

三七主要活性成分作用机制的网络药理学研究

田会东, 郭丽娜, 王单单, 李森森, 王 瑞*

漯河市中心医院药学部, 河南 漯河 462300

摘要: **目的** 通过网络药理学研究三七的主要活性成分、作用靶点、相关信号通路和疾病等几方面的关联性, 揭示其发挥药效的作用机制。**方法** 从中药系统药理学分析平台(TCMSP)数据库中获得三七的化学成分, 并把口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性(DL) ≥ 0.15 作为筛选条件, 获得三七的主要活性成分和相关作用靶点。通过UniProt数据库提取作用靶点的基因名称, 并用CTD网络在线分析平台获得与靶点相关的疾病和信号通路。最后用Cytoscape 3.6.1构建“活性成分-靶点”“靶点-信号通路”和“靶点-疾病”网络图, 采用Cytoscape 3.6.1的Network Analyzer插件分析网络图, 探讨三七的多重药理作用机制。**结果** 共获得槲皮素、 β -谷甾醇、豆甾醇、人参皂苷rh2等9个主要活性成分; 这些成分可作用于176个靶点, 其主要靶点有PTGS2、PTGS1、HSP90AB1、ER、PDE3A等, 这些靶点与肿瘤、高血压、中枢神经系统障碍、自身免疫疾病等45种疾病相关, 涵盖癌症、心血管系统、神经系统、免疫系统等几大类疾病。三七的主要活性成分通过作用于靶点而影响相关的信号通路发挥治疗疾病的作用, 其影响的信号通路主要包括信号转导通路、免疫通路、Cytokine信号通路、癌症通路等, 其中肿瘤、免疫相关的占绝大部分。**结论** 三七是通过多成分、多靶点、多信号通路的协调作用发挥治疗疾病的作用, 其中在治疗肿瘤疾病和增强人体免疫力方面具有潜在的优势。

关键词: 三七; 网络药理学; 活性成分; 作用机制; 肿瘤; 免疫

中图分类号: R962.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2019)01-0072-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.01.010

Investigating the main components and mechanism of *Panax notoginseng* based on pharmacology network

TIAN Huidong, GUO Lina, WANG Dandan, LI Sensen, WANG Rui

Pharmacy Department of Luohe Central Hospitals, Luohe 462300, China

Abstract: Objective To investigate the main components, action targets, related pathways, diseases, and reveal the multidimensional action pharmacology mechanism of *Panax notoginseng* based on pharmacology network. **Methods** The components of *Panax notoginseng* action targets and were obtained from TCMSP database, and The components with $OB \geq 30\%$ and $DL \geq 0.15$ were the main active. The gene names of the targets and the pathways and corresponding diseases related with the targets were extracted from Uniprot database and CTD analysis platform online, respectively. At last, the components-target, target-pathway, and target-disease networks were constructed through Cytoscape 3.6.1, and the networks were analyzed through the Network Analyzer of Cytoscape 3.6.1 to study the multidimensional action pharmacology mechanism of *Panax notoginseng*. **Results** The 9 active components were obtained, such as quercetin, beta-sitosterol, stigmaterol, ginsenoside rh2. There were 176 targets related with the 9 active components, and the main targets were PTGS2, PTGS1, HSP90AB1, ER, PDE3A and so on. Those targets were related with 45 diseases including Cancer, Cardiovascular disease, Nervous system disease, Immune system disease and so on. The main active components acted on the targets affecting the corresponding pathways in the treatment of diseases, the pathways influenced by the main components of *Panax notoginseng* contained Pathways in cancer, Signal Transduction, Innate Immune System, and so on, indicating that *Panax notoginseng* has multiple components, targets, pathways providing synergistic effects in the treatment of diseases. **Conclusion** The study revealed the main active components of *Pueraria lobata* and related multidimensional action pharmacology mechanism by pharmacology network, providing the scientific basis for the development and application of *Panax notoginseng*.

收稿日期: 2018-10-15

第一作者: 田会东(1987—),男,河南省漯河市,药师,本科,研究方向为网络药理学。

*通信作者: 王 瑞(1974—),男,河南省漯河市,主任药师,硕士,研究方向为中药制剂。E-mail: yaoxuebu116@163.com.

Key words: pharmacology network; Panax notoginseng; components; action mechanism; tumour; immune

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根和根茎,是我国重要的传统中药之一,具有散瘀止血、消肿定痛的功效^[1]。研究表明,三七的化学成分主要有皂苷类、黄酮类、炔、醇类、挥发油类等,对血液系统、心血管系统、脑血管系统、神经系统、免疫调节系统等均有影响^[2]。由于三七成分复杂,其主要活性成分和作用机制尚不完全清楚。近年来,网络药理学作为一个新兴学科,打破传统的“一个药物、一个靶点、一种疾病”的框架,融合系统生物学、多向药理学、计算生物学、网络拓扑学等多学科的技术和内容,进行“疾病-表型-基因-药物”多层次网络的构建,从整体角度探索药物与疾病的关联性,具有整体性和系统性的特点^[3]。本文通过中药系统药理学分析平台(TCMSP)数据库,采用网络药理学的方法对三七的主要活性成分进行筛选,并综合分析活性成分的作用靶点、相关生物信号通路和疾病,研究了三七的主要活性成分及其药理作用机制,为三七的进一步开发应用提供科学依据。

1 方法

1.1 筛选活性成分及相应靶点

从 TCMSP 数据库获得三七的化学成分 119 个,把口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.15 作为筛选三七活性成分的条件,结合文献报道,共获得 9 个活性成分。其中 OB 是评价药物是否发挥药效的一个重要指标^[4],DL 代表成分与已知西药的相似性,对确定中药成分是否在机体产生活性具有重要参考意义。9 个活性成分的作用靶点从 TCMSP 数据库中获得,把靶点名称输入 UniProt 数据库,获得其相应靶点的人源的基因名称。

1.2 查找活性成分相关疾病

将三七主要活性成分作用靶点的基因名称导入到 CTD 在线分析平台([tp://ctdbase.org/](http://ctdbase.org/))数据库,得到与靶点有关的疾病和信号通路。分析三七潜在治疗疾病的作用,并结合文献报道研究其治疗的主要疾病。

1.3 网络图构建和分析

利用 Cytoscape 3.6.1 构建三七“活性成分-靶点”的网络图,用网络拓扑学分析网络图的特征,并研究其主要活性成分与作用靶点之间的关系;构建“靶点-信号通路”网络图,研究靶点与信号通路的相互作用关系;构建“靶点-疾病”网络图,分析靶点

与疾病的相互作用关系。运用 Cytoscape 3.6.1 的 Network Analyzer 插件分析以上 3 个网络图研究三七活性成分、作用靶点、信号通路和相关疾病的相互作用关系,寻找其主要活性成分、重要的靶点和信号通路,并研究三七可能针对的疾病和潜在的治疗作用,及其发挥药效的主要机制,为进一步开发利用提供思路。

2 结果

2.1 主要活性成分

以 OB≥30% 和 DL≥0.15 作为筛选三七活性成分的条件获得 10 个主要活性成分,如槲皮素、β-谷甾醇、豆甾醇、人参皂苷 Rh2 等。人参皂苷 f2 未在 TCMSP 平台上查到相关作用靶点及其对应疾病。因此共获得三七的主要活性成分 9 个,如表 1 所示。

2.2 “活性成分-靶点”网络图分析

将筛选出的 9 个活性成分和其作用的靶点通过 Cytoscape 3.6.1 构建成网络图,如图 1 所示。图 1 包含 185 个节点(9 个活性成分和 176 个相关靶点)和 240 条线,其圆形代表活性成分,三角形代表相关靶点,线代表活性成分与相关靶点的关系。研究报告,度值(degree)和介数值的节点(betweenness)与活性成分的重要性呈正相关,即其值越大,相应的节点在此网络图中越重要^[5]。图 1 中,节点的大小表示其度值的大小,其中 MOL000098 的度值最大,为 142,表明这个活性成分的靶点共有 142 个,是图 1 的中心节点,说明 MOL000098(槲皮素)在“活性成分-靶点”网络图中具有重要作用。MOL000358(β-谷甾醇)和 MOL000449(豆甾醇)的度值分别为 35 和 31,靶点较多的成分可能在三七的药理作用中起到关键作用。相关研究表明,槲皮素具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等广泛生理活性^[6-7];β-谷甾醇、豆甾醇对人肝癌细胞具有明显的增殖抑制作用^[8];三七主要活性成分中 MOL007472(烯酸酯)、MOL007498(烯酸)的度值最低,为 2。由此可见,不同活性成分的作用靶点数量不一样,作用靶点的差异体现了其发挥药理作用的特点不一样。相关靶点 PTGS2、PTGS1、ADRB2 的度值分别为 8、7、5。其中 PTGS2 与三七的 8 个主要有效成分相连,说明 PTGS2 是三七发挥整体药效的关键靶点。靶点与多个有效成分具有相互作用关系,表明三七发挥其药理作用是多靶点协调作用的结果。

表1 三七筛选后得到的9个活性成分

Table 1 A total nine active ingredients after screened in *panax notoginseng*

TCMSP 编号	分子名称	OB/%	DL	度值	中文名称
MOL001494	Mandenol	42.00	0.19	3	十八碳二烯
MOL001792	DFV	32.76	0.18	10	食脂素
MOL002879	Diop	43.59	0.39	3	邻苯二甲酸二异辛酯
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	35	β -谷甾醇
MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76	31	豆甾醇
MOL005344	ginsenoside Rh2	36.32	0.56	12	人参皂苷 Rh2
MOL007472	(9Z,12E)-octadeca-9,12-dienoic acid methyl ester	41.93	0.17	2	烯酸酯
MOL007498	10Z,13Z-nonadecadienoic acid	40.98	0.17	2	烯酸
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	142	槲皮素

2.3 “靶点-疾病”网络图分析

通过CTD在线分析平台分析与靶点有关的疾病,结果显示,NCOA2没有找到与其相关的疾病,移除这个靶点,共获得153个与疾病相关的作用靶点。通过Cytoscape 3.6.1构建“靶点-疾病”网络图,

包含198个节点(153个靶点和45种相关疾病)和2533条线,V代表相关疾病,方形带表相关靶点,线代表活性成分与相关靶点的关系,如图2所示。45种相关疾病包括Cancer(26种)、Cardiovascular disease(8种)、Nervous system disease(6种)、

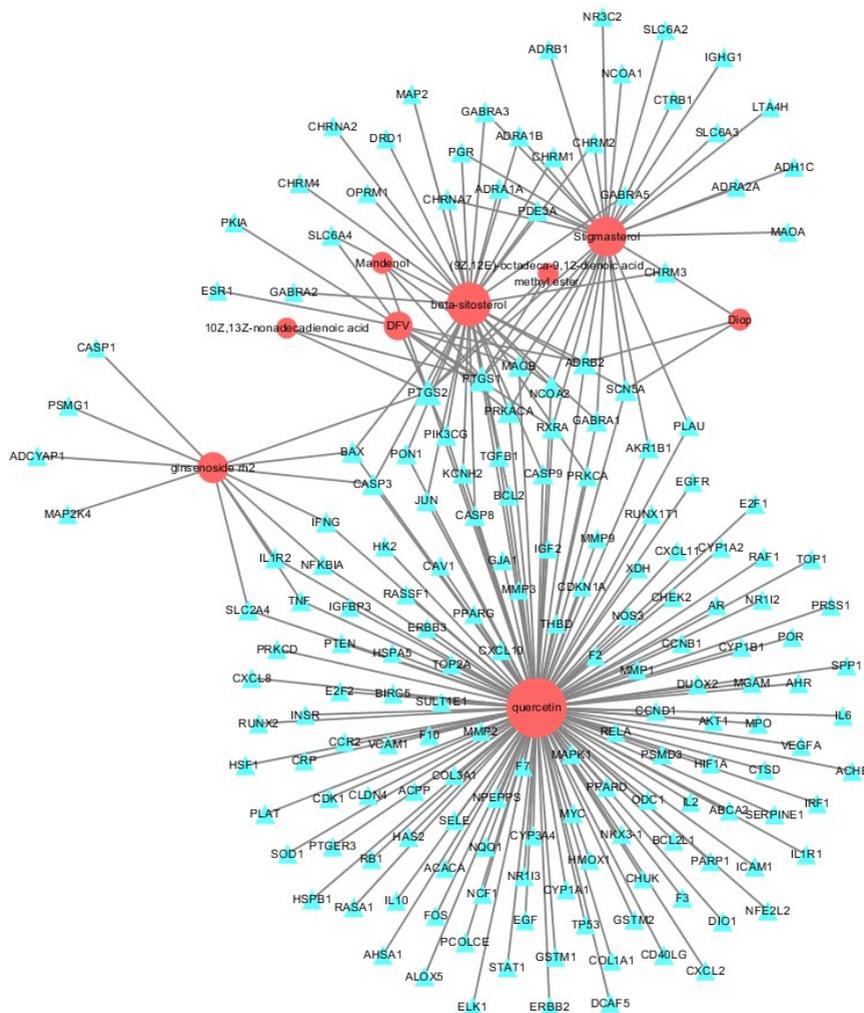


图1 活性成分-靶点网络图

Fig. 1 Network model of active ingredient - target

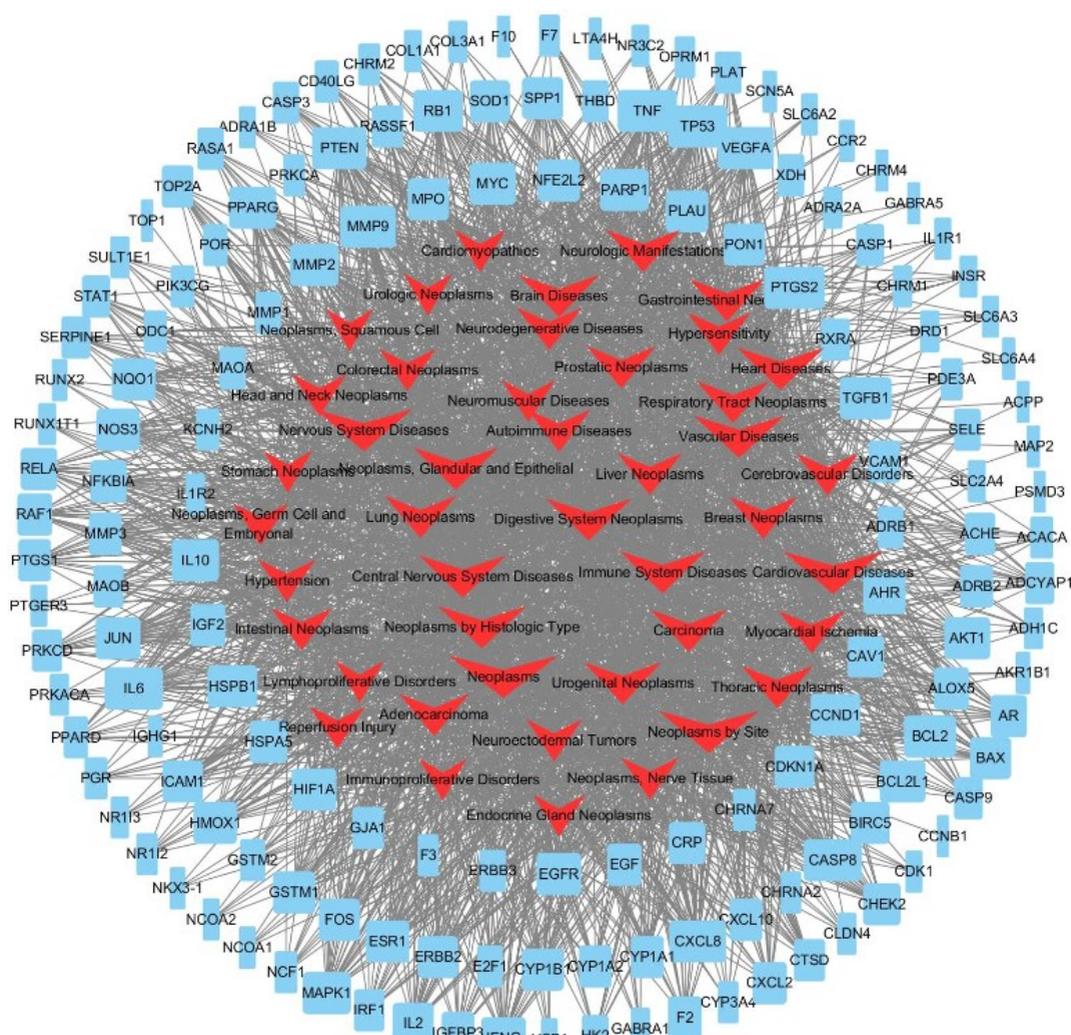


图2 靶点-疾病网络图

Fig. 2 Network model of target-related disease

Immune system disease(5种)等几大类。“靶点-疾病”网络图中度值较大的疾病包括 Neoplasms、Cardiovascular disease、Nervous system disease、Vascular disease等,表明三七的主要活性成分可用于治疗肿瘤、神经系统疾病、心血管疾病等。其度值较大的靶点有 PTGS2、TP53、TNF、TL6等,其相关的疾病分别有41、40、40、39个,表明这些靶点在三七治疗疾病中发挥举足轻重的作用,体现了三七治疗疾病的多成分、多靶点的协同作用。

2.4 生物通路分析

通过CTD在线分析平台分析与靶点有关的生物信号通路,通过Cytoscape 3.6.1构建“靶点-生物通路”网络图,网络图包含183个节点(155个靶点和28条生物信号通路)和939条线,其六边形代表生物信号通路,三角形代表相关靶点,线代表活性成分与相关靶点的关系,如图3所示。其度值较大的靶

点有 AKT1、TP53、MAPK1,度值分别为26、23、20,其分别与26条、23条、20条信号通路相关。研究表明 AKT1是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,与恶性肿瘤的发生发展关系密切^[9];赵清爽等人报道了TP53作为一个抑癌基因,位于17p13.1,其编码蛋白P53在很多肿瘤的发生、发展过程中扮演重要角色^[10],如可以抑制头颈部鳞状癌细胞的异常增殖^[11]。这些靶点大部分都与2个以上信号通路相连接,说明三七活性成分通过作用多成分、多靶点、多信号通路发挥药效。度值较大的信号通路如信号转导通路、免疫通路、Cytokine信号通路、癌症通路,可能是治疗肿瘤、免疫系统疾病的关键生物信号通路,信号通路的种类如表2所示。三七活性成分的作用靶点、信号通路和疾病中,肿瘤、免疫相关的占绝大部分,表明三七在治疗肿瘤疾病和增强人体免疫力方面具有潜在的优势。

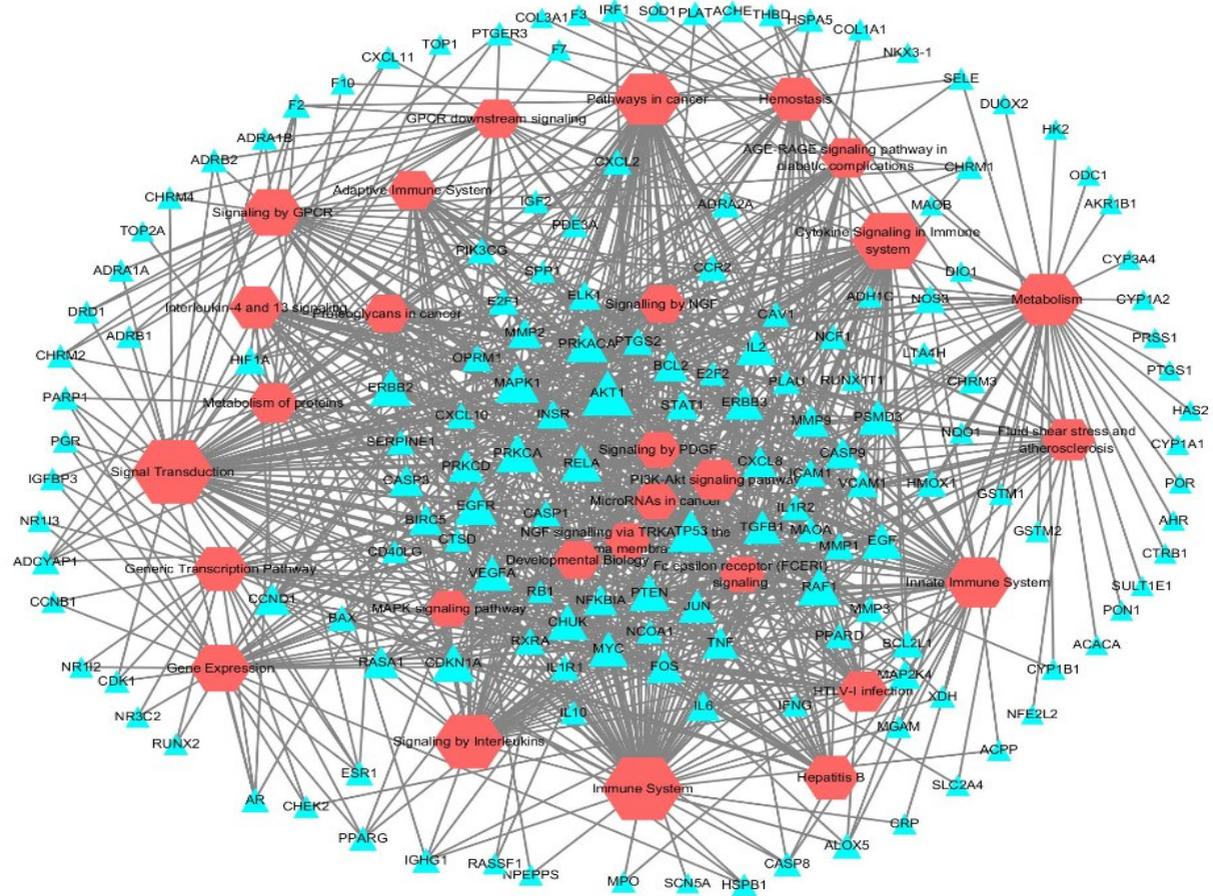


图3 靶点-生物通路网络图

Fig. 3 Network model of target-pathway

表2 信号通路名对照汇总表

Table 2 Pathways in summary

信号通路	通路ID	节点度值	信号通路	通路ID	节点度值
信号转导通路	R-HSA-162582	74	HTLV-I 感染通路	hsa05166	27
免疫通路	R-HSA-168256	73	PI3K-Akt 信号通路	hsa04151	27
Cytokine 信号通路	R-HSA-1280215	53	糖尿病并发症 AGE-RAGE 通路	hsa04933	26
Interleukin 信号通路	R-HSA-449147	49	蛋白质代谢通路	R-HSA-392499	26
癌症通路	hsa05200	46	适应性免疫通路	R-HSA-1280218	25
物质代谢通路	R-HSA-1430728	46	GPCR 下游信号通路	R-HSA-388396	25
先天免疫通路	R-HSA-168249	43	蛋白聚糖通路	hsa05205	24
G 蛋白偶联受体信号通路	R-HSA-372790	35	NGF 信号通路	R-HSA-166520	24
基因表达通路	R-HSA-74160	35	发生生物学通路	R-HSA-1266738	24
乙型肝炎通路	hsa05161	31	MAPK 信号通路	hsa04010	22
通用转录途径	R-HSA-212436	31	微小 RNAs 通路	hsa05206	22
止血通路	R-HSA-109582	30	PDGF 信号通路	R-HSA-186797	22
白介素 4 和 13 信号通路	R-HSA-6785807	39	FCERI 信号通路	R-HSA-2454202	21
流体应切力与动脉粥样硬化通路	hsa05418	28	NGF 通过质膜 TRKA 信号通路	R-HSA-187037	21

3 讨论

本研究采用网络药理学的方法对三七的主要

活性成分、作用靶点、相关生物信号通路和相关疾病等几方面的关联性进行了探讨。通过 TCMSP 数

数据库共发现三七的化学成分119个,进一步筛选获得主要活性成分9个。其中槲皮素、豆甾醇、 β -谷甾醇、人参皂昔可能是三七发挥药效的主要活性物质。与9个有效成分相关的作用靶点176个,通过CTD网络在线分析平台分析与靶点有关的信号通路和疾病,筛选1个无相关疾病的靶点,共获得155个相关作用靶点,其中PTGS2、TP53、TNF、TL6在三七发挥药理作用中具有重要作用;与153个靶点相关的疾病共有45种,主要包括肿瘤、高血压、神经系统疾病、免疫疾病等,说明三七在肿瘤、心血管疾病、免疫相关疾病中具有潜在的治疗作用;与关键信号通路有关的作用靶点有155个,其中AKT1、TP53、MAPK1在三七通过靶点影响信号通路发挥疗效中具有重要作用,其关键的信号通路主要有信号转导通路、免疫通路、Cytokine信号通路、癌症通路,推测三七可能通过作用于相关的靶点从而影响相关的信号通路而发挥药效。从网络药理学角度探讨并揭示了三七的主要活性成分、作用靶点、相关生物信号通路和疾病,为进一步研究三七的作用机制提供理论依据,为三七的进一步开发应用提供科学依据。

本研究的结论仍存在局限性,本研究依托数据库,通过数据调取对药物的功效进行预测,将来还需要基础和临床试验验证;OB和DL的筛选也存在着限制,药物的吸收利用不仅仅局限于口服,还可做成其他剂型应用与临床,口服生物利用度低的成分需要重视起来,可能存在更广泛的治疗作用。本

研究仅为中药科研提供一个思路,在接下来仍需进一步完善。

参考文献

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2015.
- [2] 夏鹏国,张顺仓,梁宗锁,等.三七化学成分的研究历程和概况[J].中草药,2014,45(17):2564-2568.
- [3] 陈国铭,汤顺莉,许华,等.基于系统药理学的茵陈作用机制研究[J].中国药房,2018,29(10):1313.
- [4] 裴梦婕.系统药理学研究补气 and 补血中药作用机理:预测新药及新靶点[D].西安:西北大学,2014.
- [5] 李昕,潘俊娴,陈士国,等.葛根化学成分及药理作用研究进展[J].中国食品学报,2017,17(9):189-195.
- [6] Russo M, Spagnuolo C, Tedesco I, et al. The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: Facts and fancies [J]. Biochem Pharmacol, 2012, 83(1): 6-15.
- [7] Bischoff S C. Quercetin: Potentials in the prevention and therapy of disease [J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2008, 11(6): 733-740.
- [8] 李庆勇,姜春菲,张黎,等. β -谷甾醇、豆甾醇有道人肝癌细胞SMMC-7721凋亡[J].时珍国医国药,2012,23(5):1175.
- [9] 许欣,姚东颖.结直肠癌中Girdin和Akt1蛋白的表达及临床意义[J].河北医药,2016,38(15):2259.
- [10] 赵清爽,王守森.TP53在髓母细胞瘤分子分型中的临床意义与相关研究进展[J].临床神经外科杂志,2017,14(4):315.
- [11] 徐明义,郑艳秋,孙娟,等.头颈部鳞癌中TP53基因的调控网络分析[J].局解手术学杂志,2016,25(12):863-867.