

# 基于整合大数据的红花 - 丹参 - 川芎配伍治疗冠心病的作用机制研究

牟绍霞 王虎生 于晓静\*

山东省文登整骨医院 山东威海 264400

**摘要:** 目的 通过网络药理学和分子对接技术探讨红花 - 丹参 - 川芎配伍治疗冠心病 (CHD) 的作用机制。方法 利用 TCMSp、SwissTargetPrediction 和 PubChem 数据库收集红花 - 丹参 - 川芎的有效成分及对应靶点, 运用 GeneCards 数据库收集 CHD 的相关靶点。借助 Metascape 数据库进行交集靶点的 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。通过 AutodockTools1.5.7 软件和 PyMOL 将主要活性成分和关键靶点进行分子对接。结果 共获得 86 个有效成分, 主要成分为槲皮素, 木犀草素、山奈酚等。药物与 CHD 共同靶点基因有 161 个。核心靶点 15 个, 主要涉及 AKT1、TNF、IL6 等。KEGG 富集分析结果表明, 红花 - 丹参 - 川芎可能通过脂质和动脉粥样硬化、AGE-RAGE 信号通路等通路起到抗动脉粥样硬化的作用。分子对接结果表明, 主要活性成分与关键靶点均有较好的结合作用。结论 红花 - 丹参 - 川芎中的槲皮素、木犀草素、山奈酚等有效成分可能通过 AKT1, TNF, IL6 等靶点作用于脂质和动脉粥样硬化、AGE-RAGE 等信号通路, 发挥治疗 CHD 的作用。

**关键词:** 冠心病; 红花 - 川芎 - 丹参; 作用机制; 网络药理学; 分子对接

冠心病 (CHD) 是指冠状动脉粥样硬化的粥样斑块使管腔狭窄或阻塞, 从而导致心肌缺血、缺氧或坏死而引发的心脏疾病。临床上治疗 CHD 现主要使用抗血小板药、抗凝药、血管紧张素转换酶抑制剂、他汀类等, 但治疗的同时也会带来新的心血管风险。因此, 迫切需要寻找安全且高效药物来治疗 CHD。与西药比较, 中药在治疗 CHD 上具有很大的优势, 它可以通过多靶点、多通路对疾病进行相对全面的治疗, 且副作用较小、疗效稳定<sup>[1]</sup>。由于中药成分复杂且复方组合形式多样, 对人体的作用机制也相对复杂, 传统的药物研究方法很难确定是哪种成分起到治疗作用, 是限制中药走上国际舞台的关键性因素。网络药理学可以系统全面地分析中药多成分作用于人体的机制, 能够为中药成分开展临床试验提供理论基础, 是解决中药研究难题的重要方法<sup>[2]</sup>。故本文借助网络药理学分析红花 - 丹参 - 川芎配伍治疗 CHD 的作用机制, 为进一步实验研究红花 - 丹参 - 川芎配伍治疗 CHD 的作用机制及新药开发提供理论依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 红花 - 丹参 - 川芎活性成分和相关靶点

通过 TCMSp 数据库获取红花、丹参、川芎的化学成分。利用 PubChem、SwissTargetPrediction、TCMSp 数据库获得所有成分的对应该靶点, 然后通过 Uniprot 数据库对基因进行标准化处理。

### 1.2 疾病靶点的收集

以“coronary heart disease”为关键词通过 GeneCards 数据库获取疾病的相关的靶点。借助 Venny2.1.0 在线工具获得药物靶点与疾病相关靶点的 Venn 图。

### 1.3 药物 - 有效成分 - 疾病 - 靶点基因图的构建

通过 Cytoscape 3.9.1 软件绘制“药物 - 有效成分 - 疾病 - 靶点基因”网络。

### 1.4 蛋白相互作用网络的构建

将药物与疾病的交集靶点导入 STRING 11.5 数据库, 获得基因相互作用的数据关系, 并绘制 PPI 网络, 获取关键靶点。

### 1.5 GO 功能分析和 KEGG 通路富集分析

运用 Metascape 数据库进行 GO 功能分析和 KEGG 通路

富集分析。

### 1.6 分子对接验证

将 1.3 项和 1.4 项中获得的药物活性成分与关键靶点通过 PDB 数据库、PyMol 软件及 AutodockTools1.5.7 软件进行分子对接验证。将对接结果通过 PyMol 进行可视化，并绘制活性成分与关键靶点的最低结合能热图。

## 2 结果

### 2.1 药物活性成分和靶点获取

通过 TCMSp 数据库去重后共获得 86 个药物活性成分，其中红花 19 个，川芎 7 个，丹参 63 个，且红花和丹参共有成分 3 个。通过 TCMSp、PubChem、SwissTargetPrediction 数据库获得药物活性成分相对应的靶点，Uniprot 数据库对基因进行标准化处理，去重后共获得 436 个靶点。

### 2.2 红花 - 丹参 - 川芎配伍治疗 CHD 的潜在作用靶点

以“coronary heart disease”为搜索词，借助 GeneCards 数据库得到 CHD 靶点 1139 个。将 436 个药物活性成分靶点与 1139 个 CHD 靶点录入在线 Venny2.1.0 软件绘制韦恩图，获得红花 - 丹参 - 川芎配伍治疗 CHD 的潜在作用靶点 161 个（图 1）。



图 1 红花 - 丹参 - 川芎与 CHD 交集靶点基因韦恩图

### 2.3 药物 - 有效成分 - 疾病 - 靶点图的构建

从图 2 可知，网络中有 251 个节点（药物 3 个、有效成分 86 个、疾病 1 个、交集靶点 161 个）和 956 条边。图中的 HH 代表红花；CX 代表川芎；DS 代表丹参；圆形代表有效成分；V 形代表 CHD；正方形代表共有靶点；A 代表红花和丹参的共有成分。经过拓扑参数分析，红花 - 川芎 - 丹参治疗 CHD 的主要活性成分可能为槲皮素、木犀草素、洋川芎酮、山奈酚、6 羟基柚皮素、 $\alpha$ - 香树精、丹参酮 IIA 等。

### 2.4 蛋白相互作用 (PPI) 网络

在 STRING 数据库中导入 161 个交集靶点，得到蛋白相互作用的数据结果。将这些数据输入 Cytoscape3.9.1 软件，绘制 PPI 网络。颜色越深、节点越大代表该基因越关键。运

用 Cytoscape3.9.1 软件中的 cytoHubba 插件，筛选出排名前 15 的靶点。图 3 显示，TNF、IL6、AKT1、IL1B、TP53 等可能是红花 - 川芎 - 丹参治疗 CHD 的关键靶点。

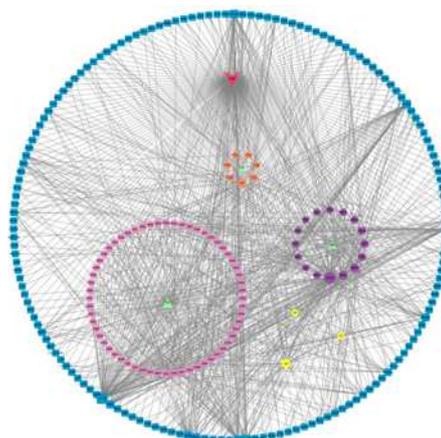


图 2 药物 - 有效成分 - 疾病 - 靶点图

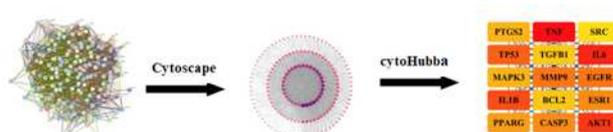


图 3 红花 - 川芎 - 丹参配伍治疗 CHD 的 PPI 网络图

### 2.5 GO 富集分析

利用 Metascape 数据库进行 GO 功能分析，获得 2098 个生物过程 (BP) 条目；186 个分子功能 (MF) 条目；106 个细胞组分 (CC) 条目。依据富集数值，选取前 10 个分子功能、细胞组分和生物过程绘制条形图（图 4）。

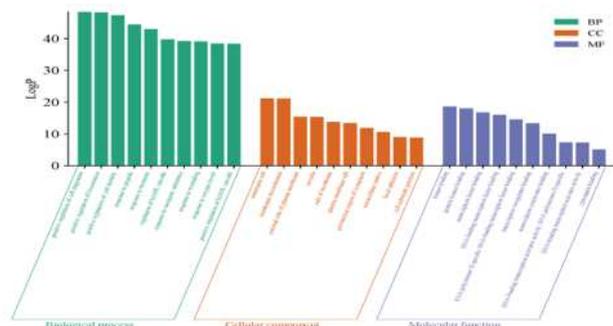


图 4 红花 - 川芎 - 丹参治疗 CHD 作用靶点 GO 富集分析图

### 2.6 KEGG 通路富集分析

KEGG 富集分析共得到 193 条通路。依据 count 值将前 20 条通路绘制成气泡图（图 5）。图中圆圈越大代表此通路富集的基因数目越多，P 值越小说明该通路的作用越强。气泡图显示，关键的通路为脂质和动脉粥样硬化、AGE-RAGE 等信号通路。

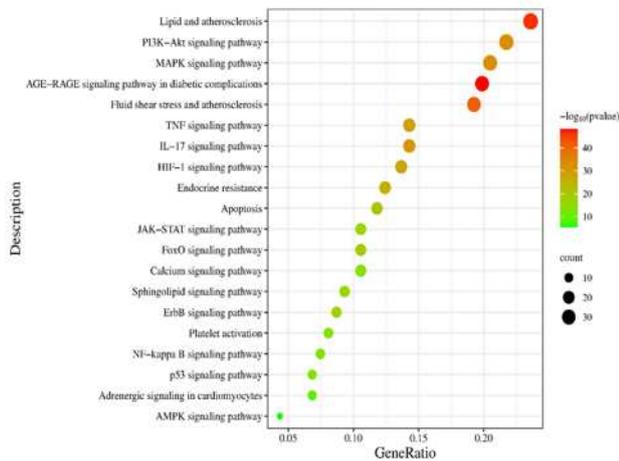


图 5 红花 - 丹参 - 川芎治疗 CHD 通路富集气泡图

### 2.7 分子对接验证

利用 AutidockTools1.5.7 软件对红花 - 丹参 - 川芎中主要活性成分与关键靶点进行对接, 并绘制最低结合能图 (图 6)。最低结合能小于等于  $-1.2\text{Kcal/mol}$  表明具有较好的结合作用<sup>[3]</sup>, 结合能越小, 表明药物成分与靶点蛋白结合能力越强。将结果通过 PyMOL 可视化, 部分结果见图 7。

	TNF	IL6	AKT1	IL1B	TP53	EGFR
quercetin	-8.01	-6.01	-6.7	-5.02	-6.84	-4.3
luteolin	-7.67	-6.48	-7.16	-5.5	-7.22	-4.9
senkyunone	-8.75	-5.98	-7.96	-5.87	-6.86	-5.12
kaempferol	-5.52	-6.63	-5.8	-5.13	-4.96	-4.19
6-Hydroxynaringenin	-8.5	-6.88	-7.27	-5.61	-6.68	-5.6
$\alpha$ -amyrin	-11.72	-7.71	-10.99	-7.85	-9.07	-6.93
tanshinone IIA	-8.16	-6.52	-8.25	-6.66	-6.96	-6.05

图 6 活性成分和关键靶点的分子对接结合能信息 (Kcal/mol)

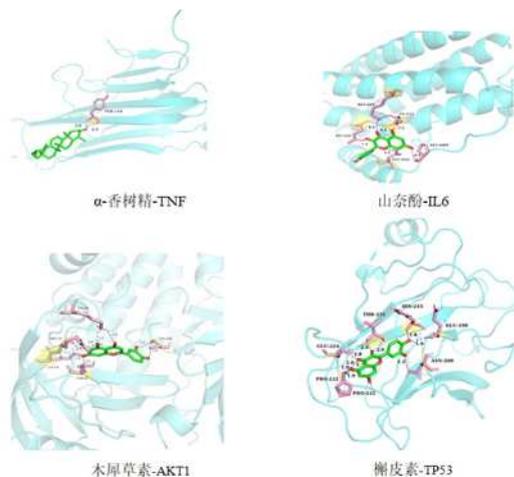


图 7 部分活性成分和关键靶点的分子对接图

### 3 讨论

本研究是基于中医药整体观念, 利用网络药理学的方法, 全面的分析了红花 - 丹参 - 川芎作用于 CHD 相关靶点

可能涉及的信号通路, 为研究中药的作用机制及中药新药的开发提供了理论支持。从上述分析结果可知, 槲皮素、木犀草素、山奈酚等是治疗 CHD 潜在的主要活性成分。研究发现, 高脂膳食诱导的动脉粥样硬化小鼠的相关自噬蛋白的表达被槲皮素抑制后, 其发生动脉粥样硬化的风险将会降低<sup>[4]</sup>。木犀草素可以显著抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路而抑制炎症反应的发生, 从而达到延缓动脉粥样硬化的发生与发展的作用<sup>[5]</sup>。山奈酚可以使高脂饮食的 Apo E-/- 小鼠的脂质水平和血管形态达到正常, 并可以降低血管黏附分子以及炎症因子的表达水平, 从而抑制氧化应激反应和炎症反应的发生, 最终减少动脉粥样硬化情况的发生<sup>[6]</sup>。蛋白互作网络和可视化网络图的结果显示, AKT1、TNF、IL6 等可能是红花 - 丹参 - 川芎治疗 CHD 的关键靶点。研究证实, 当 AKT1 被激活后, 可以抑制缺血或缺血造成的心肌细胞的死亡<sup>[7]</sup>。TNF 是可以参与动脉粥样硬化发生的细胞因子, 而 TNF $\alpha$  是重要的促炎因子, 其可以通过促进相关血管生长因子的表达, 从而刺激缺血后血管的再生<sup>[8]</sup>。IL6 是一种由免疫细胞被活化后产生的细胞炎症因子, 它可以诱导超敏 C 反应蛋白的产生, 从而引起机体炎症反应的发生, 引发局部凝血, 导致动脉粥样硬化斑块的形成, 因此, 可以通过 IL6 来预防动脉粥样硬化的斑块是否稳定<sup>[9]</sup>。KEGG 富集通路结果显示主要包括 AGE-RAGE、PI3K-Akt 信号通路、JAK-STAT 信号通路等。AGE-RAGE 中 AGEs 主要通过对细胞内、外蛋白修饰和信号级联的激活对心血管疾病产生影响, 并能够直接参与动脉粥样硬化过程, 在 CHD 的病理过程中发挥重要作用<sup>[10]</sup>。当 PI3K-Akt 信号通路被激活后, 随之血管内皮生长因子的表达水平会增强, 心肌细胞凋亡被抑制, 炎症反应的发生率降低, 心肌细胞的损伤也会被减轻, 可以将其作为防治冠心病的切入点<sup>[11]</sup>。心梗后的大鼠心肌 STAT3 的磷酸化被明显抑制, 激活 JAK/STAT 通路后可增加 caspase-3 和 Bax 蛋白表达, 从而起到保护心脏的作用<sup>[12]</sup>。

综上所述, 本研究证明了红花 - 丹参 - 川芎治疗 CHD 具有多成分、多靶点、多通路的优势。为 CHD 及其合并症的治疗提供了循证证据, 也为今后实验验证其关键靶点作用机制奠定了基础, 后续将继续关注此领域的相关进展。

### 参考文献:

[1]Vavlukis M, Kedev S.Effects of high intensity statin therapy in the treatment of diabetic dyslipidemia in patients with

coronary artery disease[J].Current Pharmaceutical Design, 2018, 24(4): 427-441.

[2] 解静, 高杉, 李琳, 等. 网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略 [J]. 中草药, 2019, 50(10): 2257-2265.

[3] 刘福和, 陈少军, 倪文娟. 川芎中抗血栓活性成分的计算机虚拟筛选研究 [J]. 中国药房, 2017, 28(16): 2182-2186.

[4] 刘亮, 高超, 姚平, 等. 槲皮素对动脉粥样硬化小鼠自噬蛋白表达的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(03): 539-542.

[5] 王清岑, 殷新, 周罗慧, 等. 木犀草素心血管保护作用研究进展 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(11): 57-60.

[6] FENG Z, WANG C Y, YIN Y, et al. Kaempferol-induced GPER upregulation attenuates atherosclerosis via the PI3K/ AKT/ Nrf2 pathway[J]. Pharm Biol, 2021, 59(1): 1106-1116.

[7] Ying Z, XIE X, Chen M, et al. Alpha-lipoic acid activates eNOS through activation of PI3-kinase/Akt signaling pathway[J]. Vascular pharmacology, 2015, 64: 28-35.

[8] Leszczuk M, Semkova I, Shi X, et al. Tumor Necrosis Factor-Alpha Receptor P75 Is Required in the Development of Choroidal Neovascularization[J]. Investigative Ophthalmology & Visual

Science, 2008, 49(13): 5164-5164.

[9] 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]. International Journal of Advances in Medicine, 2020(9).

[10] Fishman S L, Sonmez H, Basman C, et al. The role of advanced glycation end-products in the development of coronary artery disease in patients with and without diabetes mellitus: a review[J]. Molecular Medicine, 2018, 24: 1-12.

[11] 李赛赛, 李平, 康楠, 等. PI3K/Akt 信号通路与心血管疾病关系的研究进展 [J]. 北京医学, 2021, 43(01): 66-69+72.

[12] Shinji N, Keita K, Eiroh T, et al. Activation of JAK/STAT pathway transduces Cytoprotective signal in rat acute myocardial infarction[J]. Cardiovascular Research, 2000, 47(4): 797-805.

#### 作者简介:

作者: 牟绍霞 (1986-), 女, 汉族, 硕士研究生, 山东省文登整骨医院, 主要从事中药制剂研究。

通讯作者: 于晓静 (1976-), 女, 汉族, 本科, 山东省文登整骨医院, 主要从事中药制剂研究。

基金项目: 山东省威海市中医药科技项目 (2022 II -6)