

基于网络药理学和分子对接探究桃红四物汤治疗心绞痛的作用机制

Study on the mechanism of the Taohong Siwu decoction on angina pectoris based on network pharmacology and molecular docking validation

张 舸¹ 姚淮芳^{2*}

(1. 安徽中医药大学研究生院, 安徽 合肥, 230038; 2. 安徽中医药大学第一附属医院, 安徽 合肥, 230031)

中图分类号: R541.4 文献标识码: A 文章编号: 1674-7860 (2022) 23-0001-07 证型: BG

【摘要】目的: 研究采用网络药理学方法探讨桃红四物汤治疗心绞痛的作用机制, 并通过分子对接技术进行验证。方法: 从中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 和 UniProt 平台中收集组方的活性化合物和靶标。利用 GeneCards 和 CTD 数据库获得与人类相关的心绞痛疾病靶点。以药物与疾病的交集靶点作为治疗靶点。通过 String 在线平台构建蛋白质-蛋白质相互作用网络。运用 Cytoscape 3.7.2 软件筛选出治疗的核心基因并进行富集分析及结果可视化。最后, 采用 CB-Dock 网站完成分子对接验证。结果: 共筛选出 75 个桃红四物汤生物活性化合物, 237 个药物靶点, 3 525 个心绞痛疾病靶点, 185 个治疗靶点。对蛋白质-蛋白质相互作用网络进行拓扑分析, 得到 18 个核心基因。富集分析结果提示桃红四物汤可能通过影响多生物过程、细胞组分及分子功能参与调节心血管、血流相关通路、内分泌相关通路及炎症相关通路等在心绞痛的治疗中发挥作用。通过筛选得到 5 个中心基因和 10 个主要活性成分并进行分子对接。结果表明, 筛选得到的生物活性化合物与核心基因具有很强的结合能力。结论: 桃红四物汤具有多组分、多靶点、多途径的复杂机制。本研究为进一步拓展桃红四物汤的临床应用奠定了理论基础。

【关键词】桃红四物汤; 心绞痛; 网络药理学; 分子对接

【Abstract】 Objective: This study used a network pharmacology approach to elucidate the molecular mechanism of the Taohong Siwu decoction (桃红四物汤) for the treatment of angina pectoris (AP), and verified by molecular docking technology. Methods: In TCMSP and UniProt databases, the bioactive compounds and herbs targets of the Taohong Siwu decoction were collected. Disease targets of AP in humans were obtained by GeneCards and CTD databases. The therapeutic targets were obtained by taking the intersection targets of the Taohong Siwu decoction and AP. The protein-protein interaction network was constructed via String database. the core genes were screened by Cytoscape 3.7.2 software, then the enrichment analysis and visualization were performed. Finally, the molecular docking was verified by CB-Dock. Results: A total of 75 bioactive compounds of the Taohong Siwu decoction, 237 targets of herbs, 3 525 AP targets, and 185 crossover genes were screened. Topological analysis of the PPI network yielded 18 hub genes. The enrichment analysis results suggested that the Taohong Siwu decoction might play a role in the treatment of AP by affecting multiple biological processes, cellular components and molecular functions to participate in the regulation of cardiovascular, blood flow-related pathways, endocrine-related pathways and inflammation-related pathways. Five hub genes and 10 active ingredients were screened and molecularly docked. The results showed that the bioactive compounds obtained from the screening were strongly bound to the hub genes. Conclusion: The Taohong Siwu decoction has a complex mechanism of multi-component, multi-target, and multi-pathway. This study lays the theoretical foundation for further clinical applications of the Taohong Siwu decoction.

【Keywords】 The Taohong Siwu decoction; Angina pectoris; Network pharmacology; Molecular docking
doi:10.3969/j.issn.1674-7860.2022.23.001

近期的心血管病报告显示: 我国心血管病患者率当下仍处于上升并将持续上升的趋势。心血管疾病患者的人数预估计可达 3.3 亿人, 其中冠状动脉粥样硬化性心脏病 (简称冠心病) 为 1 139 万。据统计, 2018 年我国在统计疾病中病死率排在首位的是心血管类疾病, 且心血管病在农村及城乡居民因病死亡中皆占首位^[1]。在临床中, 心绞痛是最常见的一种冠心病^[2], 主要表现为冠脉粥样硬化所致冠脉的改变, 继而

引起血流不能支持心肌正常的代谢, 从而引起心肌缺氧、缺血、坏死, 最后胸骨后突发性、阵发性、压榨性样的疼痛^[3]。

心绞痛, 中医学体系中通常根据其体征及症状, 被归属于“胸痹”范畴。本病病位在心, 病机为本虚标实之证^[2]。桃红四物汤出自《医宗金鉴》, 由熟地黄、当归、川芎、赤芍、红花与桃仁等六味中药组成, 全方以行气活血, 祛瘀生新为主旨, 在临床桃红四物汤治疗心绞痛的研究中取得了良好的

疗效^[4]，但其治疗心绞痛的靶点及药理学机制目前仍不明确。本次研究旨在通过网络药理学探讨桃红四物汤治疗心绞痛可能的药效学物质基础及作用机制，并通过分子对接技术进行验证。

1 资料与方法

1.1 药物活性成分及靶点筛选

通过中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 对桃红四物汤的组方及蛋白靶点进行逐个检索^[5]。活性化合物的筛选条件为类药性 ≥ 0.18、口服生物利用度 ≥ 30%。将所得活性成分的蛋白靶点通过 UniProt 数据库统一转化为基因名。

1.2 药物 - 成分 - 靶点网络图的统一构建

运用桃红四物汤中药物和化合物及对应的靶点信息构建 Type 及 Network 文件，并通过 Cytoscape 3.7.2 软件构建药物 - 成分 - 靶点网络图^[6]。

1.3 疾病相关靶点的获取

以“Angina Pectoris”为检索词于 CTD 数据库和 GeneCards 数据库中获取与心绞痛相关的疾病基因靶点^[7-8]。

1.4 治疗靶点的获取

将 1.1 获得的药物靶点与 1.3 中疾病靶点输入 Jvonn 网站，获取疾病 - 药物交集基因作为桃红四物汤治疗心绞痛的治疗靶点^[9]。

1.5 蛋白质 - 蛋白质相互作用网络的构建及核心基因的筛选

将交集基因输入 String 在线平台^[10]。物种选择：智人 (Homo sapiens)，获取蛋白质 - 蛋白质相互作用网络图，置信度被设置成 0.95。导出 tsv 文件，并于 Cytoscape 3.7.2 软件中按照相应标准进行筛选。即通过介值中心度、紧密中心性和度值筛选出所需的治疗靶点。

1.6 基因本体论 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析

将交集靶点导入 R 软件，通过 ClusterProfiler、AnnotationHub、org.Hs.eg.db 等人类基因注释包进行富集分析，并结果进行可视化。以 P < 0.05 作为筛选最低标准。选取 GO 分析类别的各前 8 条绘制成柱状图，分析 KEGG 结果，提取其中与心绞痛疾病相关程度最高的 10 条通路的信息，并绘制成气泡图。

1.7 分子对接

由于生物活性分子的靶标筛选没有统一的标准，我们选择蛋白质 - 蛋白质相互作用网络程度最高的 5 个蛋白与成分 - 靶点网络程度最高的 10 个分子进行分子对接。在 TCMSP 中下载活性化合物 mol2 格式文件，RCSB PDB 数据库用于下载核心靶标蛋白的“PDB”格式文件。然后将受体与配体文件导入 CB-Dock 网站进行分子对接。最后选取结合能最低的对接模型进行可视化。

2 结果

2.1 桃红四物汤活性成分及靶点的获取

筛选得到 75 个有效成分，其中赤芍的活性成分 29 个，桃仁的活性成分有 23 个，红花的活性成分有 22 个，川芎的活性成分有 7 个，当归、熟地黄各 2 个。其中红花、桃仁、赤芍及当归共有成分为 β- 谷甾醇；谷甾醇属于熟地黄、赤芍及川芎的共有成分；豆甾醇归属于熟地黄、红花、当归和赤芍的共有成分；黄芩素是红花和赤芍活性化合物中的共有成分；黄芩苷属于红花和赤芍的共有成分。在 TCMSP 数据库中得到相应的蛋白靶点。将蛋白靶点输入 Uniprot 数据库，进行靶点名称的转换，共得到 237 个基因。桃红四物汤活性成分具体见表 1。

表 1 桃红四物汤活性成分信息

分子编码	简称	活性成分	口服生物利用度	类药性	来源
MOL001371	TR1	白杨苷 (Populoside_qt)	108.885%	0.205	桃仁
MOL001368	TR2	对香豆酰奎尼酸 (3-O-p-coumaroylquinic acid)	37.628%	0.286	桃仁
MOL001361	TR3	赤霉素 A87 (GA87)	68.853%	0.572	桃仁
MOL001360	TR4	赤霉素 A77 (GA77)	87.894%	0.528	桃仁
MOL001358	TR5	赤霉素 A7 (GA7)	73.801%	0.496	桃仁
MOL001355	TR6	赤霉素 A63 (GA63)	65.544%	0.538	桃仁
MOL001353	TR7	赤霉素 A60 (GA60)	93.169%	0.530	桃仁
MOL001352	TR8	赤霉素 A54 (GA54)	64.207%	0.535	桃仁
MOL001351	TR9	赤霉素 A44 (GA44)	101.613%	0.541	桃仁
MOL001350	TR10	赤霉素 A30 (GA30)	61.718%	0.540	桃仁
MOL001349	TR11	赤霉素 A19 (GA19)	88.595%	0.464	桃仁
MOL001348	TR12	赤霉素 A17 (GA17)	94.641%	0.494	桃仁
MOL001344	TR13	赤霉素 A122- 异戊烷 (GA122-isolactone)	88.111%	0.537	桃仁
MOL001343	TR14	赤霉素 A122 (GA122)	64.793%	0.496	桃仁
MOL001342	TR15	GA121-isolactone	72.699%	0.537	桃仁
MOL001340	TR16	赤霉素 A120 (GA120)	84.850%	0.453	桃仁
MOL001339	TR17	赤霉素 A119 (GA119)	76.364%	0.494	桃仁
MOL001329	TR18	2,3- 双脱氢赤霉素 A77 (2,3-didehydro GA77)	88.081%	0.530	桃仁

续表 1 桃红四物汤活性成分信息

分子编码	简称	活性成分	口服生物利用度	类药性	来源
MOL001328	TR19	2,3- 双脱氢赤霉素 A70 (2,3-didehydro GA70)	63.294%	0.496	桃仁
MOL001323	TR20	谷甾醇 α 1 (Sitosterol α 1)	43.281%	0.784	桃仁
MOL000493	TR21	菜油甾醇 (campesterol)	37.577%	0.715	桃仁
MOL000358	TR22	β - 谷甾醇 (beta-sitosterol)	36.914%	0.751	桃仁
MOL000296	TR23	常春藤皂苷元 (hederagenin)	36.914%	0.751	桃仁
MOL002776	HH1	黄芩苷 (Baicalin)	40.124%	0.753	红花
MOL002773	HH2	β - 胡萝卜素 (beta-carotene)	37.184%	0.584	红花
MOL002757	HH3	7,8- 二甲基 -1 氢 - 嘧啶 [5,6-g] 喹啉啉 -2,4- 二酮 (7,8-dimethyl-1H-pyrimido[5,6-g] quinoxaline-2,4-dione)	45.751%	0.186	红花
MOL002721	HH4	六羟黄酮 (quercetagenin)	45.007%	0.310	红花
MOL002719	HH5	红花素 (6-Hydroxynaringenin)	33.229%	0.242	红花
MOL002717	HH6	红花醌苷 (qt_carthamone)	51.026%	0.201	红花
MOL002714	HH7	黄芩素 (baicalein)	33.519%	0.209	红花
MOL002712	HH8	6- 羟基山柰酚 (6-Hydroxykaempferol)	62.133%	0.273	红花
MOL002710	HH9	除虫菊素 II (Pyrethrin II)	48.357%	0.350	红花
MOL002707	HH10	六氢番茄红素 (phytofluene)	43.182%	0.503	红花
MOL002706	HH11	八氢番茄红素 (Phytoene)	39.563%	0.505	红花
MOL002698	HH12	羽扇烯基棕榈酸酯 (lupeol-palmitate)	33.984%	0.320	红花
MOL002695	HH13	木酚素 (lignan)	43.318%	0.651	红花
MOL002694	HH14	4-[(E)-4-(3,5- 二甲氧基 -4-O -1- 环己醇 -2,5- 二烯)but-2- 环己二烯]-2,6- 二甲氧基环己醇 -2,5- 二烯 -1-one (4-[(E)-4-(3,5-dimethoxy-4-oxo-1-cyclohexa-2,5-dienylidene)but-2-enylidene]-2,6-dimethoxycyclohexa-2,5-dien-1-one)	48.466%	0.365	红花
MOL002680	HH15	毛茛黄素 (Flavoxanthin)	60.413%	0.556	红花
MOL001771	HH16	poriferast-5-en-3beta-ol	36.914%	0.750	红花
MOL000953	HH17	胆固醇 (CLR)	37.874%	0.677	红花
MOL000449	HH18	豆甾醇 (Stigmasterol)	43.830%	0.757	红花
MOL000422	HH19	山柰酚 (kaempferol)	41.882%	0.241	红花
MOL000358	HH20	beta-sitosterol	36.914%	0.751	红花
MOL000098	HH21	槲皮素 (quercetin)	46.433%	0.275	红花
MOL000006	HH22	木犀草素 (luteolin)	36.163%	0.246	红花
MOL000449	SD1	豆甾醇 (Stigmasterol)	43.830%	0.757	熟地黄
MOL000359	SD2	谷甾醇 (sitosterol)	36.914%	0.751	熟地黄
MOL007025	CS1	异苯甲酰芍药苷 (isobenzoylpaeoniflorin)	31.139%	0.542	赤芍
MOL007022	CS2	楝叶吴萸素 B (evofolin B)	64.737%	0.222	赤芍
MOL007018	CS3	9-ethyl-neo-paeoniaflorin A_qt	64.420%	0.296	赤芍
MOL007016	CS4	芍药苷元酮 (Paeoniflorigenone)	65.334%	0.367	赤芍
MOL007014	CS5	8- 去苯甲酰芍药酮苷 (8-debenzoylpaeonidanin)	31.743%	0.454	赤芍
MOL007012	CS6	4-O- 甲基芍药苷 (4-O-methyl-paeoniflorin_qt)	56.704%	0.426	赤芍
MOL007008	CS7	4-O- 乙基芍药苷 (4-O-ethyl-paeoniflorin_qt)	56.870%	0.445	赤芍
MOL007005	CS8	芍药内酯苷_qt (Albiflorin_qt)	48.700%	0.326	赤芍
MOL007004	CS9	芍药内酯苷 (Albiflorin)	30.246%	0.770	赤芍
MOL007003	CS10	苯甲酰芍药苷 (benzoyl paeoniflorin)	31.139%	0.542	赤芍
MOL006999	CS11	二氢胆固醇 (stigmast-7-en-3-ol)	37.423%	0.751	赤芍
MOL006996	CS12	1-O- β -D- 吡喃葡萄糖苷芍药苷 (1-O-beta-D-glucopyranosylpaeonisuffrone_qt*)	65.082%	0.354	赤芍
MOL006994	CS13	1-O- β -D- 吡喃葡萄糖苷 -8-O- 苯甲酰芍药苷 (1-O-beta-D-glucopyranosyl-8-O-benzoylpaeonisuffrone_qt)	36.013%	0.299	赤芍
MOL006992	CS14	(2R,3R)-4- 甲氧基 - 二氢槲皮素 [(2R,3R)-4-methoxyl-distylin]	59.983%	0.299	赤芍

续表 1 桃红四物汤活性成分信息

分子编码	简称	活性成分	口服生物利用度	类药性	来源
MOL006990	CS15	(1S,2S,4R)-2- 羟基 -1,8- 桉树酚 -B-D- 吡喃葡萄糖苷 [(1S,2S,4R)-trans-2-hydroxy-1,8-cineole-B-D-glucopyranoside]	30.252%	0.275	赤芍
MOL005043	CS16	菜油甾醇 -5-en-3β (campest-5-en-3beta-ol)	37.577%	0.715	赤芍
MOL004355	CS17	菠菜甾醇 (Spinasterol)	42.979%	0.755	赤芍
MOL002883	CS18	油酸乙酯 [Ethyl oleate (NF)]	32.397%	0.191	赤芍
MOL002776	CS19	黄芩苷 (Baicalin)	40.124%	0.753	赤芍
MOL002714	CS20	黄芩素 (baicalein)	33.519%	0.209	赤芍
MOL001925	CS21	芍药苷_qt (paeoniflorin_qt)	68.176%	0.395	赤芍
MOL001924	CS22	芍药苷 (paeoniflorin)	53.870%	0.787	赤芍
MOL001921	CS23	芍药新苷 (Lactiflorin)	49.121%	0.797	赤芍
MOL001918	CS24	芍药苷元酮 (paeoniflorgenone)	87.593%	0.367	赤芍
MOL001002	CS25	鞣花酸 (ellagic acid)	43.065%	0.434	赤芍
MOL000492	CS26	儿茶素 [(+)-catechin]	54.826%	0.242	赤芍
MOL000449	CS27	豆甾醇 (Stigmasterol)	43.830%	0.757	赤芍
MOL000359	CS28	sitosterol	36.914%	0.751	赤芍
MOL000358	CS29	beta-sitosterol	36.914%	0.751	赤芍
MOL000449	DG1	豆甾醇 (Stigmasterol)	43.830%	0.757	当归
MOL000358	DG2	beta-sitosterol	36.914%	0.751	当归
MOL002157	CX1	川芎萜呔内酯 (wallichilide)	42.311%	0.706	川芎
MOL002151	CX2	川芎醌 (senkyunone)	47.664%	0.244	川芎
MOL002140	CX3	川芎啉 (Perlolirine)	65.948%	0.275	川芎
MOL002135	CX4	杨梅酮 (Myricanone)	40.598%	0.513	川芎
MOL001494	CX5	亚油酸乙酯 (Mandenol)	41.996%	0.193	川芎
MOL000433	CX6	叶酸 (FA)	68.960%	0.706	川芎
MOL000359	CX7	sitosterol	36.914%	0.751	川芎

2.2 药物 - 成分 - 靶点网络图的构建

药物 - 成分 - 靶点网络图结果见图 1。共得到 328 个节点和 960 条边。蓝色菱形图形为靶点基因的节点，其余节点为

桃红四物汤的药物与具有蛋白靶点的活性化合物，其中六边形节点为桃红四物汤中的药物，圆形节点为活性化合物。通过度值筛选前 10 个活性成分。具体见表 2。

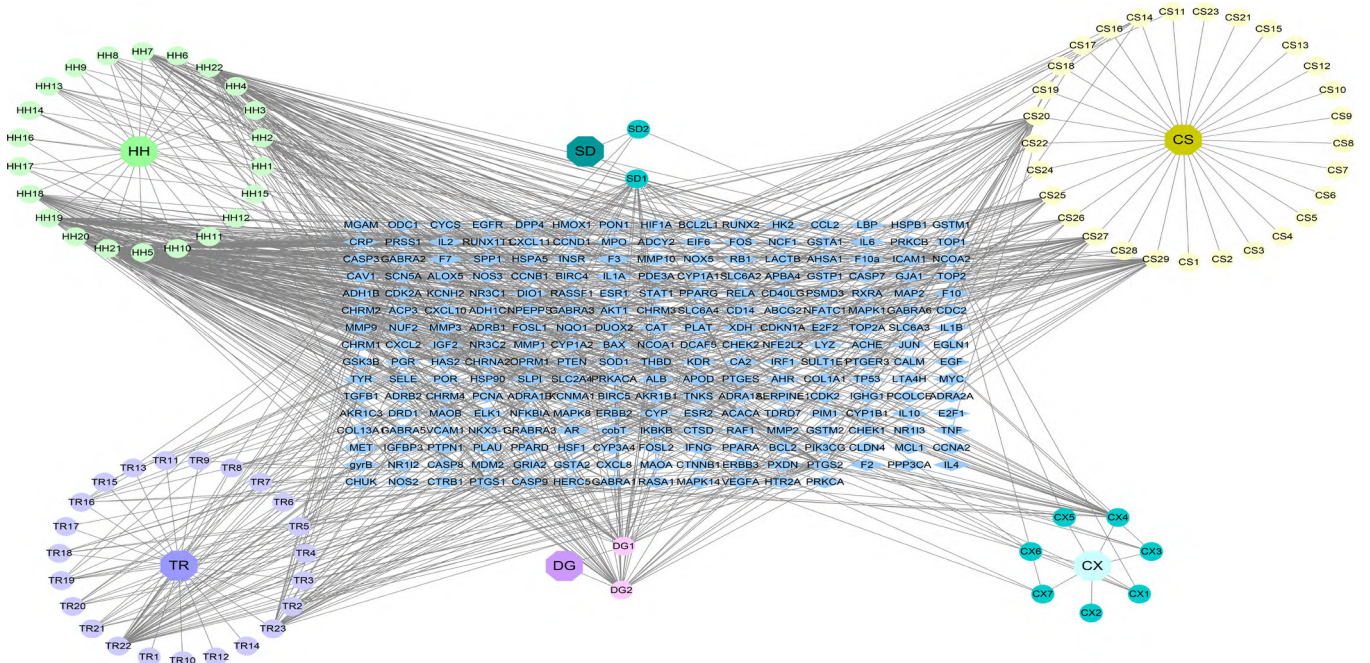


图1 桃红四物汤治疗心绞痛的“药物-成分-靶点”

表 2 桃红四物汤治疗心绞痛的药物活性成分度值排行

活性成分	度值	活性成分	度值
槲皮素 (Quercetin)	155	豆甾醇 (Stigmasterol)	31
山柰酚 (Kaempferol)	64	杨梅酮 (Myricanone)	26
木犀草素 (Luteolin)	58	常春藤皂苷元 (Hederagenin)	25
β -谷甾醇 (beta-sitosterol)	38	β -胡萝卜素 (beta-carotene)	22
黄芩素 (Baicalein)	36	鞣花酸 (Ellagic Acid)	20

2.3 心绞痛疾病相关靶点的获取

CTD 和 GeneCards 数据库中各获得与人类相关的心绞痛相关靶点 42 898 个和 3 859 个, 通过取交集后得到 3 525 个靶点。

2.4 交集基因的获取

通过 Jvenn 在线网站获取疾病与药物交集基因作为治疗靶点, 最终得到治疗靶点 185 个。韦恩图见图 2。

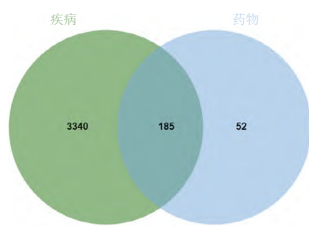


图 2 桃红四物汤治疗心绞痛的疾病-药物交集基因韦恩图

2.5 蛋白质-蛋白质相互作用网络图的构建以及核心基因的获取

将 2.4 所得交集基因于 String 在线平台进行分析, 获得蛋白质-蛋白质相互作用网络图。见图 3。将 tsv 文件导入 Cytoscape 3.7.2 软件中进行拓扑分析。拓扑过程见图 4。通过度值、介值中心度和紧密中心性筛选出核心治疗靶点 18 个。见表 3。

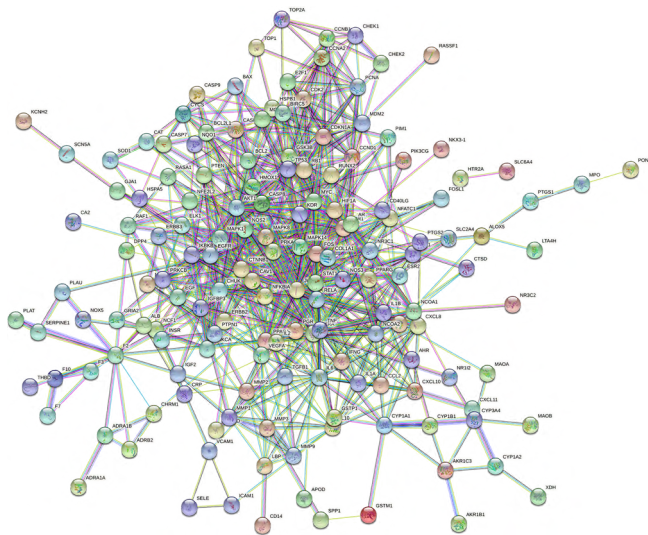


图 3 桃红四物汤-心绞痛治疗靶点的蛋白质-蛋白质相互作用网络图

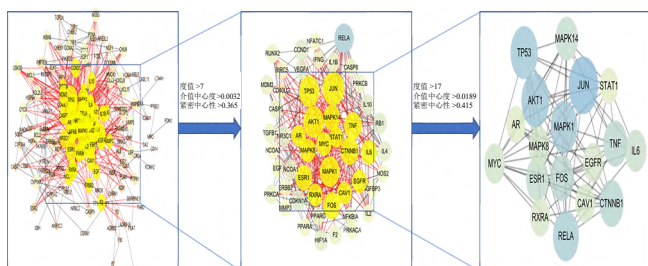


图 4 桃红四物汤治疗心绞痛的核心靶点拓扑过程

表 3 桃红四物汤-心绞痛核心治疗靶点及介值中心度、紧密中心性、度值排序

基因	蛋白名称	介值中心度	紧密中心性	度值
JUN	JUN 原癌基因	0.100	0.500	43
AKT1	丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶 1	0.091	0.477	39
TP53	肿瘤蛋白 P53	0.089	0.459	38
MAPK1	丝裂原活化蛋白激酶 1	0.109	0.492	37
RELA	RELA 癌基因	0.044	0.477	35
CTNNB1	连环蛋白 $\beta 1$	0.076	0.467	31
TNF	肿瘤坏死因子	0.054	0.451	30
FOS	FOS 原癌基因	0.035	0.460	30
ESR1	雌激素受体 1	0.036	0.451	27
MAPK14	丝裂原活化蛋白激酶 14	0.029	0.459	27
IL-6	白细胞介素 -6	0.036	0.434	25
MAPK8	丝裂原活化蛋白激酶 8	0.023	0.437	23
MYC	MYC 原癌基因	0.019	0.449	23
EGFR	表皮生长因子受体	0.027	0.432	22
RXRA	类视黄醇 X 受体 α	0.065	0.444	21
CAV1	微囊蛋白 1	0.039	0.434	21
AR	雄激素受体	0.026	0.434	19
STAT1	信号转导和转录活化因子 1	0.022	0.440	18

2.6 GO 和 KEGG 富集分析及可视化

将核心治疗靶点导入 R 软件, 运用相应的 R 包进行富集分析及富集结果的可视化。GO 富集分析由生物过程、细胞组分及分子功能组成。GO 富集分析共得到条目 1 500 条, 主要涉及 1 417 条生物过程、14 条细胞组分和 69 条分子功能, 选取各类别前 8 条绘制柱状图。见图 5。KEGG 富集分析共涉及 145 条通路, 提取其中与心绞痛疾病相关度最高的 10 条通路。见图 6。

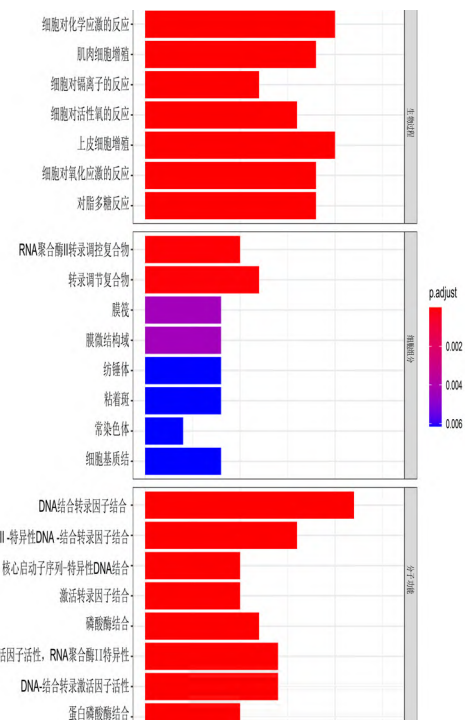


图 5 桃红四物汤-心绞痛核心治疗靶点基因本体论富集分析柱状图

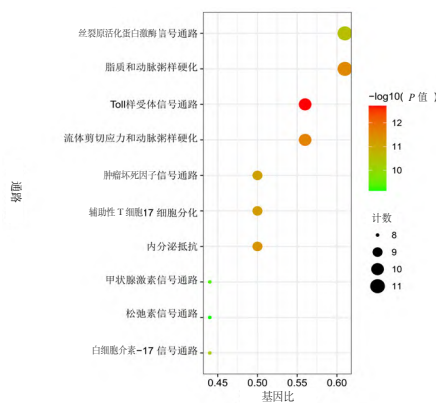


图6 桃红四物汤-心绞痛京都基因与基因组百科全书通路富集分析气泡图

2.7 分子对接
 根据度值选择 5 个核心靶点 JUN 原癌基因、RELA 癌基因、肿瘤蛋白 P53、丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶 1 和丝裂原活化蛋白激酶 (Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPK) 1, 并与核心生物活性成分进行分子对接。一般认为, 对于蛋白质配体复合物, 结合能越低, 结合亲和力越高, 以结合能 ≤ -5.0 kJ/mol 为标准。表 4 给出了与每个核心靶点对接的 10 种活性成分中最低结合能的具体信息。图 7 为分子对接结果的热图。图 7 显示, 所选生物活性成分对受体的最小结合能远小于 -5.0 kJ/mol。图 8 显示了对接结果的可视化。分子对接结果表明, 桃红四物汤重要的生物活性成分与治疗心绞痛的核心靶点有良好的结合性。

表 4 核心靶点与活性成分中最低结合能 (kJ/mol)

靶点	JUN 原癌基因	丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶 1	肿瘤蛋白 P53	丝裂原活化蛋白激酶 1	RELA 癌基因
槲皮素	-8.6	-5.9	-7.6	-9.4	-8.8
山柰酚	-8.3	-5.9	-7.1	-9.4	-9.3
木犀草素	-8.8	-6.1	-7.8	-9.3	-8.9
β-谷甾醇	-9.0	-7.4	-8.0	-9.0	-8.4
黄芩素	-9.2	-6.7	-7.3	-9.0	-9.2
豆甾醇	-9.1	-7.1	-7.3	-8.5	-9.3
杨梅酮	-8.9	-6.6	-6.7	-8.0	-8.8
常春藤皂甙元	-8.7	-6.6	-7.5	-8.6	-8.6
β-胡萝卜素	-9.5	-7.1	-7.4	-10.1	-9.8
鞣花酸	-9.0	-6.3	-8.2	-10.5	-8.9

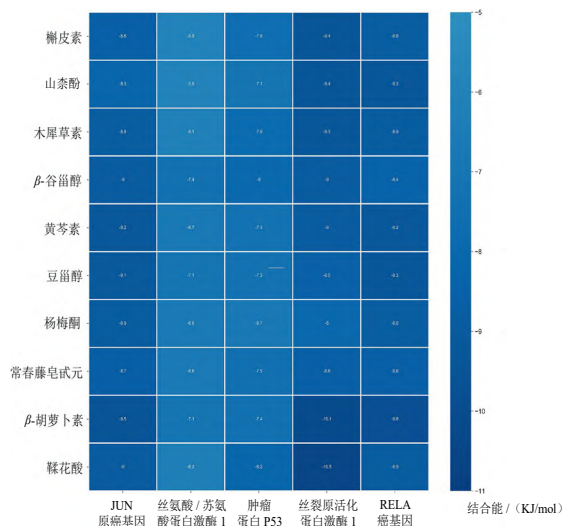


图7 桃红四物汤活性成分与心绞痛核心靶点分子对接结果热图

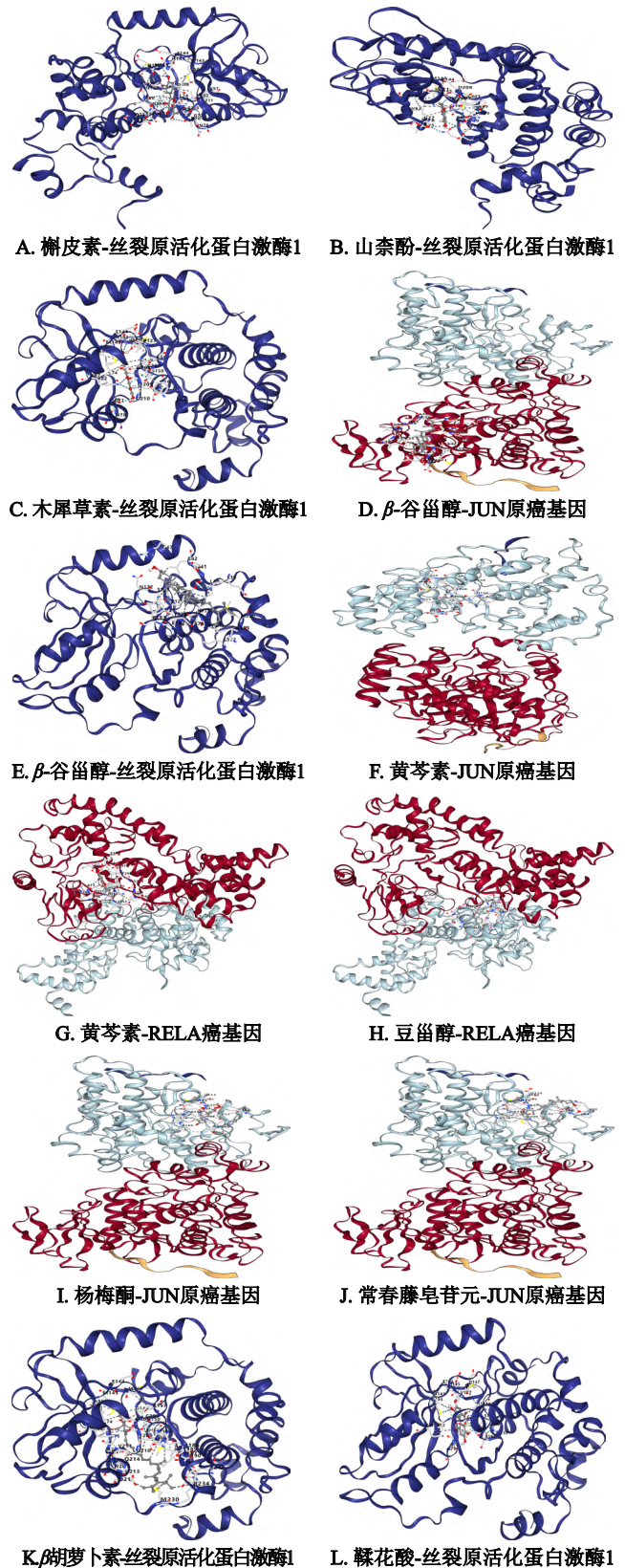


图8 桃红四物汤-心绞痛治疗核心靶点与核心生物活性分子对接模式图

3 讨论

中药材因多活性成分、多治疗靶点的特点现已成为药物开发尤其是治疗难治疾病、复杂疾病的重要研究对象。但中药组方及成分的复杂性导致传统的药理研究方法可能不适合

对中药的总体研究。传统药理学分子研究在应用于中药方剂时可能会遇到一个问题，因为它是从还原论的角度来阐明单一或有限的生物分子，而不是从有机体的整体理论来考虑。而网络药理学所采用的“多活性成分-多治疗靶点”的新型研究模式，取代了传统的“单一药物-单一靶点”的研究模式。因此，网络药理学符合中医整体思维核心理念^[11]。将药代动力学评价与生物信息学相结合，为中药的分子生物学研究做出了重要贡献^[12]。

本研究利用网络药理学研究方法，筛选分析得到 75 个活性成分以及 237 个靶点，与心绞痛的 3 525 个直接靶点进行相互映射，得到共同靶点 185 个，将所得的交集基因进行拓扑分析后得到 18 个核心基因，再通过对核心基因进行富集分析，获得了 1 500 条 GO 富集分析条目。KEGG 富集分析共涉及 145 条通路。富集分析结果提示桃红四物汤可能通过影响多生物过程、细胞组分及分子功能参与调节心血管、血流相关通路、内分泌相关通路及炎症相关通路等，在心绞痛的治疗中发挥作用。CAO 等^[13]研究发现通过下调肿瘤坏死因子、MAPK 信号通路抑制氧化低密度脂蛋白刺激的巨噬细胞细胞外金属基质蛋白酶诱导因子和基质金属蛋白酶 9 的表达，进而发挥抗动脉粥样硬化作用。周淑妮等^[14]发现通过抑制 CD14⁺ 外周血单个核细胞 Toll 样受体 / 髓性分化原发应答基因 (88) / 核因子 κ B 信号通路激活可以发挥抗心绞痛作用。王江凤^[15]通过研究证实急性冠脉综合征患者外周血辅助性 T 细胞 17 及白细胞介素 -17 炎症因子表达相较于正常人明显增高。DOODNAUTH AV 等^[16]通过研究表明甲状腺激素在心血管功能和心脏血流动力学中起主要作用。甲状腺的轻微变化会影响心室功能及血清胆固醇水平，会增加冠状动脉疾病以及心源性死亡的风险。张楠等^[17]发现松弛素可扩张微血管，使微循环灌注增加，保护血管内皮，降低再灌注损伤等，从多方面改善微循环障碍。

通过对 KEGG 及分子对接结果的分析，发现 MAPK 通路既是 KEGG 富集分析的核心通路，也是分子对接中的“明星”分子。所以可以推测桃红四物汤可能是通过 MAPK 通路发挥抗心绞痛的治疗作用。多项研究均发现桃红四物汤通过负调控 MAPK 信号通路参与了对心血管的功能调节^[18-19]，这是本研究所得假说的有力证明。

本次研究所采用的网络药理学的方法为进一步了解中药的药靶相互作用机制提供了重要信息，结果也充分体现了桃红四物汤治疗心绞痛的系统性、整体性，形成多成分-多靶点-多途径的优势特点。同时发现，在治疗疾病过程中，同一有效成分可以激活不同的信号通路和靶点，不同的有效成分也可以激活同一靶点，从而起到治疗作用^[20]。这对中医治疗的异病同治、同病异治的作用机制进行了科学客观的解释^[21]。但由于数据库数据、算法和各种分析平台软件特性的准确性和时效性的限制，本研究结果和上述假设的确认需要通过进一步研究来阐明。

参考文献:

- [1]中国心血管健康与疾病报告2020概要[J].中国循环杂志,2021,36(6):521-545.
- [2]王阶,陈光.冠心病稳定型心绞痛中医诊疗专家共识[J].中医杂志,2018,59(5):447-450.
- [3]洪高明.阿司匹林肠溶片联合氯吡格雷治疗冠心病心绞痛的临床疗效[J].临床合理用药杂志,2021,(36):66-69.
- [4]TAO T Q, MAO H M, XIA L, *et al.* Efficacy and Safety Evaluation of Taohong Siwu Decoction for Patients with Angina Pectoris: A Meta-Analysis

of Randomized Controlled Trials[J]. Chin J Integr Med,2021,27(8):626-632.

- [5]RU J, LI P, WANG J, *et al.* TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform,2014,6(1):13.
- [6]SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, *et al.* Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. Genome Res,2003,13(11):2498-2504.
- [7]STELZER G, ROSEN N, PLASCHKES I, *et al.* The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses[J]. Curr Protoc Bioinformatics,2016,54:13031-313033.
- [8]DAVIS A P, GRONDIN C J, JOHNSON R J, *et al.* Comparative Toxicogenomics Database (CTD): update 2021[J]. Nucleic Acids Res,2021,49(D1):D1138-D1143.
- [9]BARDOU P, MARIETTE J, ESCUDIE F, *et al.* Jvenn: an interactive Venn diagram viewer[J]. BMC Bioinformatics,2014,15:293.
- [10]SZKLARCZYK D, GABLE A L, NASTOU K C, *et al.* The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets[J]. Nucleic Acids Res,2021,49(D1):D605-D612.
- [11]CHEN Y, KERN TS, KISER PD, *et al.* Eyes on systems pharmacology[J]. Pharmacol Res,2016,114:39-41.
- [12]QU Y, ZHANG Z, LU Y, *et al.* Network Pharmacology Reveals the Molecular Mechanism of Cuyuxunxi Prescription in Promoting Wound Healing in Patients with Anal Fistula [J]. Evid Based Complement Alternat Med,2019,2019:3865121.
- [13]CAO J, YE B, LIN L, *et al.* Curcumin Alleviates oxLDL Induced MMP-9 and EMMPRIN Expression through the Inhibition of NF-kappaB and MAPK Pathways in Macrophages[J]. Front Pharmacol,2017,8(1):62.
- [14]周淑妮,于颖.清心解瘀方治疗冠心病心绞痛疗效观察及对患者心功能、CXC型趋化因子和外周血单核细胞Toll样受体/髓样分化因子88/核转录因子 κ B信号通路的影响[J].河北中医,2020,42(6):853-857,861.
- [15]王江凤.Th17细胞及相关因子异常表达与急性冠脉综合征的关联性研究[D].青岛:青岛大学,2020.
- [16]DOODNAUTH AV, YACOUB F, SOLANKI V, *et al.* NON-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Associated with Inadvertent Thyroid Hormone Overdose[J]. Am J Med Case Rep,2021,9(3):194-197.
- [17]张楠,王萍.松弛素对冠状动脉微循环的影响[J].心血管病学进展,2019,40(5):704-708.
- [18]胡苏华,周璇,武衡,等.桃红四物汤对血管平滑肌细胞FAK/P38MAPK信号表达的影响[J].辽宁中医药大学学报,2012,14(1):196-199.
- [19]易善清.桃红四物汤含药血清对VSMC迁移及 β 3整合素、MMP9和FAK/P38MAPK信号表达的影响[D].衡阳:南华大学,2007.
- [20]张焱,李丹丹,马民,等.基于网络药理学探讨丹参-黄芪-川芎配伍治疗冠心病心绞痛的作用机制[J].中西医结合心脑血管病杂志,2021,19(21):3640-3644.
- [21]李梢.网络靶标:中药方剂网络药理学研究的一个切入点[J].中国中药杂志,2011,36(15):2017-2020.

基金项目:

安徽省卫生健康软科学研究项目 (2020WR03014)。

作者简介:

张舸, 2020 级在读硕士。

姚淮芳, 通讯作者, 硕士, 主任医师。

编辑: 弓良彦 编号: EA-2220411153 (修回: 2022-08-12)