**生信分析报告**

**项目标题： 清心莲子饮网络药理学分析 ;**

**单 号： BSJF240734 ;**

**分析人员： 黄礼闯 ;**

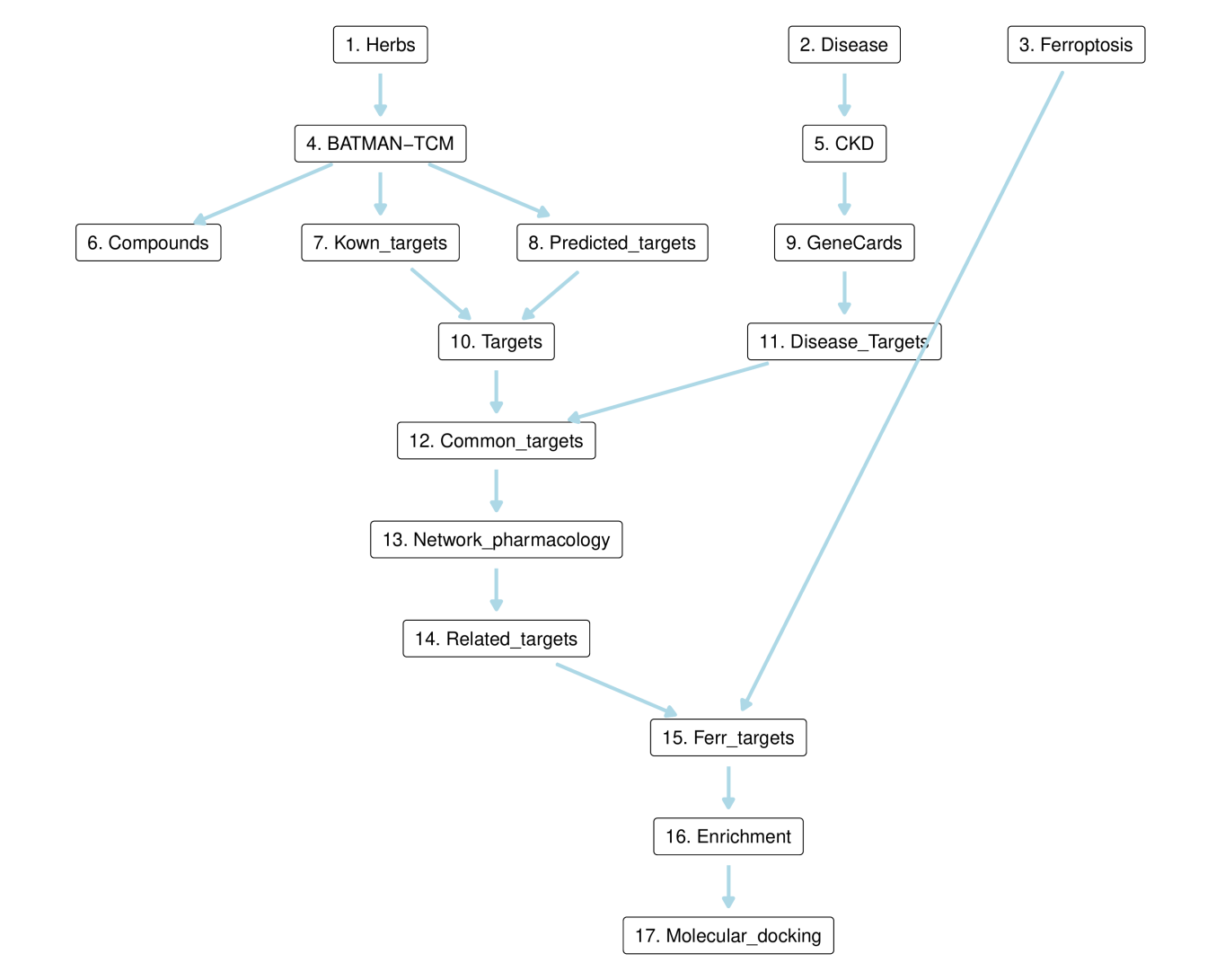
**分析类型： 生信分析 ;**

**委 托 人： 林波 ;**

**受 托 人： 杭州铂赛生物科技有限公司 .**

# 1 分析流程

1. 通过网络药理学筛选出清心莲子饮和CKD的共同靶点
2. 根据上一步靶点的相关信号通路与铁死亡相关信号通路进行通路富集



**Fig.** **1** Unnamed 1

**(File path: Figure+Table/1.0\_分析流程\_{#abstract}/Unnamed-1.pdf)**

# 2 材料和方法

## 2.1 数据分析平台

在 Linux pop-os x86\_64 (6.9.3-76060903-generic) 上，使用 R version 4.4.2 (2024-10-31) (<https://www.r-project.org/>) 对数据统计分析与整合分析。

## 2.2 BATMAN 网络药理学 (Dataset: QINGXIN)

从数据库 BATMAN-TCM ((2024, **IF:16.6**, Q1, Nucleic acids research)1) 中获取 CHI SHAO, MAI DONG, CHE QIAN ZI, REN SHEN, DI GU PI, LIAN ZI, HUANG QIN, GAN CAO, HUANG QI 等中药的成分、靶点数据。(即中药：莲子, 麦冬, 黄芩, 地骨皮, 人参, 车前子, 甘草, 赤芍, 黄芪)。以 Python 工具 HOB (2022, **IF:7.1**, Q1, Journal of Cheminformatics)2 预测化合物人类口服利用度 (20%)。 使用 BATMAN-TCM 数据库中的 known\_target\_proteins 作为成分靶点。此外，还使用了 BATMAN-TCM 数据库中的 predicted\_target\_proteins 作为成分靶点，并设定 分数 cut-off 为 0.9。合并靶点数据。以 BiomaRt ((2009, **IF:13.1**, Q1, Nature protocols)3) 对靶点信息的 entrez\_id 转化为基因 Symbol (hgnc\_symbol) 。 以 PubChemR 获取化合物同义名 (Synonym)，按正则表达式 (Regex) 匹配化合物简短的同义名用以化合物注释。

## 2.3 GeneCards 基因获取 (Dataset: CKD)

从 GeneCards 数据库 (2016, **IF:NA**, NA, Current protocols in bioinformatics)4 获取 Chronic kidney disease 相关的基因集，得分 cut-off 为 3。

## 2.4 FerrDb 铁死亡调控因子 (Dataset: FERR)

从数据库 FerrDb V2 (2023, **IF:16.6**, Q1, Nucleic acids research)5 获取与铁死亡相关的调控因子或铁死亡与疾病之间的关联信息 <http://www.zhounan.org/ferrdb/current/>。

## 2.5 ClusterProfiler 富集分析 (Dataset: COMMON)

以 ClusterProfiler R 包 (4.15.0.2) (2021, **IF:33.2**, Q1, The Innovation)6进行 KEGG 和 GO 富集分析。以 p.adjust 表示显著水平。

## 2.6 Limma 差异分析 (Dataset: CKD)

使用 log2 和 limma::normalizeBetweenArrays 对数据标准化。 以 limma (3.62.1) (2005)7 差异分析。创建设计矩阵，对比矩阵，差异分析：CKD vs Control。使用 limma::lmFit, limma::contrasts.fit, limma::eBayes 拟合线形模型。以 limma::topTable 提取所有结果，并过滤得到 adj.P.Val 小于 0.05，|Log2(FC)| 大于 1 的统计结果。

## 2.7 AutoDock vina 分子对接 (Dataset: QINGXIN)

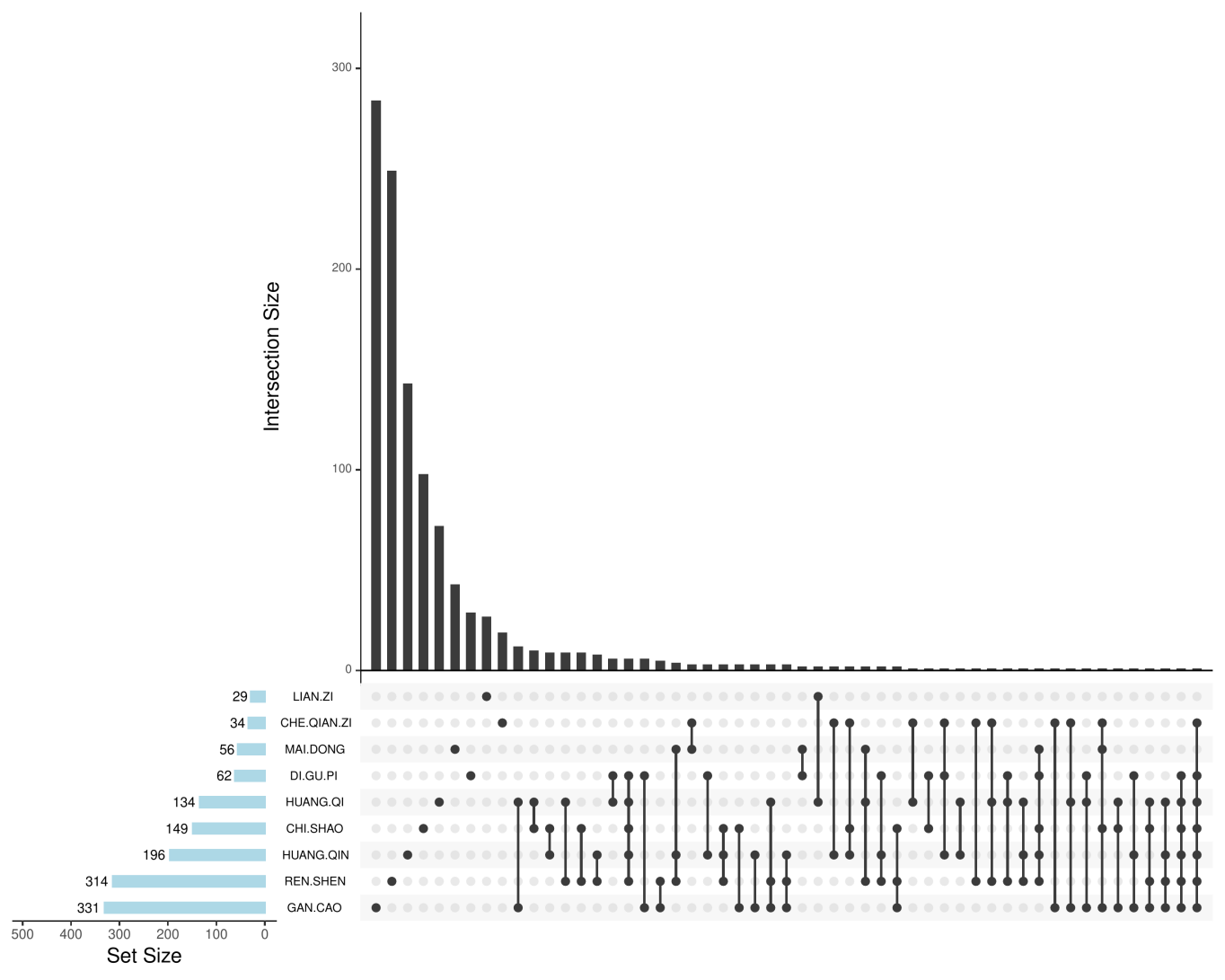
以 R 包 biomaRt (2.62.0) (2009, **IF:13.1**, Q1, Nature protocols)3 获取基因 Symbol 对应的蛋白结构 PDB (<https://www.rcsb.org/>) 数据库 ID。以 R 包 bio3d (2.4.5) 获取 PDB ID 对应的注释 (蛋白结构分辨率, resolution) 。首要以 resolution 选取用于分子对接的蛋白结构 (resolution 越小，分辨率越高) 。 以 PubChem API (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/docs/pug-rest>) 获取化合物 SDF 结构文件。使用 openbabel 的工具 (obgen) 计算 SDF 文件的 3D 构象 (转化为 3D SDF文件)。以 Python meeko 包 (mk\_prepare\_ligand.py) 转化 SDF 文件获取配体 PDBQT 用于分子对接。 以 RCSB API (<https://www.rcsb.org/docs/programmatic-access/web-apis-overview>) 获取蛋白 PDB 文件。以 pymol (2010, **IF:3**, Q2, Journal of Computer-Aided Molecular Design)8 删除受体 PDB 文件中的非标准残基 (例如 NAG, BMA, FUL)。以 ADFR (2019, **IF:3.4**, Q2, Journal of computational chemistry)9 工具组的准备受体蛋白的 PDBQT 文件 (以 prepare\_receptor 添加氢原子，并转化为 PDBQT 文件) 。请参考 <https://autodock-vina.readthedocs.io/en/latest/docking_basic.html>。 以 AutoDock-Vina 提供的工具 (prepare\_gpf.py) (<https://github.com/ccsb-scripps/AutoDock-Vina>) 创建 GPF (grid parameter file)。以 ADFR (2019, **IF:3.4**, Q2, Journal of computational chemistry)9 工具 autogrid4 计算亲和图谱 (Affinity Maps)。运行 AutoDock-Vina (2021, **IF:5.6**, Q1, Journal of Chemical Information and Modeling)10 (parameters: scoring = ad4; exhaustiveness = 32)。

# 3 分析结果

## 3.1 BATMAN 网络药理学 (QINGXIN)

从数据库 BATMAN-TCM 中药的成分、靶点数据 (详见方法章节) 。通过 PubChemR 获取化合物的结构式 (SMILES)。以化合物结构式 (SMILES) 通过 HOB 程序预测是否达到口服利用度 20%。HOB 预测结果，所有用于预测的化合物 (含有结构式信息的) 1900 个，达到口服利用度标准的有 1101 个 (注：根据唯一结构式统计)。经过筛选，各中药的化合物组成统计 (可能有交叉涵盖)：CHE QIAN ZI (n=34) , CHI SHAO (n=149) , DI GU PI (n=62) , GAN CAO (n=331) , HUANG QI (n=134) , HUANG QIN (n=196) , LIAN ZI (n=29) , MAI DONG (n=56) , REN SHEN (n=314) 。 共 1102 个化合物 (注：根据唯一 PubChem CID 统计)， 其中，含有靶点信息记录的化合物共 171 个 (非重复)。共包含靶点 1486 个 (非重复)。

Fig. **[2](#Intersection-of-herbs-compounds)** UpSet 图展示了中药各组成成分之间的交集 (中药名为拼音)。左侧横柱状图展示了各中药对应化合物数量。右侧展示了交集数目。各中药的化合物数目为数据库包含的化合物数量。数目最多的为 GAN CAO (n=331)；数目最少的为 LIAN ZI (n=29)；平均数目 145。 Fig. **[3](#Intersection-of-herbs-all-targets)** UpSet 图展示了中药的所有靶点 (中药名为拼音) 。该靶点是通过加和所有中药成分的靶点实现的。数目最多的为 REN SHEN (n=972)；数目最少的为 LIAN ZI (n=50)；平均数目 447。 Tab. **[1](#Herbs-compounds-and-targets)** 为所有中药、化合物以及对应靶点汇总表格。

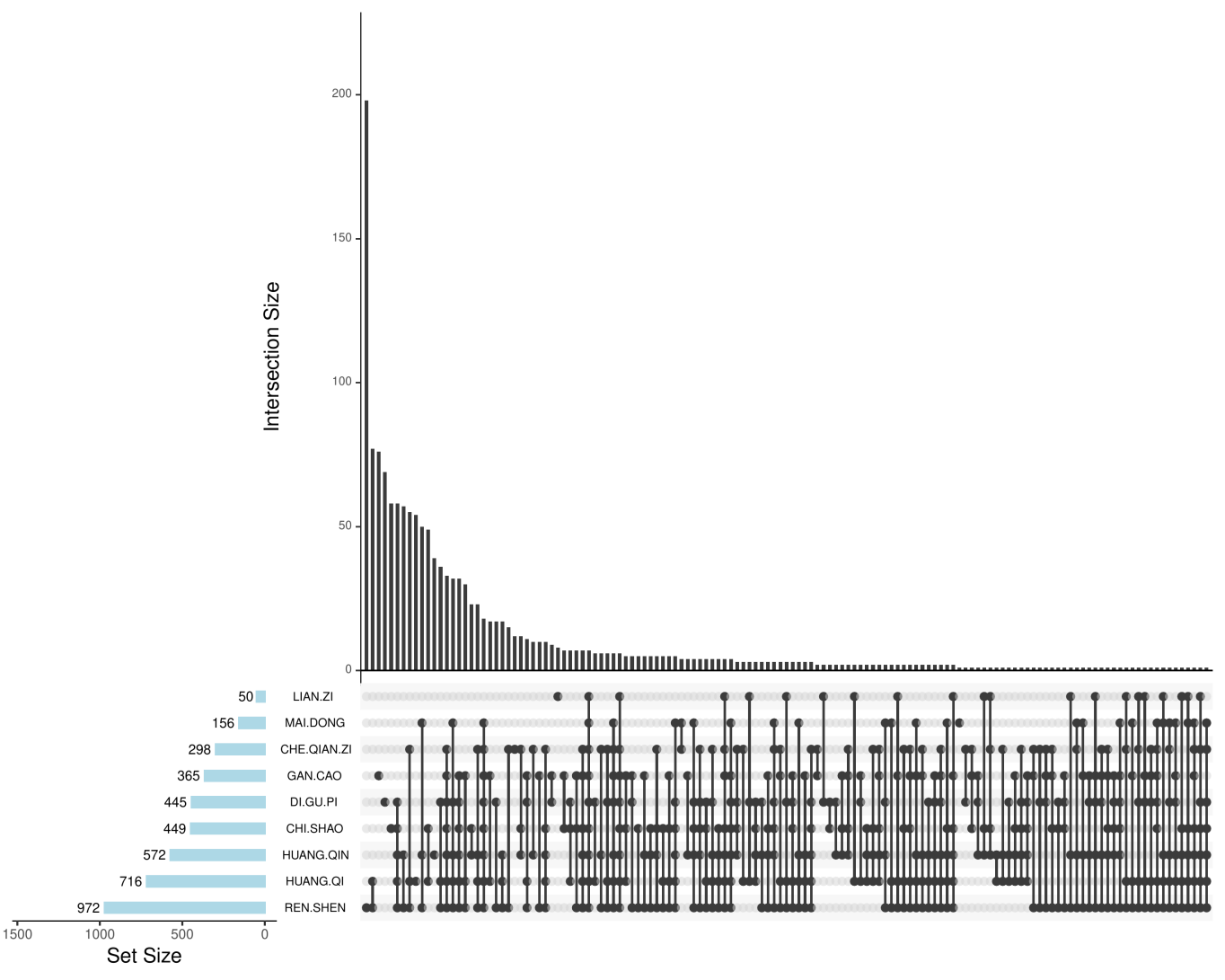


**Fig.** **2** Intersection of herbs compounds

**(File path: Figure+Table/3.1\_BATMAN\_网络药理学\_(QINGXIN)/Intersection-of-herbs-compounds.pdf)**

* All\_intersection:

**(See: Figure+Table/3.1\_BATMAN\_网络药理学\_(QINGXIN)/Intersection-of-herbs-compounds-content)**



**Fig.** **3** Intersection of herbs all targets

**(File path: Figure+Table/3.1\_BATMAN\_网络药理学\_(QINGXIN)/Intersection-of-herbs-all-targets.pdf)**

* All\_intersection: CASP3, NA, CASP9, HMOX1, MAPK1, MAPK3, AKT1

**(See: Figure+Table/3.1\_BATMAN\_网络药理学\_(QINGXIN)/Intersection-of-herbs-all-targets-content)**

**Tab.** **1** Herbs compounds and targets

| Ingredient.id | Herb pinyin name | Ingredient.name | Target.name |
| --- | --- | --- | --- |
| 3 | HUANG QI | 5,6-dihydroxycycl... |  |
| 72 | GAN CAO | Protocatechuate | AKT1 |
| 72 | GAN CAO | Protocatechuate | MGAM |
| 119 | HUANG QI | Aminalon | GABBR1 |
| 119 | HUANG QI | Aminalon | GABBR2 |
| ... | ... | ... | ... |

**(File path: Figure+Table/3.1\_BATMAN\_网络药理学\_(QINGXIN)/Herbs-compounds-and-targets.xlsx)**

## 3.2 GeneCards 基因获取 (CKD)

从 GeneCards 搜索 Chronic kidney disease, 获取对应靶点数据，统计为 Functional Element (n=11) , Genetic Locus (n=1) , Protein Coding (n=675) , Pseudogene (n=1) , RNA Gene (lncRNA) (n=20) , RNA Gene (miRNA) (n=28) , RNA Gene (tRNA) (n=2) 。共 738 个靶点。

**Tab.** **2** CKD disease related targets from GeneCards

| Symbol | Description | Category | UniProt ID | GIFtS | GC id | Score |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| COL4A4 | Collagen T... | Protein Co... | P53420 | 55 | GC02M226973 | 34.39 |
| NPHS2 | NPHS2 Stom... | Protein Co... | Q9NP85 | 54 | GC01M179554 | 31.78 |
| COL4A5 | Collagen T... | Protein Co... | P29400 | 56 | GC0XP108439 | 30.73 |
| UMOD | Uromodulin | Protein Co... | P07911 | 55 | GC16M027663 | 29.38 |
| PKD2 | Polycystin... | Protein Co... | Q13563 | 60 | GC04P088007 | 26.96 |
| ... | ... | ... | ... | ... | ... | ... |

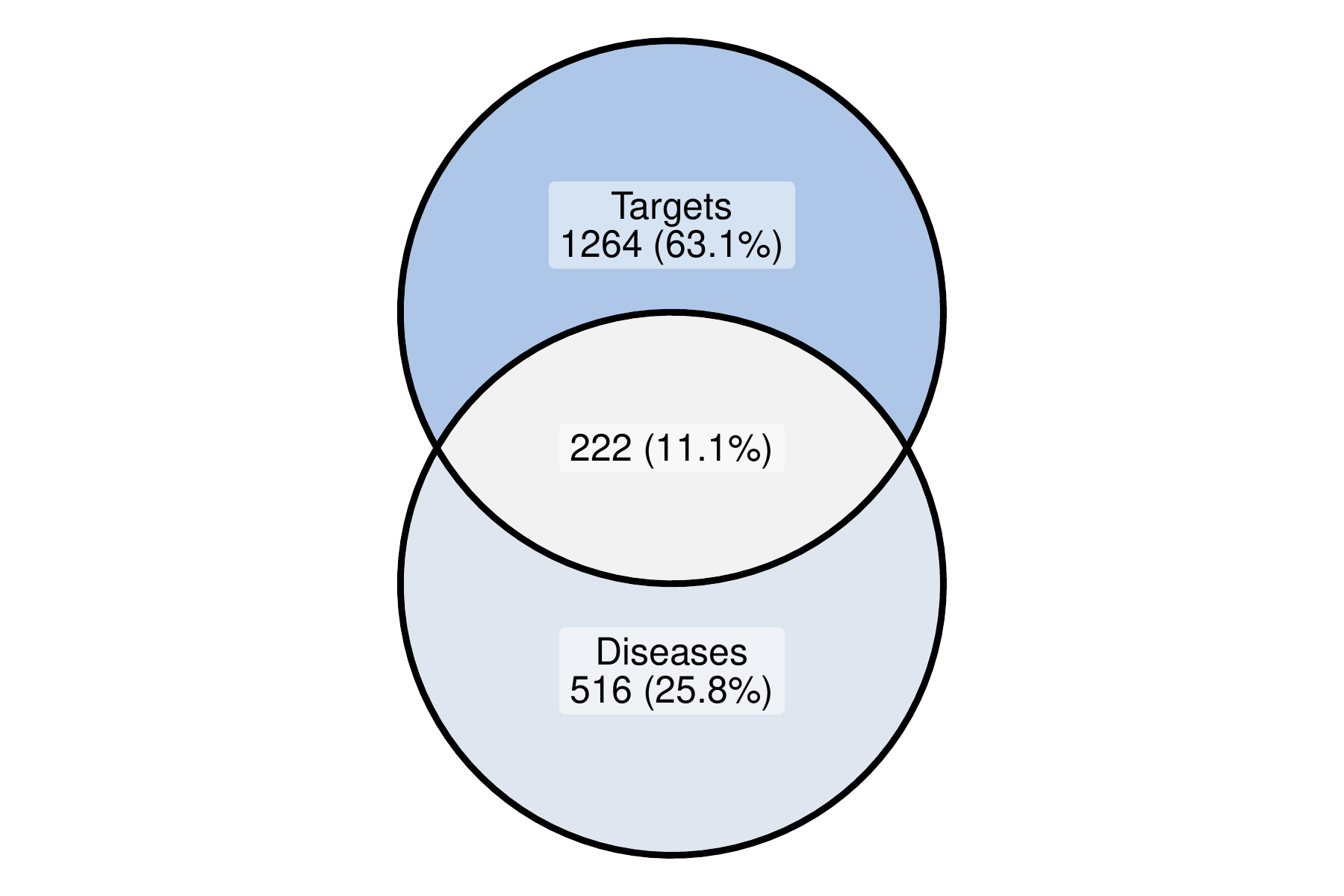
**(File path: Figure+Table/3.2\_GeneCards\_基因获取\_(CKD)/CKD-disease-related-targets-from-GeneCards.xlsx)**

* The GeneCards data was obtained by querying: Chronic kidney disease
* Restrict (with quotes): TRUE
* Filtering by Score:: Score > 3

## 3.3 Network 中药-成分-疾病-靶点网络 (QINGXIN)

将 疾病 的靶点与中药靶点取交集，随后过滤中药成分与靶点数据，形成中药-成分-疾病-靶点网络。

Fig. **[4](#QINGXIN-Targets-intersect-with-related-targets)** 展示了中药的靶点与疾病靶点基因集 (来自于GeneCards 基因获取(Section: CKD)) 的交集数目。 两者共含有 222 个交集靶点。 Fig. **[5](#QINGXIN-network-pharmacology-with-filtered-type)** 展示了中药、成分、靶点 (中药靶点与疾病靶点的交集) 的网络图。 该图对中心度 (centrality\_degree) 较高的节点 (成分或靶点) 做了名称标注。 图中的图例标注了节点的所属类型：中药、化合物、靶点。 化合物可分为该中药唯一所含的化合物，或者与其他中药共有的化合物。 共有的化合物环绕在靶点周围，而唯一的化合物则环绕在中药周围。唯一化合物统计为：CHE QIAN ZI (n=3) , CHI SHAO (n=15) , DI GU PI (n=7) , GAN CAO (n=20) , HUANG QI (n=6) , HUANG QIN (n=21) , LIAN ZI (n=4) , REN SHEN (n=23)  
Tab. **[3](#QINGXIN-network-pharmacology-with-filtered-type-original-data)** 为用于绘制中药-成分-疾病-靶点网络的数据集。

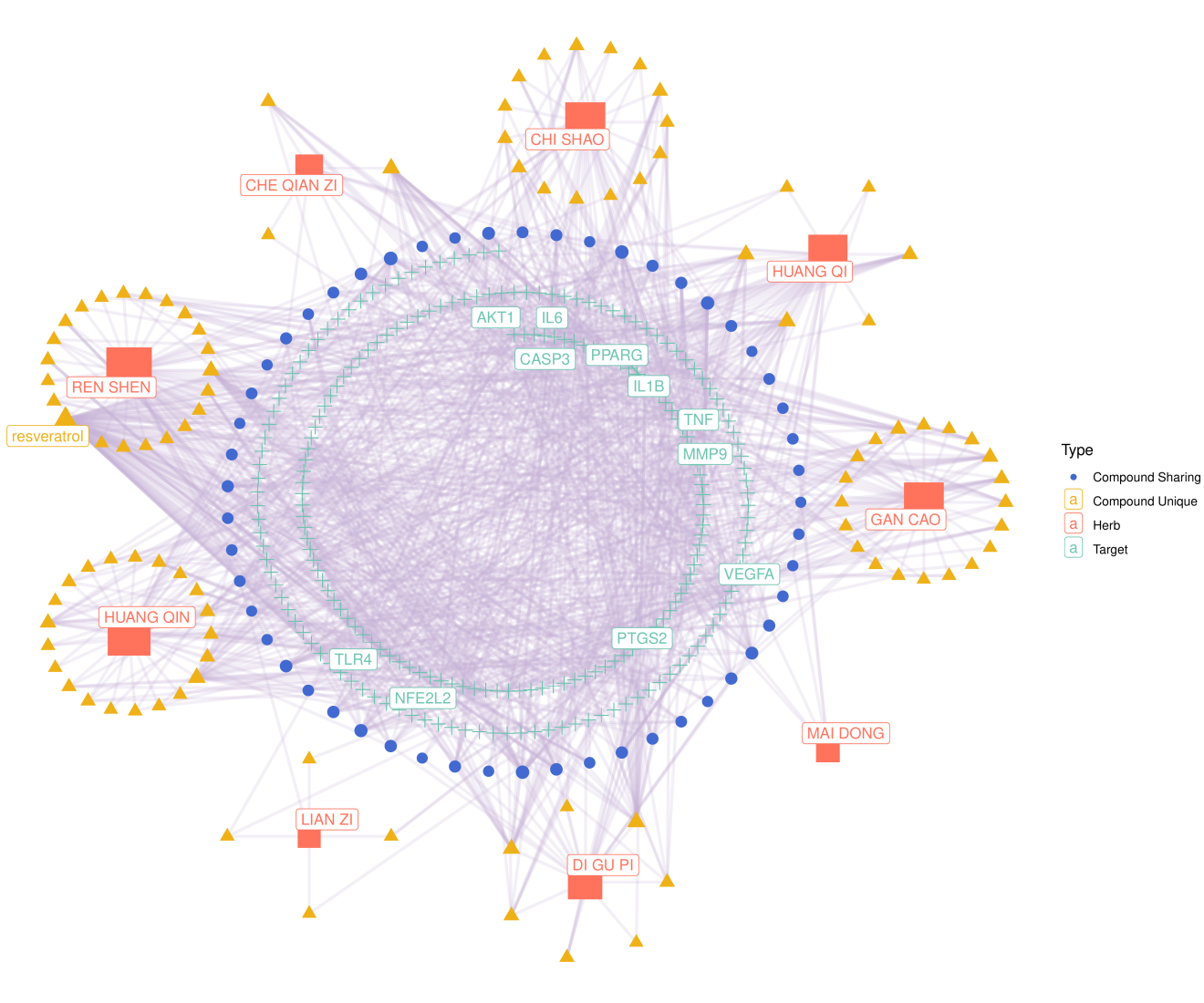


**Fig.** **4** QINGXIN Targets intersect with related targets

**(File path: Figure+Table/3.3\_Network\_中药-成分-疾病-靶点网络\_(QINGXIN)/QINGXIN-Targets-intersect-with-related-targets.pdf)**

* All\_intersection: NPHS2, PKD2, FGF23, CASR, AGT, KL, ACE, CRP, ALB, REN, TNFRSF11B, APOA1, NPHS1, LCN2, IL6, ADIPOQ, PTH, VDR, AGTR1, TNF, MTHFR, FN1, LEP, TGFB1, NOS3, INS, BGLAP, SPP1, NPPB, IGF1, MUC1, CBS, TF, EDN1, PON1, APOB, AGXT, CD36, VEGFA, CCL2, GATM, TNFSF11, CETP, NPPA, TTR, CTNNB1, APRT, APOE, HMOX1, IGFBP3, CYP27B1, IL1B, FABP1, NR3C2, MIR21, ALPL, SLC12A3, LPL, HGF, MMP3, MMP1, TGFBR1, HMGB1, RBP4, HP, CALCA, AQP1, SLPI, MIR155, MMUT, MMP9, HAMP, SOD1, AGER, PLA2G7, RUNX2, MMP2, ESR1, GPX3, DNA…

**(See: Figure+Table/3.3\_Network\_中药-成分-疾病-靶点网络\_(QINGXIN)/QINGXIN-Targets-intersect-with-related-targets-content)**



**Fig.** **5** QINGXIN network pharmacology with filtered type

**(File path: Figure+Table/3.3\_Network\_中药-成分-疾病-靶点网络\_(QINGXIN)/QINGXIN-network-pharmacology-with-filtered-type.pdf)**

**Tab.** **3** QINGXIN network pharmacology with filtered type original data

| Herb pinyin name | Ingredient.name | Target.name |
| --- | --- | --- |
| GAN CAO | Protocatechuate | AKT1 |
| HUANG QI | Aminalon | GATM |
| HUANG QI | Aminalon | IL6 |
| HUANG QI | Aminalon | PDX1 |
| HUANG QI | Aminalon | GCK |
| ... | ... | ... |

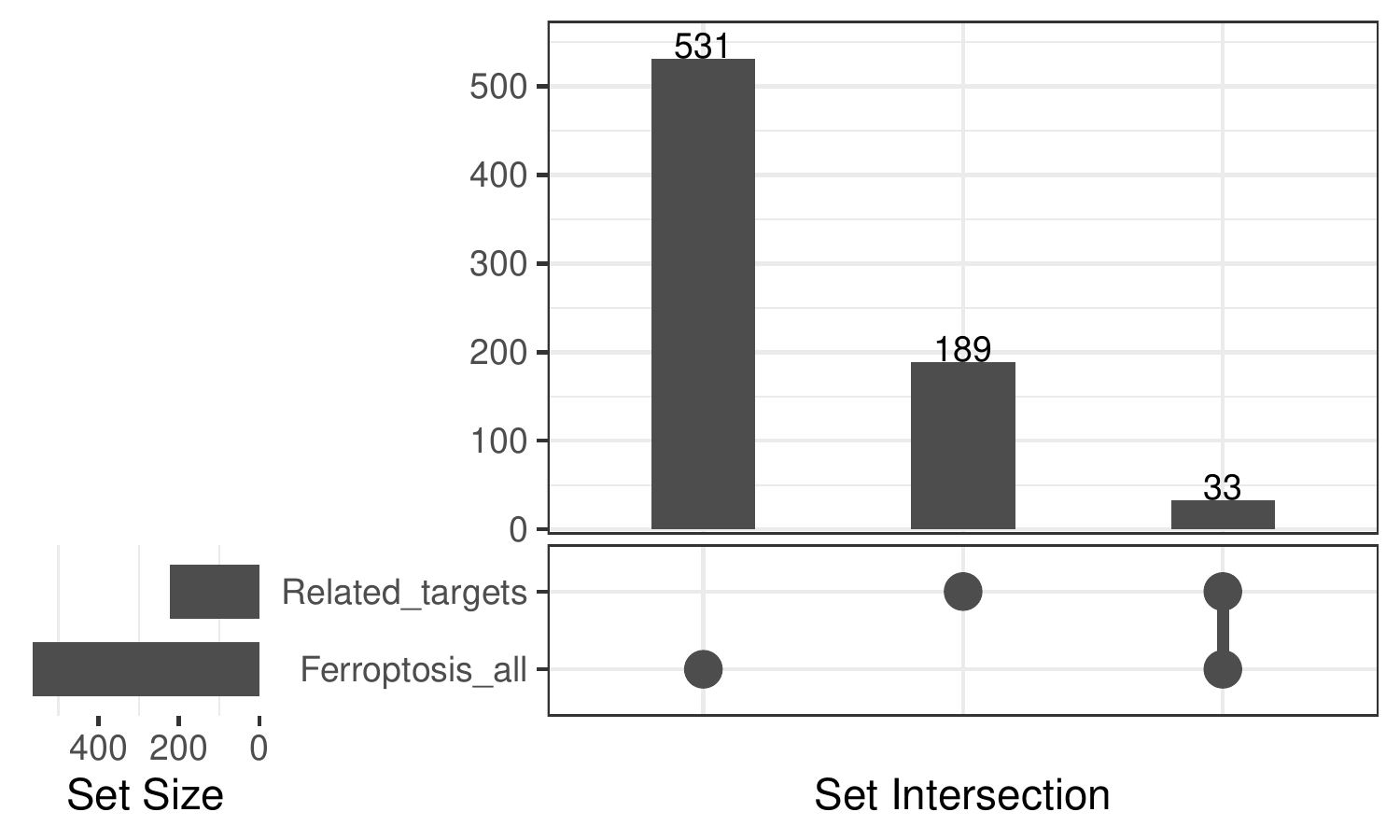
**(File path: Figure+Table/3.3\_Network\_中药-成分-疾病-靶点网络\_(QINGXIN)/QINGXIN-network-pharmacology-with-filtered-type-original-data.xlsx)**

## 3.4 FerrDb 铁死亡调控因子 (FERR)

从数据库 FerrDb V2 获取与铁死亡相关的调控因子或铁死亡与疾病之间的关联信息。铁死亡相关调控因子统计：marker (n=9) , driver (n=264) , suppressor (n=238) , unclassifier (n=110)

## 3.5 FerrDb 与铁死亡相关基因的交集 (FERR)

将基因集 (基因集 来自于 中药-成分-疾病-靶点网络 (QINGXIN)) 与 FerrDb 数据库中铁死亡调控因子取交集。得到共 33 个交集基因。 Fig. **[6](#Intersection-of-Related-targets-with-Ferroptosis-all)** 展示了与铁死亡相关调控因子的交集。数目最多的为 Ferroptosis\_all (n=564)；数目最少的为 Related\_targets (n=222)；平均数目 393。



**Fig.** **6** Intersection of Related targets with Ferroptosis all

**(File path: Figure+Table/3.5\_FerrDb\_与铁死亡相关基因的交集\_(FERR)/Intersection-of-Related-targets-with-Ferroptosis-all.pdf)**

* All\_intersection: ALB, LCN2, IL6, ADIPOQ, VDR, TGFB1, MUC1, CBS, TF, VEGFA, HMOX1, IL1B, TGFBR1, HMGB1, HAMP, IFNG, TLR4, NFE2L2, HIF1A, TIMP1, PPARG, GSTM1, HNF4A, TP53, DPP4, MTOR, CDH1, NOX4, IDO1, PTGS2, GSK3B, SLC11A2, KEAP1

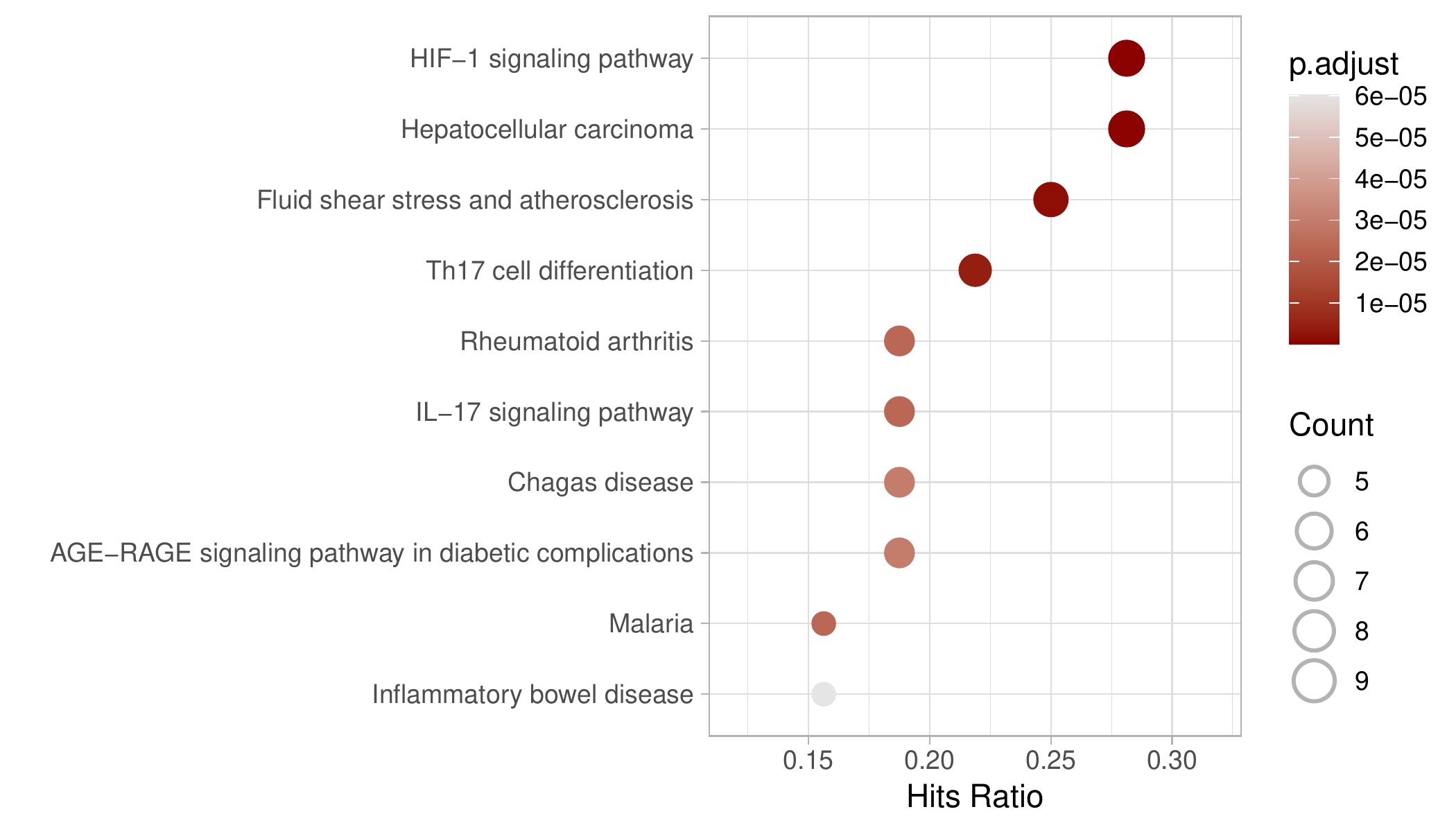
**(See: Figure+Table/3.5\_FerrDb\_与铁死亡相关基因的交集\_(FERR)/Intersection-of-Related-targets-with-Ferroptosis-all-content)**

## 3.6 ClusterProfiler 富集分析 (COMMON)

对基因集 (ALB, LCN2, etc., (基因集来自于铁死亡交集基因(FERR)) ) 进行ClusterProfiler 富集分析。

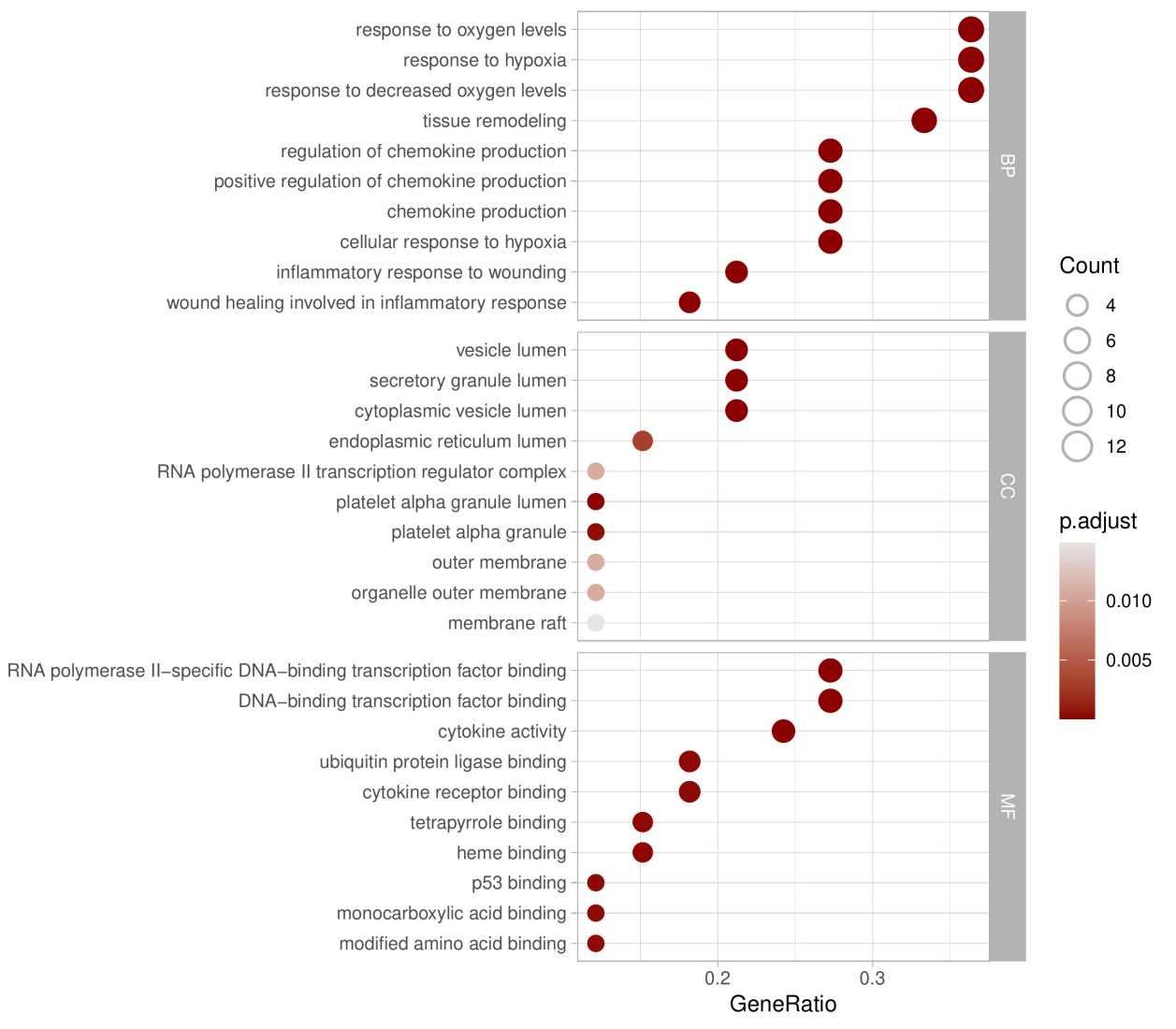
Fig. **[7](#COMMON-KEGG-enrichment)** KEGG 富集图展示了以 p.adjust 排序，前 10 的富集通路。 Fig. **[8](#COMMON-GO-enrichment)** GO 富集图展示了基因集在 GO 的 BP (Biological Process), MF (Molecular Function), CC (Cellular Component) 组中的富集结果 (以 p.adjust 排序，各自展示前 10 的富集通路) 。 Fig. **[9](#COMMON-pathviews-hsa04066)** KEGG 通路可视化 (hsa04066) 展示了富集基因在该通路的上下游关系。通路图中的基因的映射颜色表示是否显著富集。

HIF-1 signaling pathway 已在多种疾病中被报道与铁死亡的关系 (2023, **IF:3.9**, Q2, Frontiers in endocrinology)11 (2022, **IF:4.4**, Q1, Frontiers in pharmacology)12 (2023, **IF:3.5**, Q2, Brain research bulletin)13。



**Fig.** **7** COMMON KEGG enrichment

**(File path: Figure+Table/3.6\_ClusterProfiler\_富集分析\_(COMMON)/COMMON-KEGG-enrichment.pdf)**



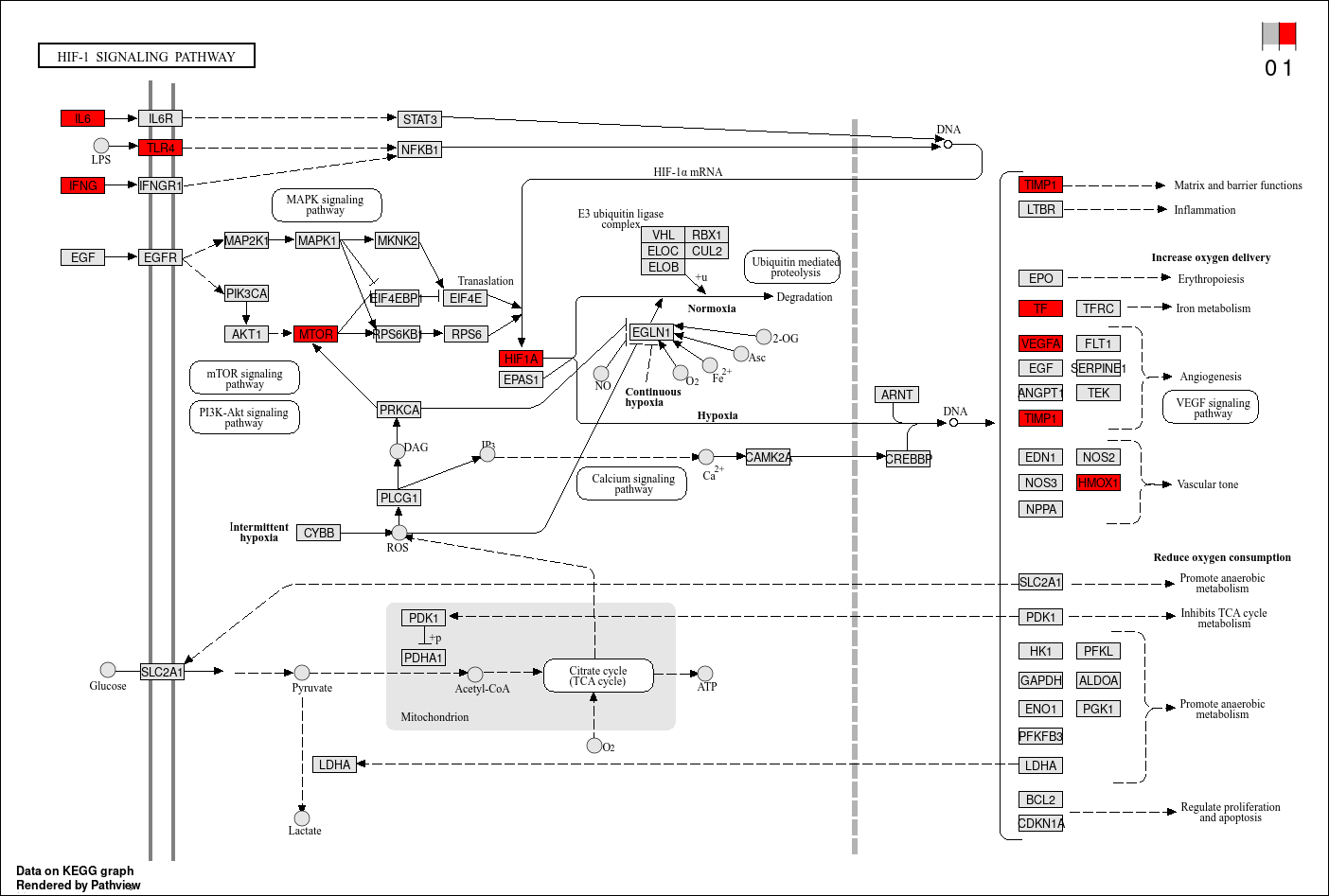
**Fig.** **8** COMMON GO enrichment

**(File path: Figure+Table/3.6\_ClusterProfiler\_富集分析\_(COMMON)/COMMON-GO-enrichment.pdf)**

**Tab.** **4** COMMON KEGG enrichment data

| Category | Subcat... | ID | Descri... | GeneRatio | BgRatio | Pvalue | P.adjust | Qvalue | GeneID |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Enviro... | Signal... | Hsa04066 | HIF-1 ... | 9/32 | 110/8878 | 1.093e-10 | 1.956e-08 | 9.087e-09 | 3091/3... |
| Human ... | Cancer... | Hsa05225 | Hepato... | 9/32 | 170/8878 | 5.382e-09 | 4.817e-07 | 2.238e-07 | 2932/2... |
| Human ... | Cardio... | Hsa05418 | Fluid ... | 8/32 | 141/8878 | 2.529e-08 | 1.509e-06 | 7.011e-07 | 2944/3... |
| Organi... | Immune... | Hsa04659 | Th17 c... | 7/32 | 109/8878 | 9.053e-08 | 4.051e-06 | 1.882e-06 | 3091/3... |
| Human ... | Infect... | Hsa05144 | Malaria | 5/32 | 50/8878 | 8.29e-07 | 2.37e-05 | 1.101e-05 | 3458/3... |
| ... | ... | ... | ... | ... | ... | ... | ... | ... | ... |

**(File path: Figure+Table/3.6\_ClusterProfiler\_富集分析\_(COMMON)/COMMON-KEGG-enrichment-data.xlsx)**



**Fig.** **9** COMMON pathviews hsa04066

**(File path: Figure+Table/3.6\_ClusterProfiler\_富集分析\_(COMMON)/COMMON-pathviews-hsa04066.png)**

* Interactive figure: <https://www.genome.jp/pathway/hsa04066>
* Enriched genes: VEGFA, HIF1A, MTOR, TF, TIMP1, HMOX1, TLR4, IFNG, IL6

## 3.7 GEO 数据获取 (CKD)

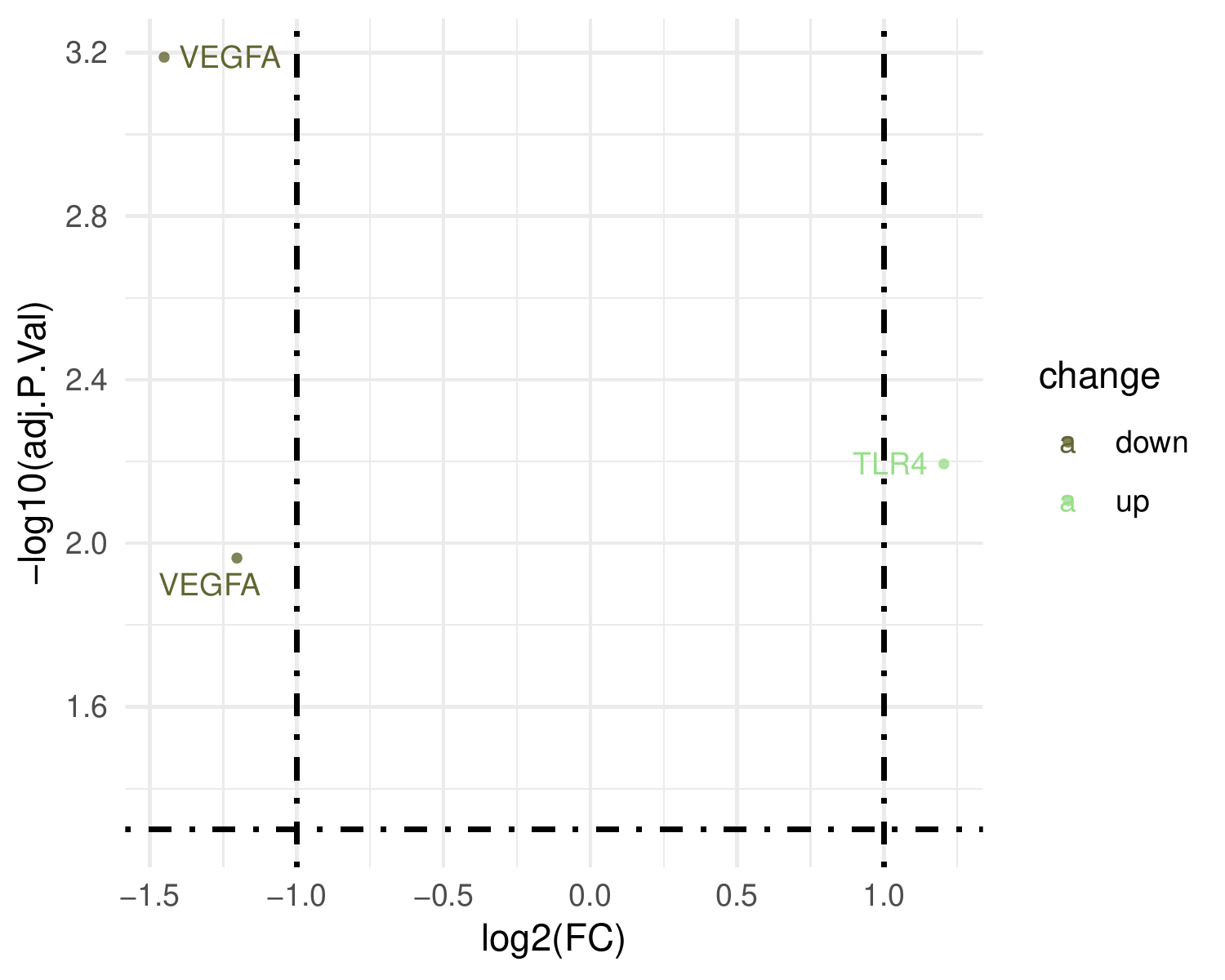
* Data Source ID: GSE66494
* data\_processing: The scanned images were analyzed with Feature Extraction Software (Agilent) using default parameters (protocol GE1\_107\_Sep09 and Grid: 014850\_D\_20070820) to obtain background subtracted and spatially detrended Processed Signal intensities. Features flagged in Feature Extraction as Feature Non-uniform outliers were excluded.
* data\_processing.1: The signals were normalized with each median.

**(见Figure+Table/3.7\_GEO\_数据获取\_(CKD)/CKD-GSE66494-content)**

## 3.8 Limma 差异分析 (CKD)

样本分组：CKD (n=53) , Control (n=8) 。以 公式 ~ 0 + group + batch 创建设计矩阵 (design matrix) (Batch: Discovery (n=53) , Validation (n=8) )。差异分析：CKD vs Control。(若 A vs B，则为前者比后者，LogFC 大于 0 时，A 表达量高于 B)。 针对 VEGFA, HIF1A, MTOR, TF, TIMP1, HMOX1, TIMP1, TLR4, IFNG, IL6 (来自于通路 (hsa04066) 中的富集基因(Section: COMMON)) 差异分析。 上调或下调 DEGs 统计：up (n=1) , down (n=1)

Fig. **[10](#CKD-CKD-vs-Control)** 为 CKD - Control 差异分析火山图。 Fig. **[11](#CKD-Box-Plot-Of-DEGs)** 基因 VEGFA, TLR4 表达水平，以及对应的 limma 差异分析显著水平。 Tab. **[5](#CKD-data-CKD-vs-Control)** 为 CKD - Control 差异分析统计表格。

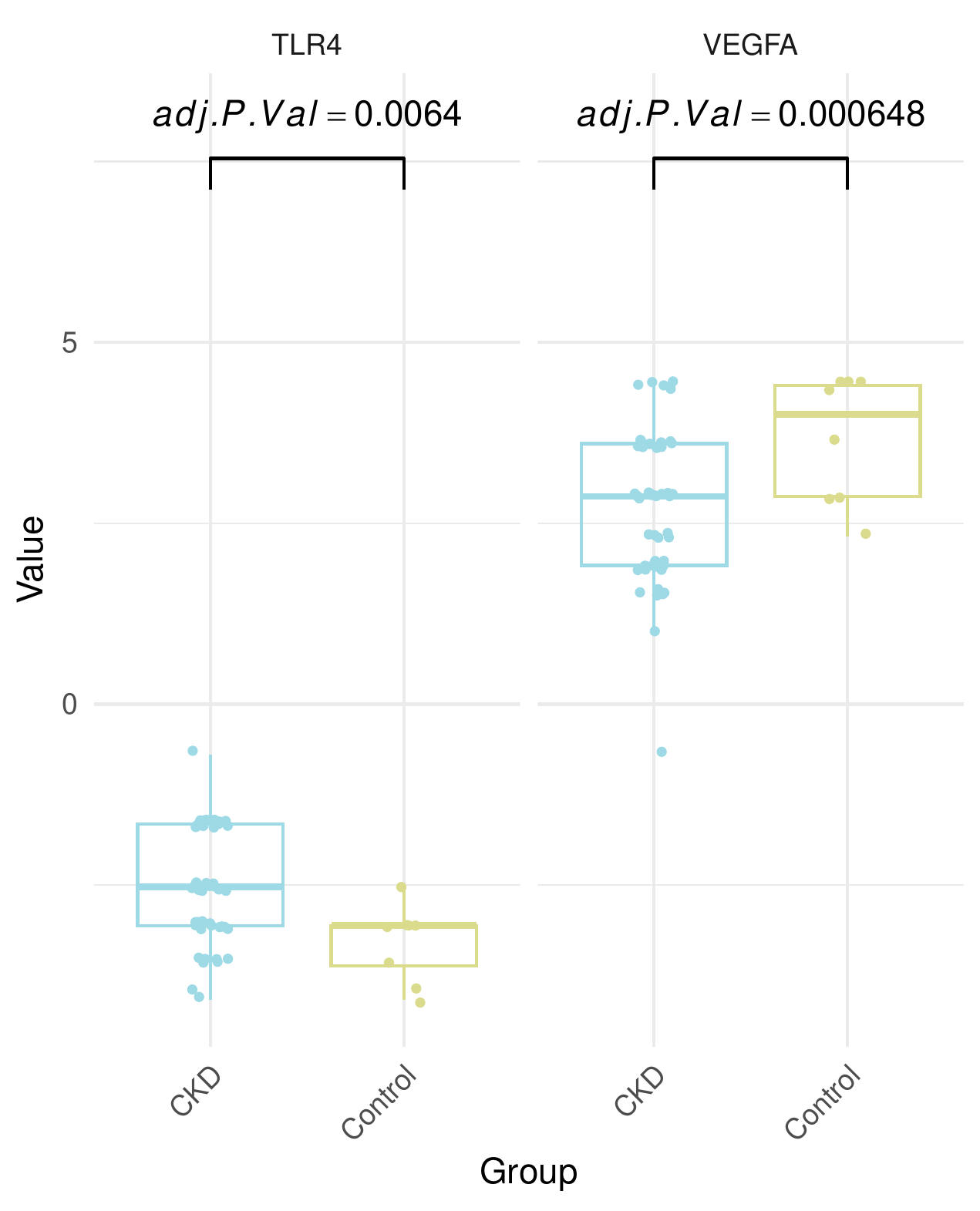


**Fig.** **10** CKD CKD vs Control

**(File path: Figure+Table/3.8\_Limma\_差异分析\_(CKD)/CKD-CKD-vs-Control.pdf)**

* adj.P.Val cut-off: 0.05
* Log2(FC) cut-off: 1

**(See: Figure+Table/3.8\_Limma\_差异分析\_(CKD)/CKD-CKD-vs-Control-content)**



**Fig.** **11** CKD Box Plot Of DEGs

**(File path: Figure+Table/3.8\_Limma\_差异分析\_(CKD)/CKD-Box-Plot-Of-DEGs.pdf)**

**Tab.** **5** CKD data CKD vs Control

| GENE S... | LogFC | Adj.P.Val | Rownames | ID | SPOT ID | CONTRO... | REFSEQ | GB ACC | GENE |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| VEGFA | -1.452 | 0.0006477 | A 23 P... | A 23 P... | A 23 P... | FALSE | NM 001... | NM 001... | 7422 |
| TLR4 | 1.204 | 0.006397 | A 32 P... | A 32 P... | A 32 P... | FALSE | NM 138554 | NM 138554 | 7099 |
| VEGFA | -1.204 | 0.01087 | A 24 P... | A 24 P... | A 24 P... | FALSE | NM 001... | NM 001... | 7422 |

**(File path: Figure+Table/3.8\_Limma\_差异分析\_(CKD)/CKD-data-CKD-vs-Control.xlsx)**

## 3.9 AutoDock vina 分子对接 (QINGXIN)

对基因集 (TLR4, 来自于Pathview 通路可视化(Section: COMMON)) 进行AutoDock vina 分子对接。含靶点基因的化合物与对应的中药统计：CHI SHAO (n=7) , DI GU PI (n=3) , GAN CAO (n=2) , HUANG QI (n=1) , HUANG QIN (n=8) , MAI DONG (n=2) , REN SHEN (n=9) 。用于分子对接的靶点对应化合物统计：TLR4 (n=19) 。以 biomaRt 获取基因 Symbol 对应的蛋白结构 (PDB，详见方法章节)。选取分辨率最高 (即，resolution 值最小) 的 PDB 作为分子对接的蛋白结构。从 PubChem 获取化合物 SDF 结构文件(2D)。以 openbabel 计算化合物的 3D 构象。以 meeko 从 SDF 转化得到配体的 PDBQT 文件。从 RCSB PDB 获取 PDB 文件。以 pymol 去除非标准残基 (NAG, BMA, FUL)。以 ADFR 工具给受体添加氢原子，转化为 PDBQT 文件。以 ADFR 创建 Affinity Maps (详见方法章节) 。以 Autodock-Vina 进行自动分子对接。使用 pymol 将分子对接结果可视化。

Tab. **[6](#QINGXIN-herbs-compounds-and-targets-for-docking)** 含靶点基因的化合物和对应中药的附表 (Ingredient.id 为 PubChem CID)。 Tab. **[7](#QINGXIN-compounds-and-targets-for-docking)** 将用于分子对接的化合物和靶点组合。 Tab. **[8](#QINGXIN-proteins-used-PDB)** 基因 Symbol 所用的蛋白结构，以及对应的 PDB ID 和分辨率。 Fig. **[12](#QINGXIN-Overall-combining-Affinity)** 为分子对接亲和度得分可视化，能量越低，代表亲和度越高。 Tab. **[9](#QINGXIN-All-combining-Affinity-data)** 分子对接得分 (亲和度) 附表。 Fig. **[13](#Docking-91424-into-2z62)** 分子对接结果。蛋白(Symbol: TLR4) (PDB: 2z62) 与化合物 (name: 2-Methylpentadecanoic acid) (PubChem CID: 91424)，亲和度为 -7.095。

Fig. **[13](#Docking-91424-into-2z62)** 为最佳分子对接结果。 Fig. **[14](#Docking-91424-into-2z62-detail)** 分子对接结果局部细节。图中展示了蛋白(Symbol: TLR4) (PDB: 2z62) 与化合物 (name: 2-Methylpentadecanoic acid) (PubChem CID: 91424) 之间的氢键结合。

**Tab.** **6** QINGXIN herbs compounds and targets for docking

| Ingredient.id | Herb pinyin name | Ingredient.name | Target.name |
| --- | --- | --- | --- |
| 379 | HUANG QIN | Caprylsaeure | TLR4 |
| 985 | CHI SHAO | Palmitate | TLR4 |
| 985 | DI GU PI | Palmitate | TLR4 |
| 985 | HUANG QI | Palmitate | TLR4 |
| 985 | HUANG QIN | Palmitate | TLR4 |
| ... | ... | ... | ... |

**(File path: Figure+Table/3.9\_AutoDock\_vina\_分子对接\_(QINGXIN)/QINGXIN-herbs-compounds-and-targets-for-docking.csv)**

**Tab.** **7** QINGXIN compounds and targets for docking

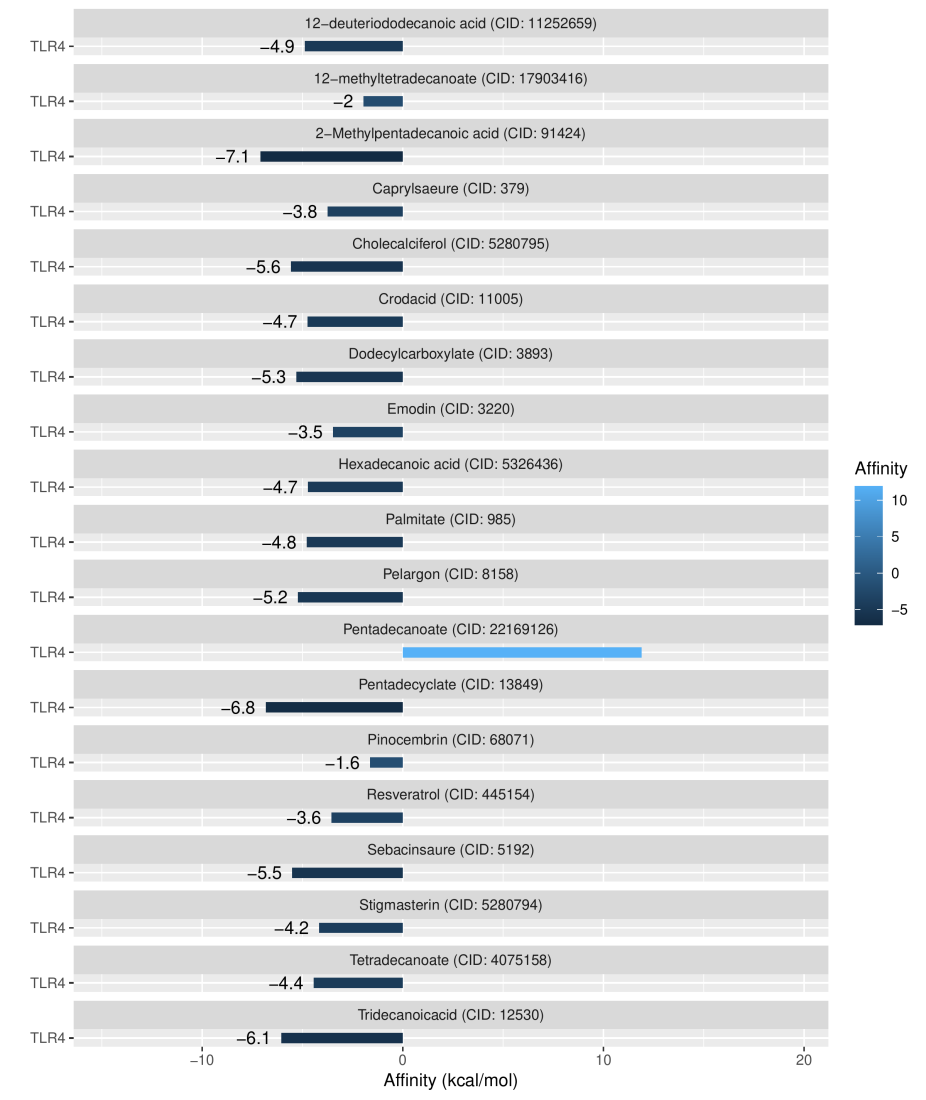
| Ingredient.id | Ingredient.name | Target.name |
| --- | --- | --- |
| 379 | Caprylsaeure | TLR4 |
| 985 | Palmitate | TLR4 |
| 3220 | Emodin | TLR4 |
| 3893 | Dodecylcarboxylate | TLR4 |
| 5192 | Sebacinsaure | TLR4 |
| ... | ... | ... |

**(File path: Figure+Table/3.9\_AutoDock\_vina\_分子对接\_(QINGXIN)/QINGXIN-compounds-and-targets-for-docking.csv)**

**Tab.** **8** QINGXIN proteins used PDB

| Hgnc symbol | Pdb | Resolution |
| --- | --- | --- |
| TLR4 | 2Z62 | 1.7 |

**(File path: Figure+Table/3.9\_AutoDock\_vina\_分子对接\_(QINGXIN)/QINGXIN-proteins-used-PDB.csv)**



**Fig.** **12** QINGXIN Overall combining Affinity

**(File path: Figure+Table/3.9\_AutoDock\_vina\_分子对接\_(QINGXIN)/QINGXIN-Overall-combining-Affinity.pdf)**

**Tab.** **9** QINGXIN All combining Affinity data

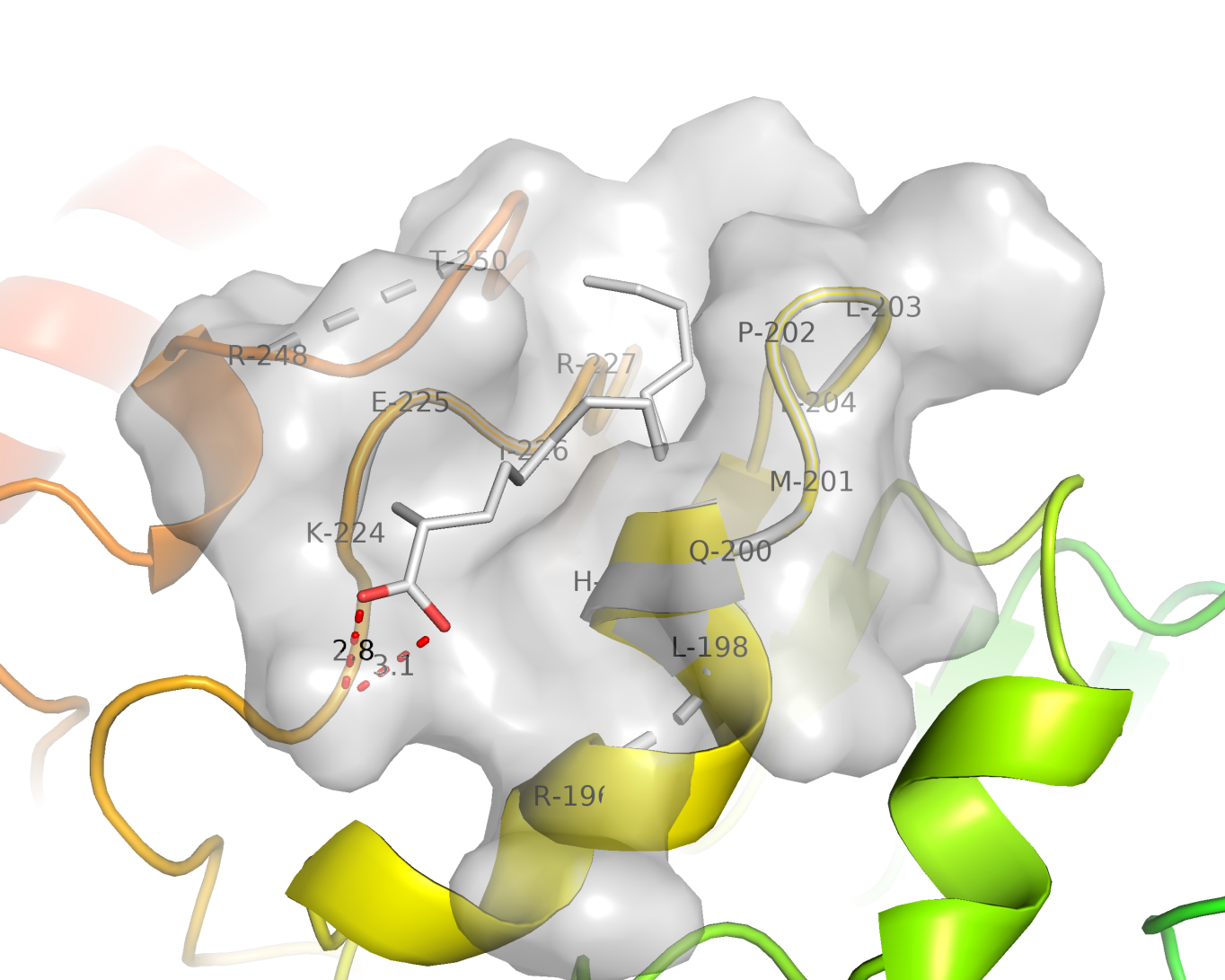
| PubChe... | PDB ID | Affinity | Dir | File | Combn | Hgnc s... | Ingred... |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 91420 | 2z62 | -7.095 | Vina s... | Vina s... | 91424 ... | TLR4 | 2-Meth... |
| 13850 | 2z62 | -6.835 | Vina s... | Vina s... | 13849 ... | TLR4 | Pentad... |
| 12530 | 2z62 | -6.063 | Vina s... | Vina s... | 12530 ... | TLR4 | Tridec... |
| 5281000 | 2z62 | -5.58 | Vina s... | Vina s... | 528079... | TLR4 | Cholec... |
| 5192 | 2z62 | -5.516 | Vina s... | Vina s... | 5192 i... | TLR4 | Sebaci... |
| ... | ... | ... | ... | ... | ... | ... | ... |

**(File path: Figure+Table/3.9\_AutoDock\_vina\_分子对接\_(QINGXIN)/QINGXIN-All-combining-Affinity-data.csv)**



**Fig.** **13** Docking 91424 into 2z62

**(File path: Figure+Table/3.9\_AutoDock\_vina\_分子对接\_(QINGXIN)/Docking-91424-into-2z62.png)**



**Fig.** **14** Docking 91424 into 2z62 detail

**(File path: Figure+Table/3.9\_AutoDock\_vina\_分子对接\_(QINGXIN)/Docking-91424-into-2z62-detail.png)**

# 4 总结

调控铁死亡的通路可能是 HIF-1 ，见 Fig. **[9](#COMMON-pathviews-hsa04066)** 。 以 GEO 数据验证后发现，VEGFA, TLR4 为差异表达基因。 其他可能的通路，见Tab. **[4](#COMMON-KEGG-enrichment-data)**

补充了分子对接分析，见 Fig. **[12](#QINGXIN-Overall-combining-Affinity)** 。

# Reference

1. Kong, X. *et al.* BATMAN-tcm 2.0: An enhanced integrative database for known and predicted interactions between traditional chinese medicine ingredients and target proteins. *Nucleic acids research* **52**, D1110–D1120 (2024).

2. Wei, M. *et al.* HobPre: Accurate prediction of human oral bioavailability for small molecules. *Journal of Cheminformatics* **14**, (2022).

3. Durinck, S., Spellman, P. T., Birney, E. & Huber, W. Mapping identifiers for the integration of genomic datasets with the r/bioconductor package biomaRt. *Nature protocols* **4**, 1184–1191 (2009).

4. Stelzer, G. *et al.* The genecards suite: From gene data mining to disease genome sequence analyses. *Current protocols in bioinformatics* **54**, 1.30.1–1.30.33 (2016).

5. Zhou, N. *et al.* FerrDb v2: Update of the manually curated database of ferroptosis regulators and ferroptosis-disease associations. *Nucleic acids research* **51**, D571–D582 (2023).

6. Wu, T. *et al.* ClusterProfiler 4.0: A universal enrichment tool for interpreting omics data. *The Innovation* **2**, (2021).

7. Smyth, G. K. Limma: Linear models for microarray data. in *Bioinformatics and Computational Biology Solutions Using R and Bioconductor* (eds. Gentleman, R., Carey, V. J., Huber, W., Irizarry, R. A. & Dudoit, S.) 397–420 (Springer-Verlag, 2005). doi:[10.1007/0-387-29362-0\_23](https://doi.org/10.1007/0-387-29362-0_23).

8. Seeliger, D. & Groot, B. L. de. Ligand docking and binding site analysis with pymol and autodock/vina. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **24**, (2010).

9. Zhang, Y., Forli, S., Omelchenko, A. & Sanner, M. F. AutoGridFR: Improvements on autodock affinity maps and associated software tools. *Journal of computational chemistry* **40**, 2882–2886 (2019).

10. Eberhardt, J., Santos-Martins, D., Tillack, A. F. & Forli, S. AutoDock vina 1.2.0: New docking methods, expanded force field, and python bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling* **61**, 3891–3898 (2021).

11. Xiang, Q., Zhao, Y. & Li, W. Identification and validation of ferroptosis-related gene signature in intervertebral disc degeneration. *Frontiers in endocrinology* **14**, (2023).

12. Liu, C., Li, Z. & Xi, H. Bioinformatics analysis and <i>in vivo</i> validation of ferroptosis-related genes in ischemic stroke. *Frontiers in pharmacology* **13**, (2022).

13. Dong, H. *et al.* Ferroptosis related genes participate in the pathogenesis of spinal cord injury via hif-1 signaling pathway. *Brain research bulletin* **192**, 192–202 (2023).