

实验研究 EXPERIMENTAL STUDY

基于网络药理学方法探索葛根 – 丹参药对治疗冠心病心绞痛的作用机制^{*}

阙斌¹ 常佩芬² 周红梅² 冯思婷¹ 王晓¹ 郭倩³ 聂绍平^{1※}

(1.首都医科大学附属北京安贞医院冠心病中心,北京 100029;2.北京中医药大学东直门医院心内科,北京 100700;
3.北京市心肺血管疾病研究所,北京 100029)

摘要:目的 基于网络药理学探索葛根 – 丹参药对治疗冠心病心绞痛的作用机制。方法 借助多个在线数据库筛选并预测葛根 – 丹参药对活性成分及治疗冠心病心绞痛的作用靶标。借助 STRING 数据库构建靶蛋白相互作用(PPI)网络;通过 Uniprot 数据库获取靶标蛋白的基因名称,利用 DAVID 在线工具进行潜在基因的 GO 分析及 KEGG 富集通路分析。结果 从 TCMSP 数据库筛选出葛根 – 丹参药对的 69 种活性成分。PPI 网络中包含 72 个蛋白,涉及 IL6、FOS、CASP3、EGFR 等关键蛋白。GO 富集分析得到 GO 条目 112 个,以分子功能为主。KEGG 富集通路分析得到 119 条信号通路。结论 葛根 – 丹参药对主要通过调控炎症反应、细胞增殖凋亡等途径发挥治疗冠心病心绞痛的作用。

关键词:网络药理学;葛根 – 丹参药对;胸痹;冠心病心绞痛

doi:10.3969/j.issn.1672-2779.2022.07.049

文章编号:1672-2779(2022)-07-0132-03

The Mechanism of Radix Puerariae–Salvia Miltiorrhiza Couplets Medicines in the Treatment of Angina Pectoris of Coronary Heart Disease Based on Network Pharmacology

QUE Bin¹, CHANG Peifen², ZHOU Hongmei², FENG Siting¹, WANG Xiao¹, GUO Qian³, NIE Shaoping^{1※}

(1. Center for Coronary Artery Disease, Beijing Anzhen Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100029, China;
2. Department of Cardiology, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China;
3. Beijing Institute of Heart, Lung and Blood Vessel Diseases, Beijing 100029, China)

Abstract: Objective To explore the mechanism of radix puerariae–salvia miltiorrhiza couplet medicines in the treatment of angina pectoris of coronary heart disease based on network pharmacology. **Methods** The active components of radix puerariae–salvia miltiorrhiza couplet medicines and its therapeutic targets for coronary heart disease with angina pectoris were screened and predicted from multiple online databases. The STRING database was used to construct a protein–protein interaction network (PPI). The gene name of the target protein was obtained by the Uniprot database, the gene ontology (GO) analysis of potential genes and KEGG pathway analysis were carried out by using DAVID online tool. **Results** The 69 active components of radix puerariae–salvia miltiorrhiza couplet medicines were screened from the TCMSP database. The PPI network contained 72 proteins, and the key proteins are involved in IL6, FOS, CASP3, EGFR, etc. GO analysis obtained 112 GO entries, mainly based on molecular function. The KEGG pathway enrichment analysis obtained 119 signaling pathways. **Conclusion** Radix puerariae–salvia miltiorrhiza couplet medicines play a role in the treatment of coronary heart disease with angina pectoris by participating in the regulation of the inflammatory response, cell proliferation and apoptosis.

Keywords: network pharmacology; radix puerariae–salvia miltiorrhiza couplet medicines; chest discomfort; angina pectoris of coronary heart disease

心绞痛(AP)是由于冠状动脉供血不足,导致心肌细胞出现暂时性缺血缺氧而导致的以胸痛为主要症状的临床综合征,是冠状动脉粥样硬化性心脏病(CHD)最常见的表现。我国CHD患病人数每年以20%的速度增长,其病死率占循环系统疾病的10%~20%^[1]。本病隶属中医“胸痹”“真心痛”范畴,多由心脉痹阻而诱发疼痛^[2],故

活血化瘀是临床胸痹心痛的主要治法之一。

葛根 – 丹参是《施今墨对药》中收载的常用药对,其所针对的病机环境为瘀血阻滞,病位在血脉或经脉^[3]。葛根甘平,解肌退热,通经活络,扩张心脑血管,改善血液循环;丹参味苦,性寒,活血祛瘀,通经止痛,清心除烦,凉血消痈。二药配伍,相互促进,活血化瘀,祛瘀生新^[4]。葛根可促进血管平滑肌的运动,以推动血液运行;丹参可祛除出血后或血流缓慢所形成的血管内外瘀血,以保证血行畅通。该配伍自 20 世纪以后成为现

* 基金项目:北京市中医药管理局北京市中医药科技发展资金项目【No. JJ2018-01】

※通讯作者:spnie@ccmu.edu.cn

代临床治疗心脑血管病变的常用药对，特别是对于冠心病心绞痛的治疗具有较好疗效。故本研究基于中药“多成分、多靶点、多通路”研究思路，通过网络药理学预测葛根-丹参药对治疗冠心病心绞痛的作用机制，进而筛选有效活性成分、作用靶点及相关信号通路，为实验研究及临床应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 活性化合物及靶标蛋白的筛选 在 TCMSP 中分别录

入葛根、丹参进行检索，按生物利用度($OB \geq 30\%$)和类药性($DL \geq 0.18$)条件筛选出有效成分，通过该数据库导出所选活性成分对应的靶点。然后将导出的靶点导入 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)，进行基因的标准处理。

1.2 靶标蛋白基因名的确定及化合物 – 靶点网络的构建 在

Genecards(<https://www.genecards.org/>)、OMIM(<https://www.omim.org/>) 数据库中以“Coronary heart disease”“Angina”为关键词进行检索，将检索到的蛋白名称复制到 Uniprot 数据库中进行基因的标准化处理，得到疾病相关的靶点信息。将在 Genecards、OMIM 中检索得到的 CHD 与葛根 - 丹参药对的靶点在 Venny 2.1 中映射筛选出共同靶点。

1.3 蛋白互作(PPI)网络的构建 将该药对所涉及的相关靶点上传至在线 STRING 11.0 软件(<https://string-db.org/>)，通过参数设置将评分条件设定为 > 0.40 ，并隐藏图中孤立的蛋白质，最终输出 PPI 网络图。

1.4 关键核心基因 GO 功能注释及 KEGG 富集通路分析 为进一步了解上述筛选出的靶标蛋白基因的功能以及在信号通路中的作用，将筛选得到的葛根 - 丹参作用靶点导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>)，进行 GO 功能注释和 KEGG 富集通路分析，并基于 R 软件进行可视化。

2 结果

2.1 葛根-丹参活性成分的筛选及其作用靶点收集 通过TCMSP数据库，检索出葛根-丹参药对的所有化学成分，包括丹参202个、葛根18个。以OB $\geq 30\%$ 和DL ≥ 0.18 为参数共获得了69个满足条件的化合物，其中丹参为65个，葛根4个。

2.2 葛根 - 丹参药对与冠心病心绞痛靶点筛选 基于 Genecards、OMIM 数据库进行检索，获得冠心病心绞痛相关的疾病靶点 7556 个。剔除预测不到靶点的化合物共得到 55 个，其中丹参 52 个、葛根 3 个。将 7556 个疾病靶点与 55 个药对成分靶点通过 Venny 2.1 软件取交集后

得到疾病-药物成分共同靶点 72 个。

2.3 潜在作用靶点的蛋白互作网络 运用 STRING 11.0

构建 PPI 网络图，得到的 PPI 网络包含 72 个节点，638 条边，平均度值为 17.7，其中节点表示靶标蛋白，每条边表示靶标蛋白与蛋白之间的相互作用关系。根据节点的度值绘制出大于平均度值且较高的 30 个关键蛋白质节点。度值排名前 7 位的是 IL6、FOS、CASP3、EGFR、JUN、MYC、VEGFA。见图 1。

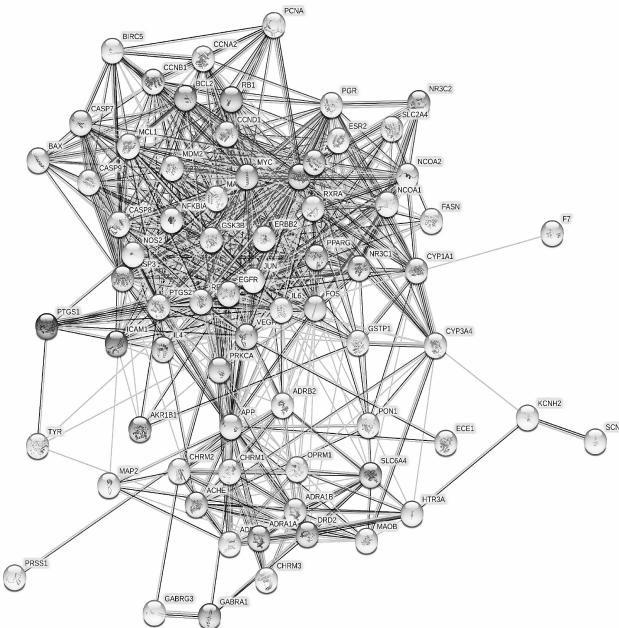


图 1 葛根 – 丹参靶蛋白 PPI 网络图

2.4 潜在核心靶点的 GO 功能注释与 KEGG 富集通路分析 利用 DAVID 平台对潜在功能靶点进行基因功能分析，得到 112 个 GO 条目，涉及分子功能 (MF)、生物过程 (BP) 和细胞组成 (CC) 3 个部分。DNA 结合转录因子结合、核受体活性、配体激活的转录因子活性等排列靠前，结果见图 2 (根据 P 值列出前 20 个)。KEGG 富集通路结果共得到 119 条通路，主要包括 IL-17 信号通路、TNF 信号通路、PI3K-AKT 信号通路等。见图 3。

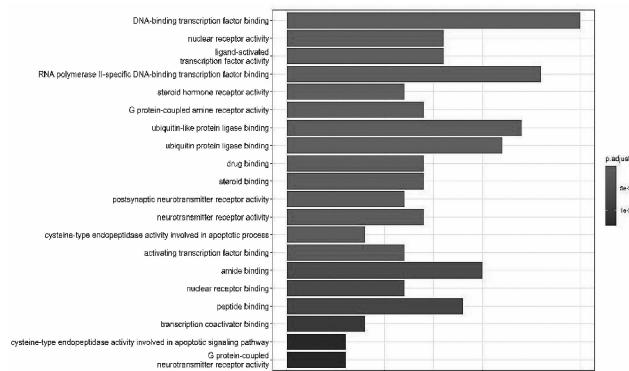


图 2 葛根-丹参治疗冠心病心绞痛相关靶点 GO 富集分析条目图

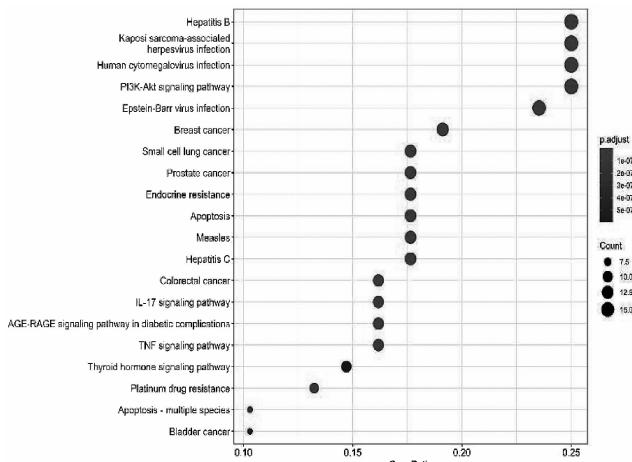


图3 葛根 - 丹参药对治疗冠心病心绞痛 KEGG 富集通路气泡图

3 讨论

研表明,葛根-丹参合用具有防治心肌梗死、防治动脉硬化、抗炎、抗氧化、抑制细胞凋亡等药理作用^[5,6]。丹参-葛根药对在临床应用广泛,以葛根为主要成分研制的愈风宁心滴丸具有抗血小板聚集,扩张冠状动脉血管,降低心肌耗氧量等作用^[7]。而从丹参中提取的单体化合物丹参酮II A已被多项研究证实可抑制血管平滑肌细胞增殖和迁移,进而起到保护血管内皮细胞的作用^[8]。

PPI 网络分析预测,网络中的关键蛋白节点主要包括 IL-6、FOS、CASP3、EGFR 等。经皮冠状动脉介入治疗术的术后再狭窄是局部血管损伤后的一种修复反应,涉及炎症反应、血管平滑肌细胞过度增殖及凋亡减少等多种因素参与。IL-6 通过促进机体全身炎症反应及局部凝血作用,进而刺激血管平滑肌细胞增生,使动脉粥样硬化斑块增长且趋于不稳定^[9]。FOS 基因可编码 c-Fos 蛋白的合成,研究发现 c-FOS 蛋白异常表达来源于心肌的缺血、缺血再灌注^[10]。

GO 功能分析发现的潜在靶点主要涉及 DNA 结合转录因子结合、核受体活性、配体激活的转录因子活性等方面,提示葛根-丹参通过参与调控上述生物学过程进而发挥其药理作用。KEGG 富集分析筛选出与冠心病心绞痛密切相关的信号通路,如 TNF 信号通路、PI3K-AKT 信号通路、IL-17 信号通路等,涉及免疫炎症反应、细胞增殖凋亡等生物学过程。PI3K-AKT 信号通路主要参与细胞增殖、分化、凋亡等多个环节^[11]。研究发现,PI3K/AKT 信号通路通过调节心肌细胞凋亡、血管内皮再生、炎症反应等影响心肌梗死的进展^[12]。炎症与心绞痛关系密切,而 TNF 则是经典的炎症靶标,其可溶性受体(TNFR1 和 TNFR2)在细胞应激反应和炎症级联反应中具有重要作用,且与心血管事件的风险增加有关^[13]。TNF- α 激活的信

号转导通路可能参与了血管功能障碍、动脉粥样硬化的发生和进展,以及心肌梗死后的心脏重构^[14]。

综上所述,本文基于网络药理学,从系统生物学角度挖掘葛根-丹参治疗冠心病心绞痛的潜在作用机制,发现各活性成分之间可能通过调控炎症反应、细胞增殖凋亡等途径发挥治疗作用,为进一步认识疾病本质,进而探索药物作用机制提供依据。

参考文献

- 王欣琛.冠心病的危险因素及二级预防策略[J].中西医结合心脑血管病杂志,2016,14(11):1303-1304.
- 杨红涛.冠心病心绞痛的多脏腑辨证论治体会[J].光明中医,2014,29(9):1957-1958.
- 文颖娟,邓中甲.葛根与丹参配伍探析[J].陕西中医学院学报,2010,33(6):96-97.
- 吕景山.施今墨对药[M].4版.北京:人民军医出版社,2016:154-155.
- REN J,FU L,NILE S H,et al.Salvia miltiorrhiza in treating cardiovascular diseases:a review on its pharmacological and clinical applications[J].Front Pharmacol,2019,10:753.
- BONESI M,LOIZZO M R,ACQUAVIVA R,et al.Anti-inflammatory and antioxidant agents from Salvia genus (Lamiaceae):An assessment of the current state of knowledge[J].Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem,2017,16(2):70-86.
- 燕竹青,焦其荟,何绪屏.愈风宁心滴丸治疗心血瘀阻型心绞痛的临床疗效观察[J].中西医结合心脑血管病杂志,2020,18(20):3333-3335.
- LIU Z,WANG J,HUANG E,et al.Tanshinone II A suppresses cholesterol accumulation in human macrophages:role of heme oxygenase-1[J].Lipid Res,2014,55(2):201-213.
- KUNAL S,MEENA P K,PATHAK P,et al.High-sensitivity C-reactive protein and interleukin-6 as risk predictors in patients with stable angina pectoris[J].Int J Adv Med,2020,7(9):1322.
- 李政,王晓燕,陈新山.冠心病猝死心肌c-fos蛋白表达的研究[J].华中科技大学学报(医学版),2005,34(6):711-714.
- WANG Y N,KUANG H Y,XUE J F,et al.LncRNA AB073614 regulates proliferation and metastasis of colorectal cancer cells via the PI3K/AKT signaling pathway[J].Biomed Pharmacother,2017,93:1230-1237.
- ZHANG Z,LI S,CUI M,et al.Rosuvastatin enhances the therapeutic efficacy of adipose-derived mesenchymal stem cells for myocardial infarction via PI3K/Akt and MEK/ERK pathways[J].Basic Res Cardiol,2013,108(2):333.
- CARLSSON A C,RUGE T,KJØLLER E,et al.10-Year Associations Between Tumor Necrosis Factor Receptors 1 and 2 and Cardiovascular Events in Patients with Stable Coronary Heart Disease:A CLERICOR (Effect of Clarithromycin on Mortality and Morbidity in Patients with Ischemic Heart Disease) Trial Substudy[J].J Am Heart Assoc,2018,7(9):e008299.
- CICHA I,URSCHEL K.TNF- α in the cardiovascular system:from physiology to therapy[J].Int J Interf Cytokine Mediat Res,2015,7:9-25.

(本文责编:秦琳 本文校对:王春梅 收稿日期:2021-04-20)