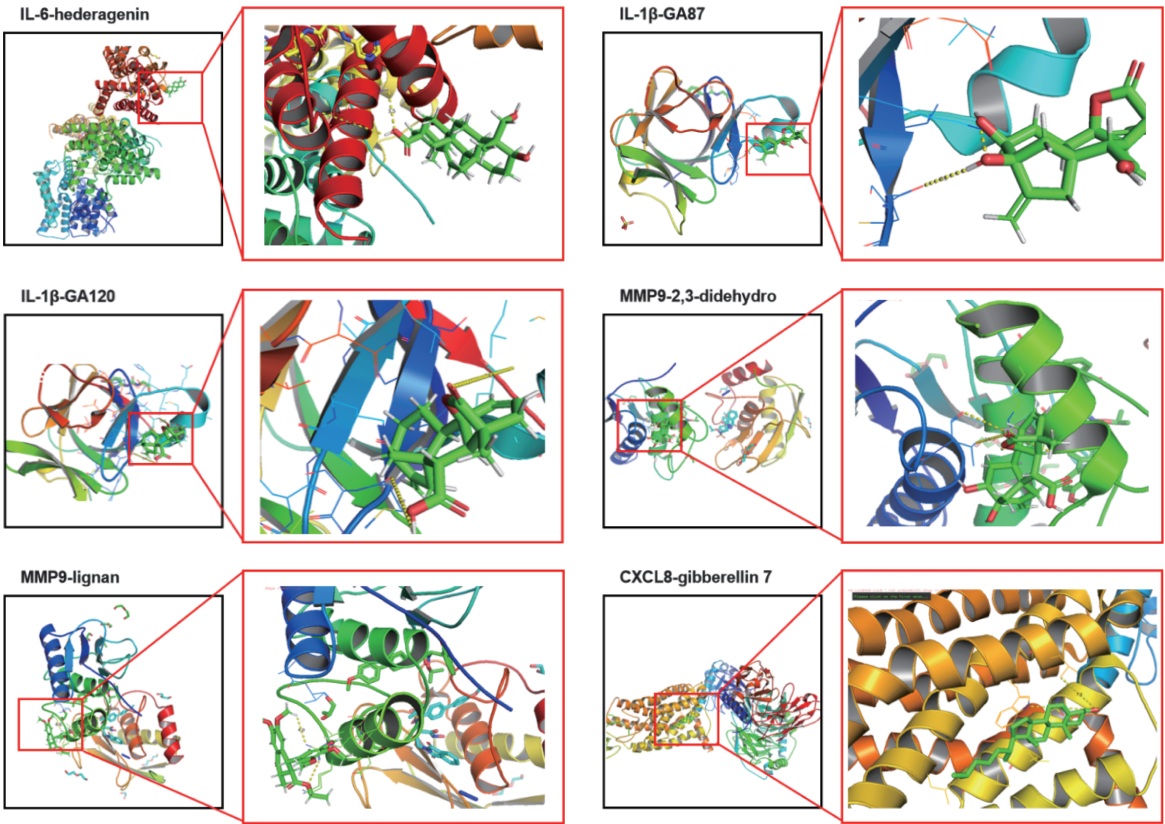


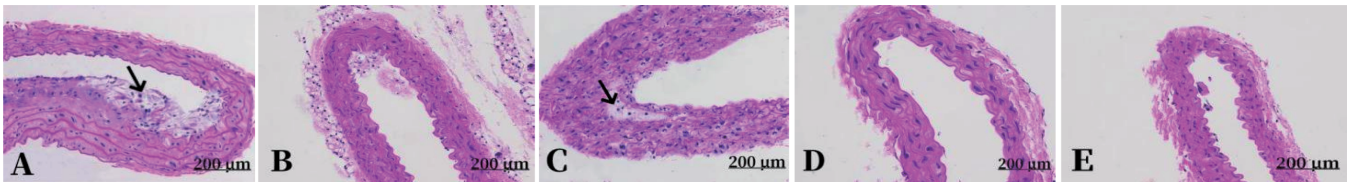
图7 分子对接可视化图

表3 各组小鼠血清TC、TG、LDL-C、HDL-C水平比较($\bar{x}\pm s$) mmol/L

组别	n	TC	TG	LDL-C	HDL-C
模型组	12	16.30±2.01 ^①	12.38±3.17 ^①	6.50±0.73 ^①	1.13±0.27 ^①
正常组	12	5.67±0.11	2.41±0.39	2.27±0.31	3.22±0.31
桃红饮低剂量组	12	6.35±0.39 ^②	3.12±0.76 ^②	2.85±0.77 ^②	2.84±0.21 ^②
桃红饮中剂量组	12	6.15±0.83 ^②	2.98±0.36 ^②	2.82±0.32 ^②	2.88±0.32 ^②
桃红饮高剂量组	12	6.16±0.79 ^②	2.97±0.41 ^②	2.89±0.41 ^②	2.89±0.34 ^②

注：①与正常组比较， $P<0.05$ ；②与模型组比较， $P<0.05$

3.7 各组小鼠主动脉病理形态改变 见图8。模型



A.模型组；B.正常组；C.桃红饮低剂量组；D.桃红饮中剂量组；E.桃红饮高剂量组。标尺=200 μm

图8 各组小鼠主动脉病理形态(HE染色，×200)

3.8 各组小鼠血清IL-1β、IL-6水平比较 见表4。

与正常组比较，模型组小鼠血清IL-1β、IL-6水平均较高($P<0.05$)。与模型组比较，桃红饮低、中、高剂量组小鼠血清IL-1β、IL-6水平均降低($P<0.05$)；但3组间小鼠血清IL-1β、IL-6水平比较，差异无统计学意义($P>0.05$)。

表4 各组小鼠血清IL-1β、IL-6水平比较($\bar{x}\pm s$) ng/L

组别	n	IL-1β	IL-6
模型组	12	85.12±9.23 ^①	96.17±10.27 ^①
正常组	12	40.53±8.73	54.55±6.35
桃红饮低剂量组	12	57.92±5.59 ^②	69.72±8.13 ^②
桃红饮中剂量组	12	56.92±5.59 ^②	68.12±7.11 ^②
桃红饮高剂量组	12	54.92±5.59 ^②	67.98±8.12 ^②

注：①与正常组比较， $P<0.05$ ；②与模型组比较， $P<0.05$

3.9 各组小鼠主动脉CXCL8、MMP9 mRNA及蛋白

表达水平比较 见表5、图9。与正常组比较，模型组小鼠主动脉CXCL8、MMP9 mRNA及蛋白表达水平均升高($P<0.05$)。与模型组比较，桃红饮低、中、高剂量组小鼠主动脉CXCL8、MMP9 mRNA及蛋白表达水平均降低($P<0.05$)；但3组间比较，差异无统计学意义($P>0.05$)。

4 讨论

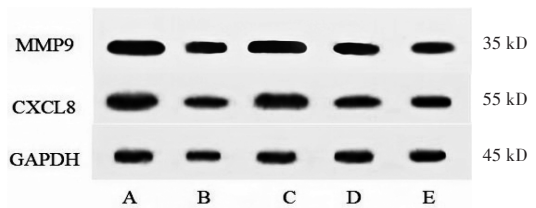
桃红饮源自《类证治裁》，有活血化瘀、通脉除痹的作用。临床研究发现桃红饮在防治AS、慢性心

组小鼠主动脉管腔内可见明显的片状和条状AS斑块，未形成明显斑块处的动脉管径厚薄不均匀，管壁内膜不光滑，AS斑块内可见不规则浅染物和钙化颗粒物。正常组小鼠主动脉管腔内未发现明显斑块，动脉管壁内膜光滑，动脉管径厚薄均匀。桃红饮低剂量组只有少数主动脉可见明显的AS斑块，动脉各层结构相对清晰；桃红饮中、高剂量组未发现明显斑块，动脉管壁内膜光滑，动脉管径厚薄均匀。

表5 各组主动脉CXCL8、MMP9 mRNA表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CXCL8 mRNA	MMP9 mRNA	CXCL8 蛋白	MMP9 蛋白
模型组	12	2.43±0.28 ^①	2.79±0.35 ^①	3.13±0.41 ^①	3.26±0.18 ^①
正常组	12	0.95±0.38	0.91±0.28	1.49±0.15	1.35±0.29
桃红饮低剂量组	12	1.50±0.31 ^②	1.59±0.23 ^②	2.89±0.43 ^②	2.67±0.35 ^②
桃红饮中剂量组	12	1.39±0.34 ^②	1.27±0.34 ^②	1.86±0.33 ^②	1.79±0.26 ^②
桃红饮高剂量组	12	1.11±0.23 ^②	1.20±0.25 ^②	1.57±0.29 ^②	1.41±0.37 ^②

注：①与正常组比较， $P<0.05$ ；②与模型组比较， $P<0.05$



A.模型组；B.正常组；C.桃红饮低剂量组；D.桃红饮中剂量组；E.桃红饮高剂量组

图9 各组小鼠主动脉CXCL8、MMP9蛋白表达水平比较

衰、类风湿性关节炎和肺心病等多种痹证方面具有明显的疗效，其可以改善血流动力学，降低炎症因子，抑制氧化应激，保护血管内皮和调节血脂水平^[12-15]。

本研究通过网络药理学筛选出桃红饮的37个活性成分，可作用于603个作用靶标，在与450个AS靶标交集映射时获得92个共同靶标。通过PPI网络共筛选出23个核心靶标，可与桃红饮中赤霉素7(MOL001358)、常春藤皂苷元(MOL000296)、木犀草素(MOL

000006)、洋川芎醌(MOL002151)、恩比宁(MOL005598)等5种活性成分发挥抗AS作用。采用分子对接技术考察这些关键化合物与其作用靶标之间的相互作用情况,发现关键化合物赤霉素7、常春藤皂苷元、木犀草素、洋川芎醌、恩比宁等5种活性成分和关键靶标CXCL8、MMP9、IL-1 β 、IL-6均能直接相互作用。有研究发现常春藤皂苷元能够作为抗AS的主要成分,且与TNF分子对接良好,具有潜在的治疗AS的作用^[16]。罗云等^[17]在高脂饲料诱导的AS小鼠中发现,经木犀草素治疗后的小鼠,超氧化物歧化酶、丙二醛等因子表达降低,主动脉根部脂质堆积减少,能够改善小鼠AS。同时,桃红饮改善AS的主要靶标为IL-6、TNF、IL-1 β 、CXCL8、MMP9等靶点。AS作为一种进行性慢性炎症反应性疾病,IL-6、TNF、IL-1 β 在其中发挥关键作用。临床实验表明,经过药物治疗的患者体内IL-6、TNF、IL-1 β 水平降低,炎症反应受到抑制,患者AS症状得到改善^[18]。CXCL8作为炎症细胞因子家族中的一员,也显示出抗AS的作用机制。周小明等^[19]研究发现,CXCL8在AS小鼠主动脉组织中呈高表达,并且CXCL8通过激活MMP9的表达在一定程度上参与AS的发生发展。因此抑制CXCL8的表达或可延缓AS的发生发展。

此外,KEGG富集发现158条信号通路,主要包括脂质代谢,AS、Th17信号通路和IL-17信号通路。说明桃红饮可能通过调控免疫相关的Th17信号通路,影响IL-17、CXCL8、ICAM-1等细胞因子、趋化因子和黏附分子,改善AS。Th17信号通路中Th17/Treg的平衡是调节AS的关键免疫因素。作为CD4⁺T细胞亚群的Th17主要分泌IL-17、IL-6等细胞因子,其中IL-17可以通过促进多种细胞因子、趋化因子和黏附分子的分泌,调节血管内皮细胞及平滑肌细胞(VSMCs)的功能状态,从而加重AS的病理发展^[20]。研究发现IL-17能够诱导内皮细胞和血管平滑肌细胞释放CXCL8,CXCL8的增加将其他炎症细胞吸引到炎症部位,加剧AS斑块炎症^[21]。MMP是一组降解细胞外基质的蛋白酶,主要由AS斑块中的巨噬细胞和VSMCs分泌^[22]。IL-17在AS斑块中诱导促炎介质MMP9释放,进而诱导巨噬细胞中促炎转录组表达,导致细胞因子IL-6、TNF- α 上调,破坏AS斑块

稳定^[21]。

本研究利用AutoDock对关键化合物赤霉素7、常春藤皂苷元、木犀草素、洋川芎醌、恩比宁等与CXCL8、MMP9、IL-1 β 、IL-6等核心靶标进行分子对接,结合自由能结果显示,两者之间都能够直接相互作用。动物实验验证发现,桃红饮能够降低小鼠血清TC、TG、LDL-C、IL-1 β 、IL-6水平,降低小鼠主动脉CXCL8、MMP9表达水平,抑制AS的发生发展。

综上所述,基于网络药理学和动物实验,桃红饮治疗AS可能是赤霉素7、常春藤皂苷元、木犀草素、洋川芎醌、恩比宁等作用于IL-1 β 、IL-6、CXCL8、MMP9等靶点,通过IL-17信号通路发挥作用,是多组分、多靶点、多通路相互作用的结果。

[参考文献]

- [1] CHEN Q, LV J, YANG W, et al. Targeted inhibition of STAT3 as a potential treatment strategy for atherosclerosis[J]. *Theranostics*, 2019, 9(22): 6424-6442.
- [2] KOBAYAMA K, LEY K. Atherosclerosis a chronic inflammatory disease with an autoimmune component[J]. *Circ Res*, 2018, 123(10): 1118-1120.
- [3] 王玲玲,谢慧仪,陈绮玲,等. 动脉粥样硬化发病机制与治疗药物的研究进展[J]. *广东医科大学学报*, 2023, 41(5): 589-594.
- [4] 方欢乐,陈衍斌,张鑫,等. 基于网络药理学-分子对接-实验验证的桃仁-红花药对干预动脉粥样硬化的作用机制研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2023, 34(9): 1245-1254.
- [5] 吴晓娟,林小娟,佟晓永. 抗动脉粥样硬化药物的研究进展[J]. *生命科学仪器*, 2018, 16(6): 15-24.
- [6] 李斯锦,冯晓腾,王怡茹,等. 基于血管内皮生长因子C通路探讨桃红饮在动脉粥样硬化淋巴管增生中的作用[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(5): 2464-2469.
- [7] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [8] FISHILEVICH S, NUDEL R, RAPPAPORT N, et al. GeneHancer: genome-wide integration of enhancers and target genes in GeneCards[J]. *Database (Oxford)*, 2017, 2017: bax028.
- [9] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [10] BERMAN H M, WESTBROOK J, FENG Z, et al. The protein data bank[J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(1): 235-242.

- [11] ZHOU Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1523.
- [12] BERMAN H M, WESTBROOK J, FENG Z, et al. The protein data bank[J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(1): 235-242.
- [13] 朱妍. 保元汤合桃红饮治疗慢性心衰急性加重(气虚血瘀证)临床观察[J]. *光明中医*, 2022, 37(11): 1920-1922.
- [14] TAI J, ZOU J, ZHANG X, et al. Using network pharmacology to explore potential treatment mechanism for coronary heart disease using chuanxiong and jiangxiang essential oils in jingzhi guanxin prescriptions[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 7631365.
- [15] 刘光华, 钟晨, 刘平松, 等. 桃红饮加味联合针刺治疗类风湿性关节炎临床观察[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2020, 18(13): 116-118.
- [16] 李长月. 五苓散合桃红饮加减治疗肺心病心力衰竭的疗效分析[J]. *中西医结合心血管病电子杂志*, 2018, 6(33): 143.
- [17] 罗云, 卢珊, 周平, 等. 木犀草素改善高脂诱导的 ApoE^{-/-}小鼠非酒精性脂肪肝及动脉粥样硬化作用研究[J]. *世界中医药*, 2015, 10(8): 1144-1147, 1151.
- [18] 郭文平. 散结通脉方干预颈动脉粥样硬化的临床观察及实验研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2022.
- [19] 周小明, 邓桂明, 龙云, 等. CXCL8对小鼠动脉粥样硬化发生发展的影响及其分子机制研究[J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(6): 1057-1060.
- [20] MCGEACHY M J, CUA D J, GAFFEN S L. The IL-17 Family of cytokines in health and disease[J]. *Immunity*, 2019, 50(4): 892-906.
- [21] ERBEL C, AKHAVANPOOR M, OKUYUCU D, et al. IL-17A influences essential functions of the monocyte/macrophage lineage and is involved in advanced murine and human atherosclerosis[J]. *J Immunol*, 2014, 193(9): 4344-4355.
- [22] RAMJI D P, DAVIES T S. Cytokines in atherosclerosis: Key players in all stages of disease and promising therapeutic targets[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2015, 26(6): 673-685.

(责任编辑: 钟志敏)