山东农业大学学报(自然科学版),2026,57(4):598-609 VOL.57 NO.4 2026
Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition) doi:10.3969/j.issn.1000-2324.2026.04.002

基于网络药理学及分子对接探究咖啡酰奎宁酸抗氧化应激作用机制

张志毅[1],李 娜[2],迟涵蔚[3],楚邵璇[1],李智博[1],郑振佳[1*]

1. 山东农业大学食品科学与工程学院,山东省高校食品加工技术与质量控制重点实验室,山东 泰安 271018
2. 青岛大学附属医院健康管理中心,山东 青岛 266100
3. 北京中医药大学中医药学院,北京 100029

摘 要: 本文研究目的为使用网络药理学及分子对接技术分析咖啡酰奎宁酸类化合物(CQAs)抗氧化应激作用的相关机制。首先通过数据库获得咖啡酰奎宁酸类化合物作用靶点及氧化应激相关作用靶点,构建“咖啡酰奎宁酸-靶点”网络并进行化合物与靶点关系分析,将所得靶点进行基因本体论分析(GO)及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析,并将得到的关键靶点与咖啡酰奎宁酸类化合物进行分子对接验证。网络药理学结果表明咖啡酰奎宁酸类化合物发挥抗氧化应激作用涉及包括MMP9、MMP2、APP、REN、MMP1等潜在关键靶点蛋白67个,靶点间相互作用关系共194条,涉及膀胱癌、泛素-蛋白酶体通路、糖尿病并发症中的AGE-RAGE信号通路等40条相关通路。分子对接证明了咖啡酰奎宁酸类化合物可以与氧化应激作用的关键靶点以氢键等相互作用结合,发挥其抗氧化应激活性。本研究预测了咖啡酰奎宁酸类化合物发挥抗氧化应激作用的多个靶点和多条通路,并通过分子对接进行了初步验证,为咖啡酰奎宁酸类化合物抗氧化应激机制的研究和生物利用率的提高提供一定的理论依据。

关键词: 网络药理学;咖啡酰奎宁酸类化合物;氧化应激;作用机制;分子对接

中图法分类号: R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-2324(2026)04-0598-12

Probing the Mechanism of Anti-oxidative Stress Action of Caffeoylquinic Acid Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

ZHANG Zhi-yi[1], LI Na[2], CHI Han-wei[3], CHU Shao-xuan[1], LI Zhi-bo[1], ZHENG Zhen-jia[1*]

1. *College of Food Science and Engineering/Shandong Agricultural University, Key Laboratory of Food Processing Technology and Quality Control in Shandong Province, Tai'an 271018, China*
2. *The Affiliated Hospital of Medical College Qingdao University Health Management Center, Qingdao 266100, China*
3. *School of Traditional Chinese Medicine/Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China*

Abstract: This study aims to analyze the mechanism of the antioxidative-stress effects of caffeoylquinic acid analogs through network pharmacology and molecular docking techniques. First, the targets of caffeoylquinic acid compounds and oxidative stress-related targets are retrieved from databases, and a "caffeoylquinic acid-target" network is constructed to analyze the relationship between compounds and targets. The obtained targets are then subjected to Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis. The identified key targets are further validated through molecular docking with caffeoylquinic acid compounds. Network pharmacology results show that 67 potential key target proteins, including MMP9, MMP2, APP, REN, and MMP1, are involved in the antioxidative-stress effects of caffeoylquinic acid compounds. These targets exhibit 194 inter-target interactions and are associated with 40 related pathways, such as bladder cancer, the ubiquitin-proteasome pathway, and the AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications. Molecular docking demonstrates that caffeoylquinic acid analogs bind to key oxidative stress-related targets through interactions such as hydrogen bonding, thereby exerting antioxidative-stress activity. This study predicts multiple targets and pathways through which caffeoylquinic acid analogs exert antioxidative-stress effects and provides preliminary validation through molecular docking. It offers a theoretical basis for further research on the antioxidative-stress mechanism and bioavailability of caffeoylquinic acid analogs.

收稿日期: 2025-07-03 **修回日期:** 2026-06-18
基金项目: 山东省重点研发计划(2024TZXD007);山东省科技型中小企业创新能力提升工程(2024TSGC0483)
第1作者简介: 张志毅(1999-),男,硕士研究生,研究方向:果蔬加工与功能食品。E-mail:zyz5648@163.com
***通讯作者:** Author for correspondence.E-mail:zhengzhenjia@sdau.edu.cn

Keywords: Network pharmacology; caffeoylquinic acid analogs; oxidative stress; mechanism of action; molecular docking

氧化应激是指人和动物体内自由基的产生急剧增加或清除自由基的能力下降，破坏抗氧化-氧化平衡，从而影响细胞信号转导和动态平衡等[1,2]。自由基的过量产生可能会对生物体内蛋白质、DNA 等造成损害，以致细胞坏死或凋亡，导致组织损伤[3,4]。咖啡酰奎宁酸类化合物（CQAs）具有多种生物活性，如抗氧化、抗炎、抗肿瘤、抑菌等，相比于其他活性，人们对其抗氧化活性研究更为广泛，其酚羟基可以快速清除羟基自由基以及抑制脂质过氧化反应，此外还可以减少脂质过氧化，抑制还原型辅酶 II 氧化酶的活性，清除活性氧自由基，从而发挥抗氧化作用[5,6]。绿原酸可以减弱高脂饮食带来的氧化应激反应，显著提高超氧化物歧化酶的表达，对于饮酒引起的超氧化物歧化酶活性显著降低现象有很好的抑制作用[7,8]。

CQAs 因具有多种生物活性，受到人们的广泛关注，但是该化合物同分异构体较多、分离纯化困难，且成本较高。计算机化学作为一种新兴的辅助手段，操作简单，耗时短且成本低，为探究植物的药理学功能提供了有力支持，网络药理学、分子对接、分子动力学模拟和人工智能等是用于研究的重要工具[9]。网络药理学可以通过药物相关靶点及疾病相关靶点的交互关系，推测药物作用于疾病的关键靶点、作用机制及通路。分子对接可以利用潜在化学物质进入疾病目标活性位点的机制，阐明其相互作用和生物治疗特性，是计算机辅助药物设计的一种方式，可以用来验证网络药理学结果的准确性[10,11]。通过网络药理学结合分子对接，可以探究 CQAs 抗氧化应激和潜在药用活性的关键靶点和作用机制，弥补传统实验周期长、靶点验证局限、资源消耗较大等问题，对富含 CQAs 功能食品或药物的构-效关系分析及开发应用具有重要意义。

1　方法

1.1　CQAs 结构获取及相关靶点筛选

在网站（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/）下载已知 CQAs 的结构，导入数据库（http://www.swisstargetprediction.ch/）进行检索，获取化合物靶点信息[12]。将得到的靶点合并去重，通过数据库（https://www.uniprot.org/）转换为 Gene Symbol。

1.2　氧化应激相关靶点筛选

以“Oxidative stress”为关键词，在 GeneCards（https://www.genecards.org/）、Drugbank（https://go.drugbank.com/）、Disgenet（https://www.disgenet.org/）及 OMIM（http://www ncbi.nlm.nih.gov/omim）数据库检索并获得与氧化应激相关的基因，将所得结果合并、去重，得到氧化应激相关靶点数据库。

1.3　筛选核心靶点

将 CQAs 与“Oxidative stress”的相关靶点输入微生信（http://www.bioinformatics.com.cn/）在线平台绘制 Venn 图，得到共同靶点。

1.4　构建蛋白-蛋白相互作用（PPI）网络

将共同靶点导入数据库（https://string-db.org/）构建蛋白互作网络，限定物种为“Homo sapiens”，选择最低相互作用阈值，将数据导入 Cytoscape 3.8.0 绘制 PPI 网络并分析[13]。

1.5　GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析

将共同靶点导入 Metascape 数据库，限定物种为“Homo sapiens”，设定阈值为 $P \leqslant 0.05$，进行 GO 以及 KEGG 通路富集分析。将结果上传至微生信平台，绘制 GO 富集柱状图及 KEGG 富集气泡图。

1.6　分子对接

采用 AutoDock Vina 对 CQAs 和治疗氧化应激的关键靶点进行分子对接验证。靶点蛋白基质金属蛋白酶 1（MMP1）、基质金属蛋白酶 2（MMP2）、基质金属蛋白酶 9（MMP9）、肾素（REN）、β-淀粉样蛋白 A4（APP）结构来源于 RCSB PDB 数据库（www.rcsb.org，ID CODE：3SHI、8H78、6ESM、3D91、7MRK）。将预处理后的 5 种蛋白晶体结构和 3 种 CAQs 进行分子对接，通过 Pymol 对对接结果进行可视化分析。

2　结果与分析

2.1　CQAs 对应靶点预测

CQAs 根据咖啡酸的取代数目及位置，主要

分为单咖啡酰奎宁酸(CQA)、二咖啡酰奎宁酸(DCQA)和三咖啡酰奎宁酸(TCQA)及各类衍生物。选取咖啡酸,奎宁酸和3种单咖啡酰奎宁酸(3-CQA、4-CQA、5-CQA),6种二咖啡酰奎宁酸(1,3-DCQA、1,4-DCQA、1,5-DCQA、3,5-DCQA、3,4-DCQA、4,5-DCQA),3种三咖啡酰奎宁酸(1,3,5-TCQA、1,4,5-TCQA、3,4,5-TCQA)[14],其网络靶点分析顺序见表1。图1为"CQAs-靶点"网络进行化合物与靶点关系分析,预测化合物对应靶点72个。

表1 CQAs网络靶点分析顺序

Table 1 Analysis sequence of network target of caffeoylquinic acid

序号 Number	名称 Name	序号 Number	名称 Name
JY1	奎宁酸	JY8	4,5-DCQA
JY2	咖啡酸	JY9	1,3-DCQA
JY3	绿原酸	JY10	1,4-DCQA
JY4	新绿原酸	JY11	1,5-DCQA
JY5	隐绿原酸	JY12	1,3,5-TCQA
JY6	3,5-DCQA	JY13	1,4,5-TCQA
JY7	3,4-DCQA	JY14	3,4,5-TCQA

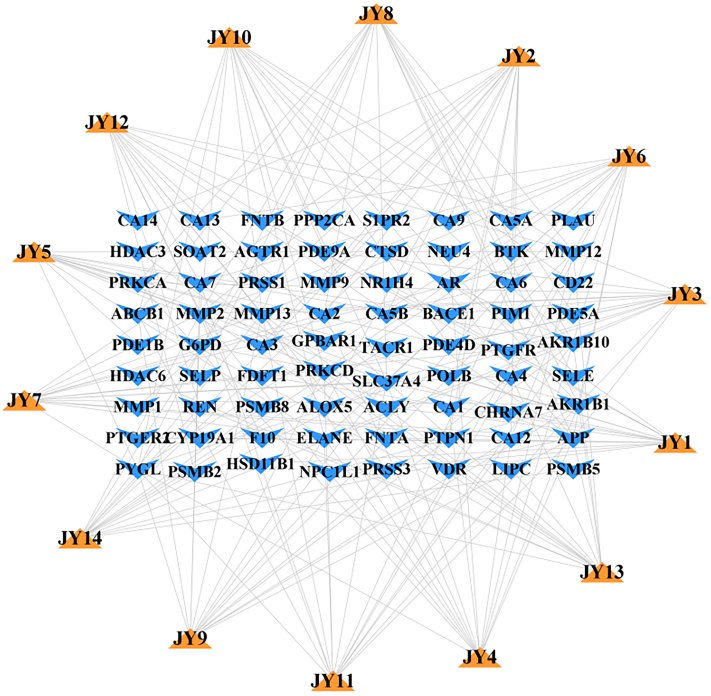


图1 "CQAs-靶点"网络

Fig. 1 Network diagram of "CQAs-targets"

2.2 氧化应激相关靶点检索

通过检索数据库,共获得氧化应激相关靶点9 923个。将以上所得化合物成分靶点和疾病靶点取交集,通过微生信在线平台绘制Venn图(图2),得到CQAs治疗氧化应激的作用靶点共66个,见表2。

2.3 蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络

PPI网络如图3所示,共得到关键靶点67个和194条相互关系。网络中度值越大表明其发挥作用越大,由此推断基质金属蛋白酶9(MMP9)、基质金属蛋白酶2(MMP2)、β-淀粉样蛋白A4(APP)、肾素(REN)、基质金属蛋白酶1(MMP1)等可能是治疗氧化应激相关疾病的关键靶点蛋白。

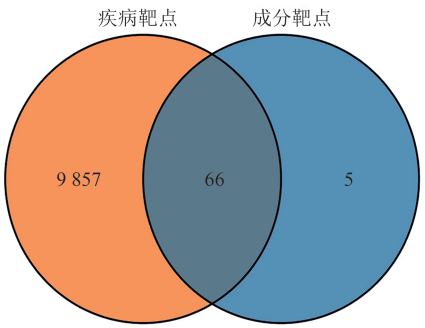


图2 成分靶点与疾病靶点交集韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of intersection of component target and disease target

表 2 CQA 对应氧化应激靶点

Table 2 Targets of oxidative stress of caffeoylquinic acid

序号 Number	共同靶点 Common targets	序号 Number	共同靶点 Common targets	序号 Number	共同靶点 Common targets
1	*CHRNA7*	23	*PTPN1*	45	*ABCB1*
2	*FDFT1*	24	*CA9*	46	*SELE*
3	*PTGER2*	25	*CA5B*	47	*SELP*
4	*PTGFR*	26	*CA5A*	48	*CD22*
5	*NR1H4*	27	*CA3*	49	*PPP2CA*
6	*G6PD*	28	*AKR1B1*	50	*REN*
7	*GPBAR1*	29	*AKR1B10*	51	*SOAT2*
8	*HSD11B1*	30	*MMP13*	52	*PRSS1*
9	*ACLY*	31	*MMP12*	53	*F10*
10	*AR*	32	*APP*	54	*PLAU*
11	*VDR*	33	*ELANE*	55	*PRSS3*
12	*CYP19A1*	34	*SLC37A4*	56	*PSMB2*
13	*POLB*	35	*PYGL*	57	*LIPC*
14	*CA2*	36	*PRKCD*	58	*HDAC3*
15	*ALOX5*	37	*PRKCA*	59	*HDAC6*
16	*CA7*	38	*BACE1*	60	*S1PR2*
17	*CA1*	39	*PDE5A*	61	*PSMB8*
18	*CA6*	40	*PDE4D*	62	*TACR1*
19	*MMP9*	41	*PDE9A*	63	*BTK*
20	*CA12*	42	*CA4*	64	*CTSD*
21	*MMP1*	43	*CA13*	65	*AGTR1*
22	*MMP2*	44	*PIM1*	66	*PSMB5*

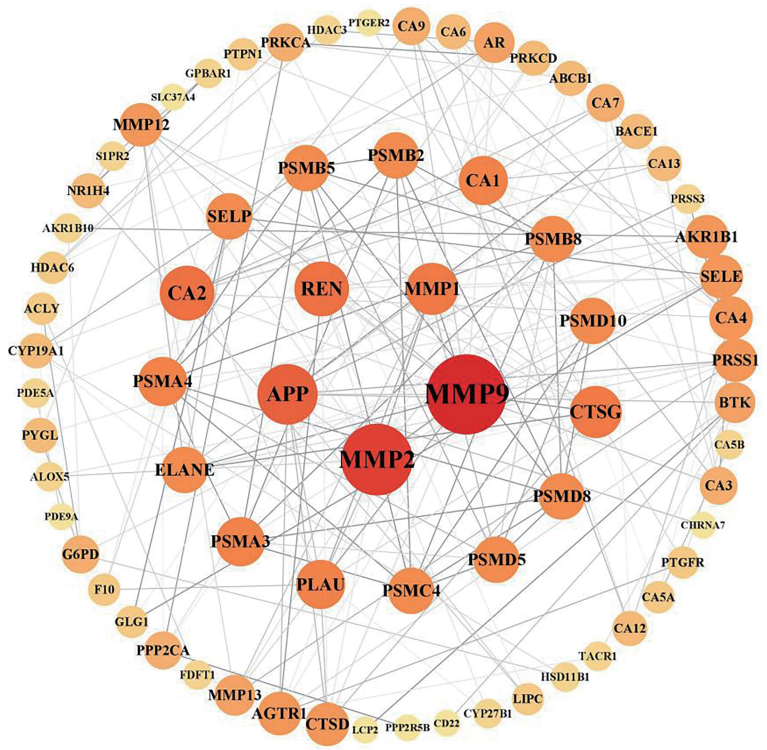


图 3 CQAs 治疗氧化应激的 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of CQAs against oxidative stress

MMP 是一种锌依赖性蛋白质，负责降解细胞外基质。Gencer 等[15]发现氧化应激与胃癌发病风险增加有关，MMP 在胃癌的侵袭和转移中起重要作用。MMP-9 已被证实在肾小管细胞上皮-间充质细胞转化中发挥重要作用[16]。也有报道指出 MMP9 在 H_2O_2 诱导的 BV2 小胶质细胞中表达上调，这表明 MMP9 可能伴随氧化应激作用的出现而产生[17]。在肾间质纤维化大鼠模型中，敲除 MMP-9 可有效减少肾小管上皮细胞间充质转分化和肾纤维化[18]。MMP9 和 MMP2 都可以分解主动脉壁中的胶原纤维和弹性纤维，而导致主动脉壁的稳定性下降，增加主动脉夹层的风险，这与氧化应激和炎症反应的产生密切相关[19]。Valentin 等[20]的研究表明氧化应激产生作用的重要机制之一是 MMP2 的激活，例如氧化低密度脂蛋白通过上调膜型 1 基质金属蛋白酶（MT1-MMP）的表达来激活 MMP2，此外 MMP2 的激活还涉及黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶复合物（X/Xo）产生的氧化自由基。Gustavo 等[21]研究发现照射表皮细胞 48 h 后，原代真皮成纤维细胞中 MMP1 mRNA 表达增加，同样伴随着活性氧的产生。有研究指出人间充质 GBM 癌组织中的 MMP1 和氧化应激的三个标记物，超氧化物歧化酶 2、NADPH 氧化酶 4 和碳酸酐酶 9 呈上调趋势，且 MMP1 与这三种氧化应激标志物都呈正相关[22]。Pujimulyani 等[23]使用 200 μM H_2O_2 诱导 BJ 成纤维细胞氧化应激后，MMP1、MMP3 和 MMP13 的表达分别增加了 7.10、38.96 和 2.69 倍。APP 可以与乙醇脱氢酶产生相互作用，引起线粒体毒性反应[24]。线粒体中过多的 APP 沉积会增加氧化应激反应，并激活炎症细胞因子，引发一系列并发症[25]。大部分的阿尔茨海默病患者的 β-分泌酶 1 表达水平均有增高，氧化应激可以通过 y 分泌酶裂解 APP 的调控途径增加 BACE1 的表达[26]，这可能是导致病发的原因之一。Wanka 指出肾素-血管紧张素系统（REN-angiotensin system，RAS）的不正当激活会促进氧化应激、细胞凋亡和纤维化[27]。同样，在II型糖尿病动物模型中 RAS 的激活与 NADPH 氧化酶激活也是活性氧的主要来源之一[28]。

以上表明 5 种靶点蛋白通过不同靶点和通路影响氧化应激，说明 CQAs 可以通过不同的靶点和通路发挥抗氧化应激活性。

2.4 GO 功能分析及 KEGG 通路富集分析

图 4 为关键靶点的 GO 功能分析，GO 功能富集分析主要包括生物过程、细胞组分以及分子功能。生物过程中富集度较高的包括碳代谢，细胞外基质分解，类固醇代谢过程，各类炎症反应，甾醇代谢过程，上皮细胞增殖的调节，胶原蛋白分解代谢过程，脂多糖反应，突触传递、磷代谢、磷酸盐代谢的正向调节等；细胞组分中较高富集度的主要定位于膜筏，细胞质囊泡腔，质膜外侧，细胞质核周区，分泌颗粒管腔，细胞外基质，内肽酶复合物等；分子功能中较高富集度的主要有碳酸脱水酶活性，碳氧裂解酶活性，水解、裂解酶活性，丝氨酸水解酶、肽酶、内肽酶活性，胆汁酸结合，类固醇结合，羧酸结合等。这都表明 CQAs 通过不同的生物过程在不同的细胞组分中发挥其抗氧化应激的作用。

关键靶点的 KEGG 通路富集分析得到 40 条信号通路，取富集分数前 20 的通路作图。从图 5 中可以得出 CQAs 发挥其抗氧化应激作用主要通过膀胱癌，泛素-蛋白酶体通路，AGE-RAGE 信号通路，甘油脂代谢途径，Fc epsilon RI 信号通路，松弛素信号通路，鞘脂信号通路，GnRH 信号通路，IL-17 信号通路，胰岛素抵抗等来实现。

结合表 3 和图 6 可知，膀胱癌主要涉及 *MMP1*、*MMP2*、*MMP9* 三个相关基因，MMP 家族是一种常见的蛋白水解酶，主要作用于基质降解进程，可以破坏机体天然的组织屏障，最终促进肿瘤的侵袭转移[29,30]。在恶性肿瘤生长的三个过程中，血管的生成和侵袭均需要 MMP 的参与[31]。Chen 等[29]研究发现绿原酸可阻断 EGFR/p-Akt/Snail 通路的激活，抑制 MMP2 和 MMP9 的表达，从而抑制癌细胞的迁移和侵袭。绿原酸还可以通过靶向低密度脂蛋白受体相关蛋白 6 降低 MMP2 和 MMP9 的表达，抑制乳腺癌上皮间质转化和侵袭，减弱了癌细胞的迁移和侵袭能力[32]。还有学者指出木瓜酚叶提取物绿原酸可以通过抑制 MMP9 和 MMP2 来抑制结肠癌细胞的迁移和侵袭，如通过调节 ERK 和 AKT 信号通路[33]。此外，Her 等[34]发现黑莓中的主要成分绿原酸可以显著降低 MMP1 和 MMP3 的表达，提高小鼠的胶原蛋白的免疫反应活性。

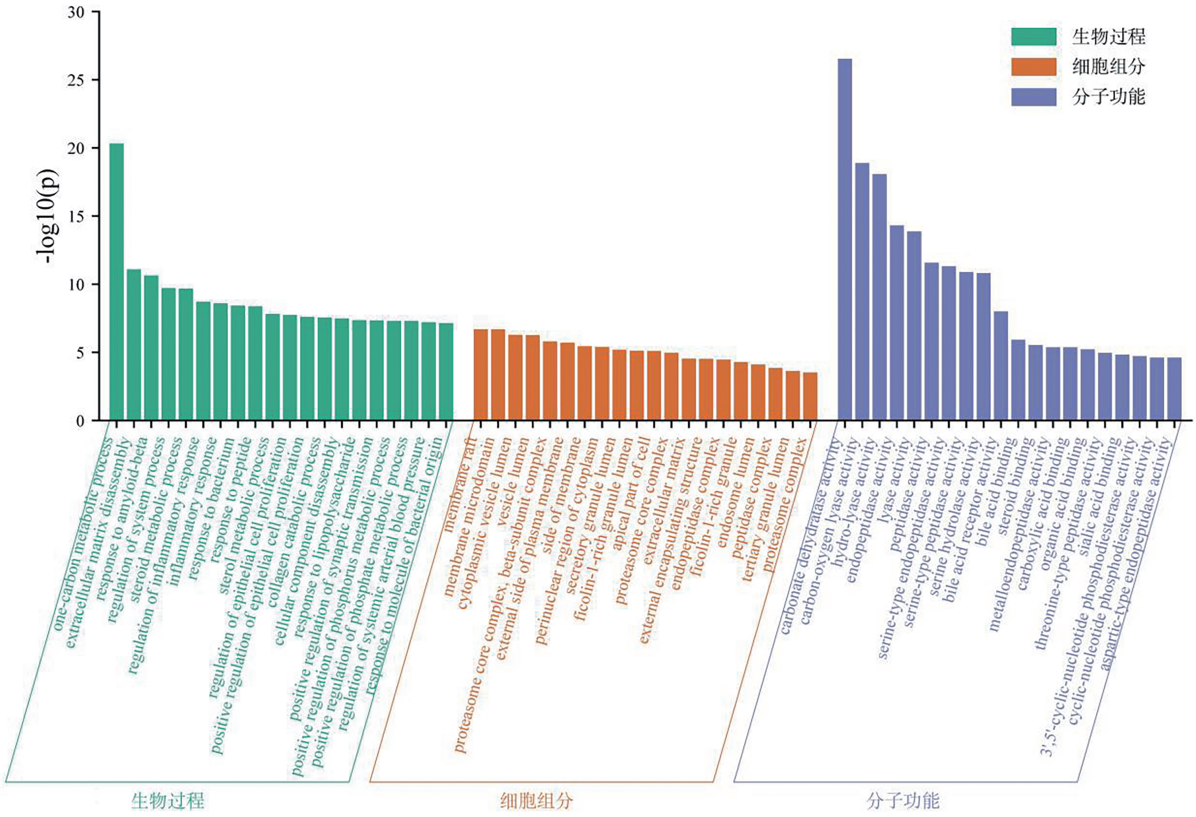


图 4 CQAs 治疗氧化应激作用靶点 GO 分析

Fig. 4 GO analysis of CQAs against oxidative stress

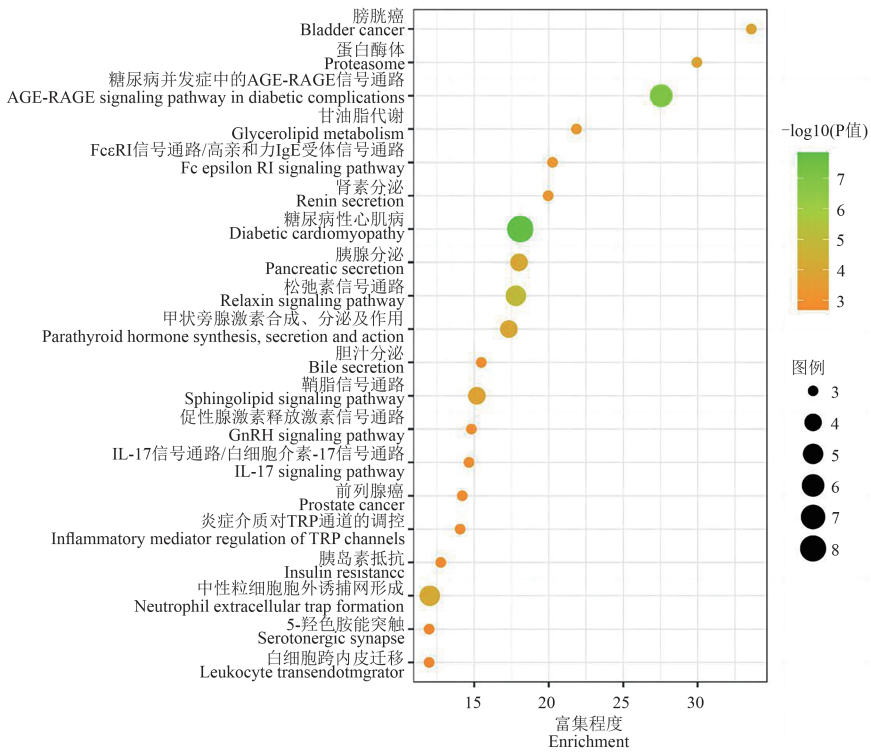


图 5 CQAs 治疗氧化应激关键靶点 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis of key targets of CQAs against oxidative stress

表3 KEGG通路富集分析相关基因

Table 3 Related genes for KEGG pathway enrichment analysis

通路名称 Pathway name	相关基因 Related genes	*P*	基因数 Gene number
Bladder cancer	*MMP1*、*MMP2*、*MMP9*	9.91E-05	3
Proteasome	*PSMB2*、*PSMB5*、*PSMB8*	1.40E-04	3
AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	*AGTR1*、*MMP2*、*PIM1*、*PRKCA*、*PRKCD*、*SELE*	8.59E-08	6
Glycerolipid metabolism	*AKR1B1*、*LIPC*、*AKR1B10*	3.57E-04	3
Fc epsilon RI signaling pathway	*ALOX5*、*BTK*、*PRKCA*	4.47E-04	3
Renin secretion	*AGTR1*、*PTGER2*、*REN*	4.66E-04	3
Diabetic cardiomyopathy	*AGTR1*、*CTSD*、*G6PD*、*MMP2*、*MMP9*、*PRKCA*、*PRKCD*、*REN*	1.45E-08	8
Pancreatic secretion	*CA2*、*PRKCA*、*PRSS1*、*PRSS3*	7.43E-05	4
Relaxin signaling pathway	*MMP1*、*MMP2*、*MMP9*、*MMP13*、*PRKCA*	9.38E-06	5
Parathyroid hormone synthesis, secretion and action	*MMP13*、*PDE4D*、*PRKCA*、*VDR*	8.63E-05	4
Bile secretion	*CA2*、*ABCB1*、*NR1H4*	9.80E-04	3
Sphingolipid signaling pathway	*CTSD*、*PPP2CA*、*PRKCA*、*S1PR2*	1.44E-04	4
GnRH signaling pathway	*MMP2*、*PRKCA*、*PRKCD*	1.11E-03	3
IL-17 signaling pathway	*MMP1*、*MMP9*、*MMP13*	1.15E-03	3
Prostate cancer	*AR*、*MMP9*、*PLAU*	1.26E-03	3
Inflammatory mediator regulation of TRP channels	*PRKCA*、*PRKCD*、*PTGER2*	1.29E-03	3
Insulin resistance	*PRKCD*、*PTPN1*、*PYGL*	1.71E-03	3
Neutrophil extracellular trap formation	*ELANE*、*PRKCA*、*SELP*、*HDAC3*、*HDAC6*	6.18E-05	5
Leukocyte transendothelial migration	*MMP2*、*MMP9*、*PRKCA*	2.05E-03	3
Serotonergic synapse	*ALOX5*、*APP*、*PRKCA*	2.05E-03	3

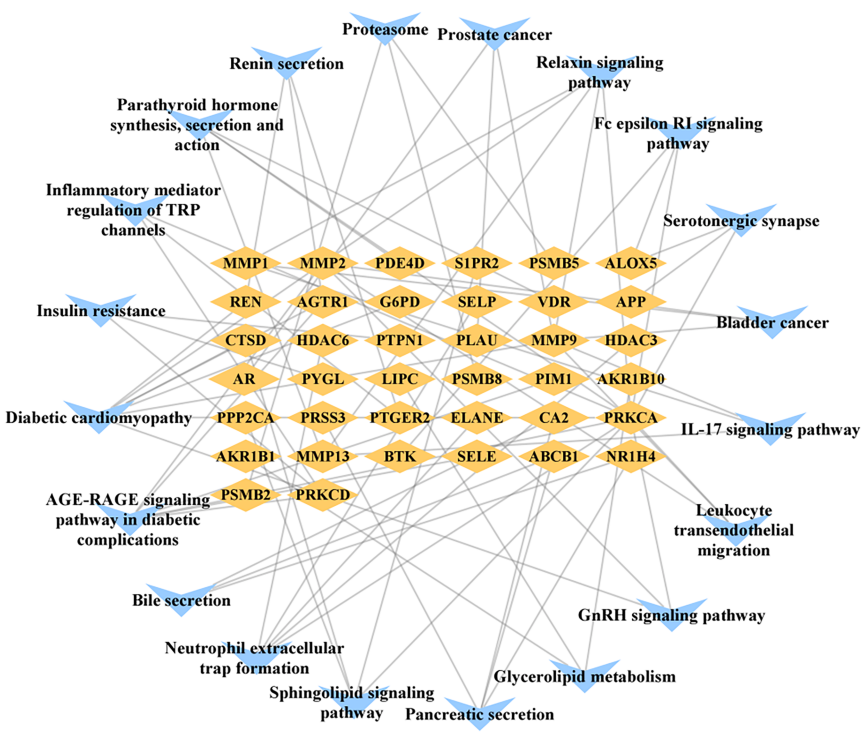


图6 CQAs治疗氧化应激作用靶点与通路网络分析

Fig. 6 Network analysis of targets and pathways of CQAs against oxidative stress

泛素-蛋白酶体通路主要涉及 *PSMB2*、*PSMB5*、*PSMB8* 三个相关基因，该通路在体内参与机体生理及病理的多种调控途径，是体内蛋白质降解的重要通路[35]。绿原酸可以调节泛素-蛋白酶体系统蛋白，保护皮层神经元免受损伤，还可以减轻神经损伤引起的神经行为障碍和组织病理改变[36]。

糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路主要涉及 *AGTR1*、*MMP2*、*PIM1*、*PRKCA*、*PRKCD*、*SELE* 六个相关基因。Meta 分析指出 *AGTR1* 基因多态性在II型糖尿病人群中表达增高，也有研究发现 *AGTR1* 基因的 1166A→C 突变可能与糖尿病慢性肾脏病密切相关[37]。PIM1 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，可以通过参与细胞多种信号通路调节来发挥其促炎和促癌作用，如细胞自噬及凋亡、氧化应激、细胞迁移和侵袭等[38]。人肾小管上皮细胞在经过缺氧复氧处理后 P1M1 表达量增加，导致细胞损伤，并伴随着氧化应激作用，引发炎症等一系列并发症，而沉默 P1M1 后该现象得到了明显改善，炎症因子 TNF-α、IL-6 及 IL-1β 释放均有所减少，从而缓解急性肾损伤[39]。PIM1 通过激活 NFATc1 和 NLRP3 在肾炎发病过程中发挥作用，在肿瘤发生过程中，通过调节 Smad2、Smad3 以及 c-Myc 发挥作用[40]。PRKC 参与多种血管功能的信号转导，其在血液中的变化与糖尿病的发病密切相关，PRKCA 和 PRKCD 均在Ⅰ型糖尿病患者的血管组织中的表达水平变化显著[41]。同时，这两种基因也与不同的肿瘤发病相关联，在膀胱癌、子宫内膜癌等癌症中 PRKCA 表达上调，而在乳腺癌、胰腺癌等癌症中 PRKCD 发挥主要调控作用[42,43]。研究表明Ⅱ型糖尿病的患者中，肥胖的个体相比于非肥胖的个体 SELE 表达水平更高，说明患者体内 SELE 水平随着血糖和血脂的升高而上升，这通常伴随着氧化应激反应[44]。

2.5　分子对接验证

使用 AutoDock Vina 软件对 3-CQA、3，5-DCQA、1，3，5-TCQA 和筛选出的 MMP9、MMP2、APP、REN、MMP1 关键靶点进行分子对接，以 AutoDock Vina 输出的对接分数为条件，筛选出不同对接结果中对接分数最优的构象[45]。表 4 为靶点与 CQAs 之间的对接分数，图 7 为配体在对接口袋中的相对位置和与受体的相互作用关系。从对接结果可以得出，对于相同靶点蛋白来说，3 种化合物都有相同的结合位点。3-CQA、3,5-DCQA、1,3,5-TCQA 均能与 5 个关键靶点通过氢键结合，从而发挥其抗氧化应激活性。如 3-CQA 与 ASN143、ARG165、LEU147、GLU199 形成了氢键相互作用，除此之外还与其他氨基酸残基形成范德华力和疏水相互作用；1，3，5-TCQA 除了与 ILE20、ILE21、TYR23、ARG53、TYR55 通过氢键结合，还与 PRO29 形成了疏水相互作用，并与 ARG53 形成了 1 个阳离子-π 作用。相比于其他靶点蛋白，3-CQA 和 3，5-DCQA 与 REN、MMP1 两个靶点的结合能力更稳定，而 1，3，5-TCQA 与 MMP2、APP 的结合更加稳定，故选取这 6 个构象进行可视化处理。总的来看，除靶点 MMP2 之外，3，5-DCQA 与其他靶点的对接分数更优，结合能力更强，结合更稳定。

表 4 关键靶点与关键成分的分子对接分数（kcal/mol）
Table 4 Molecular docking scores of key targets and key components

化合物 Compound	靶点 Target				
	MMP9	MMP2	APP	REN	MMP1
3-CQA	−7.0	−8.0	−7.2	−8.3	−8.4
3,5-DCQA	−7.9	−7.8	−8.8	−9.5	−9.4
1,3,5-TCQA	−7.6	−8.9	−8.4	−7.9	−7.5

3　讨论

研究基于网络药理学和分子对接两种计算机化学方法，通过相关数据库对 CQAs 抗氧化应激活性的重要作用靶点及作用机制进行了分析。结果表明该机制涉及包括 MMP9、MMP2、APP、REN、MMP1 等治疗氧化应激的潜在关键靶点蛋白 67 个，靶点间相互作用关系共 194 条，这些相互作用关系所涉及的通路包括膀胱癌、泛素-蛋白酶体通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路共 40 条，说明多种疾病的发病诱因均与氧化应激作用密切相关或与该作用相互影响[46,47]。

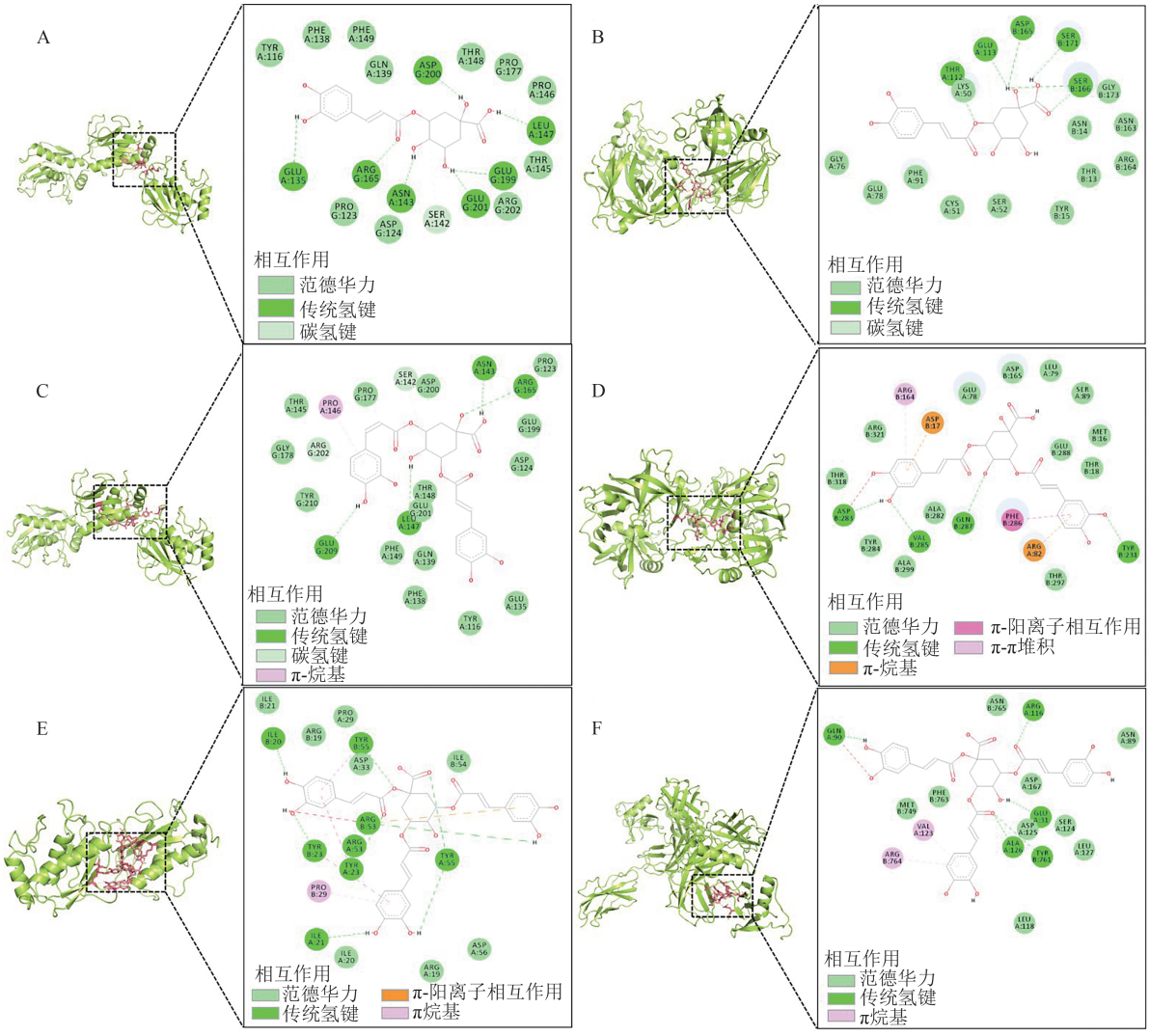


图 7 关键靶点与关键成分分子对接模式图

Fig. 7 Molecular docking pattern of key target and component

注：A. 3-CQA 与 MMP1 最佳对接构象；B. 3-CQA 与 REN 最佳对接构象；C. 3,5-DCQA 与 MMP1 最佳对接构象；D. 3,5-DCQA 与 REN 最佳对接构象；E. 1,3,5-TCQA 与 MMP2 最佳对接构象；F. 1,3,5-TCQA 与 APP 最佳对接构象。

Note: A. Best docking conformation of 3-CQA with MMP1; B. Best docking conformation of 3-CQA with REN; C. Best docking conformation of 3,5-DCQA with MMP1; D. Best docking conformation of 3,5-DCQA with REN; E. Best docking conformation of 1,3,5-TCQA with MMP2; F. Best docking conformation of 1,3,5-TCQA with APP.

MMP 家族是 CQAs 抗氧化应激作用通路中涉及的主要靶点，研究表明 MMP 作为一种锌依赖性蛋白质，主要功能是降解细胞外基质，如分解主动脉壁中的胶原纤维和弹性纤维，增加主动脉夹层的风险；此外 MMP 还涉及黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶复合物（X/Xo）的激活，产生氧化自由基[19]；超氧化物歧化酶 2、NADPH 氧化酶 4 和碳酸酐酶 9 这三种氧化应激关键标志物的产生也与 MMP 密切相关[20]。而绿原酸可以直接清除自由基或抑制 MMPs 的表达，从而减轻脑损伤、神经中枢疾病的症状[48]。以上研究均证明了 MMP1、MMP2、MMP9 可能是 CQAs 抗氧化应激的重要作用靶点。同样有报道指出绿原酸可以以剂量和时间依赖性的方式抑制 MMP9 的表达[49]，这也与本研究得到的结果相同。膀胱癌相关通路是绿原酸发挥抗氧化应激作用的关键通路，Chen 等[29]研究发现绿原酸可阻断 EGFR/p-Akt/Snail 通路的激活，抑制 MMP2 和 MMP9 的表达，从而抑制癌细胞的迁移和侵袭。绿原酸还可以通过靶向低密度脂蛋白受体相关蛋白 6 降

低 MMP2 和 MMP9 的表达，从而抑制乳腺癌上皮间质转化和侵袭，减弱了癌细胞的迁移和侵袭能力[32]。以上研究指出的相关通路与靶点与本研究筛选得到的相关通路和靶点高度重合，说明 CQAs 可以通过多个靶点及通路来调控抗氧化应激作用。

综上所述，本研究发现 CQAs 可能通过作用于 MMP9、MMP2、APP、REN、MMP1 等靶点和膀胱癌、泛素-蛋白酶体通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路等通路调控氧化应激。但 CQAs 成分之间存在的交互作用较为复杂，影响因素较多，因此后续还需结合动物或细胞实验进行验证。

4　结论

综上所述，网络药理学表明 CQAs 发挥抗氧化应激作用涉及包括 MMP9、MMP2、APP、REN、MMP1 等潜在关键靶点蛋白 67 个，靶点间相互作用关系共 194 条，涉及 40 条相关通路。分子对接证明了 CQAs 可以与氧化应激作用的关键靶点以氢键等相互作用结合。为 CQAs 抗氧化应激机制的研究和生物利用率的提高提供一定的理论依据。

参考文献

[1] Villanueva-paz M, Moran L, Lopez-alcantara N, et al. Oxidative stress in drug-induced liver injury (DILI): from mechanisms to biomarkers for use in clinical practice[J]. Antioxidants(Basel), 2021, 10(3): 390.

[2] Engelhardt J F. Redox-mediated gene therapies for environmental injury: approaches and concepts[J]. Antioxid Redox Signal, 1999, 1(1): 5-27.

[3] Cichoz-lach H, Michalak A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases[J]. World Journal of Gastroenterology, 2014, 20(25): 8082-8091.

[4] Forrester S J, Kikuchi D S, Hernandes M S, et al. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling[J]. Circulation Research, 2018, 122(6): 877-902.

[5] Moura I C, Benhamou M, Launay P, et al. The glomerular response to IgA deposition in IgA nephropathy[J]. Seminars in Nephrology, 2008, 28(1): 88-95.

[6] 朱文卿, 朱姗姗, 何秋霞, 等. 牛蒡多糖与绿原酸对斑马鱼氧化损伤的协同抗氧化作用[J]. 中国食品学报, 2022, 22(04): 95-103.

[7] Peng C H, Lin H T, Chung D J, et al. Mulberry leaf extracts prevent obesity-induced NAFLD with regulating adipocytokines, inflammation and oxidative stress[J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2018, 26(2): 778-787.

[8] Eom T, Ko G, Kim K C, et al. Dendropanax morbifera leaf extracts improved alcohol liver injury in association with changes in the gut microbiota of rats[J]. Antioxidants, 2020, 9(10): 911.

[9] Singh H, Bharadvaja N. Treasuring the computational approach in medicinal plant research[J]. Progress in Biophysics and Molecular Biology, 2021, 164: 19-32.

[10] 巫梦莹, 陈慧芳, 程冉冉, 等. 基于谱-效关系筛选菊茎叶总黄酮抗氧化物质基础及其机制探讨[J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(03): 464-477.

[11] 楚邵璇, 王 晓, 唐 征, 等. 基于网络药理学及分子对接探究荷叶生物碱抗高尿酸血症的作用机制[J]. 食品工业科技, 2024, 45(17): 1-11.

[12] Daina A, Michielin O, Zoete 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.

[13] 李玲玉, 朱文卿, 朱姗姗, 等. 基于网络药理学分析咖啡酰奎宁酸类化合物治疗II型糖尿病的作用机制[J]. 食品工业科技, 2021, 42(14): 16-24.

[14] 朱文卿, 李玲玉, 张 利, 等. 咖啡酰奎宁酸类化合物抑菌活性的网络药理学研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(13): 11-20.

[15] Gencer S, Cebeci A, Irmak-yazicioglu M B. Matrix metalloproteinase gene expressions might be oxidative stress targets in gastric cancer cell lines[J]. Chinese Journal of Cancer Research, 2013, 25(3): 322-333.

[16] Tan T K, Zheng G P, Hsu T T, et al. Matrix metalloproteinase-9 of tubular and macrophage origin contributes to the pathogenesis of renal fibrosis via macrophage recruitment through osteopontin cleavage [J]. Laboratory Investigation, 2013, 93(4): 434-449.

[17] 李红艳, 毛安琼, 刘 婷, 等. 过氧化氢诱导慢性氧化应激参与小胶质细胞衰老的作用及机制[J]. 华西医学, 2023, 38(08): 1188-1194.

[18] Wang X H, Zhou Y, Tan R Y, et al. Mice lacking the matrix metalloproteinase-9 gene reduce renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy[J].

American Journal of Physiology Renal Physiology, 2010, 299(5): F973-F982.

[19] Wu X H, Ye J Q, Cai W X, et al. LDHA mediated degradation of extracellular matrix is a potential target for the treatment of aortic dissection[J]. Pharmacological Research, 2022, 176: 106051.

[20] Valentin F, Bueb J L, Kieffer P, et al. Oxidative stress activates MMP-2 in cultured human coronary smooth muscle cells[J]. Fundamental and Clinical Pharmacology, 2010, 19(6): 661-667.

[21] Leirós G J, Kusinsky A G, Balañá M E, et al. Triolein reduces MMP-1 upregulation in dermal fibroblasts generated by ROS production in UVB-irradiated keratinocytes[J]. Journal of Dermatological Science, 2017, 85(2): 124-130.

[22] Tomko N, Kluever M, Wu C, et al. 4-Hydroxy-7-oxo-5-heptenoic acid lactone is a potent inducer of brain cancer cell invasiveness that may contribute to the failure of anti-angiogenic therapies[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2020, 146: 234-256.

[23] Pujimulyani D, Suryani C L, Setyowati A, et al. Cosmeceutical potentials of *Curcuma mangga* Val. extract in human BJ fibroblasts against MMP1, MMP3, and MMP13[J]. Heliyon, 2020, 6(9): e04921.

[24] Tillement L, Lecanu L, Papadopoulos V. Alzheimer's disease: effects of beta-amyloid on mitochondria[J]. Mitochondrion, 2011, 11(1): 13-21.

[25] Ferrer I. Altered mitochondria, energy metabolism, voltage-dependent anion channel, and lipid rafts converge to exhaust neurons in Alzheimer's disease [J]. Journal of Bioenergetics and Biomembranes, 2009, 41(5): 425-431.

[26] Nik S H M, Wilson L, Newman M, et al. The BACE1-PSEN-AβPP regulatory axis has an ancient role in response to low oxygen/oxidative stress[J]. Journal of Alzheimer's Disease, 2012, 28(3): 515-530.

[27] Wanka H, Lutze P, Staar D, et al. Non-secretory renin reduces oxidative stress and increases cardiomyoblast survival during glucose and oxygen deprivation[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 2329.

[28] 莫翠瑶, 刘云峰. 2 型糖尿病胰岛素抵抗与肾素-血管紧张素-醛固酮系统的研究进展[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2017, 11(12): 1942-1945.

[29] Chen Y K, Ngoc N T M, Chang H W, et al. Chlorogenic acid inhibition of esophageal squamous cell carcinoma metastasis[J]. Anticancer Research, 2022, 42(7): 3389-3402.

[30] Chou K Y, Chang A C, Ho C Y, et al. Thrombospondin-4 promotes bladder cancer cell migration and invasion via MMP2 production[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2024, 25(13): 6046-6055.

[31] 侯晓双, 丁 娅, 杨功俊. 基质金属蛋白酶在癌症治疗中的应用进展[J]. 广东化工, 2018, 45(09): 126-127.

[32] Xue W, Hao J, Zhang Q P, et al. Chlorogenic acid inhibits epithelial-mesenchymal transition and invasion of breast cancer by down-regulating LRP6 [J]. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2023, 384(2): 254-264.

[33] Chojnacka K, Owczarek K, Caban M, et al. Chemopreventive effects of Japanese quince (*Chaenomeles japonica* L.) phenol leaf extract on colon cancer cells through the modulation of extracellular signal-regulated kinases/Akt signaling pathway[J]. Journal of Physiology and Pharmacology, 2022, 73(1): 41-52.

[34] Her Y, Lee T K, Kim J D, et al. Topical application of Aronia melanocarpa extract rich in chlorogenic acid and rutin reduces UVB-induced skin damage via attenuating collagen disruption in mice[J]. Molecules, 2020, 25(19): 4577.

[35] Verheijen B M, Hashimoto T, Oyanagi K, et al. Deposition of mutant ubiquitin in parkinsonism-dementia complex of Guam[J]. Acta Neuropathologica Communications, 2017, 5: 82.

[36] Shah M A, Kang J B, Koh P O. Chlorogenic acid modulates the ubiquitin-proteasome system in stroke animal model[J]. Laboratory Animal Research, 2022, 38(4): 345-355.

[37] 孟令梅, 李 娟, 李小芳, 等. AGTR1 基因多态性与多系统疾病相关性的研究[J]. 微量元素与健康研究, 2020, 37(01): 60-63.

[38] 李玉珍, 朱杰夫, 吴雄飞. PIM1 激酶在肾脏疾病中的研究进展[J]. 临床肾脏病杂志, 2023, 23(11): 957-961.

[39] Gao Y, Xu W, Guo C, et al. GATA1 regulates the microRNA-328-3p/PIM1 axis via circular RNA ITGB1 to promote renal ischemia/reperfusion injury in HK-2 cells[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2022, 50(2): 1-15.

[40] Wang X, Cheng W, Chen X, et al. Inhibition of CEBPB attenuates lupus nephritis via regulating Pim-1 signaling[J]. Mediators of Inflammation, 2022, 2022: 2298865.

[41] Ringvold H C, Khalil R A. Protein kinase C as regulator of vascular smooth muscle function and potential target in vascular disorders[J]. Advances in Pharmacology, 2016, 78: 203-301.

[42] Alakananda B, Deepanwita P. Two faces of protein kinase Cδ: the contrasting roles of PKCδ in cell survival and cell death[J]. Scientific World Journal, 2014, 10: 2272-2284.

[43] Brandenstein M V, Pandarakalam J J, Kroon L, et al. MicroRNA 15a, inversely correlated to PKCα, is a potential marker to differentiate between benign and malignant renal tumors in biopsy and urine samples [J]. American Journal of Pathology, 2012, 180(5): 1787-1797.

[44] 陈 涛, 王中心, 黄丽华, 等. 初诊2型糖尿病合并高血压患者血清脂联素和改良稳态模型评估法计算的胰岛素抵抗指数的变化及相关性[J]. 中华高血压杂志, 2015, 23(05): 452-456.

[45] Hsin K Y, Ghosh S, Kitano H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology[J]. Plos One, 2013, 8(12): e83922.

[46] Qin Y Z, Wu S Z, Zhang F X, et al. N6-methyladenosine methylation regulator RBM15 promotes the progression of diabetic nephropathy by regulating cell proliferation, inflammation, oxidative stress, and pyroptosis through activating the AGE-RAGE pathway[J]. Environmental Toxicology, 2023, 38(11): 2772-2782.

[47] 陈柯行. 谷胱甘肽S-转移酶基因(M1/T1/P1)多态性及氧化应激水平与膀胱癌相关性研究[D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2023.

[48] Karthikesan K, Pari L, Menon V P. Antihyperlipidemic effect of chlorogenic acid and tetrahydrocurcumin in rats subjected to diabetogenic agents[J]. Chemico-Biological Interactions, 2010, 188(3): 643-650.

[49] 王柏森. 绿原酸通过抑制TLR4/MAPK/NFκB通路激活自噬抑制炎症和氧化应激[D]. 长春: 吉林大学, 2022.