

基于网络药理学和分子对接探讨黄花柳抗氧化作用机制研究

热吾扎·木哈买提, 努尔阿米乃·麦麦提*

(新疆师范大学 生命科学院 新疆特殊环境物种保护与调控生物实验室 新疆特殊环境物种多样性应用与调控重点实验室 干旱区植物逆境生物学实验室, 新疆 乌鲁木齐 830017)

摘要: 黄花柳(*Salix caprea*)具有较强的抗氧化作用,但目前关于黄花柳抗氧化作用机制的研究尚未详尽报道。文章通过网络药理学和分子对接技术筛选得到黄花柳活性成分21种,预测到靶点320个,抗氧化相关靶点1056个,取交集得到的黄花柳与抗氧化相关靶点118个,GO富集分析得到基因功能354条,KEGG通路富集分析得到通路146条。分子对接结果显示,核心成分柚皮素、二氢杨梅素、香叶木素等可与核心靶点AKT1、MAPK3、PIK3CA等均具有良好的结合活性。初步验证了黄花柳可通过多成分、多靶点、多途径发挥抗氧化作用,为下一步实验研究提供验证依据和方向。

关键词: 黄花柳; 抗氧化; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R284.1; R285 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-9659(2024)01-0067-09

自由基是机体氧化反应的产物,具有强氧化性,可损害机体的组织和细胞,进而引起慢性疾病及衰老效应。在正常情况下,生物体的抗氧化系统会保持自由基的动态平衡。然而,一旦平衡被打破,过量积累的自由基就会攻击身体的正常细胞,导致氧化应激^[1]。氧化应激与一些人类疾病有密切的关系,例如癌症、自身免疫性疾病、年龄相关疾病、白内障、类风湿性关节炎、心血管和神经退行性疾病等^[2]。研究表明,抗氧化剂可以减轻氧化应激造成的伤害,其中天然抗氧化剂因其无毒副作用而深受青睐。近年来,在药用植物中不断发现具有较强抗氧化活性的组分和单体,其在防治氧化应激相关疾病中发挥着重要作用^[3-5]。

黄花柳(*Salix caprea*)别名为山羊柳、绒絮柳、欧洲绒絮柳、大黄华柳。在黄花柳化学成分的研究中分离得到了多种化合物,以黄酮类化合物为主,还包括萜类化合物、甾体类化合物、鞣质类化合物、酚苷类化合物等黄花柳的根、皮、叶和花,这些在新疆很早就被当作药材使用。现如今采其花、叶做药用,黄花柳花作为新疆特有的中药材,具有清热、消肿止痛、抗菌、补脑补心等功效以及较强的抗肿瘤作用^[6-7],但相关的作用机制需要进一步探讨。

中药网络药理学是将中药和网络药理学相结合的一个新兴方法,是基于网络构建、网络分析和网络验证来揭示中药在分子水平上的作用机理^[8],为疾病的药物治疗提供了新的研究策略和方法。本研究采用网络药理学与分子对接技术,揭示了黄花柳抗氧化作用机制,为黄花柳临床应用及深入研究其药理作用机制提供参考。

[收稿日期] 2023-06-01

[修回日期] 2023-09-06

[基金项目] 新疆维吾尔自治区高校科研计划项目(XJEDU2023P076); 新疆维吾尔自治区百名青年博士引进计划项目(BS2019003); 新疆师范大学博士博士后科研启动基金项目(XJNBS2205)。

[作者简介] 热吾扎·木哈买提(1997-),女,新疆阿勒泰人,硕士研究生,主要从事应用化学方面研究。

* [通讯作者] 努尔阿米乃·麦麦提(1990-),女,新疆乌鲁木齐人,讲师,主要从事中药成分分析和活性筛选方面研究。

1 材料与方法

1.1 黄花柳活性成分的收集

在 PubMed、中国知网、维普以及万方数据服务平台等数据库,收集黄花柳中已发现的化合物。通过 PubChem^[9] 查找已发现成分的二维化学结构数据,保存为 sdf 格式。PubChem 未收录结构的化合物,根据文献报道的结构式用 ChemDraw Professional 15.0 画出 2D 结构,也保存为 sdf 格式。

1.2 黄花柳潜在作用靶点的预测与筛选

将活性成分以 sdf 格式文件导入 SwissTargetPrediction^[10-11] 数据库进行分析,得到化合物靶点信息。将得到的化合物靶点信息导入 UniProt 数据库中,选择物种为“Homo sapiens”,对其进行批量标准化,并下载基因。

通过在 GeneCards^[12] 和 OMIM^[13] 数据库中输入“anti-oxidant”搜索已报道与抗氧化相关的基因,删去重复基因,与上述潜在作用靶点进行匹配分析,使用 Venny 2.1 绘图软件将预测的疾病靶点与药物靶点进行映射,获得活性成分抗氧化的潜在作用靶点。再将获得的黄花柳活性成分与靶点信息通过 Cytoscape 3.9.1^[14] 软件构建黄花柳抗氧化成分的靶点网络。

1.3 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建

为了研究黄花柳抗氧化靶蛋白之间的相互作用关系,将所得到的交集靶点导入在线 STRING11.5^[15],物种设定为“Homo sapiens”,最低相互作用阈值设为“high confidence(0.7)”,其他条件保持默认设置进行操作,并构建 PPI 网络模型。将相关数据输入到 Cytoscape3.9.1 软件,构建黄花柳抗氧化作用靶点蛋白-蛋白相互作用网络。

1.4 GO 功能富集分析与 KEGG 信号通路富集分析

作用靶点导入 DAVID^[16] 数据库,Select Identifier 设置为 official gene symbol, List Type 设置为 gene list,物种、背景均限定为人,对作用靶点进行 GO 和 KEGG 通路分析,设定阈值 $P < 0.05$,保存结果。根据 P 值大小,筛选排名靠前的生物过程或通路。使用 Cytoscape 3.9.1 构建“活性成分-靶点-通路”网络图并进行拓扑分析,筛选出黄花柳的核心成分及核心靶点。

1.5 分子对接

对选取度(Degree)值排名靠前的核心靶点和成分进行分子对接。从 PubChem 和 RCSB PDB^[17] 数据库分别获取小分子和大分子的 pdp 格式,并应用 AutoDock Tools 1.5.7^[18] 软件转换为 pdbqt 格式后进行分子对接。通过 Pymol 2.2.6^[19] 软件针对对接得分较高的靶蛋白与化合物进行分子对接可视化分析。

2 结果

2.1 黄花柳活性成分的筛选

本研究通过文献检索,共收集到黄花柳 21 种活性成分(表 1),分别为香草酸、对羟基内桂醇、芥子醇、柚皮素、二氢杨梅素、紫元英苷、异鼠李素、香叶木素等 21 种活性成分^[20-22],结构如图 1 所示。

表 1 黄花柳活性成分

命名号	化合物名称	分子式	化学式结构	命名号	化合物名称	分子式	化学式结构
HHL1	香草酸	C ₈ H ₈ O ₄	(1)	HHL12	β-谷甾醇	C ₂₉ H ₅₀ O	(12)
HHL2	对羟基内桂醇	C ₈ H ₈ O ₂	(2)	HHL13	(+)-儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	(13)
HHL3	芥子醇	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	(3)	HHL14	槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	(14)
HHL4	柚皮素	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	(4)	HHL15	山奈酚 3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	(15)
HHL5	二氢杨梅素	C ₁₅ H ₁₂ O ₈	(5)	HHL16	芹菜素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	(16)
HHL6	紫元英苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	(6)	HHL17	3'-甲氧基山奈酚-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	(17)

命名号	化合物名称	分子式	化学式结构	命名号	化合物名称	分子式	化学式结构
HHL7	异鼠李素	C ₁₆ H ₁₄ O ₇	(7)	HHL18	木犀草素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	(18)
HHL8	香叶木素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	(8)	HHL19	异鼠李素-3-O-α-L-鼠李糖-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	(19)
HHL9	9, 10-裂-9, 19-环羊毛甾烷三萜	C ₃₁ H ₅₂ O ₄	(9)	HHL20	芦丁	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	(20)
HHL10	没食子儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	(10)	HHL21	松伯醇	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	(21)
HHL11	白矢车菊草	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	(11)				

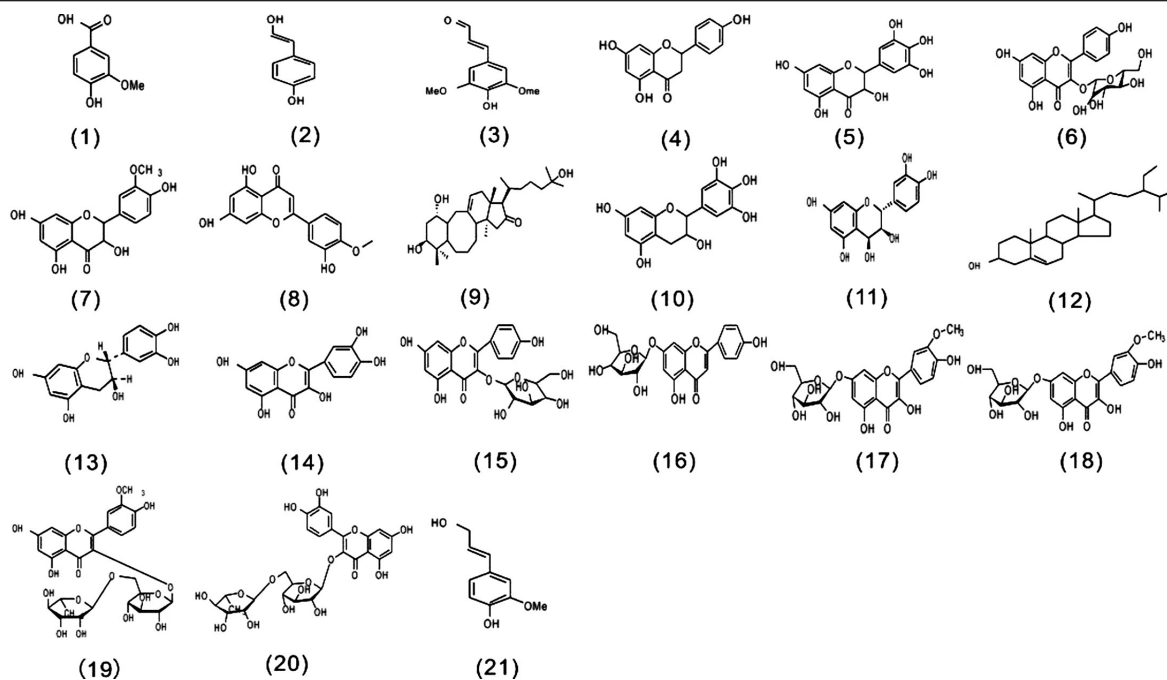


图1 黄花柳21种活性成分化学结构图

2.2 黄花柳活性成分-抗氧化作用靶点预测

将 SwissTarget Prediction 数据库得到的所有靶点中删除重复并无法获取基因名的蛋白,整合后得到21种活性成分靶点320个,由 GeneCards、OMIN 数据库检索整合得到抗氧化靶点1056个,将活性成分对应靶点与抗氧化相关靶点取交集得到活性成分-疾病靶点118个(图2)。

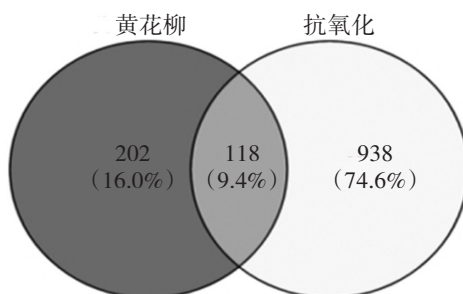


图2 黄花柳活性成分抗氧化靶点韦恩图

2.3 活性成分-作用靶点网络构建

采用 Cytoscape 3.9.1 构建成分-靶点网络,其中不同形状的节点分别代表活性成分和抗氧化相关靶点,边代表活性成分和作用靶点相互作用关系,整个网络中有21个成分,118个靶点,共141个节点,节点之间形成368条边(图3)。AKR1B1、NOX4、ALOX5、XDH、NQO2、SRC、PTGS2、CD38等可能是黄花柳作用的重要靶蛋白。

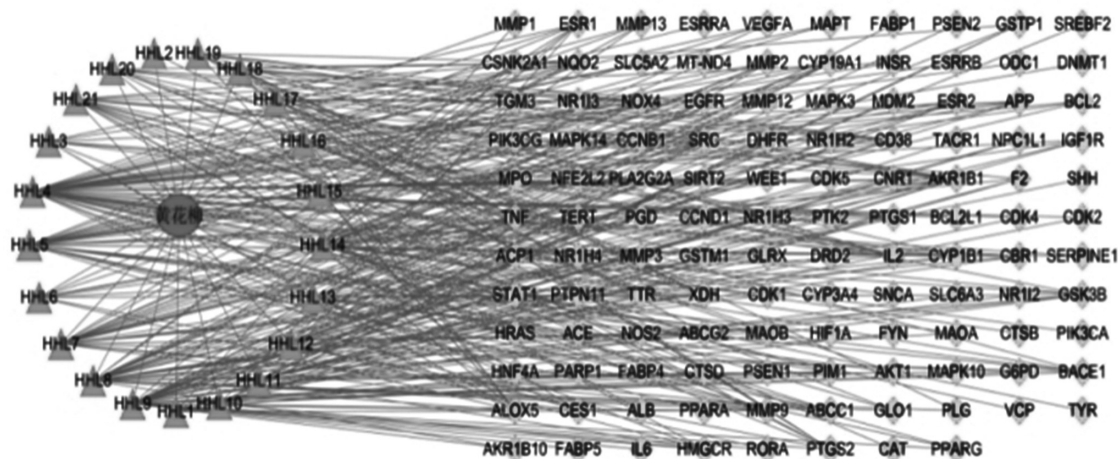


图3 活性成分-抗氧化靶点网络图

2.4 PPI网络构建与分析

利用STRING数据库和Cytoscape软件得到靶点相互作用网络图(图4)。图中包括266条边线、41个节点。节点越大表示该靶点选取度越大,说明该节点在网络中具有重要的作用。在该网络中排前十位的核心基因依次为AKT1、SRC、EGFR、MAPK3、VEGFA等靶蛋白,且与其他蛋白关系密切。

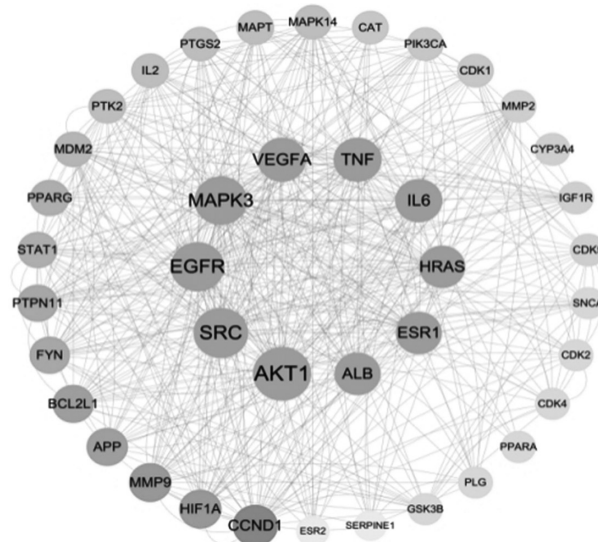


图4 活性成分作用靶点PPI网络图

2.5 GO功能富集分析

利用DAVID数据库对筛选得到的关键靶点进行GO功能富集分析,设置阈值 $P < 0.05$ 。研究相关靶点的生物学过程(BP)、细胞组成(CC)和分子功能(MF),根据P值大小选出前10个条目作图(图5)。富集度较高的生物学过程主要涉及凋亡过程的负调节、基因表达的负调节、对乙醇的反应、对药物的反应、对RNA聚合酶II启动子转录的正调节、对异生素刺激的反应等。细胞组成中富集度较高的条目主要包括细胞质、大分子复合体、膜筏等。同时黄花柳抗氧化作用与RNA聚合酶II转录因子活性、酶结、3锌离子结合、内肽酶活性、序列特异性DNA结合、氧化还原酶活性等分子功能密切相关。上述结果表明黄花柳化合物可通过调控多种生物学途径发挥抗氧化作用。

2.6 KEGG信号通路富集分析

将筛选得到的63个抗氧化靶点输入到DAVID数据库中,设置 $P < 0.05$,这些靶点可富集到146条信号通路中,其中跟抗氧化密切相关的前20条信号通路如图6所示。主要包括癌症通路、内分泌耐药、糖尿病并发症中的AGE-RAGE信号通路、催乳素信号通路、FoxO信号通路、松弛素信号通路、HIF-1信号通路、IL-17信

号通路、PI3K-Akt 信号通路、VEGF 信号通路等。结果表明,黄花柳发挥抗氧化作用的靶点分布在多条通路中。

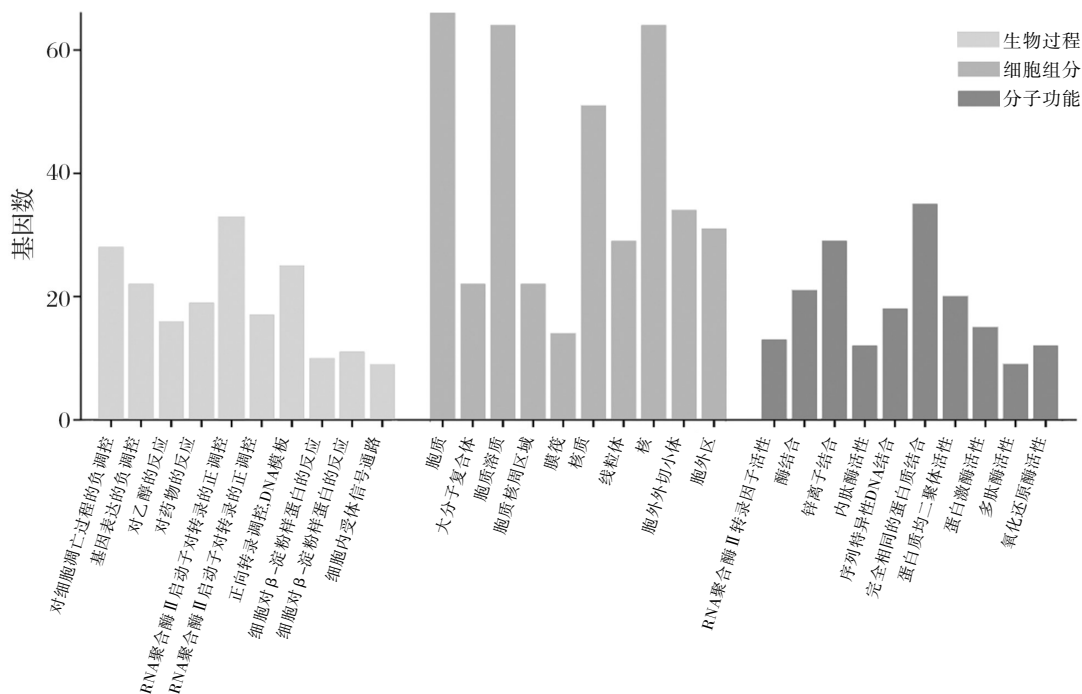


图5 GO功能富集分析

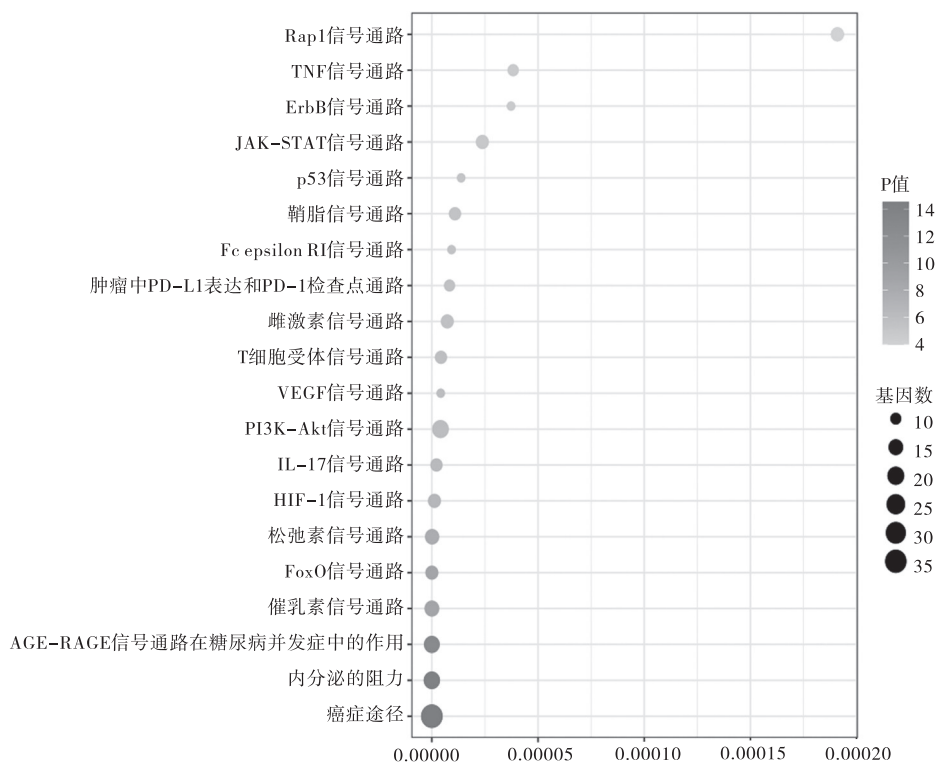


图6 KEGG信号通路富集分析

2.7 黄花柳“活性成分-靶点-通路”网络图构建

将关键靶点及其相关的活性成分与前20条通路及其相关靶点导入 Cytoscape 3.9.1 软件,得到“活性成分-关键靶点-通路”网络图(图7)。该网络图中有96个节点(包括21个成分、55个靶点、20条通路)和487条边,其中V形节点代表通路,长边形代表靶点,圆形代表黄花柳活性成分。选取度值较高的核心靶点为

AKT1、MAPK3、PIK3CA、HRAS、EGFR、TNF等。选取度较高的关键成分为柚皮素、9,10-裂-9,19-环羊毛甾烷三萜、香叶木素、二氢杨梅素、槲皮素等。这些靶点和成分是黄花柳发挥抗氧化作用的关键靶点和成分。

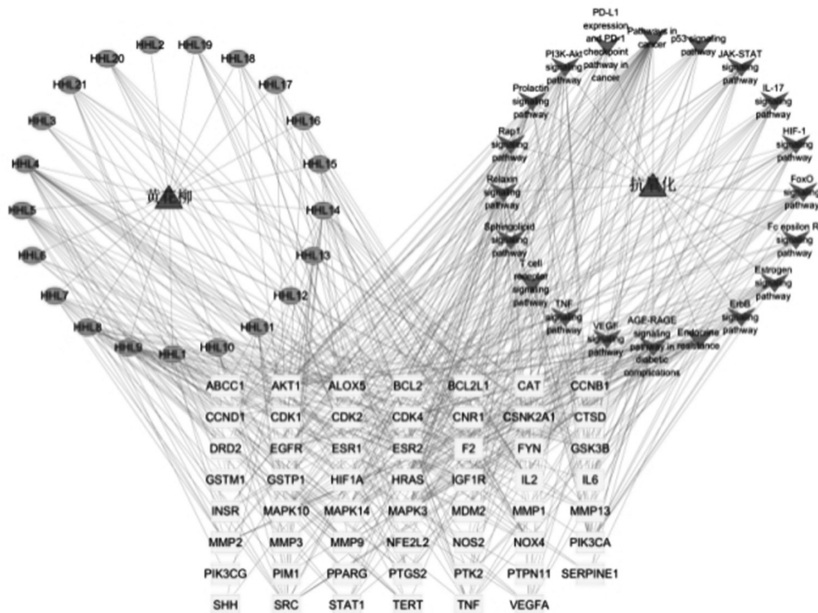


图7 “活性成分-靶点-通路”网络图

2.8 分子对接结果

验证预测靶点的可靠性,采用分子对接技术验证了排名前五的柚皮素、9,10-裂-9,19-环羊毛甾烷三萜、二氢杨梅素、香叶木素、槲皮素与6个富集于抗氧化相关的信号通路中核心基因(AKT1、EGFR、PIK3CA、MAPK3、HRAS、TNF)之间的相互作用(表2)。一般认为结合自由能越小,配体与受体结合越稳定。绝对值 >4.25 表示小分子具有一定的结合活性,绝对值 >5.0 表示具有较好的结合活性,绝对值 >7.0 表示具有强烈的结合活性^[20]。因此,选取结合效果最好的六组对接结果进行Pymol可视化处理,结果如图8所示。

表2 黄花柳主要活性成分与核心靶点结合能

命名号	化合物	结合能/(kcal·mol ⁻¹)					
		AKT1	MAPK3	PIK3CA	HRAS	EGFR	TNF
HHL4	柚皮素	-7.66	-6.79	-6.13	-8.84	-8.33	-5.85
HHL5	二氢杨梅素	-6.68	-6.54	-5.73	-5.92	-8.03	-5.29
HHL8	香叶木素	-7.83	-6.65	-6.05	-8.42	-8.21	-5.89
HHL9	9,10-裂-9,19-环羊毛甾烷三萜	-8.56	-7.63	-7.03	-8.13	-10.00	-6.70
HHL14	槲皮素	-7.99	-7.19	-5.91	-7.48	-8.82	-6.10

3 讨论

细胞无法充分消除氧化反应产生的过量自由基时,就会产生氧化应激。这种有害过程会严重改变细胞膜和其他结构,如蛋白质、脂质、脂蛋白和脱氧核糖核酸(DNA)^[24]。因此,通过抗氧化途径减轻自由基带来的氧化损伤,是抗氧化药物的重要作用机制。

文章通过网络药理学方法预测黄花柳活性成分靶点,并得到与抗氧化相关靶点的交集靶点,并构建活性成分-疾病靶点网络,通过蛋白之间相互作用的分析,筛选得到核心靶点。通过GO分析和KEGG分析找出涉及抗氧化的主要通路,并构建成分-靶点-通路网络,最终将抗氧化的6个靶点蛋白与核心成分进行分子对接分析,从而得到黄花柳抗氧化的主要通路、核心成分和核心靶点。

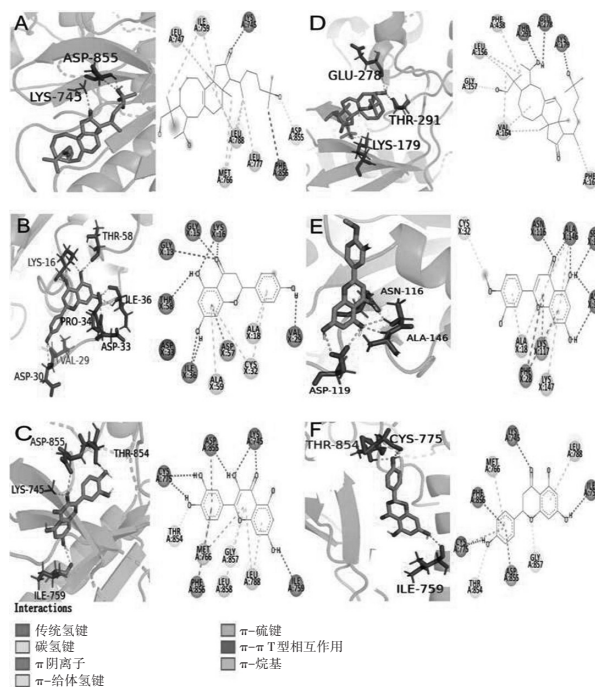


图8 主要活性成分与核心靶点分子对接模式图

本次研究结果表明,黄花柳抗氧化作用的主要成分可能为柚皮素、9,10-裂-9,19-环羊毛甾烷三萜、二氢杨梅素、香叶木素、槲皮素。柚皮素是二氢黄酮类化合物,具有抗氧化、抗炎、免疫调节、抗肿瘤等多种药理作用。它具有清除自由基,抑制烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶、环氧合酶、脂氧合酶、黄嘌呤氧化酶和金属离子螯合等促氧化酶活性的作用^[25]。9,10-裂-9,19-环羊毛甾烷三萜是Tantry等人^[21]在黄花柳花提取物的氯仿部位获得到的新化合物,其药理作用需要进一步研究。二氢杨梅素是黄酮类化合物,具有解酒保肝、抗病原微生物、抗氧化、抗炎、调血脂及抗肿瘤等多方面的药理作用^[26]。二氢杨梅素有助于减少体力疲劳小鼠的代谢物积累,可能通过激活肌肉 AMPK 能量信号通路和肝脏 Nrf2、PPAR α 相关抗氧化通路发挥抗疲劳作用^[27]。香叶木素是黄酮类化合物,具有抗氧化作用。实验验证发现,香叶木素能够干预对乙酰氨基酚诱导的 C57BL/6J 小鼠急性肝脏损伤以及人非肿瘤性肝细胞,进而激活 Nrf2 信号通路,引起下游相关基因 SOD2、G6pdx、NQO1 显著上升,同时 LO2 细胞活力恢复且 GSH 含量增加,表明香叶木素的抗氧化作用跟 Nrf2/抗氧化反应元件信号通路的活化有关^[28]。槲皮素是类黄酮化合物,具有预防癌变、延缓衰老、保护心血管和神经系统等作用,与其较强的抗氧化功能密不可分。槲皮素通过维持氧化平衡表达其抗氧化活性,主要表现为清除氧自由基、整合金属离子、抑制 α -LDL 引起的氧化损伤及提高抗氧化酶活性,通过调节信号通路和影响基因表达过程,在细胞和动物模型以及人体中发挥抗氧化作用^[29]。

在黄花柳抗氧化作用靶点网络中, AKT1、MAPK3、PIK3CA、HRAS、EGFR、TNF 等 6 个靶点的连接度较高,属于该网络的核心节点,是黄花柳抗氧化作用的关键靶点。AKT1 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,是细胞生长和存活过程的关键介质,包括葡萄糖代谢、凋亡、转录、细胞增殖和迁移^[30]。MAPK3 是细胞外蛋白调节激酶(Extracellular Regulated protein Kinases, ERK)的一种亚基,又称 ERK 1,属于一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是细胞内外信息传递的重要使者之一。细胞外的刺激信号,如生长因子、细胞因子、G 蛋白偶联受体或机体缺血缺氧等,均可激活 MAPK3,促使 MAPK3 磷酸化并向细胞内转移,同时激活下游信号通路,将信号从细胞膜表面传导至细胞核^[31]。PIK3CA 是一个关键原癌基因,它位于 3 号染色体上,共有 20 个外显子。从信号通路来看,PIK3CA 基因属于 PI3K-Akt 信号通路,它的主要职责是编码 p110 α 蛋白。PIK3CA 基因突变,会使 PI3K 酶处于持续激活状态,增强细胞内信号的传导,导致所有通路的紊乱,引起一系列疾病,包括自身免疫性疾病、癌症、造血型疾病和神经病变等^[32]。作为 RAS 基因家族成员之一的 HRAS,负责其突变后蛋白过度活化,调控细胞的生长和分裂,导致 Ras/MAPK 通路发生异常,细胞生长、增殖或细胞死亡失控^[33]。EGFR 是 HER 家族的成员之一,是一种具有酪氨酸激酶活性的跨细胞膜受体糖蛋白。EGFR 广泛存在于体内多种组

织中,以胃肠道、上皮为多,它有利于烧伤后受损的皮肤和胃肠道黏膜屏障的修复^[34]。TNF是一种既能通过激活免疫系统发挥抗肿瘤作用,又能直接杀死肿瘤细胞的细胞因子。可以抑制肿瘤细胞的营养供给而使其坏死^[35]。

由KEGG富集分析可知,抗氧化靶点主要富集于癌症通路、糖尿病并发症中的AGE-RAGE信号通路、催乳素信号通路、FoxO信号通路、松弛素信号通路、HIF-1信号通路、IL-17信号通路、PI3K-Akt信号通路等。其中FoxO信号通路参与多种代谢过程,包括能量代谢、细胞凋亡、DNA修复和氧化应激等。FoxO信号通路可以改善由多种刺激产生的氧化应激,包括氧化剂、炎性细胞因子和紫外线^[36]。HIF-1是细胞适应低氧环境的重要调节因子。HIF-1是低氧环境下的氧调节型 α 亚基与组成型 β 亚基形成的稳定的异二聚体,其促进肿瘤血管生成、上调并激活基质金属蛋白酶及赖氨酸氧化酶等细胞因子及信号通路、诱导特异性微RNA生成,参与多种恶性肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移等相关生物学行为^[37]。PI3K-Akt信号通路是机体抵抗氧化应激的通路之一。PI3K-Akt信号通路作用于核因子红细胞相关因子2(Nrf2)能够使细胞免受氧化应激和炎症反应的损害。

本研究使用网络药理学方法预测了黄花柳发挥抗氧化作用的可能药物成分、靶点以及通路,并通过分子对接验证了活性成分与抗氧化核心靶点的对接活性,验证了黄花柳通过“多成分-多靶点-多通路”的作用方式抗氧化。但受限于数据库的完整性、时效性等条件,本研究还需要进行进一步的实验验证,为临床开发新的药物提供更为充分的理论依据和指导。

参考文献:

- [1] DEVASAGAYAM T P A, TILAK J C, BOLOOR K K, et al. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects[J]. *Journal of the Association of Physicians of India*, 2004, 52(794804): 794.
- [2] AKBARI B, BAGHAEI-YAZDI N, BAHMAIE M, et al. The Role of Plant-Derived Natural Antioxidants in Reduction of Oxidative Stress[J]. *Bio Factors*, 2022, 48(03): 611-633.
- [3] HALLIWELL B, GUTTERIDGE J M, CROSS C E. Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease: Where are We Now?[J]. *Journal of Laboratory & Clinical Medicine*, 1992, 119(06): 598-620.
- [4] YSHA B, MAA C, HMSA A, et al. Extraction, Purification by Macrospores Resin and in Vitro Antioxidant Activity of Flavonoids from Moringa Olifera Leaves-Sciencedirect[J]. *South African Journal of Botany*, 2019, (124): 270-279.
- [5] EAM A, Co B, AEA A, et al. Antidiabetic, Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Aerial Part of Tiliacora Triandra[J]. *South African Journal of Botany*, 2019, (125): 337-343.
- [6] 新疆维吾尔自治区喀什维吾尔医院. 维吾尔医常用药材[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1991.
- [7] 孙慧丽, 艾米提·苏里坦, 买吾兰·买提努尔, 等. 黄花柳中总黄酮含量的研究[J]. *新疆农业科学*, 2008, 45(01): 84.
- [8] LUO, TING-TING, LU, et al. Network Pharmacology in Research of Chinese Medicine Formula: Methodology, Application and Prospective[J]. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 2020, 26(01): 74-82.
- [9] SUNGHWAN K, THIESSEN P A, BOLTON E E, et al. Pubchem Substance and Compound Databases[J]. *Nucleic Acids Research*, 2016, (D1): D1202-D1213.
- [10] DAINA A, MICHELIN O, ZORTE V. Swiss Target Prediction: Updated Data and New Features for Efficient Prediction of Protein Targets of Small Molecules[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(W1): W357-W364.
- [11] GFELLER, DAVID, MICHELIN, et al. Shaping the Interaction Landscape of Bioactive Molecules[J]. *Bioinformatics*, 2013(23): 3073-3079.
- [12] STELZER G, ROSEN N, PLASCHKES I, et al. The GeneCards Suite: from Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses[J]. *Current Protocols in Bioinformatics*, 2016, (54): 1.30-1.30.33.
- [13] AMBERGER J S, HAMOSH A. Searching Online Mendelian Inheritance in Man (Omim): A Knowledgebase of Human Genes and Genetic Phenotypes[J]. *Current Protocols in Bioinformatics*, 2017, (58): 1.2.1-1.2.12.
- [14] SHANNON, P. Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks[J]. *Genome Research*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [15] DAMIAN S, GABLE A L, DAVID L, et al. STRING v11: Protein-Protein Association Networks with Increased Coverage, Supporting Functional Discovery in Genome-wide Experimental Datasets[J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 47(D1): D607-D613.
- [16] HUANG D, SHERMAN B, LEMPICKI R. Systematic and Integrative Analysis of Large Gene Lists Using DAVID Bioinformatics

- Resources[J].Nature Protocols,2009,4(01):44.
- [17] BOURNE P E.Pre-calculated Protein Structure Alignments at the RCSB PDB Website[J].Bioinformatics,2010,26(23):2983-2985.
- [18] MORRIS G M, HUEY R, LINDSTORM W, et al.AutoDock4 and Autodocktools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility[J].Journal of Computational Chemistry,2009,30(16):2785-2791.
- [19] DELANO W L.The PyMOL Molecular Graphic System[J].DeLano Scientific,2002,(30):442-454.
- [20] AHMED A, SHAH W A, AKBAR S, et al.A Short Chemical Review on Salix Caprea Commonly Known as Goat Willow[J].2011,1(01):17-20.
- [21] TANTRY M A, SHAH S, DAR M Y, et al.9,10-seco-9,19-cyclolanostane Triterpene from Salix Caprea L. (Goat Willow)[J].Natural Product Research,2013,27(02):171-175.
- [22] 买吾兰江·买提努尔.新疆黄花柳黄酮类化合物成分及其总黄酮组分的提取工艺研究[D].乌鲁木齐:新疆大学,2010.
- [23] 高燕,陶培,王毓杰,等.基于网络药理学的肉苁蓉苯乙醇苷抗氧化活性分子机制研究[J].中国现代应用药学,2022,39(17):12.
- [24] PHAM-HUY L A, HE H, PHAM-HUY C.Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health[J].International Journal of Biomedical Science Ijbs,2008,4(02):89-96.
- [25] 王丹,彭莉,周燕红.柚皮素抗肿瘤作用的研究进展[J].中草药,2021,52(10):6.
- [26] 侯小龙.二氢杨梅素药理作用研究进展[J].中草药,2015,46(04):603-609.
- [27] 尹美玲,孙乐,滕李利,等.二氢杨梅素对小鼠的抗疲劳作用及机制研究[J].中国现代中药,2022,(09):24.
- [28] 刘星,李晓娜,刘翠玲,等.香叶木素保护对乙酰氨基酚诱发的急性肝损伤[J].现代食品科技,2018,34(10):7.
- [29] 王亚茹,袁满,张丽,等.槲皮素抗氧化作用及相关机制研究进展[J].营养学报,2022,(02):044.
- [30] O'DONOGHUE P.Delivery of Active AKT1 to Human Cells[J].Cells,2022,(11).
- [31] 樊亚琦.MicroRNA-1 调控 MAPK3 介导的益气活血方抗心肌缺血再灌注损伤作用研究[D].郑州:河南中医药大学,2020.
- [32] 周慧明.PTEN 和 PIK3CA 基因突变与恶性肿瘤患者临床病理特征及预后的关系[D].沈阳:中国医科大学,2018.
- [33] 徐哲.Costello 综合征 HRAS 基因突变研究[J].临床皮肤科杂志,2020,49(09):4.
- [34] 柯朗.MS9 与 EGFR 相互作用的研究[D].厦门:厦门大学,2021.
- [35] 高世勇,李丹.肿瘤坏死因子与癌症相关研究进展[J].中国药理学通报,2020,6(09):5.
- [36] KMM B, MKI A, TH B, et al.The Multi-functional Roles of Forkhead Box Protein O in Skin Aging and Diseases[J].Redox Biology,2021:46.
- [37] 张璐,方岳,牛继国,等.缺氧诱导因子-1 与恶性肿瘤关系的研究进展[J].医学综述,2021,27(05):7.
- [38] 吴丽君,赵静,孙卓,等.运动氧化应激与 PI3K-Akt 通路研究进展[J].体育研究与教育,2019,34(02):6.

Study on the Antioxidant Mechanism of *Salix Caprea* based on Network Pharmacology and Molecular Docking

REWUZHA·Muhamaiti, NUERAMINAI·Maimaiti*

(Key Laboratory of Plant Stress Biology in Arid Land, Xinjiang Key Laboratory of Special Environment Biodiversity Application and Regulation in Xinjiang, Xinjiang Key Laboratory of Special Species Conservation and Regulatory Biology, School of Life Sciences, Xinjiang Normal University, Urumqi, Xinjiang, 830017, China)

Abstract: *Salix caprea* has a strong antioxidant effect. However its mechanism has not been fully reported. To explore the mechanism of *Salix caprea* in antioxidant, network pharmacology and molecular docking technology were used. 21 active ingredients were selected meanwhile 320 predicted targets were identified. There were 1056 antioxidant-related targets. Thus 118 antioxidant-related targets obtained by intersection. GO enrichment analysis showed 354 gene functions and KEGG pathway enrichment analysis showed 146 signaling pathways. The results of molecular docking showed that naringin, dihydromyricetin and geranyllin had good binding activity with AKT1, MAPK3 and PIK3CA. It was preliminarily verified that the antioxidant effect of *Salix caprea* can be played through multi-component, multi-target and multi-pathway, which provides the validation basis and direction for the next experimental study.

Keywords: *Salix caprea*; Antioxidation; Network pharmacology; Molecular docking