

# 丹参-牛膝药对治疗骨质增生的作用机制研究

牛敏<sup>1</sup>,朱星宇<sup>1</sup>,刘红燕<sup>2</sup>,邓祥敏<sup>1</sup>,吴鑫<sup>1</sup>

(1.江苏护理职业学院 中医药学院,江苏 淮安 223005; 2.山东中医药大学 药学院,山东 济南 250355)

**摘要:**基于网络药理学及分子对接技术预测丹参-牛膝药对治疗骨质增生(Bone hyperplasia)的活性成分及相关的分子机制。利用中药系统药理学数据库与分析平台数据库(TCMSP)及BATMAN-TCM数据库平台筛选丹参-牛膝药对活性成分及作用靶点;利用OMIM、Genecard数据库搜索骨质增生疾病的相关靶点,取其与丹参-牛膝药对中化合物的作用靶点交集得到治疗骨质增生的潜在作用靶点。运用Cytoscape软件建立并分析有效化合物-作用靶点网络;利用String数据库平台分析作用靶点PPI网络;利用“clusterProfiler”软件包对作用靶点进行基因本体论(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析;利用Autodock-Vina模块将药对中核心化合物及核心靶点进行分子对接,以探索丹参-牛膝药对治疗骨质增生的作用机制。筛选得到丹参-牛膝药对中75个潜在的药效成分,协同作用于HSP90AA1、TP53、MAPK1、AKT1、JUN、STAT3、RELA、ESR1、FOS、MAPK14等180个靶点发挥治疗骨质增生的功效。分子对接结果显示,关键活性成分与核心靶点均能极好的结合。本研究从网络药理学的角度预测丹参-牛膝药对治疗骨质增生的潜在药效成分、作用靶点及作用机制,为丹参-牛膝药对临床用于骨质增生的治疗及其作用机制研究提供参考。

**关键词:**丹参-牛膝;骨质增生;网络药理学;分子机制

**中图分类号:**R285.6 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-8513(2024)06-0722-09

骨质增生又称骨刺或者骨赘,主要是对软组织产生机械性的刺激和外伤后软组织损伤、出血、肿胀而致<sup>[1-2]</sup>。骨质增生是人体常见的一种退行性疾病,也是常见的慢性疾病之一,往往是由单一关节发病,随着病程的推迟,多发于颈部、腰椎、臀部、膝盖、足跟等活跃和负重的关节部位<sup>[3]</sup>。骨质增生多发于中年以上人群,但是近几年有学者研究统计分析发现,骨质增生的发病人群趋于年轻化,骨质增生群体十分之一左右集中在21~30岁之间的年轻人,这种发病趋势引起了社会医学界学者的重视<sup>[4-5]</sup>。

骨质增生属于中医学“痹症”的范畴,中医主张辨证论治,认为痹证多由风寒湿三气壅闭经络所致,与气滞血瘀密切相关<sup>[1]</sup>,丹参-牛膝是其中较为常用的药对。丹参味苦,归心肝经,具有活血止痛、祛瘀生新、除烦安神的功能;牛膝味苦泄降,归肝、肾经,具有活血化瘀的同时可以通利关节、引血下行,并善治下焦瘀血症。二药配伍,增强活血化瘀,下行止痛的功效<sup>[6-8]</sup>。中药发挥药效具有多成分、多靶点、多途径整体协同的特点,给其药效物质基础、作用靶点及作用机制研究带来挑战,但是关于丹参-牛膝药对治疗骨质增生的作用机制研究尚未完全诠释。

近年来,基于生物信息学的网络药理学研究,将“药物-疾病-靶点-基因”相关联,反映出中药整体调控机制与其关键的模块和途径,具有一定的预测性、系统性和相关性,为中药的药效物质基础、作用靶点与作用机制的研究提供了新的思路<sup>[9-10]</sup>。本研究即通过网络药理学和分子对接技术探讨丹参-牛膝药对治疗骨质增生的作用机制,为丹参-牛膝药对临床上治疗骨质增生提供一定的理论支持。

## 1 材料与方

### 1.1 丹参-牛膝药对化学成分及作用靶点的获取

分别以丹参和牛膝为关键词,利用中药系统药理学数据库与分析平台数据库(TCMSP)平台(<http://tcm->

收稿日期:2022-07-03.

基金项目:山东省中医药科技发展计划项目(2019-0977);淮安市自然科学基金项目(HABZ202017).

作者简介:牛敏(1992-),女,硕士,讲师.主要从事中药资源与质量控制研究.

spw.com/tcmsp.php),对其潜在有效成分进行过滤筛选,筛选条件为:口服生物利用度(OB)  $\geq 30\%$ 、类药性(DL)  $\geq 0.18$ ,获取药对中的有效成分.将数据库中的靶点进行收集,通过 Uniprot 数据库(<http://www.uniprot.org>)限定物种为人类,将预测的靶点蛋白名称校正为其官方名称.

### 1.2 骨质增生疾病靶点的筛选

分别在 OMIM 数据库(<http://omim.org/>)和 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)数据库中输入关键词 Bone hyperplasia,搜索与疾病相关的疾病靶点,剔除重复基因,即得.

### 1.3 丹参-牛膝药对治疗骨质增生作用靶点的筛选

将 1.1 项下得到的作用靶点与 1.2 项下筛选后得到的疾病靶点取交集,得到丹参-牛膝药对中治疗骨质增生的潜在作用靶点.

### 1.4 药材-有效化合物-作用靶点-疾病网络构建

将丹参-牛膝药对的有效成分与 1.3 项下筛选得到的作用靶点导入 Cytoscape 3.7.0 软件中,进行可视化处理,构建出有效化合物-作用靶点网络.再对得到的网络进行网络拓扑学分析,以节点度值(Degree)和中介中心度(Betweenness centrality)来反应“节点”的重要程度.节点度值和中介中心度的值越大,说明其在作用网络中的重要程度越大<sup>[11]</sup>.

### 1.5 PPI(蛋白质相互作用)网络的建立

将 1.3 项下获得的靶点导入 String 数据库获取作用靶点之间的相互作用关系,将其获得的相互作用关系导入 Cytoscape 3.7.0 软件,建立 PPI 网络.通过 PPT 网络分析,筛选核心靶点,并采用 Excel 2016 软件绘制相应的蛋白信息条形图.

### 1.6 基因本体论功能(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

将丹参-牛膝药对治疗骨质增生疾病作用靶点的编码基因,利用 R 语言 Bioconductor 生物信息软件包“clusterProfiler”,以  $P < 0.01$  进行 GO 功能及 KEGG 通路富集分析,得到有效化合物作用靶点的主要生物功能及发挥治疗骨质增生疾病的潜在作用机制,根据排序取前 20 绘制条形图.

### 1.7 分子对接

在 Pubchem 数据库检索活性成分并下载 quercetin(槲皮素)、luteolin(木犀草素)、kaempferol(山柰酚)、baicalein(黄芩素)、wogonin(汉黄芩素)、tanshinone II A(丹参酮 II A)和 danshenxinkun D(丹参新醌 D)化合物的 2D 结构,使用 ChemBio3D 转换为 3D 结构,并用 Chem3Dpro 使其能量最小化并保存为 mol2 格式.通过 PDB 数据库(<http://www.rcsb.org/>)中下载出 HSP90AA1、TP53、MAPK1、AKT1、JUN 和 STAT3 等核心靶点的蛋白 3D 格式,保存为 PDB 格式.用 PyMOL 软件对蛋白进行去水、去配体,利用 AutoDockTools-1.5.6 软件将蛋白、配体、活性成分的格式转置为 \*pdbqt 格式,最后经过 Autodock-Vina 1.1.2 软件进行分子对接,在 Discovery Studio 2019 Client 下对对接结果可视化并绘制“蛋白-分子”对接相互作用模式图.

## 2 结果

### 2.1 丹参-牛膝药对的有效成分及作用靶点

通过 TCMSp 平台数据库挖掘丹参-牛膝药对潜在的活性成分,丹参的活性成分共 66 个,牛膝的活性成分共 20 个,其中满足 1.1 筛选条件(OB  $\geq 30\%$ 、DL  $\geq 0.18$ )的丹参活性成分,59 个,牛膝活性成分 16 个.根据 ADME 参数筛选标准以及 1.1 筛选条件标准,丹参-牛膝药对潜在活性成分共 75 个,结果见表 1.

表 1 丹参-牛膝有效成分基本信息

编号	OB/%	DL	编号	OB/%	DL
MOL001006	42.98	0.76	MOL007070	41.31	0.45
MOL012461	35.93	0.78	MOL007071	40.31	0.46
MOL001454	36.86	0.78	MOL007077	43.67	0.21
MOL001458	30.67	0.86	MOL007079	52.47	0.45
MOL000173	30.68	0.23	MOL007081	57.95	0.56
MOL002643	37.42	0.75	MOL007082	56.97	0.52

续表 1

编号	OB/%	DL	编号	OB/%	DL
MOL002714	33.52	0.21	MOL007085	30.38	0.38
MOL002897	43.09	0.78	MOL007088	52.34	0.40
MOL000358	36.91	0.75	MOL007093	38.88	0.55
MOL003847	38.81	0.85	MOL007094	50.43	0.31
MOL000422	41.88	0.24	MOL007098	49.40	0.29
MOL004355	42.98	0.76	MOL007100	38.68	0.32
MOL000449	43.83	0.76	MOL007101	45.04	0.36
MOL000785	64.60	0.65	MOL007105	68.27	0.31
MOL000085	36.91	0.75	MOL007107	36.07	0.25
MOL000098	46.43	0.28	MOL007108	54.98	0.39
MOL001601	38.75	0.36	MOL007111	49.92	0.40
MOL001659	43.83	0.76	MOL007115	45.04	0.20
MOL001771	36.91	0.75	MOL007119	49.68	0.32
MOL001942	45.46	0.23	MOL007120	71.03	0.44
MOL002222	36.11	0.28	MOL007121	36.56	0.37
MOL002651	43.76	0.40	MOL007122	38.76	0.25
MOL002776	40.12	0.75	MOL007124	39.46	0.23
MOL000569	61.85	0.26	MOL007125	52.49	0.32
MOL000006	36.16	0.25	MOL007127	34.72	0.37
MOL007036	33.77	0.29	MOL007130	64.37	0.31
MOL007041	40.86	0.23	MOL007132	109.38	0.35
MOL007045	44.93	0.44	MOL007141	45.56	0.61
MOL007048	48.24	0.31	MOL007142	43.38	0.72
MOL007049	34.35	0.23	MOL007143	32.43	0.23
MOL007050	62.78	0.40	MOL007145	31.72	0.24
MOL007058	73.44	0.42	MOL007150	75.39	0.46
MOL007059	32.16	0.41	MOL007151	42.67	0.45
MOL007061	37.07	0.36	MOL007152	42.85	0.45
MOL007063	37.11	0.65	MOL007154	49.89	0.40
MOL007064	110.32	0.44	MOL007155	65.26	0.45
MOL007068	62.24	0.41	MOL007156	45.64	0.30
MOL007069	55.74	0.40			

丹参-牛膝药对化合物的作用靶点有 225 个,疾病的靶点有 4 569 个,将两者取交集得到丹参-牛膝药对治疗骨质增生的潜在作用靶点 180 个,两者的韦恩图见图 1.

## 2.2 丹参-牛膝药对“有效成分-作用靶点”网络分析

利用网络可视化软件处理获取的丹参-牛膝药对中有效成分和作用靶点信息,建立有“有效成分-作用靶点”网络,结果见图 2. 根据网络拓扑学数据分析可知,该网络的平均节点度值为 7.32,平均中介中心度为 0.63. 通过对其核心节点的筛选,结果显示:quercetin、luteolin、kaempferol、tanshinone II A、baicalein 等有效化合物以及 PTGS2、HSP90AA1、TP53、MAPK1、AKT1 等作用靶点在网络中具有重要作用.

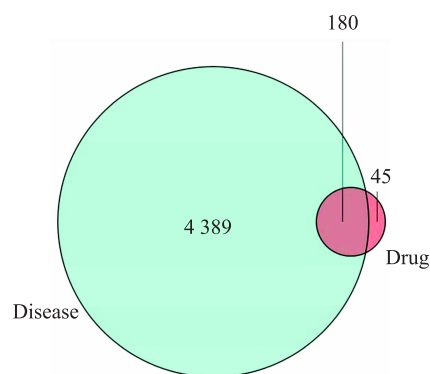


图 1 中药作用靶点与疾病靶点交集图

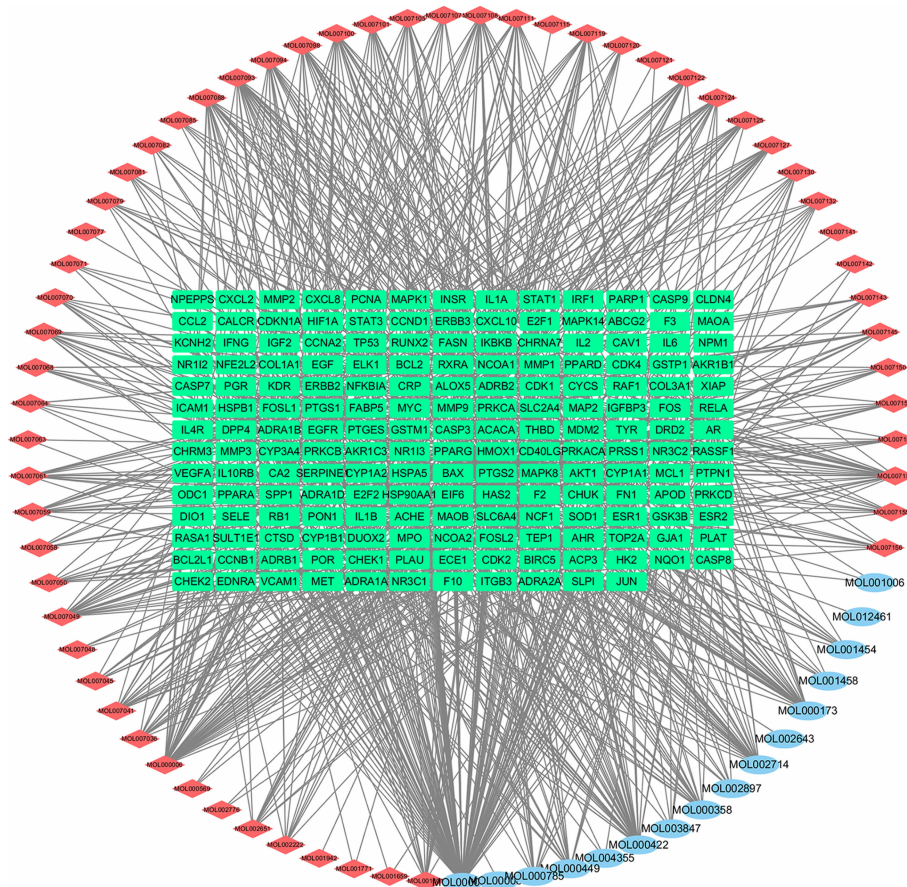


图 2 成分 - 靶点网络 (绿色为作用靶点有效成分,红色为丹参有效成分,蓝色是牛膝有效成分)

### 2.3 PPI 网络分析

如图 3 所示,丹参 - 牛膝药对中有效成分对应的作用靶点 PPI 网络共有 155 个节点,根据各节点度值绘制作用靶点的排序图 (取前 30),结果见图 4. 由图 4 可知,HSP90AA1、TP53、MAPK1、AKT1、JUN、STAT3、RELA、ESR1、FOS、MAPK14 排序靠前,在 PPI 网络中起着重要的联系作用,可能是丹参 - 牛膝药对治疗骨质增生的关键作用靶点.

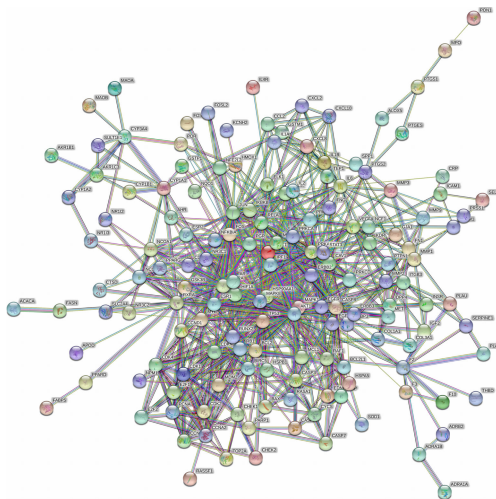


图 3 作用靶点 PPI 网络

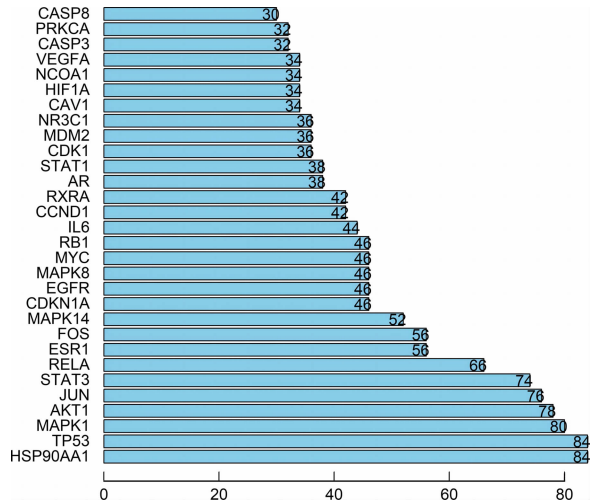


图 4 PPI 网络作用靶点的排序图

### 2.4 GO、KEGG 富集分析

GO 功能分析获得的结果,采用 *P* 值和基因富集数量综合过滤,对其进行排序,绘制柱状图,结果见图 5. 丹参 - 牛膝药对可以通过影响多种生物学功能来发挥其治疗骨质增生的功效,主要富集于慢性炎症、癌症以

及骨细胞增值和凋亡信号通路的调控. KEGG 通路分析显示,与骨质增生相关的主要有 AGE/RAGE 通路、癌症通路、IL - 17 信号信号通路、TNF 信号通路、PI3K - AKT 信号通路、雌性激素受体等(图 6).

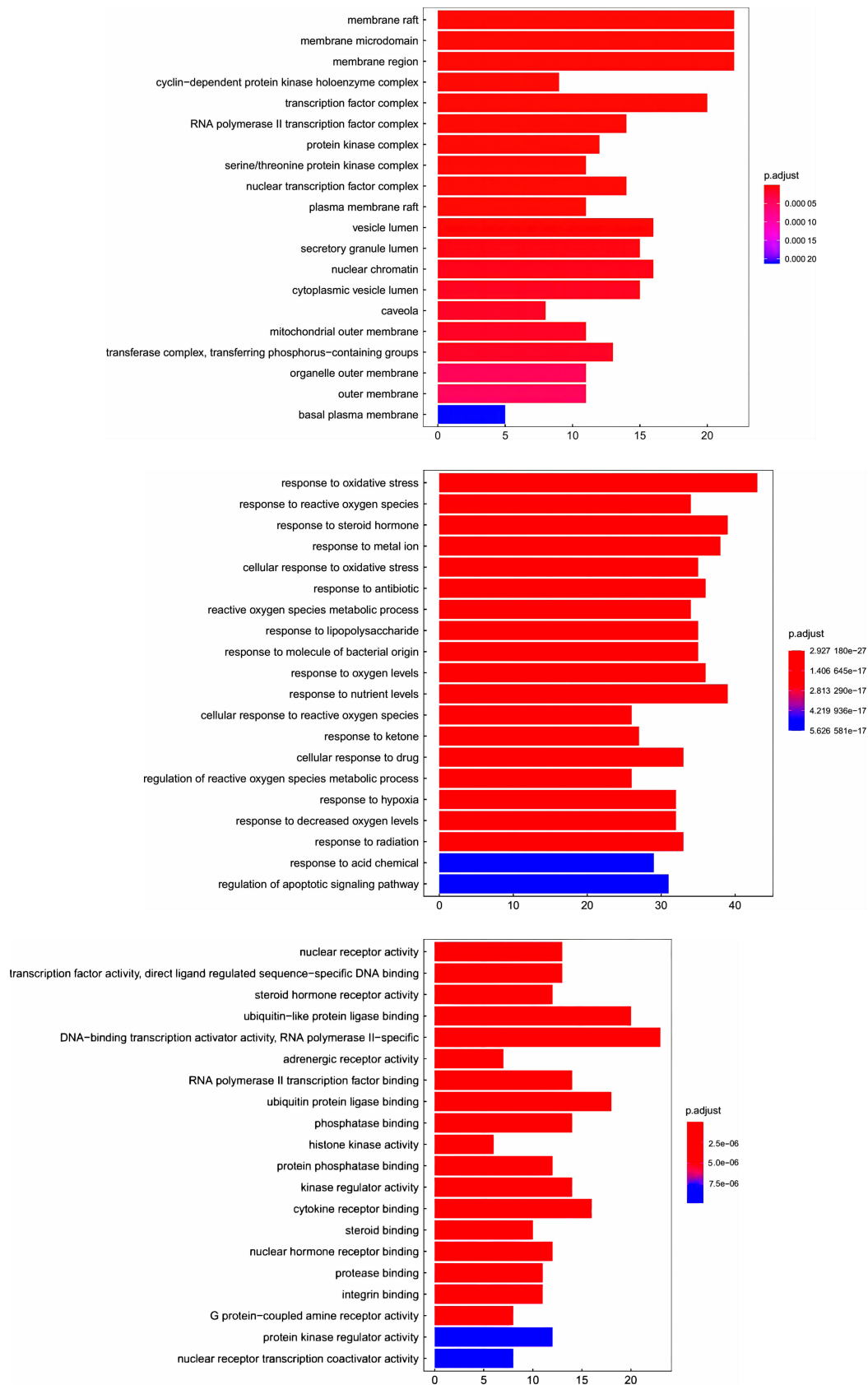


图 5 GO 功能分析结果

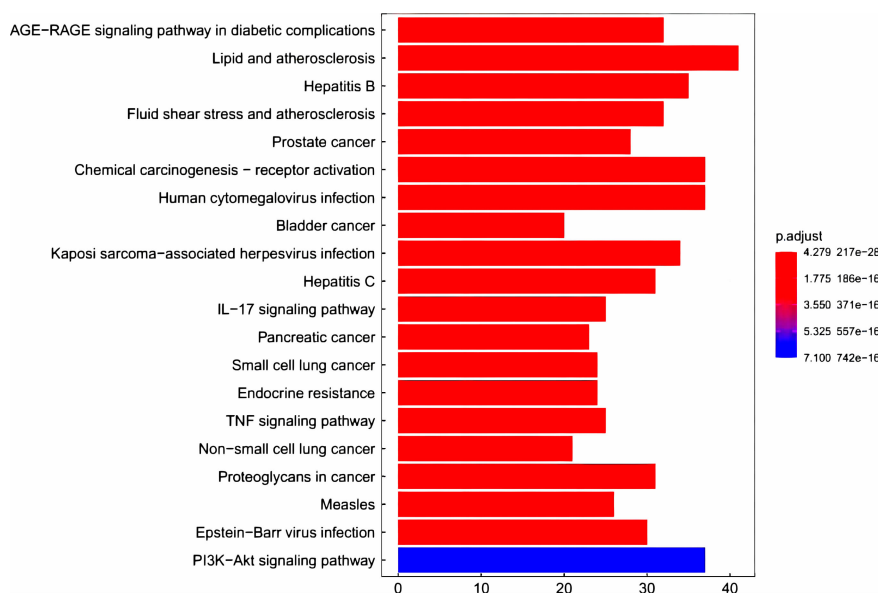


图6 KEGG 通路富集分析结果

## 2.5 分子对接结果

对 Degree 排名前7的化合物分子及 PPI 排名前6的靶点使用 Autodock Vina 软件进行分子对接,结果如表2所示,热图如图7所示.分子间相互作用通常以结合能作为评价标准,结合能小于0表明药物分子和靶点能够发生结合,结合能小于 $\leq -5$  kJ/mol 表明分子与靶点结合能较好,结合能越小则对接越大<sup>[12-13]</sup>.分子对接结果显示,所有分子与靶点的结合能均小于0,说明配体与受体可以自发结合<sup>[12-13]</sup>.其中,quercetin 与 HSP90AA1、TP53、MAPK1 蛋白的结合能分别为:  $-8.83$ 、 $-8.51$  和  $-8.92$  kJ/mol. Luteolin 与 MAPK1、AKT1 蛋白结合能分别为  $-7.01$  和  $-7.32$  kJ/mol. Kaempferol 与 MAPK1、AKT1 蛋白结合能分别为  $-6.71$  和  $-6.53$  kJ/mol. Wogonin 与 HSP90AA1、MAPK1 蛋白结合能分别为  $-7.06$  和  $-7.31$  kJ/mol. Tanshinone II A 与 HSP90AA1、TP53 蛋白的结合能分别为:  $-7.52$  和  $-7.81$  kJ/mol. Baicalein 与 HSP90AA1、STAT3 蛋白的结合能分别为:  $-8.31$  和  $-8.21$  kJ/mol. Danshenxinkun D 与 HSP90AA1、TP53、JUN 蛋白的结合能分别为:  $-6.92$ 、 $-7.37$  和  $-6.33$  kJ/mol. 将以上结果利用 PyMOL 软件绘图(图8).可见 quercetin 与 MAPK1 分别在,与 HSP90AA1 分别在;与 AKT1 分别在 GLU-191、THR-19 形成氢键;与 JUN 分别在 DA-309、DC-210、ARG-270、DG-211 形成氢键. Luteolin 与 AKT1 分别在,与 MAPK1 分别在,与 JUN 分别在 AGR-272、SER-269 形成氢键.与 STAT3 分别在 ARG-185、THR-181、ASP-140 形成氢键. Kaempferol 与 MAPK1 在 ASN-51 形成氢键,AKT1 分别在 GLU-191、VAL-164 形成氢键;与 STAT3 分别与 ARG-139、TYR-184、THR-181、ARG-185 形成氢键;Baicalein 与 AKT1 分别在 GLU-191、LYS-179、GLU-191 处形成氢键,与 HSP90AA1 在 TYR-139 形成氢键.与 JUN 分别在 SER-269、ALA-266、DA-309 形成氢键.与 MAPK1 分别在 CYS-166、GLU-71 形成氢键. Quercetin、luteolin、kaempferol、baicalein、wogonin、tanshinone II A、Danshenxinkun D 等有效化合物以及 HSP90AA1、MAPK1、AKT1、TP53 等作用靶点在网络中具有重要作用.

表2 核心化合物与关键靶点结合能

(kJ·mol<sup>-1</sup>)

化合物	关键靶点					
	HSP90AA1	TP53	MAPK1	AKT1	JUN	STAT3
quercetin	-8.83	-8.51	-8.92	-7.91	-8.32	-8.49
luteolin	-6.87	-6.92	-7.01	-7.32	-6.87	-6.77
kaempferol	-6.26	-5.94	-6.71	-6.53	-6.05	-6.31
wogonin	-7.06	-6.28	-7.31	-6.53	-6.96	-5.99
tanshinone II A	-7.52	-7.81	-7.29	-7.41	-7.39	-6.32
baicalein	-8.31	-8.11	-8.01	-7.92	-7.88	-8.21
danshenxinkun D	-6.92	-7.37	-5.92	-5.92	-6.33	-4.91

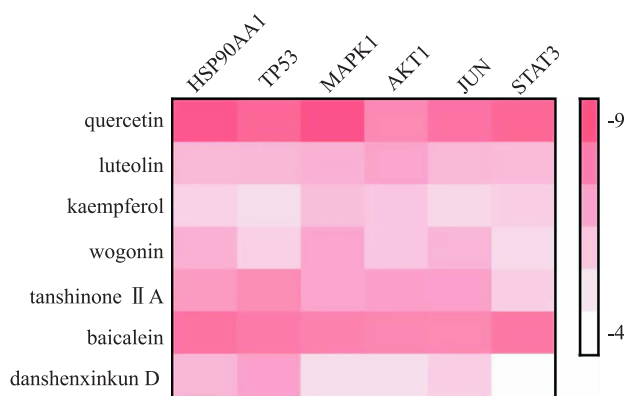


图 7 分子对接结果热图

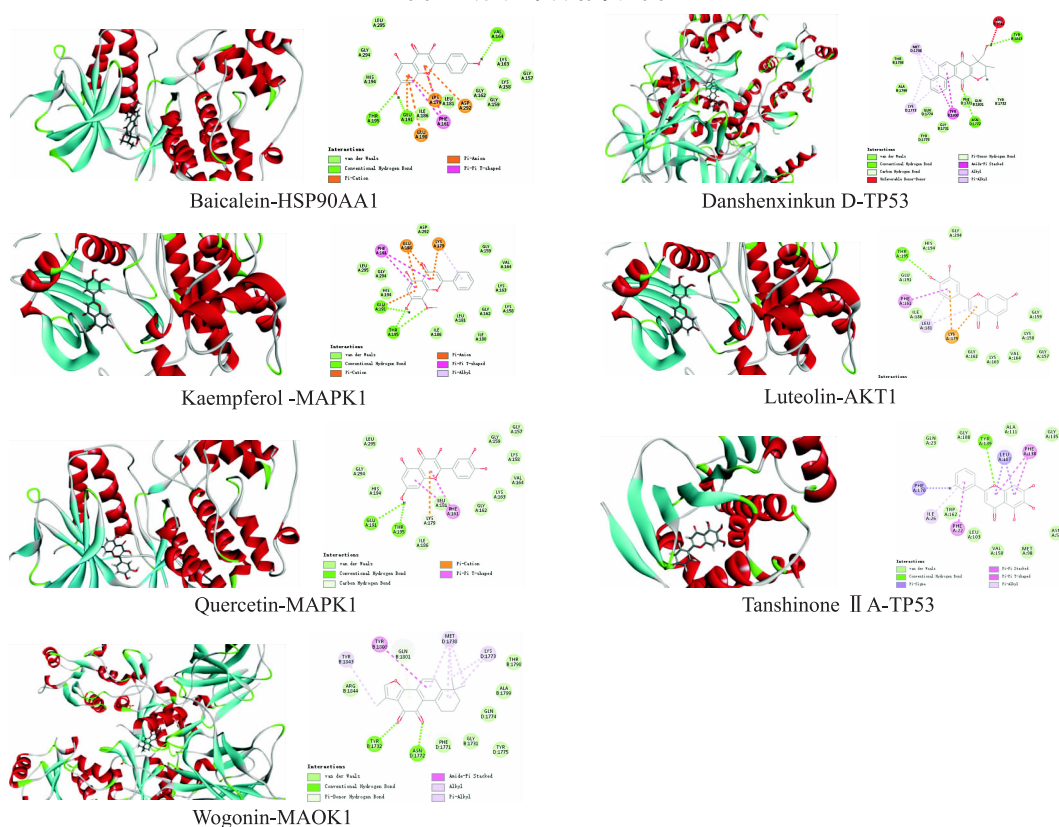


图 8 分子对接模式图

### 3 讨论和结语

通过网络药理学对丹参-牛膝药对进行分析,得出槲皮素、木犀草素、山柰酚、黄芩素、汉黄芩素、丹参酮IIA等可能是治疗骨质增生的关键活性成分.槲皮素是黄酮类化合物,陈林攀等<sup>[14]</sup>研究发现槲皮素能够激活细胞外信号调节 ERK 磷酸化,促进骨髓间充质干细胞增殖. Kim 等<sup>[15]</sup>通过研究发现山柰酚可以增加骨密度,改善骨微结构,抗骨质疏松能力相对较强.木犀草素是一种天然黄酮类化合物,有学者研究结果发现<sup>[16-17]</sup>,木犀草素能够显著的调控 MAPK、IL-17 信号和 TNF 等信号通路,可以降低 IL、TNF 等炎症因子的生成,进而减少炎症的发生,保护软组织.汉黄芩素能够显著的抑制炎症因子水平,降低炎症反应,缓解对软骨细胞的损伤<sup>[18]</sup>.丹参酮IIA 是丹参中发现的亲脂性化学成分,研究发现丹参酮IIA 能够发挥抗凋亡的作用,并能够减轻炎症的反应<sup>[19]</sup>.以上结果说明丹参-牛膝药对的主要成分可以通过多种途径相互协同在骨质增生的治疗中发挥作用.

PPI 蛋白网络分析及拓扑学分析得出丹参-牛膝治疗骨质增生的关键靶点有 HSP90AA1、TP53、MAPK1、AKT1、JUN、STAT3、RELA、ESR1、FOS 和 MAPK14. AKT1 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在细胞的增殖、生长和凋亡等方面起到关键的作用,研究发现磷酸化蛋白激酶 AKT1 可减轻炎症的反应、降低软骨变

性退化,进而降低骨质增生疾病的发生<sup>[20]</sup>;STAT3为信号转导子和转录激活子,在关节炎滑膜成纤维样细胞增殖及炎症反应中有一定的影响<sup>[21]</sup>。

GO通路及KEGG分析显示,丹参-牛膝治疗骨质增生可能与调控AGE/RAGE信号、PI3K-AKT信号、IL-17信号信号、TNF信号、雌性激素受体等通路有关。有研究发现,AGE/RAGE信号通路可以活化核转录因子NF- $\kappa$ B,核转录因子NF- $\kappa$ B可以调节IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 等炎症因子的产生,可明显改善炎症的表达<sup>[22]</sup>。PI3K/AKT信号通路与骨破坏、滑膜增生息息相关<sup>[23]</sup>。IL-17是一种主要由活化的T细胞产生的致炎细胞因子,往往存在于滑膜和软骨细胞中,能促进分泌炎IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 等炎症因子<sup>[24]</sup>。TNF信号通路中的TNF- $\alpha$ 是一种重要的涉及到系统性炎症的细胞因子,TNF- $\alpha$ 存在于滑膜中,因此往往与与滑膜炎症发生和发展密切相关<sup>[25]</sup>。雌性激素可以明显的抑制细胞介导的骨吸收,增加骨量,改善骨密度,因此雌性激素受体通路对机体各方面有着重要的调节作用,比如骨细胞和破骨细胞活动以及骨代谢活动<sup>[26-27]</sup>。以上结果说明丹参-牛膝药对可能通过AGE/RAGE信号、IL-17信号信号、TNF信号、PI3K-AKT信号、雌性激素受体等通路调控,以多种途径相互协同在骨质增生的治疗中发挥作用。

研究选取丹参-牛膝的核心有效成分槲皮素、山柰酚、木犀草、黄芩素、汉黄芩素和丹参酮IIA等与药物-疾病关键靶点HSP90AA1、MAPK1、AKT1、TP53等进行对接,结果显示,对接能量均低于-5KJ/mol,可知药物的主要有效成分进入机体后能与关键靶蛋白有良好的亲和力,表明丹参-牛膝以多成分协同的形式作用于多个关键靶点,发挥治疗骨质增生的作用。

综上所述,丹参-牛膝药对中槲皮素、山柰酚、木犀草、黄芩素和丹参酮IIA等有效成分通过HSP90AA1、MAPK1、AKT1、TP53等关键靶点与AGE/RAGE通路、TNF信号通路、PI3K-AKT信号通路等主要通路,以抗炎、调控细胞增殖与凋亡等方式治疗骨质增生,并借助分子对接技术加以验证。网络药理研究体系是中医药宏观到微观的深入研究的新方法、新平台以及新技术,为中医药的现代化发展提供了新思想、新思路,形成了“药物-疾病-靶点-基因”的研究模式。随着时代的发展,网络药理研究的体系也在不断更新,不断的为推动中医药守正创新传承发展,更好地为服务于人民卫生健康事业贡献力量。

#### 参考文献:

- [1] 胡明,邹龙,江星明,等. 中药治疗骨质增生的研究进展[J]. 中医药导报,2017,23(19):114-115+119.
- [2] 孙立鹏,吕发明. 中医药治疗骨质增生症的研究进展[J]. 新疆中医药,2015,33(2):62-65.
- [3] 何扬. 骨质增生的形成、治疗与预防,全国民族医药专科专病学术研讨会论文集[C]//北海,2001:235-238.
- [4] 郭宁,宫明,于大鹏. 骨质增生患者应用活血祛瘀祛风湿类中药配伍治疗的临床分析[J]. 哈尔滨医药,2015,35(4):327-328.
- [5] 彭强. 中药治疗骨质增生80例临床疗效观察[J]. 中国医药指南,2010,8(4):21-22.
- [6] 张翠英. 丹参川芎对药及其组方冠心宁制剂治疗心脑血管疾病的研究进展[J]. 中成药,2017,39(5):1018.
- [7] 曲永嘉,林霄月,孙晓伟,等. 基于网络药理学和分子对接探究牛膝-当归防治膝骨关节炎的作用机制[J]. 云南民族大学学报(自然科学版),2023,32(6):726-735.
- [8] 黄泽灵,何俊君,施珊妮,等. 基于网络药理学分析牛膝-桑寄生药对治疗骨关节炎的作用机制[J]. 中国组织工程研究,2020,24(29):4599-4604.
- [9] 任艳,邓燕君,马烩彬,等. 网络药理学在中药领域的研究进展及面临的挑战[J]. 中草药,2020,51(18):4789-4797.
- [10] 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.
- [11] 祁钰涵,马晓北. 桑菊饮治疗呼吸道病毒感染作用机制的生物信息学探讨与免疫分析[J]. 云南民族大学学报(自然科学版),2024,33(3):294-306.
- [12] 邹晓素,吕晓慧,赵湘培,等. 鸡血藤治疗心血管疾病的生物信息学研究[J]. 云南民族大学学报(自然科学版),2024,33(3):286-293.
- [13] 温时媛,卫兵艳,陈燕燕. 基于网络药理学挖掘板蓝根预防新型冠状病毒肺炎的机制研究[J]. 云南民族大学学报(自然科学版),2023,32(6):736-744.
- [14] 陈林攀,邓鸣涛,杜川,等. 杜仲叶提取物槲皮素通过激活ERK磷酸化促进BMSCs增殖的研究[J]. 时珍国医国药,2014,25(12):2845.
- [15] KIM I R, KIM S E, BAEK H S, et al. The role of kaempferol-induced autophagy on differentiation and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells. [J]. BMC Complement Altern Med,2016,16(1):333.
- [16] 李安安,姜涛,詹敏,等. 参苓白术散治疗膝骨关节炎作用机制的网络药理学和分子对接技术分析[J]. 中国组织工程研

- 究,2022,26(2):205-212.
- [17] LEE S A, PARK B R, MOON S M, et al. Chondroprotective effect of cynaroside in IL-1 $\beta$ -Induced primary rat chondrocytes and organ explants via NF- $\kappa$ B and MAPK signaling inhibition[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020:9358080.
- [18] 杨波, 龙慧, 王郑钢, 等. 黄芩素通过促进 miR-29a-3p 抑制 MAP2K6 改善骨性关节炎模型大鼠软骨细胞退化[J]. *中药药理与临床*, 2019, 35(6):32-37.
- [19] ZHOU L, ZHANG J, WANG C, et al. Tanshinone inhibits neuronal cell apoptosis and inflammatory response in cerebral infarction rat model[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2017, 30(2):123.
- [20] CRISAN T O, CLEOPHAS M C P, NOVAKOVIC B, et al. Uric acid priming in human monocytes is driven by the AKT-PRAS40 autophagy pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(21):5485-5490.
- [21] KASPERKOVITZ P V, VERBEET N L, SMEETS T J, et al. Activation of the STAT1 pathway in rheumatoid arthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2004, 63(3):233-239.
- [22] 陈文革, 杨朝晖, 黄高. 类风湿关节炎滑膜组织 RAGE 的表达及意义[J]. *中国免疫学杂志*, 2014, 30(9):1256-1258.
- [23] LIU S, MA H X, ZHANG H X, et al. Recent advances on signaling pathways and their inhibitors in rheumatoid arthritis[J]. *Clin Immunol*, 2021, 230:108793.
- [24] 丁亮, 茆军, 梅伟, 等. 基于网络药理学探讨温肾宣痹方治疗膝骨关节炎的作用机制[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2021, 40(6):831-839.
- [25] 罗心静, 莫选荣, 周玲玲. TNF- $\alpha$  诱导类风湿关节炎滑膜细胞 NF- $\kappa$ B 信号通路活化的探讨[J]. *免疫学杂志*, 2012, 28(4):321-323.
- [26] ALMEIDA M, LAURENT M R, DUBOIS V, et al. Estrogens and androgens in skeletal physiology and pathophysiology. [J]. *Physiol Rev*, 2017, 97(1):135-187.
- [27] 吴洁, 吴睿哲, 葛殊玮, 等. 基于网络药理学及分子对接研究桃仁-红花治疗膝骨关节炎的作用机制[J]. *湖南中医杂志*, 2022, 38(4):162-171.

## Exploration of the molecular mechanism of “*Salvia miltiorrhiza* – *Achyranthes bidentata*” in the treatment of bone hyperplasia

NIU Min<sup>1</sup>, ZHU Xing-yu<sup>1</sup>, LIU Hong-yan<sup>2</sup>, DENG Xiang-min<sup>1</sup>, WU Xin<sup>1</sup>

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu College of Nursing, Huaian 223005, China;

2. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

**Abstract:** The study is to calculate the active ingredients and the related molecular mechanisms of “*Salvia miltiorrhiza* – *Achyranthes bidentata*” in the treatment of bone hyperplasia by network pharmacology and molecular docking method. TCMSP and BATMAN-TCM was used to search the active ingredients and related targets of “*Salvia miltiorrhiza* – *Achyranthes bidentata*”. OMIM and Genecard was used to search the related targets of Bone hyperplasia, potential targets for disease drugs were obtained. Cytoscape software was used to establish and analyze the effective compound – target network. String software was used to analyze the PPI network. The cluster Profiler was used to analyze the KEGG pathway and GO biological process. AutoDock software was used to verify the binding ability of active ingredients to key targets by molecular docking, so as to explore the mechanism of action of “*Salvia miltiorrhiza* – *Achyranthes bidentata*” drugs in the treatment of hyperosteogeny. 75 effective components were screened out, which acted on synergistically 180 targets such as MAPK1, AKT1, JUN, STAT3, RELA, ESR1, FOS and MAPK14 to play a therapeutic effect on hyperosteogeny. The result of molecular docking method showed that they were combined well between the key active ingredients and the core target spontaneously. This study reveals the basic pharmacological effects, targets and related mechanisms of “*Salvia miltiorrhiza* – *Achyranthes bidentata*” in treating bone hyperplasia were explored based on network pharmacology, which provided some theoretical support for later clinical and basic researches.

**Key words:** *Salvia miltiorrhiza* – *Achyranthes bidentata*; bone hyperplasia; network pharmacology; molecular mechanism