

基于网络药理学的黄精抗肿瘤成分筛选研究

党艳妮^{1,2}, 黄壮壮², 苏英英², 杜霞⁴, 魏小亮², 刘峰^{1,2,3*}

1. 陕西国际商贸学院, 陕西 西安 710075

2. 陕西步长制药有限公司, 陕西 咸阳 712046

3. 陕西省中药绿色制造技术协同创新中心, 陕西 西安 712046

4. 陕西省中医药研究院, 陕西 西安 710003

摘要:目的 探讨黄精抗肿瘤的药效物质基础及分子作用机制。方法 采用中药网络药理学数据库和分析平台(TCMSP)对黄精的化学成分进行收集,借助计算机辅助预测吸收、分布、代谢和排泄(ADME)性质并结合 obioavail 1.1 和 pre-Caco-2 预测模型对活性成分群进行初筛;对所有潜在活性成分进行靶点识别;采用 Cytoscape3.6.1 软件进行“活性成分-靶标”网络的构建,并利用“network analyzer”插件对网络的拓扑性质进行分析;采用在线分析工具 DAVID 进行 KEGG 通路富集分析。结果 黄精中已鉴定的 39 个化合物,其中 18 个具有良好的 ADME 性质的化合物,这些潜在的活性成分中,共有 14 个活性成分及其对应的 19 靶标与黄精抗肿瘤的活性密切相关。通过构建“活性成分-靶点”网络及对网络进行分析,共获得 4 个关键化合物:黄芩素、3'-甲氧基大豆苷元、异甘草素、(2R)-7-羟基-2-(4-羟苯基)-4-苯丙二氢呋喃;2 个关键靶标:前列腺素 G/H 合酶 2、热休克蛋白 90AA1。在对靶点进行 KEGG 通路分析时,共获得 12 条与抗肿瘤相关的通路。结论 黄精可通过多成分、多靶点及多通路的作用机制发挥其抗肿瘤活性。

关键词: 网络药理学;黄精;抗肿瘤;黄芩素、3'-甲氧基大豆苷元、异甘草素、(2R)-7-羟基-2-(4-羟苯基)-4-苯丙二氢呋喃;前列腺素 G/H 合酶 2;热休克蛋白 90AA1

中图分类号:R965 文献标志码:A 文章编号:1674-6376(2020)03-0468-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.03.017

Screening of anti-tumor active components in *Polygonatum sibiricum* based on network pharmacology

DANG Yanni^{1,2}, HUANG Zhuangzhuang², SU Yingying², DU Xia⁴, WEI Xiaoliang², LIU feng^{1,2,3}

1. Shaanxi institute of international Trade & Commerce, Xi'an 710075, China

2. Shaanxi Buchang Pharmaceutical Limited Company, Xianyang 712046, China

3. Collaborative Innovation Center of Green Manufacturing Technology for Traditional Chinese Medicine in Shaanxi provincial, Xi'an 712046, China

4. Shaanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710075, China

Abstract: Objective To investigate the pharmacodynamic substance basis and molecular mechanism of *Polygonatum sibiricum* against tumor diseases. **Methods** The chemical components of *Rhizoma Polygonatum* were collected by TCMSP platform, and the properties of ADME were predicted with the aid of computer, and obioavail 1.1 1.1 and pre-caco-2 prediction models are used to screen the active ingredient group. Identify the target of all potential active ingredients, build the "active ingredient target" network by using the software of Cytoscape 3.6.1, analyze the topological properties of the network by using the plug-in of "network analyzer", and analyze the enrichment of KEGG pathway by using the online analysis tool David. **Results** 39 compounds identified in *Polygonatum sibiricum*, 18 of them have good ADME properties. Among these potential active ingredients, a total of 14 active ingredients and their corresponding 19 targets are closely related to the anti-tumor disease activity of *Polygonatum sibiricum*. Four key compounds, including baicalein, 3'-methoxydaidzein, isoliquiritigenin, (2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-

收稿日期: 2019-07-29

基金项目: 陕西省重点研发计划项目(2018SF-327)

第一作者: 党艳妮(1988—),女,主管药师,研究方向为中药药效物质基础研究。E-mail: dangyannidyn@163.com

*通信作者: 刘峰(1968—),男,博士,主任药师,研究方向为中药大品种技术改造及二次开发研究。E-mail: Liufeng1720@163.com

phenylpropyldihydrofuran; and two key targets including prostaglandin G/H synthase 2 and Heat shock protein HSP 90 were obtained by constructing and analyzing the "active component-target" network. In addition, a total of 12 pathways related to anti-tumor disease were obtained when the KEGG pathway analysis was performed on the target. **Conclusion** *Polygonatum sibiricum* can exert its anti-tumor disease activity through the action mechanism of multiple components, multiple targets and multiple pathways.

Key words: network pharmacology; *Polygonatum sibiricum*; anti-tumor; baicalein, 3'-methoxydaidzein, isoliquiritigenin, (2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-phenylpropyldihydrofuran; Prostaglandin G/H synthase 2; Heat shock protein HSP 90

黄精,又名老虎姜,来源于百合科植物滇黄精、黄精或多花黄精的干燥根茎。黄精药材主产于陕西、四川、贵州、湖南、云南、湖北等省区。黄精药食兼用,始载于《名医别录》,黄精根茎具有补脾润肺、养阴生津等作用^[1-2],黄精因其含有多糖、皂苷、黄酮、木脂素、氨基酸、维生素、生物碱以及多种微量元素等成分,具有较高的药用价值和营养价值^[3]。

肿瘤是现代社会威胁人类健康的重要杀手,近年来,随着肿瘤新理论的不断升级,以及肿瘤耐药等临床用药问题的不断涌现,创新的抗癌药物研发始终是肿瘤研究的重点和热点^[4]。抗肿瘤药物的筛选也是近年来研究的热点,有较多研究表明黄精多糖可通过抑制肿瘤细胞的增殖,诱导肿瘤细胞凋亡发挥抗肿瘤的功效^[5-6]。

网络药理学融合了系统生物学、多向药理学和网络分析等多学科技术,通过构建“疾病-靶点-成分”等相互作用网络,进而系统整体地揭示药物与机体的相互作用规律及机制。本研究采用网络药理学研究黄精抗肿瘤的活性成分,以期为该药的进一步的深入研究提供理论基础。

1 方法

1.1 黄精化学成分数据库的建立

采用中药网络药理学数据库和分析平台(TCMSP)对黄精的化学成分进行收集,共收集了39个化合物,以此建立黄精化学成分数据库。

1.2 潜在活性成分筛选

借助计算机辅助预测吸收、分布、代谢和排泄(ADME)性质对黄精花活性成分群进行初筛,采用王永华等建立的 obioavail 1.1 和 pre-Caco-2 预测模型对所有化学成分的口服生物利用度(Oral bioavailability, OB)和 Caco-2 进行计算并初步筛选潜在活性成分群,阈值采用文献报道的 OB≥30% 和 Caco-2≥-0.40。

1.3 靶点识别及疾病关联

采用基于随机森林和支持向量算法发展建立的靶点预测模型对所有潜在活性成分靶点进行

识别,由 UniProt 数据库获取所有靶点对应的基因信息,然后通过查找 TTD 生物信息数据库将靶点映射到肿瘤及其相关疾病上,从而得到黄精抗肿瘤的活性成分及对应的靶标。

1.4 网络的构建及分析

基于获得的活性成分及靶点信息,采用 Cytoscape 3.6.1 软件进行“活性成分-靶点”网络的构建,并利用“network analyzer”插件对网络的拓扑性质进行分析,如:度、介数中心度等。

1.5 KEGG 通路富集分析

采用在线分析工具 DAVID 进行 KEGG 通路富集分析,确定黄精抗肿瘤的分子作用机制。

2 结果

2.1 ADME 筛选潜在活性成分

如表 1 所示,采用 obioavail 1.1 和 pre-Caco-2 预测模型对建立数据库的 39 个化合物的 OB 和 Caco-2 进行了计算,18 个化合物由于具有较好的 ADME 性质被作为潜在活性成分保留用于后续的研究。

2.2 靶点识别与疾病关联

采用上述靶点预测模型对 18 个潜在活性成分进行靶点识别,所有靶点去重后共获得 103 个靶点,将所有靶点映射到 TTD 数据库中,以“cancer”为检索目标,对潜在活性成分和靶点进行再次筛选,最终获得 14 个活性成分及其对应的 19 靶标,14 个活性成分为:β-谷甾醇、谷甾醇、(Z)-1-(2,4-二羟苯基)-3-(4-羟基苯基)丙-2-烯-1-酮、薯蓣皂苷元、羟甲基糠醛、异甘草素、1,1'-0 二(α-环戊二烯叉乙基)二茂铁、水杨酸、黄芩素、3'-甲氧基大豆苷元、(2R)-7-羟基-2-(4-羟苯基)-4-苯丙二氢呋喃、4',5-二羟基黄酮、2-吡啶羧酸、(Z)-壬二酸-6-烯酸。靶标结果见表 2。黄精中存在一个化合物与多个靶点之间的作用,也存在不同化合物共同作用于一个靶标的现象,体现了中药多成分多靶点的作用机制。

2.3 网络的构建与分析

黄精“化合物-靶点”网络共包含 33 个节点,黄色表示化合物,蓝色表示靶点,边一共有 45 条,分别表示了化合物和靶点之间的联系(见图 1)。利用

表1 具有较好 ADME 性质潜在活性成分

Table 1 Potential active ingredients with good ADME properties

分子 ID	化合物中文名称	OB/%	Caco-2 值
MOL000358	β -谷甾醇	36.91	1.32
MOL000359	谷甾醇	36.91	1.32
MOL000436	(Z)-1-(2,4-二羟苯基)-3-(4-羟基苯基)丙-2-烯-1-酮	87.51	0.20
MOL000546	薯蓣皂苷元	80.88	0.82
MOL000748	羟甲基糠醛	45.07	0.05
MOL001789	异甘草素	85.32	0.44
MOL001792	1,1'-O 二(α -环戊二烯叉乙基)二茂铁	32.76	0.51
MOL001801	水杨酸	32.13	0.63
MOL002714	黄芩素	33.52	0.63
MOL002959	3'-甲氧基大豆苷元	48.57	0.56
MOL003889	甲基原薯蓣皂苷	35.12	0.20
MOL004941	(2R)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)-4-苯丙二氢呋喃	71.12	0.41
MOL006331	4',5-二羟基黄酮	48.55	0.76
MOL009753	4-甲基糠醛	70.89	0.11
MOL009755	2-吡啶羧酸	72.86	0.72
MOL009760	西伯利亚糖苷 A	35.26	0.16
MOL009765	(Z)-壬二酸-6-烯酸	31.88	1.09
MOL009766	Zhonghualiaoine 1	34.72	0.31

表2 黄精与抗肿瘤疾病相关的 19 个潜在靶点

Table 2 19 potential targets related to antitumor diseases

序号	靶点名称	UniProt ID	基因名称
TAR00046	雌激素受体	P03372	ESR1
TAR00048	雄激素受体	P10275	AR
TAR00078	过氧化氢酶体增殖物激活受体 γ	P37231	PPARG
TAR00086	凋亡调控因子 Bcl-2	P10415	BCL2
TAR00088	花生四烯酸 5 脂氧合酶	P09917	ALOX5
TAR00094	前列腺素 G/H 合酶 2	P35354	PTGS2
TAR00117	碳酸酐酶 II	P00918	CA2
TAR00158	维甲酸 X 受体 α	P19793	RXRA
TAR00209	孕酮受体	P06401	PGR
TAR00307	雌激素受体 β	Q92731	ESR2
TAR00374	脂肪酸合酶	P49327	FASN
TAR00414	转录因子 AP-1	P05412	JUN
TAR00428	髓过氧化物酶	P05164	MPO
TAR00431	细胞分裂控制蛋白 1 同源物	P06493	CDK1
TAR00444	热休克蛋白 90AA1	P07900	HSP90AA1
TAR00482	细胞分裂蛋白激酶 II	P24941	CDK2
TAR00491	磷脂酰肌醇 4,5 二磷酸 3 激酶催化亚单位 γ 亚型	P48376	PIK3CG
TAR00597	Cu-Zn-超氧化物	P00441	SOD1
TAR00646	细胞肿瘤抗原 P53	P04637	TP53

Cytoscape 3.6.1 得到网络分析数据,以度和介数中心度为依据对化合物和靶标分别进行筛选,得到 2

项数值均在平均值以上的关键化合物 4 个和关键靶点 2 个,见表 3、4。

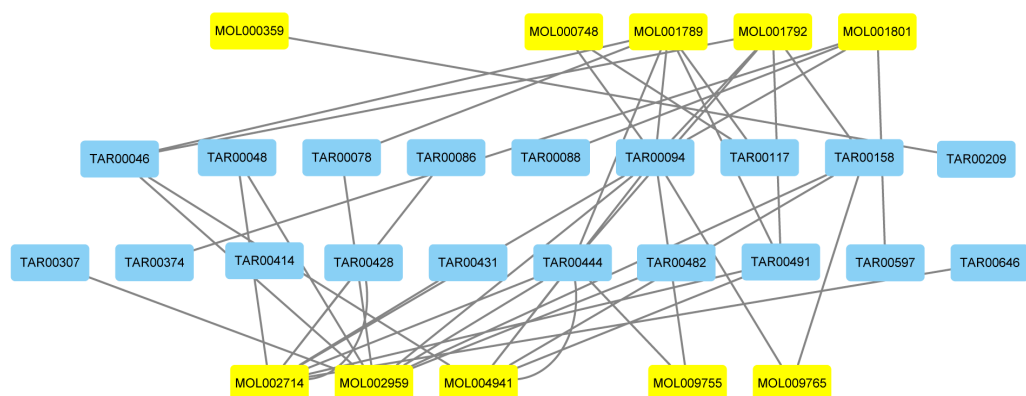


图1 黄精抗肿瘤的“药效成分--靶点”网络关系图

Fig. 1 Network diagram of "effective components-- target" of *Polygonatum sibiricum* in anti-tumor

表3 黄精抗肿瘤的关键活性成分的ADME性质及网络分析结果

Table 3 ADME properties and network analysis of the key antitumor active components of *Polygonatum sibiricum*

序号	分子标号	化合物	OB/%	Caco-2	度	介数中心度
1	MOL002714	黄芩素	33.52	0.63	9	0.500 8
2	MOL002959	3'-甲氧基大豆苷元	48.57	0.56	8	0.252 2
3	MOL001789	异甘草素	85.32	0.44	6	0.115 6
4	MOL004941	(2R)-7-羟基-2-(4-羟苯基)-4-苯丙二氢呋喃	71.12	0.41	6	0.043 8

表4 关键靶点信息及网络分析结果

Table 4 Key target information related to anti-tumor and network analysis results

序号	靶点名称	UniProt ID	基因名称	度	介数中心度
1	前列腺素G/H合成酶2	P35354	PTGS2	9	0.500 8
2	热休克蛋白90AA1	P07900	HSP90AA1	7	0.103 6

2.4 KEGG通路富集分析

19个靶点共富集在12条抗肿瘤疾病相关的通路上。图2为黄精抗肿瘤的KEGG通路分析结果,从图中可以看出,黄精抗肿瘤疾病的通路主要有Pathways in cancer、Small cell lung cancers、Prostate cancer等。黄精中的有效成分通过作用于这些信号通路来达到抗肿瘤的目的。

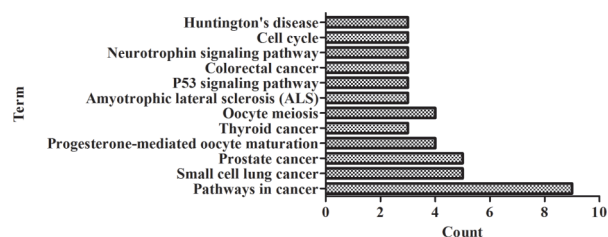


图2 黄精抗肿瘤的KEGG信号通路图

Fig. 2 KEGG anti-tumor signal pathway of *Polygonatum sibiricum*

3 讨论

在4个关键化合物中,度值较高的化合物有汉黄芩素和3'-甲氧基大豆苷元,二者度值远高于其它化合物,汉黄芩素是一种天然的黄酮类化合物,是传统中草药黄芩的主要药效成分之一,杨莉等^[7]对汉黄芩素的抗肿瘤作用进行了综述,发现汉黄芩素能增强肿瘤细胞对凋亡诱导作用的敏感性、特异性诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤血管生成、逆转肿瘤细胞抗药性以及协同抗癌剂促进肿瘤细胞死亡。位于所有靶点度值排名的前2个靶点为前列腺素G/H合成酶2 (PTGS2) 和热休克蛋白90AA1 (HSP90AA1),分别与9和7个化合物关联。Uwe Langsenlehner等^[8]研究表明,PTGS2靶点和乳腺癌的高风险率紧密相关,Kosuke Mima等^[9]研究表明,PTGS2受体高表达和结肠癌的发生率也有一定程度的关系。上述关键化合物和关键靶点从文

献的角度验证了黄精抗肿瘤的成份及作用机理。

Pathways in cancer信号通路与黄精抗肿瘤相关的靶点数量最多,有9个,如AR、CDK2、GSK3B、MMP1、PIK3CG、PTGS2和TP53等。其中糖原合成酶激酶-3(GSK-3B)是一种在进化上非常保守的丝氨酸/苏氨酸激酶,在癌症神经退行性疾病等重大疾病的研究中,选择其作为治疗靶点,受到越来越多研究者的重视^[10]。基质金属蛋白酶(MMP)是一类依赖金属锌离子的蛋白水解酶,是一类与肿瘤发生、侵袭和转移密切相关的蛋白水解酶,与许多恶性肿瘤的发生密切相关^[11]。Small cell lung cancers信号通路与黄精抗肿瘤相关的靶点数量有5个,如CDK2、PIK3CG、PTGS2和TP53等。其中TP53在正常细胞中低表达,在恶性肿瘤中高表达。在约90%的小细胞肺癌(SCLC)和约50%的非小细胞肺癌(NSCLC)中发生改变^[12],总之上述通路富集的代表性靶点的功能特性进一步验证了黄精抗肿瘤作用机制。

采用ADME性质筛选、靶标识别、网络构建及通路分析的网络药理学方法,首次对黄精抗肿瘤的药效物质基础及分子作用机制进行了阐述,共获得4个关键药效成分和2个关键靶标,并通过KEGG通路分析获得12条主要作用通路,本研究充分体现了中药多成分、多靶点、多通路的作用特点,为黄精抗肿瘤活性药效物质基础筛选及潜在作用机制研究提供了一种新的研究思路。

参考文献

- [1] 陈 辉,冯珊珊,孙彦君,等. 3种药用黄精的化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(15): 2329-2338.
- [2] 姜 武,叶传盛,吴志刚,等. 黄精的本草考证 [J]. 中草药, 2017, 40(11): 2713-2716.
- [3] 赵文莉,赵 晔. 黄精研究作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4439-4445.
- [4] 尹 婕,李 琦,孙立东,等. 天然产物抗癌研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(1): 19-27.
- [5] 叶红翠,张小平,于 红,等. 多花黄精粗多糖抗肿瘤活性研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(6): 34-36.
- [6] 李 丽,田丽娜,任振兴,等. 黄精多糖的结构分析及功能活性研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(15): 231-234.
- [7] 杨 莉,尤启冬,杨 勇,等. 汉黄芩素抗肿瘤作用的研究进展 [J]. 中国药科大学学报, 2009, 40(6): 576-579.
- [8] Uwe L, Babak Y B, Tanja E, et al. The Cyclooxygenase-2 (PTGS2) 8473T > C polymorphism is associated with breast cancer risk [J]. Cancer Prev, 2006, 12(4): 1392-1394.
- [9] Mima K, Nishihara R, Yang J H, et al. MicroRNA MIR21 (miR-21) and PTGS2 expression in colorectal cancer and patient survival [J]. Clin Cancer Res, 2016, 22(15): 3841-3848.
- [10] 黄文皎,田发发,陈文利,等. GSK-3 β 及相关基因在颞叶癫痫大鼠海马的表达研究 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2019, 36(10): 920-924.
- [11] 张淑群,张 莹,杨 鑫,等. EZH2、MMP-2及MMP-9在肝癌侵袭转移中的作用及关系 [J]. 西安交通大学学报医学版, 2019, 40(6): 947-953.
- [12] 费 君,陆友金. TP53基因突变肺腺癌患者的临床特征及预后 [J]. 临床肺科杂志, 2019, 24(8): 1503-1506.