

基于网络药理学的瓜蒌皮注射液治疗冠心病心绞痛作用机制探讨

顾媛媛, 仲昭辉, 王琬玥, 刘甜甜, 张晓, 巩颖, 曹俊岭*

北京中医药大学东方医院 药学部, 北京 100078

【摘要】目的 通过网络药理学方法探索瓜蒌皮注射液治疗冠心病心绞痛的作用机制。**方法** 利用中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)数据库, 筛选瓜蒌皮注射液中的有效化合物, 预测并统一基因名称; 通过GeneCards数据库检索心绞痛相应靶点及交集靶点; 使用String数据库获取蛋白基因互作数据, 导入Cytoscape 3.7.2软件绘制蛋白互作网络; 利用David数据库对交集靶点进行GO功能、KEGG通路富集分析。**结果** 瓜蒌皮注射液治疗冠心病心绞痛的作用机制主要通过5个活性成分、69个靶点(核心靶点20个)上的20条信号通路发挥作用。69个相交靶点筛选出137个生物学过程、33个细胞组分、57个分子功能。靶点通路富集结果显示, 瓜蒌皮注射液主要作用于癌症通路、PPAR信号通路、癌症中的蛋白多糖通路、催乳素信号通路等。**结论** 瓜蒌皮注射液可能通过与核心靶点相互作用, 激活或阻断多条信号通路从而发挥抗炎、稳定粥样硬化斑块、调解脂蛋白代谢、缓解心绞痛、促进血管内皮细胞增殖的作用。

【关键词】 瓜蒌皮注射液; 网络药理学; 心绞痛; 作用机制

【中图分类号】 R972.3; R285

【文献标识码】 A

【文章编号】 1672-3384(2022)02-0047-08

Doi: 10.3969/j.issn.1672-3384.2022.02.009

Mechanism of Trichosanthes Peel Injection in the treatment of coronary heart disease and angina pectoris: a network pharmacology-based study

GU Yuan-yuan, ZHONG Zhao-hui, WANG Wan-yue, LIU Tian-tian, ZHANG Xiao, GONG Ying, CAO Jun-ling*

Department of Pharmacy, Dongfang Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China

【Abstract】 Objective To investigate the mechanism of Trichosanthes Peel Injection in treating coronary heart disease (CHD) and angina pectoris through the network pharmacology-based approach. **Methods** The effective components in Trichosanthes Peel Injection were screened by using the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database (TC-MSP), and the gene names were predicted and given. The targets related to angina pectoris and shared targets were searched by the GeneCards database. Protein-gene interaction data were obtained by using the String database, and the interaction network was drawn by Cytoscape 3.7.2. GO enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were performed on the shared targets using the David database. **Results** The mechanism of Trichosanthes Peel Injection in the treatment of CHD and angina pectoris was mainly through 20 signal pathways of 5 active components and 69 targets (including 20 core targets). Besides, 137 biological processes, 33 cell components and 57 molecular functions were screened from 69 shared targets. The results of enrichment analysis showed that the injection mainly produced an effect on the cancer pathway, PPAR signaling pathways, proteoglycan pathway and prolactin signaling pathway. **Conclusion** By interacting with the core targets, the Trichosanthes Peel Injection may activate or block multiple signaling pathways to reduce inflammation, stabilize atherosclerotic plaques, regulate lipoprotein metabolism, alleviate angina, and improve endothelium proliferation.

【Key words】 Trichosanthes Peel Injection; network pharmacology; angina pectoris; mechanism

基金项目: 北京药学会中药临床药学课题研究项目(zs2020-08)

*通信作者: 曹俊岭, E-mail: caojunling72@163.com

冠心病心绞痛是一种常见的临床疾病,主要是由心肌短暂缺氧、缺血所引发,患者发病时多表现为胸部不适、头晕、恶心、发作性胸痛等。瓜蒌皮注射液是由瓜蒌皮提取而成,临床主要用于痰浊阻络之冠心病及稳定性心绞痛的治疗。药理研究表明,瓜蒌皮中含有菠菜甾醇、萜酯碱、有机酸、挥发油、微量元素及氨基酸等多种化学成分^[1],作用机制主要是通过抑制合成内皮素,增强一氧化氮合成酶活性,提高一氧化氮的生成量,起到扩张冠状动脉血管的作用^[2-5]。本研究通过对瓜蒌皮注射液网络药理学的进一步研究,探索治疗冠心病心绞痛的有效成分和作用机制,为深入揭示相关疾病的有效治疗方法奠定基础。

1 资料与方法

1.1 瓜蒌皮化学成分数据库的构建

通过检索中药系统药理学分析平台 TCMSP 数据库、化学专业数据库及 PubMed 数据库确认瓜蒌皮的化学成分,并利用 PubChem 数据库确证其分子结构,建立瓜蒌皮化学成分数据库。

1.2 瓜蒌皮有效化合物的收集与筛选

利用 TCMSP 数据库,以口服生物利用度(oral bioavailability,OB)≥30%和类药性(drug likeness,DL)≥0.18 为筛选条件,收集瓜蒌皮注射液的活性成分。

1.3 瓜蒌皮有效化合物的靶点预测

将收集到的瓜蒌皮注射液活性成分依次导入 PubChem 数据库得到化合物的简化分子线性输入规范(simplified molecular input line entry specification, SMILES),将收集到的 SMILES 依次导入 Swiss Target Prediction 数据库获得瓜蒌皮注射液的有效靶点及其标准基因名称。

1.4 瓜蒌皮有效化合物-靶点网络构建

将筛选出的活性成分和作用靶点基因导入 Cytoscape 3.7.2 软件中构建有效化合物-靶点网络,并对其网络拓扑分析,计算出自由度(degree),筛选出主要活性成分。网络中的“节点”代表瓜蒌皮注射液有效活性成分和靶点基因。“边”代表瓜蒌皮注射液有效活性成分与靶点基因之间的关系。

1.5 蛋白质相互作用关系网络构建

通过 GeneCards 数据库筛选心绞痛的相关靶点

基因,与瓜蒌皮注射液有效活性成分靶点映射筛选出交集靶点,制作韦恩图。将筛选得到的交集靶点导入 String 数据库平台,物种设为“homo sapiens”获取基因-基因互作数据,并将数据以 TSV 格式导入 Cytoscape 3.7.2 软件构建瓜蒌皮注射液有效活性成分和心绞痛靶点的蛋白质相互作用关系(protein protein interaction, PPI)网络,对获得的 PPI 网络进行拓扑结构分析,筛选自由度大于平均值的靶点作为关键靶点。

1.6 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

将关键靶点导入 David 数据库中进行 GO 功能分析和 KEGG 通路富集分析,依据 $P < 0.05$ 筛选具有显著差异的生物过程、分子功能、细胞组分及 KEGG 通路,制作气泡图,并构建瓜蒌皮注射液“活性成分-关键靶点-信号-疾病”网络图。

2 结果

2.1 瓜蒌皮注射液的活性成分和靶点

检索到瓜蒌皮活性成分 11 个,包括 7 个有效化合物对应 250 个靶点,删除重复项之后,获得 138 个作用靶点。

2.2 构建活性成分-靶点网络

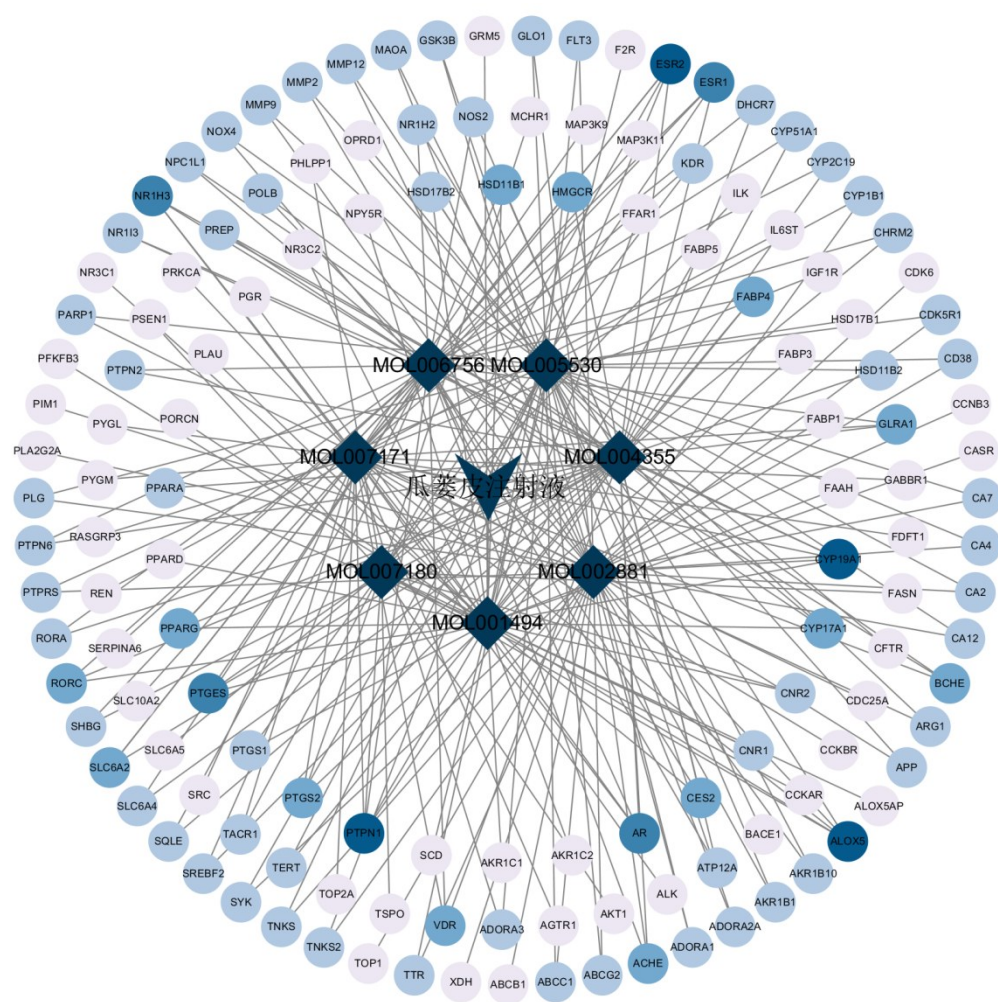
对“瓜蒌皮注射液活性成分-靶点”网络进行拓扑结构分析,获得 146 个节点,257 条边,平均自由度为 36.7,图中自由度越大,颜色越深。自由度大于平均值的化合物有 5 个。见图 1 和表 1。

2.3 瓜蒌皮注射液活性成分与心绞痛靶点筛选结果

在 GeneCards 数据库中以“angina pectoris”为关键词检索,共检索出疾病靶点 3865 个,以相关性得分 ≥1 为条件筛选得到 1304 个靶基因。瓜蒌皮注射液活性成分和心绞痛靶点相关交集 69 个。见图 2。

2.4 瓜蒌皮注射液治疗心绞痛的靶点蛋白质相互作用网络分析

69 个相交靶点绘制网络图后进行拓扑参数分析,获得 68 个节点、353 条边,平均最短路径长度为 2.063,平均介数为 0.016,平均接近中心性为 0.494,平均自由度为 10.38,其中自由度 ≥11 的靶点有 ABCB1、KDR、PTGS2、SRC、ESR1、AKT1、APP、CNR1、REN、AGTR1、MMP2、PPARG、PLG、MMP9、NR3C1、IGF1R、GSK3B、AR、CYP19A1、CYP17A1。对上述 20 个靶点进行子网络提取,获得核心靶点的 PPI 网络图,见图 3。半径越



注:该图彩色版见本刊官网(www.lcywzlzz.com)

图1 瓜蒌皮注射液的活性成分-靶点

表1 自由度大于平均值的瓜蒌皮注射液活性成分

分子名称	活性成分	自由度
MOL001494	亚油酸乙酯	40
MOL005530	羟基芫花素	40
MOL006756	仙人掌甾醇	40
MOL002881	香叶木素	41
MOL004355	菠菜甾醇	41

大表示自由度越大,说明该靶点参与的生物功能越多,在网络中的重要性越大。

2.5 瓜蒌皮注射液治疗心绞痛的GO功能及KEGG通路富集分析

69个相交靶点导入David数据库中,依据 $P<0.05$ 为条件,筛选出137个生物学过程、33个细胞组分、57个分子功能。筛选条目数前12的生物过程、分子功能、细胞组分,分别是生物过程:信号转导(signal

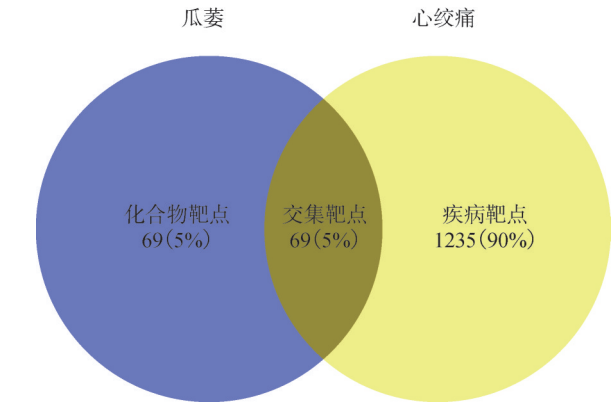


图2 瓜蒌皮注射液活性成分与心绞痛靶点韦恩图

transduction)、对药物的反应(response to drug)、RNA聚合酶Ⅱ启动子转录的正调控(positive regulation of transcription from RNA polymerase Ⅱ promoter)、氧化还原法(oxidation-reduction process)、DNA模

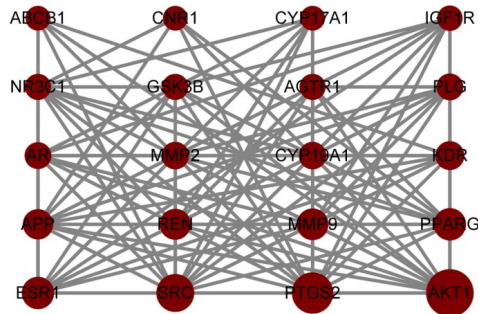
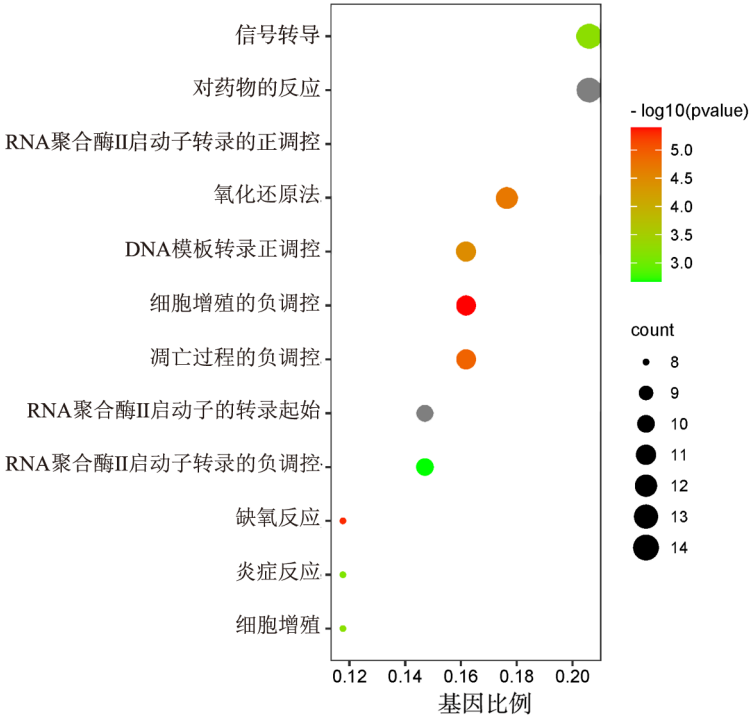


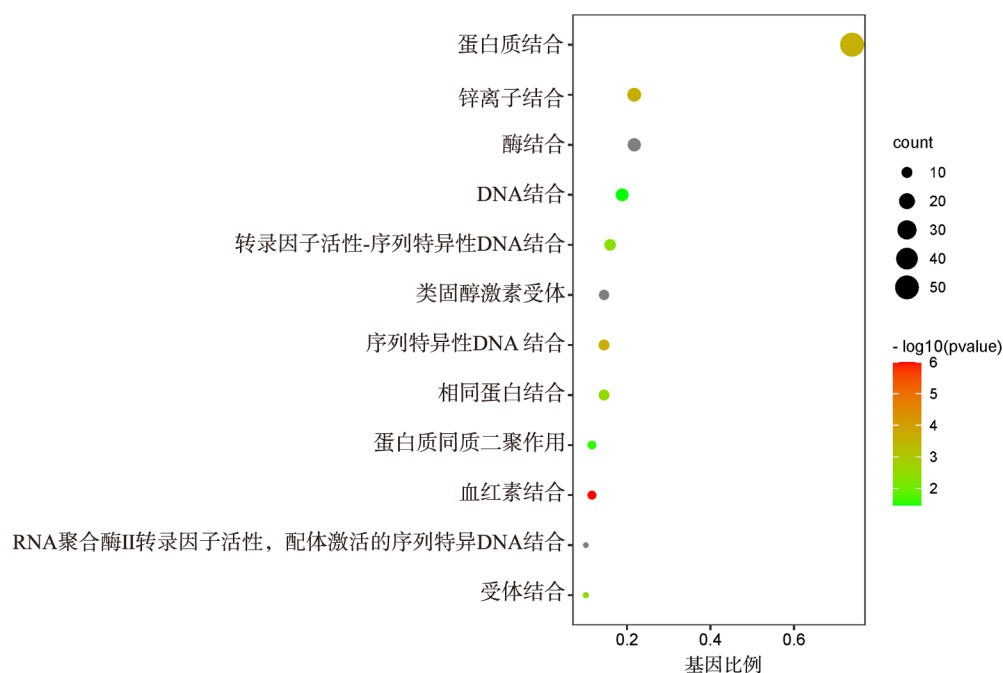
图3 瓜蒌皮注射液治疗心绞痛20个核心靶点蛋白质相互作用网络图

板转录正调控(positive regulation of transcription, DNA-templated)、细胞增殖的负调控(negative regulation of cell proliferation)、凋亡过程的负调控(negative regulation of apoptotic process)、RNA 聚合酶 II 启动子的转录起始(transcription initiation from RNA polymerase II promoter)、RNA 聚合酶 II 启动子转录的负调控(negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter)、缺氧反应(response to hypoxia)、炎症反应(inflammatory response)、细胞增殖(cell proliferation); 分子功能: 蛋白质结合(protein binding)、锌离子结合(zinc ion binding)、酶结合(enzyme binding)、DNA 结合(DNA binding)、

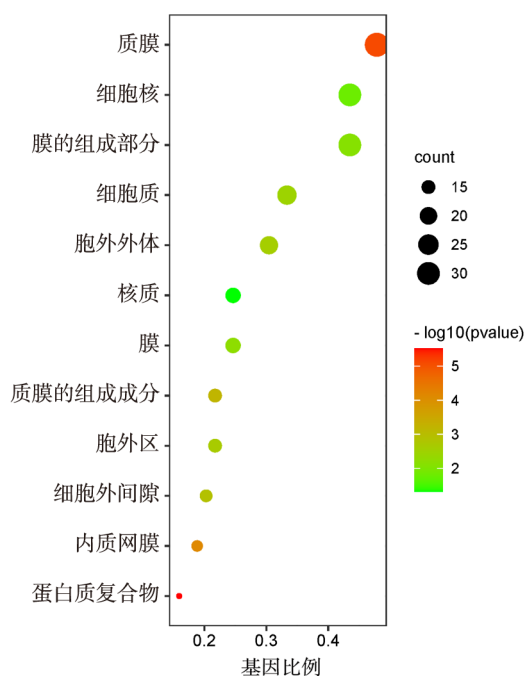
转录因子活性-序列特异性DNA 结合(transcription factor activity, sequence-specific DNA binding)、类固醇激素受体(steroid hormone receptor activity)、序列特异性DNA 结合(sequence-specific DNA binding)、相同蛋白结合(identical protein binding)、蛋白质同质二聚作用(protein homodimerization activity)、血红素结合(heme binding)、RNA 聚合酶 II 转录因子活性, 配体激活的序列特异性DNA 结合(RNA polymerase II transcription factor activity, ligand-activated sequence-specific DNA binding)、受体结合(receptor binding); 细胞组分: 质膜(plasma membrane)、细胞核(nucleus)、膜的组成部分(integral component of membrane)、细胞质(cytosol)、胞外外体(extracellular exosome)、核质(nucleoplasm)、膜(membrane)、质膜的组成成分(integral component of plasma membrane)、胞外区(extracellular region)、细胞外间隙(extracellular space)、内质网膜(endoplasmic reticulum membrane)、蛋白质复合物(protein complex)。绘制气泡图, 见图4。其中气泡颜色代表 P 值大小, 气泡大小代表该通路中目标基因多少。



4a. 生物过程



4b. 分子功能



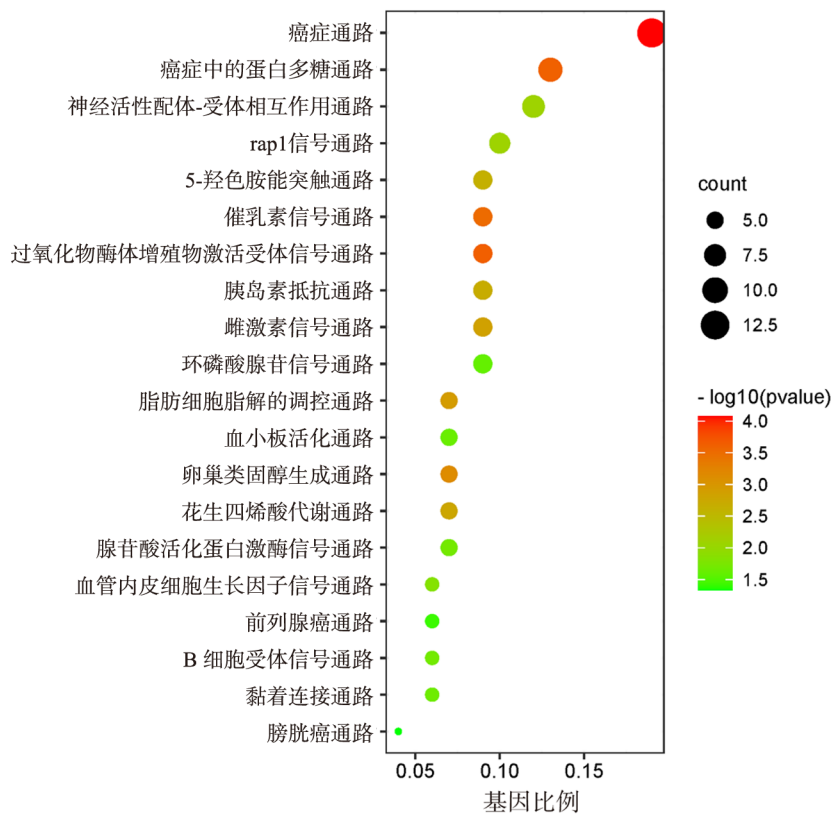
4c. 细胞组分

注: 该图彩色版见本刊官网(www.lcywzlzz.com)

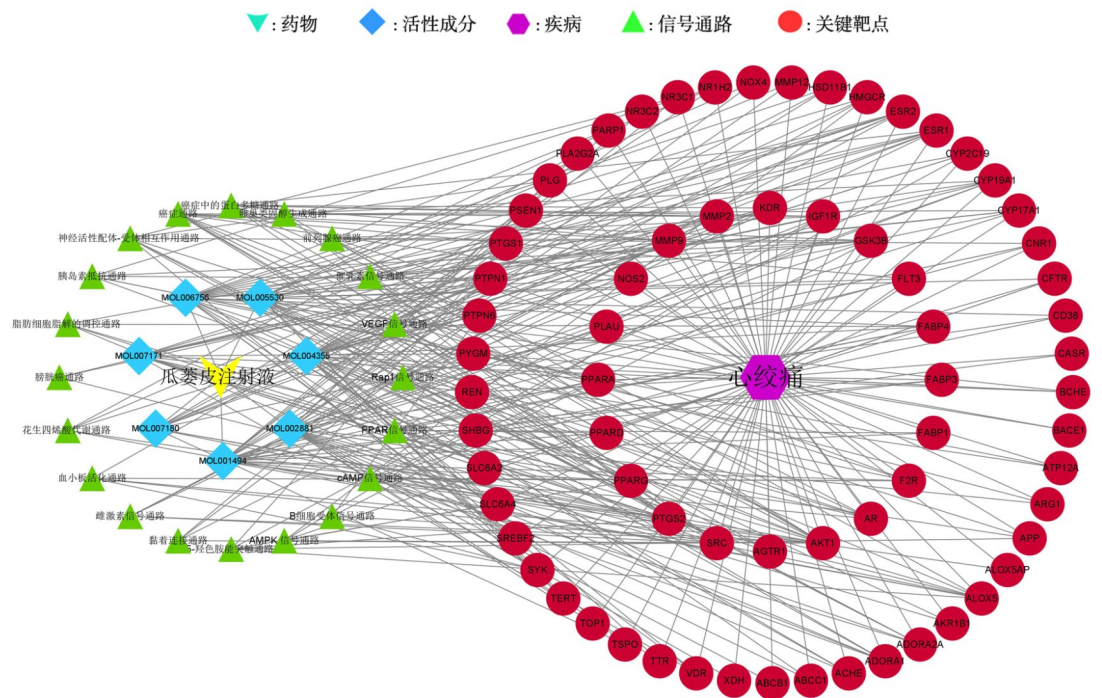
图4 瓜蒌皮注射液治疗心绞痛的靶点 GO 功能分析

利用 David 数据库对 69 个相交靶点进行 KEGG 通路富集分析, 得到 28 个条目, 依据 $P < 0.05$ 为条件, 筛选出 20 个差异显著的信号通路分别是癌症通路 (pathways in cancer)、过氧化物酶体增殖物激活受

体信号通路 (PPAR signaling pathway)、癌症中的蛋白多糖通路 (proteoglycans in cancer)、催乳素信号通路 (prolactin signaling pathway)、卵巢类固醇生成通路 (ovarian steroidogenesis)、脂肪细胞脂解的调控通路 (regulation of lipolysis in adipocytes)、雌激素信号通路 (estrogen signaling pathway)、花生四烯酸代谢通路 (arachidonic acid metabolism)、胰岛素抵抗通路 (insulin resistance)、5-羟色胺能突触通路 (serotonergic synapse)、rap1 信号通路 (rap1 signaling pathway)、神经活性配体-受体相互作用通路 (neuroactive ligand-receptor interaction)、血管内皮细胞生长因子信号通路 (VEGF signaling pathway)、腺苷酸活化蛋白激酶信号通路 (AMPK signaling pathway)、B 细胞受体信号通路 (B cell receptor signaling pathway)、黏着连接通路 (adherens junction)、血小板活化通路 (platelet activation)、环磷酸腺苷信号通路 (cAMP signaling pathway)、前列腺癌通路 (prostate cancer)、膀胱癌通路 (bladder cancer)。绘制气泡图, 其中气泡颜色代表 P 值大小, 气泡大小代表该通路中目标基因多少, 见图 5。通过 Cytoscape 3.7.2 软件绘制“瓜蒌皮注射液-活性成分-关键靶点-信号通路-疾病”网络, 见图 6。



注:该图彩色版见本刊官网(www.lcywzlzz.com)
图5 瓜蒌皮注射液治疗心绞痛的信号通路-靶点气泡图



注:该图彩色版见本刊官网(www.lcywzlzz.com)
图6 瓜蒌皮注射液-活性成分-关键靶点-信号-疾病图

3 讨论

瓜蒌皮注射液具有行气除满、开胸除痹之功效。药理研究证实,瓜蒌皮具有调节脂代谢、抗动脉粥样硬化、保护血管内皮、保护再灌注损伤、增加冠脉血流、抗氧化应激、祛痰、抗炎、抑菌等作用^[4,6-7]。本研究结果显示,瓜蒌皮注射液主要活性成分为亚油酸乙酯、羟基苧花素、仙人掌甾醇、香叶木素、菠菜甾醇。亚油酸乙酯具有抑制动脉粥样硬化作用^[8],羟基苧花素具有抗癌、抗炎作用^[9],仙人掌甾醇具有调节脂代谢作用^[10-11],香叶木素具有保护缺血再灌注损伤、抗氧化、抑菌作用^[12-13],菠菜甾醇具有促进一氧化氮合成、抗炎作用^[14-16]。此结果与药理学机制成分研究^[8,12,17-21]相互印证。

本研究GO功能分析显示,瓜蒌皮注射液主要通过信号转导、对药物的反应、氧化还原法、RNA聚合酶Ⅱ启动子转录的正调控、炎症反应等生物过程介导心绞痛的治疗。KEGG通路富集分析显示,癌症通路、PPAR信号通路、癌症中的蛋白多糖通路、催乳素信号通路等是瓜蒌皮注射液治疗心绞痛的主要调控通路。

有研究证实,PPAR通路中的PPAR- α 可调节脂蛋白的代谢,具有抗炎、稳定粥样硬化斑块、抗血栓作用,PPAR- γ 在抑制炎症、动脉粥样硬化、增加胰岛素敏感性、调节糖代谢、抗肿瘤方面均有重要作用^[22-23];催乳素信号通路与乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、免疫系统疾病、心血管病变、糖尿病等疾病及脂代谢有关^[24];脂肪细胞脂解的调控通路可以调节脂蛋白代谢^[25-26];雌激素信号通路是由雌激素与雌激素受体结合后调节细胞核中的基因转录或激活细胞质中的激酶起到调节血管功能,并参与炎症反应、新陈代谢、干细胞与心肌细胞的存活^[27];VEGF信号通路可参与血管内皮细胞增殖起到保护心血管的作用^[28];5-羟色胺能突触、cAMP信号通路、花生四烯酸代谢、卵巢类固醇生成通路均与缓解心绞痛有关^[29];rap1信号通路与细胞生成、细胞间黏附、免疫反应和血管生成等多种功能有关^[30]。本研究结果显示,瓜蒌皮的有效成分亦可调控前列腺癌通路、膀胱癌通路、胰岛素抵抗通路,分别与前列腺癌、膀胱癌、糖尿病有关,5-羟色胺能突触亦

与抑郁症有关^[31],这些为进一步研究瓜蒌皮注射液功能主治提供了方向。本研究结果表明,瓜蒌皮注射液可能通过与核心靶点相互作用,激活或阻断多条信号通路发挥抗炎、稳定粥样硬化斑块、调解脂蛋白代谢、缓解心绞痛、促进血管内皮细胞增殖的作用。

综上所述,瓜蒌皮注射液介导的通路作用与治疗冠心病心绞痛核心靶点基因的生物学过程及分子功能基本一致。中药制剂的网络药理学研究存在多成分、多靶点、数据库收录和更新信息不全面、有效成分-靶点-信号通路相互作用不清晰等问题,今后可进一步研究实验室基础研究及临床治疗数据分析,验证瓜蒌皮注射液治疗冠心病心绞痛的作用机制。

【参考文献】

- [1] 楚冬海,张振秋.瓜蒌化学成分的研究进展[J].中华中医药学刊,2020,38(7):198-203.
- [2] 倪杰,周果,顾建国.瓜蒌皮注射液在冠心病慢性心力衰竭患者中的疗效观察[J].南通大学学报(医学版),2020,40(6):586-587.
- [3] 高飞,王康,李静华,等.瓜蒌皮注射液治疗冠心病心绞痛及心肌梗死的系统评价[J].中西医结合心脑血管病杂志,2018,16(19):2774-2778.
- [4] 郭玉洪,赵洋洋,刘原,等.瓜蒌皮治疗心血管疾病的作用机制及临床应用概况[J].中国药房,2019,30(21):3013-3018.
- [5] 周果,倪杰,顾建国.瓜蒌皮注射液对不稳定性心绞痛患者炎症因子水平影响的研究[J].南通大学学报(医学版),2020,40(2):153-155.
- [6] 付强.急性心肌梗死室性再灌注心律失常应用瓜蒌皮注射液治疗的临床观察[J].中国医药指南,2016,14(20):99-100.
- [7] 卢鹏飞,施伟丽,王志国,等.瓜蒌皮的临床应用及作用机制[J].中医杂志,2013,54(16):1428-1431.
- [8] Holmer G, Kristensen G, Sondergaard E, et al. The influence of ethyl linoleate and ethyl linolenate on polyenoic fatty acids and cholesterol in tissues of chicks [J]. Z Ernährungswiss, 1962,2:223-228.
- [9] Leu YL, Wang TH, Wu CC, et al. Hydroxygenkwanin suppresses non-small cell lung cancer progression by enhancing EGFR degradation[J].Molecules,2020,25(4):941.
- [10] Arisawa M, Kinghorn AD, Cordell GA, et al. Plant anticancer agents XXXVI. schottenol glucoside from baccharis coridifolia and ipomopsis aggregata[J]. Planta Med,1985,51(6):544-545.
- [11] El Kharrassi Y, Samadi M, Lopez T, et al. Biological activities of schottenol and spinasterol, two natural phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil, on murine microglial BV₂ cells[J]. Biochem Biophys Res Commun,2014,446(3):798-804.
- [12] 王改锋,王兆钺,曹丽娟,等.三个伴有巨大血小板和溶血性贫血的植物固醇血症家系研究[J].中华血液学杂志,2011,32(5):331-336.
- [13] 马纳,李亚静,范吉平.香叶木素药理作用研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2018,20(9):214-217.
- [14] Lee TH, Jung M, Bang MH, et al. Inhibitory effects of a spinasterol glycoside on lipopolysaccharide-induced production of

- nitric oxide and proinflammatory cytokines via down-regulating MAP kinase pathways and NF- κ B activation in RAW264.7 macrophage cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 13 (3): 264-270.
- [15] 吴玉蓉,翟成尘,莫尚武.四川瓜蒌具钙拮抗作用化学成分的光谱研究(Ⅱ)[J]. *化学研究与应用*, 2001(2):203-204.
- [16] 孙娟,孟冰雪,赵启韬.瓜蒌药理作用的物质基础研究概况[J]. *山东中医杂志*, 2012, 31(6):461-463.
- [17] 杨丽,杨玲.瓜蒌皮对冠心病的药理作用及其机制研究[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2016, 3(37):7495-7496.
- [18] 唐昀彤,杜正彩,郝二伟,等.基于栝楼不同药用部位化学成分和性效关系的质量标志物分析[J]. *中草药*, 2020, 51(6):1617-1627.
- [19] Koo HJ, Park HJ, Byeon HE, et al. Chinese yam extracts containing β -sitosterol and ethyl linoleate protect against atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice and inhibit muscular expression of VCAM-1 in vitro[J]. *J Food Sci*, 2014, 79(4): H719-H729.
- [20] 肖聚慧,刘小军.香叶木素对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用研究[J]. *中医药信息*, 2021, 38(5):22-27.
- [21] 戴琴升,郭青龙.黄酮类化合物在调节肿瘤细胞周期阻滞中的作用及其机制研究进展[J]. *实用老年医学*, 2011, 25(3):255-258.
- [22] 马瑞莲,姚震,何喜民.PPAR- α 与心血管疾病关系的基础研究进展[J]. *海南医学*, 2011, 22(3):28-30.
- [23] 陈永熙,王伟铭,周同,等.PPAR- γ 作用及其相关信号转导途径[J]. *细胞生物学杂志*, 2006, 4(3):382-386.
- [24] 谭敦勇,彭湘潭.催乳素受体研究[J]. *生理科学进展*, 2012, 43(1):17-23.
- [25] 陈亮,冯万宇,兰世捷,等.关键因子及脂稳态调控基因对脂代谢的影响[J]. *现代畜牧科技*, 2021, 4(6):18-20.
- [26] Duncan RE, Ahmadian M, Jaworski K, et al. Regulation of lipolysis in adipocytes[J]. *Annu Rev Nutr*, 2007, 27:79-101.
- [27] 屈超,刘中洋,裘荣刚,等.雌激素信号通路概述[J]. *生物技术通讯*, 2014, 25(3):448-450.
- [28] 向本旭,刘婷婷,孙芳玲,等.VEGF相关信号通路在血管新生中的研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(12):81-86.
- [29] 杨健.基于网络药理学和机器学习探索中医药对冠心病辨证论治的生物学基础[D].上海:中国人民解放军海军军医大学, 2020.
- [30] Jin X, Di X, Wang R, et al. RBM10 inhibits cell proliferation of lung adenocarcinoma via RAS/RAF/MEK/ERK signalling pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(6):3897-3904.
- [31] Gao Y, Tian JS, Qin XM. A network pharmacology approach to decipher the mechanisms of anti-depression of Xiaoyaosan formula[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2017, 31(5):477.

收稿日期:2021-09-14 本文编辑:任洁