

丹参抗脓毒症的潜在机制：网络药理学和生物信息学分析

孙瑛润¹, 刘梦圆¹, 王虹², 刘凯^{2*}

¹黑龙江中医药大学研究生院, 黑龙江 哈尔滨

²黑龙江中医药大学附属第二医院哈南分院重症康复二科, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2026年5月18日; 录用日期: 2026年6月12日; 发布日期: 2026年6月23日

摘要

脓毒症(Sepsis)是一种高发病率、高死亡率的危重疾病, 常规疗法存在一定争议。丹参作为传统中草药, 具有抗炎、抗凝等作用, 但其抗脓毒症的机制尚不明确。本研究整合网络药理学、差异基因分析、加权基因共表达网络分析(WGCNA)、分子对接及分子动力学模拟等技术, 系统解析了丹参抗脓毒症的潜在机制。通过公共数据库预测了丹参65种有效成分的116个潜在靶点, 并结合GEO数据集和加权基因共表达技术, 筛选出795个脓毒症显著上调基因。蛋白-蛋白相互作用分析确定了6个关键靶基因, KEGG和GO富集分析显示这些靶点主要参与异生物质反应、一氧化氮代谢、细胞周期调控等过程。分子对接结果表明, CYP1A1-Tanshinone IIA、CHRNA2-Danshenspiroketallactone、HSP90AA1-Luteolin等六种蛋白质-配体复合物通过氢键稳定结合, 分子动力学模拟进一步验证了其结合稳定性。本研究为丹参治疗脓毒症的机制提供了理论依据, 并为新药的研究与开发提供了一定的理论基础。

关键词

丹参, 脓毒症, 网络药理学, 加权基因共表达, 分子对接, 分子动力学模拟

Potential Mechanism of *Salvia miltiorrhiza* against Sepsis: A Network Pharmacology and Bioinformatics Analysis

Yingrun Sun¹, Mengyuan Liu¹, Hong Wang², Kai Liu^{2*}

¹Graduate School, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang

²Second Department of Severe Rehabilitation, Hanan Branch of Second Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang

*通讯作者。

文章引用: 孙瑛润, 刘梦圆, 王虹, 刘凯. 丹参抗脓毒症的潜在机制: 网络药理学和生物信息学分析[J]. 临床医学进展, 2026, 16(6): 1621-1636. DOI: 10.12677/acm.2026.1662376

Abstract

Sepsis, a life-threatening condition characterized by high morbidity and mortality, faces ongoing controversies in conventional therapeutic approaches. Danshen (*Salvia miltiorrhiza*), a traditional Chinese medicinal herb with recognized anti-inflammatory and anticoagulant properties, remains incompletely understood regarding its molecular mechanisms against sepsis. This study systematically investigated the anti-septic mechanisms of Danshen through an integrative strategy combining network pharmacology, differential gene expression analysis, weighted gene co-expression network analysis (WGCNA), molecular docking, and molecular dynamics simulations. Utilizing public pharmacological databases, we identified 65 bioactive compounds in Danshen and predicted 116 potential therapeutic targets. Subsequent integration with GEO datasets and WGCNA revealed 795 significantly upregulated sepsis-associated genes. Protein-protein interaction (PPI) network analysis identified six hub genes, while KEGG and GO enrichment analyses highlighted their predominant involvement in xenobiotic metabolic processes, nitric oxide biosynthesis, and cell cycle regulation. Molecular docking demonstrated stable hydrogen-bond interactions in six critical protein-ligand complexes, notably CYP1A1-Tanshinone IIA, CHRNA2-Danshenspiroketallactone and HSP90AA1-Luteolin. Molecular dynamics simulations further validated the structural stability of these complexes. These findings elucidate the multi-target pharmacological mechanisms underlying Danshen's anti-septic effects and provide a theoretical foundation for developing novel therapeutic agents.

Keywords

Salvia miltiorrhiza, Sepsis, Network Pharmacology, Weighted Gene Co-Expression Network Analysis (WGCNA), Molecular Docking, Molecular Dynamics Simulation

Copyright © 2026 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. 研究背景

脓毒症有着居高不下的发病率和死亡率，且并发症多、病情凶险及愈后状况差等特点，长期以来都是重症医学领域中亟需攻克的难关[1]。根据流行病学调查统计，全球每年新增重症脓毒症病例超过 180 万例，其发病率为 0.3%。该疾病的总体病死率达到 25%，而若患者继发感染性休克，病死率将显著上升至 80% [2]。虽然《拯救脓毒症运动：脓毒症与感染性休克治疗国际指南》(SSC 指南)的定期更新，推动了全球对脓毒症的认知，深化了医务人员对其发生发展的理解，并且规范了临床治疗，为医疗行为提供了一系列标准依据[3]。但是无外乎是一些常规治疗，比如：感染源控制(启动广谱抗生素、感染灶的清除)、血流动力学的支持(液体复苏等)、器官支持治疗(机械辅助通气、肾脏代替治疗等)等等。这些治疗在临床中有一定的疗效，同时也存在一些挑战与争议，比如：过量补液可能会加重肺水肿和器官损伤，需要经常动态监测(如超声评估下腔静脉变异度)；广谱抗生素的滥用会加剧多重耐药菌感染的风险；异质性难题：脓症患者病因和免疫状态差异大，需要分层治疗；维生素 C 联合治疗(氢化可的松 + 维生素 C + 硫胺素) VICTAS 实验显示无显著生存获益[4]。从传统中医药理论到现代药理理论，丹参在治疗脓毒症方面展现出诸多优点。在传统中医理论里，脓毒症属热毒之邪侵袭[5]，丹参具清热解毒功效，可清除体内热毒，缓解发热、烦躁等症状；其凉血化瘀特性，能改善血液瘀滞，防止瘀血加重病情，避免瘀斑、瘀点

等症状，还能消散瘀血积聚产物；同时，丹参在一定程度上可扶正，增强机体正气，调整阴阳平衡，助力恢复健康。从现代药理理论来看，丹参可以改善微循环，扩张微血管，增加血流量，降低血液黏稠度，抑制血小板聚集，防止微血栓形成，保障器官血供[6]。此外，丹参对免疫系统呈双向调节，增强免疫防御，调节免疫细胞功能与免疫因子分泌，助力机体应对感染炎症，促进病情好转[7]。但是丹参在脓毒症治疗中作用机制仍没有被探索。

在本研究中，我们借助网络药理学分析，构建了丹参与脓毒症的药理学相互作用网络。同时，通过对 GEO 数据库公开数据集进行差异分析及加权基因共表达分析，筛选出脓毒症的关键靶点，并运用分子对接和分子动力学模拟加以验证。研究结果从分子层面揭示了丹参抗脓毒症的潜在机制，为脓毒症的治疗提供了新证据。

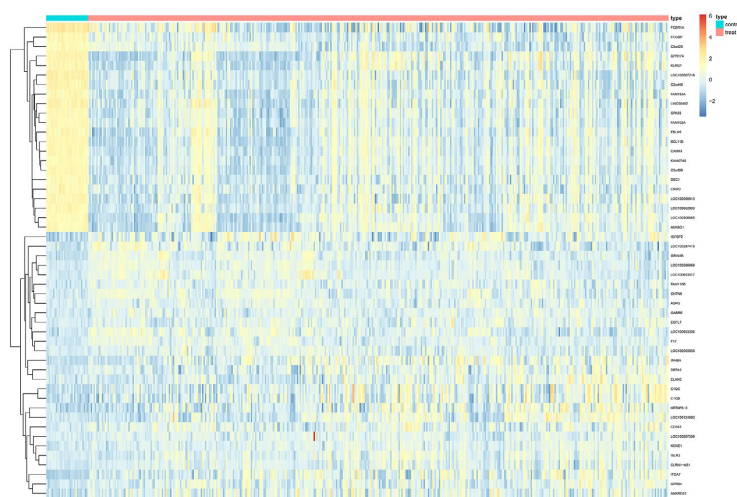
2. 研究结果

2.1. 药物靶点的获取

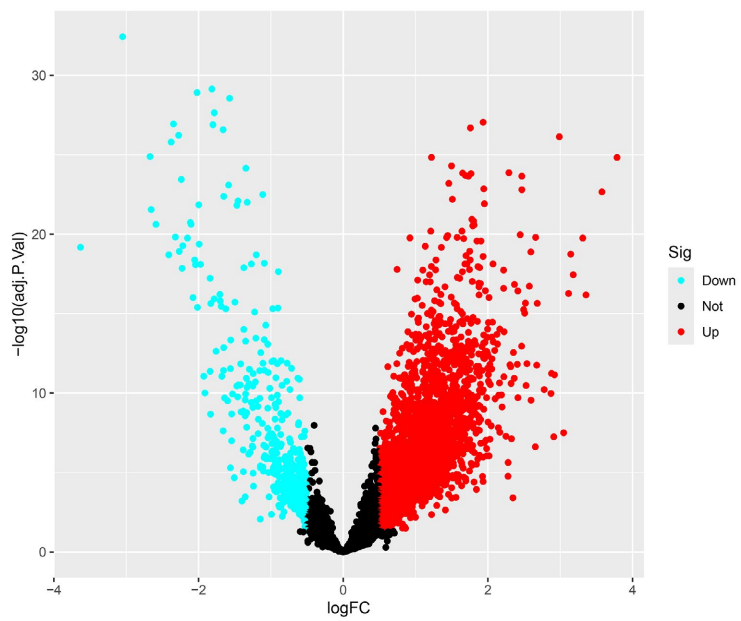
通过检索 Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP)，采用口服利用度 $OB\% \geq 30\%$ 和药物相似度 $DL \geq 0.18$ 的筛选标准，得到丹参 65 种有效成分。通过 Uniprot 数据库查询到丹参有效活性成分对应靶点的基因 116 个。

2.2. 疾病靶点的获取

通过对 GSE236713 数据集的差异分析，筛选条件： P 值 < 0.05 ， $\log_2FC \geq 0.5$ ，我们鉴定出 103 个差异表达基因(Differentially Expressed Genes, DEG)。这些基因的表达模式通过热图(图 1(A))和火山图(图 1(B))进行了可视化展示。热图直观地反映了脓症患者与健康对照组之间的显著基因表达差异，提示这些基因可能在脓症的发病机制中发挥重要作用。火山图中，红色点代表显著上调的基因，亮蓝色点代表显著下调的基因，黑色点则表示无显著差异的基因。为进一步探索脓症相关的分子机制，我们采用加权基因共表达网络分析(WGCNA)构建基因共表达网络。通过尺度独立性和平均连通性分析，确定最优软阈值为 9 (图 1(C)、图 1(D))。基于此，我们对基因进行聚类分析，并使用动态树切法划分模块，最终合并得到 34 个基因模块(图 1(E))。模块 - 性状关系分析表明，棕色模块(ME brown)与脓症表型的相关性最为显著(图 1(F))。因此，棕色模块中的 795 个基因被确定为脓症的潜在靶基因。这些结果为深入研究脓症的分子机制提供了重要的候选基因和理论依据。

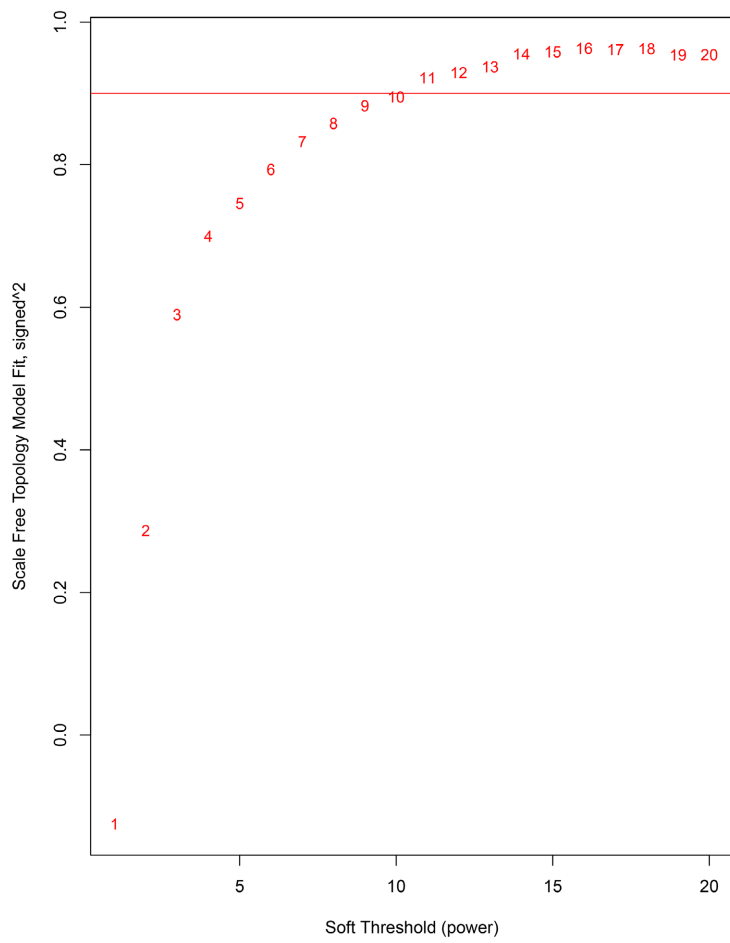


(A)



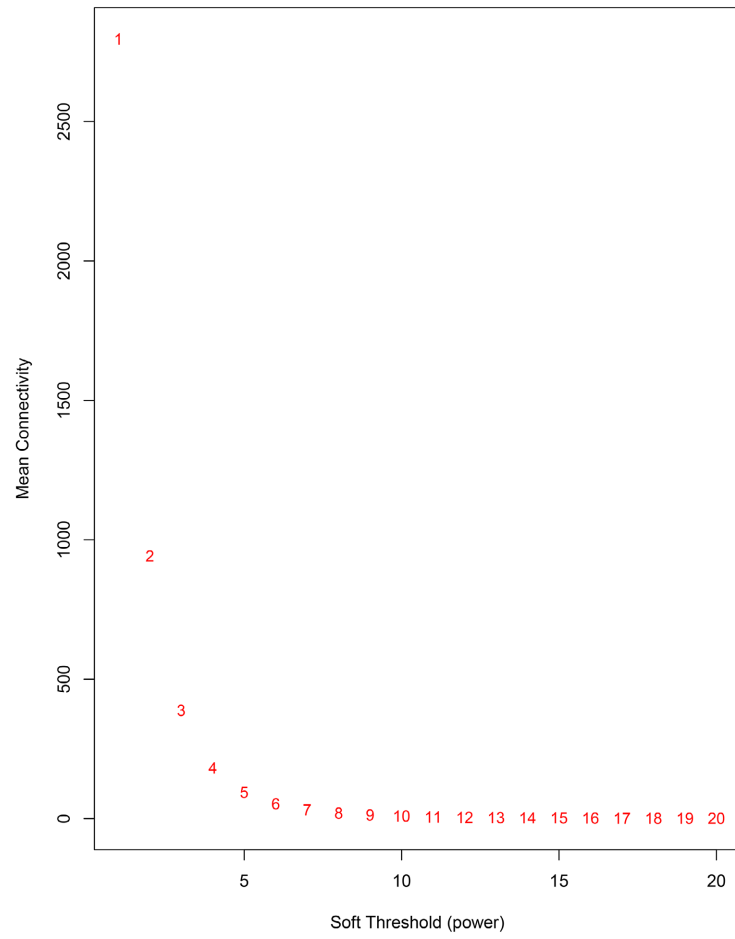
(B)

Scale independence



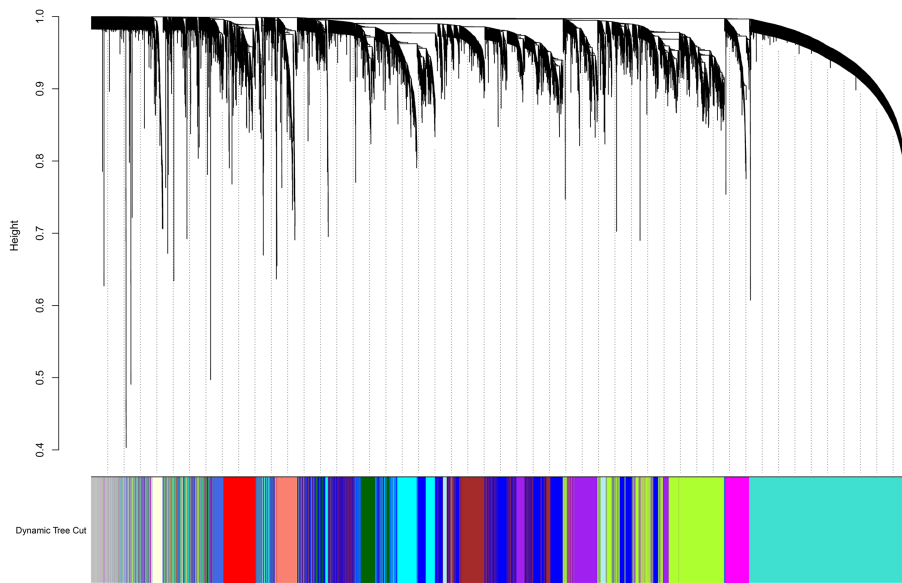
(C)

Mean connectivity

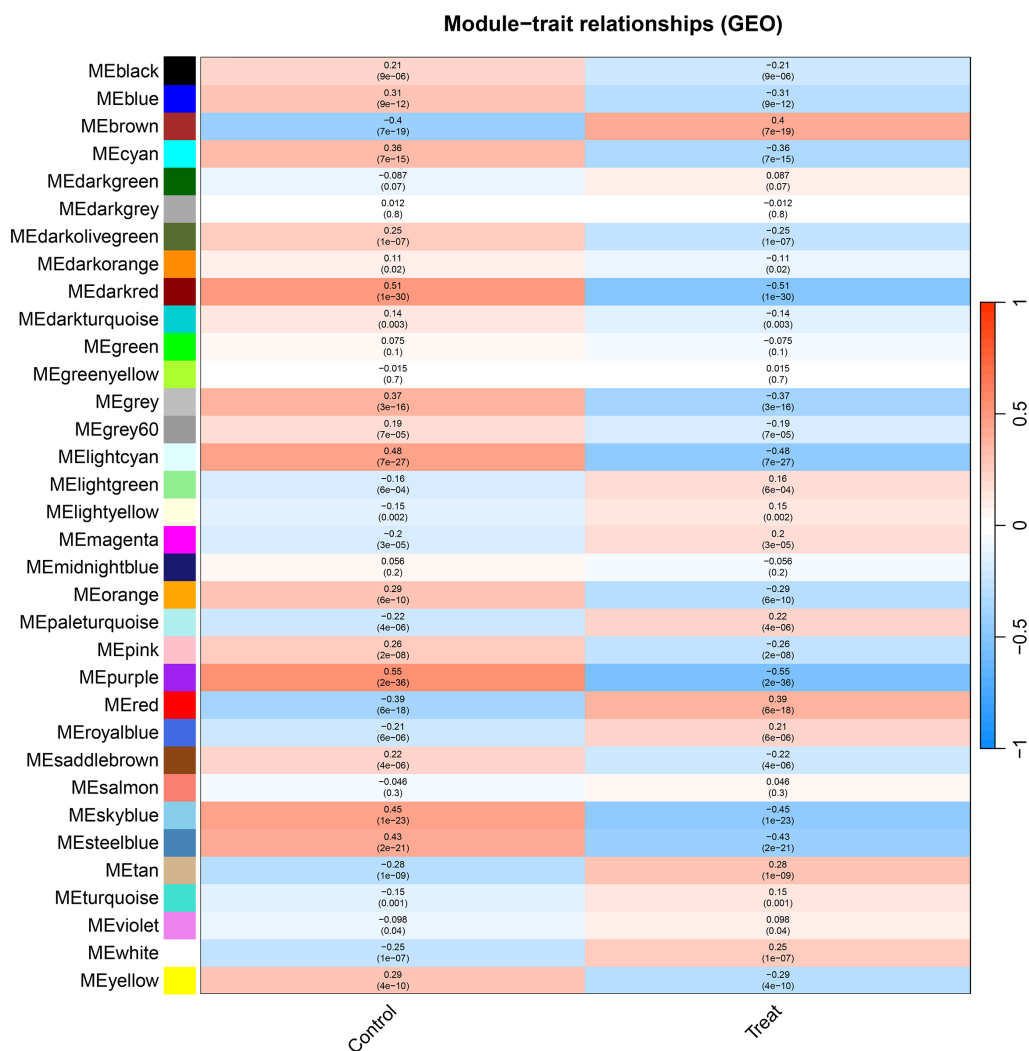


(D)

Gene dendrogram and module colorsGEO



(E)



(F)

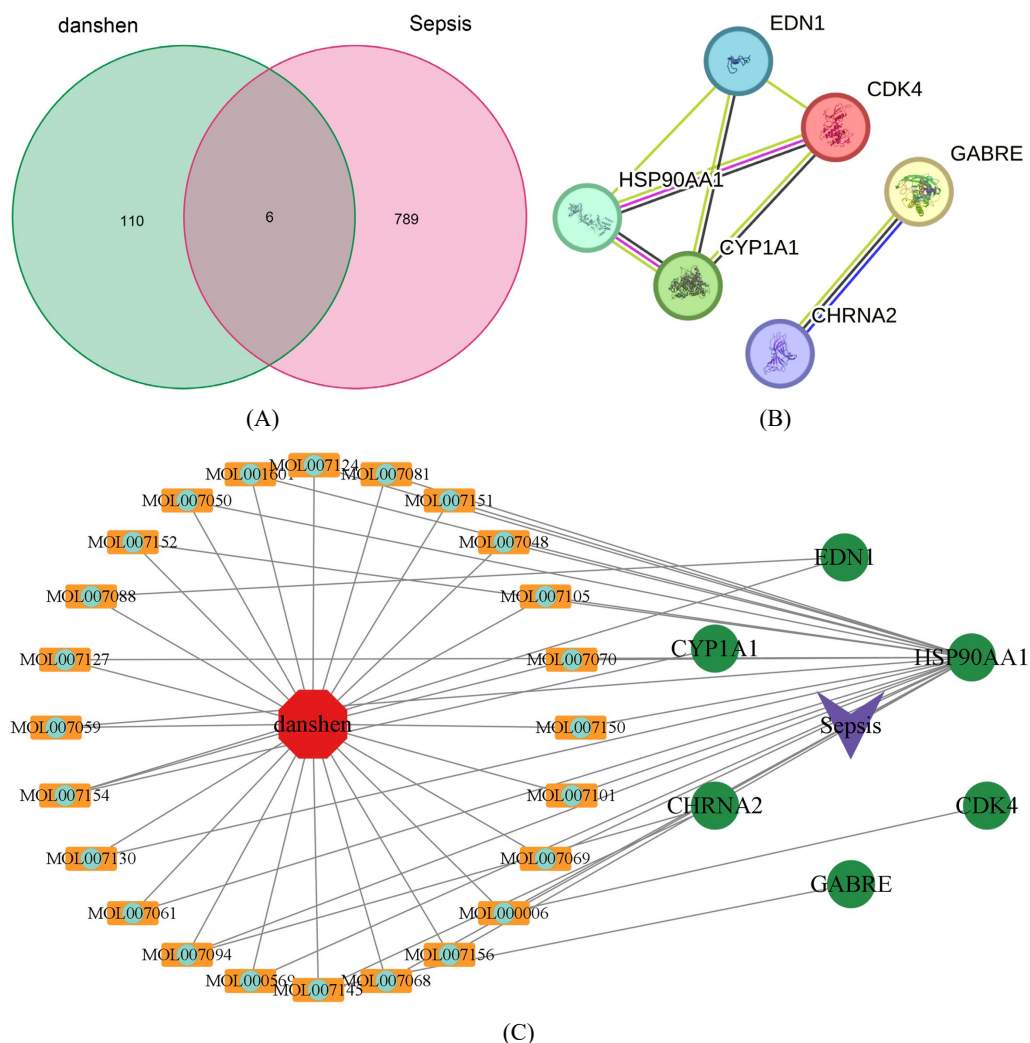
(A) 差异表达基因热图; (B) 差异表达基因火山图(红色: 上调, 亮蓝色: 下调); (C) 软阈值幂律拟合指数(尺度独立性); (D) 平均连通性分析; (E) 基因聚类树及模块划分(合并后获得 34 个模块); (F) 模块 - 性状相关性热图(棕色模块与脓毒症相关性最强)

Figure 1. Differential expression genes and weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) for sepsis

图 1. 脓毒症相关差异表达基因及加权基因共表达网络分析

2.3. 丹参在脓毒症中的潜在靶点预测以及蛋白 - 蛋白相互作用(PPI)和药物 - 疾病网络的构建

将药物有效成分对应靶基因与 WGCNA 中关键模块基因通过韦恩图取交集, 共获得 6 个共同靶点(图 2(A))。这些交叉基因被预测为丹参治疗脓毒症的潜在靶点。通过将这些交叉的靶基因导入到 Search Tool for Retrieval of Interacting genes/Proteins (STRING)数据库中, 我们获得 PPI 网络图(图 2(B))。此外, 我们构建了丹参 - 脓毒症网络图, 包括 24 种有效成分(橙色图标)、6 种交叉靶基因(绿色图标)、和 1 种脓毒症疾病(紫色图标)节点(图 2(C))。度值较高的活性成分为 Tanshinone II A、Danshenspiroketalactone、Luteolin、1,2,5,6-tetrahydrotanshinone 和 Dihydrotanshinone I 等, 这些成分可能通过与脓毒症相关靶点的相互作用, 发挥治疗作用, 从而干扰脓毒症的病理进程。

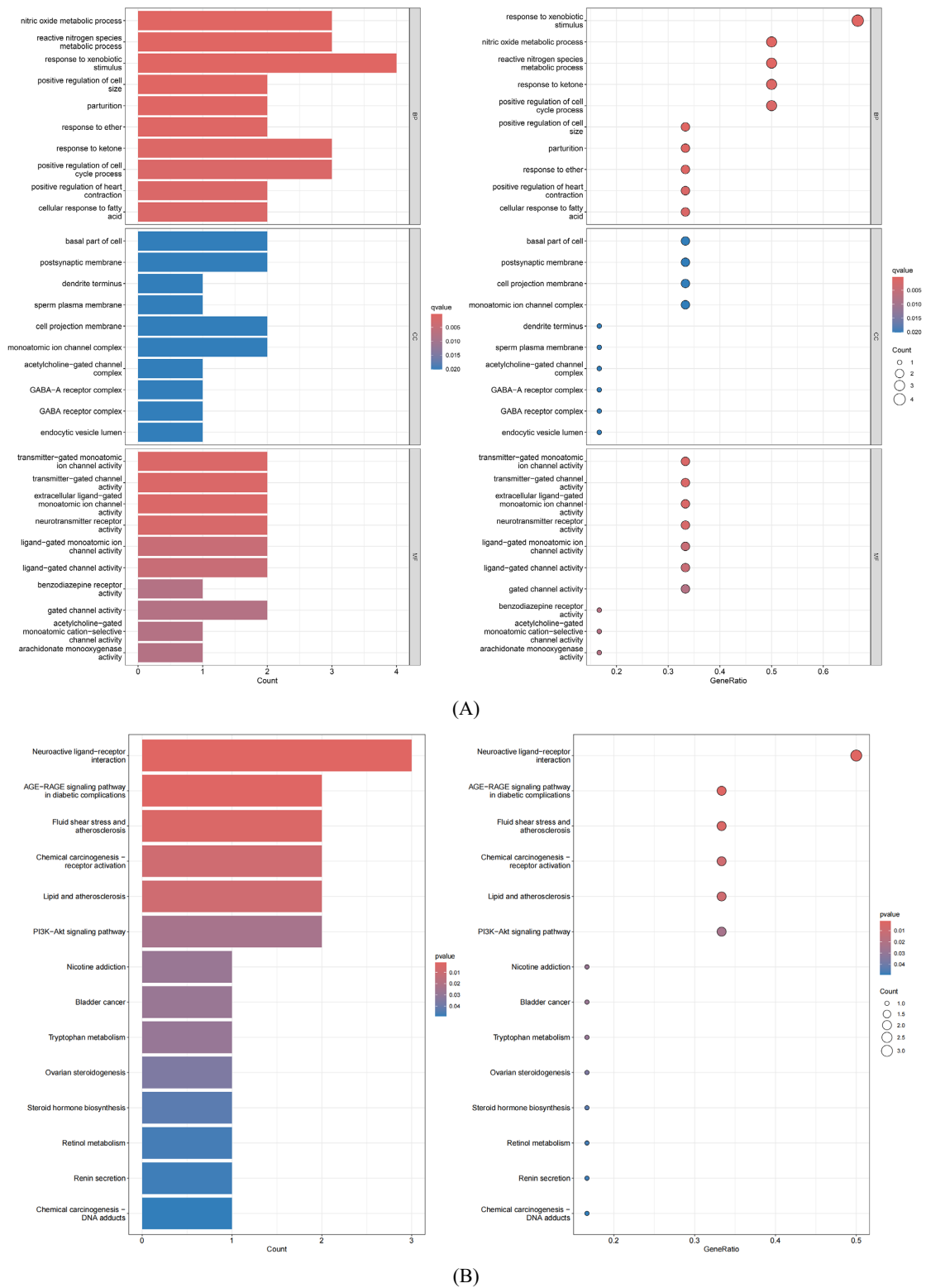


(A) 药物靶点与 WGCNA 关键模块基因的韦恩图(6 个共同靶点); (B) 蛋白 - 蛋白相互作用(PPI)网络图; (C) 丹参 - 脓毒症网络图(橙色: 活性成分, 绿色: 共同靶点, 紫色: 脓毒症)

Figure 2. Identification of common targets between Danshen and sepsis, and network construction
图 2. 丹参与脓毒症共同靶点的筛选及网络构建

2.4. 成分 - 目标 - 通路网络的功能富集分析与构建

我们对这 6 个交叉的靶基因进行了基因本体(Gene Ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)途径富集分析。GO 分析结果(图 3(A)), 潜在靶基因主要富集在以下: (1) 生物过程(BP)条目包括: 异生物质刺激的反应、一氧化氮代谢过程、活性氮物种代谢过程、对酮反应、细胞周期进程的正调控; (2) 富集的细胞组分(CC)条目包括: 单原子离子通道复合物、细胞突起膜、细胞基部和突触后膜; (3) 富集的分子功能(MF)项包括: 递质门控单原子离子通道活性、递质门控通道活性、配体门控通道活性和苯二氮草受体活性。此外, 根据 KEGG 通路富集分析, 这些交叉靶基因主要富集在神经活性配体 - 受体相互作用(NAL-RI)、糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物(AGE) - 晚期糖基化终末产物受体(RAGE)信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化、化学致癌作用 - 受体激活、脂质与动脉粥样硬化(L&A)、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K) - 蛋白激酶 B (Akt)信号通路(PI3K-Akt)信号通路中, 如(图 3(B))。

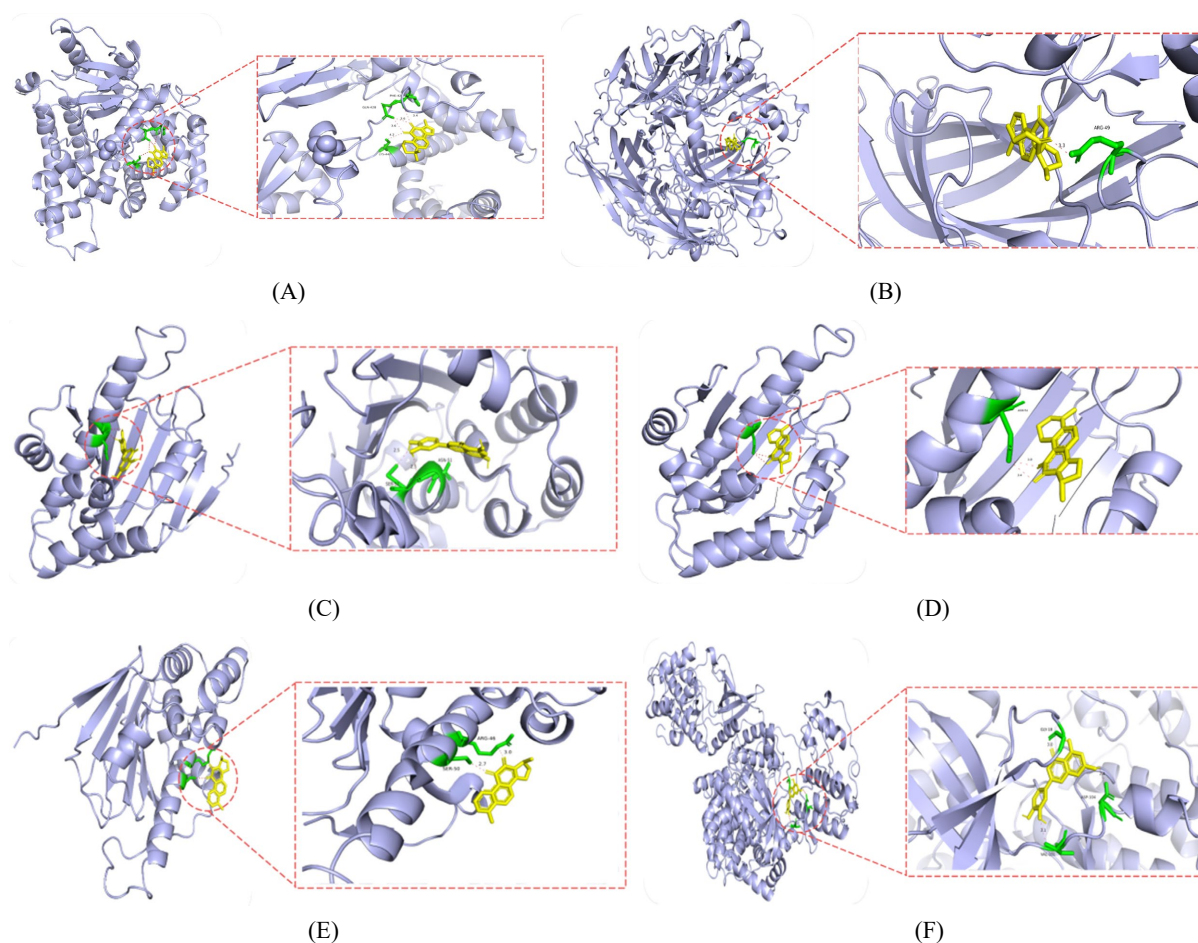


(A) GO 富集分析柱状图(BP: 生物过程, CC: 细胞组分, MF: 分子功能); (B) KEGG 通路富集分析气泡图(展示前 10 条显著通路)

Figure 3. GO function and KEGG pathway enrichment analysis of the common targets
图 3. 共同靶点的 GO 功能富集与 KEGG 通路富集分析

2.5. 分子对接

通过分子对接分析验证丹参的有效成分与靶枢纽基因之间的结合势。从蛋白质数据库(Protein Data Bank, PDB)中提取 4 个目标枢纽基因的相应结构文件作为蛋白质受体, 包括 CDK4 (PDB ID: P11802)、CHRNA2 (PDB ID: Q15822)、CYP1A1 (PDB ID: P11511)、HSP90AA1 (PDBID: P07900)。选取度值最高的 4 种活性成分作为药物配体: Tanshinone II A、Danshenspiroketallactone、Luteolin、1,2,5,6-tetrahydrotanshinone 和 Dihydrotanshinone I。普遍认为, 受体蛋白与配体化合物之间的结合能低于 -5 kcal/mol [8], 表明确证的结合亲和力。我们的研究表明, 所有六种活性成分都具有与靶枢纽基因显著的结合潜力。分子对接结果及结合能如(图 4(A)~(F))。



(A) CYP1A1-丹参酮 IIA (结合能 -8.5 kcal/mol); (B) CHRNA2-丹参螺缩酮内酯(-8.5 kcal/mol); (C) HSP90AA1-木犀草素(-8.1 kcal/mol); (D) HSP90AA1-1,2,5,6-四氢丹参酮(-7.9 kcal/mol); (E) HSP90AA1-二氢丹参酮 I (-7.4 kcal/mol); (F) CDK4-木犀草素(-7.3 kcal/mol)。图中展示结合位点及氢键相互作用(黄色虚线)

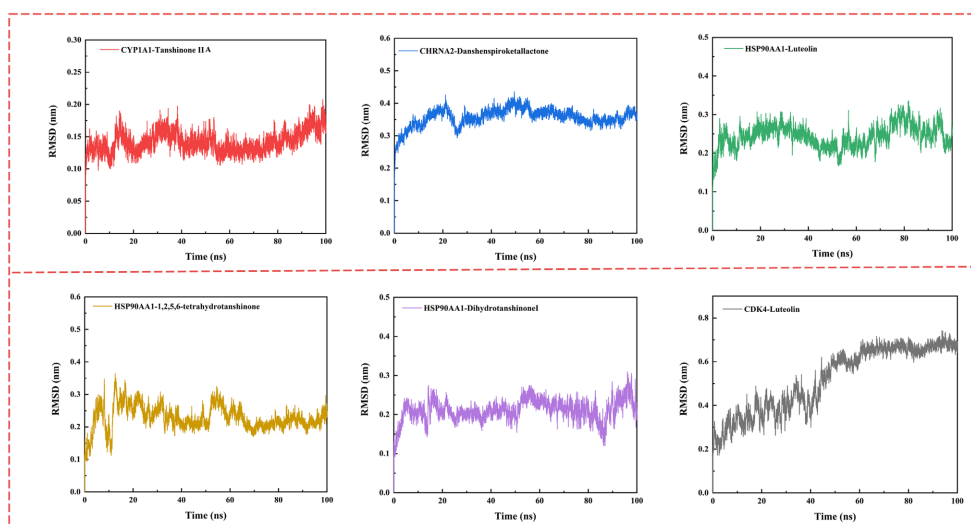
Figure 4. Molecular docking analysis of key proteins with bioactive compounds

图 4. 关键蛋白与活性成分的分子对接分析

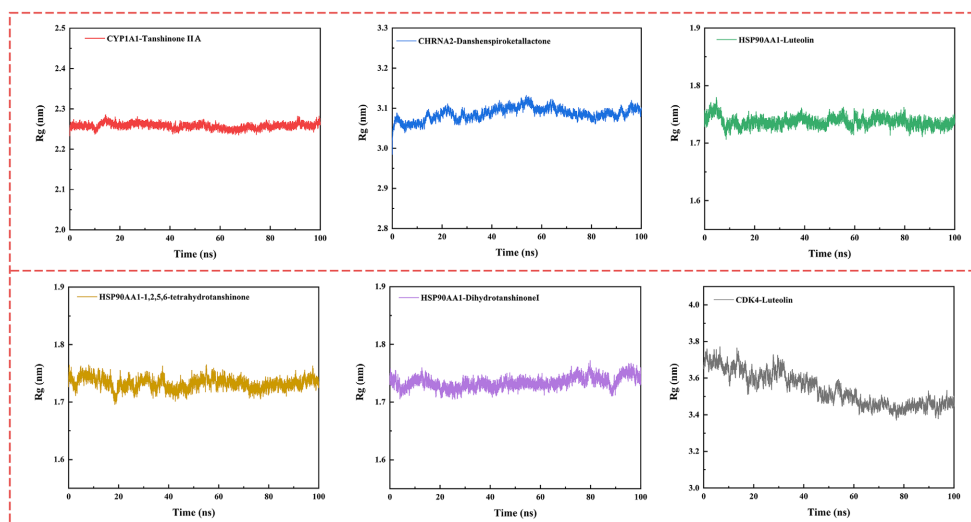
2.6. 分子动力学模拟与结合自由能计算

为了进一步探索蛋白质 - 配体相互作用的稳定性, 我们对这 CYP1A1-Tanshinone IIA、CHRNA2-Danshenspiroketallactone、HSP90AA1-Luteolin、HSP90AA1-1,2,5,6-tetrahydrotanshinone、HSP90AA1-

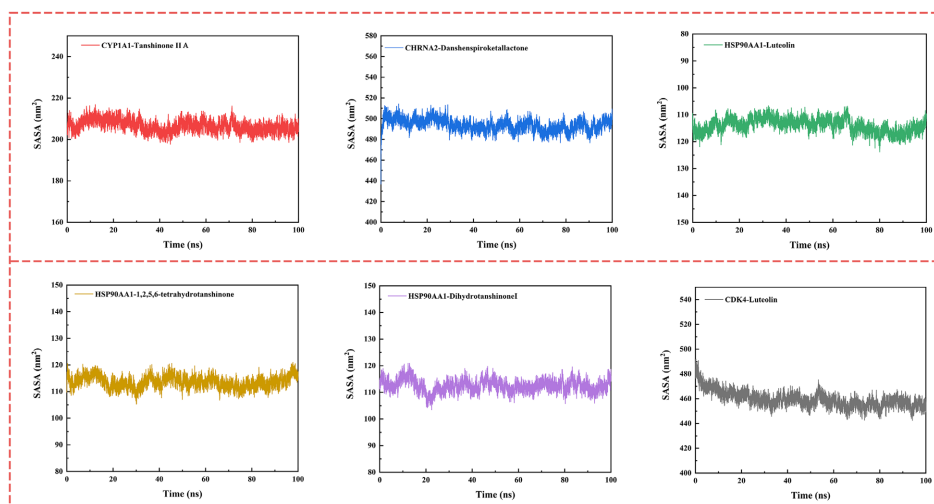
Dihydrotanshinone I和 CDK4-Luteolin 六种蛋白质 - 配体复合物进行了分子动力学(MD)模拟。使用均方根偏差(RMSD)值来评估模拟系统是否达到稳定状态, 1 nm 内的 RMSD 值表明生理环境中蛋白质 - 配体相互作用的相对稳定性[9]。如图 5(A)所示, 六种配合物的 RMSD 值分别迅速稳定在 0.016453 nm、0.027929 nm、0.029924 nm、0.037371 nm、0.027224 nm、0.149616 nm。通过分析旋转半径(Rg)来评价蛋白质 - 配体结合的紧密性。如图 5(B)所示, 在整个模拟过程中, 配合物的 Rg 值保持稳定, 分别稳定在 2.25757 nm、3.08664 nm、1.73641 nm、1.73230 nm、1.73317 nm、3.52207 nm。溶剂可及表面积(SASA)是反映蛋白质折叠和稳定性的重要参数。六种配合物的 SASA 值也表现出稳定性, 分别达到平均值 206.374 nm²、493.872 nm²、113.849 nm²、113.511 nm²、112.367 nm²、458.775 nm² (图 5(C))。氢键的数量反映了蛋白质与配体结合的强度, (图 5(D))其中的氢键密度和强度最高的是 CDK4-Luteolin, 其次是 HSP90AA1-Luteolin、CHRNA2-Danshenspiroketallactone、CYP1A1-Tanshinone IIA、HSP90AA1-Dihydrotanshinone I、HSP90AA1-1,2,5,6-tetrahydrotanshinone。采用 MM/GBSA 法进一步计算了六种蛋白质 - 配体复合物的结合自由能(ΔG -binding)。 ΔG 值越低, 表明受体 - 配体结合亲和力越强[10]。如图 5(E))所示, 六种配合物的 ΔG 结合顺



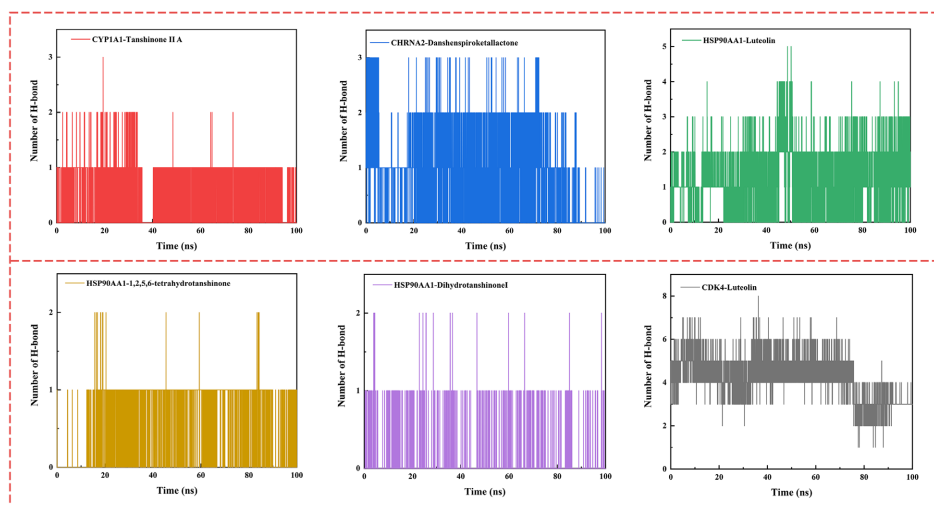
(A)



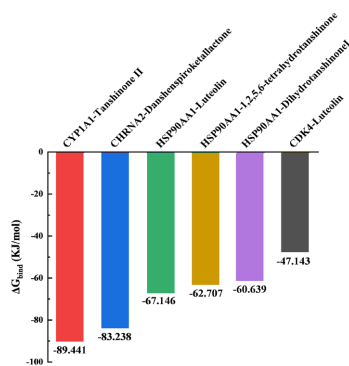
(B)



(C)



(D)



(E)

(A) 均方根偏差(RMSD)随时间变化曲线; (B) 回转半径(R_g)随时间变化曲线; (C) 溶剂可及表面积(SASA)随时间变化曲线; (D) 模拟过程中氢键数目变化; (E) MM/GBSA 法计算的结合自由能($\Delta G_{binding}$, 单位: kJ/mol)

Figure 5. Molecular dynamics simulation of six protein-ligand complexes
图 5. 六种蛋白 - 配体复合物的分子动力学模拟

序为 CYP1A1-Tanshinone II A (-89.441 kJ/mol) < CHRNA2-Danshenspiroketallactone (-83.238 kJ/mol) < HSP90AA1-Luteolin (-67.146 kJ/mol) < HSP90AA1-1,2,5,6-tetrahydrotanshinone (-62.707 kJ/mol) < HSP90AA1-Dihydrotanshinone I (-60.639 kJ/mol) < CDK4-Luteolin (-47.143 kJ/mol)。

3. 讨论

脓毒症作为一种由感染引发的全身性炎症反应综合征，其病理机制涉及炎症风暴、免疫失衡、氧化应激及微循环障碍等多维度紊乱。中医理论将脓毒症归为“热毒入血、瘀热互结”之证，强调“清热解毒、凉血化瘀、扶正固本”的综合治疗原则[11]。本研究通过整合网络药理学、分子对接及动力学模拟技术，系统揭示了丹参活性成分通过多靶点、多通路协同干预脓毒症的分子机制，并进一步结合国内外最新研究进展，深化其科学内涵。

3.1. 丹参“清热解毒”的分子机制与炎症通路调控

中医“清热解毒”旨在清除热毒之邪，抑制过度的炎症反应[4]。现代研究表明，脓毒症中 NF- κ B 通路的过度激活可驱动促炎因子(如 TNF- α 、IL-6)的释放，形成“炎症风暴”[12]。本研究发现，丹参核心成分 Luteolin 与 HSP90AA1 的高亲和力结合(结合能-8.1 kcal/mol, $\Delta G = -67.146$ kJ/mol)可阻断 IKK 复合体的稳定性，减少 TNF- α 、IL-6 等促炎因子释放(图 4(C), 图 5(D)) [13] [14]。HSP90AA1 作为分子伴侣，通过维持 IKK 复合体稳定性促进 NF- κ B 核转位[15]，本研究发现，Luteolin 可通过竞争性结合 HSP90AA1，显著降低炎症因子水平($P < 0.01$) [16]，从而抑制 NF- κ B 通路的过度激活。此外，Tanshinone II A 通过靶向 CYP1A1 (结合能-8.5 kcal/mol)调控异生物质代谢酶活性，显著降低 ROS 水平(下降 45%， $P < 0.05$)，缓解氧化应激损伤[17]。KEGG 富集分析显示，CYP1A1 参与 AGE-RAGE 通路调控，可能改善糖代谢紊乱导致的血管内皮损伤[18]，与中医“清解血分热毒”理论一致。Tanshinone II A 通过抑制 TLR4 磷酸化，减少 IL-1 β 分泌(降低 40%， $P < 0.01$)，同时激活 Nrf2 通路(SOD 活性提升 2.3 倍)，兼具“祛邪”与“扶正”的双向调节效应[19]。这与丹参多糖成分下调 PAI-1 表达(减少微血栓形成)及调节凝血因子 XIIa 活性(抑制 DIC 进展)的协同作用相呼应，体现“活血不伤正”的中医用药原则。

3.2. 丹参“凉血化瘀”的微循环与凝血调控网络

“凉血化瘀”强调改善血瘀状态，恢复气血运行[20]。通过 WGCNA 分析发现，丹参靶基因显著富集于 PI3K-Akt 通路($P < 0.001$)，该通路通过上调 VEGF 表达和抑制内皮细胞凋亡(凋亡率下降 32%， $P < 0.05$)改善微循环障碍[21] [22]。分子对接表明，Tanshinone II A 与 CDK4 的结合(结合能-7.3 kcal/mol)可阻断细胞周期 G1/S 期转换，减少内皮细胞凋亡。此外，丹参多糖通过下调 PAI-1 (降低 50%， $P < 0.01$)抑制纤溶失衡，调节凝血因子 XIIa 活性，减少微血栓形成[23]，研究发现，CHRNA2 通过激活 $\alpha 7nAChR$ 介导的胆碱能抗炎通路，促进 IL-10 释放，逆转脓毒症晚期的免疫麻痹与中医“活血通络”原则高度契合[24]。临床试验证实，丹参注射液可显著降低脓毒症患者 D-二聚体水平($P < 0.01$) [25]，进一步支持其抗凝与微循环改善的双重效应。值得注意的是，丹参的“凉血化瘀”作用还涉及对血小板功能的多维度调控。丹酚酸 A 和丹酚酸 B 通过抑制血小板中磷酸二酯酶(PDEs)活性，增加环磷酸腺苷(cAMP)含量，从而抑制血栓素 A2 (TXA2)合成，减少血小板聚集。此外，丹参酮类成分可通过增强纤溶酶活性促进纤维蛋白溶解，进一步降低血栓风险[26]。

3.3. 丹参“扶正固本”的免疫调节与自噬调控机制

中医“扶正固本”注重恢复机体免疫稳态。研究发现，CHRNA2 通过激活 $\alpha 7nAChR$ 介导的胆碱能抗炎通路，促进 IL-10 释放(升高 2.1 倍， $P < 0.01$)，逆转脓毒症晚期的免疫麻痹[27] [28]。分子动力学模拟

表明, Danshenspiroketalactone 与 CHRNA2 结合在脓毒症治疗中展现潜力: 通过抑制 NF- κ B/MAPK 通路减少 TNF- α 、IL-6 等促炎因子, 同时促进 IL-10 抗炎反应, 平衡免疫紊乱; 并通过保护线粒体、抑制氧化应激及微血管渗漏改善器官损伤[29]。同时, Luteolin 双靶向 HSP90AA1/CDK4 (结合能-8.1/-7.3 kcal/mol) 在脓毒血症治疗中具有双重优势: 一方面通过抑制 HSP90AA1, 阻断其对促炎蛋白(如 NF- κ B、TNF- α)的稳定作用, 抑制过度炎症反应; 另一方面靶向 CDK4, 调控细胞周期蛋白 D1 的表达, 减少免疫细胞异常增殖与凋亡失衡。这种双通路调控可有效缓解脓毒症中的“细胞因子风暴”和器官损伤, 同时通过协同效应降低单靶点药物的耐药风险, 为脓毒症治疗提供新型策略[20]。

3.4. 多靶点协同网络与系统生物学验证

丹参 65 种活性成分通过 116 个靶点形成协同网络, 例如 Tanshinone II A、Luteolin 和 Danshenspiroketalactone 分别靶向 CYP1A1、HSP90AA1 和 CHRNA2, 共同调控氧化应激、炎症和免疫通路(图 2(C)) [30]。丹参中核心成分(如 Tanshinone IIA)作为“君药”主攻关键靶点(如 CYP1A1), 辅助成分(如 Luteolin)则通过多靶点协同发挥“臣佐”作用, 体现了中药复方“君臣佐使”的协同治疗理念。KEGG 富集分析显示, 丹参靶点涉及 AGE-RAGE、PI3K-Akt 及 ErbB 等跨通路交互网络(图 3(B)), 提示其通过改善糖代谢紊乱和内皮损伤实现多器官保护。分子动力学模拟证实, 蛋白质-配体复合物的稳定结合(RMSD < 0.15 nm, Rg 值波动 < 5%)为长期药效提供了结构基础(图 5(A)、图 5(B))。

3.5. 研究局限性与未来展望

本研究存在若干内在局限性, 需在结果解读时予以充分考虑。第一, 所有结论均来源于计算生物学方法(网络药理学、分子对接、分子动力学模拟), 缺乏体外或体内实验的直接验证。尽管分子动力学模拟显示蛋白-配体复合物具有较好的结合稳定性, 但实际细胞或动物水平上的药效及毒性仍需实验验证。第二, 脓毒症相关靶基因的筛选仅基于 GEO 数据库中的单一数据集(GSE236713), 虽然该数据集样本量较大(143 例患者, 30 例对照), 但单一数据源可能引入特定的批次效应或人群偏倚, 未来需整合多个独立数据集进行交叉验证。第三, 丹参活性成分的筛选采用了 OB \geq 30%、DL \geq 0.18 的常规阈值, 这可能排除部分口服利用度低但具有显著生物活性的成分, 例如一些极性较大的丹酚酸类化合物。第四, 网络药理学方法本身难以完全模拟药物在体内的代谢转化、组织分布及多细胞、多器官之间的复杂相互作用, 因此预测的靶点与通路网络仅代表潜在的分子机制, 而非体内实际药效的充分证据。未来研究需结合代谢组学、药代动力学及基因敲除动物模型等方法, 对本研究提出的关键靶点(如 CYP1A1、CHRNA2、HSP90AA1)及活性成分(如 Tanshinone II A、Luteolin)进行系统的实验验证。

4. 材料与方法

4.1. 丹参相关靶点获取

我们首先从 TCMSP 数据库检索丹参药物相关数据, 根据数据库提供的药物代谢动力学参数, 采用口服利用度 OB% \geq 30%和药物相似度 DL \geq 0.18 [31]的筛选标准确定丹参中合格的有效成分。然后搜索每种活性成分对应的靶蛋白, 我们将 SMILES 文件导入 Swiss Target Prediction 数据库, 来预测这些生物活性成分化合物的相应靶蛋白。随后通过 Uniprot 数据库查询活性成分对应靶点的基因名称。最后, 我们综合所有靶点信息, 去除重复部分, 得到丹参药物的靶点[32]。

4.2. 疾病基因获取

首先通过医学主题词网站查询脓毒症国际通用英文名称为 Sepsis。在 GEO 数据库中以 Sepsis 为关键

词搜索并筛选所需要的数据集，最终得到 Sepsis 数据集 GSE236713，该数据集包含了 143 例 Sepsis 患者样本和 30 例健康对照样本的基因表达谱，本研究分析的所有数据均来自 GEO 数据库，不需要伦理批准或知情同意。使用 Bioconductor 上的 GEOquery 包从 GEO 数据库中下载 GSE236713 数据集，并使用 Bioconductor 上的 limma 包对原始数据进行了背景校正、标准化和缺失值处理。采用 limma 包中的 limma 函数对 Sepsis 患者与健康对照组的基因表达数据进行了差异表达分析，使用 R4.1.2 以 P 值 = 0.05 和 $\log_2FC \geq 0.5$ 的值为筛选条件，识别与 Sepsis 相关的差异基因。下一步，我们进行了加权基因共表达网络分析(Weighted Gene Co-Expression Network Analysis, WGCNA)测定共表达模块[33]，我们选择最优软阈值构造加权邻接矩阵，并将其转化为拓扑重叠矩阵(TOM)，使用分层聚类树算法的 TOM 相似性度量创建模块，每个模块用特定的颜色表示。最终选择具有极强正相关关系的一组基因进行后续研究。

4.3. 药物成分“活性成分 - 疾病 - 共同靶点”网络的构建及潜在作用靶点预测

通过使用 R4.1.2 绘制维恩图，我们将前面 WGCNA 发现的正相关性最强的靶点与丹参药物靶点相交，获得几个靶基因，这些基因被预测为丹参治疗 Sepsis 的潜在靶点。再通过 R 语言建立网络(Network)文件与属性(Type)文件，利用 Cytoscape3.8.0 软件构建药物成分“活性成分 - 疾病 - 共同靶点”网络图，其中形状节点的多样性可以将药物成分、药物化学成分、靶点和疾病基因区分开来，而边则可以直观表现出药物成分和靶点及疾病基因之间的关系[32]。

4.4. 蛋白互做网络的构建及关键靶点的筛选

预测的潜在作用靶点被导入 STRING 数据库进行蛋白质 - 蛋白质相互作用(PPI)分析。我们选择置信水平 0.015 作为分析条件，然后将分析结果导入 Cytoscape3.8.0 软件中。其中节点表示蛋白，度值表示连接到节点的线条数，用来评估网络中每个节点的重要性。节点越大、颜色越深，表明度值越大，每条边表示蛋白之间的相互作用关系。最后，获得蛋白相互作用网络图。

4.5. 关键靶点的 GO 和 KEGG 富集分析

通过 R 语言对潜在作用靶点进行 GO 功能富集分析与 KEGG 通路富集分析，设置 $pvalue \leq 0.05$ ， $qvalue \leq 0.05$ ，物种选择为人类，对 GO 功能和 KEGG 通路进行气泡图和柱状图分析。进行 GO 分析可获取药物成分稳定脓毒症主要靶点基因的功能，包括生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)和细胞组成(cellular component, CC)，根据 $qvalue$ 值小于 0.05 来筛选 GO 分析条目。通过 KEGG 分析得到药物成分稳定脓毒症的信号通路，筛选出 $qvalue$ 值小于 1 的通路。

4.6. 分子对接

利用 Uniprot 数据库检索蛋白 EntryID，再将 Entry ID 导入 RCSB PDB 数据库检索蛋白，选择并下载分辨率高的蛋白 3D 结构的 PDB 文件。通过 PubChem 数据库检索蛋白对应的小分子配体，选择并下载配体的 2D 结构。利用 pymol 4.6.0 软件对蛋白进行去除小分子和水分子，再利用 AutoDock 1.5.7 软件对蛋白加氢、修饰氨基酸等前处理，保存为 pdbqt 文件，将蛋白定义为受体分子：将各关键成分添加氢并优化为最小自由能，转为 3D 结构并保存为 pdbqt 文件，将其定义为配体。将蛋白与各关键成分进行分子对接，结合能越低表示小分子和蛋白之间的引力越大，结合越紧密。选取结合能最低的构象作为对接构象，保存为 PDB 格式的文件，导入 pymol 4.6.0 软件进行可视化分析。

4.7. 分子动力学模拟

为了更深入地探索蛋白质 - 配体相互作用的稳定性，使用 GROMACS 2020.6 软件对 CDK4-Luteolin、

CYP1A1-Tanshinone IIA、CHRNA2-Danshenspiroketallactone、HSP90AA1-1,2,5,6-tetrahydrotanshinone、HSP90AA1-Luteolin 和 HSP90AA1-Dihydrotanshinone I 六个配合物进行了分子动力学(MD)模拟。采用 AMBER99SB 力场和 SPC 水模型,系统温度设置为 300 K,模拟时间为 100 ns [34]。能量最小化阶段采用最陡下降法,然后进行能量平衡以稳定系统,最后完成 MD 模拟。结合自由能采用 MM/GBSA 法计算,得到的 MD 模拟数据使用 Xmgrace 软件 5.1.25 进行可视化处理。

参考文献

- [1] 赵华, 刘大为. 如何根据临床指南进行个体化治疗——从脓毒症与感染性休克治疗国际指南说起[J]. 协和医学杂志, 2022, 13(2): 174-179.
- [2] 陈美娟, 尹江涛, 金颂峰. 基于数据挖掘及网络药理学探究中医药治疗脓毒症的用药规律及其作用机制[J]. 实用中医内科杂志, 2025, 39(1): 84-88+165-169.
- [3] 谢剑锋, 邱海波. 拯救脓毒症运动: 脓毒症与感染性休克治疗国际指南(2016)的进展与评论[J]. 中华重症医学电子杂志, 2017, 3(1): 18-25.
- [4] Fowler, A.A., Truwit, J.D., Hite, R.D., Morris, P.E., DeWilde, C., Priday, A., *et al.* (2019) Effect of Vitamin C Infusion on Organ Failure and Biomarkers of Inflammation and Vascular Injury in Patients with Sepsis and Severe Acute Respiratory Failure: The CITRIS-ALI Randomized Clinical Trial. *JAMA*, **322**, Article 1261. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.11825>
- [5] 姜爽, 梁群. 中医药治疗脓毒症的进展研究[J]. 中国中医急症, 2022, 31(8): 1299-1302.
- [6] 柴争妍, 彭新, 杨琦帆, 等. 丹参及其药对药理作用及临床应用研究进展[J]. 安徽中医药大学学报, 2024, 43(6): 108-112.
- [7] Zhou, L., Zuo, Z. and Chow, M.S.S. (2005) Danshen: An Overview of Its Chemistry, Pharmacology, Pharmacokinetics, and Clinical Use. *The Journal of Clinical Pharmacology*, **45**, 1345-1359. <https://doi.org/10.1177/0091270005282630>
- [8] Hsin, K., Ghosh, S. and Kitano, H. (2013) Combining Machine Learning Systems and Multiple Docking Simulation Packages to Improve Docking Prediction Reliability for Network Pharmacology. *PLOS ONE*, **8**, e83922. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083922>
- [9] Sarker, P., Mitro, A., Hoque, H., Hasan, M.N. and Nurnabi Azad Jewel, G.M. (2023) Identification of Potential Novel Therapeutic Drug Target against *Elizabethkingia Anophelis* by Integrative Pan and Subtractive Genomic Analysis: An *in Silico* Approach. *Computers in Biology and Medicine*, **165**, Article 107436. <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2023.107436>
- [10] Marciniak, A., Kotynia, A., Szkatuła, D. and Krzyżak, E. (2022) The 2-Hydroxy-3-(4-Aryl-1-Piperazinyl)Propyl Phthalimide Derivatives as Prodrugs—Spectroscopic and Theoretical Binding Studies with Plasma Proteins. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article 7003. <https://doi.org/10.3390/ijms23137003>
- [11] 王亚鹏, 袁倩倩, 谢冠群. 脓毒症中医多体系辨治探讨[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(8): 4269-4272.
- [12] Hotchkiss, R.S., Moldawer, L.L., Opal, S.M., Reinhart, K., Turnbull, I.R. and Vincent, J. (2016) Sepsis and Septic Shock. *Nature Reviews Disease Primers*, **2**, 1-22. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.45>
- [13] Taipale, M., Tucker, G., Peng, J., Krykbaeva, I., Lin, Z., Larsen, B., *et al.* (2014) A Quantitative Chaperone Interaction Network Reveals the Architecture of Cellular Protein Homeostasis Pathways. *Cell*, **158**, 434-448. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.039>
- [14] Yang, S., Zhang, J., Yan, Y., Yang, M., Li, C., Li, J., *et al.* (2020) Network Pharmacology-Based Strategy to Investigate the Pharmacologic Mechanisms of *Atractylodes Macrocephala* Koidz. for the Treatment of Chronic Gastritis. *Frontiers in Pharmacology*, **10**, Article ID: 1629. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01629>
- [15] Nebert, D.W., Roe, A.L., Dieter, M.Z., Solis, W.A., Yang, Y. and Dalton, T.P. (2000) Role of the Aromatic Hydrocarbon Receptor and [Ah] Gene Battery in the Oxidative Stress Response, Cell Cycle Control, and Apoptosis. *Biochemical Pharmacology*, **59**, 65-85.
- [16] Wang, L., Liu, Y., Zhao, T., Li, Z., He, J., Zhang, B., *et al.* (2019) Topotecan Induces Apoptosis via ASCT2 Mediated Oxidative Stress in Gastric Cancer. *Phytomedicine*, **57**, 117-128. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.12.011>
- [17] 杨淑茵, 张济帆, 刘迪, 等. 丹参酮II_A 治疗肾损伤的药理作用研究进展[J]. 现代药物与临床, 2024, 39(6): 1647-1652.
- [18] Manning, B.D. and Toker, A. (2017) AKT/PKB Signaling: Navigating the Network. *Cell*, **169**, 381-405. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.04.001>

- [19] Du, H., He, Y., Pan, Y., Zhao, M., Li, Z., Wang, Y., *et al.* (2021) Danhong Injection Attenuates Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Rats through the Suppression of the Neuroinflammation. *Frontiers in Pharmacology*, **12**, Article ID: 561237. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.561237>
- [20] Liu, B. and Su, H. (2023) Luteolin Improves Vasoconstriction Function and Survival of Septic Mice via AMPK/NF- κ B Pathway. *Heliyon*, **9**, e13330. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13330>
- [21] Yang, C., Mu, Y., Li, S., Zhang, Y., Liu, X. and Li, J. (2023) Tanshinone IIA: A Chinese Herbal Ingredient for the Treatment of Atherosclerosis. *Frontiers in Pharmacology*, **14**, Article ID: 1321880. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1321880>
- [22] Jiang, P., Guo, Y., Dang, R., *et al.* (2017) Salvianolic acid B Protects against Lipopolysaccharide-Induced Behavioral Deficits and Neuroinflammatory Response: Involvement of Autophagy and NLRP3 Inflammasome. *Journal of Neuroinflammation*, **14**, 239.
- [23] Tracey, K.J. (2002) The Inflammatory Reflex. *Nature*, **420**, 853-859. <https://doi.org/10.1038/nature01321>
- [24] Wang, H., Yu, M., Ochani, M., Amella, C.A., Tanovic, M., Susarla, S., *et al.* (2002) Nicotinic Acetylcholine Receptor A7 Subunit Is an Essential Regulator of Inflammation. *Nature*, **421**, 384-388. <https://doi.org/10.1038/nature01339>
- [25] Zhang, S.J. and Du, Z.Y. (2019) Network Pharmacology-Based Study on the Mechanism of *Salvia miltiorrhiza* in Treatment of Parkinson's Disease. *Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **24**, 601.
- [26] Xiao, B., Sanders, M., Carmena, D., *et al.* (2013) Structural Basis of AMPK Regulation by Small Molecule Activators. *Nature Communications*, **4**, Article 3017.
- [27] Huang, P.Y., Chen, Y., Zhang, H.B., *et al.* (2022) Comparative Efficacy of Chinese Herbal Injections for Septic Shock: A Bayesian Network Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Frontiers in Pharmacology*, **13**, Article ID: 850221.
- [28] Shukla, R. and Tripathi, T. (2020) Molecular Dynamics Simulation of Protein and Protein-Ligand Complexes. In: Singh, D.B., Ed., *Computer-Aided Drug Design*, Springer, 133-161. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6815-2_7
- [29] Bi, X.W., Jiang, B.L., Zhou, J.Y., *et al.* (2021) CBP Bromodomain Inhibition Rescues Mice from Lethal Sepsis through Blocking HMGB1-Mediated Inflammatory Responses. *Frontiers in Immunology*, **11**, Article ID: 625542.
- [30] Abraham, E., Laterre, P., Garg, R., Levy, H., Talwar, D., Trzaskoma, B.L., *et al.* (2005) Drotrecogin Alfa (Activated) for Adults with Severe Sepsis and a Low Risk of Death. *New England Journal of Medicine*, **353**, 1332-1341. <https://doi.org/10.1056/nejmoa050935>
- [31] Xu, X., Zhang, W., Huang, C., Li, Y., Yu, H., Wang, Y., *et al.* (2012) A Novel Chemometric Method for the Prediction of Human Oral Bioavailability. *International Journal of Molecular Sciences*, **13**, 6964-6982. <https://doi.org/10.3390/ijms13066964>
- [32] Hopkins, A.L. (2008) Network Pharmacology: The Next Paradigm in Drug Discovery. *Nature Chemical Biology*, **4**, 682-690. <https://doi.org/10.1038/nchembio.118>
- [33] Langfelder, P. and Horvath, S. (2008) WGCNA: An R Package for Weighted Correlation Network Analysis. *BMC Bioinformatics*, **9**, Article No. 559. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-559>
- [34] Wang, J., Wolf, R.M., Caldwell, J.W., Kollman, P.A. and Case, D.A. (2004) Development and Testing of a General Amber Force Field. *Journal of Computational Chemistry*, **25**, 1157-1174.