

# 基于网络药理学和分子对接技术探讨淫羊藿 - 女贞子治疗绝经后骨质疏松症的作用机制

李 熠<sup>1,2</sup>, 李明辉<sup>3</sup>, 王嘉璐<sup>1,2</sup>, 李 停<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>湖北中医药大学第一临床学院, 湖北 武汉

<sup>2</sup>湖北省新华医院骨科, 湖北 武汉

<sup>3</sup>河南医药健康技师学院健康服务管理系, 河南 开封

收稿日期: 2023年9月4日; 录用日期: 2023年10月10日; 发布日期: 2023年10月20日

## 摘 要

目的: 运用网络药理学和分子对接技术分析淫羊藿 - 女贞子治疗绝经后骨质疏松的作用机制。方法: 利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)筛选淫羊藿 - 女贞子的有效活性成分及对应靶点。人类基因数据库(Genecards)、在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)、DisGeNET数据库获取绝经后骨质疏松的相关靶点。使用Venn2.1.0在线平台获取药物与疾病的交集靶点, 利用STRING在线数据库构建交集靶点的蛋白相互作用关系, 并使用Cytoscape3.9.1软件构建网络图。通过Metascape数据库对交集靶点进行GO和KEGG通路富集分析并使用微生信平台绘图, 使用Cytoscape3.9.1软件构建淫羊藿 - 女贞子治疗绝经后骨质疏松的“药物成分 - 靶点 - 通路”网络图。最后运用PyMOL等软件对淫羊藿 - 女贞子的主要活性成分与关键靶点进行分子对接验证。结果: 共得到淫羊藿 - 女贞子活性成分27个, 活性成分相关靶点233个; GeneCards、OMIM、DisGeNET数据库得到绝经后骨质疏松相关靶点1083个, 经Venn2.1.0在线平台得到交集靶点80个。共筛选到27中有效成分, 主要有效成分有: 槲皮素(quercetin)、木犀草素(luteolin)、山奈酚(kaempferol)、大黄素(emodin)、脱水淫羊藿素(Anhydroicaritin)等, AKT1 (蛋白激酶1)、IL-6 (白细胞介素-6)、TNF (肿瘤坏死因子)、VEGFA (血管内皮生长因子)、IL-1 $\beta$  (白细胞介素-1 $\beta$ )、MMP9 (基质金属蛋白酶-9)、PTGS2 (前列腺素内过氧化物合酶2)、CCL-2 (淋巴细胞趋化因子-2)、CXCL8 (白细胞介素-8)、EGF (表皮生长因子), 为淫羊藿 - 女贞子治疗绝经后骨质疏松的核心靶点。GO和KEGG分析结果表明淫羊藿 - 女贞子治疗绝经后骨质疏松主要涉及细胞分化的负调控、细胞对脂质、脂多糖、细菌来源的反应等生物过程; 主要通过参与癌症通路、肿瘤坏死因子信号通路、白细胞介素-17信号通路、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路等作用于绝经后骨质疏松。分子对接结果表明, 羌活胜湿汤中槲皮素、山奈酚、木犀草素等5个主要活性成分与AKT1、IL-6、TNF等5个关键靶点有着较好的亲和力。结论: 淫羊藿 - 女贞子可以通过槲皮素(quercetin)、木犀草素(luteolin)、山奈酚(kaempferol)、大黄素(emodin)、脱水淫羊藿素(Anhydroicaritin)等成分与AKT1 (蛋白激酶1)、IL-6 (白细胞介素-6)、TNF (肿瘤坏死因子)、VEGFA (血管内皮生长因子)、IL-1 $\beta$  (白细胞介素-1 $\beta$ )、MMP9 (基质金属蛋白酶-9)、PTGS2 (前列腺素内过氧化物合酶2)、CCL-2 (过淋巴细胞趋化因子-2)、CXCL8 (白细胞介素-8)、EGF (表皮生长因子)等靶点产生相互作用, 调节AGE-RAGE信号通路、TNF、PI3K-Akt、GFR等通路实现治疗绝经后骨质疏松的作用。

## 关键词

淫羊藿 - 女贞子, 网络药理学, 分子对接, 绝经后骨质疏松, 靶点, 作用机制

# Mechanism of Epimedia-Ligustrum in Treating Postmenopausal Osteoporosis Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

Yi Li<sup>1,2</sup>, Minghui Li<sup>3</sup>, Jialu Wang<sup>1,2</sup>, Ting Li<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>First Clinical College, Hubei University of Chinese Medicine, Hubei Wuhan

<sup>2</sup>Department of Orthopedics, Hubei Provincial Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Wuhan Hubei

<sup>3</sup>Department of Health Service Management, Henan Technician College of Medical and Health, Kaifeng Henan

Received: Sep. 4<sup>th</sup>, 2023; accepted: Oct. 10<sup>th</sup>, 2023; published: Oct. 20<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

**Objective:** This paper aims to analyze the mechanism of Epimedia-Ligustrum in treating postmenopausal osteoporosis by network pharmacology and molecular docking. **Methods:** The active components and corresponding targets of Epimedia-Ligustrum were screened using the Systematic Pharmacology Database and Analysis platform (TCMSP). The Human Genetic Database (Genecards), online Human Mendelian Genetic Database (OMIM) and DisGeNET database were used to obtain the relevant targets of postmenopausal osteoporosis. The Venn2.1.0 online platform was used to obtain the intersection targets of drugs and diseases, the protein interaction relationship of intersection targets was constructed using STRING online database, and the network diagram was constructed using Cytoscape3.9.1 software. The GO and KEGG pathway enrichment analysis of intersection targets was carried out through Metascape database, and the mapping was carried out using Weishengxin platform. The “drug component-target-pathway” network map of Epimedia-Ligustrum in the treatment of postmenopausal osteoporosis was constructed using Cytoscape3.9.1 software. Finally, PyMOL software was used to verify the molecular docking between the main active components and key targets of Fructus herba. **Results:** A total of 27 active constituents and 23 related targets of active constituents were obtained. 1083 targets related to postmenopausal osteoporosis were obtained from GeneCards, OMIM and DisGeNET databases, and 80 intersecting targets were obtained from Venn2.1.0 online platform. A total of 27 active ingredients were screened, and the main active ingredients were: quercetin, luteolin, kaempferol, emodin, Anhydroicaritin, etc. AKT1 (protein kinase 1), IL-6 (interleukin-6), TNF (tumor necrosis factor), VEGFA (vascular endothelial growth factor), IL-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ ), MMP9 (matrix metalloproteinase-9), PTGS2 (prostaglandin peroxidase synthase 2), CCL-2 (lymphocyte chemokine-2), CXCL8 (Interleukin-8) and EGF (epidermal growth factor) are the core targets of Epimedia-Ligustrum in the treatment of postmenopausal osteoporosis. The results of GO and KEGG analysis showed that the treatment of postmenopausal osteoporosis mainly involved the negative regulation of cell differentiation, cell response to lipids, lipopolysaccharides and bacteria. It mainly plays a role in postmenopausal osteoporosis by participating in cancer pathway, tumor necrosis factor signaling pathway, interleukin-17 signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, MAPK signaling pathway, etc. The molecular docking results showed that quercetin, kaempferol and luteolin in Qiangshengsheng Decoction had good affinity with five key targets such as AKT1, IL-6 and TNF. **Conclusion:** The protein kinase 1 (AKT1) and IL-6 (leucocytic agent) can be combined with quercetin, luteolin, kaempferol, emodin and Anhydroicaritin (Tin-6), TNF (tumor necrosis factor), VEGFA (vascular endothelial growth factor), IL-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ ), MMP9 (matrix metalloproteinase-9), PTGS2 (prostaglandin peroxidase synthase 2), CCL-2

(hyperlymphocyte chemokine-2), CXCL8 (interleukin-8), EGF (epidermal growth factor) and other targets interact, regulating AGE-RAGE signaling pathway, TNF, PI3K-Akt, GFR and other pathways to achieve the treatment of postmenopausal osteoporosis.

## Keywords

Epimedia-Ligustrum, Network Pharmacology, Molecular Docking, Postmenopausal Osteoporosis, Target, Mechanism

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

绝经后骨质疏松症(Postmenopausal Osteoporosis, PMOP)属于原发性骨质疏松疾病,一般女性进入绝经期后 5~10 年内[1],由于体内的激素水平[2]、氧化应激反应[3]、肠道菌群[4]等因素的影响,从而打破体内骨质的形成和再吸收的平衡,引起骨代谢紊乱,导致骨量的丢失和骨强度的减弱,诱发骨质疏松[5]。临床表现为疼痛、脊柱畸形、甚至脆性骨折,严重影响影响患者的生活质量,并可能缩短其寿命。

“绝经后骨质疏松症”在中医学中根据其病发症候可归于“骨痿”“骨痹”“骨枯”等。春秋战国时代《内经》首次记载“骨痿”一词,还有“肾脂枯不长”为骨痹、“骨枯而髓减”为骨痿的记载,《素问·痿论》云:“黄帝问曰:五脏使人痿,何也?……发为骨痿”。《灵枢·经脉》曰:“足少阴气绝,则骨枯”。淫羊藿温肾壮阳、女贞子滋补肝肾之阴,两药相合,有调和阴阳、益肾健骨的功效。通过总结国家级名老中医李世增教授 50 余年的临床经验处方筛选出治疗绝经后骨质疏松的药对:淫羊藿-女贞子。但目前对于“淫羊藿-女贞子”治疗绝经后骨质疏松的作用机制研究尚处于起步探索阶段,本研究拟采用网络药理学方法分析淫羊藿女贞子中各成分作用的靶点、通路,并预测其治疗绝经后骨质疏松的作用机制[6],为后续临床应用及实验研究提供理论支撑。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 中药淫羊藿-女贞子化学活性成分筛选及靶点预测

首先,在中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)中以“淫羊藿-女贞子”为关键词检索[7],根据口服利用度(OB)  $\geq 30\%$ ,类药物参数(DL)  $\geq 0.18$  筛选 2 味中药的有效活性成分;其次,未满足上一筛选条件的有效成分,通过中国知网、万方数据知识服务平台检索收集已通过验证的有效成分,纳入分析。最后,根据初步筛选后获取各中药成分相关作用靶点,将靶点数据录入 UniProt 数据库对其蛋白名称标准化。

### 2.2. 绝经后骨质疏松靶点获取

在人类基因数据库(Genecards)、在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)、DisGeNET 数据库以“postmenopausal osteoporosis”作为检索词[7],获取绝经后骨质疏松相关疾病靶点。通过 Venn2.1.0 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)在线平台获取药物和疾病的交集靶点韦恩图。

### 2.3. 中药-活性成分-靶点网络构建

将中药、活性成分、靶点信息整理导入 Cytoscape3.9.1 软件构建网络图,进行可视化分析。

## 2.4. 蛋白质相互作用关系网络构建

将药物和疾病的交集靶点导入 STRING 在线数据库,设置 Organism 为“Homosapiens”,构建交集靶点之间的蛋白相互作用网络关系(protein-proteininteraction, PPI),并通过 Cytoscape3.9.1 绘制 PPI 网络图。

## 2.5. GO 富集分析与 KEGG 富集分析

将交集靶点导入 Metascape (<http://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)在线数据库,物种设置为智人(H.sapiens),选择个性化分析,分别进行基因本体(geneontology, GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析。通过微信平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>)绘制 GO 柱状图与 KEGG 气泡图。

## 2.6. 分子对接

根据 PPI 分析结果选取疾病核心靶点分别与药物关键成分进行分子对接:从 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>)下载核心蛋白基因的 3D 结构,利用 PyMOL 软件对蛋白质进行去水、去配体等操作;在 TCMSP 数据库中根据关键活性成分 Chemicalname 查找女贞子、淫羊藿活性成分的化合物名称获取相应化合物 3D 结构式保存为 mol2 格式,通过 AutoDockTools1.5.7 软件将核心蛋白基因及化合物加氢、平衡电荷处理保存为 pdbqt 格式并定义活性口袋,最后运行 AutoDockTools 软件进行对接并利用 PyMOL 软件对分析结果可视化。

## 3. 结果

### 3.1. 淫羊藿 - 女贞子中药化学成分及靶点筛选结果

通过 TCMSP 数据库及中国知网等期刊查找共得到 38 个符合条件的活性成分,剔除无对应靶标的成分,最终得到 27 个活性成分,其中淫羊藿 22 个,女贞子 8 个(见表 1)。预测得到淫羊藿、女贞子药物靶点 233 个。

**Table 1.** Ingredient list of Mongolian medicine Epimedium-Ligustrum

**表 1.** 淫羊藿 - 女贞子主要活性成分

编号	活性代码	有效成分	来源
YYH1	MOL001510	24-epicampestrol	淫羊藿
YYH2	MOL001645	Linoleyl acetate	淫羊藿
YYH3	MOL001771	poriferast-5-en-3beta-ol	淫羊藿
YYH4	MOL001792	DFV	淫羊藿
YYH5	MOL003044	Chryseriol	淫羊藿
YYH6	MOL003542	8-Isopentenyl-kaempferol	淫羊藿
YYH7	MOL000359	sitosterol	淫羊藿
YYH8	MOL004367	olivil	淫羊藿
YYH9	MOL004380	C-Homoerythrinan,1,6-didehydro-3,15,16-trimethoxy-, (3.beta.)-	淫羊藿
YYH10	MOL004382	Yinyanghuo A	淫羊藿
YYH11	MOL004384	Yinyanghuo C	淫羊藿

Continued

YYH12	MOL004386	Yinyanghuo E	淫羊藿
YYH13	MOL004388	6-hydroxy-11,12-dimethoxy-2,2-dimethyl-1,8-dioxo-2,3,4,8-tetrahydro-1H-isochromeno[3,4-h]isoquinolin-2-ium	淫羊藿
YYH14	MOL004391	8-(3-methylbut-2-enyl)-2-phenyl-chromone	淫羊藿
YYH15	MOL004373	Anhydroicaritin	淫羊藿
YYH16	MOL004396	1,2-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propan-1,3-diol	淫羊藿
YYH17	MOL004427	Icariside A7	淫羊藿
YYH18	MOL000472	emodin	淫羊藿
YYH19	MOL000622	Magnograndiolide	淫羊藿
NZZ1	MOL000358	beta-sitosterol	女贞子
NZZ2	MOL004576	taxifolin	女贞子
NZZ3	MOL005147	Lucidumoside D Qt	女贞子
NZZ4	MOL005190	eriodictyol	女贞子
NZZ5	MOL005212	Olitoriside Qt	女贞子
A	MOL000422	kaempferol	淫羊藿 女贞子
B	MOL000006	luteolin	淫羊藿 女贞子
C	MOL000098	quercetin	淫羊藿 女贞子

### 3.2. 绝经后骨质疏松靶点预测及药物治疗绝经后骨质疏松潜在作用靶点的预测

通过 GeneCards、OMIM、DisGeNET 数据库，去重后得到绝经后骨质疏松相关疾病靶点 1083 个。通过 Venn2.1.0 平台对两组靶点取交集，获得淫羊藿、女贞子治疗绝经后骨质疏松的潜在作用靶点 80 个(见图 1)。

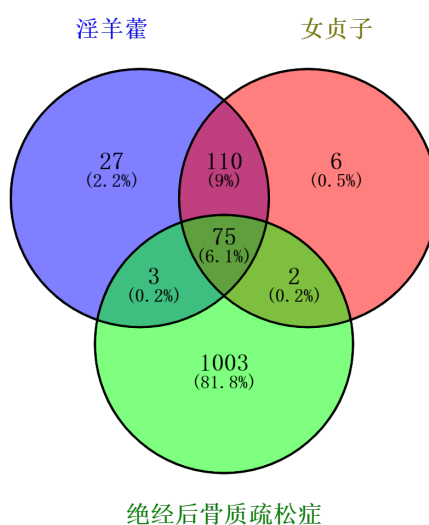
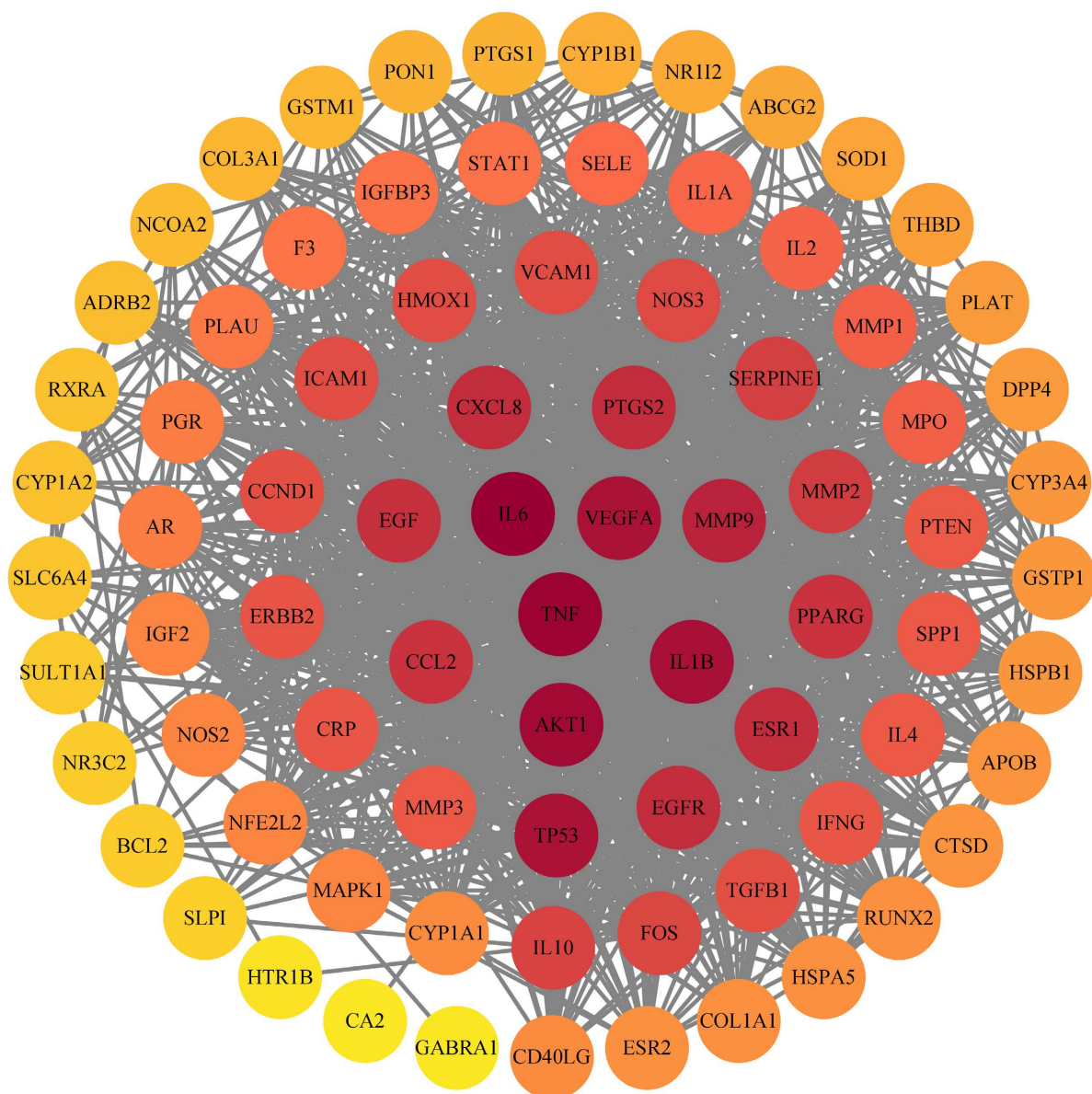


Figure 1. Intersection target  
图 1. 交集靶点

### 3.3. PPI 网络图分析

将交集基因上传到 STRING 数据库, 得到 PPI 网络, 使用 Cytoscape3.9.1 进一步分析 PPI 网络, 根据连接 Degree 值重新绘制 PPI 网络图, 节点越大颜色越深表明 Degree 值越大, 则该节点在网络中越重要 (见图 2)。通过 CytoHubba 插件分析网络中关键子网络, 根据 Degree 值大小, 得到排名前 10 名的靶点 (见图 3)。

根据 Degree 值排序前 10 位依次为: AKT1 (蛋白激酶 1)、IL-6 (白细胞介素-6)、TNF (肿瘤坏死因子)、VEGFA (肿血管内皮生长因子)、IL-1 $\beta$  (白细胞介素-1 $\beta$ )、MMP9 (基质金属蛋白酶-9)、PTGS2 (前列腺素内过氧化物酶 2)、CCL-2 (淋巴细胞趋化因子-2)、CXCL8 (白细胞介素-8)、EGF (表皮生长因子), 预测其为羌活胜湿汤治疗绝经后骨质疏松的关键靶点。



**Figure 2.** PPI network of Cytoscape3.9.1 analysis  
**图 2.** Cytoscape3.9.1 分析所得 PPI 网络

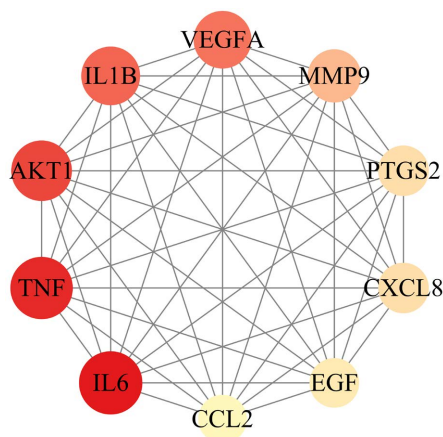


Figure 3. Core target network  
图 3. 核心靶点网络

### 3.4. GO 与 KEGG 富集分析结果

使用 Metascape 平台进行 GO 功能富集分析、KEGG 通路富集分析，并通过在线绘图工具微生信 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 绘制条形图与气泡图。如图 4 所示，淫羊藿 - 女贞子干预绝经后骨质疏松参与的 BP 有对脂多糖的应答(response to lipopolysaccharide)、对缺氧的应答(response to hypoxia)、对外源性刺激的应答(response to xenobiotic stimulus)、基因表达的正调控(positive regulation of gene expression); CC 主要有血小板颗粒腔(platelet talphagranule lumen)、小窝(caveola)、膜筏(membrane raft)等; MF 主要有蛋白酶结合(protease binding)、血红素结合(heme binding)、细胞因子活性(cytokine activity)、酶结合(enzyme binding)等。通过 Metascape 对淫羊藿 - 女贞子干预绝经后骨质疏松的基因进行 KEGG 通路富集分析，共获得 160 条通路，显著性最大的前 20 条通路见图 5，可以发现主要集中于 AGE-RAGE 信号通路(AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、肿瘤坏死因子信号通路(TNF signaling pathway)、癌症通路(pathways in cancer)、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路(PI3K-Akt signaling pathway)、前列腺癌信号通路(Prostate cancer)、表皮生长因子受体信号通路(EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance)等。

### 3.5. 药物成分 - 靶点 - 通路网络图分析

使用 Cytoscape3.9.1 软件构建淫羊藿 - 女贞子“药物成分 - 靶点 - 通路”网络图，节点越大颜色越深表明其对绝经后骨质疏松的作用越大。可以发现在网络中，每个成分对应多个靶点，每个靶点又与多个活性成分相互作用，表明淫羊藿 - 女贞子通过多成分、多靶点、多通路干预绝经后骨质疏松，见图 6。通过 Cytoscape3.9.1 软件中内置的 AnalyzeNetwork 工具分析各节点网络拓扑学参数，排名最高及相关性较强的活性成分是槲皮素(Quercetin)、木犀草素(Luteolin)、山奈酚(Kaempferol)、大黄素(Emodin)、脱水淫羊藿素(Anhydroicaritin)，这 5 种活性成分可能是淫羊藿 - 女贞子药对治疗绝经后骨质疏松的主要成分。

### 3.6. 分子对接结果

通过 TCMSP 数据库获得槲皮素、山奈酚、木犀草素、大黄素、脱水淫羊藿素的 3D 结构式，PDB 数据库获得 AKT1、IL-6、TNF、MMP9、VEGFA 的 3D 结构式，处理后进行对接，并用 R 软件计算结果。以结合能 Affinity (kcal/mol) 评判对接的判断标准，结合能低于 0 表明分子间能够自发结合，结合能负值越高提示结合力越强，结果显示活性成分与靶点间对接活性良好(如表 2)，亲和力强，证实了研究预测可靠性。选取较强结合活性的槲皮素、山奈酚与 AKT1、IL-6 将结果利用 PyMOL 软件可视化(如图 7)。

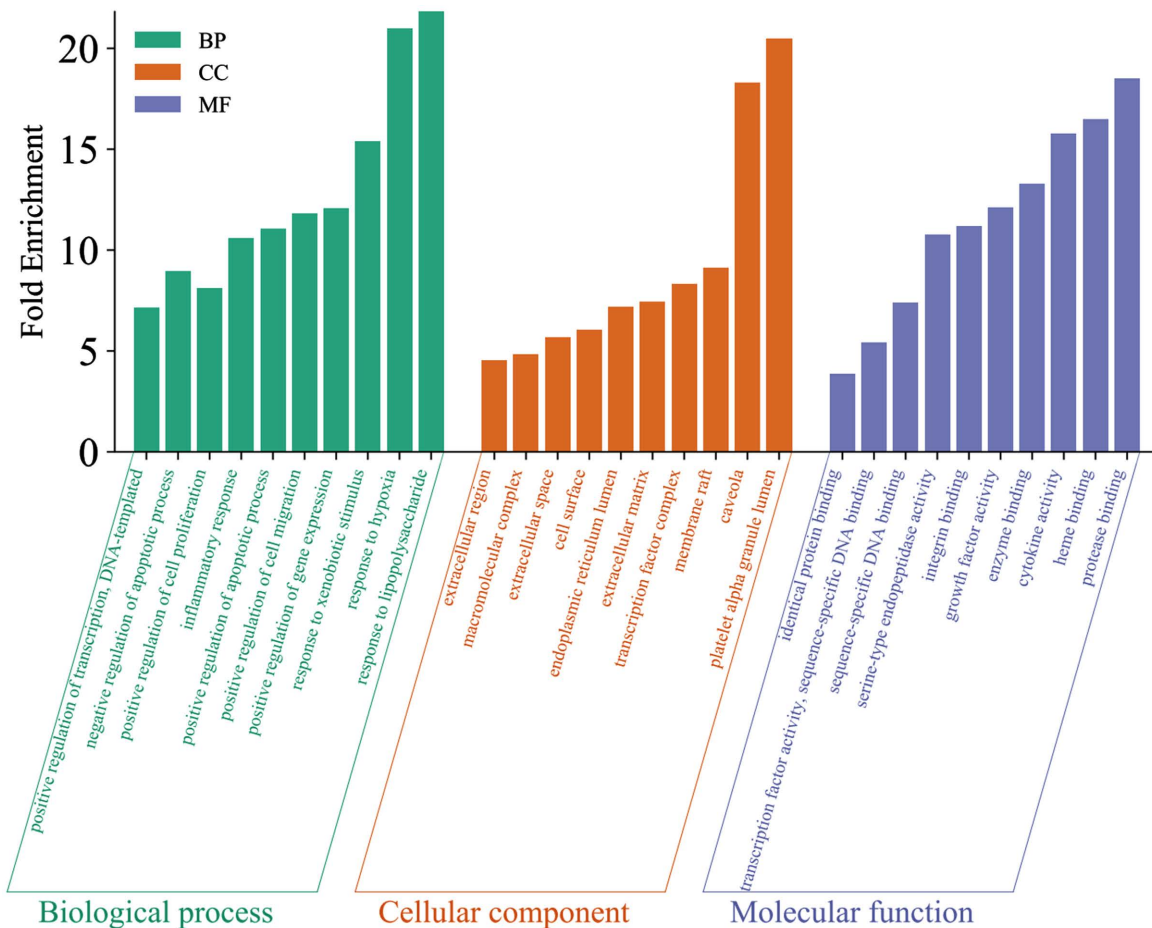


Figure 4. GO enrichment analysis  
图 4. GO 功能富集分析图

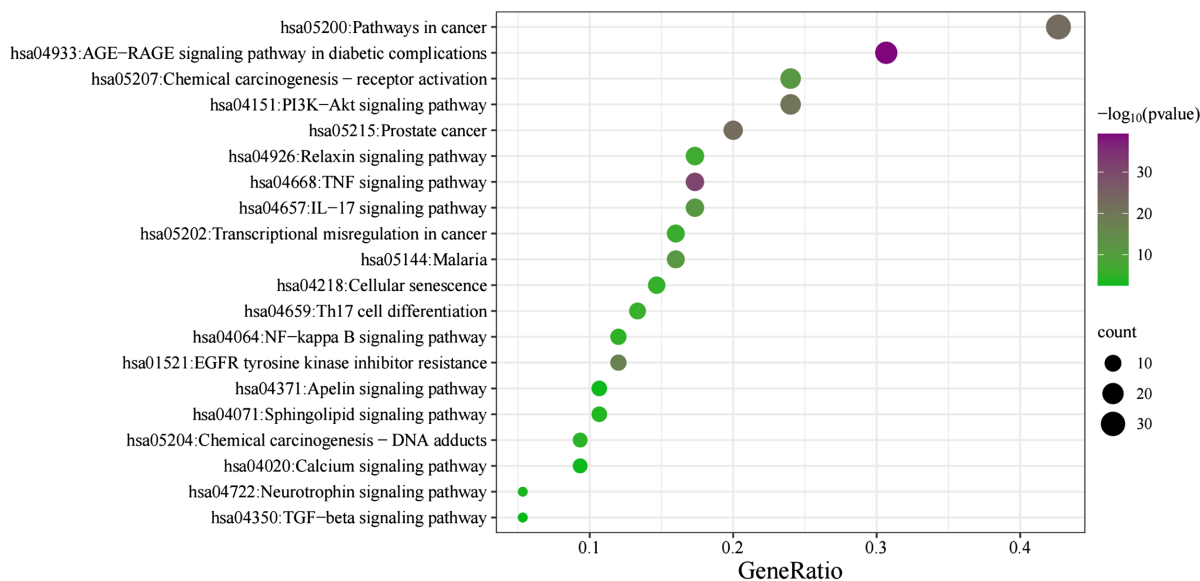
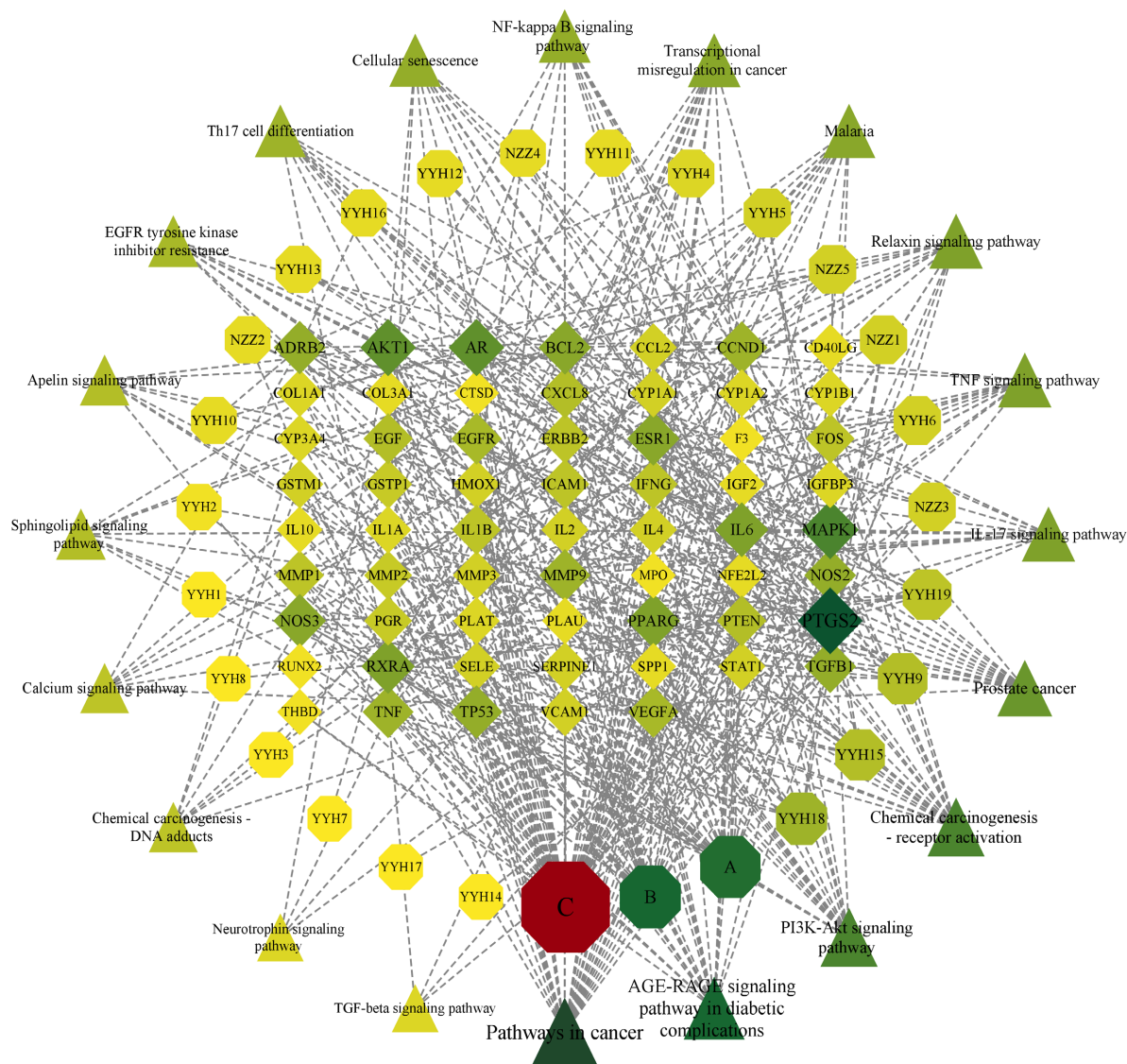


Figure 5. KEGG pathway enrichment analysis  
图 5. KEGG 富集分析

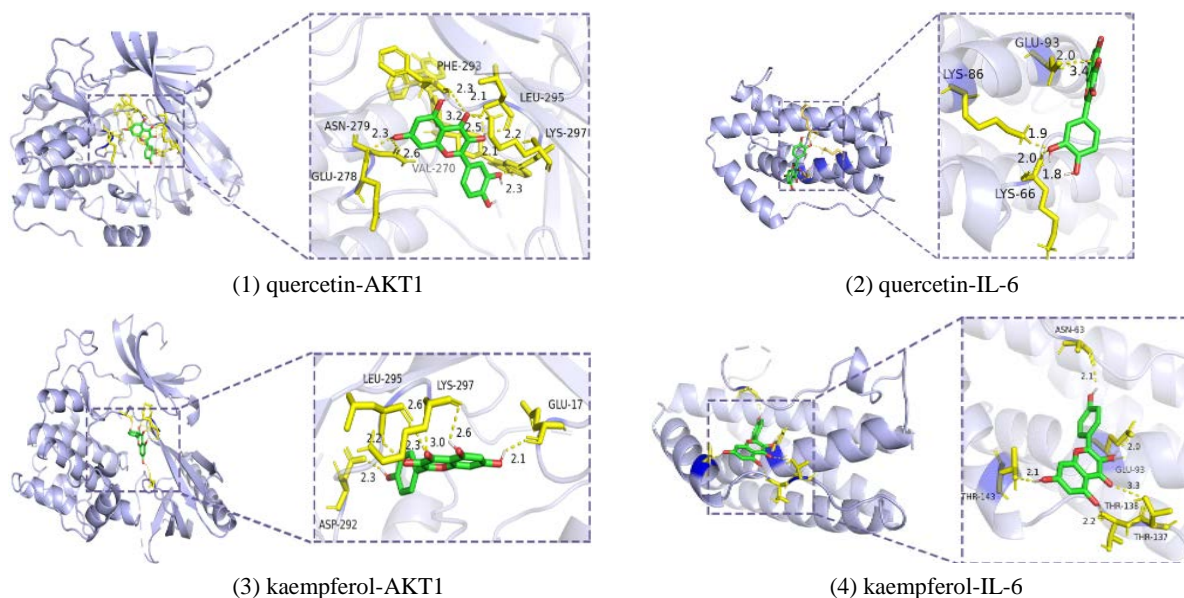




**Figure 6.** Drug component-target-pathway network  
**图 6.** 药物成分 - 靶点 - 通路网络

**Table 2.** Molecular docking binding energy meter (Unit: kcal/mol)  
**表 2.** 分子对接结合能表(单位: kcal/mol)

	槲皮素	山奈酚	木犀草素	大黄素	脱水淫羊藿素
AKT1	-8.2	-6.4	-7.2	-7.9	-7.7
IL-6	-7.9	-6.3	-7.7	-6.6	-7.3
TNF	-7.6	-6.3	-7.2	-6.2	-7.2
MMP9	-7.7	-7.6	-6.9	-6.4	-6.5
VEGFA	-7.2	-6.8	-7.7	-6.0	-6.7



**Figure 7.** Molecular docking model diagram  
**图 7.** 分子对接模式图

#### 4. 讨论

绝经后骨质疏松是女性绝经后身体激素发生变化而导致的一种代谢性疾病，日常生活中易发生骨折甚至危及生命健康等情况，严重影响患者的生活质量。从中医角度来说，根据临床症状 PMOP 属中医学“骨痿”“骨枯”范畴[8]，西医目前治疗绝经后骨质疏松主要围绕抑制骨量丢失、增加骨量形成两方面，目前临床用于绝经后骨质疏松的治疗药物多存在较大不良反应，如长期服用双膦酸盐类药物可引起高血钙、下颌骨坏死等不良反应[9] [10]；长期服用特立帕肽和阿巴洛肽可引起恶心、肌肉痉挛等不良反应[11]。所以研究并开发传统中医中药是解决这一问题的有效途径之一。通过“成分-靶点-通路”网络可知，“淫羊藿-女贞子”中的核心成分主要有 Quercetin、Luteolin、Kaempferol、Emodin、Anhydroicaritin 等。Huang 等[12]研究表明，槲皮素能促进成骨，抑制破骨细胞的活性，具有雌激素的作用，可以逆转骨质的减少，维持体内骨量平衡；山奈酚具有抗炎作用，能够减缓绝经后骨质疏松引起的神经根性疼痛，并且可通过激活成骨细胞自噬作用来保护骨骼[13] [14]。Zheng 等[15]研究表明，木犀草素可以通过体内外调节 ERK/Lrp-5/GSK-3 $\beta$  信号通路促进成骨细胞分化；木犀草素也可能通过激活 PI3K/AKT 通路，从而降低破骨细胞数量，改善骨丢失[16]；大黄素可以通过抑制 miR-338-3p 表达、激活 ERK/JNK/BMP/Smad 信号通路，保护骨量丢失，促进骨质生长[17] [18]；Zheng 等[19]研究表明，脱水淫羊藿素可以抑制破骨细胞形成，保护骨质。通过对 PPI 网络分析发现，degree 值排名靠前的靶点有 AKT1、IL-6、TNF、MMP9、VEGFA。研究发现在雌激素缺乏的条件下，女性患者的炎症细胞因子表达升高，IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平是 PMOP 的独立危险因素，能够增加破骨细胞以及骨吸收，导致绝经后骨质疏松[20] [21]。AKT1 属于 AKT 家族，AKT 在诱导自噬和促进成骨细胞增殖中有着重要的作用[22]，实验研究发现，小鼠在缺失 AKT1、AKT2 基因表达情况下，出现骨质分化发育缓慢的情况[23]。MMP9 属于基质金属蛋白酶(MMP)家族成员，MMP 主要促进细胞能量转换、参与细胞凋亡，研究表明 MMP9 能够影响破骨细胞基因表达和骨稳态，从而导致骨质疏松[24]。VEGFA 是血管内皮生长因子家族成员之一，研究表明 VEGF 能够促进内皮细胞增殖及新血管生成，加速骨形成及重建过程，直接促进骨髓间充质干细胞及增加成骨细胞的成骨活性，降低破骨细胞溶骨活性来促进骨形成及增加骨密[25]。淫羊藿-女贞子可能通过调控这些靶点治疗绝经后

骨质疏松。靶标与成分进行分子对接,结合能越小则表明二者对接效果越好,一般以结合能  $\leq -5.0$  kJ/mol 作为分子对接评价标准[26],通过对排名前5位的成分与PPI网络中排名前5位的靶点进行分子对接,结果显示大部分成分与靶点的结合能均  $\leq -5.0$  kJ/mol,表明 Quercetin、Luteolin、Kaempferol、Emodin、Anhydroicaritin 这5种核心成分能够有效地结合相关靶点来治疗骨质疏松。通过KEGG通路富集分析,可以发现淫羊藿-女贞子主要通过调 AGE-RAGE 信号通路、TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、EGFR 信号通路来治疗绝经后骨质疏松。研究表明,中药复方可通过 AGEs-RAGE 通路进一步调节 NF- $\kappa$ B 的表达,达到延缓衰老,缓解骨质疏松进程[27]。PI3K-Akt 信号通路广泛参与细胞代谢的生理过程。多项研究表明,PI3K/AKT 信号通路具有双向调控成骨细胞与破骨细胞的作用,调节骨量代谢,对于维持骨组织结构稳定具有重要作用[28] [29] [30]。研究显示,木犀草素也可能通过激活 PI3K/AKT 通路,从而降低破骨细胞数量,改善骨丢失[16]。实验研究表明,上调小鼠骨内膜骨祖细胞的表达,可通过 EGFR 信号通路抑制细胞衰老,维持细胞增殖,从而减缓骨质疏松进程[31]。

综上所述,可以发现淫羊藿-女贞子主要通过 Quercetin、Luteolin、Kaempferol、Emodin、Anhydroicaritin 等成分调控 AGE-RAGE 信号通路、TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、EGFR 信号通路等来治疗绝经后骨质疏松,这些预测结果也为后续动物实验、细胞实验提供了理论指导。但本研究还存在一定局限性,今后还需深入挖掘和实验验证。

## 参考文献

- [1] 张倩,王花欣,王媛,等. 中药防治绝经后骨质疏松症的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(7): 1083-1088.
- [2] 李微,张博,张雨薇,等. 雌激素调节骨代谢作用的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(2): 262-266.
- [3] Gloria, B., Isabella, P., Pantaleo, G., et al. (2018) Oxidative Stress as a Possible Pathogenic Cofactor of Post-Menopausal Osteoporosis: Existing Evidence in Support of the Axis Oestrogen Deficiency-Redox Imbalance-Bone Loss. *The Indian Journal of Medical Research*, **147**, 341-351. [https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR\\_524\\_18](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_524_18)
- [4] 李丽娟,林静,王凌. 肠道微生物影响绝经后骨质疏松症发生发展的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(16): 2032-2037.
- [5] 雷欣东,于慧,龙琼,等. 绝经后骨质疏松症发病机制研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(11): 1681-1684.
- [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] Ru, J., Li, P., Wang, J., et al. (2014) TCMSP: A Database of Systems Pharmacology for Drug Discovery from Herbal Medicines. *Journal of Cheminformatics*, **6**, Article No. 13. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-6-13>
- [8] 中华中医药学会.绝经后骨质疏松症(骨痿)中医药诊疗指南(2019年版)[J].中医正骨,2020,32(2):1-13.
- [9] Elizabeth, S., David, B., Bo, A., et al. (2014) Atypical Subtrochanteric and Diaphyseal Femoral Fractures: Second Report of a Task Force of the American Society for Bone and Mineral Research. *Journal of Bone and Mineral Research*, **29**, 1-23.
- [10] Marcea, W., Jia, G., Theresa, K. and Benson, G. (2012) Bisphosphonates for Osteoporosis—Where Do We Go from Here? *The New England Journal of Medicine*, **366**, 2048-2051. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1202619>
- [11] Vahle, J.L., Long, G.G., Sandusky, G., et al. (2004) Bone Neoplasms in F344 Rats Given Teriparatide [rhPTH(1-34)] Are Dependent on Duration of Treatment and Dose. *Toxicologic Pathology*, **32**, 426-438. <https://doi.org/10.1080/01926230490462138>
- [12] Huang, Y.Y., Wang, Z.H., Deng, L.H., Wang, H. and Zheng, Q. (2020) Oral Administration of Quercetin or Its Derivatives Inhibit Bone Loss in Animal Model of Osteoporosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2020**, Article ID: 6080597. <https://doi.org/10.1155/2020/6080597>
- [13] Kuan, S.W., Chin, K.Y. and Ima-Nirwana, S. (2019) The Osteoprotective Effects of Kaempferol: The Evidence from *in vivo* and *in vitro* Studies. *Drug Design, Development and Therapy*, **13**, 3497-3514. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S227738>
- [14] Sajjad, J., Maryam, B., Mohammad, Z., Komaki, A. and Hajikhani, R. (2021) Effects of Intrathecal and Intracerebroventricular Microinjection of Kaempferol on Pain: Possible Mechanisms of Action. *Research in Pharmaceutical Sciences*, **16**, 203-216. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.310527>

- [15] Jing, Z., Wang, C.Y., Yang, Q.N., *et al.* (2019) Luteolin Attenuates Glucocorticoid-Induced Osteoporosis by Regulating ERK/Lrp-5/GSK-3 $\beta$  Signaling Pathway *in vivo* and *in vitro*. *Journal of Cellular Physiology*, **234**, 4472-4490. <https://doi.org/10.1002/jcp.27252>
- [16] 许勇, 谢贤斐, 颜威, 等. 木犀草素调控 PI3K/AKT 通路改善绝经后骨质疏松症大鼠模型骨丢失的机制[J]. 热带医学杂志, 2022, 22(5): 639-643, 688, 744.
- [17] 李浩亮, 李东方. 大黄素抑制 miR-338-3p 表达促进骨质疏松性骨折大鼠的愈合[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(32): 5155-5161.
- [18] 杨超, 沈师, 赵露, 等. 大黄素治疗对去卵巢大鼠骨量流失的保护作用机制研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(1): 60-64.
- [19] Zheng, Z., Zhang, X., Zhou, Y., *et al.* (2017) Anhydroicaritin, a SREBPs Inhibitor, Inhibits RANKL-Induced Osteoclastic Differentiation and Improves Diabetic Osteoporosis in STZ-Induced Mice. *European Journal of Pharmacology*, **809**, 156-162. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.05.017>
- [20] 赵晓宇, 庞士龙, 徐嵩, 等. 雌激素缺乏女性糖尿病患者肿瘤坏死因子- $\alpha$  的表达水平及对骨质疏松的影响[J]. 中国妇幼保健, 2022, 37(15): 2869-2872.
- [21] 刘树华, 王世浩, 温刘莹, 等. 绝经后妇女血清中 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-27 与骨质疏松的相关性[J]. 中国骨质疏松杂志, 2023, 29(4): 477-482, 530.
- [22] 杜娟. 雌激素和氧化应激通过过氧化物还原酶 1 型调控成骨细胞功能及相关通路的研究[D]: [博士学位论文]. 济南: 山东大学, 2018.
- [23] Peng, X.D., Xu, P.Z., Chen, M.L., *et al.* (2003) Dwarfism, Impaired Skin Development, Skeletal Muscle Atrophy, Delayed Bone Development, and Impeded Adipogenesis in Mice Lacking Akt1 and Akt2. *Genes & Development*, **17**, 1352-1365. <https://doi.org/10.1101/gad.1089403>
- [24] Zhu, G.C., Chen, W., Tang, C.Y., *et al.* (2022) Knockout and Double Knockout of Cathepsin K and Mmp9 Reveals a Novel Function of Cathepsin K as a Regulator of Osteoclast Gene Expression and Bone Homeostasis. *International Journal of Biological Sciences*, **18**, 5522-5538. <https://doi.org/10.7150/ijbs.72211>
- [25] 谢兴文, 李建国, 黄晋, 等. 血管内皮生长因子防治骨质疏松的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(7): 1030-1033.
- [26] 邓燕君, 刘博文, 贺桢翔, 等. 基于网络药理学和分子对接法探索藿香正气口服液预防新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 活性化合物研究[J]. 中草药, 2020, 51(5): 1113-1122.
- [27] 孙菁. 基于 AGEs/RAGE/NF- $\kappa$ B 通路探讨培本固疏方治疗原发性骨质疏松症的作用机制[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京中医药大学, 2021. <https://doi.org/10.27253/d.cnki.gnjzu.2020.000801>
- [28] 杨烙坚, 周小海, 刘力菠, 等. 补肾活血汤对去卵巢骨质疏松小鼠的干预作用研究: 基于 PI3K/AKT/mTOR 信号通路[J]. 亚太传统医药, 2023, 19(5): 36-41.
- [29] 刘旭良, 周元敏, 曾祥英, 等. 益生菌制剂通过 PI3K/Akt 信号通路改善骨质疏松大鼠的骨代谢和骨量[J]. 中国骨质疏松杂志, 2022, 28(8): 1139-1144, 1153.
- [30] 韩林静, 吴克亮, 杜根发, 等. 基于 PI3K/Akt 信号通路滋肾健骨方对去势大鼠的骨保护作用[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2022, 15(4): 353-361.
- [31] 刘冠岬. EGFR 信号通路在年龄相关性皮质骨质疏松中的作用[D]: [博士学位论文]. 广州: 南方医科大学, 2021.