

# 基于网络药理学和分子对接探讨四妙丸 治疗慢性静脉功能不全的作用机制\*

牛少辉<sup>1,2</sup>, 曹建春<sup>3Δ</sup>, 程亚清<sup>3</sup>, 常金霞<sup>3</sup>, 王 唱<sup>3</sup>, 曹 刚<sup>3</sup>, 黄 强<sup>3</sup>, 于春利<sup>1</sup>

1 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091; 2 北京中医药大学, 北京 100029;

3 北京中医药大学东方医院, 北京 100078

**[摘要]** 目的:基于网络药理学和分子对接方法探讨四妙丸治疗慢性静脉功能不全(chronic venous insufficiency, CVI)的作用靶点,构建药物活性成分-靶点-通路网络并分析其作用信号通路,探讨其对CVI的防治作用及可能的分子机制。方法:应用中药系统药理学分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSP)并结合文献检索,筛选四妙丸中的活性成分与作用靶点,利用Uniprot数据库对靶点进行校正,应用GeneCards、OMIM、Drugbank数据库筛选疾病CVI靶点,应用R语言软件筛选药物与疾病共同靶点,应用Cytoscape 3.9.0软件构建药物-活性成分-靶点-疾病可视化网络图,应用STRING平台构建共同靶点蛋白互作(protein-protein interaction, PPI)网络,利用R语言和GO Enrichment Plot软件通过基因功能注释(gene ontology, GO)、京都基因和基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)对核心靶标进行基因功能和通路的注释分析。结果:筛选出75个四妙丸的活性成分,预测相关靶点770个,其中与疾病有关的靶点127个,这些靶点主要涉及脂多糖反应、氧化与抗氧化反应、伤口愈合等生物学过程,并主要富集在丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- $\kappa$ B)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素17(interleukin17, IL-17)等相关信号通路上。分子对接结果显示,四妙丸中的关键活性成分与治疗CVI的核心靶点有较好的结合性。结论:通过网络药理学证实了四妙丸具有多成分、多靶点、多途径的作用特点,预测了四妙丸治疗CVI的可能作用机制,为进一步实验验证其作用机制提供了理论依据。

**[关键词]** 四妙丸; 下肢静脉功能不全; 网络药理学; 分子对接; 通路分析

**[中图分类号]** R255.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2025)07-0079-09

## The Mechanism of Simiao Pills in the Treatment of Chronic Venous Insufficiency Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

NIU Shaohui<sup>1,2</sup>, CAO Jianchun<sup>3Δ</sup>, CHENG Yaqing<sup>3</sup>, CHANG Jinxia<sup>3</sup>, WANG Chang<sup>3</sup>, CAO Gang<sup>3</sup>,  
HUANG Qiang<sup>3</sup>, YU Chunli<sup>1</sup>

1 Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;

2 Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

3 Dongfang Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China

**Abstract** Objective: To discuss the targets of Simiao pills in treating chronic venous insufficiency (CVI) based on network pharmacology and molecular docking, to construct the network of herbal active ingredients-targets-pathway, and to analyze the signaling pathway, so as to discuss its preventive and therapeutic effects on CVI and the potential molecular mechanism. Methods: TCMSP was used, combined with literature search, to screen the active ingredients and targets of Simiao pills, Uniprot was utilized to correct the targets, GeneCards, OMIM and Drugbank were applied to screen CVI targets, R language was utilized to screen the shared targets of the medicine and disease, visualized network diagram of drug-active ingredients-target-disease was constructed using Cytoscape 3.9.0 software, PPI network of the common targets was built using STRING platform, R language and GO Enrichment Plot were adopted to perform Gene function and pathway annotation analysis of core targets via GO and KEGG. Results: The study screened out 75 active ingredients of the pill, and predicted 770 related targets, among them, there were 127 targets related to disease, and the targets were mainly involved in biological processes such as lipopolysaccharide reaction, oxidation and antioxidant reaction, and wound healing, mainly enriched in MAPK, NF- $\kappa$ B, TNF, IL-17 and other related signaling pathways. Molecular docking results showed that the key active ingredients in Simiao pills had good binding ability to the core targets of CVI treatment. Conclusion: Network pharmacology result has proved that Simiao pills have the characteristics of multiple components, multiple targets and multiple pathways, predicting the potential mechanism of Simiao pills in the treatment of CVI and it could provide theoretical basis for further experimental verification of its mechanism.

**Keywords** Simiao pills; chronic venous insufficiency of lower limbs; network pharmacology; molecular docking; pathway analysis

慢性静脉功能不全(chronic venous insufficiency, CVI)是周围血管病科的常见病。其包括的病变较为广泛,病因也较为复杂。疾病早期,患者多无症状和体征,后期多出现皮肤色素沉着和静脉性溃疡,严重影响患者的生活质量,并造成了较大的经济负担。西医治疗下肢静脉功能不全多采用静脉活性药物(迈之灵、地奥司明)治疗、肢体压力治疗、手术治疗等方式,药物口服的消化道反应,压力治疗的不适性,以及手术治疗的创伤,使其远期治疗效果不尽如人意。现代中医药从整体观念和辨证论治出发治疗 CVI,具有疗效独特且不良反应较小的优势。目前,四妙丸治疗 CVI 的具体药理作用和机制尚不明确,故限制了其临床应用和推广。

四妙丸出自清朝张秉承的《成方便读》,具有清热利湿、舒筋壮骨的作用和功效,现代药理研究表明四妙丸具有抗炎<sup>[1]</sup>、抗氧化<sup>[2-3]</sup>、增强免疫功能<sup>[4]</sup>等作用。CVI 患者辨证属脾虚湿阻、湿热下注证者,临床中可根据病情灵活应用本药。网络药理学是一种基于系统生物学理论<sup>[5]</sup>,对药物有效成分进行多靶点、多途径生物系统网络分析的方法<sup>[6-7]</sup>。本研究基于网络药理学方法探讨四妙丸治疗 CVI 的主要有效化合物、作用靶点、通路,进一步明确四妙丸治疗 CVI 的具体作用机制,为 CVI 的临床治疗提供思路。

## 1 资料与方法

**1.1 筛选四妙丸活性成分及靶点** 基于中药系统药理数据库与分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCSP),以“苍术”“黄柏”“牛膝”“薏苡仁”为检索词,选取四妙丸中所含中药的化合成分。以口服生物利用度(oral bioavailability, OB)≥30%及类药性(drug-likeness, DL)≥0.18 作为筛选条件,并在中国知网及 PubMed 数据库中查阅四妙丸中目前已研究的中药主要活性成分进行补充。过滤获取每味中药的化合成分及对应的药物靶点。

**1.2 CVI 靶点收集** 利用 Swiss 数据库对药物活性成分作用靶点进行垂钓,筛选符合条件的活性成分作用靶标。利用 GeneCards、OMIM、TTD 数据库,以“chronic venous insufficiency”为关键词筛选疾病靶点,其中 GeneCards 数据库以 score 值(相关度值)为限制条件,舍去在中位数以下的

靶点。利用 R 软件将成分靶点与疾病靶点相映射,得到四妙丸治疗 CVI 有效成分的作用靶点。

**1.3 可视化网络图构建** 将药物活性成分、药物和疾病共同靶点的节点文件等导入 Cytoscape 3.9.0 软件,构建药物-活性成分-靶点-疾病的可视化网络图。通过拓扑网络展示四妙丸有效活性成分与疾病靶点间相互作用的关系。

**1.4 蛋白互作网络构建** 应用 STRING 平台(<https://string-db.org/>)构建(protein-protein interaction, PPI)网络,将最低相互阈值设为 0.95。应用 R 语言软件绘制出现频次前 20 的基因条形图。

**1.5 GO 分析和 KEGG 通路富集分析** 利用 David 网站(<https://david.ncifcrf.gov/>),将中药调控网络中的基因 symbol 转换为基因 ID。利用 R 语言和 GO Enrichment Plot 软件,通过基因本体(gene ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto-encyclopedia of genes and genomes, KEGG)对核心靶标进行基因功能及通路的注释分析,并将结果以条形图或气泡图形式呈现,根据核心通路富集程度探究四妙丸治疗 CVI 可能的作用机制。以上 R 包的下载和软件网址通过 R 4.1.2、Bioconductor(<https://www.bioconductor.org/>)以及 GO Enrichment Plot(<http://www.ehbio.com/>)实现。

**1.6 关键成分和靶点分子对接** 通过 Pubchem 数据库获取小分子 3D 结构式,从 PDB 网站以分辨率低、无原子及侧链的丢失等条件筛选下载蛋白大分子结构式。在 proteins.plus 网站(<https://proteins.plus/>)预测结合口袋,选择大小合适、与小分子结构相似的口袋。将准备好的小分子与蛋白大分子结构导入 AltoDock-Vina 软件完成对接,采用能量打分函数来评价小分子与蛋白大分子的结合程度。

## 2 结果

**2.1 四妙丸活性成分的筛选** 共检索得到四妙丸所有活性成分 75 个,根据 OB 值得到各药物排名前 5 的有效活性成分基本信息。见表 1。

**2.2 药物-疾病靶点(Drug Disease Target, DDT)网络构建及可视化** 通过 GeneCard、OMIM、Drug-bank 上检索到关于 CVI 的治疗靶点,将两者进行交集处理,共得到 127 个药物疾病靶点。利用 Cytoscape 3.9.0 软件对 DDT 进行网络可视化,图中

橙色代表药物,绿色代表活性成分,蓝色代表药物 表示药物、成分与疾病靶点的互相作用关系。见图1。  
与疾病相互作用靶点,墨绿色代表疾病,相连的边

表1 四妙丸活性成分

药物名	活性成分编码	化合物成分	OB(%)	OL
苍术	MOL000085	$\beta$ -胡萝卜苷(beta-daucosterol-qt)	39.25	0.75
苍术	MOL000088	楔叶泽兰素-3-0-葡萄糖甙(eupafolin-3-0-glucoside)	40.57	0.75
苍术	MOL000092	胡萝卜甙(daucosterin-qt)	43.83	0.76
苍术	MOL000094	胡萝卜甾醇(daucosterol-qt)	45.20	0.76
牛膝	MOL000098	槲皮素(querctetin)	46.43	0.28
苍术	MOL000188	3 $\beta$ -乙酰氧基苍术酮(3Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group(EBCTCG).Aromatase inhibitors versus tamoxifen in early breast cancer:patient-level meta-analysis of the randomised trials[J].Lancet,2015,386(10001):1341-1352.-acetoxatractylone)	36.91	0.22
薏苡仁	MOL000359	谷甾醇(sitosterol)	36.91	0.75
牛膝	MOL000449	谷甾醇(sitosterol)	43.83	0.76
薏苡仁	MOL000449	谷甾醇(sitosterol)	43.83	0.76
黄柏	MOL000622	广玉兰内酯(magnograndiolide)	63.71	0.19
黄柏	MOL000785	黄藤素(palmatine)	64.60	0.65
牛膝	MOL000785	黄藤素(palmatine)	64.60	0.65
黄柏	MOL000787	蓝堇碱(fumarine)	59.26	0.83
薏苡仁	MOL000953	胆固醇(CLR)	37.87	0.68
黄柏	MOL001131	黄柏苷(phellamurin-qt)	56.60	0.39
薏苡仁	MOL001323	$\alpha_1$ -谷甾醇(sitosterol alpha1)	43.28	0.78
薏苡仁	MOL001494	甘露醇(mandenol)	42.00	0.19
黄柏	MOL002652	左旋-7-脱氢槐胺碱(7-dehydrosophoramine)	54.45	0.25
牛膝	MOL002897	表小檗碱(epiberberine)	43.09	0.78
牛膝	MOL012542	$\beta$ -蜕皮甾酮( $\beta$ -ecdysterone)	44.23	0.82

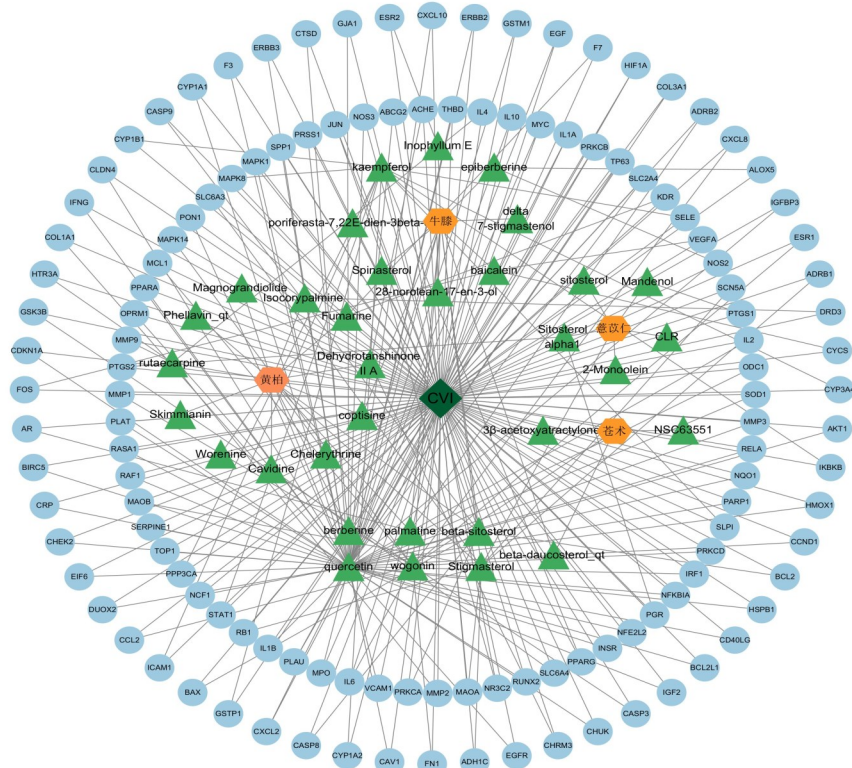


图1 药物-活性成分-靶点-疾病互作网络图

2.3 PPI网络的构建及可视化 将共同靶点输入STRING平台,构建共同靶点PPI互作网络,选取置信度高于0.99的数据得到核心蛋白,得到PPI网络,见图2。包含127个节点,2419条边,平均度

值为12.5。并将其导入CytoScape 3.9.0软件中,筛选得到四妙丸治疗CVI核心靶点24个。见表2、图3。

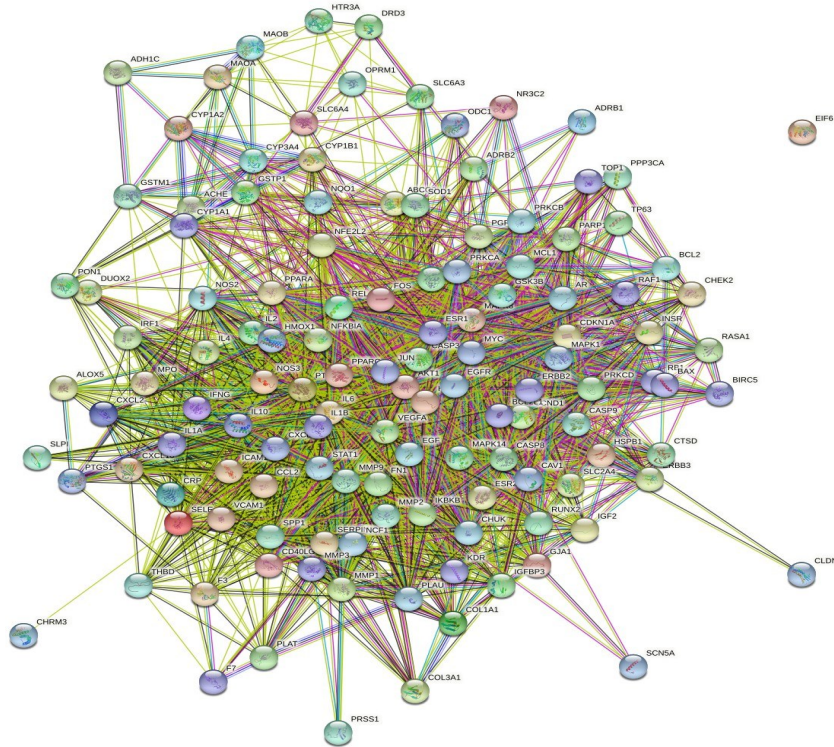


图2 四妙丸治疗CVI靶点的PPI网络图

表2 四妙丸治疗CVI核心靶点

序号	靶点名称	度值	介度中心性	接近中心性
1	白细胞介素6(IL-6)	23	0.181818182	1
2	趋化因子2(CCL2)	23	0.181818182	1
3	白细胞介素10(IL-10)	23	0.181818182	1
4	斑块黏附蛋白1(FN1)	23	0.181818182	1
5	白细胞介素1β(IL-1β)	23	0.181818182	1
6	磷酸化蛋白激酶(AKT1)	23	0.181818182	1
7	血管内皮生长因子A(VEGFA)	23	0.181818182	1
8	前列腺素内过氧化物合酶2(PGGS2)	23	0.181818182	1
9	白细胞介素4(IL-4)	22	0.090909091	0.958333333
10	重组低氧诱导因子1α(HIF1a)	23	0.181818182	1
11	基质金属蛋白酶9(MMP9)	23	0.181818182	1
12	编码转录因子(MYC)	23	0.181818182	1
13	趋化因子8(CXCL8)	23	0.181818182	1
14	基质金属蛋白酶2(MMP2)	23	0.181818182	1
15	半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶3(CASP3)	23	0.181818182	1
16	表皮生长因子(EGF)	23	0.181818182	1
17	细胞周期蛋白D1(CCND1)	22	0.090909091	0.958333333
18	脑区原癌基因蛋白(FOS)	23	0.181818182	1
19	NF-κB抑制剂α(NFKBIA)	23	0.181818182	1
20	氨基末端激酶(JUN)	23	0.181818182	1
21	重组人细胞间黏附分子1(ICAM1)	23	0.181818182	1
22	人表皮生长因子受体(EGFR)	22	0.090909091	0.958333333
23	巨噬细胞血红素加氧酶-1(HMOX1)	22	0.090909091	0.958333333
24	人过氧化物酶体增殖物激活受体Y(PPARG)	23	0.181818182	1

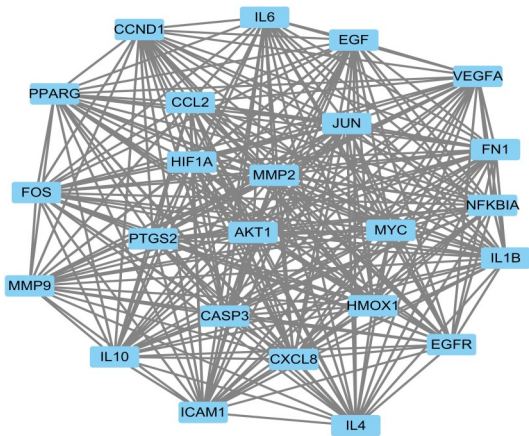


图3 四妙丸治疗CVI的24个核心基因靶点PPI网络图

**2.4 GO分析和KEGG通路富集分析** 对所获得的四妙丸差异基因进行富集分析,从生物途径(biology process, BP)、细胞定位(cellular component, CC)及分子功能(molecular function, MF)方面对基因进行注释和分类,得到基因富集情况的柱状图,见图4。对共同靶点进行KEGG通路富集分析,得到与CVI相关的通路富集气泡图,见图5。KEGG关系网络图见图6。在柱状图及气泡图中,柱状图高度/圆圈的大小代表富集的数目,颜色代表富集的显著程度,  $P$ 值越小显著程度越高、颜色越红。

**2.5 机制预测** 根据KEGG预测结果可知,涉及的信号通路有MAPK信号通路、磷脂酰肌醇3-激酶-蛋白激酶(PI3K-AKT)信号通路、TNF信号通路、IL-17信号通路、自噬信号通路、HIF-1信号通路,其中PI3K-AKT、MAPK、IL-17、TNF信号通路可能是四妙丸治疗CVI的作用通路。其机制预测见图7。

**2.6 药物成分-核心靶点分子对接验证分析** 将四妙丸中的有效活性成分与四妙丸治疗CVI最关键的24个靶点蛋白IL-6、CCL2、IL-10、FN1、IL-1 $\beta$ 、AKT1、VEGFA、PTGS2、IL-4、HIF1A、MMP9、MYC、CXCL8、MMP2、CASP3、EGF、CCND1、FOS、NFKBIA、JUN、ICAM1、EGFR、HMOX1、PPARG进行分子对接验证。四妙丸汤中的关键活性成分与核心靶点结合能的均值为-7.52 kcal/mol,将相对应的化合物-靶点相关的蛋白和化合物三维结构对接后见图8,对接结果如表3所示。提示这些活性成分与核心靶点蛋白的结合性较强。其中PTGS2与黄连素(berberine)、丹参酮II A(Dehydrotanshinone II A)、epiberberine、吴茱萸次碱(rutaecarpine)结合活性最优;山柰酚(kaempferol)与各蛋白形成氢键最丰富,结合构象更稳定,如与AKT1通过氨基酸残基SER-1223、VAL-1269、ALA-1178、GLN-1180、GLY-1227形成5个氢键,与CASP3通过氨基酸残基GLN-217、TRP-214、GLU-248、PHE-250形成4

个氢键。

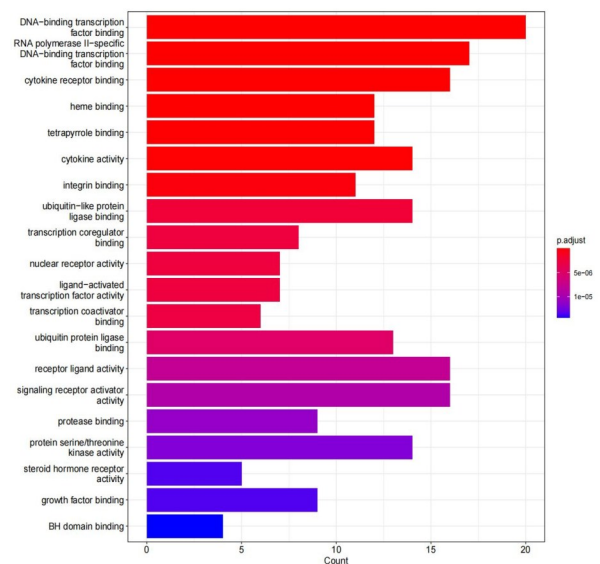
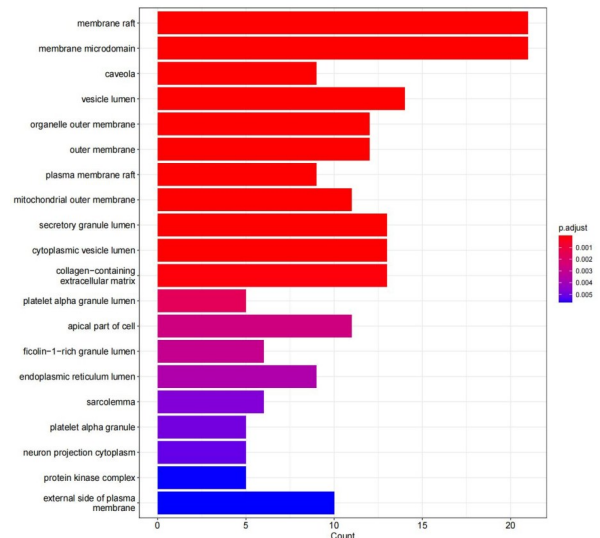
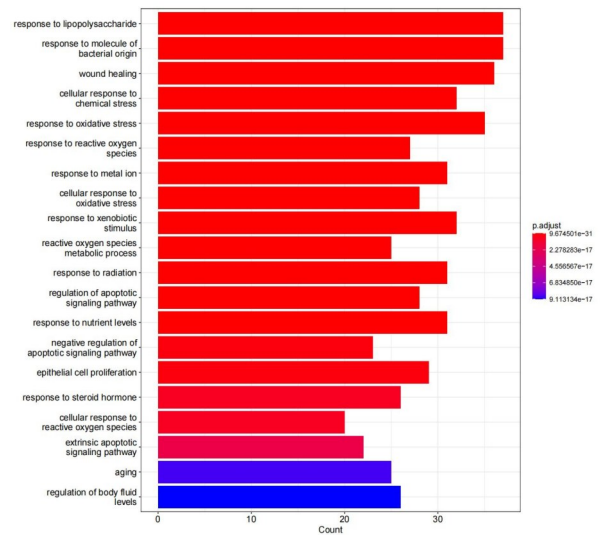


图4 四妙丸活性成分治疗CVI的关键靶点GO富集分析柱状图

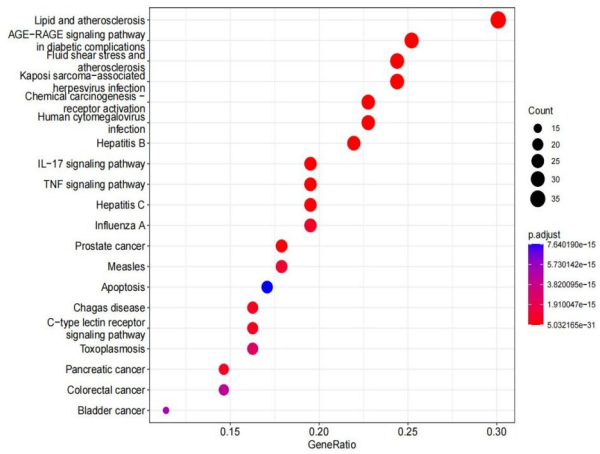


图5 KEGG通路富集气泡图

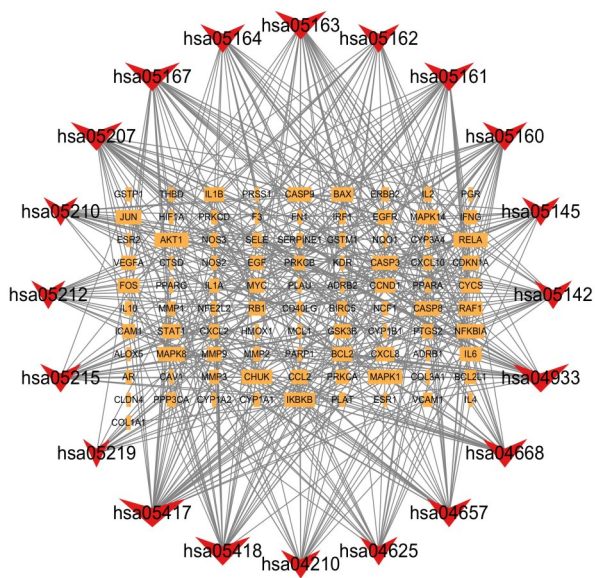


图6 KEGG关系网络图

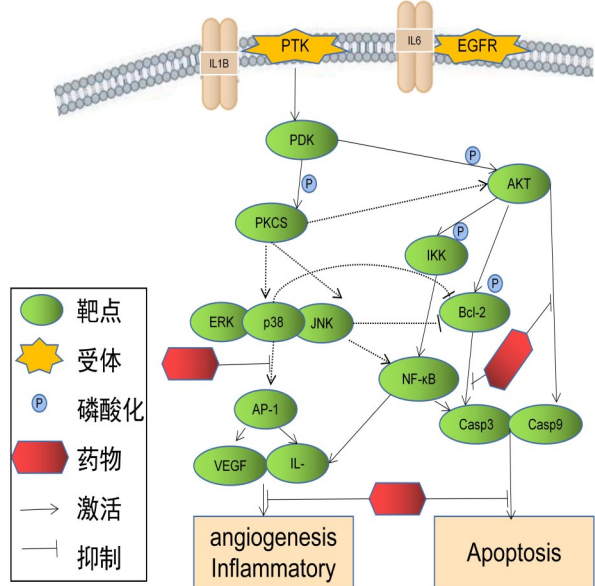
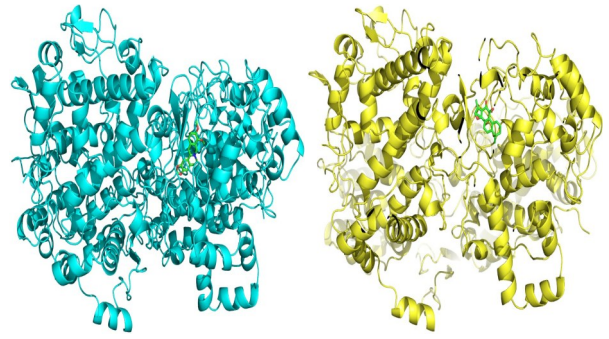
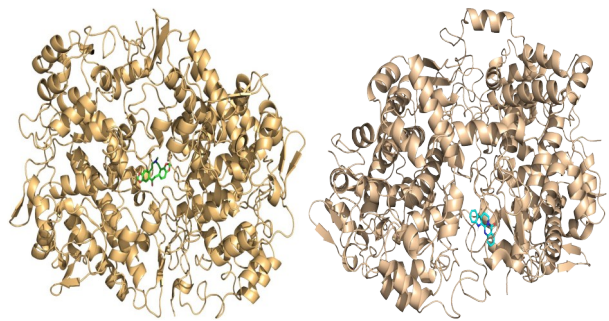


图7 四妙丸治疗CVI机制预测图



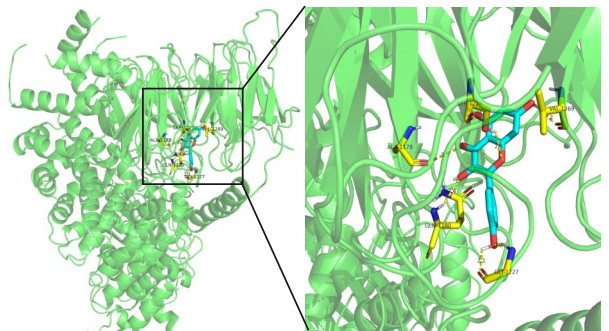
前列腺素内过氧化物合酶2-姜黄素

前列腺素内过氧化物合酶2-槲皮素

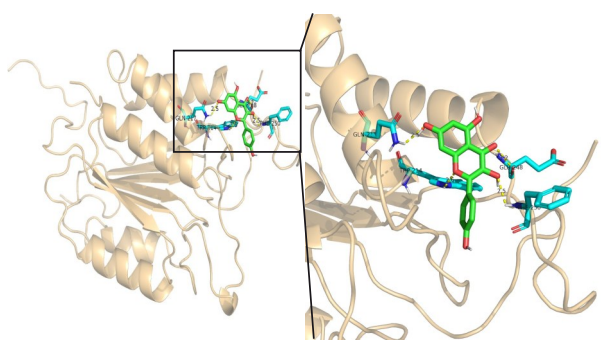


前列腺素内过氧化物合酶2-丹参酮II A

前列腺素内过氧化物合酶2-吴茱萸次碱



山柰酚-磷酸化蛋白激酶



山柰酚-半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶3

图8 四妙丸治疗CVI的核心靶点与化学成分的对接模型

表3 四妙丸中有效活性成分与四妙丸治疗CVI最关键的24个靶点蛋白分子对接验证

化合物	对接分数(kcal/mol)											
	AKT1	CASP3	CCL2	CCND1	CXCL8	EGF	EGFR	FN1	FOS	HIF1A	HMOX	ICAM1
黄芩素(baicalein)	-8.0	-7.7	-6.0	-7.8	-6.3	-6.6	-7.5	-9.2	-9.3	-7.5	-8.1	-6.4
黄连素(berberine)	-7.9	-7.7	-6.4	-7.2	-6.3	-6.6	-7.6	-9.0	-9.3	-7.5	-8.1	-6.5
谷甾醇(beta-sitosterol)	-7.7	-7.2	-5.3	-6.2	-5.8	-6.0	-7.6	-7.5	-7.2	-7.3	-7.4	-5.9
卡维丁(Cavidine)	-8.9	-7.9	-6.0	-6.9	-6.5	-6.8	-8.4	-8.8	-8.9	-7.3	-8.1	-6.6
丹参酮IIA (dehydrotanshinone II A)	-9.2	-8.3	-6.3	-9.1	-6.6	-6.7	-8.3	-10.0	-9.2	-7.7	-10.1	-6.9
表小檗碱(epiberberine)	-9.7	-8.0	-6.5	-8.4	-7.3	-7.3	-8.7	-8.5	-9.4	-7.6	-9.0	-9.0
蓝堇碱(fumarine)	-9.3	-8.0	-6.5	-8.4	-7.3	-7.3	-8.7	-8.8	-9.4	-7.6	-9.0	-7.5
红厚壳内酯(Inophyllum E)	-9.9	-9.0	-6.7	-8.1	-7.6	-7.4	-9.5	-10.6	-9.6	-8.4	-9.6	-7.7
异紫堇球碱(Isocorypalmine)	-8.0	-7.1	-6	-7.6	-6.1	-6.0	-7.1	-8.8	-8.3	-7.3	-7.9	-6.4
山柰酚(kaempferol)	-8.5	-7.0	-5.8	-8.3	-6.0	-6.2	-7.7	-8.4	-10.1	-7.4	-8.3	-6.7
12-二乙酸乙酯(mandenol)	-4.7	-5.7	-3.4	-4.0	-3.8	-3.6	-4.4	-4.4	-4.9	-3.7	-6.7	-3.9
黄藤素(palmatine)	-7.3	-7.1	-6.0	-7.6	-5.7	-6.1	-7.3	-8.3	-8.1	-6.6	-8.0	-6.1
槲皮素(quercetin)	-8.9	-7.1	-6.4	-7.6	-6.2	-6.4	-7.9	-9.0	-10.0	-7.7	-8.4	-6.8
吴茱萸次碱(rutaecarpine)	-8.8	-7.8	-6.5	-8.0	-6.9	-7.1	-8.5	-10.2	-9.3	-8.1	-10.5	-7.1
$\alpha_1$ 谷甾醇(sitosterol $\alpha_1$ )	-8.7	-7.1	-5.6	-6.5	-5.9	-6.6	-8.5	-7.1	-8.0	-7.7	-7.7	-6.3
菠菜甾醇(spinasterol)	-7.4	-7.1	-6.4	-7.0	-6.2	-6.4	-8.5	-7.6	-8.0	-7.1	-7.9	-6.2
豆甾醇(stigmasterol)	-8.2	-7.3	-5.6	-6.6	-5.9	-6.6	-8.1	-8.3	-7.7	-7.3	-7.8	-6.6
汉黄芩素(wogonin)	-8.2	-7.4	-5.8	-8.4	-6.0	-6.2	-7.5	-8.6	-9.6	-7.1	-8.9	-6.3

化合物	对接分数(kcal/mol)											
	IL-1 $\beta$	IL-4	IL-6	IL-10	JUN	MMP2	MMP9	MYC	NFKBIA	PPARG	PTGS2	VEGFA
黄芩素(baicalein)	-7.2	-6.8	-7.2	-7.7	-8.6	-8.9	-8.0	-6.9	-8.2	-7.4	-9.4	-7.5
黄连素(berberine)	-7.2	-7.0	-7.0	-7.7	-8.5	-8.2	-8.0	-6.9	-7.9	-8.1	-10.5	-7.5
谷甾醇(beta-sitosterol)	-6.5	-5.8	-7.3	-8.1	-7.3	-7.6	-7.5	-6.7	-7.7	-8	-8.1	-6.6
卡维丁(Cavidine)	-6.6	-6.7	-6.5	-7.7	-8.1	-8.8	-8.5	-6.7	-8.6	-7.8	-9.6	-7.2
丹参酮IIA (dehydrotanshinone II A)	-7.6	-7.9	-7.9	-8.3	-8.1	-10.1	-8.0	-7.2	-8.5	-9.6	-10.8	-7.6
表小檗碱(epiberberine)	-7.5	-7.9	-7.8	-7.3	-8.0	-10.5	-8.1	-7.5	-9.2	-9.5	-10.1	-8.1
蓝堇碱(fumarine)	-7.9	-7.8	-7.1	-8.0	-8.5	-10.5	-8.1	-7.4	-9.0	-9.1	-9.6	-8.1
红厚壳内酯(Inophyllum E)	-8.5	-8.8	-7.4	-8.8	-8.0	-8.0	-8.2	-7.9	-9.5	-10.4	-9.6	-8.9
异紫堇球碱(Isocorypalmine)	-7.1	-6.7	-6.1	-7.1	-7.9	-8.1	-7.7	-6.3	-7.6	-7.6	-8.7	-7.0
山柰酚(kaempferol)	-7.2	-7.1	-6.7	-6.6	-7.6	-8.7	-7.7	-7.0	-8.3	-8.0	-9.3	-6.6
12-二乙酸乙酯(mandenol)	-4.7	-5.0	-3.5	-5.3	-3.4	-4.7	-4.6	-3.1	-3.8	-5.1	-4.9	-3.9
黄藤素(palmatine)	-6.8	-6.3	-6.2	-7.2	-7.5	-7.9	-7	-5.5	-7.3	-6.5	-8.9	-6.8
槲皮素(quercetin)	-7.3	-7.1	-7.1	-6.6	-8.1	-9.0	-7.9	-6.9	-8.5	-7.5	-9.6	-6.8
吴茱萸次碱(rutaecarpine)	-7.4	-8.4	-7.9	-8.2	-8.6	-10.1	-9.8	-8.9	-9.8	-9.1	-10.8	-7.7
$\alpha_1$ 谷甾醇(sitosterol $\alpha_1$ )	-7.0	-5.8	-6.7	-8.5	-6.7	-8.0	-7.7	-5.9	-8.0	-7.4	-7.5	-6.5
菠菜甾醇(spinasterol)	-7.1	-6.5	-7.7	-9.1	-7.1	-7.3	-8.8	-7.1	-8.1	-7.9	-7.6	-6.5
豆甾醇(stigmasterol)	-6.9	-6.7	-7.4	-8.6	-7.4	-8.8	-7.3	-6.1	-8.0	-8.4	-7.4	-6.7
汉黄芩素(wogonin)	-6.3	-7.3	-6.3	-7.1	-6.8	-8.4	-7.6	-6.8	-7.8	-7.6	-8.9	-6.5

### 3 讨论

四妙丸为治疗清热利湿的常用药物之一,其组方严谨、配伍精当,主治湿热之邪下注,热毒蕴结而为之病。全方起清热解毒除湿,通痹止痛消肿之效,其改善 CVI 临床症状的作用已得到认可。四妙丸由黄柏、苍术、牛膝、薏苡仁组成。方中黄柏寒凉苦燥,其性沉降,善清下焦湿热,为君药;苍术辛苦而温,其性燥烈,一则健脾助运以治生湿之本,二则芳化苦燥以除湿阻之标,为臣药;牛膝补肝肾、强筋骨,性善下行,有引药直达病所之义,为佐药;薏苡仁健脾渗湿、舒筋缓急,为使药。全方清热利湿与健脾消肿药物相配,表里相配,标本兼顾,共奏清热利湿、健脾消肿之功。

结合图 1 可发现,四妙丸具有多靶点治疗作用,其中主要有效成分前五位为槲皮素、山柰酚、汉黄芩素、豆甾醇、吴茱萸碱。槲皮素作为黄酮类中抗氧化还原能力最强的成分,已经被证实有抗氧化、抗炎、抗血小板聚集等作用<sup>[8-9]</sup>,CVI 患者因长期静脉压力过高,使得下肢静脉血管内皮长期处于缺血缺氧状态,造成细胞内的酶活性和细胞抗氧化能力下降,而槲皮素被证实可以调控受损内皮细胞的凋亡,抑制促凋亡基因 bax、Caspase-3 的表达,对受损细胞起到保护和修复作用,可以用于治疗和缓解因为内皮细胞的损伤而发生的疾病<sup>[10]</sup>。研究表明,山柰酚具有十分明显的抗炎作用,其作用机制主要包括调节促炎酶的活性和炎症相关基因表达,抑制转录因子、黏附分子以及基质金属蛋白酶等<sup>[11]</sup>。汉黄芩素可通过抑制 iNOS、COX-2、NO、IL-6 等因子的释放,从而减轻炎症<sup>[12]</sup>,或通过抑制髓样分化因子-2(myeloid differentiation protein 2, MD-2)/TLR4 复合物的形成以及炎症小体的激活,降低促炎介质表达。LI 等<sup>[13]</sup>发现,豆甾醇可显著抑制 A7r5 细胞中血管紧张素 II (Angiotensin II, Ang II) 诱导的活性氧(reactive oxygen species, ROS)的增加,表明豆甾醇对 A7r5 细胞具有抗氧化作用。吴茱萸碱能增强 NLRP3 炎症小体活化,诱导 IL-1 $\beta$  和 Caspase-1 裂解增加,并通过诱导  $\alpha$ -微管蛋白乙酰化增强炎症小体活性,降低机体炎症反应<sup>[14]</sup>。

CVI 的病因及发病机制复杂,目前主要认为静脉压力升高和流体剪切应力的转移在静脉、静脉壁和瓣膜中产生了异常的生物力学环境。这些血流动力学和生物力学异常可能诱发内皮功能障碍,导致降解细胞外基质的酶的早期释放和激活,进而引发一系列的白细胞浸润和炎症<sup>[15]</sup>。静脉高压导致内皮细胞被激活,分泌多种生长因

子,如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)<sup>[16]</sup>、血小板来源的生长因子<sup>[17]</sup>、血管紧张素 2、内皮素 1 和成纤维细胞生长因子  $\beta$ <sup>[18]</sup>,增殖型 VSMC 的功能和收缩性受到限制,维持血管张力的作用减低,削弱了静脉壁的弹性改变和刚性,使其在高压下无法保持形状和完整性<sup>[19]</sup>。转化生长因子  $\beta_1$  浓度升高也有助于破坏细胞外基质稳态,刺激基质金属蛋白酶组织抑制剂的释放,降解细胞外基质蛋白<sup>[20]</sup>。

通过 PPI 互作网络分析,可见蛋白互作频次较高的有蛋白激酶相关受体(AKT1、JUK、CAPS3、MMP9)、炎症相关受体(IL-6、IL-10)、生长因子相关配体受体[VEGFA、EGF、EGFR、雌激素受体 1 (ESR1)]等,是整个网络的节点蛋白。GO 分析结果显示四妙丸可能在膜筏、膜微孔、膜受体及分泌腔等位置,通过氧化应激反应、生长因子及凋亡信号通路的调节生物学过程,与细胞因子及相关受体、配体、蛋白连接酶等结合而发挥作用。

将本研究结果与四妙丸的前期实验研究<sup>[21-22]</sup>及目前 CVI<sup>[23-24]</sup>研究进展相结合,笔者认为 NF- $\kappa$ B、IL-17、TNF 及 MAPK 信号通路可能是四妙丸治疗 CVI 的主要作用通路,四妙丸可能基于 NF- $\kappa$ B 通路联合 IL-17/TNF/MAPK 信号通路发挥治疗 CVI 的作用。

NF- $\kappa$ B<sup>[25]</sup>正常情况下以一种无活性的二聚体形式存在于胞浆,炎性细胞因子刺激细胞后,磷酸化 I $\kappa$ B,诱使其下游炎性细胞因子合成释放,激活炎症反应、细胞凋亡。PI3K-AKT 作为 NF- $\kappa$ B 的上游,受到细胞因子刺激后促进 AKT 的活化,激活下游的 IKK,进而促进 NF- $\kappa$ B 信号通路的表达<sup>[26]</sup>。IL-17 由 Th17 细胞生成,参与炎症反应。不但能够促进细胞增殖并且可以促进各类细胞释放炎性因子<sup>[27]</sup>,通过受体近端衔接子 Act1,激活下游的 NF- $\kappa$ B、MAPK,以诱导细胞因子和趋化因子的表达。MAPK 信号通路<sup>[28]</sup>是典型的基于多种激酶的级联放大通路,其中,其中的 ERK、JUK、p38MAPK 信号通路都与炎症和应激反应相关,其中的 p38MAPK 还与 NF- $\kappa$ B 通路存在通路交互,介导 I $\kappa$ B- $\alpha$  参与炎症、增殖和凋亡等调节<sup>[29]</sup>。本研究利用网络药理学和分子对接的方法,探讨了四妙丸治疗 CVI 的可能作用机制,所得结果基本符合目前 CVI 的基础研究成果,表明研究结果具有较高参考价值,可为后续实验设计及进一步研究提供思路和方法。

#### 参考文献

- [1] FAN J, LIU K, ZHANG Z, et al. Modified Si-Miao-San extract inhibits the release of inflammatory mediators from lipopolysaccharide-stimulated mouse

- macrophages[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 129(1):5-9.
- [2] SHANG S W, YANG J L, HUANG F, et al. Modified *Si-Miao-San* ameliorates pancreatic B cell dysfunction by inhibition of reactive oxygen species-associated inflammation through AMP-kinase activation[J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(5):351-360.
- [3] LOWER-NEDZA A D, KUESS C, ZHAO H, et al. *In vitro* anti-inflammatory and antioxidant potential of *Si-Miao-San*, its modifications and pure compounds[J]. *Nat Prod Commun*, 2013, 8(8):1137-1141.
- [4] 张秀丽, 雷昌, 孟盼, 等. 四妙丸超微制剂与传统制剂对佐剂性关节炎的改善作用及免疫调节比较研究[J]. *亚太传统医药*, 2016, 2(15):15-18.
- [5] 王子怡, 王鑫, 张岱岩, 等. 中医药网络药理学:《指南》引领下的新时代发展[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(1):7-17.
- [6] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读[J]. *中草药*, 2021, 52(14):4119-4129.
- [7] 韩森, 吕爱平, 李健, 等. 网络药理学在中药药性理论研究中的应用概述[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2019, 25(1):127-130.
- [8] 张菡蓓, 白海. 槲皮素抗肿瘤机制的研究进展[J]. *西部中医药*, 2022, 35(10):145-150.
- [9] 万超, 朱小虎, 程宇核, 等. 内热针疗法对豚骨关节炎大鼠软骨细胞凋亡及Caspase-3和Caspase-9表达的影响[J]. *中国针灸*, 2019, 39(4):409-416.
- [10] 黄晓欢. 槲皮素对人脐静脉血管内皮细胞的OGD损伤的保护作用及机制研究[J]. *按摩与康复医学*, 2021, 12(1):79-84.
- [11] 秦华珍, 何瑞坤, 戴庆玲, 等. 山姜属中药黄酮类成分研究进展[J]. *西部中医药*, 2022, 35(1):145-148.
- [12] 段航, 王林华, 邝高艳, 等. 汉黄芩素在骨关节炎中的药理作用及其机制的研究进展[J]. *中成药*, 2023, 45(12):4030-4035.
- [13] LI C, LIU Y, XIE Z, et al. Stigmasterol protects against Ang II-induced proliferation of the A7r5 aortic smooth muscle cell-line[J]. *Food Funct*, 2015, 6(7):2266-2272.
- [14] LI C G, ZENG Q Z, CHEN M Y, et al. Evodiamine augments NLRP3 inflammasome activation and anti-bacterial responses through inducing  $\alpha$ -tubulin acetylation[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10:290.
- [15] POCOCK E S, ALSAIGH T, MAZOR R, et al. Cellular and molecular basis of Venous insufficiency[J]. *Vasc Cell*, 2014, 6(1):24.
- [16] HOWLADER M H, COLERIDGE SMITH P D. Relationship of plasma vascular endothelial growth factor to CEAP clinical stage and symptoms in patients with chronic venous disease[J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2004, 27(1):89-93.
- [17] TISATO V, ZAULI G, GIANESINI S, et al. Modulation of circulating cytokine-chemokine profile in patients affected by chronic venous insufficiency undergoing surgical hemodynamic correction[J]. *J Immunol Res*, 2014, 32(7):473-477.
- [18] KOWALEWSKI R, MALKOWSKI A, SOBOLEWSKI K, et al. Evaluation of aFGF/bFGF and FGF signaling pathway in the wall of varicose veins[J]. *J Surg Res*, 2009, 155(1):165-172.
- [19] XIAO Y, HUANG Z, YIN H, et al. *In vitro* differences between smooth muscle cells derived from varicose veins and normal veins[J]. *J Vasc Surg*, 2009, 50(5):1149-1154.
- [20] CASTRO FERREIRA R, CARDOSO R, LEITE MOREIRA A, et al. The role of endothelial dysfunction and inflammation in chronic venous disease[J]. *Ann Vasc Surg*, 2018, 46:380-393.
- [21] 袁晓, 范永升, 谢冠群, 等. 基于“TLR4/NF- $\kappa$ B”信号通路研究“加味四妙丸”治疗急性痛风性关节炎大鼠的作用机制[J]. *浙江中医药大学学报*, 2017, 41(1):17-24.
- [22] 王振宇. 四妙丸对类风湿性关节炎作用的实验研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2007.
- [23] 潘倩雄, 陈金春, 陈海斌, 等. 血浆IL-8、IL-17检测在静脉曲张性湿疹诊断中的价值探讨[J]. *现代实用医学*, 2016, 28(3):389-390.
- [24] 蒋玉洁, 赵璐. 下肢慢性静脉疾病内皮功能障碍机制的研究进展[J]. *中国血管外科杂志(电子版)*, 2019, 11(3):229-232.
- [25] MITCHELL S, VARGAS J, HOFFMANN A. Signaling via the NF $\kappa$ B system[J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2016, 8(3):227-241.
- [26] MENG L Q, YANG F Y, WANG M S, et al. Quercetin protects against chronic prostatitis in rat model through NF- $\kappa$ B and MAPK signaling pathways [J]. *Prostate*, 2018, 78(11):790-800.
- [27] 刘冰, 韩冰, 袁红亮, 等. 血清IL-17、IL-23水平对雷公藤多苷治疗类风湿关节炎的预后评估价值[J]. *西部中医药*, 2023, 36(5):143-147.
- [28] 祝盼盼, 商亚珍. MAPK信号通路介导细胞凋亡的研究进展[J]. *承德医学院学报*, 2021, 38(3):243-246.
- [29] 王立哲, 王振贤, 马晓伟. 基于p38 MAPK/NF- $\kappa$ B信号通路探讨藏红花素对糖尿病心肌病大鼠的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2024, 33(13):1757-1764.

收稿日期:2025-01-31

\*基金项目:国家自然科学基金面上项目(81874473);中国科学院科技创新工程(CI2021A01912);2019年北京中医药大学基本科研业务在读研究生项目(2019-JYB-XS-219);丰台区卫生健康系统科研项目(2019-71)。

作者简介:牛少辉(1994—),男,博士学位,主治医师。研究方向:周围血管病的中西医结合诊治。

△通讯作者:曹建春(1972—),男,博士学位,博士研究生导师,教授,主任医师。研究方向:外科疾病的中西医结合诊治。Email:caojianchun01@163.com。