

基于系统药理学探究冠心Ⅱ号方 治疗冠心病的作用机制*

杨文娜¹, 徐文华¹, 徐香梅¹, 陈 旋¹, 郑景辉^{2**}

(1. 广西中医药大学 广西 南宁 530200; 2. 广西中医药大学附属瑞康医院, 广西 南宁 530011)

摘要:目的 利用系统药理学方法探究冠心Ⅱ号方治疗冠心病的作用机制。方法 利用TCMSP数据库筛选出冠心Ⅱ号方五味药所含有效化学成分,用DrugBank数据库和PharmMapper服务器对有效化学成分进行作用靶点预测;通过GeneCards和CTD数据库筛选出与冠心病相关靶点,将疾病相关靶点与化合物靶点进行对比得到交集靶点,利用David在线分析工具对交集靶标基因进行GO分析和KEGG分析,用IGEMDOCK软件验证靶标基因与活性成分的结合活性。结果 共得出150个活性成分,对应176个靶点,与冠心病相关靶点22个,网络分析结果表明靶点参与血压调节、一氧化氮生物合成过程的正调控、谷胱甘肽代谢过程等生物学过程;线粒体、细胞外间隙、神经元胞体等细胞组成;超氧化物歧化酶活性、蛋白酪氨酸激酶活性等分子功能;调节FOXO信号转导通路、ErbB信号通路、HIF-1信号通路和AMPK信号通路等通路发挥治疗冠心病作用。结论 本研究从系统药理学层面初步揭示了冠心Ⅱ号方治疗冠心病的作用机制,冠心Ⅱ号方治疗冠心病具有多成分、多靶点、多途径等特点,为下一步深入验证研究提供了良好的理论基础和新的思路。

关键词:系统药理学 冠心Ⅱ号方 冠心病 分子对接 信号通路

doi: 10.11842/wst.20181230001 中图分类号: R285.1 文献标识码: A

近年来,冠心病(coronary heart disease, CHD)患病率和病死率逐年增高,据《中国心血管病报告2017(概要)》^[1]显示:我国心血管病防治工作已取得初步成效,但仍面临严峻挑战。总体上看,中国心血管患病率及死亡率仍处于上升阶段,推算心血管病现患人数2.9亿,其中冠心病有1100万。冠心病是指冠状动脉粥样硬化导致心肌缺血、缺氧而引起的心脏病,属于中医的“胸痹”、“心痛”、“真心痛”等范畴,中医认为冠心病为“本虚标实”之证,五脏虚损是病之本,气滞、血瘀、痰浊是病之标^[2]。

冠心Ⅱ号方是由著名中医临床家郭士魁先生所

创制的,方由丹参、赤芍、川芎、红花和降香组成,具有活血化瘀的功效,临床多用于治疗冠心病心绞痛,现代药理学证明冠心Ⅱ号方可抗血小板积聚、降低血脂、抗动脉粥样硬化、增加冠脉血流量等^[3]。但冠心Ⅱ号的药理学研究大多仍停留在整体药效研究的基础上和动物指标上,传统药理学方法尚不能全面、深入阐释冠心Ⅱ号方对冠心病的治疗作用机制。

随着网络药理学^[4]、网络靶标^[5]、系统药理学^[6]等概念的提出与发展,这些新理念为中医药的研究带来了新契机。网络药理学是从系统的角度和分子的层面对中医药进行了系统的探索,将当前的“一靶一药”模

收稿日期:2019-08-02

修回日期:2019-10-03

* 国家自然科学基金委员会地区科学基金项目(81660766):基于线粒体脂质-蛋白质组学的养心通脉有效部位方抗大鼠心肌缺血再灌注损伤机制的研究;负责人:郑景辉;国家自然科学基金委员会地区科学基金项目(81360535):养心通脉有效部位方诱导骨髓间充质干细胞分化过程中miRNA调控网络研究;负责人:郑景辉;广西自然科学基金面上项目(2016GXNSFAA380296):养心通脉有效部位方干预缺血再灌注损伤心肌细胞线粒体的脂质组学研究;负责人:郑景辉。

** 通讯作者:郑景辉,广西中医药大学教授,博士,硕士生导师,主要研究方向:生物信息学在中医药研究中的应用。

式的研究模式更新为新的“网络靶多组分”模式^[7],系统药理学是从系统水平上研究药物与机体相互作用及其规律和作用机制的一门新兴学科,即从分子、网络、细胞、到组织、器官等不同水平上研究药物治疗疾病能变化机制,建立药物对于机体的作用从微观(分子、生化网络水平)到宏观(组织、器官、整体水平)的各水平间是相互关联的学问^[8],其系统性、整体性的特点与中医药整体观和辩证论治的原则相符合,为药物复杂作用的研究提供了新思路、新方法和新技术。LI^[9]等为探讨参芪扶正注射液联合多烯紫杉醇治疗肺癌的机制,先通过网路药理学方法预测出参芪扶正注射液和多烯紫杉醇的作用靶点,然后通过体内和体外实验方法验证,实验结果与网络药理学预测的结果一致,说明网络药理学具有一定的准确性。因此本研究利用系统药理学方法,探讨冠心Ⅱ号方治疗冠心病的作用机制,以期为进一步开展冠心Ⅱ号方治疗冠心病的基础实验研究提供参考和新思路。

1 数据库与软件

TCMSP数据库(<http://lsp.nwu.edu.cn/>), DrugBank数据库(<https://www.drugbank.ca/>), PharmMapper数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2896160/>), CTD数据库(<http://ctdbase.org/>), GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>), string数据库(<https://string-db.org/>), David 6.8在线分析软件(<https://david.ncifcrf.gov/list.jsp>), Cytoscape 3.6.1软件, IGEM-DOCK 2.1, Uniprot数据库(<https://www.uniprot.org/>)。

2 方法

2.1 冠心Ⅱ号方有效活性化合物的筛选

中药系统药理学平台—TCMSP(Traditional Chinese Medicines Systems Pharmacology Platform)是个融合了药物化学、药代动力学、网络靶点预测等网络信息的中药系统药理学数据库和分析平台,该数据库收录了近500个已经在中国药典注册过的草药,囊括了超过31 000种化学成分。TCMSP构建的中药化学分子库较为全面,如在纳入皂苷类中药化合物时,还特意区分加入了皂苷去糖形式的化合物,使其中药化学库更加准确全面^[10]。本研究利用TCMSP数据库,以口服生物利用度 $OB \geq 30\%$ 、类药性 $DL \geq 0.18$ 为筛选条件,对冠心Ⅱ号方的五味药丹参、赤芍、红花、降香和川芎

筛选出有效化合物,下载并保存为.mol2格式。

2.2 有效化合物的靶点预测

将2.1筛选出来的有效化合物,利用DrugBank数据库和PharmMapper服务器对这些有效化学成分进行作用靶点预测。基于PharmMapper服务器反向药效团匹配法,选择药效团模型,设定返回靶点数目为300,以.mol2格式上传到PharmMapper服务器,得到冠心Ⅱ号方化合物潜在的靶点信息。

2.3 化合物-靶点网络构建

将冠心Ⅱ号方五味药的化合物信息和化合物靶点信息导入Cytoscape软件中构建化合物-靶点网络图,在网络中,节点代表化合物、靶蛋白,边代表活性成分-靶点的相互作用,并利用Cytoscape软件中的Network Analyzer功能对化合物和靶点进行分析, Degree值越大,节点越大。

2.4 冠心病相关发病机制靶点的预测

利用GeneCards和CTD数据库筛选出与冠心病相关的靶点,以“coronary heart disease”为检索词进行检索,根据基因与疾病的相关度排序,各取前500个靶点,去掉重复的靶点,收集整合得到疾病靶点。

2.5 冠心Ⅱ号方对冠心病的潜在治疗靶点的收集

将2.2得到的化合物靶点数据与2.4得到的冠心病相关发病机制靶点数据通过VENNY在线分析软件进行比较,得到冠心Ⅱ号方对冠心病的潜在治疗靶点。

2.6 潜在治疗靶点的拓扑学分析和构建PPI网络

将潜在治疗靶点导入STRING数据库中,设定物种为“Homo sapiens”,获取蛋白相互作用,将结果保存为TSV格式文件,再将TSV格式文件导入Cytoscape软件里进行可视化分析,在软件中设置节点大小与颜色反映Degree大小变化,节点越大、颜色越深Degree越大,边的粗细反映Combined score大小变化,Combined score值越大边越粗,构建PPI网络。

2.7 相关通路信息和注释分析

将2.5得到的潜在治疗靶点导入DAVID数据库中,进行KEGG分析和GO分析,利用在线云平台OmicShare网站将KEGG通路绘制成气泡图,用Graphpad Prism 7.0软件绘制GO分析里的生物学过程(Biological Process, BP)、细胞组成(Cellular Component, CC)和分子功能(Molecular Function, MF)。

表1 冠心Ⅱ号方有效化合物表*

化合物代码	化合物名称	OB (%)	DL	来源药物
MOL007064	przewalskin b	110.32	0.44	丹参
MOL007132	(2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(Z)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)acryloyl]oxy-propionic acid	109.38	0.35	丹参
MOL007140	(Z)-3-[2-(E)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)vinyl]-3,4-dihydroxy-phenyl]acrylic acid	88.54	0.26	丹参
MOL001918	paeoniflorgenone	87.59	0.37	赤芍
MOL002997	3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)-2H-chromen-7-ol	86.18	0.27	降香
MOL002999	Sativanone	85.63	0.27	降香
MOL002939	(3R)-5'-Methoxyvestitol	83.06	0.26	降香
MOL002941	(3R)-3-(2,3-dihydroxy-4-methoxyphenyl)chroman-7,8-diol	82.35	0.27	降香
MOL003002	violanone	80.24	0.3	降香
MOL002966	Dalbergin	78.18	0.2	降香
MOL007150	(6S)-6-hydroxy-1-methyl-6-methylol-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-quinone	75.39	0.46	丹参
MOL002985	isoduartin	74.11	0.34	降香
MOL007058	formyltanshinone	73.44	0.42	丹参
MOL003003	Xenognosin B	72.71	0.24	降香
MOL007120	miltionone II	71.03	0.44	丹参
MOL002981	Duartin	70.63	0.34	降香
MOL002961	(-)-Vestitol	70.29	0.21	降香
MOL002975	butin	69.94	0.21	降香
MOL000392	formononetin	69.67	0.21	降香
MOL002950	(3R)-7,2',3'-trihydroxy-4-methoxyisoflavan	69.65	0.24	降香
MOL000433	FA	68.96	0.71	川芎
MOL002938	(3R)-4'-Methoxy-2',3,7-trihydroxyisoflavanone	68.86	0.27	降香
MOL007105	epidanshenspiroketallactone	68.27	0.31	丹参
MOL001925	paeoniflorin_qt	68.18	0.4	赤芍
MOL002990	(6aR,11aR)-3,9,10-trimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-4-ol	66.86	0.53	降香
MOL002140	Perlolyrine	65.95	0.27	川芎
MOL007016	Paeoniflorigenone	65.33	0.37	赤芍
MOL007155	(6S)-6-(hydroxymethyl)-1,6-dimethyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-dione	65.26	0.45	丹参
MOL006996	1-o-beta-d-glucopyranosylpaeonisuffrone_qt	65.08	0.35	赤芍
MOL007022	evofolinB	64.74	0.22	赤芍

注:*仅根据OB值排序列出前30个有效化合物

2.8 活性成分与靶蛋白的分子对接

分子对接技术是基于配体与受体作用的锁匙原理研究小分子配体与受体生物大分子的相互作用,能有效地确定与靶受体活性部位空间和电性特征相匹配的小分子化合物^[11]。从Uniprot数据库中找到潜在靶点的蛋白信息,保存为pdb格式,利用TCMSP数据库查找靶蛋白对应的活性成分,下载保存为.mol2格式,将靶蛋白数据信息和其对应的活性成分信息导入IGEMDICK软件进行分子对接,设置为默认参数:population size为200,Generation为70,number of solutions为2,Default Setting为Standart docking。

3 结果

3.1 冠心Ⅱ号方有效化合物的收集

通过TCMSP数据库搜集到160个符合OB $\geq$ 30%、DL $\geq$ 0.18条件的化合物,其中丹参65个,赤芍29个,红花22个,川芎7个,降香37个。去掉重复的化合物后共得到150个化合物。这150个化合物包括:芍药苷(paeoniflorgenone)、甜菜碱(Sativanone)、黄檀苷(Dalbergin)、黄芩素(baicalein)等,各个化合物的OB和DL值见表1。

3.2 有效化合物的靶点预测

PharmMapper在线分析软件是个通过反向药效团

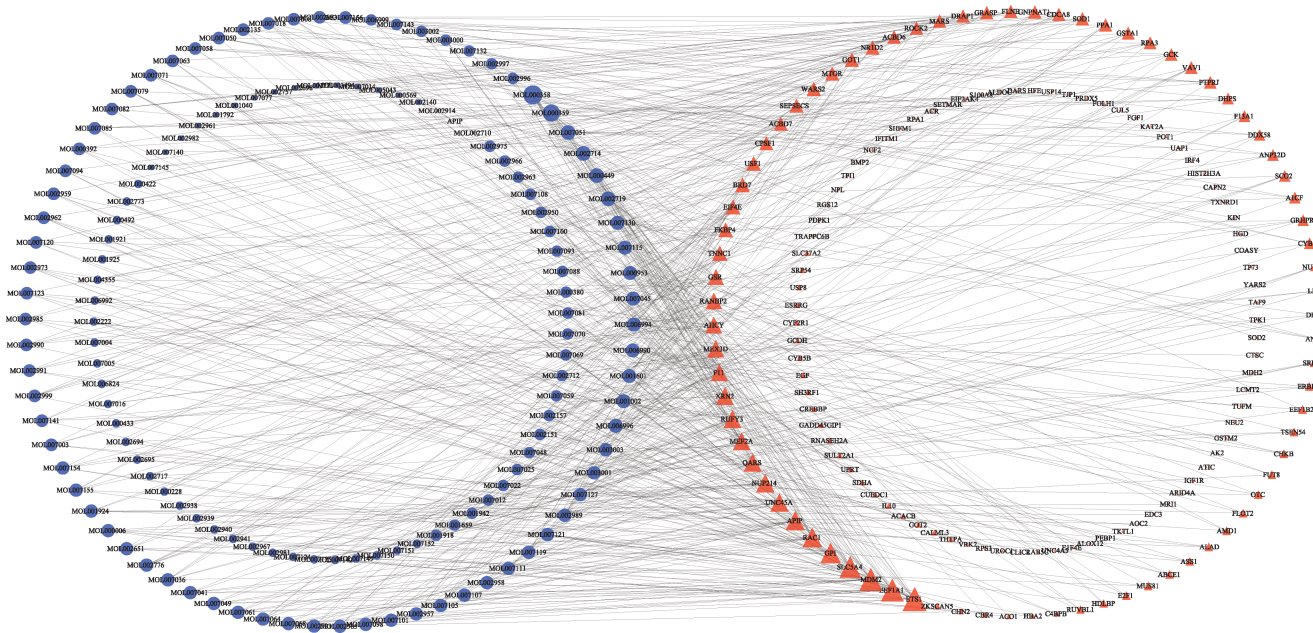


图1 冠心Ⅱ号方化合物-靶点网络图

(注:红色三角形表示化合物靶点,蓝色圆形表示化合物,节点越大, Degree 值越大)

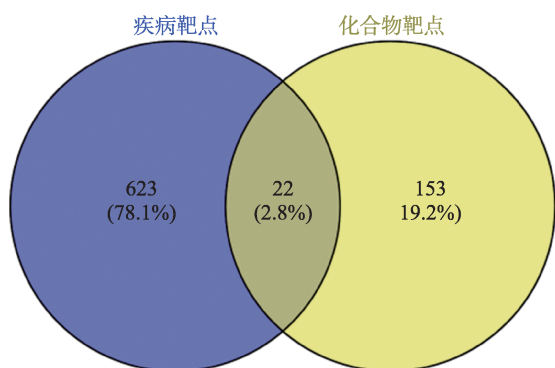


图2 冠心Ⅱ号方化学成分靶点与冠心病相关疾病靶点 Venny 图

匹配方法搜寻潜在药物靶点,它能够通过自动寻找与所查询的分子结构匹配最佳的药效团,再根据匹配程度给与打分^[12]。根据 PharmMapper 反馈的靶点,按匹配度从高到低,每个化合物取前十个靶点,PharmMapper 没有反馈回来的靶点从 DrugBank 数据库里搜索补充。将收集到的所有靶点逐个输入 UniProt 数据库,利用 UniProtKB 再次确认靶点信息,限定物种为“Homo sapiens”,剔除掉非人源靶点和重复靶点,并校正为其官方名称(official symbol),收集整理最后得到 176 个靶点。将化合物和靶点信息一同导入 Cytoscape 软件中构建“化合物-靶点网络图”,见图1。由网络图可看出每一种化合物可有多对应靶点,每个靶点并不只

对应一种化合物,提示冠心Ⅱ号方具有多成分、多靶点的特点。

3.3 冠心病相关发病机制靶点的预测与潜在治疗靶点的收集

利用 GeneCards 和 CTD 数据库,以“coronary heart disease”为检索词进行检索,根据基因与疾病的相关度排序,各取前 500 个靶点,剔除掉重复的靶点后得到 645 个靶点蛋白,将这 645 个靶点和化合物的 176 个靶点一同导入 Venny 在线分析软件,得到交集靶点 22 个,见图2。

3.4 潜在靶点的拓扑学分析

为了更直观地观察潜在治疗靶点之间的关系,将 22 个潜在靶点导入 string 软件中构建 PPI 网络,再将得到的蛋白互作网络导入 Cytoscape 软件进行网络拓扑属性分析。见表2、图3。如图3所示,丹参-赤芍药对急性心肌梗死作用的潜在靶蛋白 PPI 网络有 22 个节点,经计算后可知,平均连通度约为 9.36,平均最短路径长度在 1.2-1.7 之间,平均介数约为 0.03,平均聚类系数约为 0.7。度值大的节点被认为是中心节点^[13],其中度值(连通度)超过平均数的节点有 10 个,说明这 10 个节点作为蛋白互作网络中的核心节点,可能是冠心Ⅱ号方治疗冠心病的关键靶标。

3.5 相关通路信息和注释分析

将 22 个交集靶点导入 David 数据库进行 GO 分析

表2 冠心Ⅱ号方潜在靶点的拓扑属性表

蛋白名称	连通度	平均最短路径长度	介数中心性	中心接近度	聚类系数	连通度
MTOR	17	1.23809524	0.10133464	0.80769231	0.54411765	17
EGF	16	1.23809524	0.16554033	0.80769231	0.53333333	16
IGF1R	16	1.28571429	0.0922997	0.77777778	0.54166667	16
ABL1	16	1.23809524	0.07191021	0.80769231	0.58333333	16
SOD2	14	1.33333333	0.04242141	0.75	0.68131868	14
GSR	13	1.38095238	0.02925537	0.72413793	0.71794872	13
IL10	13	1.38095238	0.02114123	0.72413793	0.75641026	13
SOD1	12	1.42857143	0.01885854	0.7	0.77272727	12
PTGS2	11	1.52380952	0.00443122	0.65625	0.87272727	11
BMP2	10	1.52380952	0.01313859	0.65625	0.77777778	10
SDHA	9	1.66666667	0.01589169	0.6	0.75	9
PTGS1	8	1.66666667	0.0010582	0.6	0.92857143	8
TJP1	8	1.66666667	0	0.6	1	8
HFE	8	1.66666667	0.0962963	0.6	0.67857143	8
MEF2A	7	1.71428571	0.01573296	0.58333333	0.76190476	7
ACACB	7	1.76190476	7.94E-04	0.56756757	0.95238095	7
TNNC1	7	1.76190476	0.00746965	0.56756757	0.80952381	7
SCN5A	4	2.04761905	0.00238095	0.48837209	0.66666667	4
CHKB	4	1.85714286	0	0.53846154	1	4
F13A1	3	1.95238095	0.00480726	0.51219512	0.66666667	3
F11	2	2.14285714	0	0.46666667	1	2
HGD	1	2.61904762	0	0.38181818	0	1

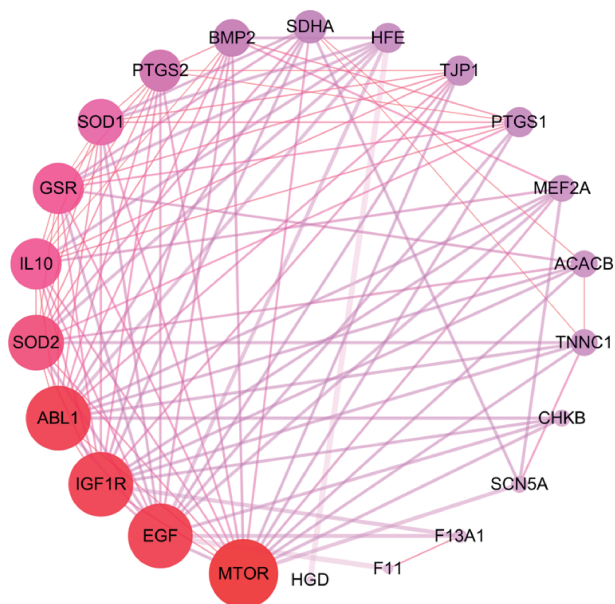


图3 潜在靶点的PPI网络

(注:节点大小与颜色反映Degree值大小变化,节点越大Degree值越大,颜色由紫变红对应的Degree值越大;边的粗细反映Combined score值大小变化,边越粗Combined score值大)

和KEGG分析,经过Bonferroni校正 P 值 <0.05 ,得到75个生物学过程,包括血压调节、对活性氧的反应、一氧化氮生物合成过程的正调控等;13个细胞组成,包括线粒体、细胞外间隙、细胞器膜等;15个分子功能,包括超氧化物歧化酶活性、蛋白酪氨酸激酶活性、生长因子活性等;以及8条信号通路,包括:肿瘤信号通路、FOXO信号转导通路、ErbB信号通路、和AMPK信号通路等。冠心Ⅱ号方的作用靶点涉及多种生物过程及多条通路,说明冠心Ⅱ号方可以通过调节这些生物过程和通路来发挥治疗作用。

3.6 分子对接验证

IGEMDOCK是款开源性的分子对接软件,一般用于活性筛选和快速对接,IGEMDOCK软件的分子对接结果是以能量的高低对化合物结合程度来判断的,能量越低,化合物分子与受体结合的作用可能性越大。临床研究^[14-15]表明丹参酮ⅡA磺酸钠注射液治疗冠心病疗效显著,不良反应少,丹参酮ⅡA磺酸钠注射液的主要成分是丹参酮ⅡA,本研究以阳性对照药丹参酮

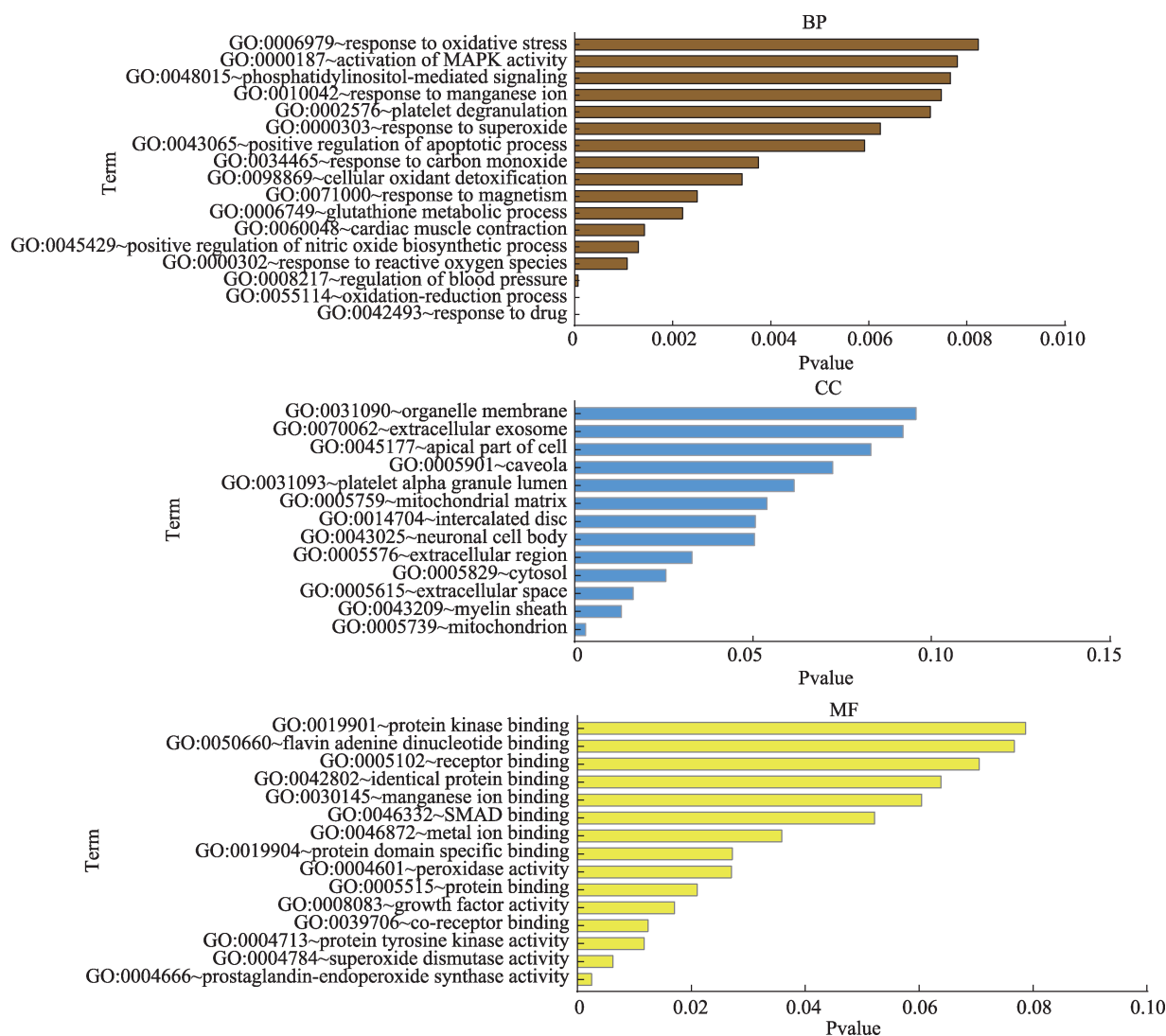


图4 冠心Ⅱ号方对冠心病作用靶点的GO分析

(注:其中BP仅根据P<0.01做出的柱状图)

Ⅱ A 打分函数值作为参考阈值,进行比对分析。分子对接结果见表3,由表可知冠心Ⅱ号方与22个冠心Ⅱ号方对冠心病的作用靶点结合性良好,且基本上优于丹参酮ⅡA,在这22个靶点中,其中结合性最强的是GSR与Salvilenone I,分子结合模式见图6。

4 讨论

冠心病是常见的心血管疾病,目前被广泛应用于临床的西医治疗手段有经皮冠状动脉介入治疗(PCI)、冠状动脉支架植入术(ICSI)等,但这些方法存在血管内皮损伤及血栓形成、血管炎症等问题^[16],中医药在防治冠心病方面具有独特的优势,能够从多靶点、多途径、多环节干预冠心病的发生、发展,它是从

整体治疗,具有不良反应小、价格低廉、标本兼治等优势^[17]。冠心Ⅱ号方是治疗冠心病的一个经验方,临床研究和实验研究均证实其有显著的治疗效果。

本研究通过TCMSP数据库筛选出有效化合物150个,这些化合物包括芍药苷(paeonifloragenone)、黄芩素(baicalin)、丹参酮ⅡA(tanshinone iia)、槲皮素(quercetin)等。实验^[18]表明芍药苷预处理能降低大鼠微血管内皮细胞的凋亡,对微血管内皮细胞发挥保护作用;黄芩素可抑制血管平滑肌细胞的增殖并促进其凋亡^[19];槲皮素具有抗氧化性,能清除自由基、减少毛细血管脆性、扩张冠状动脉。这些化合物都与血管上皮细胞、心肌细胞或者脂质代谢有关,由此推测,冠心Ⅱ号方通过这些化合物的协同作用对冠心病发挥疗效。

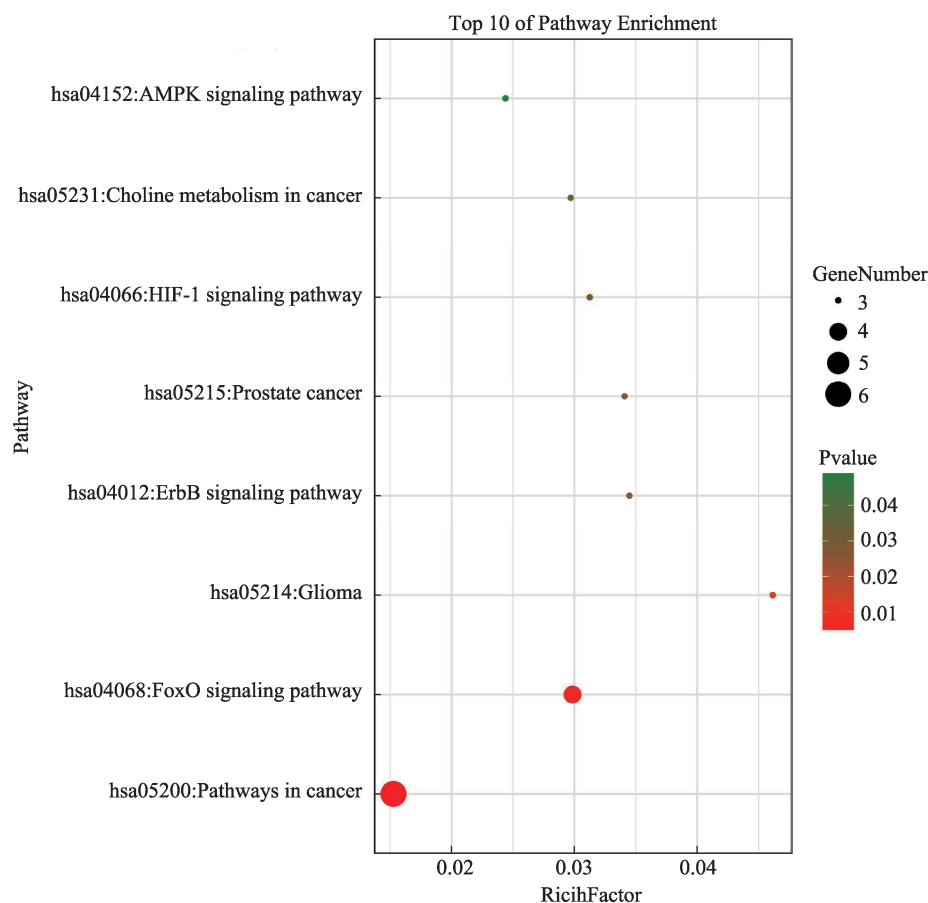


图5 冠心Ⅱ号方对冠心病作用的KEGG气泡图

预测出冠心Ⅱ号方治疗冠心病的22个潜在靶点,经过分析发现这些靶点共同参与多种生物过程。如BMP2、GSR、HGD、PTGS1、PTGS2、SDHA、SOD2和SOD1共同参与氧化还原反应,PTGS1、PTGS2、SOD1、SOD2共同调控血压调节,而MTOR、PTGS2和SOD2则参与一氧化氮生物合成过程的正调控。李慧等^[20]研究证明PTGS2可以促进血管平滑细胞的增殖和迁移,同时促进其表型的转化;超氧化物歧化酶SOD1、SOD2是生物体内重要的抗氧化酶,可清除人体内过多的有害的氧自由,有调节血脂、预防动脉粥样硬化,降低脂质过氧化物的含量等作用;IL10是一种重要的抗炎和免疫调节因子,对机体的免疫功能和炎症过程有着重要的调节作用;这些生物学过程均与冠心病的发生机制有关,因此推测冠心Ⅱ号方对治疗冠心病的作用机制可能与其诱导这些基因表达有关。

在KEGG分析中,得到8条通路,与冠心病相关的通路有4条,分别是FOXO信号转导通路、ErbB信号通路、HIF-1信号通路和AMPK信号通路。FOXOs转录

因子作用复杂多样,涉及许多重要的细胞过程,包括氧化应激、细胞代谢、参与细胞凋亡和自噬等^[21],心肌FOXOs可通过诱导抗氧化剂和细胞存活途径在氧化应激条件下促进心肌细胞存活,对缺血心肌发挥保护效应^[22],且Foxo蛋白能通过抑制钙调磷酸酶/活化T淋巴细胞核因子途径抑制心肌细胞的增大,在心肌肥大的发生中发挥负性调节作用^[23]。NRG1是一种神经调节蛋白,它通过激活ErbBs蛋白的受体酪氨酸激酶进行一系列的信号转导,NRG1及其ErbBs受体信号系统在正常心脏的形成和发育过程中具有决定性的作用^[24]。HIF-1是调节缺氧的转录因子,在细胞稳态、生理学和疾病中起关键作用^[25],Wei等^[26]研究表明HIF-1基因敲除加重压力超负荷诱导的心肌纤维化、心肌细胞肥大、心肌毛细血管密度降低和心肌细胞凋亡,促进心力衰竭发生。AMPK是生物体内的关键代谢调节酶,能调节机体内糖、蛋白质、脂肪的代谢,维持细胞能量稳态,是目前治疗血管疾病的一个重要靶点。在动物实验中,AMPK的激活能够降低肥胖的风险和糖

表3 潜在治疗靶点与相对应的化合物分子对接结果表

靶点 名称	PDB 编号	化合物代码	化合物名称	G 冠心 II 号方对接 得分	丹参酮 II A 对接 得分
GSR	3DJG	MOL007143	salvilenone I	-109.06	-106.45
PTGS1	5F19	MOL007122	Miltirone	-105.67	-103.14
HGD	3CKY	MOL007050	2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-3-benzofurancarboxaldehyde	-96.26	-85.17
HFE	1A62	MOL007093	dan-shexinkum d	-94.9	-82.21
SDHA	6C12	MOL007085	Salvilenone	-94.64	-109.36
SOD1	3GTT	MOL007005	Albiflorin_qt	-94.06	-78.53
CHKB	3FEG	MOL000392	formononetin	-93.95	-82.52
ACACB	4HQ6	MOL007119	miltionone I	-93.44	-88.6
IL10	1LK3	MOL007093	dan-shexinkum d	-86.85	-85.3
F13A1	5MHL	MOL007064	przewalskin b	-86.35	-78.13
IGF1R	3LVP	MOL006990	(1S,2S,4R)-trans-2-hydroxy-1,8-cineole-B-D-glucopyranoside	-86.26	-76.85
PTGSA2	5F19	MOL007122	Miltirone	-85.15	-81.63
BMP2	4N1D	MOL007130	prolithospermic acid	-84.34	-71.45
MTOR	4JSV	MOL007105	epidanshenspiroketallactone	-82.06	-80.26
TNNC1	3RV5	MOL007063	przewalskin a	-77.25	-65.51
SOD2	3BFR	MOL007008	4-ethyl-paeoniflorin_qt	-76.29	-69.4
EGF	4M1K	MOL007145	salviolone	-75.78	-75.12
MEF2A	1EGW	MOL007127	1-methyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[5,6-g]benzofuran-6,10,11-trione	-75.22	-67.42
ABL1	5NP2	MOL007122	Miltirone	-74.63	-63.28
SCN5A	4OVN	MOL007122	Miltirone	-73.4	-72.96
F11	6COS	MOL007098	deoxyneocryptotanshinone	-73.21	-73.39
TJPI	2CSJ	MOL007085	Salvilenone	-71.58	-81.63

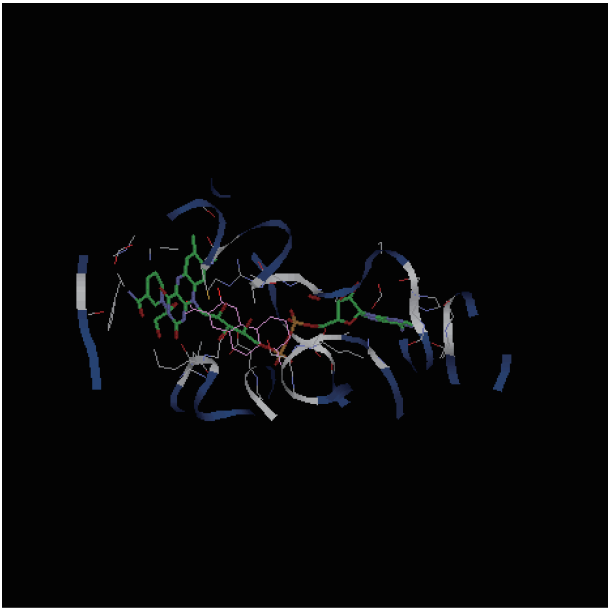


图6 GSR 与 salvilenone I 分子对接结果图

糖尿病相关的比如胰岛素抵抗,代谢综合征和动脉粥样硬化性心血管疾病发生率^[27],许多报道已证实 AMPK

在平滑肌中调节血管张力的重要性,以及 AMPK 功能异常可能会导致高血压、动脉粥样硬化和 endothelial 功能障碍等^[28]。综上,推测冠心 II 号方通过调控这些通路对冠心病产生治疗作用。

分子对接结果按照结合能由大到小的顺序排列见表 3,显示这 22 个靶蛋白与化合物均能结合,其中 GSR(谷胱甘肽还原酶)与 salvilenone I (沙维烯酮 I)的结合性是最好的,谷胱甘肽还原酶是一种帮助保护细胞免受氧化应激损坏的酶,机体内的自由基和过氧化氢等会产生氧化产物,这些产物会损害细胞成分,导致细胞变异或加速衰老,而谷胱甘肽还原酶参与氧化还原过程,能将谷胱甘肽返回原来的状态,使之继续行使细胞抗氧化功能。杨芳^[29]等发现动脉粥样硬化时机体的抗氧化作用减弱,存在氧化应激,说明改善机体的氧化还原状态有可能减慢或阻止动脉粥样硬化的发生与发展。表明冠心 II 号方有效活性成分可能通过与 GSR 结合对冠心病发挥治疗作用。其他化合物与靶标也有很好的结合力,分子对接的结果也进

一步为冠心Ⅱ号方治疗冠心病提供了新的思路。

综上所述,本研究利用系统药理学方法,从整体水平观察“药物-靶点-疾病”复杂网络关系,挖掘冠心Ⅱ号方的潜在治疗靶标、生物学信息和分子机制,探究冠心Ⅱ号方对冠心病的作用机制。发现冠心Ⅱ号方主要是通过有效化合物的协同作用,参与到血压调节、脂质代谢、一氧化氮生物合成过程的正调控、心肌

细胞的代谢等生物学过程,进一步对冠心病起到干预作用,与现代药理研究相符,为进一步从冠心Ⅱ号中提取有效活性成分治疗冠心病提供了参考依据和新的思路。本研究是通过现有的文本挖掘和大数据来进行预测,研究可能存在一些局限性,如网络信息技术尚不全面、数据库不够完整、评判标准不一的问题,因此,此研究后期有必要通过基础实验加以验证。

参考文献

- 1 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告2017》概要[J]. 中国循环杂志, 2018, 33(01): 1-8.
- 2 任姝俞,陈晓红,毛萍,等. 冠心病中医健康管理模式的研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(98): 72-73.
- 3 闫奎坡. 冠心Ⅱ号心脏保护作用的物质基础及其舒张大鼠胸主动脉机制的研究[D]. 中南大学, 2012.
- 4 Hopkins A L. Network pharmacology[J]. *Nature Biotechnology*, 2007, 25(10): 1110-1111.
- 5 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.
- 6 Berger S I, Ma ' Ayan A, Iyengar R. Systems Pharmacology of Arrhythmias[J]. *Science Signaling*, 2010, 3(118): ra30.
- 7 Li S, Zhang B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: theory, methodology and application[J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2013, 11(2): 110-120.
- 8 王永华,杨凌. 基于系统药理学的现代中药研究体系[J]. 世界中医药, 2013, 8(07): 801-808.
- 9 Li T, Baochen Z, Yue Z, et al. Network Pharmacology-Based identification of pharmacological mechanism of SQFZ injection in combination with Docetaxel on lung cancer. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 4533
- 10 刘志强,王博龙. 中药网络药理学药效成分筛选与靶标预测的研究进展[J]. 中成药, 2019, 41(01): 171-178.
- 11 宋向岗,周威,陈超,等. 基于分子对接方法的川芎治疗脑缺血的物质基础及分子机制研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(11): 2195-2198.
- 12 孙明月,高蕊,陆芳,等. 基于网络药理学的灯台叶总生物碱胶囊治疗急性支气管炎的作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(04): 468-473.
- 13 薛潇春,胡晋红. 网络药理学研究方法与应用进展[J]. 药学实践杂志, 2015, 33(05): 401-405.
- 14 魏新霞. 丹参酮ⅡA磺酸钠注射液治疗冠心病患者的疗效观察[J]. 临床合理用药杂志, 2018, 11(35): 33-34.
- 15 杜凤东. 丹参酮ⅡA磺酸钠注射液治疗冠心病不稳定型心绞痛的疗效[J]. 中国医药指南, 2018, 16(12): 189-190.
- 16 常荣凯,张培影. 冠心病经皮冠状动脉介入治疗后再狭窄的中西医结合防治研究进展[J]. 中国中医急症, 2018, 27(10): 1874-1877+1880.
- 17 李洁,刘如秀. mTOR信号通路在冠心病中的作用及中医药干预研究进展[J]. 天津中医药大学学报, 2018, 37(06): 441-444.
- 18 赵伟,高宇勤,郝霁萍,等. 芍药苷预处理对微血管内皮细胞缺氧复氧模型的干预作用[J]. 西南国防医药, 2017, 27(11): 1145-1147.
- 19 李学堂,隋玉玲. 黄芩素抑制血管平滑肌细胞增殖作用及其机制研究[J]. 世界临床药物, 2017, 38(09): 601-607.
- 20 李慧,钟筱兰,李超民,等. 环氧合酶2对血管平滑肌细胞增殖、迁移和表型转化的影响[J]. 岭南心血管病杂志, 2015, 21(05): 677-680.
- 21 周骅,曹新生,胡泽兵,等. FOXOs转录因子生物学功能的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(01): 185-188.
- 22 Sengupta A, Molken J D, Paik J H, et al. FoxO Transcription Factors Promote Cardiomyocyte Survival upon Induction of Oxidative Stress[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(9): 7468-7478.
- 23 Ni, Y. G. Foxo Transcription Factors Blunt Cardiac Hypertrophy by Inhibiting Calcineurin Signaling[J]. *Circulation*, 2006, 114(11): 1159-1168.
- 24 李蕴峰. 神经调节蛋白-1 β 及其受体信号系统对心肌细胞的调控作用及其机制研究[D]. 山东大学, 2017.
- 25 窦梦怡,秦富忠,李保. 缺氧诱导因子在心脏重构和心力衰竭中的作用[J]. 中国循环杂志, 2015, 30(11): 1125-1127.
- 26 Wei H, Bedja D, Koitabashi N, et al. Endothelial expression of hypoxia-inducible factor 1 protects the murine heart and aorta from pressure overload by suppression of TGF- β signaling[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109(14): E841-E850.
- 27 Weikel KA, Ruderman NB, Cacicedo JM. Unraveling the actions of AMP-activated protein kinase in metabolic diseases: systemic to molecular insights[J]. *Metabolism*, 2016, 65(5): 634-645.
- 28 Hayashi M, Lee J D. Role of the BMK1/ERK5 signaling pathway: lessons from knockout mice[J]. *Journal of Molecular Medicine (Berlin)*, 2004, 82(12): 800-808.
- 29 杨芳. 冠心病患者血浆谷胱甘肽抗氧化系统的改变及临床意义的研究[D]. 苏州大学, 2008.

Mechanism Research of Guanxin II Prescription on Treating Coronary Heart Disease Based on Systematic Pharmacology

Yang Wenna¹, Xu Wenhua¹, Xu Xiangmei¹, Chen Xuan¹, Zheng Jinghui²

(1. Guangxi University of traditional Chinese Medicine, Guangxi Nanning 530200; 2. Ruikang Hospital affiliated to Guangxi University of traditional Chinese Medicine, Guangxi Nanning 530011)

Abstract: Objective to explore the mechanism of Guanxin II prescription in the treatment of coronary heart disease by systematic pharmacology. Methods the effective chemical constituents of Guanxin II prescription were screened by TCMSP database, and the effective chemical constituents were predicted by DrugBank database and PharmMapper server. GeneCards and CTD databases were used to screen the coronary heart disease related targets, and the disease related targets were compared with the compound targets to obtain the intersection targets. The cross target genes were analyzed by GO and KEGG using David online analysis tool, and the binding activity of target gene to active components was verified by ICMDOCK software. Results a total of 150 active components were obtained, corresponding to 176 targets and 22 targets related to coronary heart disease. The results of network analysis showed that the targets were involved in the regulation of blood pressure, the positive regulation of nitric oxide biosynthesis, and the process of glutathione metabolism. Cell composition of mitochondria, extracellular space, neuronal cell body, superoxide dismutase activity, protein tyrosine kinase activity and other molecular functions; Regulation of FOXO signal transduction pathway, ErbB signaling pathway, HIF-1 signal pathway and AMPK signaling pathway play a role in the treatment of coronary heart disease. Conclusion in this study, the treatment of Guanxin II prescription was preliminarily revealed from the level of systematic pharmacology. The mechanism of coronary heart disease, Guanxin II prescription for coronary heart disease has the characteristics of multi-component, multi-target and multi-way, which provides a good theoretical basis and new ideas for further research.

Keywords: systematic pharmacology, Guanxin II prescription, Coronary heart disease, Molecular docking, signal pathway

(责任编辑: 闫 群, 责任译审: 钱灵姝)