

丹参酮 II A 治疗血管系统损伤：可能的分子机制及生物学过程

<https://doi.org/10.12307/2021.296>温明韬¹, 许波¹, 李嘉程¹, 刘金豹¹, 李刚²

投稿日期: 2020-11-30

送审日期: 2020-12-05

采用日期: 2021-01-16

在线日期: 2021-04-08

中图分类号:

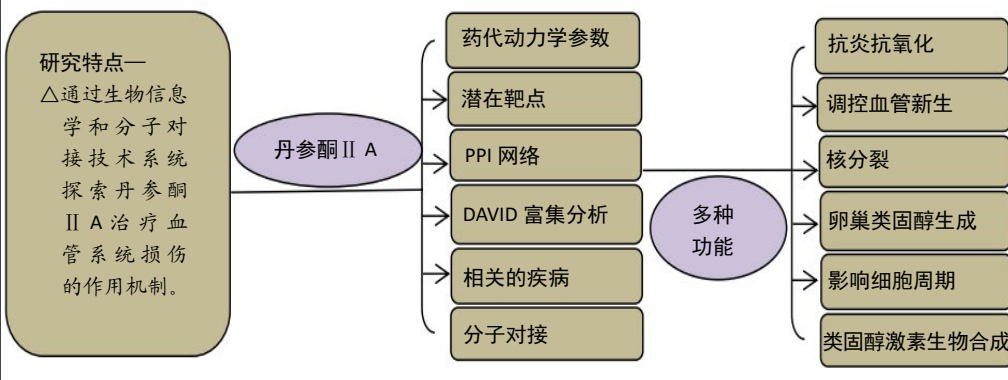
R966; R496; R318

文章编号:

2095-4344(2021)35-05656-06

文献标识码: B

文章快速阅读:



文题释义:

丹参酮 II A: 为唇形科植物丹参的干燥根及根茎, 是中药丹参的重要药效活性物质基础之一, 属于脂溶性菲醌类化合物, 发挥保护心脏和神经、抗癌、抑菌等作用。

分子对接: 是通过受体的特征以及受体和药物分子之间的相互作用方式来进行药物设计的方法。主要研究分子间(如配体和受体)相互作用, 并预测其结合模式和亲和力的一种理论模拟方法。近年来, 分子对接方法已成为计算机辅助药物研究领域的一项重要技术。

摘要

背景: 丹参酮 II A 是中药丹参分离得到的最丰富的脂溶性成分之一, 发挥保护心脏和神经、抗癌、抑菌等作用, 目前还没有系统分析丹参酮 II A 在血管损伤治疗方面的作用机制研究。

目的: 旨在通过生物信息学和分子对接技术系统探索丹参酮 II A 治疗血管系统损伤的作用机制。

方法: 研究利用 TCMSP 数据库检索丹参酮 II A 的口服利用吸收度(OB)和类药性(DL), 从 GEO 数据库下载编号 GSE85871 基因芯片, 借助 R 语言分析其差异基因以获得丹参酮 II A 的潜在靶点, 利用 DAVID 6.8 数据库对潜在靶点完成 GO 分析和 KEGG 通路分析, 利用 CTD 数据库挖掘与丹参酮 II A 相关的疾病, 利用 Cytoscape 软件构建丹参酮 II A 的多靶点、多通路、多疾病可视化网络, 采用 AutoDock Vina 进行蛋白与小分子对接验证。

结果与结论: ①丹参酮 II A 的口服利用吸收度值为 49.89%、类药性值为 0.4, 具有良好的药物作用; ②筛选出 132 个潜在靶点, 在上述靶点及 PPI 网络中主要表现在基因共表达和物理互作, 潜在靶点生物过程及通路主要富集在卵巢类固醇生成、细胞周期及类固醇激素生物合成等; ③丹参酮 II A 与乳腺肿瘤、高血压、动脉粥样硬化、胶质瘤、血管系统损伤、左室肥厚、白血病及听力损失等疾病治疗相关; ④分子对接结果显示丹参酮 II A 与血红素加氧酶 1、分泌型磷酸蛋白 1 等血管系统损伤相关蛋白具有较好的结合活性; ⑤借助生物信息学手段和分子对接技术能系统地分析丹参酮 II A 治疗血管系统损伤可能的分子机制与生物学过程, 为后续的进一步研究奠定了思路与基础。

关键词: 丹参; 丹参酮 II A; 生物信息学; 分子对接; 作用机制

Tanshinone IIA treats vascular system injury: possible molecular mechanism and biological processes

Wen Mingtao¹, Xu Bo¹, Li Jiacheng¹, Liu Jinbao¹, Li Gang²

¹Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, Shandong Province, China; ²Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, Shandong Province, China

Wen Mingtao, Master candidate, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, Shandong Province, China

Corresponding author: Li Gang, MD, Professor, Doctoral supervisor, Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, Shandong Province, China

Abstract

BACKGROUND: Tanshinone IIA is one of the most abundant fat-soluble components isolated from Radix Salvia miltiorrhiza, which protects the heart and nerves, and exerts anti-cancer and antibacterial effects. There is no systematic study on the mechanism of tanshinone IIA in the treatment of vascular injury.

OBJECTIVE: To explore the mechanism of tanshinone IIA in treating vascular system injury by bioinformatics and molecular docking.

METHODS: In this study, the oral bioavailability and drug-likeness of tanshinone IIA were searched by TCMSP database, and GSE85871 gene chip was downloaded from GEO database, and the differentially expressed genes were analyzed by R to obtain the potential target of tanshinone IIA. Gene ontology (GO) analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis of potential targets were carried out through DAVID6.8 database. CTD

¹ 山东中医药大学, 山东省济南市 250355; ² 山东中医药大学附属医院骨科, 山东省济南市 250014

第一作者: 温明韬, 男, 1995 年生, 山东省聊城市人, 在读硕士, 主要从事骨与关节创伤的基础与临床研究。

通讯作者: 李刚, 博士, 教授, 博士生导师, 山东中医药大学附属医院骨科, 山东省济南市 250014

<https://orcid.org/0000-0002-1654-2264> (温明韬)

基金资助: 国家自然科学基金项目 (81774333, 81373660), 项目负责人: 李刚

引用本文: 温明韬, 许波, 李嘉程, 刘金豹, 李刚. 丹参酮 II A 治疗血管系统损伤: 可能的分子机制及生物学过程 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(35):5656-5661.



database was used to mine diseases related to tanshinone IIA, and Cytoscape was used to construct multi-target, multi-channel and multi-disease visualization network of tanshinone IIA. AutoDock Vina was used to verify the docking of proteins and small molecules.

RESULTS AND CONCLUSION: Tanshinone IIA had an oral bioavailability value of 49.89% and a drug-likeness value of 0.4, indicating a good drug effect. A total of 132 potential targets were screened out. Among the above targets and protein-protein interaction networks, they were mainly manifested in gene co-expression and physical interaction. The biological processes and pathways of potential targets were mainly enriched in ovarian steroid production, cell cycle and steroid hormone biosynthesis, etc. Tanshinone IIA was related to the treatments for breast tumors, hypertension, atherosclerosis, glioma, vascular system damage, left ventricular hypertrophy, leukemia, and hearing loss. The molecular docking results show that tanshinone IIA had good binding activity with vascular system damage-related proteins, such as heme oxygenase 1 and secreted phosphoprotein 1. With the help of bioinformatics methods and molecular docking technology, the possible molecular mechanism and biological process of tanshinone IIA in the treatment of vascular system damage can be systematically analyzed, which lays the idea and foundation for further research.

Key words: Radix Salvia miltiorrhiza; tanshinone IIA; bioinformatics; molecular docking; mechanism of action

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81774333 and 81373660 (both to LG)

How to cite this article: WEN MT, XU B, LI JC, LIU JB, LI G. Tanshinone IIA treats vascular system injury: possible molecular mechanism and biological processes. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2021;25(35):5656-5661.

0 引言 Introduction

丹参首见于《神农本草经》，性味苦，微寒，归心、肝经，其药用部位主要为干燥根及块茎，已被广泛应用于治疗血管类疾病^[1-2]。丹参酮 II A 是中药丹参的重要药效活性物质基础之一，属于脂溶性菲醌类化合物，发挥保护心脏和神经、抗癌、抑菌等作用^[3-6]，但目前还没有系统分析丹参酮 II A 在血管损伤治疗方面的作用机制研究，而股骨头周围血管损伤的相关机制正是骨科研究者们重点关注的内容之一^[7-10]。

股骨头周围血运受损是股骨头缺血性坏死的重要发生机制，股骨头动静脉血运受损或中断导致骨组织坏死重建过程，继而发生髋关节周围结构改变，引起髋关节疼痛及功能障碍^[11-12]。在非创伤性股骨头坏死的病理变化中，股骨头周围血运的变化可以分为 3 期：股骨头血运变化早期，股骨头供血不足，周围骨组织出现坏死征象，小静脉回流受阻造成骨内高压状态；中期进一步发展，静脉血栓状况加剧，动脉系统供血受到影响进入缺血状态，股骨头周围骨组织开始出现软骨下骨折、囊性变及股骨头部分塌陷；血运变化的晚期，动脉内皮组织不断增生，开始出现结构缺失，进展为动脉闭塞，股骨头塌陷进一步加重。在创伤性股骨头坏死的病理表现中，初期就出现了严重的缺血状态，并逐步发展为血运变化的晚期状态^[13-14]。对于股骨头缺血性坏死的治疗不仅仅在于骨组织的再生与修复，有效的股骨头周围血管再生与骨组织的再血管化同样重要。因此，探讨丹参酮 II A 治疗血管系统损伤的作用机制对于进一步研究股骨头缺血性坏死的治疗手段具有重要意义。

此次研究创新性采用 TCMSP 数据库整体评价丹参酮 II A 的药理学参数，通过筛选丹参酮 II A 潜在的作用靶点，构建分析蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络，完成基因本体论 (Gene Ontology, GO) 和京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 信号通路富集分析，检索与丹参酮 II A 相关的治疗疾病及靶点，并构建“成分-靶点-通路-疾病”网络，为进一步深入研究或开发利用丹参及丹参酮 II A 提供数据支持。丹参酮 II A 的化学结构及预测机制的路线图见图 1。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 设计 网络药理学和分子对接技术分析。

1.2 时间及地点 实验于 2020 年 11 月在山东中医药大学完成。

1.3 检索丹参酮 II A 的药代动力学参数和评价 中药系统药理学数据库及分析平台 (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP) 是一个评价中草药药理学的计算系统生物学医学平台^[15]，该数据库不仅包含化学物质、靶标和药物靶点网络、相关药物靶点网络，还涉及中药化学成分的口服生物利用度 (oral bioavailability, OB)^[16]、类药性 (drug-likeness, DL)^[17]、Caco-2 通透性 (Caco-2 permeability, Caco-2)、半衰期 (half-life, HL)^[18]、血脑屏障 (blood-brain-barrier, BBB) 等天然化合物的药代动力学特性^[19]。口服生物利用度基于 TCMSP 数据库中的内部模型 OBioAvail 1.1 计算所得代表口服药物最重要的药代动力学特性之一，对全身循环给药的效率起着重要的作用。类药性依赖于数据库中分子描述符和 tavioto 系数所构建，是一个定性的概念，主要用于药物设计以评估化合物的类药性。此次研究以“丹参酮 II A”为搜索词，检索丹参酮 II A 的口服利用吸收度和类药性，从分子水平评价丹参酮 II A 的药代动力学参数。

1.4 潜在靶点的筛选 从基因表达数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO) 下载与丹参酮 II A 相关的编号 GSE85871 基因芯片原始数据及 GPL571 平台注释文件^[20]，GSE85871 数据集中包含 102 个不同的中药分子分别处理 MCF7 细胞的基因表达谱信息，其中包含丹参酮 II A 的样本 2 个，空白对照样本 6 个。使用 R 语言 Affy 包和 limma 包进行归一化和差异表达基因筛选，使用差异倍数 (fold change, FC) 和 P 值进行质量控制，标准为 P 值 < 0.01, |log₂FC| ≥ 1; 利用 gplots 包绘制聚类图，plot 包绘制火山图。

1.5 PPI 网络的构建 GeneMANIA 是主要用于生成关于基因功能的假设、分析基因列表并为功能测试确定基因优先级^[21]，将上述差异表达基因结果进行整理，采用 GeneMANIA 构建 PPI 网络，分析靶点及其在网络中发挥的作用与关系。

1.6 DAVID 富集分析 注释、可视化和集成发现生物信息学工具 (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery, DAVID) 是一个基于 Web 的软件工具包^[22]，能有效地帮助理解基因表达数据中的相互作用关系，并提供有关感兴趣基因的系统信息。利用 DAVID 6.8 对潜在靶点进行 GO 和 KEGG 信号通路富集分析，利用 ggplot2 包绘制富集分析气泡图。

1.7 相关治疗疾病的检索 比较毒理学数据库 (Comparative Toxicogenomics Database, CTD) 是一个强大的、公开的数据

库^[23],旨在提高对环境暴露如何影响人类健康的了解。比较毒理学数据库集成了医学主题标题的化学子集,可以查看有关化学物质的各种信息,包括化学结构、策划相互作用的基因和蛋白质、策划和推断疾病关系,以及丰富的途径和功能注释。以“丹参酮II A”为搜索词,检索与其相关的治疗疾病。

1.8 分子对接验证 从 Pubchem 数据库中下载丹参酮II A 化合物的 sdf 文件,导入 Chemoffice 软件,保存为小分子配体 pdbqt 格式。从 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org>) 下载与血管系统损伤相关靶点的 3D 结构,通过 PyMOL 软件对蛋白质进行移除水分子和多余的非活性配体,导入 AutoDock Tools 软件加氢、加电荷处理,输出为蛋白受体 pdbqt 格式。借助 AutoDock Vina 软件绘制格点能地图,根据格点参数文件,用 autogrid 4 查看能量地图,选择“Genetic algorithm”计算方法,借助 autodock 4 运行分子对接,对对接结果中构象的 Blind energy 进行打分,确定全局最优结合构象,利用 PyMOL 将对对接结果可视化。

1.9 主要观察指标 ①丹参酮II A 的药代动力学参数;②丹参酮II A 的潜在靶点、构建的 PPI 网络、DAVID 富集分析、相关的疾病及分子对接结果。

2 结果 Results

2.1 丹参酮II A 的药代动力学参数 通过 TCMSP 数据库深入研究了与丹参酮II A 药代动力学相关的重要特性的信息,包括口服生物利用度、类药性、Caco-2、血脑屏障和 Lipinski 类药五原则^[24](M_w 、AlogP、TPSA、Hdon、Hacc),见表1。值得注意的是,丹参酮II A 的口服生物利用度值为 49.89%、类药性值为 0.4,具有良好的药物作用。

表 1 | 丹参酮II A 的药理和分子特性

Table 1 | Pharmacodynamics and molecular characteristics of tanshinone IIA

项目	数据
重均分子量 (M_w)	294.37
AlogP	4.66
Hdon	0
Hacc	3
口服生物利用度 (OB, %)	49.89
Caco-2 通透性	1.05
血脑屏障 (BBB)	0.7
类药性 (DL)	0.4
FASA-	0.31
TPSA	47.28
RBN	0
半衰期 (HL)	23.56

表注: M_w , AlogP, TPSA, Hdon, Hacc: Lipinski 类药五原则^[24]

2.2 丹参酮II A 的潜在靶点 利用 R 语言根据筛选标准分析 GEO 数据库中编号为 GSE85871 的原始数据,发现经丹参酮II A 处理后的 MCF7 细胞引起 132 个明显差异表达基因,其中 85 个上调基因和 47 个下调基因,聚类图及火山图见图 2, 3。

2.3 构建 PPI 网络的结果 药物调控的内在机制往往不是单一靶点、单一通路决定的,而是受多个靶点、多条通路共同调控。将上述差异表达基因结果进行整理,采用 GeneMANIA

构建 PPI 网络显示,在 132 个靶蛋白及其相互作用蛋白中,76.27% 具有相似的共同表达特征,14.91% 具物理互作关系,3.83% 具有共定位关系。其他结果,包括遗传相互关系、通路、预测和共享蛋白质结构域,见图 4。

2.4 DAVID 富集分析结果 为了进一步分类丹参酮II A 潜在靶点的生物学功能,通过 DAVID 6.8 进行 GO 和 Pathway 通路富集分析。分析结果显示,潜在靶点的生物学过程 (biological processes, BP) 主要在核分裂、DNA 模板转录负调控、细胞核蛋白质输出的正调控、对过氧化氢的细胞反应及 P53 类介导的 DNA 损伤反应及信号转导导致细胞周期阻滞等过程中明显富集,见图 5A; 细胞成分 (cellular component, CC) 的变化主要集中在细胞核、核浆、细胞溶质、薄膜及 CHOP-ATF3 配合物等,见图 5B; 分子功能 (molecular function, MF) 的变化主要表现在蛋白质结合、转录因子活性,序列特异性 DNA 结合、锌离子结合、聚 (A)RNA 结合、组蛋白-赖氨酸 N-甲基转移酶活性等,见图 5C。KEGG 通路分析表明潜在靶点主要在卵巢类固醇生成、细胞周期及类固醇激素生物合成中富集,见图 5D。

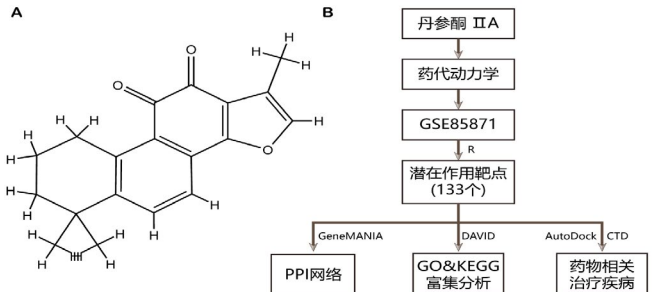
2.5 丹参酮II A 相关治疗疾病 采用 CTD 数据库检索到与丹参酮II A 直接治疗证据的疾病主要包括乳腺肿瘤、高血压、动脉粥样硬化、胶质瘤、血管系统损伤、左室肥厚、白血病及听力损失等,见表 2。

表 2 | 丹参酮II A 靶点相关的疾病

Table 2 | Diseases related to tanshinone IIA targets

疾病	相关靶点	得分
乳腺肿瘤	AHR, BAX, BCL2, BIRC5, CASP8, CDKN1B, CST6, CTNBN1, CXCL8, CYP1A1, CYP3A4, DDT3, EDNRB, ETS2, FOS, GRB7, GSTP1, HIST1H1C, HMOX1, IL1B, IL6, KRAS, MAP3K1, MMP1, MMP9, NFKBIA, NOS2, NOS3, PARP1, PTGS2, RARB, RB1, RELA, SPP1, TNF, TNFSF10, TP53	81.64
高血压	AGT, AHR, BCL2, CD36, CYP1A1, DUSP5, EDN1, EDNRA, FOS, GSK3B, GSTP1, HMOX1, IL1B, IL6, INPPL1, MMP9, NOS2, NOS3, NR3C1, OLR1, PPARG, PTGS2, RELA, TLR4, TNF, TP53	46.65
动脉粥样硬化	AGT, AHR, IL6, MMP1, NOS2, NOS3, PARP1, PPARG, PTGS2, TLR4, TNF, VEGFA	29.93
胶质瘤	GSTP1, PTGS2, SPP1, TNF, TNFSF10, TP53	14.22
血管系统损伤	HMOX1, SPP1, TNF	10.74
左室肥厚	AGT, AHR, EDN1, MYC	9.38
白血病	VEGFA	3.12
听力损失	TLR4	3.11

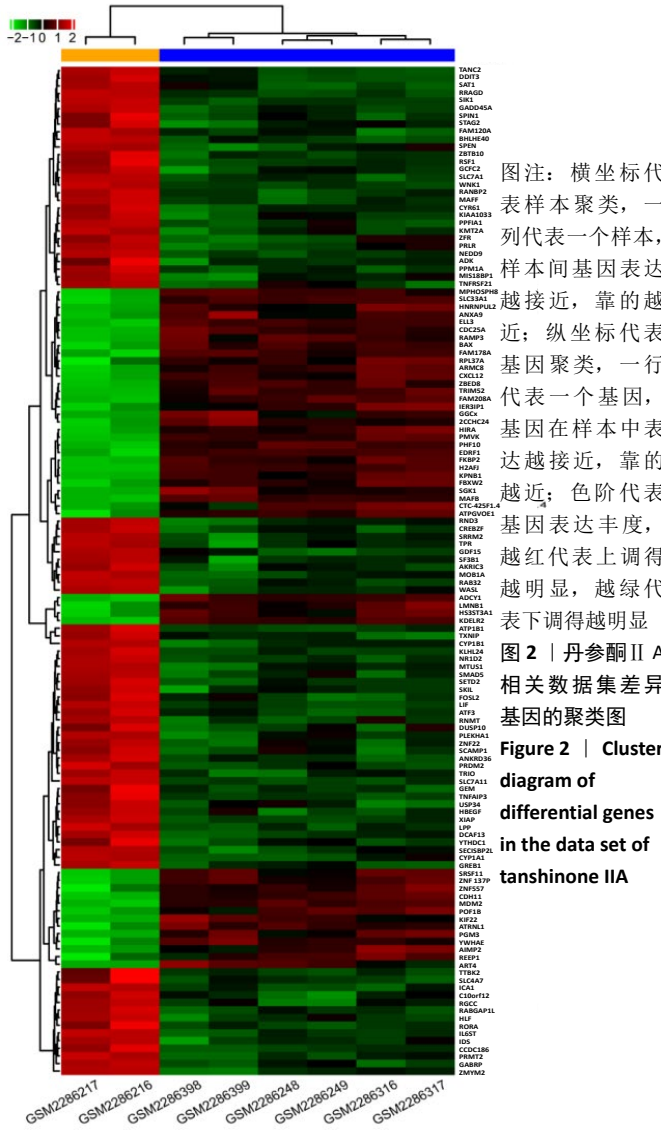
2.6 分子对接结果 血管系统损伤关键靶点主要包括血红素加氧酶 1(HMOX1)、分泌型磷蛋白 1(SPP1)、肿瘤坏死因子 (TNF)。分子对接方法通过匹配原则算法计算结合能模拟蛋白质与小分子受体互作。若配体与受体结合能量越低,则结合构象越稳定,相互作用的可能性越大。研究表明,结合能量 < -20.9 kJ/mol,受体与配体的结合效果较强。此次研究分子对接结果验证表明,丹参酮II A 与肿瘤坏死因子 (TNF, -38.51 kJ/mol)、血红素加氧酶 1(HMOX1, -37.67 kJ/mol)、分泌型磷蛋白 1(SPP1, -28.04 kJ/mol) 结合能量均 < -20.93 kJ/mol,提示化合物与受体有较好的结合活性。丹参酮II A 与血管系统损伤相关受体分子对接模式见图 6。



图注：图 A 为丹参酮 IIA 化学结构 (PubChem CID: 164676)；B 为丹参酮 II A 药理作用机制的流程图

图 1 | 丹参酮 II A 的化学结构及预测机制的路线图

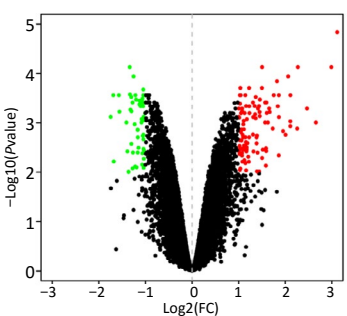
Figure 1 | The chemical structure and prediction mechanism of tanshinone IIA



图注：横坐标代表样本聚类，一列代表一个样本，样本间基因表达越接近，靠的越近；纵坐标代表基因聚类，一行代表一个基因，基因在样本中表达越接近，靠的越近；色阶代表基因表达丰度，越红代表上调得越明显，越绿代表下调得越明显

图 2 | 丹参酮 II A 相关数据集差异基因的聚类图

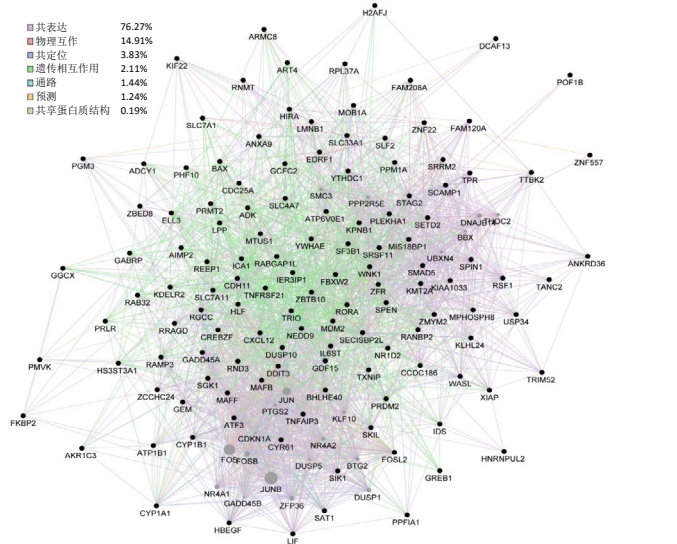
Figure 2 | Cluster diagram of differential genes in the data set of tanshinone IIA



图注：横坐标 $\text{Log}_2(\text{fold change})$ ，差异倍数，点越偏离中心，表示差异倍数越大；纵轴 $-\text{Log}_{10}(\text{adjusted } P\text{-value})$ (校正后的 P 值)，点越靠图的顶部表示差异越显著

图 3 | 丹参酮 II A 相关数据集差异基因的火山图

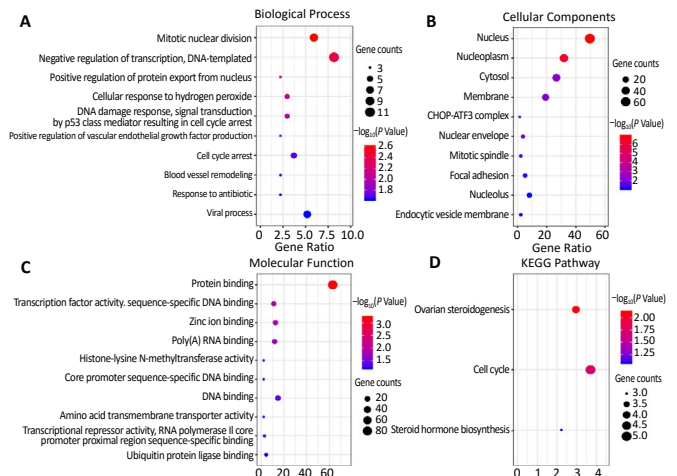
Figure 3 | Volcano map of differential genes in the data set of tanshinone IIA



图注：图中圆点代表作用的靶点，节点与其他节点的连线越多，关系越密切

图 4 | 丹参酮 II A 潜在靶点的 PPI 网络图

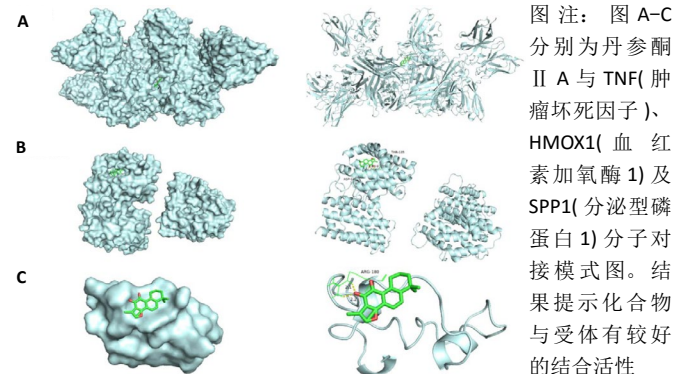
Figure 4 | Protein-protein interaction network diagram of potential targets of tanshinone IIA



图注：biological processes 为生物学过程，cellular component 为细胞成分；molecular function 为分子功能。纵坐标代表通路名称，横坐标为基因的比例，气泡颜色越红代表富集结果 P 值越低；气泡越大代表该通路上富集的基因数越多，反之则越少。

图 5 | 丹参酮 II A 潜在靶点的 GO 功能 (A-C) 及 KEGG 通路 (D) 分析气泡图

Figure 5 | Bubble diagram of potential targets of tanshinone IIA based on GO function (A-C) and KEGG pathway (D) analysis



图注：图 A-C 分别为丹参酮 II A 与 TNF (肿瘤坏死因子)、HMOX1 (血红素加氧酶 1) 及 SPP1 (分泌型磷酸蛋白 1) 分子对接模式图。结果提示化合物与受体有较好的结合活性

图 6 | 丹参酮 II A 与血管系统损伤相关受体分子对接模式图

Figure 6 | The molecular docking patterns of tanshinone IIA and receptors related to vascular system injury

3 讨论 Discussion

药物动力学和毒性不良是药物开发后期失败造成高额代价的重要原因之一，采用预测和模拟药物动力学、代谢和毒性终点等方式可以在一定程度上简化和加速药物发现过程，受到越来越多的研究人员青睐^[25]。

口服生物利用度代表口服剂量不变的药物到达全身循环的百分比，显示药代动力学过程的收敛性。口服生物利用度通常是决定生物活性分子作为治疗药物的药物性质的一个关键指标。类药性是根据对现有小分子药物和候选药物的理化性质和结构特征的分析而建立的，是药物设计中使用的定性概念，用于对药物类“预期化合物”进行评估，有助于优化药代动力学和药物性质，例如溶解度和化学稳定性。TCMSP数据库建议参考标准为口服生物利用度 $\geq 30\%$ ，类药性 ≥ 0.18 。由表1可知，丹参酮II A的性质均符合上述要求，这意味着丹参酮II A是一个很好的药物发现的候选^[26-28]。

丹参酮II A是丹参的主要脂溶性成分，近年来的药理学研究表明，丹参酮II A在血管系统损伤疾病的治疗中取得了良好效果，其作用机制包括抗炎、抗氧化及抗血栓等方面^[29-30]，在抑制血管内皮细胞增生与炎症分子表达方面也发挥了重要作用^[31]。而股骨头周围动静脉损伤作为股骨头缺血性坏死发病的主要机制，了解血管系统损伤的复杂过程，从根本上解决股骨头周围血运的重建过程十分重要。因此探讨丹参酮II A在血管系统损伤治疗方面的机制与潜在靶点对于临床股骨头缺血性坏死的治疗具有重大意义。

此次研究选取的GEO数据库中编号GSE85871的数据集，涵盖了丹参酮II A处理MCF7细胞后建立的基因表达谱，通过R语言数据分析共获得数据库的明显差异表达基因132个，包含85个上调基因和47个下调基因。这些差异基因在一定程度上可以认为是丹参酮II A的潜在作用靶点，而且这些丹参酮II A潜在靶点中的某些靶点的药理作用在文献中已经被确定。XU等^[32]研究表明，丹参酮II A能有效增加缺氧诱导因子的表达，进而上调血管内皮生长因子的表达，发挥改善心功能，保护心肌及抗心肌肥厚的功能。周丽等^[33]研究证实，丹参酮II A可以通过降低缺血再灌注大鼠模型脑组织核因子 κB 和I κB 基因及蛋白的表达水平，减少对神经元的损伤，发挥保护脑缺血再灌注损伤的作用。王炎等^[34]发现丹参酮II A能下调血管内皮生长因子和 β -catenin基因及蛋白的表达，抑制裸鼠人肠癌皮下移植瘤的生长和微血管的生成，进而发挥抗肿瘤的作用。

为了更好地理解丹参酮II A潜在靶点的功能，利用DAVID 6.8进行了GO和KEGG信号通路分析，潜在靶点主要富集在核分裂、DNA模板转录负调控、细胞核蛋白质输出的正调控等生物学进程和卵巢类固醇生成、细胞周期及类固醇激素生物合成等KEGG信号通路中。此次研究通过检索CTD发现8种与丹参酮II A有直接治疗证据的疾病，疾病主要包括乳腺肿瘤、高血压、动脉粥样硬化、胶质瘤、血管系统损伤、左室肥厚、白血病及听力损失。由表2可知，这些疾病

文献中支持的靶点与此次研究筛选的差异基因存在大量重合现象，再一次佐证了研究思路的可行性。

分子对接结果显示，丹参酮II A在与血管系统损伤相关靶点的对接中具有良好的结合活性。血管系统损伤相关靶点中，肿瘤坏死因子是经典的刺激细胞增殖并诱导细胞分化过程的细胞因子，可以与白细胞介素1B与白细胞介素6协同诱导血管内皮生长因子的产生过程，在血管生成过程中发挥了重要作用^[35]，通过激活血管内皮生长因子的受体基因血管内皮生长因子受体2可以正向调控微血管的新生与分化过程^[36-37]，研究表明，血管内皮生长因子联合突变型缺氧诱导因子1 α 在激素性股骨头缺血性坏死修复中增强了血管生成作用^[38]，血管内皮生长因子与酸性成纤维细胞协同作用促进血管新生^[39]。血红素加氧酶1可以调控血红素的分解代谢作用，并且被认为是一种理想的细胞保护剂，通过抗炎、抗氧化作用等机制发挥作用，是细胞中和各种应激刺激时所采取的广泛策略^[40]。分泌型磷蛋白1是一种高度磷酸化的糖蛋白，广泛存在于内皮细胞、骨髓等组织中，在骨组织中，它的释放来源于在骨结构形成时的成骨细胞与破骨细胞，这表明了它与骨破坏有关^[41]。由结果可知，通过分子对接技术证明了丹参酮II A与在血管系统损伤类疾病相关靶点拥有较好的结合效果，进一步证实了其在血管系统损伤方面的治疗潜力。

综上所述，此次研究采用TCMSP数据库对丹参酮II A的药代动力学参数进行了评价，通过高通量芯片数据确定其潜在靶点，并进行进一步的生物学功能富集分析和分子对接技术表明，丹参酮II A可能存在多种功能，包括抗炎抗氧化、调控血管新生、核分裂、卵巢类固醇生成、细胞周期及类固醇激素生物合成等，与丹参酮II A治疗血管系统损伤密切相关。丹参酮II A将是一种在血管系统损伤疾病极具潜质的药物候选药物，但仍需更进一步的研究来确定精确的药理作用及其作用机制。

作者贡献：研究由第一作者和通讯作者共同设计，第一作者收集、整理数据以及撰写论文，第二、三、四作者协助收集、整理数据，通讯作者审核论文。

经费支持：该文章接受了“国家自然科学基金项目(81774333, 81373660)”的资助。所有作者声明，经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南：该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

文章查重：文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审：文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权：文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] 康渊强, 高明宇. 丹参治疗冠心病的现状及其机制研究进展 [J]. 辽宁医学杂志, 2019, 33(2): 85-88.
- [2] 徐文华, 郑景辉, 赵阳, 等. 基于网络药理学和生物信息学的丹参酮 II_A 治疗冠心病的分子生物学机制分析 [J]. 中草药, 2019, 50(5): 1131-1140.
- [3] 苏梅, 秦引林, 娄雅静, 等. 丹参酮 II_A 磺酸钠体内外促血管新生作用的研究 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(4): 934-940.
- [4] 宁剑, 何春玲, 黄健军. 丹参酮 II_A 体内外抗炎作用研究 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(2): 292-298.
- [5] 田清山. 丹参酮 IIA 辅助治疗慢性心力衰竭的 meta 分析 [D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
- [6] YANG YD, YU X, WANG XM, et al. Tanshinone IIA improves functional recovery in spinal cord injury-induced lower urinary tract dysfunction. *Neural Regen Res.* 2017;12(2):267-275.
- [7] 洪郭驹, 何伟, 魏秋实, 等. 血管生长细胞因子与股骨头坏死 (英文) [J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(15): 2197-2205.
- [8] 胡敏, 范建楠, 赵宏斌, 等. 激素性股骨头坏死模型兔血管内皮细胞生长因子表达与普伐他汀的干预 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(15): 2703-2706.
- [9] 胡志明, 王海彬, 李祖国, 等. 血管内皮细胞生长因子促进激素性股骨头坏死修复 [J]. 中国矫形外科杂志, 2006, 14(15): 1179-1181.
- [10] 吴云刚, 肖鲁伟, 童培建, 等. 介入治疗激素性股骨头坏死血管内皮细胞生长因子表达的实验研究 [J]. 中国矫形外科杂志, 2002, 10(11): 1094-1096.
- [11] MONT MA, SALEM HS, PIUZZI NS, et al. Nontraumatic Osteonecrosis of the Femoral Head: Where Do We Stand Today?: A 5-Year Update. *J Bone Joint Surg Am.* 2020;102(12):1084-1099.
- [12] WANG A, REN M, WANG J. The pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head: A systematic review of the literature. *Gene.* 2018;671:103-109.
- [13] 中国成人股骨头坏死临床诊疗指南 (2020) [J]. 中华骨科杂志, 2020, 40(20): 1365-1376.
- [14] 李时斌, 赖渝, 周毅, 等. 激素性股骨头坏死发病机制及相关信号通路的靶点效应 [J]. 中国组织工程研究, 2020, 25(6): 935-941.
- [15] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSPP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines. *J Cheminform.* 2014;6:13.
- [16] XU X, ZHANG W, HUANG C, et al. A Novel Chemometric Method for the Prediction of Human Oral Bioavailability. *Int J Mol Sci.* 2012;13(6): 6964-6982.
- [17] TAO W, XU X, WANG X, et al. Network pharmacology-based prediction of the active ingredients and potential targets of Chinese herbal Radix Curcumae formula for application to cardiovascular disease. *J Ethnopharmacol.* 2013;145(1):1-10.
- [18] YANG H, ZHANG W, HUANG C, et al. A novel systems pharmacology model for herbal medicine injection: a case using reduning injection. *BMC Complement Altern Med.* 2014;14:430.
- [19] TATTERSALL MH, SODERGREN JE, DENGUPTA SK, et al. Pharmacokinetics of actinoycmcin D in patients with malignant melanoma. *Clin Pharmacol Ther.* 1975;17(6):701-708.
- [20] DIRK W, RENE H, PETER K, et al. Identification of rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients by transcriptome-based rule set generation. *Arthritis Res Ther.* 2014;16(2):R84.
- [21] MOSTAFAVI S, RAY D, WARDE-FARLEY D, et al. GeneMANIA: a real-time multiple association network integration algorithm for predicting gene function. *Genome Biol.* 2008;9 Suppl 1(Suppl 1):S4.
- [22] HUANG DA W, SHERMAN BT, LEMPICKI RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc.* 2009;4(1):44-57.
- [23] DAVIS AP, GRONDIN CJ, JOHNSON RJ, et al. The Comparative Toxicogenomics Database: update 2019. *Nucleic Acids Res.* 2019; 47(D1):D948-D954.
- [24] LIPINSKI CA, LOMBARDO F, DOMINY BW, et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001; 46(1-3):3-26.
- [25] VAN DE WATERBEEEMD H, GIFFORD E. ADMET in silico modelling: towards prediction paradise?. *Nat Rev Drug Discov.* 2003;2(3):192-204.
- [26] 张媛, 毛浩萍, 樊官伟. 丹参酮 II_A 药理作用研究进展 [J]. 天津中医药大学学报, 2019, 38(1): 15-19.
- [27] 侯文书, 张力. 丹参酮 II_A 对心血管系统的药理作用及其新剂型研究进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31(5): 484.
- [28] 陈芬燕, 郭韧, 张毕奎. 丹参酮 II_A 的心血管药理作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(9): 1649-53.
- [29] ZHANG X, MA Z, LIANG Q, et al. Tanshinone IIA exerts protective effects in a LCA-induced cholestatic liver model associated with participation of pregnane X receptor. *J Ethnopharmacol.* 2015;164:357-367.
- [30] JING L, WEIJIANG S, GUOYAN Y, et al. Compound Danshen (Salvia miltiorrhiza) dripping pill for coronary heart disease: an overview of systematic reviews. *Am J Chin Med.* 2015;43(1):25-43.
- [31] WING-SHING CHEUNG D, KOON CM, NG CF, et al. The roots of Salvia miltiorrhiza (Danshen) and Pueraria lobata (Gegen) inhibit atherogenic events: A study of the combination effects of the 2-herb formula. *J Ethnopharmacol.* 2012;143(3):859-866.
- [32] XU W, YANG J, WU LM. Cardioprotective effects of tanshinone IIA on myocardial ischemia injury in rats. *Pharmazie.* 2009;64(5):332-336.
- [33] 周丽, 刘艳平, 王芳, 等. 丹参酮 II_A 对 I/R 大鼠脑组织 NF-κB 和 IκB 活性的影响 [J]. 中药材, 2013, 36(7): 1136-1139.
- [34] 王炎, 刘宣, 周利红, 等. 丹参酮 II_A 对裸鼠小肠癌血管新生的抑制作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3): 167-171.
- [35] NAKAHARA H, SONG J, SUGIMOTO M, et al. Anti-interleukin-6 receptor antibody therapy reduces vascular endothelial growth factor production in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003;48(6): 1521-1529.
- [36] BALAJI S, LESAIN M, BHATTACHARYA SS, et al. Adenoviral-mediated gene transfer of insulin-like growth factor 1 enhances wound healing and induces angiogenesis. *J Surg Res.* 2014;190(1):367-377.
- [37] HATANPAA KJ, BURMA S, ZHAO D, et al. Epidermal Growth Factor Receptor in Glioma: Signal Transduction, Neuropathology, Imaging, and Radioresistance. *Neoplasia.* 2010;12(9):675-684.
- [38] 胡亮, 王军海, 王志烈, 等. 血管内皮生长因子联合突变型低氧诱导因子 1α 的促血管生成作用 [J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(3): 378-383.
- [39] 吴涛, 孙瑞敏, 王慧利, 等. 经股动脉灌注成纤维细胞生长因子对兔股骨头缺血性坏死新生血管及骨密度的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(17): 2658-2660.
- [40] WAZA AA, HAMID Z, ALI S, et al. A review on heme oxygenase-1 induction: is it a necessary evil. *Inflamm Res.* 2018;67(7):579-588.
- [41] ICER MA, GEZMEN-KARADAG M. The multiple functions and mechanisms of osteopontin. *Clin Biochem.* 2018;59:17-24.

(责任编辑: WZH, ZN, SX)