

## 基于网络药理学的瓜蒌皮注射液治疗冠心病稳定型心绞痛作用机制研究

刘爱娜<sup>1</sup>, 李继彬<sup>1</sup>, 徐佳新<sup>2</sup>, 赵振宇<sup>1\*</sup>

1. 天津医科大学朱宪彝纪念医院 药剂科, 天津市内分泌研究所, 国家卫健委激素与发育重点实验室, 天津市代谢性疾病重点实验室, 天津 300134
2. 天津中医药大学 中药学院, 天津 300193

**摘要:** **目的** 利用网络药理学的方法探究瓜蒌皮注射液治疗冠心病稳定型心绞痛的网络调控机制。**方法** 以方中主要成分兼顾主要结构类型为选取原则, 确定了瓜蒌皮注射液 19 个化合物为研究对象, 通过 Swiss Target Prediction、TCMSP 数据库预测化合物潜在作用靶点, 通过 GeneCards、DisGeNET、OMIM 数据库收集冠心病及稳定型心绞痛的疾病靶点, 将药物靶点和疾病靶点取交集, 利用 Cytoscape 软件构建“成分-靶点”网络。采用 String 数据库构建蛋白互作网络, 借助 Omicsbean 软件及 KEGG 数据库进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能富集分析及信号通路分析。通过过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 诱导的 H9c2 心肌细胞氧化应激损伤模型, 对关键成分进行活性验证。**结果** 筛选出 19 个化合物的 110 个疾病靶点, 经分析网络拓扑参数获得 14 个关键靶点: GAPDH、TNF、EGFR、MMP9、PTGS2、ACHE、REN、PPARG、F2、HSP90AA1、MMP2、IL2、HMOX1、FGF2, 通过参与调节 PI3K-Akt、血小板活化、肾素血管紧张素系统、细胞凋亡、肿瘤坏死因子、花生四烯酸代谢、钙离子等信号通路来发挥治疗冠心病及稳定型心绞痛的作用。**结论** 瓜蒌皮注射液主要通过抗炎、保护血管内皮、调节氧化应激、干预肾素血管紧张素系统、调节能量代谢等途径发挥对冠心病及稳定型心绞痛的治疗作用。

**关键词:** 瓜蒌皮注射液; 网络药理学; 作用机制; 冠心病; 稳定型心绞痛; 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇; 腺苷; 水苏碱

**中图分类号:** R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2021)11-2238-08

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.11.004

## Mechanism of Gualoupi Injection for the treatment of coronary heart disease and stable angina pectoris based on network pharmacology

LIU Ai-na<sup>1</sup>, LI Ji-bin<sup>1</sup>, XU Jia-xin<sup>2</sup>, ZHAO Zhen-yu<sup>1</sup>

1. Tianjin Key Laboratory of Metabolic Diseases, NHC Key Laboratory of Hormones and Development, Tianjin Institute of Endocrinology, Pharmacy Department of Chu Hsien-I Memorial Hospital, Tianjin 300134, China
2. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** Explored the network regulation mechanism of Gualoupi Injection for the treatment of coronary heart disease and stable angina pectoris using network pharmacology. **Methods** Based on the selection principle of main components and main structural types, 19 compounds of Gualoupi Injection were determined as the research object. The potential targets of compounds were predicted through Swiss Target Prediction and TCMSP databases. The disease targets of coronary heart disease and stable angina pectoris were collected through GeneCards, DisGeNET, and OMIM databases. The drug targets and disease targets were intersected, and the "component-target" network was constructed by Cytoscape software. The protein-protein interaction network was constructed using string database, and the gene ontology (GO) function enrichment analysis and signal pathway analysis were carried out with the help of Omicsbean software and KEGG database. The activity of key components was verified by the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced H9c2 cells injury model. **Results** 110 Disease targets of 19 compounds were screened, and 14 key targets including APDH, TNF, EGFR, MMP9, PTGS2, ACHE, REN, PPARG, F2, HSP90AA1, MMP2, IL-2, HMOX1, and FGF2 were obtained by analyzing the network topology parameters, which play a role in the treatment of coronary heart disease and stable angina pectoris by participating in the regulation of PI3K-Akt signaling pathway, platelet activation, renin-angiotensin system, apoptosis, TNF signaling pathway, and arachidonic acid

收稿日期: 2021-07-22

基金项目: 天津市科技计划项目 (20KPHDR00020)

作者简介: 刘爱娜 (1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向为复方药物与系统生物学。E-mail: 1462142269@qq.com

\*通信作者: 赵振宇 (1970—), 男, 主任药师, 药学博士, 硕士研究生导师, 研究方向为医疗机构药事管理、临床药学及制剂开发研究。

E-mail: zhaozhenyu0858@163.com

metabolism, calcium signaling pathway and other signaling pathways. **Conclusion** Gualoupi Injection plays a therapeutic role on coronary heart disease and stable angina pectoris mainly through anti-inflammatory, protecting vascular endothelium, regulating oxidative stress, intervening renin angiotensin system and regulating energy metabolism.

**Key words:** Gualoupi Injection; network pharmacology; mechanism; coronary heart disease; stable angina pectoris; 3, 29-dibenzoyl trichosanitol; adenosine; stachydrine

冠心病心绞痛是一种由于冠状动脉粥样硬化引起的冠状动脉供血不足, 心肌短暂缺血、缺氧引起的临床综合征。稳定型心绞痛属于祖国传统医学中“胸痹”“心痛”范畴, 而痰瘀互结证则是其中重要的中医病机, 在古典医籍中即提出“豁痰化瘀”的治疗方法<sup>[1]</sup>。瓜蒌皮为葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 及双边栝楼 *T. rosthornii* Harm 的干燥成熟果皮, 具有清热化痰、利气宽胸的功效, 为豁痰之要药。瓜蒌皮注射液提取于瓜蒌皮, 具有行气除满、开胸除痹之功, 用于痰浊阻络之冠心病、稳定型心绞痛的治疗<sup>[2]</sup>。现代药理学研究表明, 瓜蒌皮注射液有扩张冠状动脉、改善血液流变学、增加冠状动脉血流量等作用<sup>[3]</sup>。临床上瓜蒌皮注射液不仅用于冠心病心绞痛的治疗, 在脑梗死、肺源性心脏病、心肌梗死等疾病都有应用。目前对瓜蒌皮注射液的研究报道多为其临床应用及化学组成分析和含量测定等, 而针对其作用机制的研究报道较少, 尤其对于其网络药理学研究尚未见报道。因此, 本研究在对瓜蒌皮注射液化学物质组研究报道的基础上, 利用网络药理学的方法, 构建其“成分-靶点-通路”网络关系图, 剖析瓜蒌皮注射液治疗冠心病及稳定型心绞痛的潜在作用机制。

## 1 材料

中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmspsearch.php>); Swiss Target Prediction 服务器 (<http://new.swisstargetprediction.ch/>); UNIPROT 数据库 (<http://www.uniprot.org/>); GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>); DisGeNET 数据库 (<https://www.disgenet.org/>); OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>); 京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路数据库 (<http://www.genome.jp/kegg/>); STRING 10 数据库 (<http://string-db.org/>); Omicsbean 在线分析软件 (<http://www.omicsbean.cn/>); ChemBio Office 2010; Cytoscape 3.8.2 软件。

H9c2 心肌细胞系购于上海生命科学研究院。30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 购于国药集团化学试剂有限公司,

DMEM、胎牛血清购于 GIBCO, MTS 购于 Promega, 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇 (货号 110704-201314)、腺苷 (货号 110879-201202)、水苏碱 (货号 110712-201614)、槲皮苷 (货号 151016) 均购自中国食品药品检定研究院。酶标仪 (PerkinElmer, Envision), 倒置显微镜 (Olympus, CKX41SF)、细胞培养箱 (Thermo, 3111)。

## 2 方法

### 2.1 目标化合物的选取

已有文献报道, 王俊辉等<sup>[4-5]</sup>利用 UPLC/ESI-QTOF-MS 分析方法鉴定出瓜蒌皮注射液中 19 个化学成分, 同时对腺苷和唾液酸的含量进行了定量分析; 张静娴等<sup>[6]</sup>采用 HILIC/ESI-Orbitrap HRMS 法结合 Compound Discoverer 软件共鉴定了 48 个化学成分, 包括生物碱、氨基酸、核苷及其碱基等, 基本阐明了瓜蒌皮注射液化学物质基础; 张晶晶等<sup>[7]</sup>采用一测多评法同时测定瓜蒌皮注射液中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇、3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇、香草酸、腺苷、槲皮苷、木犀草苷 6 种有效成分的含量。基于此, 本实验以方中主要成分兼顾主要结构类型为选取原则, 筛选确定目标化合物。

### 2.2 靶点预测及“化合物-靶点”网络构建

在 TCMSP 数据库搜索栏输入 19 个化合物 CAS 号或英文名进行检索, 获取化合物的相关靶点信息。登录 Swiss Target Prediction 服务器, 在线绘制 19 个化合物的化学结构, 采用反向药效团匹配方法得到虚拟匹配筛选结果。整合 TCMSP 和 Swiss Target Prediction 靶点结果, 得到化合物潜在作用靶点库。在 GeneCards、OMIM 和 DisGeNET 数据库中输入关键词“coronary heart disease”和“stable angina pectoris”进行检索, 汇总整理得到冠心病和稳定型心绞痛疾病靶点库。由于检索到的靶点存在命名不规范等问题, 使用 UniProt 数据库中 UniProtKB 搜索功能, 通过输入蛋白名称并限定物种为“human”, 将靶点蛋白校正为官方基因名称。通过将化合物靶点库与疾病靶点库相映射, 得到交集靶点即为瓜蒌皮注射液活性成分治疗冠心病和稳定型心绞痛的潜在作用靶点。最后, 在 Excel 表

格中建立 19 个化合物与预测靶点的对应关系，导入 Cytoscape 3.8.2 软件建立“化合物-靶点”网络。

### 2.3 蛋白质相互作用网络 (PPI) 的构建和关键核心靶点的筛选

将得到的交集靶点蛋白上传到 STRING 数据库，选择物种为“Homo sapiens”，获得蛋白间相互作用信息，导出 TSV 格式数据文件，再将其导入 Cytoscape 3.8.2 软件进行可视化处理，并利用软件中 Network Analyzer 计算网络拓扑参数，通过度值 (degree)、中间中心性 (betweenness centrality, BC)、接近中心性 (closeness centrality, CC) 来评价靶点中心性，确定关键核心靶点。

### 2.4 GO 分类富集分析与通路分析

将交集靶点导入 Omicsbean 软件，ID type 设置为 Gene Symbol，物种设置为“Homo sapiens”，对靶点蛋白进行细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF)、生物过程 (biological process, BP) 及 KEGG 信号通路分析。

### 2.5 “核心靶点-通路”网络构建

根据上述核心靶点及信号通路分析结果，在 Excel 表格中建立核心靶点-通路的相互对应关系，然后导入 Cytoscape 3.8.2 软件中构建“核心靶点-通路”网络。

### 2.6 化合物对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的影响

H9c2 心肌细胞培养于含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基中，置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中。取生长状态良好的 H9c2 细胞 5 × 10<sup>4</sup> 个/mL 密度接种于 96 孔板内，每孔 100 μL，常规培养 24 h 后弃上清，实验分为空白组 (无细胞)、对照组、模型组和 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇、腺苷、水苏碱、槲皮苷低、中、高剂量组 (2、10、50 μmol/L)，每组 4 个复孔，给药组将不同浓度化合物预处理 H9c2 细胞 2 h 后再加入 200 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 共孵育 24 h，模型组以 200 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理 24 h，空白组和对照组加入等体积培养液。实验结束后，每孔加入 10 μL MTS 工作液，37 °C 培养箱孵育 4 h，检测 490 nm 各孔吸光度 (A) 值，按照公式：细胞存活率 = (实验组 A - 空白组 A) / (对照组 A - 空白组 A)，计算细胞存活率。

### 2.7 统计学处理

GraphPad Prism 5 软件进行数据统计，计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示，多组间比较采用单因素方差分析

(oneway analysis of variance, one-way ANOVA)。

## 3 结果

### 3.1 主要活性化合物的筛选

根据文献检索结果及选取原则，筛选确定了包括萜类及其苷类、核苷类、氨基酸、生物碱、黄酮、有机酸、多肽类、唾液酸等在内的 19 个化合物为主要活性化合物，见表 1。

表 1 瓜蒌皮注射液 19 个化合物信息

Table 1 Information of 19 compounds in Gualoupi Injection

结构类型	编号	化合物
萜类及其苷类	GLPI1	3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇
	GLPI2	3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇
核苷类	GLPI3	腺苷
	GLPI4	腺嘌呤
	GLPI5	黄嘌呤
氨基酸	GLPI6	精氨酸
	GLPI7	色氨酸
	GLPI8	苯丙氨酸
生物碱	GLPI9	葫芦巴碱
	GLPI10	水苏碱
	GLPI11	甜菜碱
	GLPI12	乙酰甲胆碱
黄酮及其苷类	GLPI13	槲皮苷
	GLPI14	木犀草苷
	GLPI15	木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷
	GLPI16	香叶木素-7-O-β-葡萄糖苷
有机酸	GLPI17	香草酸
多肽类	GLPI18	S-乙酰谷胱甘肽
唾液酸	GLPI19	N-乙酰神经氨酸

### 3.2 靶点的预测与筛选

通过 TCMSP 和 Swiss Target Prediction 数据库筛选得到 19 个化合物共 198 个靶点，检索 DisGeNET、GeneCards、OMIM 数据库，得到与冠心病和稳定型心绞痛有关疾病靶基因分别为 8 501、3 353 个。Venn 软件作图取交集，得到 110 个瓜蒌皮注射液治疗冠心病和稳定型心绞痛的潜在靶点。通过 Cytoscape 3.8.2 软件，构建“化合物-靶点”网络图 (图 1)，该网络共有 217 个节点，334 条边，图中中心菱形表示 19 个化合物，右侧圆形表示 110 个共有靶点，下部圆形表示瓜蒌皮注射液与冠心病单独共有的 33 个靶点，上部圆形表示瓜蒌皮注射液与稳定型心绞痛单独共有的 12 个靶点，左侧圆形表示瓜蒌皮注射液 43 个单独靶点。

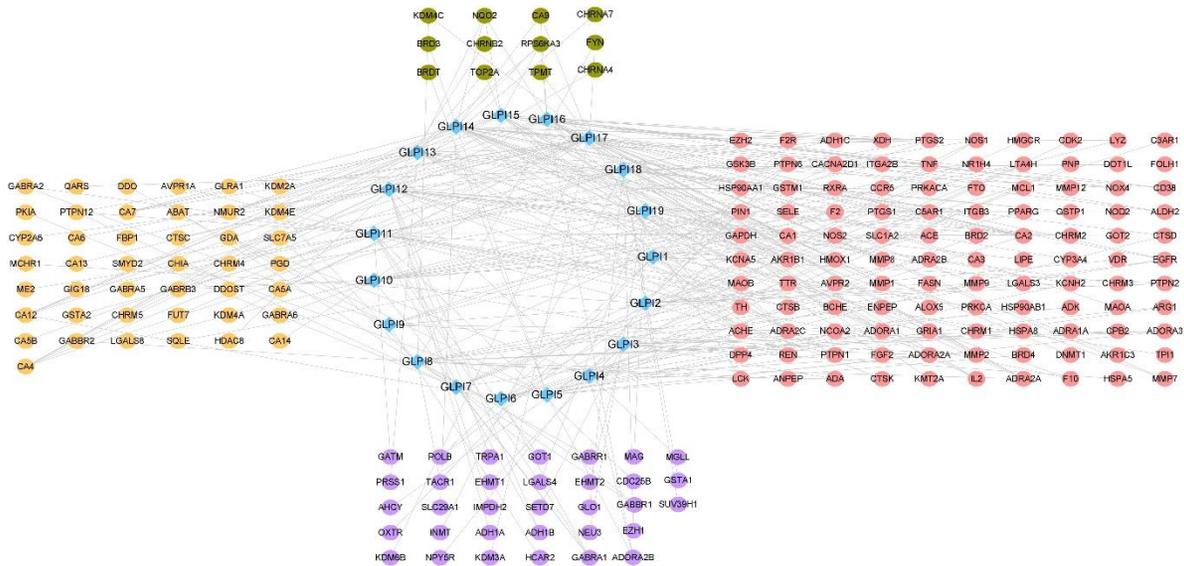


图 1 “化合物 - 靶点”网络图

Fig. 1 Network of “compound-target”

### 3.3 核心靶点的确定

瓜蒌皮注射液 110 个靶点蛋白 PPI 图 (图 2) 共涉及 109 个节点 (除去 1 个无关联的靶点) 和 730 条边, 通过网络拓扑分析, 选择  $degree > 22$  (2 倍中位数),  $BC > 0.0047$  (中位数) 且  $CC > 0.4716$  (中位数) 的 14 个靶点蛋白为核心靶点 (表 2), 包括 GAPDH、TNF、EGFR、MMP9、PTGS2、ACHE、REN、PPARG、F2、HSP90AA1、MMP2、IL-2、HMOX1、FGF2, 构建其 PPI 网络图 (图 2), 其中节点越大度值越大, 颜色深浅与度值呈正相关。

### 3.4 生物信息学分析

利用 OmicsBean 分析软件对瓜蒌皮注射液治疗冠心病和稳定型心绞痛的潜在作用靶点进行功能

注释分析 (GO 分析), 包含生物过程、分子功能和细胞组分 3 个方面, 将  $P < 0.01$  作为筛选条件, 获得 BP 3 054 条、MF 373 条和 CC 253 条, 选取前 10 条目绘制柱状图 (图 3)。结果发现, 这些蛋白在 BP 方面主要涉及应激反应、细胞增殖、细胞对化学刺激的反应等过程; 在 MF 方面主要参与蛋白结合、酶结合、蛋白质催化等过程; CC 方面主要涉及囊泡、细胞外间隙、细胞器等。对潜在靶点蛋白进行 KEGG 通路富集分析, 共获得  $P < 0.05$  的 79 条信号通路主要涉及流体剪应力与动脉粥样硬化 (fluid shear stress and atherosclerosis)、肾素血管紧张素系统 (renin-angiotensin system)、PI3K/AKT 信号通路 (PI3K-Akt signaling pathway) 以及钙离子信号通路

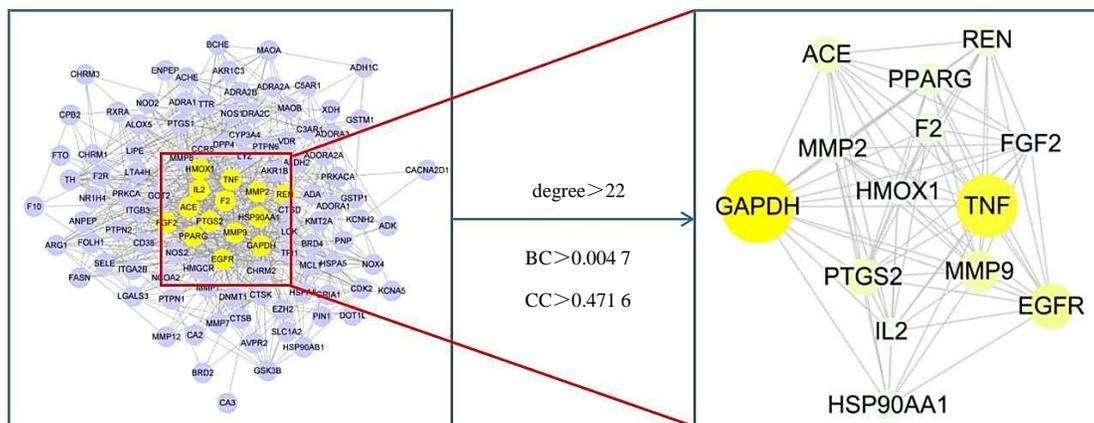


图 2 靶点蛋白 PPI

Fig. 2 PPI network of target proteins

表 2 核心靶点蛋白信息  
Table 2 Information of 14 key target proteins

靶点名称	基因名	degree	BC	CC
glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase liver	GAPDH	64	0.207 6	0.705 9
TNF-alpha	TNF	55	0.119 1	0.658 5
epidermal growth factor receptor erbB1	EGFR	41	0.069 1	0.610 2
matrix metalloproteinase 9	MMP9	37	0.032 4	0.580 6
prostaglandin G/H synthase 2	PTGS2	34	0.032 8	0.580 6
angiotensin-converting enzyme	ACE	33	0.034 6	0.568 4
renin	REN	30	0.033 1	0.565 4
peroxisome proliferator-activated receptor gamma	PPARG	30	0.031 0	0.548 2
thrombin	F2	29	0.064 2	0.553 8
heat shock protein HSP 90-alpha	HSP90AA1	28	0.035 2	0.551 0
matrix metalloproteinase 2	MMP2	27	0.013 1	0.556 7
interleukin-2	IL-2	26	0.017 4	0.553 8
heme oxygenase 1 (by homology)	HMOX1	24	0.016 2	0.545 5
fibroblast growth factor	FGF2	23	0.008 4	0.542 7

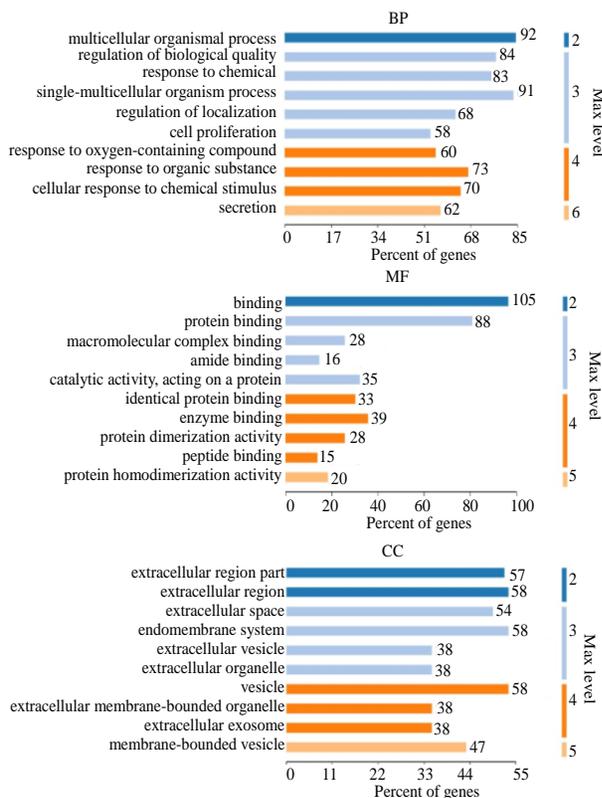


图 3 GO 富集分析  
Fig. 3 GO enrichment analysis

(calcium signaling pathway) 等。根据  $P$  值从小到大选取前 20 条通路绘制气泡图 (图 4)。其中  $Y$  轴代表通路名称,  $X$  轴 rich factor 表示相关基因中位于该通路的基因数目与所有注释基因中位于该通路的基因总数的比值, 该值越大代表富集程度越高, 气泡面积代表通路富集基因数, 气泡颜色代表  $P$  值的大小。

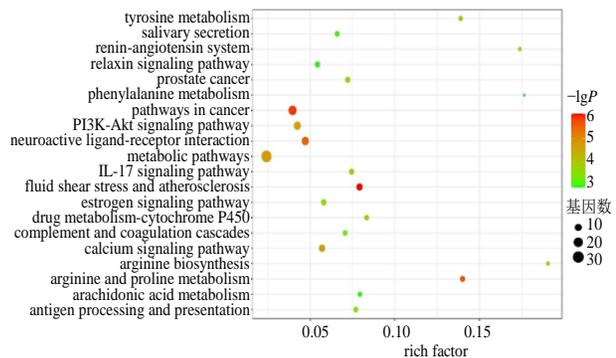


图 4 KEGG 通路富集分析  
Fig. 4 KEGG enrichment analysis

### 3.5 “核心靶点 - 通路”网络构建与分析

根据上述 KEGG 通路富集分析结果, 筛选 14 个核心靶点关联的信号通路并建立对应关系, 利用 Cytoscape 3.8.2 软件构建“核心靶点 - 通路”网络关系图 (图 5)。通过拓扑属性分析发现, 该网络有 51 个节点, 76 条边, 图中黄色圆形表示核心靶点, 紫色 V 形表示信号通路。分析发现, 14 个核心靶点可参与调节 37 条相关信号通路, 包括 PI3K-Akt、流体剪应力与动脉粥样硬化、白细胞介素-17 (IL-17 signaling pathway)、肥厚型心肌病 (hypertrophic cardiomyopathy)、肿瘤坏死因子 (TNF signaling pathway)、HIF-1 (HIF-1 signaling pathway)、血小板活化 (platelet activation)、肾素血管紧张素系统、细胞凋亡 (apoptosis) 等信号通路。推测瓜蒌皮注射液可能通过多成分作用于多个核心靶点干预多条关键信号通路, 发挥治疗冠心病和稳定型心绞痛的作用。

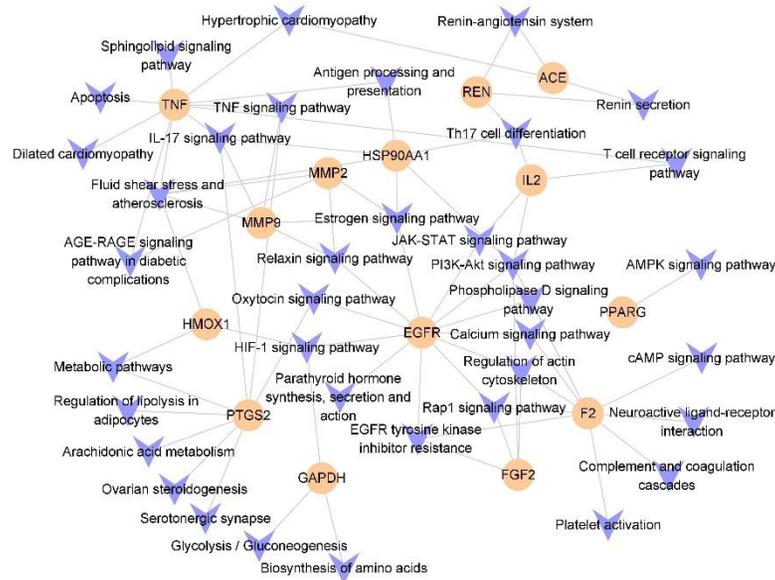


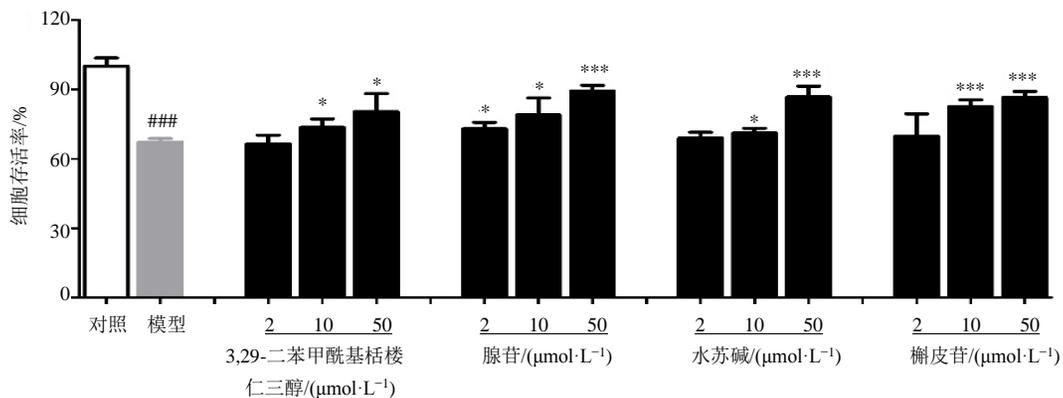
图 5 “核心靶点-通路”网络图

Fig. 5 Network of the “key target-pathway”

### 3.6 化合物对 $H_2O_2$ 诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的保护作用

通过建立  $H_2O_2$  诱导的 H9c2 心肌细胞损伤模型,考察了瓜蒌皮注射液中代表性成分 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇、腺苷、水苏碱、槲皮苷的心肌细胞保护作用,结果见图 6,经  $H_2O_2$  处理后,模型组

细胞存活率为 67.24%,与空白组比较显著降低 ( $P < 0.001$ )。与模型组相比,腺苷在低、中、高浓度 (2、10、50  $\mu\text{mol/L}$ ) 均能显著提升 H9c2 心肌细胞存活率 ( $P < 0.05$ 、0.001),3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇、水苏碱、槲皮苷在中、高浓度对 H9c2 心肌细胞活力亦有显著提高作用 ( $P < 0.05$ 、0.001)。



与对照组比较: ### $P < 0.001$ ; 与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\*\* $P < 0.001$

### $P < 0.001$  vs control group; \* $P < 0.05$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group

图 6 化合物对细胞存活率的影响

Fig. 6 Effect of compounds on cell survival

## 4 讨论

由于中药复方具有多成分、多靶点及协同作用的特点,传统药理学研究手段存在一定的局限性<sup>[8]</sup>。网络药理学是运用网络可视化等技术揭示药物、基因、疾病、靶点之间复杂的生物网络关系的学科,能从分子、基因水平上分析药物作用于不同靶点、

细胞和器官的行为,系统地预测和揭示药物的作用及机制<sup>[9]</sup>。本实验通过网络药理学手段,对瓜蒌皮注射液治疗冠心病和稳定型心绞痛的作用机制进行研究,分析发现,瓜蒌皮注射液中三萜类、核苷类、生物碱类、黄酮类化合物通过干预与炎症、内皮保护、氧化应激、肾素血管紧张素系统、能量代

谢、凝血系统等相关的蛋白及通路发挥治疗作用。

冠状动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是冠心病心绞痛的病理基础, 研究发现<sup>[10]</sup>, TNF- $\alpha$  与 AS 有着密切联系, TNF- $\alpha$  能够诱导血小板黏附, 增强白细胞的趋化作用, 导致血管细胞异常增殖, 对血管内皮细胞造成直接损伤, 诱导脂质沉淀形成动脉粥样硬化斑块并且导致血管炎症的发生。IL-2 可刺激 T 细胞产生多种淋巴因子, 如集落刺激因子、TNF- $\alpha$ 、IL-4、IL-5、IL-6 及  $\gamma$ -干扰素, 致使组织损伤和宿主防御损伤, 进一步参与急性冠脉综合征的形成<sup>[11]</sup>。网络药理结果发现, 瓜蒌皮注射液中的黄酮类化合物木犀草苷、木犀草素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷等成分可作用于炎症相关靶点 TNF 及 IL-2, 调节 TNF、IL-17 信号通路、流体剪应力与动脉粥样硬化、肥厚型心肌病及凋亡等通路过程发挥治疗作用。文献报道<sup>[12-13]</sup>, 木犀草苷对阿霉素及 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 所致的大鼠心肌细胞损伤有明显的保护作用, 且具有增强毛细血管舒张, 降低胆固醇的作用; 木犀草素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷通过清除氧自由基、稳定细胞膜、抑制细胞凋亡对缺血缺氧心肌细胞发挥保护作用。

基质金属蛋白酶 (MMPs) 几乎可降解细胞外所有基质成分, 参与结缔组织的降解和重建、炎症反应和缺血缺氧损伤等。其中, 基质金属蛋白酶-2 (MMP2) 和基质金属蛋白酶-9 (MMP9) 在 AS 斑块形成和破裂中发挥重要作用<sup>[14]</sup>, 主要表现在 (1) 促进平滑肌迁移到内膜下形成粥样斑块从而加速粥样硬化斑块形成<sup>[15]</sup>; (2) 降解细胞胶原和细胞外基质导致斑块的不稳定和破裂, 引发凝血过程形成血栓<sup>[16]</sup>; (3) 参与钙质沉着, 脂质堆积, 内皮细胞和平滑肌细胞的生物学行为改变<sup>[17]</sup>。网络药理学结果表明, 生物碱类成分葫芦巴碱、有机酸类成分香草酸通过与 MMP2 和 MMP9 结合抑制该酶活性, 调节流体剪应力、动脉粥样硬化信号通路, 保护血管内皮, 减少斑块形成, 避免斑块的不稳定、破裂。

动脉粥样硬化是一种巨噬细胞/血管平滑肌细胞 (VSMC) 介导的炎症过程, 由内皮细胞 (EC) 功能障碍引发。生理条件下, EC 产生 NO 发挥促存活和抗炎作用, 防止动脉粥样硬化, 而各种心血管应激导致 EC 功能障碍, 导致促炎因子和粘附分子的合成, 单核细胞的迁移和 VSMC 进入内皮下, 最终发展为 AS<sup>[18]</sup>。研究表明<sup>[19]</sup>, 成纤维细胞生长因子 (FGF) 家族成员通过刺激 EC 增殖和迁移维持内皮完整性来促进血管生成。本研究发现瓜蒌皮注

射液中 *N*-乙酰神经氨酸可作用于 FGF 靶点, 腺苷能干预表皮生长因子受体 (EGFR), 进而调节了 PI3K-Akt、Rap1、HIF-1、Ca<sup>2+</sup> 及松弛素信号通路, 发挥血管内皮保护作用。

有实验发现, 乙酰甲胆碱可作用于血红素加氧酶-1 (HMOX1), 干预 HIF-1 信号通路, 发挥抗氧化应激作用。文献报道<sup>[20]</sup>, 在氧化应激时体内的红细胞破坏等来源的血红素对机体有细胞毒作用, HMOX1 可以通过催化血红素的降解发挥细胞保护作用, 它还可以通过增加血红蛋白的合成, 修饰蛋白巯基和金属螯合作用, 以及通过其代谢产物胆红素来发挥细胞保护作用。同时, HMOX1 还可以通过减少内源性的 ROS 的产生, 减少组织的脂质过氧化来发挥抗氧化应激的作用。3-磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 是细胞内糖酵解代谢过程中重要的催化酶, 可以通过分解葡萄糖来产生能量<sup>[21]</sup>。此外, 当氧化应激损坏 GAPDH 的催化功能时, 也会导致细胞的衰老与死亡<sup>[22]</sup>。实验发现, 瓜蒌皮注射液中腺苷可干预 GAPDH 表达, 调节糖酵解/糖异生及 HIF-1 信号通路, 增强心脏供能并减少缺血心肌细胞的坏死。腺苷是经美国 FDA 批准的转复阵发性室上性心动过速的一线药物, 腺苷具有治疗室上心肌过速、动脉粥样硬化、急性心肌梗死、心肌保护和突发性耳聋等作用<sup>[23]</sup>。

肾素-血管紧张素-醛固酮系统在维持正常的心血管及肾系统功能中起着重要的作用, 是维持血浆钠离子浓度、动脉血压和细胞外体积的重要系统<sup>[24]</sup>。血管紧张素转换酶 (ACE) 可促进血管紧张素 I 转化为血管紧张素 II, 而血管紧张素 II 水平的升高可以使外周血容量和血压升高, 同时肾素 (REN) 在体内聚集也能加重心脏的损伤, 一旦肾素和血管紧张素 II 失衡, 将会导致高血压、心肌炎和心肌纤维化等<sup>[25-26]</sup>。在本实验中, ACE 及 REN 均为瓜蒌皮注射液的核心作用靶点, 分析发现生物碱类成分水苏碱、萜类 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇均可通过作用于以上两个靶点, 干预肾素血管紧张素系统及肾素分泌 (renin secretion) 等信号通路。并且已有研究发现<sup>[27-28]</sup>, 瓜蒌皮经水提醇沉后, 分离的物质具有抑制 ACE 活性和抗肾素的作用, 推测其具有保护心血管系统的作用。

另外, 分析网络药理结果发现, 水苏碱、*N*-乙酰神经氨酸可干预凝血酶 (F2) 靶点, 调节血小板活化、补体和凝血级联、cAMP 等信号通路发挥抗

凝血作用。研究表明<sup>[29-30]</sup>,水苏碱有抗凝血和抗血小板聚集作用,*N*-乙酰神经氨酸能降低血液高凝血状态,预防和阻止凝血相关的心血管疾病发生。

综上,本研究通过网络药理学的方法对瓜蒌皮注射液进行了系统分析,发现了其潜在的作用靶点及信号通路,初步阐释其治疗冠心病和稳定型心绞痛的作用机制,但由于网络药理学实验方法的局限性,本研究结果仍需要更进一步的实验数据支持,包括对预测靶点及通路的验证和确认。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 刘莉,牛新萍.瓜蒌皮注射液对稳定型心绞痛痰瘀互结证血管内皮功能的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2014,12(1):3-5.
- [2] 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.
- [3] 郭娇,马丹丹,屈建新.瓜蒌皮注射液治疗冠心病稳定型心绞痛的临床疗效和安全性分析[J].医药论坛杂志,2019,40(6):80-83.
- [4] 王辉俊,柯樱,叶冠.瓜蒌皮注射液中化学成分的上PLC/ESI-QTOF-MS分析[J].上海医药,2017,38(5):60-65.
- [5] 王辉俊,柯樱,叶冠.HPLC-MS/MS法测定瓜蒌皮注射液中腺苷和唾液酸的含量[J].上海医药,2018,39(17):72-75.
- [6] 张静娴,胡青,于泓,等.HILIC/ESI-Orbitrap HRMS法结合Compound Discoverer软件快速智能化鉴定瓜蒌皮注射液中的化学成分[J].药学学报,2018,53(10):1705-1712.
- [7] 张晶晶,揭琼,朱余兵.一测多评法同时测定瓜蒌皮注射液中6种有效成分含量[J].中国药师,2018,21(10):1779-1782.
- [8] 韩彦琪,刘耀晨,武琦,等.基于网络药理学的痰热清胶囊治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)机制研究[J].中草药,2020,51(11):2967-2976.
- [9] 庄燕,戴林峰,鲁俊.基于网络药理学桃核承气汤防治脓毒症心肌功能障碍的作用机制探讨[J].现代药物与临床,2021,36(3):421-427.
- [10] 刘清霞,张宏颖,徐利霞,等.动脉粥样硬化斑块中TNF- $\alpha$ 的表达与斑块稳定性的关系[J].中国循证心血管医学杂志,2019,4(11):441-444.
- [11] 蔡永江,王丹军,卢琳琳,等.hs-CRP、Hcy、IL-2和Lp-PLA2与冠心病的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2018,39(7):831-833.
- [12] 管仁伟,曲永胜,顾正位,等.木犀草素的药理作用研究[J].中国野生植物资源,2014,33(1):1-3.
- [13] 周玲,解砚英,李杰,等.木犀草素-7-O- $\beta$ -D-葡萄

糖苷对缺血缺氧培养大鼠心肌细胞的保护作用[J].中药新药与临床药理,2008,19(4):259-261.

- [14] 张驰,李晓怡,杨蓓,等.联合检测MMP2和MMP9在冠状动脉粥样硬化性心脏病患者中的临床意义[J].东南大学学报:医学版,2019,38(1):51-56.
- [15] Sierra S, Luquin N, Navarro-Otano J. The endocannabinoid system in cardiovascular function: novel insights and clinical implications [J]. *Clin Auton Res*, 2018, 28(1): 35-52.
- [16] Bakhshian Nik A, Hutcheson J D, Aikawa E. Extracellular vesicles as mediators of cardiovascular calcification [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2017, 4: 78.
- [17] Orlandi A. The contribution of resident vascular stem cells to arterial pathology [J]. *Int J Stem Cells*, 2015, 8(1): 9-17.
- [18] Che J, Okigaki M, Takahashi T, et al. Endothelial FGF receptor signaling accelerates atherosclerosis [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 300(1): H154-H161.
- [19] Murakami M, Nguyen L T, Zhuang Z W, et al. The FGF system has a key role in regulating vascular integrity [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(10): 3355-3366.
- [20] 许小志,何平.血红素加氧酶-1与氧化应激[J].中国当代儿科杂志,2009,11(8):706.
- [21] 李文.靶向GAPDH小分子抑制剂的发现与机制研究[D].烟台:烟台大学,2021.
- [22] Gong Y, Zou B, Peng S, et al. Nuclear GAPDH is vital for hypoxia-induced hepatic stellate cell apoptosis and is indicative of aggressive hepatocellular carcinoma behavior [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 4947-4956.
- [23] Sueta D, Kojima S, Izumiya Y, et al. A destabilized case of stable effort angina pectoris induced by low-dose adenosine triphosphate [J]. *Intern Med*, 2016, 55(22): 3291-3294.
- [24] Oliveira Andrade J M, de Farias Lelis D, Mafra V, et al. The angiotensin converting enzyme 2 (ACE2), gut microbiota, and cardiovascular health [J]. *Protein Pept Lett*, 2017, 24(9): 827-832.
- [25] Patel S, Rauf A, Khan H, et al. Renin-angiotensin-aldosterone (RAAS): The ubiquitous system for homeostasis and pathologies [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94: 317-325.
- [26] 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.
- [27] 王辉俊,柯樱,叶冠,等.活性导向分离瓜蒌皮中具有抗肾素作用的成分[J].中草药,2017,48(19):3935-3940.
- [28] 王辉俊,柯樱,叶冠,等.活性导向分离瓜蒌皮中具有抗血管紧张素转化酶作用的成分[J].中国中药杂志,3133-3135.
- [29] 代良萍,董艳红,胡婷婷,等.水苏碱药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(19):189-193.
- [30] Yida Z, Imam M U, Ismail M, et al. *N*-Acetylneuraminic acid attenuates hypercoagulation on high fat diet-induced hyperlipidemic rats [J]. *Food Nutr Res*, 2015, 59: 29046.

[责任编辑 高源]