

• 临床研究 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2025.07.005

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250514.1840.020\(2025-05-15\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250514.1840.020(2025-05-15))

# 数据挖掘联合网络药理学与分子对接分析淫羊藿-丹参治疗肾虚血瘀型骨质疏松的作用机制<sup>\*</sup>

龚卫月,王利敏,朱洁

(浙江中医药大学附属湖州中医院,浙江湖州 313000)

**[摘要]** 目的 探讨中医药治疗肾虚血瘀型骨质疏松症的方剂组方配伍规律,并筛选出使用频率最高的药对,进一步通过网络药理学和分子对接探索其药治疗肾虚血瘀型骨质疏松症的作用机制,为临床用药提供理论指导。**方法** 从中国知网、万方等数据库中筛选出近 10 年用于治疗肾虚血瘀型骨质疏松症的方剂,通过 SPSS、Origin、IBM SPSS Modeler 等软件进行频次、性味归经统计和药物组合分析,应用聚类分析药物核心组合,筛选治疗肾虚血瘀型骨质疏松最佳药对,对该药对进行网络药理学分析,找到核心靶点、主要成分和信号通路,并使用 AutoDockTools、Autodock Vina 和 PyMol 软件进行分子对接,进一步验证其相互作用的可能性。**结果** 共筛选出 117 个处方,包含中药 148 味,使用频次较高的药物及药物组合以补肾阳虚肾阴虚药、活血化瘀药为主,性味以甘温为主,多归肝、肾,进一步对使用频次 $>20$  的药物开展聚类分析,得到 5 类新组方,选择其中淫羊藿-丹参作为药对进行网络药理学分析,得到 89 个作用靶点,筛选出核心靶点信号转导和转录激活因子 3(STAT3)、白细胞介素-6(IL-6)、JUN 原癌基因和主要成分隐丹参酮、山柰酚、木犀草素、槲皮素,分别对主要成分和核心靶点进行分子对接,验证了药物治疗肾虚血瘀型骨质疏松的作用。**结论** 中医药治疗肾虚血瘀型骨质疏松症多以补益肝肾、活血化瘀为主,辅以补中益气,可为肾虚血瘀型骨质疏松症的治疗提供理论依据,此外淫羊藿-丹参药对可通过多靶点、多通路发挥治疗骨质疏松的作用,为后续实验和临床应用奠定基础。

**[关键词]** 骨质疏松;肾虚血瘀;淫羊藿-丹参;网络药理学;数据挖掘;分子对接

**[中图法分类号]** R223 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2025)07-1552-08

## Action mechanism of Yinyanghuo-Danshen in treating kidney deficiency and blood stasis type osteoporosis through data mining combined with network pharmacology and molecular docking<sup>\*</sup>

GONG Weiyue, WANG Limin, ZHU Jie

(Huzhou Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University, Huzhou, Zhejiang 313000, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the compatibility and combination patterns of traditional Chinese medicine (TCM) formulas in treating kidney deficiency and blood stasis type osteoporosis, to identify the most frequently used drug pairs, and to explore their mechanisms of action in treating kidney deficiency and blood stasis type osteoporosis through network pharmacology and molecular docking, providing theoretical guidance for clinical medication. **Methods** Formulas used for treating kidney deficiency and blood stasis type osteoporosis in the past 10 years were screened from databases such as CNKI and Wanfang. SPSS, Origin, and IBM SPSS Modeler software were used for frequency, taste and meridian statistics, and drug combination analysis. Cluster analysis was applied to identify the core drug combinations. The best drug pair for treating kidney deficiency and blood stasis type osteoporosis was selected. Network pharmacology analysis was conducted on this drug pair to identify core targets, main components, and signaling pathways. Molecular docking was performed using AutoDockTools, AutoDock Vina, and PyMOL software to further verify the possibility of their interactions. **Results** A total of 117 formulas containing 148 TCMs were screened out. The frequently used drugs and combinations were mainly kidney-yang and kidney-yin tonics and blood-activating and stasis-eliminating drugs, with sweet and warm tastes, mostly attributed to the liver and kidney meridians. Further cluster analysis of drugs with a frequency greater than 20 yielded five categories. The Epimedium-Bupleurum combination

<sup>\*</sup> 基金项目:浙江省中医药科技计划项目(2023ZR133);浙江省湖州市公益性应用研究项目(2023GZB10)

was selected for network pharmacology analysis, which identified 89 targets. Core targets included STAT3, IL-6, and JUN. Main components were cryptotanshinone, kaempferol, luteolin, and quercetin. Molecular docking was performed on the main components and core targets to verify the treatment effect of the drugs on osteoporosis. **Conclusion** TCM treatment of kidney deficiency and blood stasis type OP mainly focuses on tonifying the liver and kidney and activating blood circulation to remove stasis, supplemented by tonifying the spleen and boosting qi. This can provide a theoretical basis for the clinical treatment of OP. Additionally, the Epimedium-Bupleurum drug pair can exert therapeutic effects on osteoporosis through a multi-target and multi-pathway mechanism, laying the foundation for subsequent experiments and clinical applications.

**[Key words]** osteoporosis; kidney deficiency and blood stasis; epimedium-bupleurum; network pharmacology; data mining; molecular docking

骨质疏松症是一种以骨密度降低、骨微结构严重受损及骨脆性增加,从而导致易发骨折的代谢性骨病。研究显示,全球超过 2 亿人受到骨质疏松症的困扰,而在我国患者人数已达到 1 亿,其中绝经后女性患者约占 7 000 万。数据显示,每年因骨质疏松导致的骨折人数超过 890 万,预计到 2035 年,我国在骨质疏松性骨折方面的医疗费用将高达 1 320 亿元<sup>[1-2]</sup>。骨质疏松的发生主要是由于成骨细胞生成与破骨细胞吸收之间的平衡被打破。现有的抗骨质疏松药物通常通过抑制破骨细胞的活性或刺激成骨细胞的生成来发挥作用,然而大多数相关药物价格高昂且不良反应多,难以实现长期使用<sup>[3-4]</sup>。中医药在治疗骨代谢相关疾病方面有着悠久的历史和显著的效果,联合使用中西医可以发挥各自的优势,优化治疗方案,从而提高治疗效果并减少不良反应,有助于延缓疾病的进展。在中医证型中,肾虚血瘀型是骨质疏松症的常见证型,但相关的药物组合特点及作用机制尚未得到充分研究。为此,本文旨在通过数据挖掘研究治疗肾虚血瘀型骨质疏松症的常用药物,并对其进行网络药理学和分子对接分析,以探讨其用药特点、主要成分及作用机制,为今后的临床应用和药物研发提供新的思路。

## 1 资料与方法

### 1.1 数据挖掘

#### 1.1.1 处方来源

以“肾虚血瘀”和“骨质疏松”为关键词,时间为 2014 年 1 月 1 日至 2024 年 7 月 23 日,在中国知网中检索到 218 篇相关文章,在万方中检索到 152 篇文章。

#### 1.1.2 处方筛选

纳入标准:(1)符合肾虚血瘀型骨质疏松的中、西医诊断标准;(2)临床研究类型文献;(3)药物剂型不限,处方相同,剂型不同的药物,视为同一处方药,只纳入一次;(4)药物处方名称相同,处方组成、药物组分或者药物剂量不同,视为不同处方药,均纳入分析;(5)meta 分析文献中的所有处方药纳入研究。排除标准:(1)重复文献;(2)中医药治疗采用非药物疗法的文献;(3)基础研究和综述类文献;(4)仅进行单味中药研究的文献。

### 1.1.3 数据整理

将处方录入 Excel,包括处方组成,每位药的性味、归经。参考《中华人民共和国药典》和《中华本草》进行中药统一名称,如赤参统一为丹参,醋元胡统一为延胡索,丹皮统一为牡丹皮等。炮制品种统一为中药饮片名称,如炒白芍统一为白芍,炒白术统一为白术等。药性“微温”“微寒”“大热”分别统一为“温”“寒”“热”,药味“微苦”“微酸”统一为“苦”“酸”,归经如归肝心肾经拆分为归肝、心、肾经。

## 1.2 网络药理学

### 1.2.1 药物与骨质疏松疾病核心靶点获取

淫羊藿、丹参在中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology, TCMSP)数据库(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)中找到成分和靶点,筛选依据以口服生物利用度(oral bioavailability, OB)≥30%、类药性(drug like, DL)≥0.18 为条件。将所有药物整合到 Excel 中,包含药物名称、成分和靶点,将药物成分靶点输入 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>),获取各成分对应靶点的标准基因名称。通过 DrugBank (<https://go.drugbank.com/>)、GeneCard (<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<https://www.omim.org/>)、TTD(<https://db.idrblab.net/ttd/>) 和 PharmGkb(<https://www.pharmgkb.org/>)5 个数据库,查找骨质疏松相关基因,通过微生物网站(<https://www.bioinformatics.com.cn/>),绘制出淫羊藿-丹参-骨质疏松共有基因的韦恩图。

### 1.2.2 构建“药物-成分-靶点”网络

通过 Excel 准备 Network 和 Type 文件,Network 文件种含有药物名称、药物成分和靶点,Type 文件是对 Network 文件中元素进行归类。将调控网络导入 Cytoscape3.10.1 软件,进行可视化分析,得到“药物-成分-靶点”网络图。

### 1.2.3 蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interactions, PPI)网络的构建及核心靶点筛选

将药物与骨质疏松共同靶点导入 STRING 网络平台(<https://cn.string-db.org/>),物种选择“Homo

sapiens”，置信度设置为 0.9，删除游离节点。将筛选出来的靶点导入 Cytoscape3.10.1，采用 CytoNCA 插件筛选核心蛋白，筛选条件为大于介数中心性 (betweenness centrality, BC)、接近中心性 (closeness centrality, CC)、度中心性 (degree centrality, DC) 的中位值，并进行可视化。

#### 1.2.4 京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 和基因本体 (Gene Ontology, GO) 分析

用 metascape (<https://metascape.org/gp/index.html>) 和微生物网站 R 语言对药物-疾病基因进行 GO 和 KEGG 分析，选取 *P* 排名靠前的 30 条富集通路，进行可视化分析得到 KEGG 柱状图，筛选出排名前 5 位基因靶点的分子功能 (molecular function, MF)、细胞组分 (cellular component, CC) 及生物过程 (biological process, BP)。

#### 1.3 分子对接

通过 CytoNCA 筛选出来的核心靶点信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、JUN 原癌基因，找到相应小分子配体隐丹参酮、山柰酚、木犀草素、槲皮素，在 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中搜索小分子配体的 2D 结构，下载结构图，通过 ChEMBL3D 软件对结构进行优化，参数选取最小自由能。从 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 中下载核心靶点蛋白 3D 结构，使用 Pymol 软件将蛋白去除水分子和小分子配体，另存为 pdbqt 格式。AutoDock 软件进行活性口袋确认后进行分子对接。

#### 1.4 统计学处理

采用 Microsoft Excel2020 对单味中药的使用频次、功效、四气、五味和归经的用药规律进行统计，计数资料采用例数或百分比表示。采用 SPSS Modeler18.1 软件中的 Apriori 算法对高频药物进行关联规则分析。运用 OriginPro 对使用频次高于 20 的药物

进行系统聚类分析，得到组合药物及聚类分析圆形图，进一步使用 Correlation Plot 插件对高频使用药物进行相关性热图分析。联合运用多种数据挖掘方法，全面探索分析数据库中肾虚血瘀型骨质疏松中药的用药规律及配伍特点。

## 2 结 果

### 2.1 使用频次及高频药物用量分析

筛选出治疗肾虚血瘀型骨质疏松方剂 117 个，包含中药 148 味，使用频次排名前 20 位的药物见表 1。四气主要以温为主，五味以甘为主，归经主要以肝、肾为主，见图 1。

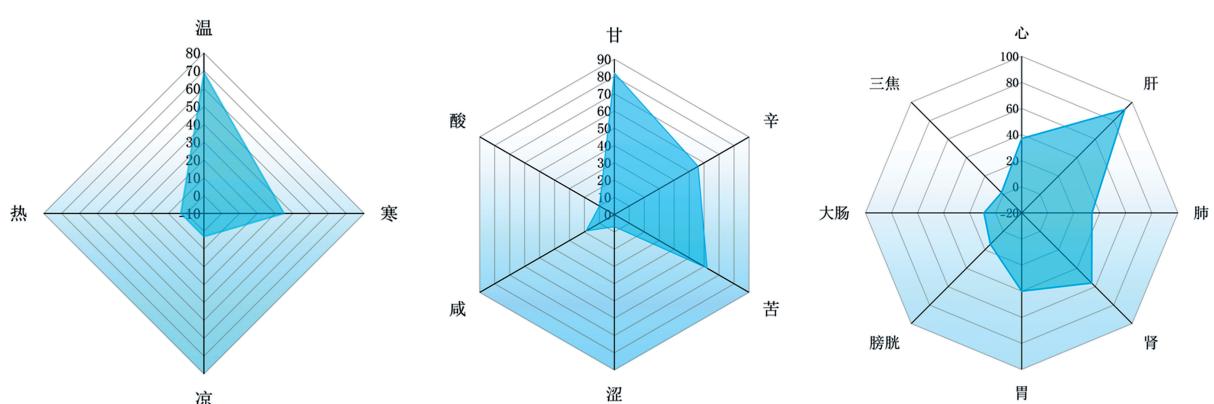
### 2.2 关联规则分析

采用关联规则进行组方规律分析，支持度设定为 10%，置信度设定为 80%，最大前项数为 2，置信度和支持度排名前 22 组。将使用频次  $> 20$  的中药进行 Cytoscape 分析，得到 24 个节点，258 条边，颜色越深表示使用频次高。药物组合置信度都较高，支持度排名第 1 位的是熟地黄、山茱萸和当归。将使用频次  $> 20$  的药物导入 Origin 软件，药物关联颜色越深表示相关性越高，见图 2、表 2。

表 1 治疗肾虚血瘀型骨质疏松使用频次排名

前 20 位的中药

序号	中药名称	使用频次 (n)	序号	中药名称	使用频次 (n)
1	杜仲	78	11	菟丝子	43
2	熟地黄	78	12	续断	41
3	当归	70	13	川芎	39
4	骨碎补	58	14	山茱萸	39
5	丹参	55	15	甘草	34
6	淫羊藿	52	16	牛膝	32
7	黄芪	51	17	肉苁蓉	29
8	补骨脂	49	18	鸡血藤	28
9	红花	45	19	山药	27
10	枸杞子	44	20	没药	26



图中数据代表频次。

图 1 处方药物四气、五味、归经分析雷达图

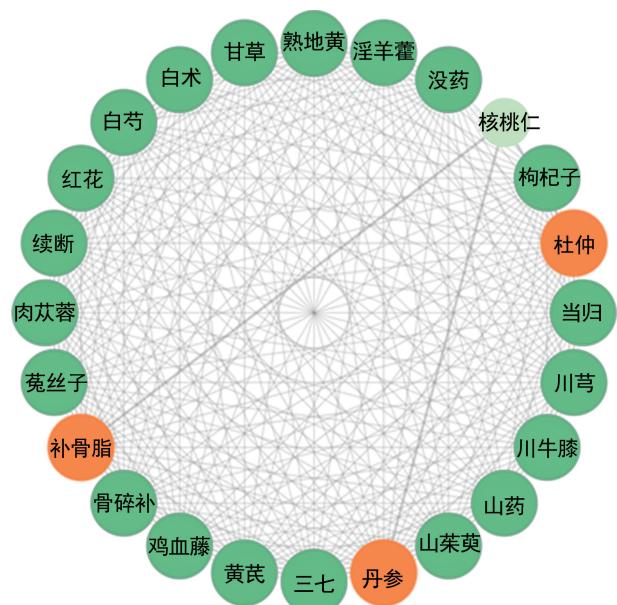


图 2 常用药物关联规则网络化展示图

表 2 核心药物组合关联规则

前项	后项	支持度百分比(%)	置信度百分比(%)
山茱萸+当归	熟地黄	22.222 222 20	100
山茱萸+菟丝子	熟地黄	21.367 521 40	100
肉苁蓉+杜仲	熟地黄	18.803 418 80	100
山茱萸+红花	枸杞子	18.803 418 80	100
山茱萸+红花	熟地黄	18.803 418 80	100
肉苁蓉+菟丝子	当归	17.094 017 09	100
没药+菟丝子	当归	16.239 316 24	100
没药+红花	当归	16.239 316 24	100
没药+熟地黄	当归	16.239 316 24	100
肉苁蓉+红花	当归	15.384 615 38	100
肉苁蓉+枸杞子	当归	15.384 615 38	100
肉苁蓉+山茱萸	熟地黄	14.529 914 53	100
肉苁蓉+山茱萸	杜仲	14.529 914 53	100
独活+熟地黄	当归	13.675 213 68	100
没药+肉苁蓉	菟丝子	13.675 213 68	100
没药+肉苁蓉	当归	13.675 213 68	100
没药+肉苁蓉	熟地黄	13.675 213 68	100
没药+肉苁蓉	杜仲	13.675 213 68	100
没药+山茱萸	菟丝子	13.675 213 68	100
没药+山茱萸	枸杞子	13.675 213 68	100
没药+山茱萸	当归	13.675 213 68	100
没药+山茱萸	熟地黄	13.675 213 68	100

### 2.3 聚类分析

使用 Origin 软件将使用频次 $>20$  的中药进行聚类分析,分为 5 类新组方:(1)续断、杜仲、枸杞子、山茱萸、熟地黄、没药、肉苁蓉、红花、菟丝子、当归、补骨脂、桃仁;(2)白术、甘草、川芎、骨碎补、三七、川牛膝;

(3)白芍;(4)丹参、山药、淫羊藿;(5)黄芪、鸡血藤。

### 2.4 淫羊藿-丹参-骨质疏松共有靶点

在 TCMSP 上筛选出淫羊藿 192 个靶点,21 个成分;丹参 114 个靶点,58 个成分。两个药物靶点去除重复值后共有 204 个共有靶点,78 个主要成分。疾病基因靶点筛选结果显示,从 GeneCard 数据库种搜索出 1 660 个靶点,OMIM 数据库搜索出 11 个靶点,GrugBank 数据库得到 53 个靶点,PharmGkb 数据库得到 3 个靶点,TTD 得到 30 个靶点,对所有数据库取交集,去除重复靶点,共有疾病靶点 1 697 个,药物与疾病基因取交集,共有 89 个靶点。

### 2.5 构建“药物-成分-靶点”网络

将淫羊藿、丹参 2 个药物与骨质疏松共有基因的成分及靶点信息整理成 Network 文件和 Type 文件,导入 Cytoscape3.10.1 软件,形成“药物-成分-靶点”可视化网络图,共有 165 个节点,587 个条边。按 Degree 排名,核心靶点为 PTGS2、PTGS1、ADRB2、DPP4、AR、RXRA、ESR1、CA2、PPARG、NOS2 等。

### 2.6 PPI 网络构建及核心靶点筛选

把 89 个基因输入 STRING 网络平台,得到 PPI 网络图,筛去游离节点后,共有 80 个节点,257 条边,将 80 个节点导入 Cytoscape3.10.1 软件,按照 Degree 排序,颜色越深,相关性越高。利用 CytoNCA 对蛋白进行筛选,筛选条件为经过 3 次打分筛选出核心蛋白见图 3,每一圈代表一次打分筛选的蛋白,最终核心蛋白为 STAT3、IL-6、JUN。

### 2.7 KEGG、GO 分析

使用 metascape 和微生信对 89 个潜在作用靶点进行 GO 和 KEGG 功能富集分析。BP 富集分析基因数量位于前 10 位的条目主要涉及激素反应、细胞迁移的正向调节、脂多糖的反应、氧化应激反应等。CC 富集分析基因数量位于前 10 位的条目主要涉及转录调节复合体、膜筏、质膜的外侧面、分泌颗粒腔、受体复合物等。MF 富集分析基因数量位于前 10 位的条目主要涉及转录因子结合、核受体活性、细胞因子活性、血红素结合等,见图 4。KEGG 富集分析结果纵坐标为通路,横坐标是富集在该通路上的基因数量,颜色越深,表示相关性越大。前 15 条通路主要涉及癌症的调控、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)通路、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)通路、缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)通路等,见图 5。

### 2.8 “药物-成分-靶点-信号通路”分析

将筛选出来的核心靶点 STAT3、IL-6、JUN 与药物成分及相关通路整理成 Network 文件和 Type 文件,导入 Cytoscape3.10.1 软件,形成“药物-成分-靶点-信号通路”可视化网络图。丹参和淫羊藿主要成分为隐丹参酮、木犀草素、槲皮素和山柰酚。相关信号

通路主要为 HIF-1 通路、VEGF 通路、TNF 通路等，见图 6。

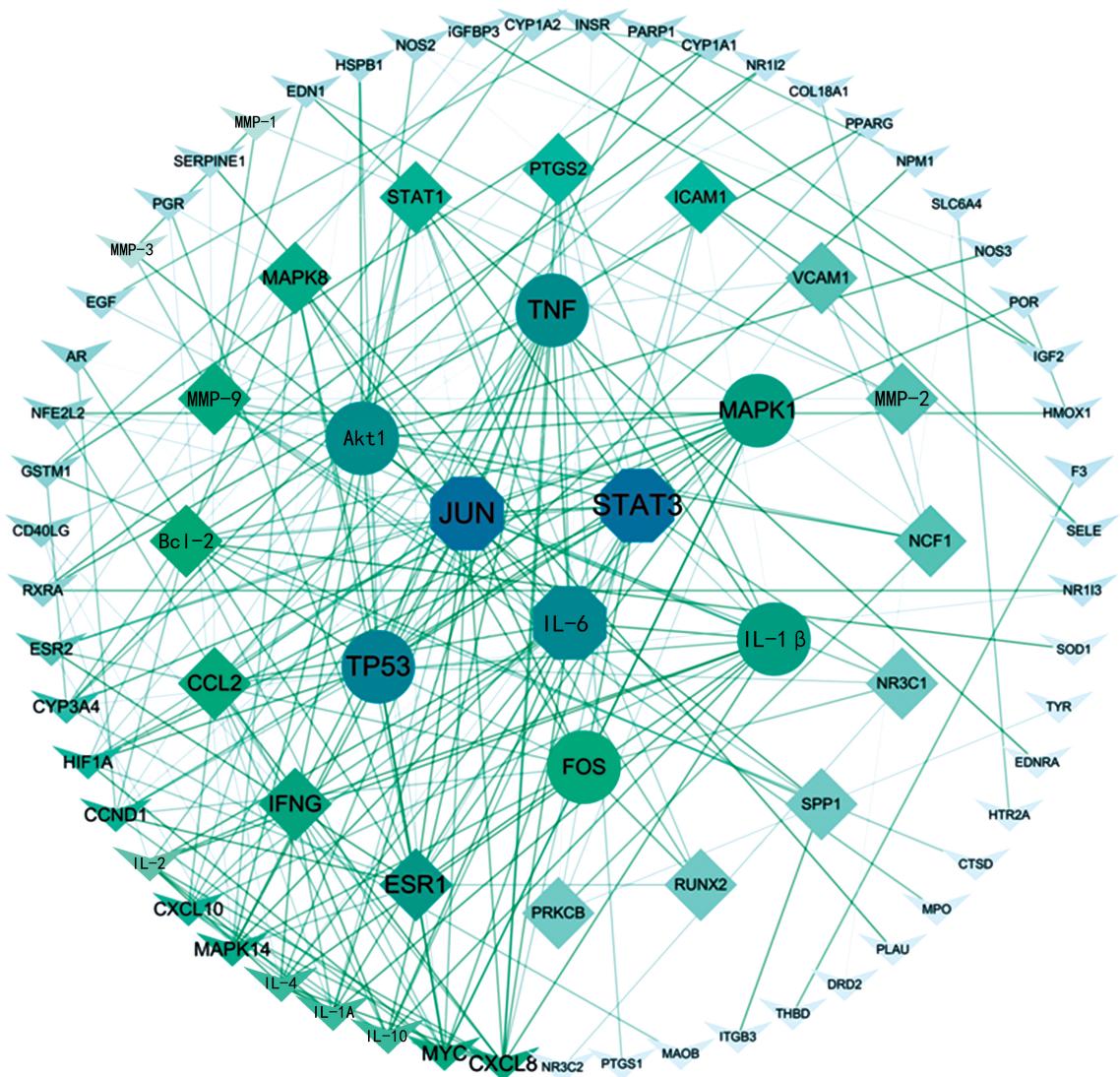


图 3 核心靶点 PPI 网络图

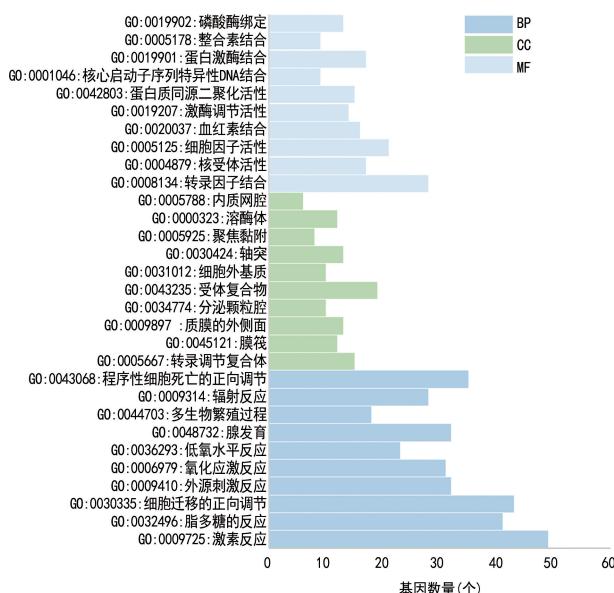


图 4 GO 富集分析结果

## 2.9 分子对接

选取核心靶点 STAT3、IL-6、JUN，核心靶点对应活性成分见表 3。分子对接后找到配体与受体的最小结合能进行分子对接，见图 7。

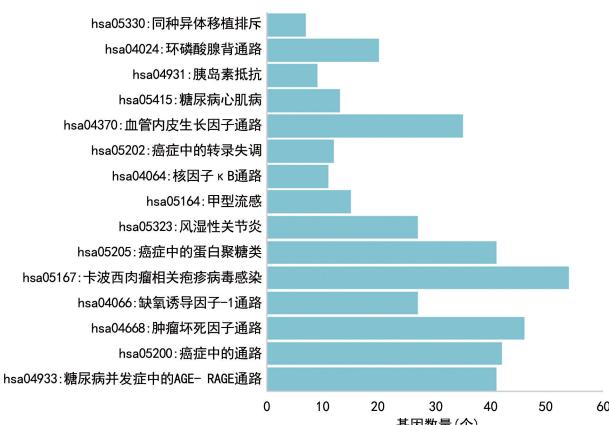


图 5 KEGG 富集分析结果

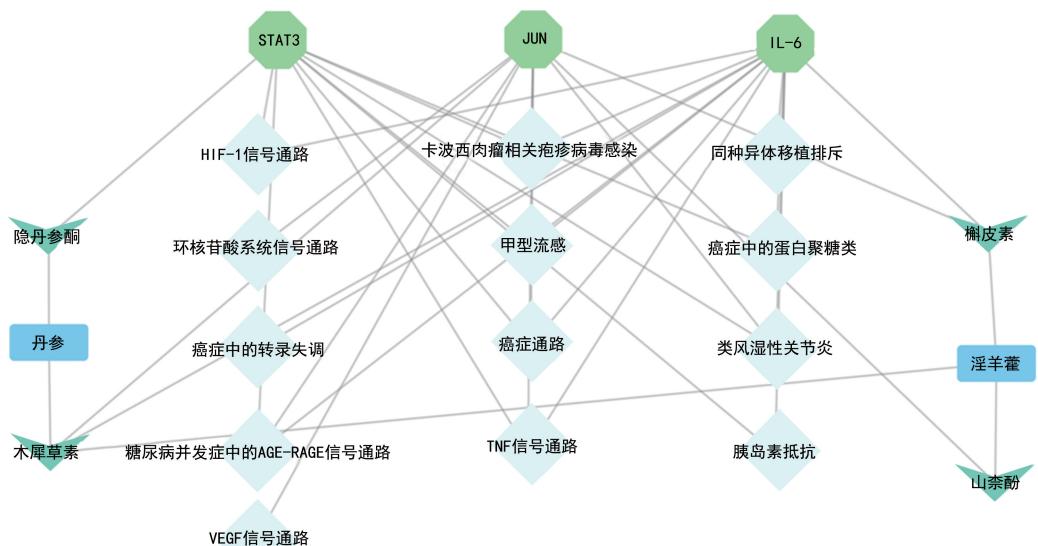
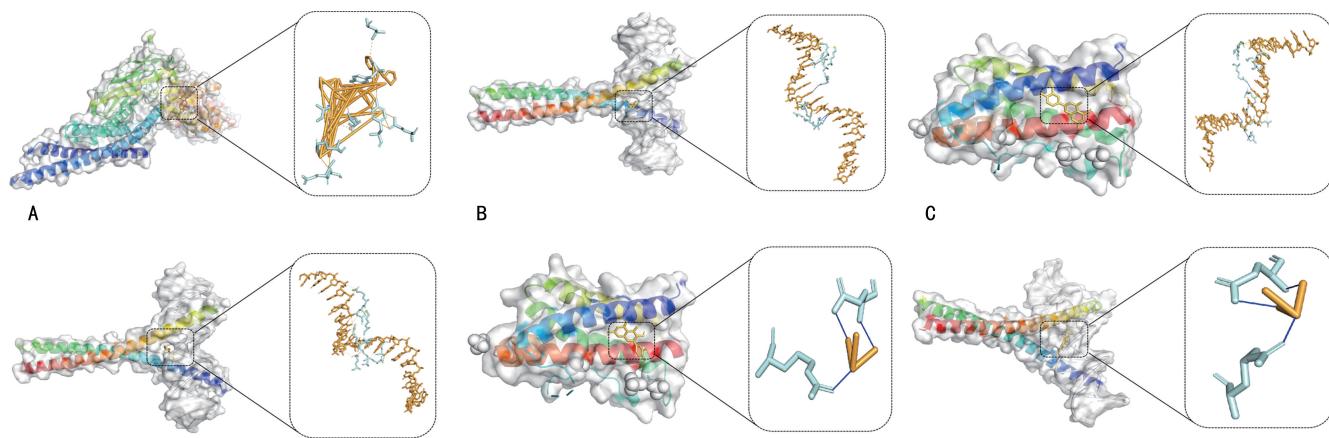


图 6 “药物-成分-核心靶点-信号通路”网络图



A: 隐丹参酮-STAT3; B: 山柰酚-JUN; C: 木犀草素-JUN; D: 木犀草素-IL-6; E: 槲皮素-IL-6; F: 槲皮素-JUN。

图 7 主要成分-蛋白治疗肾虚血瘀型骨质疏松分子对接图

表 3 药物核心成分与核心靶蛋白的对接结合能

关键靶点	对应活性成分	结合能 (kcal/mol)
JUN	槲皮素	-9.5
JUN	山柰酚	-9.2
JUN	木犀草素	-9.1
IL-6	木犀草素	-7.1
IL-6	槲皮素	-7.0
STAT3	隐丹参酮	-5.8

### 3 讨 论

在我国历代中医古籍中,尚无“骨质疏松症”这一术语的记载。中医将此类症状归纳为“骨枯”“骨痹”“骨痿”等范畴<sup>[5]</sup>。骨质疏松症的病因及其机制极为复杂,其根本原因可归结为肾虚。根据中医理论,肾被视为先天之本,主宰骨骼的健康,并负责生成骨髓。这一点与现代医学中肾脏在钙磷代谢调控方面的内分泌功能相一致,因此骨骼的质量与肾功能之间存在

着密切的联系<sup>[6]</sup>。肾病的常见表现为身体的虚弱,而肾虚则主要体现在精、气、阴、阳等方面不足。肾脏在人体中发挥着至关重要的作用,既是脏腑功能活动的核心,同时也是气血循环的动力源。气血的生成和流动依赖于肾中元阴和元阳的滋养、温煦。当肾虚发生时,将影响气化的功能,导致推动和温煦的能力减弱,进而使气血流动受阻,就会出现血液瘀滞的情况。如《医林改错》中所言:“元气既虚……血管无气,必停留而瘀”。此外,精亏也会导致气血生成的源泉不足,血脉因此显得空虚,从而造成血流不畅<sup>[7]</sup>。因此,从中医的观点来看,血瘀是肾虚所引发的一种必然病理变化。针对这种情况,中医药的治疗主要侧重于补肾强筋,同时结合活血化瘀的原则。本研究通过对文献数据的挖掘,分析了 117 个处方中所含的 148 味中药,发现这些处方主要以补肾壮骨和活血化瘀的药物为主。其中,杜仲、熟地黄和当归的使用频率最高,所用药物多以温性药物为主,在五味中以甘味为主,主

要归经于肝和肾,这与肾虚血瘀型骨质疏松的中医药理论基础相吻合。

通过关联规则分析,本研究发现杜仲和熟地黄的组合在治疗肾虚血瘀型骨质疏松的中药方中使用最为广泛,其次是杜仲与当归、熟地黄与当归等组合。杜仲作为骨科常用的中药,其提取物具有促进成骨细胞增殖作用,能够通过上调骨保护素与核因子- $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)配体之间的比值,从而间接抑制破骨细胞的分化与成熟,进而减少骨吸收<sup>[8]</sup>。本研究对高频使用的药物进行了聚类分析,得到了部分新组方,其中包括丹参、山药、淫羊藿。利用 SPSS Modeler18.1 软件进行分析时发现,淫羊藿与丹参之间的链接强度为 30。以往的研究已表明,淫羊藿和丹参是治疗肾虚血瘀型骨质疏松的常见中药<sup>[9-11]</sup>,有研究提出,淫羊藿的抗骨质疏松作用机制可能与调节脑/脊髓/骨轴的神经肽有关<sup>[12]</sup>。另有研究显示,淫羊藿的主要成分淫羊藿苷通过下调雷帕霉素的哺乳动物靶点 (mammalian target of rapamycin, mTOR),刺激骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSC) 成骨分化并抑制骨吸收,从而发挥抗骨质疏松作用,改善骨微结构<sup>[13]</sup>。丹参是常见的活血化瘀药,具有改善微循环、抗氧化及防止血栓等功效。张晓等<sup>[14]</sup>证实,丹参水溶性成分能抑制单核巨噬细胞向破骨细胞的分化,并减少细胞内 ROS 的生成。体外实验结果证实,脂溶性丹参酮提取物可通过丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)/NF- $\kappa$ B/活化 T- 细胞核因子 1 (recombinant nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 1, NFATc1) 通路抑制 RANKL 诱导的破骨细胞增殖和分化,从而减少骨细胞的骨吸收<sup>[15]</sup>。然而,淫羊藿-丹参药对治疗骨质疏松的具体作用机制尚无明确阐述。本研究通过网络药理学和分子对接的方式,揭示了淫羊藿和丹参在骨质疏松治疗中的作用机制。通过 CytoNCA 筛选,本研究识别出与骨质疏松相关的重要成分,包括隐丹参酮、木犀草素、槲皮素及山柰酚。其中,隐丹参酮为丹参的主要成分,已有研究表明其可以逆转去卵巢大鼠体内骨形成与骨吸收的生物标志物异常现象<sup>[16]</sup>。此外,STAT3 作为 MC3T3-E1 细胞成骨分化的正调节因子,能够促进成骨细胞的分化<sup>[17]</sup>,而隐丹参酮则被认为是 STAT3 的作用靶点。研究显示,隐丹参酮通过直接结合 STAT3 的信号转导和转录激活因子 SH2 结构域,增强 SHP-2 蛋白酪氨酸磷酸酶的上调活性<sup>[18]</sup>。同时,还有研究表明隐丹参酮能够促进骨髓间质干细胞的分化<sup>[19]</sup>。康庐琛等<sup>[20]</sup>研究发现,槲皮素能够调节绝

经后骨质疏松大鼠的雌激素水平,改善骨代谢异常,缓解骨微结构变化,从而展现出对骨质疏松的保护作用。2022 年的研究进一步证明,槲皮素能促成骨分化相关基因 BMP2 和 Runx2 的表达水平提高,促进成骨细胞增殖<sup>[21]</sup>。此外,山柰酚的促成骨能力主要通过调控 BMSC 的分化来实现,对 BMSC 中主要成骨相关因子 Runx2、Osx 和碱性磷酸酶的表达也具有促进作用<sup>[22]</sup>。木犀草素是一种具有明显抗炎活性和强大抗氧化能力的黄酮类化合物,其能够有效清除体内的自由基,从而发挥细胞的保护作用。CHAI 等<sup>[23]</sup>通过构建去卵巢大鼠模型,深入探讨了槲皮素对骨微结构、代谢过程和氧化应激的影响,结果表明,槲皮素可以通过激活 PI3K/Akt 通路来改善线粒体的功能障碍,减轻细胞的焦亡现象,并保持成骨细胞的正常功能。绝经后骨质疏松的发生主要是由于雌激素的缺乏,这种情况增加了氧化损伤、提升了活性氧水平、降低了抗氧化酶的活性,并导致促炎性细胞因子的释放,从而造成成骨细胞活性明显下降<sup>[24]</sup>。因此,木犀草素在对抗骨质疏松方面展现出了良好的应用潜力。

经过 GO 分析,本研究发现淫羊藿-丹参的干预作用主要通过多个生物过程得以实现,包括细胞迁移、脂多糖的反应及氧气应激反应等。此外,KEGG 分析表明,这一药物的作用机制与多个重要信号通路密切相关,包括 VEGF 通路、TNF 通路及 HIF-1 通路等。现代医学研究认为,骨生成与血管生成之间在空间和时间上是相互联系的,这一现象被称为“血管生成-成骨耦合”<sup>[25]</sup>。这种独特的机制意味着在血管生成过程中能够同时促进骨细胞的形成。已有研究表明,成骨细胞与破骨细胞之间,以及这两类细胞与内皮细胞之间存在着分子层面的相互联系,从而有助于血管的生成。在骨模型中,骨形成与骨吸收在机制上是独立的,但在骨重建过程中却是相互耦合的,以维持骨架的动态平衡。这两个过程均伴随着血管的生成。在骨微环境中,骨血管的生成可以进一步促进成骨细胞的分化,增强骨组织的形成能力。同时,成骨细胞通过分泌如 VEGF 和碱性成纤维细胞生长因子等血管生成因子,促进血管内皮细胞的增殖与分化,以进一步推动骨血管的生成。有研究指出,因卵巢切除术导致发生骨质疏松症的患者,其胫骨干骺端的 VEGF 蛋白表达明显降低<sup>[26]</sup>。

分子对接验证了淫羊藿-丹参药对的关键活性成分能够准确地结合在 STAT3、IL-6、JUN 等关键靶点蛋白的活性位点上,并与其关键氨基酸残基形成相互作用。这也验证了网络药理学分析结果中筛选的主要药物成分对关键靶点的药理作用。

本研究通过数据挖掘发现了肾虚血瘀型骨质疏松常用中药及新组处方,找到了淫羊藿-丹参药对,并通过网络药理学方法和分子对接技术识别了主要成分,包括隐丹参酮、山柰酚、木犀草素和槲皮素等多种成分。这些成分能够作用于 STAT 3、IL-6、JUN 等多个靶点,通过调节氧化反应和细胞凋亡等多条信号通路,发挥抗骨质疏松的作用。本研究在一定程度上为临床治疗肾虚血瘀型骨质疏松提供了线索和研究基础。

## 参考文献

- [1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南(2022)[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2022, 15(6): 573-611.
- [2] FUGGLE N R, CURTIS E M, WARD K A, et al. Fracture prediction, imaging and screening in osteoporosis[J]. Nat Rev Endocrinol, 2019, 15(9): 535-547.
- [3] WANG W Y, CHEN L H, MA W J, et al. Drug efficacy and safety of denosumab, teriparatide, zoledronic acid, and ibandronic acid for the treatment of postmenopausal osteoporosis: a network meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2023, 27(17): 8253-8268.
- [4] 胡锦瑞, 李梦男, 王燕. 二膦酸盐类药物在骨质疏松症治疗中的应用与思考[J]. 中华生物医学工程杂志, 2020, 26(2): 176-181.
- [5] 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.
- [6] 汉雯. 骨密度与肾脏功能指标的相关性研究及基于人工神经网络方法对骨密度变化预测的探讨[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2018.
- [7] 张金龙. 《医林改错》活血化瘀方剂的配伍特点研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2023.
- [8] 邢蕴蕴, 王健英, 潘颖宜, 等. 杜仲骨保护的作用机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(3): 92-95.
- [9] 王宥涵, 孔令擘, 贺宝荣. 淫羊藿昔调控破骨细胞分化治疗骨质疏松症的机制研究进展[J]. 中华创伤杂志, 2020, 36(4): 377-382.
- [10] DONG H, TANG F, ZHAO Z, et al. The Bioactive compounds of epimedium and their potential mechanism of action in treating osteoporosis: a network pharmacology and experimental validation study[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2024, 17(6): 706.
- [11] WANG L, WANG S, DAI X, et al. *Salvia miltiorrhiza* in osteoporosis: a review of its phytochemistry, traditional clinical uses and preclinical studies (2014–2024)[J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1483431.
- [12] LIU H, XIONG Y, WANG H, et al. Effects of water extract from epimedium on neuropeptide signaling in an ovariectomized osteoporosis rat model [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 221: 126-136.
- [13] LIU W, XIANG S, WU Y, et al. Icariin promotes bone marrow mesenchymal stem cells osteogenic differentiation via the mTOR/autophagy pathway to improve ketogenic diet-associated osteoporosis [J]. J Orthop Surg Res, 2024, 19(1): 127.
- [14] 张晓, 杨帆, 徐又佳. 丹参水溶性成分对小鼠单核巨噬细胞的增殖、破骨细胞分化的影响及其机制[J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(2): 379-380.
- [15] JIA Q, ZHU R, TIAN Y, et al. *Salvia miltiorrhiza* in diabetes: a review of its pharmacology, phytochemistry, and safety[J]. Phytomedicine, 2019, 58: 152871.
- [16] YANG W, HAN J, GONG S, et al. Cryptotanshinone suppressed postmenopausal osteoporosis by preventing RANKL-mediated osteoclastogenesis against kidney injury[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 2821984.
- [17] LI T, CAI K, LIU X, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 positively regulates osteoblastic differentiation in MC3T3-E1 cells[J]. Minerva Med, 2023, 114(4): 491-499.
- [18] LI H, GAO C, LIU C, et al. A review of the biological activity and pharmacology of cryptotanshinone, an important active constituent in Danshen[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 137: 111332.
- [19] GUO X, MA R, WANG M, et al. Novel perspectives on the therapeutic role of cryptotanshinone in the management of stem cell behaviors for high-incidence diseases[J]. Front Pharmacol, 2022, 15, 13: 971444.
- [20] 康庐琛, 魏秋实, 李文斌, 等. 槲皮素调控 MAPK 通路对绝经后骨质疏松大鼠骨(下转第 1565 页)