

基于分子对接探究丹参酮IIA通过TLR4/MyD88/NF- κ B通路抑制NLRP3炎症小体抗脑缺血再灌注损伤的作用机制

邱添

浙江中医药大学，浙江杭州

摘要：本研究利用分子对接技术探讨丹参酮IIA通过TLR4/MyD88/NF- κ B抑制NLRP3炎症小体抗脑缺血再灌注损伤中的作用机制。本研究从TCMSP、PubChem数据库获取丹参酮IIA的活性成分及其三维结构数据，从RCSB数据库中收集TLR4、MyD88、TAK1-TAB、IKK和NF- κ B等关键蛋白的结构信息，并利用Sybyl-x、SwissDock及AutoDock Vina软件对丹参酮IIA与上述蛋白进行分子对接，并对其结合能进行评估。结果显示，丹参酮IIA与TLR4、IKK、NF- κ B的最低结合能分别为-7.206kcal/mol、-6.662kcal/mol和-6.630kcal/mol。提示TLR4可能为通路的主要作用靶点。同时，对NF- κ B的抑制作用亦较为显著，有助于减弱炎症级联反应。丹参酮通过TLR4、MyD88及NF- κ B等关键信号通路蛋白的相互作用，抑制NLRP3炎症小体的激活，从而降低IL-1 β 、IL-18和TNF- α 等促炎因子的释放，有效缓解脑缺血再灌注引起的炎症反应及细胞损伤。研究结果为揭示丹参酮IIA抗炎及神经保护作用提供了分子基础，并为临床探索脑缺血再灌注损伤的治疗新策略提供理论支持。

关键词：丹参酮IIA；TLR4/MyD88/NF- κ B通路；NLRP3炎症小体；脑缺血再灌注损伤；分子对接；抗炎作用

Exploring the Mechanism of Tanshinone IIA Inhibiting NLRP3 Inflammasome against Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury through TLR4/MyD88/NF- κ B Pathway based on Molecular Docking

Tian Qiu

Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou, Zhejiang

Abstract: This study used molecular docking technology to explore the mechanism of tanshinone IIA in inhibiting NLRP3 inflammasome and preventing cerebral ischemia-reperfusion injury through TLR4/MyD88/NF- κ B. This study obtained the active ingredients and three-dimensional structural data of tanshinone IIA from TCMSP and PubChem databases, and collected structural information of key proteins such as TLR4, MyD88, TAK1-TAB, IKK, and NF- κ B from RCSB database. Sybyl-x, SwissDock, and AutoDock Vina software were used to perform

* 作者简介：邱添（2004-），男，汉族，浙江省台州市人，本科生在读，从事中药研究。

molecular docking of tanshinone IIA with these proteins and evaluate their binding energies. The results showed that the lowest binding energies of tanshinone IIA with TLR4, IKK, and NF- κ B were -7.206kcal/mol, -6.662kcal/mol, and -6.630kcal/mol, respectively. TLR4 may be the main target of the pathway. At the same time, the inhibitory effect on NF- κ B is also significant, which helps to weaken the inflammatory cascade reaction. Tanshinone inhibits the activation of NLRP3 inflammasome by interacting with key signaling pathway proteins such as TLR4, MyD88, and NF- κ B, thereby reducing the release of pro-inflammatory factors such as IL-1 β , IL-18, and TNF- α , effectively alleviating inflammation and cell damage caused by cerebral ischemia-reperfusion. The research results provide a molecular basis for revealing the anti-inflammatory and neuroprotective effects of salvianolic acid IIA, and provide theoretical support for exploring new therapeutic strategies for cerebral ischemia-reperfusion injury in clinical practice.

Keywords: Tanshinone IIA; TLR4/MyD88/NF- κ B pathway; NLRP3 inflammasome; Cerebral ischemia-reperfusion injury; Molecular docking; Anti-inflammatory effect

1 介绍

急性脑血管疾病，又称脑卒中，是中国居民最大的致死因素。缺血性脑血管疾病占据脑血管疾病的80%~85%，具有高发病率、高死亡率、高致残率、高复发率和高经济负担五大特点，给家庭和社会带来了沉重的负担[1]。脑组织缺血后血流再通引起继发性脑损伤，即脑缺血再灌注损伤（Cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI）。CIRI病理机制复杂，包括兴奋性氨基酸毒性、自由基损伤、细胞内Ca²⁺超载、炎症反应、细胞凋亡等，其中炎症反应作为引发病理级联反应的核心因素发挥着关键作用。

NOD样受体蛋白3（NOD-like receptor protein 3, NLRP3）炎症小体是一种多蛋白复合体，在病原体相关分子模式和损伤相关分子模式诱导下可激活不同的靶蛋白[2]。病原体相关分子模式可通过激活Caspase-1来放大炎症反应，从而催化IL-1 β 、IL-18等促炎细胞因子。损伤相关分子模式可激活NLRP3上游的Toll样受体（Toll-like receptors, TLRs）/核因子 κ B（Nuclear factor- κ B, NF- κ B）信号通路，促进下游NLRP3炎症小体的表达，诱导细胞焦亡，加重脑缺血损伤。多项研究表明，通过调控NLRP3炎症

小体活性可有效缓解CIRI的病理进程。

相关研究发现，多种药物和中药活性成分均可下调NLRP3炎症小体及其相关下游信号分子的表达，从而起到减轻CIRI的作用。例如，黄芩苷可抑制大鼠脑组织中ASC、caspase-1、IL-1 β 和IL-18的表达，从而促进缺血区神经元存活[3]；红花黄色素则通过干预NF- κ B信号通路，降低血清中TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平，减轻炎症反应[4]；刺芒柄花素、刺槐素、远志皂苷F、黄芪甲苷IV、6-姜酚、姜黄素等成分均显示出抑制NLRP3炎症小体激活、减少促炎因子释放以及调控氧化应激的效果[5]。

丹参酮IIA作为丹参酮类化合物的代表性成分，其药理作用体现在心脑血管疾病、抗肿瘤、抗炎、神经保护等方面。研究发现，丹参酮IIA能够通过抑制LPS等刺激诱导的NF- κ B和MAPK信号通路的激活，从而显著降低TNF- α 、IL-6和IL-1 β 等炎症介质的产生，抑制炎症反应的级联放大效应，减少相关组织损伤[6,7]；同时，丹参酮IIA可调控PI3K/Akt通路，增强细胞抗氧化防御能力，共同发挥保护细胞、缓解炎症的作用[8]。本文将通过分子对接技术，解析丹参酮IIA抑制NLRP3炎症小体抗脑缺血再灌注损伤的作用机制。

2 丹参酮IIA对NLRP3炎症小体的抑制作用

丹参酮IIA是丹参中重要的活性成分，属于二萜类菲醌化合物，其分子式为 $C_{19}H_{18}O_3$ ，分子量为294.34。从结构上看，丹参酮IIA具有典型的邻醌骨架，由两个邻位羰基构成核心结构，并连接一个呋喃环和多个甲基取代基。其化学结构呈松香烷型二萜特征，使其具有较强的氧化还原活性，可通过电子传递参与多种生物反应。丹参酮IIA理化性质稳定，脂溶性高，易透过生物膜，但水溶性较差，通常采用磺化或纳米制剂技术来提高其生物利用度。其结构特征与药理活性密切相关，尤其是邻醌结构在抗氧化、抗炎及调节信号通路中发挥关键作用。见图1。

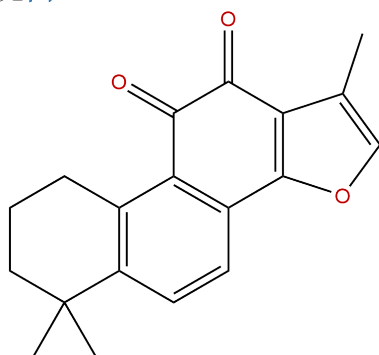


图1. 丹参酮IIA分子结构图

NLRP3炎症小体是一种重要的细胞内免疫信号复合体，主要由传感器蛋白NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白（ASC）和半胱天冬酶-1（caspase-1）组成。NLRP3由三个结构域组成，包括氨基末端的pyrin结构域（PYD）、中央NACHT域及羧基末端的富含亮氨酸重复序列域（LRR）[9]。NLRP3炎症小体的激活通常需要两个信号：信号1是通过病原相关或损伤相关分子（如LPS和TNF）激活核因子- κ B（NF- κ B），上调NLRP3、caspase-1和前体炎症因子的表达；信号2是通过钾离子外流、钙离子流动、溶酶体破裂、线粒体失衡及释放氧化应激产物等机制使NLRP3炎症小体完全激活，ASC蛋白介导下形成聚合长丝结构，最终招募并激活caspase-1。激活后，caspase-1裂解前体细胞因子，释放成熟的IL-1 β 和IL-18，进一步促进炎症反应；同时，裂解gasdermin D形成膜孔，从而引发细胞焦亡。NLRP3炎症小体的激活受到复杂机制的调控，以确保炎症反应的时效性和强度，避免过度损伤。见图2。

丹参酮IIA可通过多种信号通路显著抑制NLRP3炎症小体的激活，其主要作用机制是通过调控核因子- κ B（nuclear factor- κ B，NF- κ B）信号通路，下调NLRP3、ASC和Caspase-1蛋白的表达，阻断炎症小体的组装，以减少促炎因子如IL-

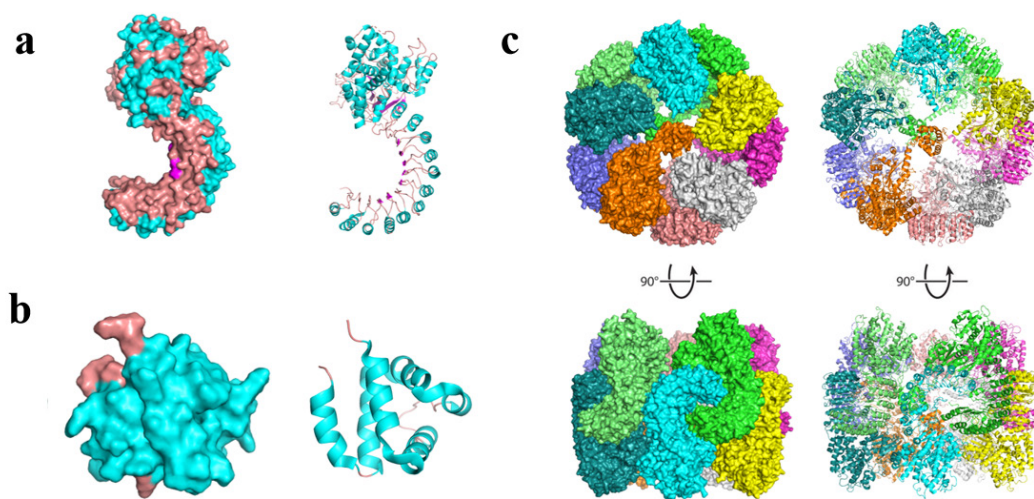


图2. NLRP3的结构。(a) PYD缺失的NLRP3的Surface-Cartoon图，包括了NACHT和LRR域。虚线红色矩形指示了ADP和抑制剂的位置。(b) NLRP3 PYD 的3D NMR溶液结构Surface-Cartoon图 (c) 人类全长NLRP3十二聚体结构的Surface-Cartoon图。

IL-1 β 、IL-18、TNF- α 和IL-6的释放，有效减轻炎症反应和细胞损伤，有效缓解CIRI症状。

NF- κ B是一类真核细胞转录因子，其家族主要由NF- κ B1 (p50)、NF- κ B2 (p52)、RelA (p65)等组成。正常情况下，这些转录因子与抑制蛋白I κ B结合，形成静止状态的复合物，处于非活性状态。许多因素如病原体感染、DNA损伤或氧化应激等都可诱发NF- κ B的快速激活，促使I κ B激酶 (IKK) 复合体发生磷酸化并降解，解放NF- κ B的p65亚基并促使其进入细胞核，以调节相关基因表达。NF- κ B信号通路在免疫和炎症反应中扮演关键角色，许多分子都可以激活NF- κ B信号通路，从而控制许多促炎和促凋亡基因的表达[10]。

张作良等[11]发现，少腹逐瘀汤能够通过TLR4/NF- κ B信号通路，减轻炎症损伤、抑制NLRP3炎症小体诱导的细胞焦亡。在子宫内膜异位症 (EMT) 大鼠疾病模型中，丹参酮IIA可以有效抑制TLR4、MyD88、TRAF6、NF- κ B p65、

NLRP3蛋白的表达，从而有效抑制NLRP3炎症小体

的组装，减少炎症指标如IL-1 β 、IL-18、TNF- α 、TGF- β 的含量。

Chai等[12]的研究表明，丹参酮IIA通过抑制TLR4/NF- κ B p65信号通路来阻止NLRP3炎症小体的活化，从而抑制心肌细胞焦亡。在急性心肌梗死 (AMI) 诱导的心力衰竭 (HF) 模型中，给大鼠口服丹参酮IIA (1.5mg/kg) 及卡托普利 (10mg/kg) 8周后，结果显示丹参酮IIA显著降低了心脏组织中NLRP3、Caspase-1及GSDMD-N等炎症小体相关蛋白的表达，减轻了心脏损伤。

综上所述，TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路在炎症反应中起到关键作用，可以有效抑制NLRP3炎症小体，发挥抗炎和神经保护作用，在脑缺血再灌注损伤的治疗中展现出良好的临床前景。见图3。

3 分子对接

3.1 受体蛋白质与配体小分子的获取与预处理

通过中药系统药理学数据库与分析平台 (<https://tcmssp.com/tcmssp.php>) 搜寻丹参酮IIA的

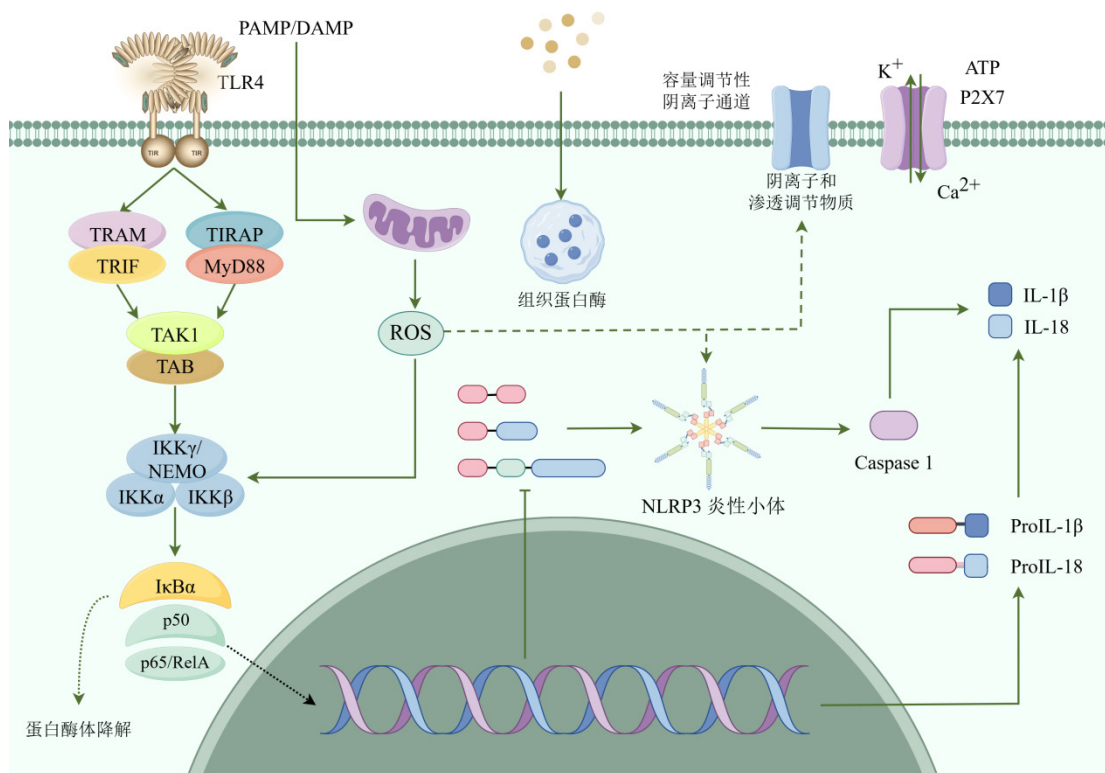


图3. TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路图

相关数据和三维结构mol2文件，并在PubChem平台获取其SMILES号。查询RCSB网站 (<http://www.rcsb.org/>) 收集TLR4 (UniProt ID: O00206, PDB ID: 3FXI, 分辨率: 3.10Å)、MyD88 (UniProt ID: Q99386, PDB ID: 4DOM, 分辨率: 1.80Å)、TAK1-TAB (UniProt ID: O43318-Q15750, PDB ID: 4O91, 分辨率: 2.39Å)、IKK- α (UniProt ID: O15111, PDB ID: 5TQW, 分辨率: 5.60Å) 和NF κ B p50/p65异二聚体 (UniProt ID: Q04207, PDB ID: 1VKX, 分辨率: 2.9Å) 的蛋白质序列和PDB文件，便于后续对丹参酮IIA分别作用于TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路的结合能进行测定。

采用Gasteiger-Hückel方法计算配体小分子的局部电荷，随后利用Tripos力场结合Powell优化策略对分子进行能量最小化及构象优化。其中，最大迭代步数设定为50000，Powell能量梯度阈值为0.005kcal/mol·Å。使用PyMol v3.1.3.1去除蛋白溶剂分子及杂原子，如为复合体结构，去除其余大分子及原有配体，再通过AutoDockTools对其进行加氢与电荷计算操作。

3.2 正式对接

分子对接由Sybyl-x v2.1.1套件的Surflex-Dock、基于EADock DSS的SwissDock和AutoDock (python版本v1.2.5) 进行。(1)Surflex-Dock: 对接模式设置为Surflex-Dock GeomX (超高精度模式)，默认设置用于其他选项；(2)SwissDock: 设置对接盒子，搜索空间的每个维度大小均为15.0000，默认设置用于其他选项；(3)AutoDock Vina: 首先需要利用OpenBabel v3.1.1或AutoDockTools v1.5.7将配体小分子与受体蛋白结构文件批量转化为PDBQT格式。穷尽性设置为16，数量模式设置为10，能量范围设置为4，对接盒子的设置同(2)，默认设置用于其他选项。

3.3 结果分析

分子对接结果表明，丹参酮IIA在TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路的多个关键蛋白 (TLR4、IKK、NF- κ B) 中均能形成较好的结合，最低结合能

在-7.206kcal/mol (TLR4) 至-6.63kcal/mol (NF- κ B) 之间，表明丹参酮IIA能够有效作用于该信号通路，并通过多靶点协同作用，影响炎症级联反应。其中，与TLR4的结合最稳定，提示丹参酮IIA可能主要通过TLR4作用从而抑制TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路起到抑制炎症小体的作用。此外，NF- κ B在Surflex-Dock中的对接分数较高，进一步验证了其可能影响下游炎症因子的释放。如图4。

表1. 分子对接结果

名称	PDB ID	AC Score	最低结合能	Total_Score
TLR4	3FXI	32.012183	-7.206	4.7496
MyD88	4DOM	32.671645	-2.891	3.3149
TAK1-TAB	4O91	31.140982	-4.191	3.9426
IKK- α	5TQW	38.698353	-6.662	4.6727
NF κ B p50/p65 异二聚体	1VKX	38.322727	-6.630	5.6712

4 讨论

本研究通过分子对接验证了丹参酮IIA通过TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路对NLRP3炎症小体的抑制作用，证实了其可能降低NLRP3炎症小体的激活水平，从而缓解脑缺血再灌注损伤。结合分子对接结果与相关研究，丹参酮IIA能够显著下调NLRP3炎症小体的活性。TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路的激活是NLRP3炎症小体表达的重要上游途径，而丹参酮IIA通过降低NF- κ B的活性，减少NLRP3、ASC和Caspase-1的表达，最终阻止IL-1 β 和IL-18等促炎因子的释放，从而达到抗炎作用。

NF- κ B在多种细胞信号通路中均发挥核心调节功能，丹参酮IIA对其活性的调控，可能影响更广泛的炎症网络，进一步增强其抗炎效果。已有研究表明，其不仅可作用于TLR4/NF- κ B信号通路，还可能通过MAPK途径影响细胞因子表达，抑制促炎因子如TNF- α 和IL-6的释放。此外，PI3K/Akt信号通路在调控神经元存活及抗炎反应方面起到重要作用，丹参酮IIA可能通过激活PI3K/Akt信号通路，提高抗氧化能力，从而减少氧化应激对组织的损伤。这表明，丹参酮IIA可能在CIRI及

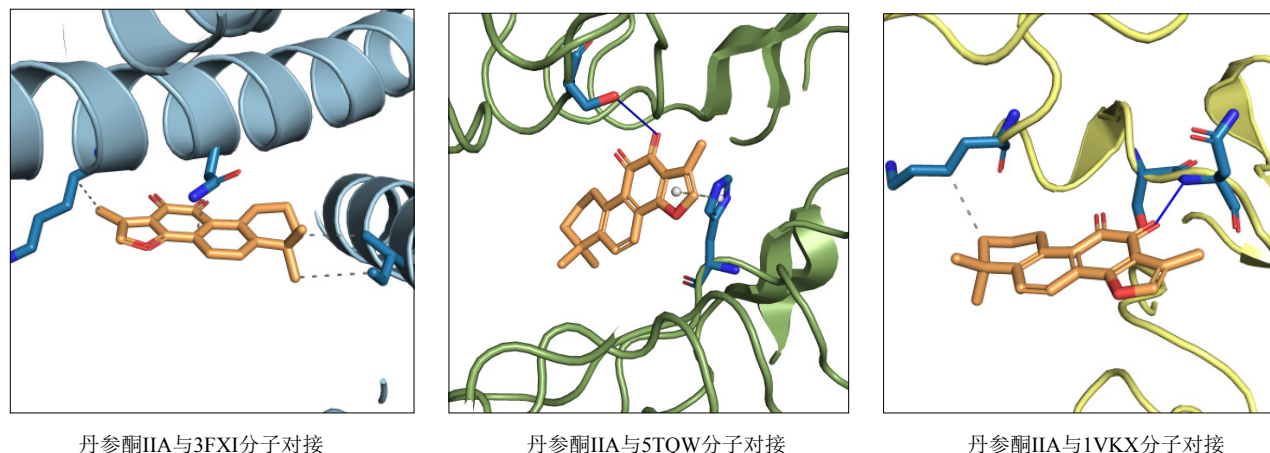


图4. 丹参酮IIA与受体蛋白对接3D图

其他神经系统疾病的治疗中具有更广泛的应用前景。

未来的研究可进一步结合体内实验，验证丹参酮IIA对NLRP3炎症小体的调控作用，观察其对CIRI病理过程的影响，进一步明确丹参酮IIA作用于TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路的具体分子机制。丹参酮IIA的药代动力学特性、生物利用度及给药方式也是未来研究的重要方向，以期提高其临床转化价值。后续研究可从以下几个方面展开：(1)采用分子动力学模拟，分析丹参酮IIA与TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路相关蛋白的结合稳定性及动力学特性；(2)通过细胞实验和动物模型验证丹参酮IIA对NLRP3炎症小体的抑制作用，并评估其对CIRI的保护效应；(3)结合药代动力学研究，优化丹参酮IIA的给药方式，提高其生物利用度及临床应用价值；(4)进一步探索丹参酮IIA可能涉及的其他炎症或氧化应激相关信号通路，为其在CIRI及其他神经系统疾病中的应用提供更全面的理论支持。

致谢

基金项目：2024年浙江中医药大学，国家级大学生创新创业训练计划项目（202410344066）。

参考文献：

[1] Zhou M, Wang H, Zeng X, et al. Mortality, morbidity, and risk

factors in China and its provinces, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2019 Sep 28;394(10204):1145-1158. doi: 10.1016/S0140-6736(19)30427-1. Epub 2019 Jun 24. Erratum in: *Lancet*. 2020 Jul 4;396(10243):26.

[2] 毛开睿,孙兵.NLRP3炎症小体研究进展[J].现代免疫学,2011,31(01):1-4.

[3] Zheng WX, He WQ, Zhang QR, et al. Baicalin Inhibits NLRP3 Inflammasome Activity Via the AMPK Signaling Pathway to Alleviate Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury. *Inflammation*. 2021 Oct;44(5):2091-2105.

[4] Luo J, Cai Y, Wei D, et al. Formononetin alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by targeting the PARP-1/PARG/Iduna signaling pathway. *Brain Res*. 2024 Apr 15;1829:148845.

[5] 程豪格,贺晨菲,冉春龙,等.中药调控NLRP3炎症小体干预脑缺血再灌注损伤的研究进展[J].中国药房,2025,36(02):245-250.

[6] 秦文秀,许军峰,杨婷,等.丹参酮IIA治疗缺血性脑卒中后神经损伤的信号通路研究进展[J].中国临床药理学与治疗学,2023,28(06):705-713.

[7] 侯道荣,刘振,崔斯童,等.丹参酮II-A通过调控TLR4/I κ Ba/NF κ B信号通路抑制LPS诱导的细胞炎症[J].中国药理学通报,2021,37(02):210-214.

[8] Wang J, Zhang Y, Feng X, et al. Tanshinone IIA alleviates atherosclerosis in LDLR $^{-/-}$ mice by regulating efferocytosis

- of macrophages. *Front Pharmacol*. 2023 Oct 11;14:1233709.
- [9] Fu J, Wu H. Structural Mechanisms of NLRP3 Inflammasome Assembly and Activation. *Annu Rev Immunol*. 2023 Apr 26;41:301-316.
- [10] 鲍璐璐,崔立红. TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路的研究进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2019, 28(05): 568-572.
- [11] 张作良,王家兴,王婉润,等. 基于 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路介导的细胞焦亡探讨加味少腹逐瘀汤拮抗异位子宫内膜组织纤维化机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(04): 19-28.
- [12] Chai R, Ye Z, Xue W, et al. Tanshinone IIA inhibits cardiomyocyte pyroptosis through TLR4/NF- κ B p65 pathway after acute myocardial infarction. *Front Cell Dev Biol*. 2023 Sep 12;11:1252942.

