

基于网络药理学及分子对接技术的复方丹参滴丸治疗心绞痛潜在分子机制探讨

陈凯¹, 陈敏娜^{1*}, 王琼¹, 董静^{1,2}, 马淑慧¹, 赵学飞¹, 赵运¹

1. 陕西中医药大学第二附属医院 心内科, 陕西 西安 710005

2. 陕西中医药大学 陕西省中西医结合心血管病防治重点实验室, 陕西 西安 712046

摘要: **目的** 基于网络药理学和分子对接技术探讨复方丹参滴丸治疗心绞痛的潜在分子机制。**方法** 通过中药系统网络药理学数据库与分析平台(TCMSP)检索复方丹参滴丸的活性成分, 利用GeneCards、Disgnet和TTD数据库检索心绞痛疾病相关靶点, 通过String数据库和Metascape开放平台对复方丹参滴丸与心绞痛的交集靶点进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析及基因本体论(gene ontology, GO)注释。采用SYBYL2.1软件的Surflex-Dock模块对筛选的核心成分和核心靶点进行分子对接。**结果** 从复方丹参滴丸中筛选出76种活性化合物, 涉及500个潜在靶点。复方丹参滴丸成分靶点与心绞痛疾病靶点取交集, 共获得457个交集靶点; 复方丹参滴丸治疗心绞痛作用靶标的蛋白相互作用(PPI)网络中共包含158个节点, 其中重要的靶点有STAT3、TP53、AKT1、JUN、MAPK1、HSP90AA1等。复方丹参滴丸通过调控炎症反应、凋亡信号通路、积极调节细胞迁移等GO生物过程, 参与流体剪切应力与动脉粥样硬化、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、HIF-1信号通路、TNF信号通路、IL17信号通路等信号通路, 发挥治疗心绞痛的作用。分子对接结果表明筛选得到的活性成分与靶点有较强的结合。**结论** 运用网络药理学研究方法推测出复方丹参滴丸治疗心绞痛的潜在分子机制及作用靶点, 分子对接验证了筛选的关键活性成分与重要靶点具有较强的结合活性。

关键词: 复方丹参滴丸; 心绞痛; 网络药理学; 分子对接; PI3K-Akt信号通路; MAPK信号通路; HIF-1信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2022)07-1282-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.07.010

Potential molecular mechanism of Compound Danshen Dripping Pills in treatment of angina pectoris based on network pharmacology and molecular docking

CHEN Kai¹, CHEN Minna¹, WANG Qiong¹, DONG Jing^{1,2}, MA Shuhui¹, ZHAO Xuefei¹, ZHAO Yun¹

1. Department of Cardiology, The Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710005, China

2. Shaanxi Provincial Key Laboratory of Cardiovascular Disease Prevention and Treatment of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China

Abstract: Objective To explore the potential molecular mechanism of Compound Danshen Dripping Pills in treatment of angina pectoris based on network pharmacology and molecular docking technology. **Methods** The active ingredients of Compound Danshen Dripping Pills were retrieved through the Traditional Chinese Medicine System Network Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP), and the angina pectoris-related targets were retrieved using GeneCards, Disgnet and TTD databases. KEGG enrichment analysis and GO enrichment analysis were performed with the intersection targets of angina pectoris. The important signaling pathways and biological processes involved in the anti-angina pectoris of Compound Danshen Dripping Pills were predicted. The Surflex-Dock module of SYBYL2.1 software was used for molecular docking of the screened core components

收稿日期: 2021-12-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81904038); 陕西省科技厅重点研发计划项目(2020SF-277); 陕西中医药大学校级课题(2020GP24)

第一作者: 陈凯(1988—), 男, 主治医师, 研究方向为心血管介入(起搏电生理)治疗。E-mail: yiwulun@126.com

*通信作者: 陈敏娜(1986—), 女, 主治医师, 研究方向为缺血性心血管病的基础与临床研究。E-mail: 393604300@qq.com

and core targets. **Results** Total 72 active compounds were screened from Compound Danshen Dropping Pills, involving 500 potential targets. The component targets of Compound Danshen Dropping Pills intersected with the targets of angina pectoris, and 457 intersected targets were obtained. The protein-protein interaction (PPI) network of the target of Compound Danshen Dropping Pills in treatment of angina pectoris contains 158 nodes, of which the important targets are STAT3, TP53, AKT1, JUN, MAPK1, HSP90AA1, etc. Compound Danshen Dropping Pills played a role in treatment of angina pectoris by regulating GO biological processes such as inflammatory response, apoptosis signal pathway and actively regulating cell migration, and participating in fluid shear stress and atherosclerosis, PI3K-Akt signal pathway, MAPK signal pathway, HIF-1 signal pathway, TNF signal pathway and IL17 signal pathway. The results of molecular docking showed that the screened active components had strong binding with the target. **Conclusion** The potential molecular mechanism and target of Compound Danshen Dropping Pills in treatment of angina pectoris were speculated by using the method of network pharmacology. The molecular docking verified that the selected key active ingredients had strong binding activity with important targets.

Key words: Compound Danshen Dropping Pill; angina pectoris; network pharmacology; molecular docking; PI3K-Akt signal pathway; MAPK signal pathway; HIF-1 signal pathway; TNF signal pathway

心绞痛是因冠状动脉供需失衡导致心肌细胞缺血、缺氧而引起的胸痛或心前区不适,是冠心病患者的常见临床症状,其发病率逐年增加,严重影响着人们的生活质量。因此冠心病心绞痛的预防与治疗成为医疗界攻克的课题之一。由丹参、三七、冰片组成的复方丹参滴丸具有活血化瘀、理气止痛之效;冰片主要作用为开窍醒神、行气止痛;而丹参不仅能活血化瘀止痛、还能安神凉血除烦;三七则以活血通脉、化瘀止痛为法。三者联合使用增强活血化瘀止痛以及行气豁痰开窍的功效^[1]。同时现代医学研究表明,其具有多成分、作用多靶点而发挥抗血小板聚集、调节血脂、减少炎症反应、改善血液流变、改善血管内皮功能等功效^[2-5],但其作用机制尚不明确。网络药理学从药物-靶点-疾病间相互作用的整体性及系统性出发,在揭示中药复方的复杂作用机制方面起着不容小觑的作用^[6-7]。本研究将从网络药理学角度,揭示复方丹参滴丸治疗心绞痛的有效成分及其潜在靶点,探讨复方丹参滴丸治疗心绞痛的潜在作用机制,为复方丹参滴丸的进一步研究及临床应用提供理论依据。

1 方法

1.1 复方丹参滴丸的潜在活性成分及靶点筛选

根据复方丹参滴丸复方中3种中药丹参、三七、冰片的汉语拼音:“Danshen”“Sanqi”和“Bingpian”为检索词在中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>, Version 2.3)中检索满足以下标准的化合物:口服生物利用度(OB)>30%,类药性(DL)>0.18。从PubChem网站(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中下载上述所有化合物Smile结构,无Smile式的化合物则删去,将其上传SwissTarget数据库([\[www.swisstargetprediction.ch/\]\(http://www.swisstargetprediction.ch/\)\)、SEA数据库\(<http://sea.bkslab.org>\)和TargetNet数据库\(<http://targetnet.scbdd.com>\)预测相关靶点,并只保留MaxTc和Probscore值>0.4的靶点。](http://</p>
</div>
<div data-bbox=)

1.2 心绞痛疾病靶点筛选

通过将“Angina pectoris”作为检索词,检索GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)、Disgnet数据库(<https://www.disgenet.org/search>)和TTD数据库(<http://db.idrblab.net/ttd/>),以获取目前已知的与心绞痛相关的疾病靶点。

1.3 复方丹参滴丸作用于心绞痛的靶点网络构建和分析

将复方丹参滴丸与疾病的共同靶点导入STRING数据库中,物种设定为人,最低相互作用评分设置为0.90,如有游离节点需隐藏,其余设置不变得蛋白相互作用(PPI)网络及相关数据,再将相关数据导入Cytoscape 3.7.2软件做出最终的PPI网络图。

1.4 药材-化合物-靶点网络构建

将3种药材、活性化合物、靶点上传至Cytoscape 3.6.0软件生成药材-化合物-靶点网络图,并利用Analyzenetwork插件对该网络进行分析,采用度值(degree)的大小进而识别复方丹参滴丸中的核心化合物、核心靶点,进一步探索复方丹参滴丸治疗心绞痛的分子机制。

1.5 生物功能与通路富集分析

利用String数据库和Metascape开放平台对复方丹参滴丸与心绞痛的交集靶点进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析及基因本体论(gene ontology, GO)注释。预测出复

方丹参滴丸抗心绞痛重要信号通路及涉及的生物学过程。

1.6 分子对接验证核心化合物与核心靶点

采用 ChemBioDrawUltra 17.0 软件(<http://www.chemdraw.com.cn>)绘制“1.4”项所得核心化合物的3D结构式,保存为mol2格式,作为小分子化合物。从 RCSBPDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)下载“1.4”项所得的核心靶点 STAT3(PDBID: 5AX3)、TP53(PDBID: 5O1A)、AKT1(PDBID: 3QKK)、JUN(PDBID: 5FV8)、MAPK1(PDBID: 3SA0)、HSP90AA1(PDBID: 3RLQ)、MAPK14(PDBID: 3QUD)、ESR1(PDBID: 4IVW)、VEGFA(PDBID: 3BDY)、EGFR(PDBID: 5GTU)的3D晶体结构。以

SYBYL 2.1 软件的 Surflex-Dock 模块进行分子对接,根据总得分(total-score)值($>5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 为阈值)评估分子对接的强度^[8]。

2 结果

2.1 复方丹参滴丸相关活性化合物及靶点预测结果

复方丹参滴丸由丹参、三七、冰片3味中药组成,其活性化合物信息从TCMSP数据库获得。通过数据库检索,通过OB $>30\%$ 和DL >0.18 为条件筛选,共获取到复方丹参滴丸中72种活性化合物,见表1,其中丹参62种、三七7种、冰片3种。将活性化合物的Smile结构上传SwissTarget、SEAdatabase和TargetNet数据库预测相关靶点,共得到500个潜在靶点。

表1 复方丹参滴丸中72种活性化合物

Table 1 72 active compounds in Compound Danshen Dropping Pills

药材	MOL ID	化合物	OB/%	DL
丹参	MOL001601	1,2,5,6-tetrahydrotanshinone	38.75	0.36
	MOL001659	poriferasterol	43.83	0.76
	MOL001771	poriferast-5-en-3beta-ol	36.91	0.75
	MOL001942	isoimperatorin	45.46	0.23
	MOL002222	sugiol	36.11	0.28
	MOL002651	dehydrotanshinone II _A	43.76	0.40
	MOL002776	baicalin	40.12	0.75
	MOL000569	digallate	61.85	0.26
	MOL000006	luteolin	36.16	0.25
	MOL006824	α -amyrin	39.51	0.76
	MOL007036	5,6-dihydroxy-7-isopropyl-1,1-dimethyl-2,3-dihydrophenanthren-4-one	33.77	0.29
	MOL007041	2-isopropyl-8-methylphenanthrene-3,4-dione	40.86	0.23
	MOL007045	3 α -hydroxytanshinone II _A	44.93	0.44
	MOL007048	(E)-3-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxy-benzofuran-4-yl]acrylic acid	48.24	0.31
	MOL007049	4-methylenemiltirone	34.35	0.23
	MOL007050	2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-3-benzofurancarboxaldehyde	62.78	0.40
	MOL007051	6-O-syringyl-8-O-acetyl shanzhiside methyl ester	46.69	0.71
	MOL007058	formyltanshinone	73.44	0.42
	MOL007059	3-beta-hydroxymethylenetanshinquinone	32.16	0.41
	MOL007061	methylenetanshinquinone	37.07	0.36
三七	MOL007063	przewalskin a	37.11	0.65
	MOL007064	przewalskin b	110.32	0.44
	MOL007068	przewaquinone B	62.24	0.41
	MOL007069	przewaquinone c	55.74	0.40
	MOL007070	(6S,7R)-6,7-dihydroxy-1,6-dimethyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-dione	41.31	0.45
	MOL007071	przewaquinone f	40.31	0.46
	MOL007077	sclareol	43.67	0.21
	MOL007079	tanshinolaldehyde	52.47	0.45
	MOL007081	danshenol B	57.95	0.56
	MOL007082	danshenol A	56.97	0.52

续表1

药材	MOL ID	化合物	OB/%	DL
	MOL007085	salvilenone	30.38	0.38
	MOL007088	cryptotanshinone	52.34	0.40
	MOL007093	dan-shexinkum d	38.88	0.55
	MOL007094	danshenspiroketallactone	50.43	0.31
	MOL007098	deoxyneocryptotanshinone	49.40	0.29
	MOL007100	dihydrotanshinlactone	38.68	0.32
	MOL007101	dihydrotanshinone I	45.04	0.36
	MOL007105	epidanshenspiroketallactone	68.27	0.31
	MOL007107	C09092	36.07	0.25
	MOL007108	isocryptotanshi-none	54.98	0.39
	MOL007111	isotanshinone II	49.92	0.40
	MOL007115	manool	45.04	0.20
	MOL007118	microstegiol	39.61	0.28
	MOL007119	miltionone I	49.68	0.32
	MOL007120	miltionone II	71.03	0.44
	MOL007121	miltipolone	36.56	0.37
	MOL007122	miltirone	38.76	0.25
	MOL007123	miltirone II	44.95	0.24
	MOL007124	neocryptotanshinone II	39.46	0.23
	MOL007125	neocryptotanshinone	52.49	0.32
	MOL007127	1-methyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[5,6-g]benzofuran-6,10,11-trione	34.72	0.37
	MOL007130	prolithospermic acid	64.37	0.31
	MOL007132	(2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(Z)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)acryloyl]oxy-propionic acid	109.38	0.35
	MOL007140	(Z)-3-[2-[(E)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)vinyl]-3,4-dihydroxy-phenyl]acrylic acid	88.54	0.26
	MOL007141	salvianolic acid g	45.56	0.61
	MOL007142	salvianolic acid j	43.38	0.72
	MOL007143	salvilenone I	32.43	0.23
	MOL007145	salviolone	31.72	0.24
	MOL007149	NSC 122421	34.49	0.28
	MOL007150	(6S)-6-hydroxy-1-methyl-6-methylol-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-quinone	75.39	0.46
	MOL007151	tanshindiol B	42.67	0.45
	MOL007152	przewaquinone E	42.85	0.45
三七	MOL001494	mandenol	42.00	0.19
	MOL001792	DFV	32.76	0.18
	MOL002879	diop	43.59	0.39
	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
	MOL000449	stigmaterol	43.83	0.76
	MOL005344	ginsenoside rh2	36.32	0.56
	MOL007475	ginsenoside f2	36.43	0.25
冰片	MOL006861	asiatic acid	41.38	0.71
	MOL006862	bronyl acetate	59.30	0.51
	MOL006865	dipterocarpol	41.71	0.76

2.2 心绞痛靶点基因的筛选与PPI网络的构建

从DisGeNET、TTD和GeneCards数据库获取到靶点基因2 918个,将复方丹参滴丸活性化合物靶

点与心绞痛靶点进行交集映射,获得457个交集靶点,并制作复方丹参滴丸治疗心绞痛作用靶标的PPI网络图,见图1。网络中共包含158个节点,平均

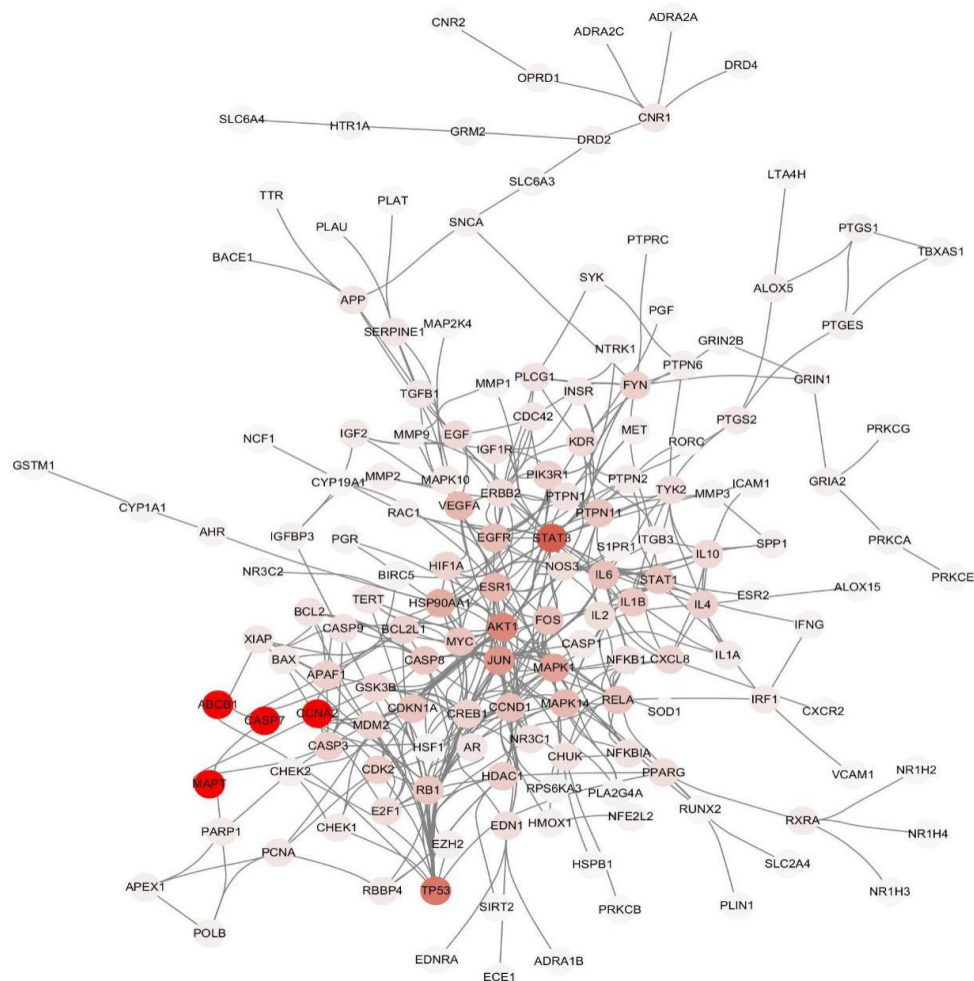


图1 复方丹参滴丸干预心绞痛的PPI网络

Fig. 1 PPI network of Compound Danshen Dripping Pills treating angina pectoris

连接度5.519。节点颜色越深代表其在网络中度值越大。度值排名前10的靶点分别为STAT3、TP53、AKT1、JUN、MAPK1、HSP90AA1、MAPK14、ESR1、

VEGFA、EGFR,提示这些靶点可能为复方丹参滴丸作用于心绞痛的重要靶点。根据度值排序,复方丹参滴丸与心绞痛前20位的靶点网络特征见表2。

表2 复方丹参滴丸与心绞痛部分靶点网络特征

Table 2 Partial characters of network between Compound Danshen Dripping Pills and angina pectoris

Uniprot_ID	基因	介数中心性	紧密中心性	度值	Uniprot_ID	基因	介数中心性	紧密中心性	度值
P40763	STAT3	0.347 257	0.434 903	38	P24385	CCND1	0.015 929	0.354 402	14
P04637	TP53	0.158 608	0.396 465	32	P01100	FOS	0.044 615	0.368 545	14
P31749	AKT1	0.126 209	0.389 578	28	P05231	IL6	0.020 404	0.348 115	14
P05412	JUN	0.063 742	0.367 682	24	Q04206	RELA	0.021 202	0.314 629	13
P28482	MAPK1	0.068 912	0.378 313	21	Q06124	PTPN11	0.038 439	0.360 092	13
P07900	HSP90AA1	0.086 718	0.377 404	19	P42224	STAT1	0.049 730	0.359 268	13
Q16539	MAPK14	0.052 282	0.365 967	16	P38936	CDKN1A	0.042 460	0.365 967	13
P03372	ESR1	0.039 280	0.353 604	16	P01106	MYC	0.010 663	0.361 751	13
P15692	VEGFA	0.052 922	0.360 092	16	Q14790	CASP8	0.021 361	0.319 756	13
P00533	EGFR	0.029 275	0.362 587	15	P06400	RB1	0.009 039	0.312 749	12

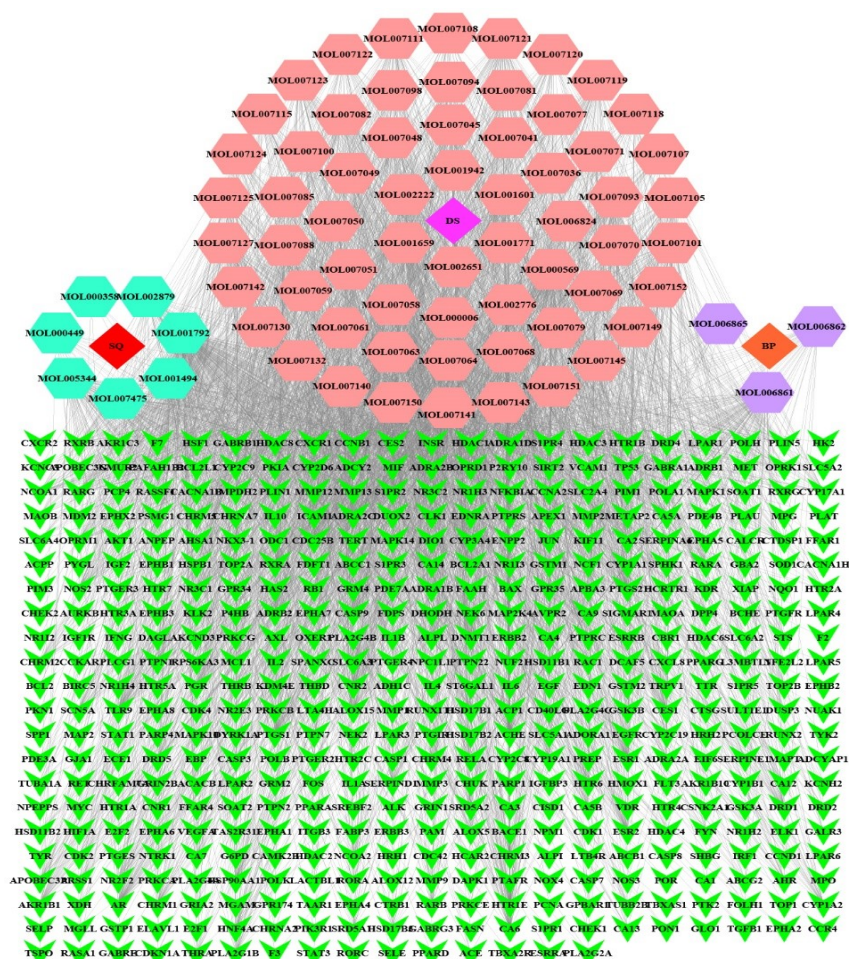
2.3 药物-化合物-靶点网络分析结果

利用 Cytoscape 3.6.0 软件构建药物-活性化合物-靶点网络,结果见图2。网络中共包含532个节点,平均连接度9.966。菱形代表药物,六边形代表化合物,三角形代表靶点。药材网络分析结果:丹参度值最高,为63,表明丹参这味药在治疗心绞痛中起重要作用。化合物网络分析结果:度值排名前10的化合物为豆甾醇(stigmasterol)、积雪草酸(asiatic acid)、亚油酸乙酯(mandenol)、丹参酮 II_A (tanshinone II_A)、丹参酮 VI (tanshinone VI)、 β -谷甾醇(β -sitosterol)、DS13(E)-3-[2-(3,4-二羟基苯基)-7-羟基-苯并呋喃-4-基]丙烯酸[(E)-3-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxy-benzofuran-4-yl]acrylic acid)、隐丹参酮(cryptotanshinone)、丹参螺缩酮内酯(danshenspiroketallactone)、亚甲基丹参醌(methylenetanshinquinone),度值分别为:259、115、98、83、82、74、72、66、66、65。提示这些活性化

合物为复方丹参滴丸治疗心绞痛的重要化合物。根据度值排序,复方丹参滴丸中排序前20个化合物网络特征见表3。

2.4 复方丹参滴丸与心绞痛靶点的GO富集分析结果

利用 Metascope 开放平台对复方丹参滴丸与心绞痛 PPI 网络中的158个交集靶点进行GO富集分析,结果显示共富集577个注释条目($P < 0.05$),其中生物学过程(biological processes, BP)355个,细胞成分(cellular components, CC)112个,分子功能(molecular functions, MF)110个。BP主要涉及炎症反应、凋亡信号通路、阳性调节细胞迁移、白细胞分化、对生长因子的反应、调节活性氧代谢过程等。CC富集最显著的为轴突、膜筏、突触后连接、受体复合物、囊泡内腔等。MF富集最显著的为转录因子结合、激酶结合、蛋白质结构域特异性结合、核受体活性和蛋白激酶活性等。具体见图3。



SQ-三七;DS-丹参;BP-冰片

SQ-Notoginseng Radix et Rhizoma; DS-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma; BP-Borneolum Syntheticum

图2 复方丹参滴丸治疗心绞痛药物-化合物-靶点网络

Fig. 2 Drug-ingredient-target network of Compound Danshen Dripping Pills in treatment of angina pectoris

表3 复方丹参滴丸中度值排名前20的化合物网络特征

Table 3 Compound network characteristics of Compound Danshen Dropping Pills ranking top 20 in degree value

编号	化合物名称	介数中心性	紧密中心性	度值	来源药材
SQ2	豆甾醇(stigmasterol)	0.497 034	0.530 839	259	三七
BP1	积雪草酸(asiatic acid)	0.102 817	0.409 197	115	冰片
SQ6	十八碳-9,12-二烯酸乙酯(mandenol)	0.160 915	0.399 240	98	三七
DS60	丹参酮II _A (tanshinone II _A)	0.052 613	0.392 670	83	丹参
DS1	丹参酮VI(tanshinone VI)	0.029 107	0.392 084	82	丹参
SQ1	β -谷甾醇(β -sitosterol)	0.074 715	0.385 180	74	三七
DS13	(E)-3-[2-(3,4-二羟基苯基)-7-羟基-苯并呋喃-4-基]丙烯酸{(E)-3-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxy-benzofuran-4-yl]acrylic acid}	0.020 572	0.386 313	72	丹参
DS30	隐丹参酮(cryptotanshinone)	0.021 703	0.382 932	66	丹参
DS32	丹参螺缩酮内酯(danshenspiroketallactone)	0.017 816	0.382 932	66	丹参
DS18	亚甲基丹参醌(methylenetanshinquinone)	0.011 504	0.382 374	65	丹参
DS2	多孔甾醇(poriferasterol)	0.020 154	0.381 818	64	丹参
SQ3	槲皮素(quercetin)	0.037 365	0.373 134	62	三七
DS22	紫丹参丙素(przewaquinonec)	0.011 817	0.380 159	61	丹参
SQ7	DFV	0.045 528	0.377 970	61	三七
DS41	丹参酚醌I(miltiononeI)	0.010 177	0.379 061	59	丹参
DS14	NSC122421	0.013 172	0.378 515	58	甘草
DS9	木犀草素(luteolin)	0.042 585	0.376 884	55	丹参
DS16	醛基丹参酮(formyltanshinone)	0.011 641	0.375 805	53	丹参
DS10	5,6-羟基-7-异丙基-1,1-二甲基-2,3-二氢酚-4-1(5,6-dihydroxy-7-isopropyl-1,1-dimethyl-2,3-dihydrophenanthren-4-one)	0.006 387	0.374 198	50	丹参
DS12	3 α -羟基丹参酮II _A (3 α -hydroxytanshinone II _A)	0.005 262	0.372 605	47	丹参

2.5 复方丹参滴丸与心绞痛靶点的KEGG通路富集分析

利用String数据库对复方丹参滴丸与心绞痛PPI网络中的158个交集靶点进行KEGG富集分析,得到184条信号通路($P < 0.05$)。复方丹参滴丸与心绞痛靶点的KEGG通路富集最显著的20条通路见图4。复方丹参滴丸治疗心绞痛涉及的代谢通路主要为:流体剪切应力与动脉粥样硬化、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、HIF-1信号通路、TNF信号通路、IL17信号通路等。表明复方丹参滴丸主要通过影响以上相关通路来发挥治疗心绞痛的作用。

2.6 分子对接验证

通过SYBYL-X2.0软件将复方丹参滴丸作用于心绞痛的10个重要靶点STAT3、TP53、AKT1、JUN、MAPK1、HSP90AA1、MAPK14、ESR1、VEGFA、EGFR与“2.3”项所得的10个重要化合物进行批量分子对接。基于总得分值,

对接结果见图5。10个重要化合物与重要靶点结合的强弱,按对接总分值排序如下:AKT1>HSP90AA1>STAT3>JUN>MAPK14>VEGFA>MAPK1>TP53>ESR1>EGFR。豆甾醇和(E)-3-[2-(3,4-二羟基苯基)-7-羟基-苯并呋喃-4-基]丙烯酸和MAPK14有较好的结合;积雪草酸与JUN有较好的结合;十八碳-9,12-二烯酸乙酯(mandenol)与HSP90AA1有较好的结合;丹参酮II_A、 β -谷甾醇和隐丹参酮与AKT1有较好的结合;丹参酮VI(tanshinone VI)与STAT3有较好的结合;丹参螺缩酮内酯与TP53有较好的结合;亚甲基丹参醌与VEGFA有较好的结合。部分对接分数较高的3D结果示意图见图6。

3 讨论

心绞痛在中医上归属于“胸痹”“心痛”范畴,汉代张仲景《金匮要略》曰:“夫脉当取太过不及,阳微阴弦,即胸痹而痛,所以然者,责其极虚也。今阳虚知在上焦,所以胸痹、心痛者,以其阴弦故也”,首先

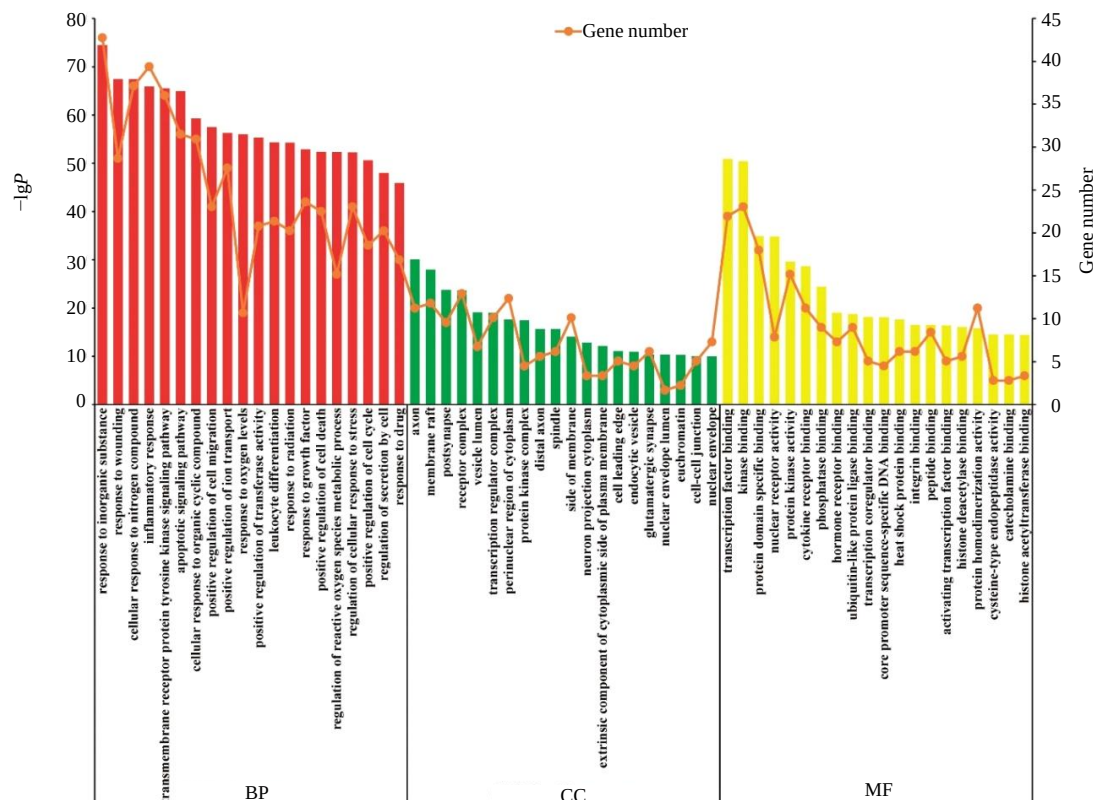


图3 复方丹参滴丸治疗心绞痛靶点的GO富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis for intersection target of Compound Danshen Dripping Pills in treatment of angina pectoris

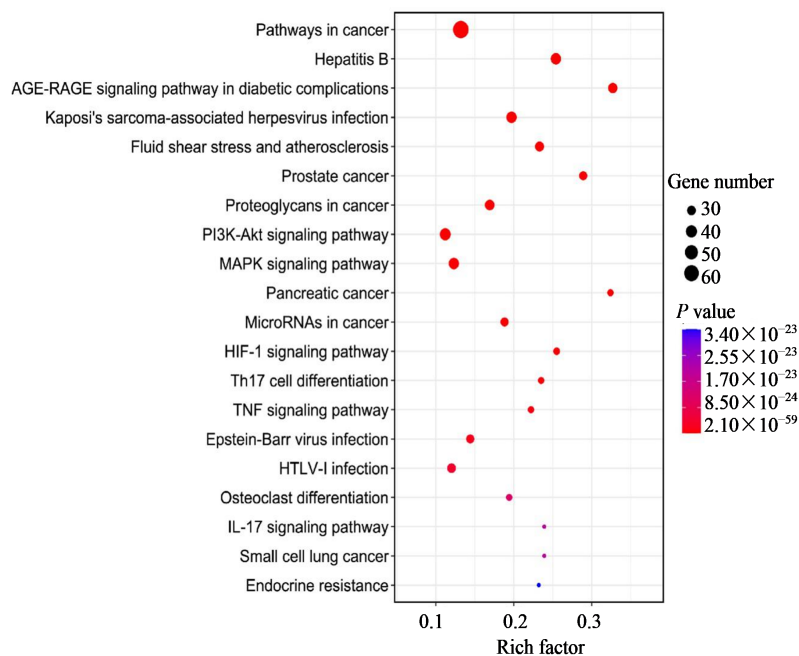


图4 复方丹参滴丸与心绞痛靶点的KEGG富集分析

Fig. 4 KEGG enrichment analysis for interaction target of Compound Danshen Dripping Pills in treatment of angina pectoris

提出“胸痹”的病名，胸痹临床表现最早见于《黄帝内经》，胸痹治疗以通阳宣痹为主。西医上心绞痛临床表现为胸骨后压榨性疼痛，可放射至上肢、心前区。复方丹参滴丸治疗心绞痛临床应用比较广

泛^[9]，复方丹参滴丸的主要组成为丹参、三七、冰片3种药材，丹参为活血化瘀要药，具有活血祛瘀、通经止痛、清心除烦、凉血消痈的作用；三七具有散瘀止血、消肿定痛的作用，且散瘀止血时能发挥止血不

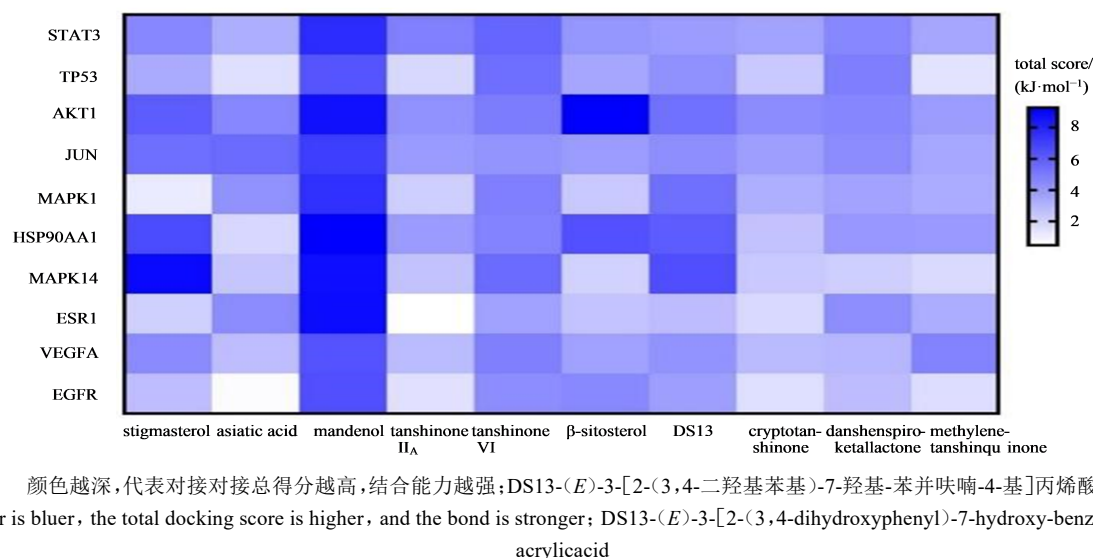


图5 核心靶点-核心化合物分子对接热图

Fig. 5 Heat map of molecular docking between hub targets and core ingredients

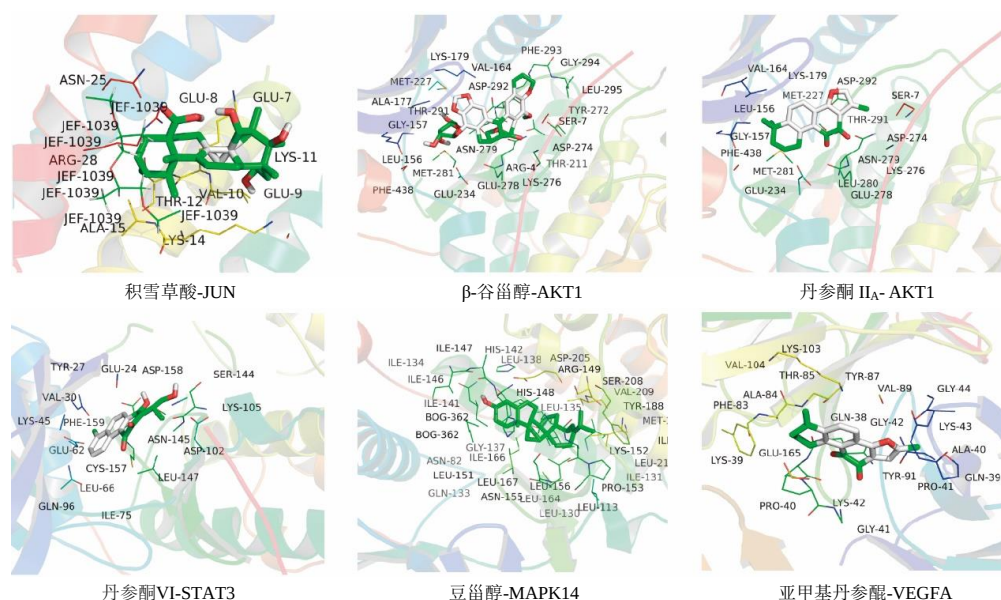


图6 部分分子对接3D结果示意图

Fig. 6 Representative 3-dimensional schematic diagram of molecular docking

留瘀、化瘀不伤正的作用;冰片可用于开窍醒神、清热止痛、解毒生肌;诸药合用共奏活血化瘀、理气止痛之功效。

本研究通过网络药理学方法分析复方丹参滴丸有效成分结果显示:其主要作用靶点为 STAT3、TP53、AKT1、JUN、MAPK1、HSP90AA1、MAPK14、ESR1、VEGFA、EGFR。VEGFA、JUN 和 STAT3 主要与炎症过程相关。VEGFA 是血浆中最主要的血管内皮生长因子,有促血管生成作用。心绞痛的主要原因是心肌血流减少而引起的心肌缺氧,而 VEGFA 可介导新血管的形成,是促使新血管形成的关键成

分,可有效改善心肌血流从而缓解心绞痛的发作频次^[10]。JUN 与多种细胞过程有关,例如增殖和细胞转化,JUN 影响 A549 细胞来源的外泌体中 miR-494 的表达,从而影响血管生成。研究表明,STAT3 的表达会影响心肌肥厚的发生发展,并可抑制心肌细胞凋亡损伤^[11]。AKT1、EGFR 是一种表皮生长因子,Akt1 是参与血管生成调节的关键信号分子,参与细胞调节的许多方面,包括生存、新陈代谢和增殖。研究表明,在内皮细胞内激活 Akt 信号足以促进心肌内的血管生成。心肌缺血是一个重要的临床问题,一些临床试验正在研究血管生成因子补充剂是

否可用于治疗心绞痛^[12]。EGFR是一种表皮生长因子受体,在异常血管重塑中起着重要作用^[13]。TP53基因是可以编码1种包含DNA结合和转录激活的肿瘤抑制蛋白,参与细胞代谢的TP53靶标参与ATP生物合成、蛋白质磷酸化、磷脂形成和基因表达的基因^[14],TP53的缺失部分挽救了心肌纤维化、细胞凋亡、非心肌细胞增殖、左心室扩张和功能障碍,并略微提高了生存率^[15]。MAPK1和MAPK14是MAPK家族的成员,可以磷酸化和激活转录因子和下游基因的表达,在调节细胞存活和死亡以及炎症中发挥作用^[16]。有研究表明,HSP90AA1是心肌缺血再灌注损伤(I/R)过程中miR-1的新靶点,并且Hsp90aa1的恢复可能对I/R具有保护作用^[17]。通过比较心绞痛的生物网络特征,本研究确定STAT3、TP53、AKT1、JUN、MAPK1、HSP90AA1、MAPK14、ESR1、VEGFA、EGFR是治疗心绞痛的关键基因。因此,用复方丹参滴丸治疗心绞痛是合理的。这一发现与临床应用高度一致,在一定程度上反映了网络药理学在预测药物作用机制方面的作用。

通过分子对接结果得出结合度最高的是丹参酮II_A、β-谷甾醇和隐丹参酮与AKT1的结合。丹参酮II_A是丹参中的1种有效成分,具有活血化瘀的重要作用。李永胜等^[18]的研究表明丹参酮II_A对血管内皮细胞有良好的保护作用,而AKT1对血管内皮细胞的增殖、生长具有重要作用。β-谷甾醇是甾醇类成分之一,具有抗炎、调血脂等作用,在治疗心绞痛时主要发挥的作用是降血脂作用。积雪草酸与JUN有较好的结合,积雪草酸是1种五环三萜衍生物,具有多种功能,包括抗氧化、抗炎和保护心肌组织的作用,有研究表明,积雪草酸对心肌缺血所致小鼠的心肌损伤有保护作用^[20],JUN是1号染色体的基因,与积雪草酸结合可增强心肌组织的作用。

对复方丹参滴丸治疗心绞痛的关键靶点进行GO功能分析,包括BP、MF和CC。分析了P值最小的前20个BP,复方丹参滴丸治疗心绞痛的BP靶点主要富集对无机物质的反应、损伤细胞对氮化合物的反应、炎症反应、跨膜受体蛋白酪氨酸激酶信号通路、凋亡信号通路、细胞对有机细胞复合物的反应、细胞迁移的正调节离子转运、对生长的反应、细胞死亡因子、活性氧代谢过程因子、细胞应激反应因子、细胞周期因子、分泌因子、药物反应因子等。其中富集最多的是对无机物质的反应。就MF而言,靶点主要涉及蛋白结构域特异性结合、蛋白激酶活性、细胞因子受体结合、热休克蛋白结合、激素

受体结合、泛素样蛋白酶结合、连接酶结合转录等过程。在CC方面,目标主要富集在突触、受体复合囊泡腔、细胞质蛋白激酶复合体的转录调节、复合物核周区、远端轴突、纺锤体膜、神经元投射、细胞质侧面、质膜细胞前缘、胞浆侧的外部成分、内吞囊泡、谷氨酸突触等过程。这些结果表明复方丹参滴丸通过调节多种复杂的生物过程来治疗心绞痛。

KEGG通路分析结果表明复方丹参滴丸主要通过调控炎症反应、凋亡信号通路、积极调节细胞迁移等参与流体剪切应力与动脉粥样硬化、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、HIF-1信号通路、TNF信号通路、IL17信号通路的调节,从而治疗心绞痛。PI3K-Akt信号通路是调节心脏功能的重要信号转导通路,主要通过激活PI3K、结合下游Akt、磷酸化Akt、启动下游靶基因转录、调节心肌细胞和血管的生长和存活,PI3K在各种细胞因子的刺激下结构发生变化,PI3K被激活,从而和Akt靶标结合,其中Akt1型是表达最多的,PI3K-Akt信号通路激活后可抑制血管内皮细胞组织因子的表达,发挥保护心肌细胞的作用^[18]。MAPK信号通路是一种炎症信号通路,响应各种刺激从细胞膜向细胞核传递信号,激活后还参与各种生长因子、细胞因子、有丝分裂原和激素受体的信号转导。它在细胞生长和凋亡、炎症和应激反应中起着重要的调节作用,该信号通路激活后会分泌多种炎性分子,进而发生多种炎症反应,从而进一步在心绞痛、心肌缺血等疾病治疗中发挥重要作用^[21]。HIF-1信号通路是一种低氧应激通路,在心肌低氧的情况下能够迅速激活以保护心肌细胞不受损伤,而心绞痛的主要发病原因是心肌血流量减少使心肌缺氧而发病^[22]。但HIF-1信号通路通过作用于血管内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞的特异性反应,上调血管内皮生长因子、一氧化二氮、活性氧和血小板衍生生长因子,随后会导致内皮细胞细胞功能障碍、增殖、血管生成和炎症。靶向HIF-1可能成为冠状动脉粥样硬化的关键治疗策略之一^[19]。

综上所述,本研究通过网络药理学和分子对接的研究方法初步筛选了复方丹参滴丸治疗心绞痛的核心靶点和核心成分,初步阐明了涉及的主要生物过程及信号通路,从理论上验证了复方丹参滴丸是通过多靶点、多成分、多通路的共同作用来发挥作用的。但本研究主要是从理论层面的研究,后期还需进一步根据该研究结果展开基础研究,为后期临床上治疗心绞痛提供新的方向和依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 肖 铃. 复方丹参滴丸药理作用及临床应用的研究进展 [J]. 世界中医药, 2015, 10(7): 1117-1119, 1123.
Xiao L. Research progress and clinical application of compound Danshen dripping pills pharmacological action [J]. World Chin Med, 2015, 10(7): 1117-1119, 1123.
- [2] 黄修献, 林泽辉, 李海涛, 等. 复方丹参滴丸对老年冠心病患者血流变学、血脂及炎症反应递质的影响 [J]. 世界中医药, 2020, 15(16): 2438-2442.
Huang X X, Lin Z H, Li H T, et al. Effects of compound Danshen dripping pills on hemorheology, blood lipid and inflammatory factors in elderly patients with coronary heart disease [J]. World Chin Med, 2020, 15(16): 2438-2442.
- [3] 张 蓓. 复方丹参滴丸治疗冠心病的药理作用与临床研究进展 [J]. 中国社区医师, 2020, 36(30): 4-5.
Zhang B. Progress research and pharmacological characteristics of compound Danshen dripping pills for coronary heart disease [J]. Chin Community Dr, 2020, 36(30): 4-5.
- [4] 王 田, 瞿惠燕, 沙婉婧, 等. 复方丹参滴丸联合阿司匹林治疗冠心病有效性及安全性的Meta分析 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(4): 533-539.
Wang T, Qu H Y, Sha W J, et al. Efficacy and safety of compound Danshen dropping pills combined with aspirin in patients with coronary heart disease: A Meta-analysis [J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis, 2021, 19(4): 533-539.
- [5] 谢生梅, 韦妮娜, 韦 娟, 等. 复方丹参滴丸治疗冠心病合并血脂代谢异常疗效及对血液黏度、血管内皮功能的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(4): 162-165.
Xie S M, Wei N N, Wei J, et al. Effect of compound Danshen dripping pills combined with western medicine on coronary disease with abnormal blood lipid metabolism and its influence on blood viscosity and vascular endothelial function [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2020, 38(4): 162-165.
- [6] 袁 甜, 崔琳琳, 王 莹, 等. 中药网络药理学最新进展 [J]. 中医药学报, 2021, 49(1): 101-106.
Yuan T, Cui L L, Wang Y, et al. Recent progress in network pharmacology of traditional Chinese medicine [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2021, 49(1): 101-106.
- [7] 牛 明, 张斯琴, 张 博, 等. «网络药理学评价方法指南»解读 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
Niu M, Zhang S Q, Zhang B, et al. Interpretation of Network Pharmacology Evaluation Method Guidance [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [8] Spitzer R, Jain A N. Surflex-Dock: Docking benchmarks and real-world application [J]. J Comput Aided Mol Des, 2012, 26(6): 687-699.
- [9] 刘永成, 田 颖, 郭 栋, 等. 复方丹参滴丸治疗原发性高血压的系统评价和Meta分析 [J]. 中草药, 2022, 53(10): 3111-3124.
Liu Y C, Tian Y, Guo D, et al. Fufang Danshen Dripping Pills in treatment of essential hypertension: A systematic review and Meta-analysis [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(10): 3111-3124.
- [10] 刘秀梅, 张述伟, 李 燕. 川芎治疗心血管疾病作用机制的系统药理学研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(11): 2382-2387.
Liu X M, Zhang S W, Li Y. Study on mechanism of *Ligusticum chuanxiong* treating cardiovascular diseases from system pharmacology perspective [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2019, 46(11): 2382-2387.
- [11] 唐 梅, 邢云利, 尤立蕊, 等. 以Stat3通路为靶点干预大鼠心肌肥厚分子机制研究 [J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(2): 105-108.
Tang M, Xing Y L, You L R, et al. The research for molecular mechanism of regulation on Stat3 transduction pathway in cardiac hypertrophy [J]. J Clin Exp Med, 2017, 16(2): 105-108.
- [12] Schiekofer S, Belisle K, Galasso G, et al. Angiogenic-regulatory network revealed by molecular profiling heart tissue following Akt1 induction in endothelial cells [J]. Angiogenesis, 2008, 11(3): 289.
- [13] Ghatge M, Nair J, Sharma A, et al. Integrative gene ontology and network analysis of coronary artery disease associated genes suggests potential role of ErbB pathway gene *EGFR* [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(3): 4253-4264.
- [14] 房立源, 李慧杰, 王志鹏, 等. 基于网络药理学探讨知柏地黄汤治疗前列腺癌的作用机制 [J]. 中国中医药图书情报杂志, 2021, 45(5): 6-12.
Fang L Y, Li H J, Wang Z P, et al. Exploring the mechanism of Zhibai Dihuang Decoction in treating prostate cancer based on network pharmacology [J]. Chin J Lib Inf Sci Tradit Chin Med, 2021, 45(5): 6-12.
- [15] Kumar A, Singh U K, Kini S G, et al. JNK pathway signaling: A novel and smarter therapeutic targets for various biological diseases [J]. Future Med Chem, 2015, 7(15): 2065-2086.
- [16] Zhu W S, Guo W, Zhu J N, et al. Hsp90aa1: A novel target gene of miR-1 in cardiac ischemia/reperfusion injury [J]. Sci Rep, 2016, 6: 24498.
- [17] Rajavel T, Packiyaraj P, Suryanarayanan V, et al. β -sitosterol targets Trx/Trx1 reductase to induce apoptosis in A549 cells via ROS mediated mitochondrial dysregulation

- and p53 activation [J]. Sci Rep, 2018, 8: 2071.
- [18] 李 璠. 积雪草酸对小鼠心肌缺血损伤的保护作用及机制 [D]. 南京: 南京医科大学, 2017.
- Li F. Protective effects and the involved mechanisms of Asiatic acid on myocardial ischemia injury in mice [D]. Nanjing: Nanjing Medical University, 2017.
- [19] 谢延峥, 马 金, 邹 旭. PI3K/Akt 信号通路串扰在心肌缺血再灌注损伤中的作用及中医药防治进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(24): 201-210.
- Xie Y Z, Ma J, Zou X. Effect of PI3K/Akt signal pathway crosstalk in myocardial ischemia reperfusion injury and prevention and treatment with traditional Chinese medicine therapy [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2020, 26(24): 201-210.
- [20] 杨 斌, 芮轶群, 王 欢, 等. 基于网络药理学预测桃仁-红花药对治疗心绞痛的分子机制 [J]. 中医药临床杂志, 2020, 32(5): 882-889.
- Yang B, Rui Y Q, Wang H, et al. Predicting the molecular mechanism of Taoren-Honghua on the treatment of angina pectoris based on network pharmacology [J]. Clin J Tradit Chin Med, 2020, 32(5): 882-889.
- [21] 龚焱婷, 李彦萍, 程亚茹, 等. 基于 HIF-1 信号通路研究芪参益气滴丸治疗心肌缺血的分子机制 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(15): 3949-3959.
- Gong Y T, Li Y P, Cheng Y R, et al. Molecular mechanism of Qishen Yiqi Dripping Pills in treating myocardial ischemia: A study based on HIF-1 signaling pathway [J]. China J Chin Mater Med, 2021, 46(15): 3949-3959.
- [22] Jin Y X, Yin X D, Li Z Y, et al. Mechanism of Baihe Decoction in the treatment of coronary heart disease based on network pharmacology and molecular docking [J]. Ann Palliat Med, 2021, 10(3): 3205-3218.

[责任编辑 刘东博]