

- and MMP-9 in progression of involvement area in colon of patients with ulcerative colitis[J]. *Curr Med Sci*, 2018, 38(2): 252-258.
- [14] 施嫣红, 刘恒铭, 黄志刚, 等. 柳氮磺吡啶联合双歧杆菌三联活菌胶囊治疗溃疡性结肠炎的疗效[J]. *中国新药与临床杂志*, 2010, 29(10): 783-785.
- [15] Mukherjee S P, Behar M, Birnbaum H A, et al. Analysis of the RelA: CBP/p300 interaction reveals its involvement in NF- κ B-driven transcription [J]. *PLoS Biol*, 2013, 11(9): e1001647.
- [16] Wang P, Liu Z P, Zhang X Q, et al. CRISPR/Cas9-mediated gene knockout reveals a guardian role of NF- κ B/RelA in maintaining the homeostasis of human vascular cells[J]. *Protein Cell*, 2018, 9(11): 945-965.
- [17] Zhang Q, Lenardo M J, Baltimore D. 30 years of NF- κ B: a blossoming of relevance to human pathobiology [J]. *Cell*, 2017, 168(1-2): 37-57.
- [18] Hegazy S K, El-Bedewy M M. Effect of probiotics on pro-inflammatory cytokines and NF- κ B activation in ulcerative colitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(33): 4145-4151.
- [19] Sakthivel K M, Guruvayoorappan C. Protective effect of acacia ferruginea against ulcerative colitis via modulating inflammatory mediators, cytokine profile and NF- κ B signal transduction pathways[J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2014, 33(2): 83-98.

基于网络药理学和分子对接技术探讨精制冠心片治疗冠心病的机制

陈 敏^{1,2}, 邓萌萌², 伍蕊嗣², 周 波³, 韦 玮³, 潘晓鹃^{1,2*}

(1. 西南医科大学药学院, 四川 泸州 646000; 2. 四川省中医药科学院, 四川 成都 610041; 3. 重庆市中药研究所, 重庆 404100)

摘要: **目的** 利用网络药理学和分子对接技术研究精制冠心片治疗冠心病的分子机制。**方法** 应用中药系统药理学数据库和分析平台 (TCMSP), 以口服生物利用度和类药性为限定条件筛选出精制冠心片中各药的化学成分及其蛋白靶点; 通过 Uniprot 数据库将蛋白靶点规范为相应的基因名称; 通过 GeneCards 数据库与 OMIM 数据库检索冠心病相关基因; 通过 David 数据库进行 GO 和 KEGG 富集分析; 应用 Cytoscape 软件建立“中药—成分—靶点”网络图; 使用 Autodock 和 PyMol 软件对核心靶点 NCOA2、ADRB2、PTGS2 进行分子对接与可视化处理, 根据对接结果阐述精制冠心片治疗冠心病的潜在作用机制。**结果** 筛选出精制冠心片 160 个有效成分, 冠心病 1 368 个基因靶点, 共同靶点 112 个; 这些靶点涉及细胞内信号的正向转导、细胞群的增殖、细胞的积极代谢等生物过程。**结论** 精制冠心片通过激活 PI3K-Akt、MAPK、Akt 信号通路, 刺激血管内皮细胞增殖、调节蛋白质二聚活性、细胞因子活性、信号受体活性、过氧化物酶活性等治疗冠心病。

关键词: 网络药理学; 冠心病; 精制冠心片; 分子对接; 作用机制

中图分类号: R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)06-2033-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.06.056

冠状动脉粥样硬化性心脏病是冠状动脉血管发生动脉粥样硬化病变而引起血管腔狭窄或阻塞, 造成心肌缺血、缺氧或坏死而导致的心脏病, 常被称为冠心病^[1]。世界卫生组织将冠心病分为无症状心肌缺血 (隐匿性冠心病)、心绞痛、心肌梗死、缺血性心力衰竭和猝死 5 种临床类型^[2]。冠心病的患病率在世界范围内不断增加, 也呈现出逐渐年轻化的状态, 其发病机制是体内脂质代谢异常, 血管中脂质沉淀在动脉内膜上, 出现类似于粥样物质的,

聚集成白色斑块, 堵塞动脉血管, 血液流动速度随之降低, 导致心脏缺血, 最终演变成冠状动脉粥样硬化性心脏病。病变过程是内皮细胞的改变, 由线状形逐渐变为圆石块形状, 使得单核细胞和巨噬细胞易于通过内皮到达皮下间隙, 驱动动脉粥样硬化的发生^[3], 同时脂蛋白水平增高, 刺激低密度脂蛋白 LDL 和其他脂蛋白聚集于病灶区, 形成脂斑斑块。血管内膜增厚中膜变薄、血管外膜大量纤维化, 逐渐形成纤维帽, 继而演变为纤维斑块^[4-5]。

收稿日期: 2020-11-04

作者简介: 陈 敏 (1995—), 女, 硕士生, 从事中药制剂及质量控制研究。Tel: 17809213757, E-mail: 17809213757@163.com

***通信作者:** 潘晓鹃 (1965—), 女, 研究员, 硕士生导师, 从事中药制剂及质量控制研究。Tel: (028) 85256112, E-mail: panxiaojuan1@163.com

网络出版日期: 2021-07-19

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20210719.0930.002.html>

中医认为冠心病分为本虚和标实 2 种情况,通过辨证将这种疾病分为血瘀气滞型、阴寒内结型、痰浊闭阻型、痰瘀气足型、心肾阴虚型、心脾两虚型等^[6],按照类型的不同进行相关的治疗。治疗标实者可以单独治其标,补肾精者可重在标本兼治,本虚者可以根据气血阴阳亏虚不同采取相应的治疗方法^[7-8]。鉴于中药复方成分复杂、靶点众多等原因,本研究利用网络药理学方法探讨中药复方的生物活性成分及作用靶点,并应用分子对接技术对关键药效成分和靶点进行验证,为进一步阐明精制冠心病片活性成分、作用机制以及发挥临床疗效提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 精制冠心病片活性成分与潜在靶点筛选 综合文献报道以及利用中药系统网络药理学分析平台 (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 分别输入“丹参”“赤芍”“红花”“降香”“川穹”5 味中药药名,查找活性成分,设定口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 且类药性 (drug-likeness, DL) ≥ 0.18 为筛选条件,收集符合条件的有效成分。综合考虑该化学成分的含量及生物学效应等多方面因素,最终确定为活性成分,通过 TCMSPP 数据库预测其靶点蛋白。在 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 中将靶点蛋白名转换为靶点基因名。

1.2 确定疾病靶点 通过 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>) 以及 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 搜集与冠心病相关的疾病靶点,将数据库中的疾病基因导入 excel 表格中合并数据,剔除重合基因条目,最终获得冠心病相关基因。

1.3 蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络的构建 将精制冠心病片和冠心病共同作用靶点以 gene symbol 形式上传至 STRING^[9] (<https://string-db.org/>) 数据库中,构建蛋白质相互作用网络,将物种设定为“Homo sapiens”,最低相互作用阈值设置为“highest confidence” (>0.9),隐藏游离蛋白,其他参数保持默认设置进行操作,将文件保存为

TSV 格式。

1.4 中药-成分-靶点网络构建 通过数据筛选获得精制冠心病片活性成分潜在作用靶点及冠心病疾病靶点,通过韦恩图取交集得到 2 者共同靶点 112 个,利用 Cytoscape 3.8.0 软件构建“中药-成分-基因靶点”相互作用网络图,药物活性成分和作用靶点以“节点”表示,节点之间的相互作用以“边”表示。

1.5 基因本体 (GO) 富集分析和基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析 利用 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 对精制冠心病片和冠心病共同作用靶点蛋白进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析,筛选 $P<0.05$ 的前 20 个条目,借助 omicshare 网站 (<https://www.omicshare.com/>) 进行数据可视化处理,以阐释精制冠心病片治疗冠心病的生物功能及相关信号通路,结果以柱形图和气泡图形式呈现。

1.6 分子对接验证 从 PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/>) 中下载核心靶点蛋白质结构,利用 PyMol 2.3.4 软件对核心蛋白进行去水、分离原配体等操作,保存后导入 Autodock 4.2.6 软件加氢、设置原子类型,保存为“pdbqt”格式。在 TCMSPP 数据库中下载小分子结构,保存为“mol2”结构,利用 Autodock 进行核心成分的分子对接。结合能代表受体与配体之间的作用力,结合能越低,氢键数目越多,构象越稳定,其能量越低,相互作用的可能性就越大^[10]。通常认为,结合能绝对值大于 4.25 kJ/mol 代表配体与受体之间有一定的结合力;大于 5.0 kJ/mol 表示有较好的结合活性;大于 7 kJ/mol 表明结合活性强烈。

2 结果

2.1 精制冠心病片活性成分筛选 通过 TCMSPP 数据库,以 OB $\geq 30\%$, DL ≥ 0.18 进行筛选,剔除无对应靶点成分,得到丹参、赤芍、红花、降香、川穹的有效化合物 160 个,其中丹参 65 个,赤芍 29 个,红花 22 个,降香 37 个,川穹 7 个,有效化合物信息如表 1 所示。

表 1 精制冠心病片候选化合物

化合物编码	化合物	口服生物利用度	类药性	归属
MOL001601	1,2,5,6-四氢丹参酮	38.75	0.36	丹参
MOL001659	紫杉醇	43.83	0.76	丹参
MOL001771	γ -谷甾醇	36.91	0.75	丹参
MOL001942	异欧前胡素	45.46	0.23	丹参
MOL002222	柳树酚	36.11	0.28	丹参
MOL002651	脱氢丹参酮 II _A	43.76	0.40	丹参
MOL002776	黄芩苷	40.12	0.75	丹参
MOL000569	间双没食子酸	61.85	0.26	丹参
MOL000006	木犀草素	36.16	0.25	丹参
MOL006824	α -香树脂醇	39.51	0.76	丹参
MOL007036	5,6-二羟基-7-异丙基-1,1-二甲基-2,3-二氢菲-4-酮	33.77	0.29	丹参
MOL007041	2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮	40.86	0.23	丹参
MOL007045	3 α -羟基对苯二酚 II _A	44.93	0.44	丹参
MOL007048	(E)-3-[2-(3,4-二羟基苯基)-7-羟基-苯并呋喃-4-甲基]丙烯酸	48.24	0.31	丹参
MOL007049	4-亚甲基米松	34.35	0.23	丹参
MOL007050	2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-5-(3-羟丙基)-7-甲氧基-3-苯并呋喃甲酯	62.78	0.4	丹参
MOL007051	6-邻丁香基-8-邻乙酰基山萘糖苷甲酯	46.69	0.71	丹参

续表 1

化合物编码	化合物	口服生物利用度	类药性	归属
MOL007058	醛基丹参酮	73.44	0.42	丹参
MOL007059	3-β-羟基亚甲基丹参酮	32.16	0.41	丹参
MOL007061	亚甲基丹参酮	37.07	0.36	丹参
MOL007063	紫丹参萜 A	37.11	0.65	丹参
MOL007064	紫丹参萜 B	110.32	0.44	丹参
MOL007068	普泽瓦酮 B	62.24	0.41	丹参
MOL007069	紫丹参素 C	55.74	0.40	丹参
MOL007070	(6 <i>S</i> ,7 <i>R</i>)-6,7-二羟基-1,6-二甲基-8,9-二氢-7 <i>H</i> -萘[8,7- <i>g</i>]苯并呋喃-10,11-二酮	41.31	0.45	丹参
MOL007071	紫丹参己素	40.31	0.46	丹参
MOL007077	香紫苏醇	43.67	0.21	丹参
MOL007079	丹参醛	52.47	0.45	丹参
MOL007081	丹参醇 B	57.95	0.56	丹参
MOL007082	丹参醇 A	56.97	0.52	丹参
MOL007085	鼠尾草呋萜嵌苯酮	30.38	0.38	丹参
MOL007088	隐丹参酮	52.34	0.40	丹参
MOL007093	丹参新酮 D	38.88	0.55	丹参
MOL007094	丹参螺酮内酯	50.43	0.31	丹参
MOL007098	去羟新隐丹参酮	49.40	0.29	丹参
MOL007100	二氢丹参内酯	38.68	0.32	丹参
MOL007101	1-氢丹参酮	45.04	0.36	丹参
MOL007105	表丹参螺酮内酯	68.27	0.31	丹参
MOL007107	C09092	36.07	0.25	丹参
MOL007108	异隐丹参酮	54.98	0.39	丹参
MOL007111	异丹参酮 II	49.92	0.40	丹参
MOL007115	泪杉醇	45.04	0.20	丹参
MOL007118	Microstegiol	39.61	0.28	丹参
MOL007119	丹参酮 I	49.68	0.32	丹参
MOL007120	丹参酮 II	71.03	0.44	丹参
MOL007121	丹参环庚三烯酮	36.56	0.37	丹参
MOL007122	丹参新酮	38.76	0.25	丹参
MOL007123	丹参新酮 II	44.95	0.24	丹参
MOL007124	新隐丹参酮 II	39.46	0.23	丹参
MOL007125	新隐丹参酮	52.49	0.32	丹参
MOL007127	1-甲基-8,9-二氢-7 <i>H</i> -萘酚[5,6- <i>g</i>]苯并呋喃-6,10,11-三酮	34.72	0.37	丹参
MOL007130	原紫草酸	64.37	0.31	丹参
MOL007132	(2 <i>R</i>)-3-(3,4-二羟基苯基)-2-[(<i>Z</i>)-3-(3,4-二羟基苯基)丙烯酰]氧基丙酸	109.38	0.35	丹参
MOL007140	(<i>Z</i>)-3-[2-[(<i>E</i>)-2-(3,4-二羟基苯基)乙烯基]-3,4-二羟基苯基]丙烯酸	88.54	0.26	丹参
MOL007141	丹参酮 G	45.56	0.61	丹参
MOL007142	丹参酮 E	43.38	0.72	丹参
MOL007143	丹参酮 I	32.43	0.23	丹参
MOL007145	异鼠草酮	31.72	0.24	丹参
MOL007149	NSC 122421	34.49	0.28	丹参
MOL007150	(6 <i>S</i>)-6-羟基-1-甲基-6-甲基-8,9-二氢-7 <i>H</i> -萘酚[8,7]苯并呋喃-10,11-二酮	75.39	0.46	丹参
MOL007151	丹参二醇 B	42.67	0.45	丹参
MOL007152	紫丹参素 E	42.85	0.45	丹参
MOL007154	丹参酮 II _A	49.89	0.40	丹参
MOL007155	(6 <i>S</i>)-6-(羟基)-1,6-二甲基-8,9-二氢-7 <i>H</i> -萘酚[8,7]苯并呋喃-10,11-二酮	65.26	0.45	丹参
MOL007156	丹参酮 VI	45.64	0.30	丹参
MOL007004	芍药内酯苷	30.25	0.77	赤芍
MOL006990	(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-反式-2-羟基-1,8-桉叶素-β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷	30.25	0.27	赤芍
MOL007003	苯甲酰芍药苷	31.14	0.54	赤芍
MOL007025	异苯甲酰芍药苷	31.14	0.54	赤芍
MOL007014	8-苯并丹宁	31.74	0.45	赤芍
MOL002883	油酸乙酯	32.40	0.19	赤芍
MOL002714	黄芩素	33.52	0.21	赤芍

续表 1

化合物编码	化合物	口服生物利用度	类药性	归属
MOL006994	1- <i>O</i> - β - <i>D</i> -吡喃葡萄糖-8- <i>O</i> -苯甲酰芍药酚酮	36.01	0.30	赤芍
MOL000359	谷甾醇	36.91	0.75	赤芍
MOL000358	β -谷甾醇	36.91	0.75	赤芍
MOL006999	4,24-二甲基-7-烯胆甾烷醇	37.42	0.75	赤芍
MOL005043	菜油甾醇	37.58	0.71	赤芍
MOL002776	黄芩苷	40.12	0.75	赤芍
MOL004355	α -菠菜甾醇	42.98	0.76	赤芍
MOL001002	鞣花酸	43.06	0.43	赤芍
MOL000449	植物甾醇	43.83	0.76	赤芍
MOL007005	合欢苷	48.70	0.33	赤芍
MOL001921	芍药新苷	49.12	0.80	赤芍
MOL001924	芍药苷	53.87	0.79	赤芍
MOL000492	儿茶素	54.83	0.24	赤芍
MOL007012	4-邻甲基芍药苷	56.70	0.43	赤芍
MOL007008	4-乙基芍药苷	56.87	0.44	赤芍
MOL006992	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-4-甲氧基二苯乙烯	59.98	0.30	赤芍
MOL007018	9-乙基新芍药苷	64.42	0.30	赤芍
MOL007022	吴茱萸苷 B	64.74	0.22	赤芍
MOL006996	1- <i>O</i> - β - <i>D</i> -吡喃葡萄糖基芍药苷	65.08	0.35	赤芍
MOL007016	芍药甙元酮	65.33	0.37	赤芍
MOL001925	芍药苷	68.18	0.40	赤芍
MOL001918	芍药甙元酮	87.59	0.37	赤芍
MOL001494	亚油酸乙酯	42.00	0.19	川芎
MOL002135	杨梅酮	40.60	0.51	川芎
MOL002140	川芎嗪	65.95	0.27	川芎
MOL002151	正丁基-4,5-二氢基酮	47.66	0.24	川芎
MOL002157	川芎萜内酯	42.31	0.71	川芎
MOL000359	谷甾醇	36.91	0.75	川芎
MOL000433	FA	68.96	0.71	川芎
MOL001771	γ -谷甾醇	36.91	0.75	红花
MOL002680	黄原素	60.41	0.56	红花
MOL002694	4-[(<i>E</i>)-4-(3,5-二甲氧基-4-氧代-1-环己-2,5-二烯基)-2-烯基]-2,6-二甲氧基环己烷-2,5-二烯基-1-酮	48.47	0.36	红花
MOL002695	木脂素	43.32	0.65	红花
MOL002698	棕榈酸酯	33.98	0.32	红花
MOL002706	八氢番茄红素	39.56	0.50	红花
MOL002707	氟草酮	43.18	0.50	红花
MOL002710	除虫菊素	48.36	0.35	红花
MOL002712	6-羟基山柰酚	62.13	0.27	红花
MOL002714	黄芩素	33.52	0.21	红花
MOL002717	醌式红花甙	51.03	0.20	红花
MOL002719	红花素	33.23	0.24	红花
MOL002721	槲皮素	45.01	0.31	红花
MOL002757	7,8-二甲基-1 <i>H</i> -嘧啶并[5,6- <i>g</i>]喹啉-2,4-二酮	45.75	0.19	红花
MOL002773	β -胡萝卜素	37.18	0.58	红花
MOL002776	黄芩苷	40.12	0.75	红花
MOL000358	β -谷甾醇	36.91	0.75	红花
MOL000422	山柰酚	41.88	0.24	红花
MOL000449	植物甾醇	43.83	0.76	红花
MOL000006	木犀草素	36.16	0.25	红花
MOL000953	CLR	37.87	0.68	红花
MOL000098	槲皮素	46.43	0.28	红花
MOL001040	(2 <i>R</i>)-5,7-二羟基-2-(4-羟基苯基)铬-4-酮	42.36	0.21	降香
MOL001792	食脂素	32.76	0.18	降香
MOL000228	(2 <i>R</i>)-7-羟基-5-甲氧基-2-苯基铬-4-酮	55.23	0.20	降香
MOL002565	美迪紫檀素	49.22	0.34	降香

续表 1

化合物编码	化合物	口服生物利用度	类药性	归属
MOL002914	圣草酚	41.35	0.24	降香
MOL002938	(3 <i>R</i>)-4'-甲氧基-2',3,7-三羟基异黄酮	68.86	0.27	降香
MOL002939	(3 <i>R</i>)-5'-甲氧基	83.06	0.26	降香
MOL002940	(3 <i>R</i>)-3-(2,3-二羟基-4-甲氧基苯基)-7-羟基苯并吡喃-4-酮	52.06	0.27	降香
MOL002941	(3 <i>R</i>)-3-(2,3-二羟基-4-甲氧基苯基)铬-7,8-二醇	82.35	0.27	降香
MOL002950	(3 <i>R</i>)-7,2',3'-三羟基-4-甲氧基异黄酮	69.65	0.24	降香
MOL002957	4'-甲氧基香豆酚	33.73	0.38	降香
MOL002958	3'-羟基素	30.69	0.27	降香
MOL002959	7,4'-二羟基-3'-甲氧基异黄酮	48.57	0.24	降香
MOL002961	维斯体素	70.29	0.21	降香
MOL002962	(3 <i>S</i>)-7-羟基-3-(2,3,4-三甲氧基苯基)铬-4-酮	48.23	0.33	降香
MOL002963	4',5',7-三甲基-3-甲氧基黄酮	40.66	0.25	降香
MOL002966	黄檀素	78.18	0.20	降香
MOL002967	7-羟基-4'-甲氧基-2',5'-二氧-4-[(3 <i>R</i>)-2',7-二羟基-4'-甲氧基异黄酮-5'-基]异黄酮	34.78	0.70	降香
MOL002973	鲍迪木酮	55.78	0.28	降香
MOL002975	漆黄素	69.94	0.21	降香
MOL002981	异黄烷	70.63	0.34	降香
MOL002982	(3 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-3',7-二羟基-2',4'-二甲氧基-4-[(2 <i>S</i>)-4',5,7-三羟基芳酮-6-基]异黄酮	33.96	0.63	降香
MOL002985	异豆素	74.11	0.34	降香
MOL002989	4-羟基高果木素	48.41	0.43	降香
MOL002990	(6 <i>aR</i> ,11 <i>aR</i>)-3,9,10-三甲氧基-6 <i>a</i> ,11 <i>a</i> -二氢-6 <i>H</i> -苯并呋喃[3,2- <i>c</i>]铬-4-醇	66.86	0.53	降香
MOL002991	(6 <i>aR</i> ,11 <i>aR</i>)-3,9-二甲氧基-6 <i>a</i> ,11 <i>a</i> -二氢-6 <i>H</i> -苯并呋喃并[3,2- <i>c</i>]色烯-4,10-二醇	38.96	0.48	降香
MOL002996	紫檀素	55.02	0.53	降香
MOL002997	3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)-2 <i>H</i> -铬-7-醇	86.18	0.27	降香
MOL002999	Sativanone	85.63	0.27	降香
MOL003000	Stevein	36.54	0.24	降香
MOL003001	Vestitone	52.83	0.24	降香
MOL003002	紫罗兰酮	80.24	0.30	降香
MOL003003	异诺素 B	72.71	0.24	降香
MOL000358	β-谷甾醇	36.91	0.75	降香
MOL000359	植物甾醇	36.91	0.75	降香
MOL000380	(6 <i>aR</i> ,11 <i>aR</i>)-9,10-二甲氧基-6 <i>a</i> ,11 <i>a</i> -二氢-6 <i>H</i> -苯并呋喃[3,2- <i>c</i>]铬-3-醇	64.26	0.42	降香
MOL000392	芒柄花黄素	69.67	0.21	降香

2.2 冠心病疾病靶点筛选 在疾病靶点数据库 (OMIM 和 GeneCards) 查找检索冠心病的疾病作用靶点, 挖掘并删除重复靶点, 共收集到潜在疾病靶点 1 368 个, 将得到的靶点信息进行基因名和 Uniprot ID 的标准化。利用韦恩图获得精制冠心片和冠心病两者的共同作用靶点 112 个。由图 1 可知, 精制冠心片可以通过多种成分作用于冠心病疾病的多个相关靶点来发挥抗冠心病的作用。

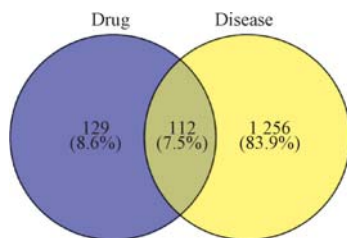


图 1 “药物-疾病”交集靶基因韦恩图

2.3 PPI 网络构建及分析 应用 STRING 数据库, 构建精制冠心片治疗冠心病潜在靶点 PPI 网络, 将结果见图 2, 共有节点 60 个, 边数 233 条, 平均节点数为 7.77, 平均局部聚类系数为 0.557。

2.4 中药—成分—靶点网络的构建及分析结果 将精制冠心片活性成分和作用靶点信息导入 Cytoscape 3.8.0 软件,

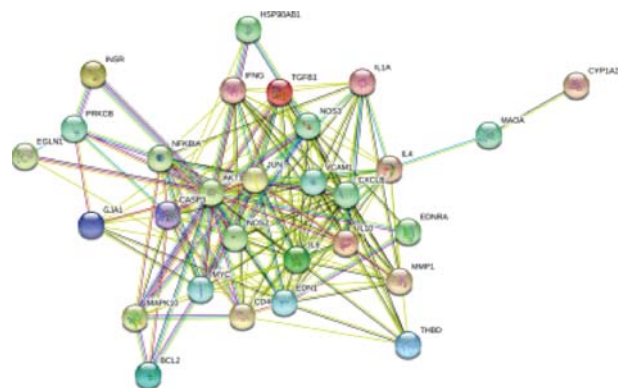


图 2 精制冠心片治疗冠心病的蛋白相互作用网络

构建“中药—成分—靶点”网络图, 共包含 360 个节点, 2 006 条边 (图 3)。在网络中, 一个节点的度 (degree) 表示网络中和节点相连路线的条数, 度值越大则表明该化合物发挥作用的可能性越大, 各节点根据 degree 值呈现为不同大小。菱形代表基因靶点, 圆形代表各中药成分, 正六边形代表各中药所共有的靶点。通过网络拓扑分析可以得出, 该网络中, 度值大于等于 50 (中位数) 的化合物有 13 个, 包括 6-羟基山柰酚 (degree = 69)、川芎嗪 (degree = 102)、柳杉酚 (degree = 56)、黄檀素 (degree = 65)、杨梅

酮 (degree = 78)、丹参酮 II_A (degree = 109)、芍药苷 (degree = 77)、隐丹参酮 (degree = 89)、丹参酮 I (degree =

91)、山柰素 (degree = 53) 等, 因此可以推测上述成分可能是精制冠心病片治疗冠心病的重要成分。

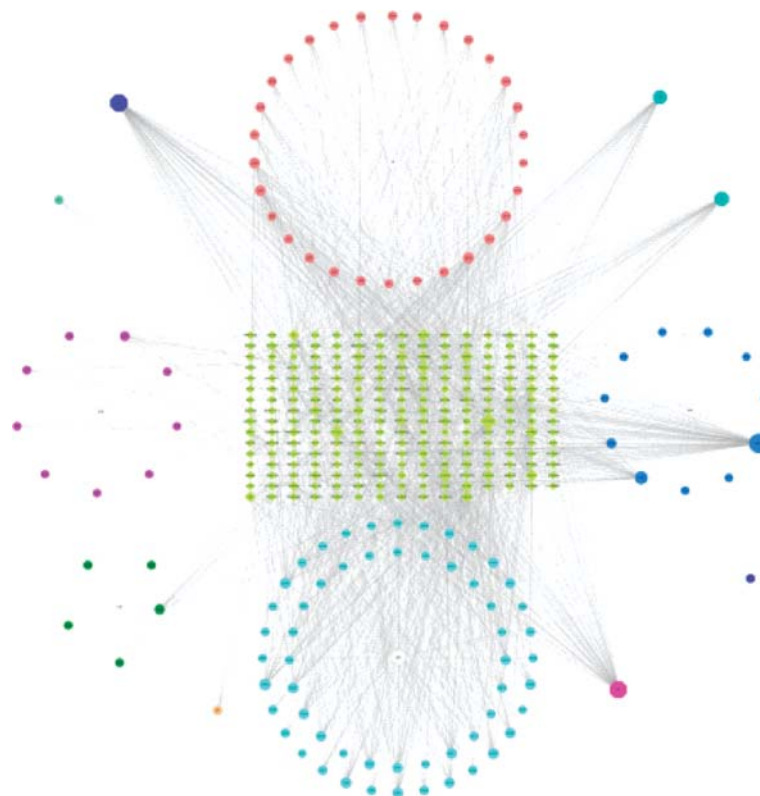


图 3 中药-成分-靶点网络图

2.5 GO 功能富集分析 在 DAVID 数据库, 对精制冠心病片和冠心病的共同靶点进行 GO 功能富集分析, 得到 20 个生物过程、88 个细胞组分、167 个分子功能。富集结果表明, 精制冠心病片治疗冠心病的生物过程主要与细胞内信号的正向转导、细胞群的增殖、细胞的积极代谢、细胞对化学、压力、药物刺激、含氧化合物等的反应有关 (图 4A); 细胞组分主要涉及膜筏、小窝、内膜系统、囊泡、质膜、核染色质、肌膜炎、空泡、溶酶体、Z 盘等 (图 4B); 分子功能主要集中于蛋白质二聚活性、细胞因子活性、脂质结合、转录因子结合、信号受体活性、过氧化物酶活性、G 蛋白偶联的胺受体活性、花生四烯酸结合、NFAT 蛋白结合、胰岛素样生长因子 II 结合 (图 4C)。分析结果显示, 冠心病涉及体内多个生物学过程, 精制冠心病片可能通过调节这些生物过程起到治疗冠心病的作用。

2.6 KEGG 通路富集分析 对精制冠心病片和冠心病的共同靶点进行 KEGG 通路富集分析, 结果以 $P < 0.05$ 筛选, 共有 119 条信号通路出现富集, 以 Count 值降序筛选排名前 20 的 KEGG 通路输出气泡图 (图 5)。其中节点的大小表示富集到的靶点数量, 节点的颜色由红色至蓝色表明 P 值由大到小。因此, 红色节点越大信号通路的显著性就越高, 说明该信号通路的重要性越高, 排除广泛通路后, 表 2 中列出了排名前 20 的信号通路。经分析, 主要分布于肿瘤坏死因子信号通路、HIF-1 信号通路、Toll 样受体信号通路、VEGF 信号通路、NOD 样受体信号通路、T 细胞受体信号通

路、MAPK 信号通路等通路中。

2.7 分子对接验证 如表 3 所示, 4 个成分的结合力均小于 0, 说明其与靶点产生自发性结合。芍药苷与 ADRB2 靶点结合能为 -8.0 kJ/mol , 氢键数目为 3; 丹参酮 II_A 与 ADRB2 的结合能最大为 -9.6 kJ/mol , 氢键数目为 1。对接结果表明, 精制冠心病片中关键活性成分与核心靶点结合能力低, 相互之间结合性好生物活性高, 是精制冠心病片治疗冠心病的关键, 见图 6。

3 讨论

本文使用网络药理学研究方法挖掘精制冠心病片的有效入血成分, 对冠心病的作用靶点及涉及的通路进行研究。从靶点、信号通路的角度阐释精制冠心病片治疗冠心病的作用机制, 以及利用分子对接技术验证了主要活性成分与核心靶点具有较好的结合作用。构建精制冠心病片治疗冠心病的“中药-活性成分-靶点”交互网络图, 筛选出精制冠心病片的 165 个活性成分及 112 个与疾病共同的作用靶点, 使用网络拓扑分析方法筛选出 13 个显著有效化合物。GO 富集和 KEGG 富集显示涉及 20 个生物过程, 88 个细胞组分、167 个分子功能, 119 条信号通路。PPI 网络分析及分子对接验证, 得到精制冠心病片治疗冠心病关联性最强的核心靶点是 PTGS2、NCOA2、ADRB2 等。上述靶点与炎症调节、体内凝血系统、脂质代谢系统等密切相关。GO 富集分析显示, 精制冠心病片治疗冠心病与 G 蛋白偶联胺受体、肾上腺素受体等有关。KEGG 通路富集分析显示, 精制冠心病片对

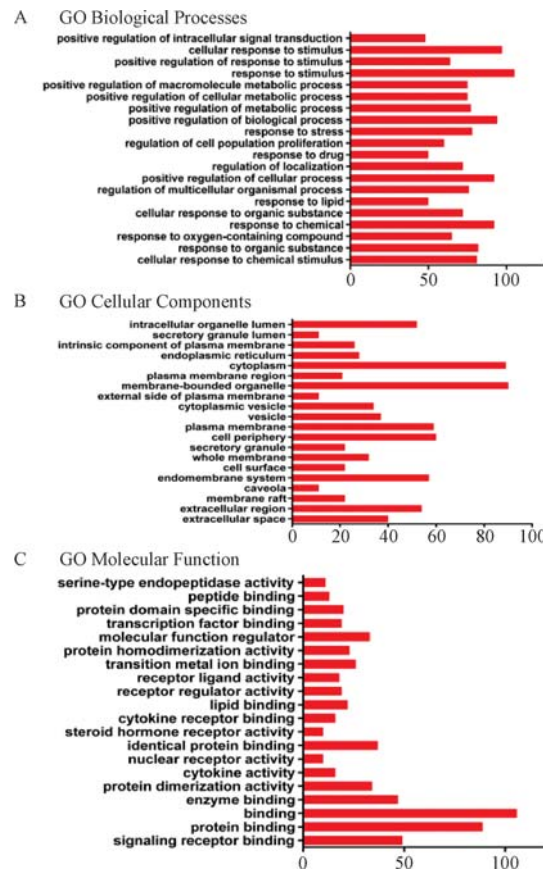


图 4 GO 富集结果柱形图

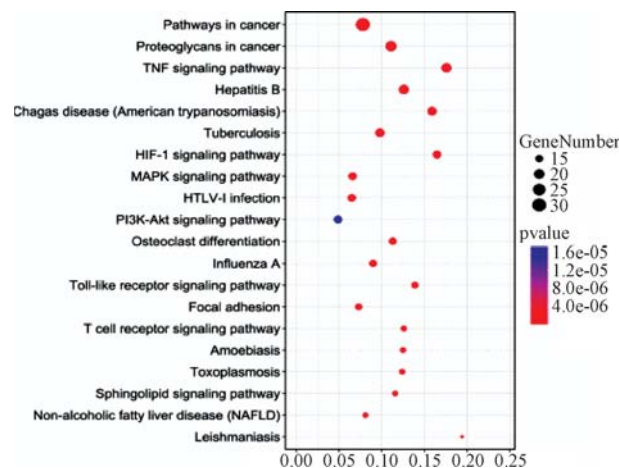


图 5 KEGG 通路富集分析结果

冠心病的治疗涉及 IL-17 信号通路、PI3K-Akt 信号通路^[11-12]、HIF-1 信号通路等。

丹参中的有效化合物丹参酮Ⅱ_A具有抗凝血、抗动脉粥样硬化、调节血脂等作用^[13-14]。川芎中的川芎嗪可改善冠状动脉的血液循环，减轻缺血所引起的心肌细胞损伤，抑制血清肌酸磷酸激酶和乳酸脱氢酶的溢出，减小缺血范围，促进纤维蛋白降解，对抗体外血浆凝血，从而达到治疗冠心病的目的^[15-16]。红花中的主要活性成分山柰素具有抗心肌缺血、抑制血小板聚集、抗氧化，增加冠状动脉血流量和降低冠状动脉阻力等作用，还能抑制动脉粥样硬化

血管中内皮细胞的增殖，阻止内皮细胞过度增生，稳定血管内膜等作用^[17-18]。赤芍的主要化合物具有扩张冠状动脉、增加冠状动脉血流量，抑制血小板聚集等作用^[19-20]。研究显示，川芎和赤芍合用或单用均可降低血清中 TC、TG、LDL 水平，合用可提高超氧化物歧化酶（SOD）活性和降低丙二醛（MDA）水平，在提高血管内皮细胞抗氧化能力及促进 NO 释放方面产生协同作用^[21]。降香的主要化学成分包含挥发油类和黄酮类化合物，具有舒张血管、增加冠脉血流、抗氧化、抗炎、抗肿瘤等作用^[22-23]。

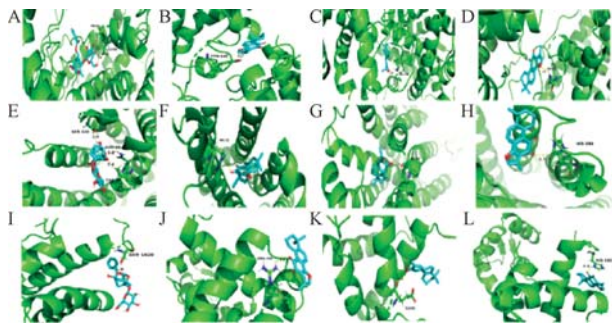
综上所述，精制冠心病片中的丹参酮Ⅱ_A、芍药苷、隐丹

表 2 KEGG 关系网络中 Degree 值前 20 的靶标

编号	通路	靶点数目	P 值
ssc05200	Pathways in cancer	30	2.06×10^{-15}
ssc05205	Proteoglycans in cancer	21	2.11×10^{-13}
ssc04668	TNF signaling pathway	19	1.02×10^{-15}
ssc05161	Hepatitis B	19	4.52×10^{-13}
ssc05142	Chagas disease (American trypanosomiasis)	17	2.85×10^{-13}
ssc05152	Tuberculosis	17	5.47×10^{-10}
ssc04066	HIF-1 signaling pathway	16	1.02×10^{-12}
ssc04010	MAPK signaling pathway	16	4.55×10^{-7}
ssc05166	HTLV-I infection	16	5.61×10^{-7}
ssc04151	PI3K-Akt signaling pathway	16	1.66×10^{-5}
ssc04380	Osteoclast differentiation	15	1.23×10^{-9}
ssc05164	Influenza A	15	2.43×10^{-8}
ssc04620	Toll-like receptor signaling pathway	14	4.05×10^{-10}
ssc04510	Focal adhesion	14	1.03×10^{-6}
ssc04660	T cell receptor signaling pathway	13	6.46×10^{-9}
ssc05146	Amoebiasis	13	7.23×10^{-9}
ssc05145	Toxoplasmosis	13	8.07×10^{-9}
ssc04071	Sphingolipid signaling pathway	13	1.70×10^{-8}
ssc04932	Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	13	8.90×10^{-7}
ssc05140	Leishmaniasis	12	2.85×10^{-10}

表 3 核心成分与靶点的结合情况

成分	NCOA2 靶点		ADRB2 靶点		PTGS2 靶点	
	结合能/(kJ·mol ⁻¹)	氢键数	结合能/(kJ·mol ⁻¹)	氢键数	结合能/(kJ·mol ⁻¹)	氢键数
芍药苷	-7.8	2	-8.0	3	-6.8	1
隐丹参酮	-8.2	1	-8.7	1	-6.4	2
丹参酮 I	-7.4	1	-8.5	1	-5.5	1
丹参酮 II _A	-8.0	1	-9.6	1	-8.1	1



注：A~L 分别为 NCOA2-芍药苷、NCOA2-隐丹参酮、NCOA2-丹参酮 I、NCOA2-丹参酮 II_A、ADRB2-芍药苷、ADRB2-隐丹参酮、ADRB2-丹参酮 I、ADRB2-丹参酮 II_A、PTGS2-芍药苷、PTGS2-隐丹参酮、PTGS2-丹参酮 I、PTGS2-丹参酮 II_A。

图 6 蛋白对接构象

参酮、丹参酮 I、6-羟基山柰酚、川芎嗪、柳杉酚等有效化合物可能通过 HIF-1、Toll 样受体、VEGF、NOD 样受体、T 细胞受体等信号通路作用于 PTGS2、PTGS1、NCOA2、ADRB2 等靶点发挥抗炎、降脂、抗动脉粥样硬化等作用。基于网络药理学及分子对接技术预测结果与已有文献结果较为相近，体现了此方法具有一定的准确性，同时契合中药整体观、系统性的理念，为进一步阐述精制冠心病片治疗

冠心病提供参考。

参考文献：

[1] 刘淑梅,官明德,李 萍.血清补体 C3、C4 及高密度脂蛋白胆固醇与冠心病的关系研究[J].中国心血管病研究,2018,16(10):912-915.

[2] 宋艳东,陶 英,王 苏,等.冠心病患者同型半胱氨酸、尿酸水平与冠脉病变的相关性[J].中华急诊医学杂志,2017,26(4):430-433.

[3] 瞿 凯,邱菊辉,王贵学.血管内皮细胞屏障功能的血流动力学调控及其与动脉粥样硬化的关系[J].中国动脉硬化杂志,2020,28(1):1-6.

[4] 刘俊田.动脉粥样硬化发病的炎症机制的研究进展[J].西安交通大学学报(医学版),2015,36(2):141-152.

[5] 宋艳东,陶 英,王 苏,等.冠心病患者同型半胱氨酸、尿酸水平与冠脉病变的相关性[J].中华急诊医学杂志,2017,26(4):430-433.

[6] 黄惠勇.冠心病“本虚标虚”病机内涵探析[J].北京中医药大学学报,1994,17(2):10-11.

[7] 王丽新.中医导痰祛瘀药治疗糖尿病合并冠心病的临床疗效分析[J].糖尿病新世界,2017,20(19):111-112.

[8] 王庆坤.中医导痰祛瘀药治疗糖尿病合并冠心病临床研究

- [J]. 亚太传统医药, 2017, 13(10): 132-133.
- [9] Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, et al. STRINGv10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43 (Database issue): D447-D452.
- [10] 王献红, 王赞华, 张建锋, 等. 红花黄色素对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤的保护作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(19): 3017-3020.
- [11] 李丹君, 周敬群. β_2 肾上腺素能受体基因多态性与冠心病相关性的研究进展[J]. 海南医学, 2013, 24 (24): 3662-3664.
- [12] Small K M, McGraw D W, Liggett S B. Pharmacology and physiology of human adrenergic receptor polymorphisms [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2003, 43: 381-411.
- [13] 李永胜, 王 进, 王照华, 等. 丹参酮 II_A 对主动脉血管内皮细胞功能损伤的保护机制[J]. 中国急救医学, 2007, 27(8): 720-723.
- [14] 杨柳清, 李 亮, 衡先培, 等. 丹瓜方对糖尿病动脉粥样硬化大鼠炎症标志物及内皮细胞功能的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(6): 692-698.
- [15] 胡元佳. 丹参川芎嗪联合大黄承气汤在急性脂源性胰腺炎的疗效观察[J]. 中国实用医药, 2020, 15(23): 146-149.
- [16] 任智敏. 丹参川芎嗪注射液联合美托洛尔治疗冠心病心绞痛的疗效观察[J]. 现代药物与临床, 2016, 31 (11): 1712-1715.
- [17] 骆杰炉, 梁 俭, 梁文能. 红花黄色素 A 调控核受体 TR3 胞内移位抑制氧化应激对心肌细胞的损伤[J]. 中成药, 2020, 42(6): 1462-1467.
- [18] 沈志方. 注射用红花黄色素联合美托洛尔治疗冠心病心力衰竭的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2018, 33 (6): 1357-1360.
- [19] 封 亮, 柯仲成, 汪 刚, 等. 赤芍苷组分抗缺血缺氧损伤的代表性成分的发现与验证[J]. 药学报, 2018, 53 (12): 1954-1962.
- [20] 许惠玉, 徐广友, 陈志伟, 等. 赤芍总苷诱导肿瘤细胞凋亡机制的研究[J]. 中医药学刊, 2005, 23(10): 1798-1800.
- [21] 王建发, 赵国安. 芍药苷通过 cAMP-PKA 信号通路对心肌梗死大鼠保护作用的实验研究[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2018, 10(4): 479-483.
- [22] 杨志宏, 梅 超, 何雪辉, 等. 降香化学成分、药理作用及药代特征的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(11): 1679-1683.
- [23] 朱其恩, 赵西金. 自拟桃仁降香汤治疗冠心病的体会[J]. 中国中医急症, 2016, 25(3): 559-560.

基于分子对接的玉屏风中端粒酶 TERT 激动剂的虚拟筛选

汤 建¹, 朱锐灵², 赵康琦¹, 夏海平^{3*}, 闻崇炜²

(1. 亳州学院中药学院, 安徽 亳州 236800; 2. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013; 3. 江苏大学附属四院神经内科, 江苏 镇江 212001)

摘要:目的 发现玉屏风中激活端粒酶逆转录酶 (TERT) 的小分子化合物, 基于分子对接技术初步解释玉屏风抗衰老的作用机制。**方法** 检索玉屏风中的化学成分, 确定 68 个小分子化合物 (配体); 采用 AutoDock Vina 软件将这些化合物与 TERT 对接, 根据打分值虚拟筛选玉屏风中潜在的激活端粒酶 TERT 的化学成分。**结果** 68 个化合物的对接分值与结构有明显的相关性, 异黄酮类及异黄烷醇类化合物具有最强的结合力, 其中毛蕊异黄酮苷和芒柄花苷与 TERT 对接打分值均为 -10.2 kcal/mol; 色原酮类化合物也具有较强的结合力; 大部分白术内酯类和香豆素类具有中等强度的结合力; 黄芪皂苷类化合物结合力普遍偏弱, 在 -7.0~-7.4 kcal/mol。**结论** 玉屏风的异黄酮类和色原酮类物质对激活端粒酶可能起关键作用。

关键词: 玉屏风; 分子对接; 抗衰老; 端粒酶; TERT

中图分类号: R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)06-2041-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.06.057

收稿日期: 2020-12-24

基金项目: 江苏省镇江市重点研发计划 (SH2021060); 中药原料产品研发安徽普通高校重点实验室 (KLAHEI18032); 安徽省亳州市第四批产业创新团队建设项目 (BZI-4002)

作者简介: 汤 建 (1977—), 男, 博士, 教授, 从事中药活性成分和分子药理学研究

*通信作者: 夏海平 (1978—), 女, 硕士, 副主任医师, 从事防治脑血管疾病研究