

基于网络药理学研究参松养心胶囊治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病

陆昌彬

复旦大学附属中山医院厦门医院心内科 厦门 361000

【摘要】目的 应用网络药理学研究方法挖掘参松养心胶囊治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病的潜在作用机制。**方法** 通过中药系统药理学技术与分析平台 TCMSP、BATMAN-TCM 检索赤芍、麦冬、丹参、甘松、黄连、南五味子、人参、桑寄生、山茱萸、酸枣仁、龙骨、土鳖虫的主要活性成分，并进行靶点预测。利用 Uniprot 数据库获取活性成分对应的靶基因。利用 Drugbank 数据库检索冠状动脉粥样硬化性心脏病相关疾病靶点，同时使用 Uniprot 数据库获取疾病靶点对应的靶基因。将药物靶点与疾病靶点进行交集，筛选得到共同作用靶点。通过 String 平台构建作用靶点之间的互作关系，并导入 Cytoscape 3.7.1 软件构建靶蛋白互作关系网络 (PPI)。通过 DAVID 分析平台，对参松养心胶囊治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病作用靶点进行 GO 分析和 KEGG 通路富集分析。**结果** 经数据库分析参松养心胶囊含活性化合物 185 个，531 个作用靶点，216 个冠状动脉粥样硬化性心脏病相关疾病靶点，筛选出共同靶点 44 个。HTR2A、NOS3 为主要核心靶点。其中涉及 2 条主要信号通路，包括 5-羟色胺能突触、钙离子信号通路。参松养心胶囊可能通过这些通路发挥其治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病的作用。**结论** 通过构建成分-靶点-通路-疾病网络，初步探讨了参松养心胶囊活性成分治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病的作用机制，为参松养心胶囊今后在临床应用及机制研究方面提供了新的思路 and 方向。

【关键词】 网络药理学；参松养心胶囊；冠状动脉粥样硬化性心脏病

【中图分类号】 R541.4

【文献标识码】 A

【文章编号】 2095-7858 (2022) 01-010-05

1 背景

参松养心胶囊由人参、麦冬、山茱萸、丹参、酸枣仁(炒)、桑寄生、赤芍、甘松、黄连、南五味子、龙骨、等 12 味中药组成。可用于治疗冠心病室性早搏属气阴两虚，心络瘀阻证。1990 年至 2013 年，中国心血管疾病死亡绝对数增加了 46%，相比美国和西欧心血管疾病死亡绝对数分别高出 4 倍和 3 倍。在此期间，死于冠心病的人数增加了一倍^[1]。2016 年中国冠心病的年龄标准化死亡率均显著高于美国和西欧，尽管 1990 年至 2013 年年龄标准化心血管疾病死亡率显著下降了 21%^[2]。2019 年《全球疾病、伤害和风险因素负担研究》显示心血管疾病 (CVD) 占全球死亡人数的三分之一。心血管疾病死亡人数最多的国家是中国^[3]。目前多项研究表明，参松养心胶囊联合其他药物等药物在冠心病的治疗有很好的效果^[4-5]，但详细的药理及实验研究还不成熟，参松养心在冠心病治疗作用的物质基础和分子机制尚未完全阐明。

网络药理学是筛选和利用网络大数据，对药物、活性成分、靶点、基因、作用通路及疾病之间复杂的网络关系进行筛选和连接，并通过科学系统化作图来阐明相互之间的关系，后续可通过实验来进一步验证、评估药物的作用机制甚至治疗效果，这将引领复方中药在西医疾病治疗领域发展。本文应用网络药理学挖掘参松养心胶囊治疗冠心病的药理作用机制，运用现代科学技术阐述该药的多成分、多靶点以及相互作用，为今后冠心病的诊治及研究提供新的思路 and 依据。

2 材料和方法

2.1 参松养心胶囊化学成分及靶点获取

参松养心胶囊由人参、麦冬、山茱萸、丹参、酸枣仁、桑寄生、赤芍、甘松、黄连、南五味子、土鳖虫、龙骨组成。在中药系统药理学技术与分析平台 TCMSP (<http://lsp.wsuaf.edu.cn/tcmsp>)、BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm>) 数据库，设定类药性 (DL) ≥ 0.18 ，口服吸收率 (OB) $\geq 30\%$ 作为主要筛选条件，对所有的成分进行检索。运用 Uniprot 数据库将检索得到的成分转为相应的靶点。

2.2 冠状动脉粥样硬化性心脏病靶点获取

利用 Drugbank 数据库 (<https://go.drugbank.com/>) 进行关键词“coronary heart disease”检索，并导入 Uniprot 数据库获取疾病相关靶点。

2.3 药物与疾病共同靶点获取

应用 Venny2.1.0 (bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html) 对药物和疾病的靶点进行交集，绘制韦恩图，同时筛选出二者的共有靶点。

2.4 构建“药物-活性成分-共同靶点”网络图

利用 Cytoscape 3.7.1 软件建立“药物-活性成分-共同靶点-疾病”网络图，各节点代表基因或活性成分，各节点之间的连接代表活性成分与其作用靶点之间的联系。

2.5 GO 功能分析及 KEGG 信号通路富集分析

将药物与疾病对应潜在靶点导入 DAVID 数据库进行基因富集分析。设定 Count 值 > 6 ，同时以 P 值 < 0.01 作为具有差异统计学意义的筛选条件，对共同靶点进行 GO 分析。设定 Count 值为 4，同时以 P 值 < 0.01 作为具有差异统计学意义的筛选条件，对共同靶点进行 KEGG 分析。

2.6 “药物活性成分-靶点-通路”网络的构建与分析

综合以上结果，利用 Cytoscape 3.7.1 软件构建药物活性成分-核心靶点-信号通路网络互作网络。

3 结果

3.1 参松养心胶囊主要化合物及靶点筛选结果

通过 TCMSP 数据库中检索参松养心化学成分如下：赤芍 30 个、麦冬 19 个、丹参 6 个、甘松 6 个、黄连 15 个、南五味子 6 个、人参 22 个、桑寄生 2 个、山茱萸 20 个、酸枣仁 9 个、土鳖虫 1 个、龙骨 1 个。去除重复值后，总共 185 个化学成分。将所有筛选的化学成分导入 Uniprot 数据库，去除重复值后，最终得到 531 个药物作用靶点。

3.2 药物与疾病共同靶点筛选

通过 Drugbank 数据库进行冠心病疾病靶点检索，共检索到 216 个。利用 Venny2.1.0 绘制韦恩图，同时得到共有靶点

44 个。

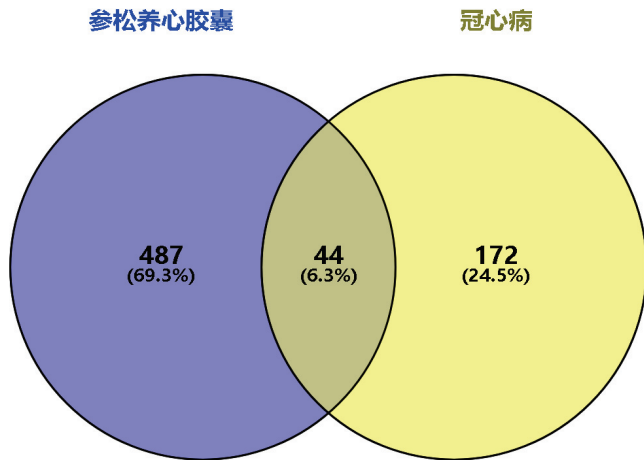


图 1: 参松养心胶囊治疗冠心病的药物-疾病共同靶点韦恩图
Figure 1. Venn diagram of intersection targets of Shensong Yangxin Capsule and Coronary Atherosclerotic Heart Disease

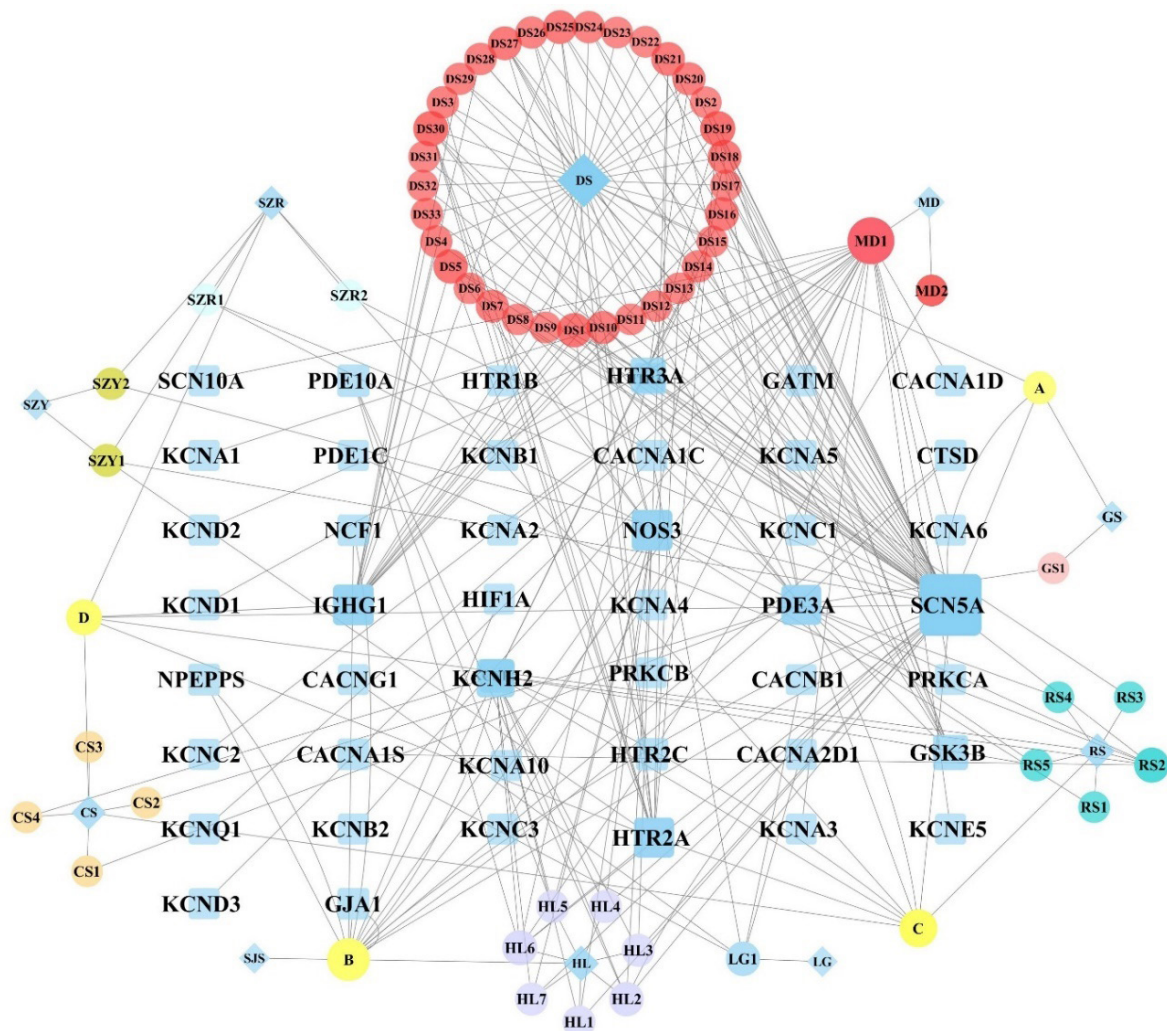
3.3 核心靶点分析

通过 Cytoscape 软件筛选出介数和度值大于中位数的靶点作为核心靶点, 即介数 ≥ 0.011 , 度值 ≥ 5 , 共得到 6 核心靶点, 分别为 SCN5A、IGHG1、NOS3、PDE3A、HTR2A、KCNH2。土鳖虫、五味子两味中药与冠心病无交集靶点, 故将二者剔除, 详见图 2。

3.4 核心靶点生物功能富集分析

应用 DAVID 数据库进行 GO 功能富集分析 ($P < 0.01$, , 最小计数为 6), 共筛选出 22 个条目, 其中生物过程 (BP) 条目 6 个, 分子功能 (CC) 条目 11 个, 细胞组成 (MF) 相关条目 5 个。详见图 3。

GO 富集分析提示: 生物过程主要包括钾离子跨膜转运、离子跨膜转运的调控、钙离子释放、蛋白质均聚、钾离子转运、通过心脏传导调节心率、心脏传导。细胞成分主要包括细胞膜、神经树突、电压门控通道复合体、神经元细胞膜、神经细胞的核周体、神经轴突、神经元胞体、细胞连接、质膜的组成部分、细胞质、细胞内组成部分。分子功能主要包括延迟整流钾通道活性、电压门控钾通道活性、离子结合、离子通道关闭与开放。



注: 菱形代表各个中药; 圆形代表各个中药活性成分; 方形代表基因; 边代表两者之间的关系; CS: 赤芍; MD: 麦冬; DS: 丹参; HL: 黄连; GS: 甘松; RS: 人参; LG: 龙骨; SJS: 桑寄生; SZY: 山茱萸; SZR: 酸枣仁

图 2: 参松养心胶囊与冠心病“药物-活性成分-共同靶点”网络图

Figure 2. medicine-active ingredients-targets network for Shensong Yangxin Capsule and Coronary Atherosclerotic Heart Disease

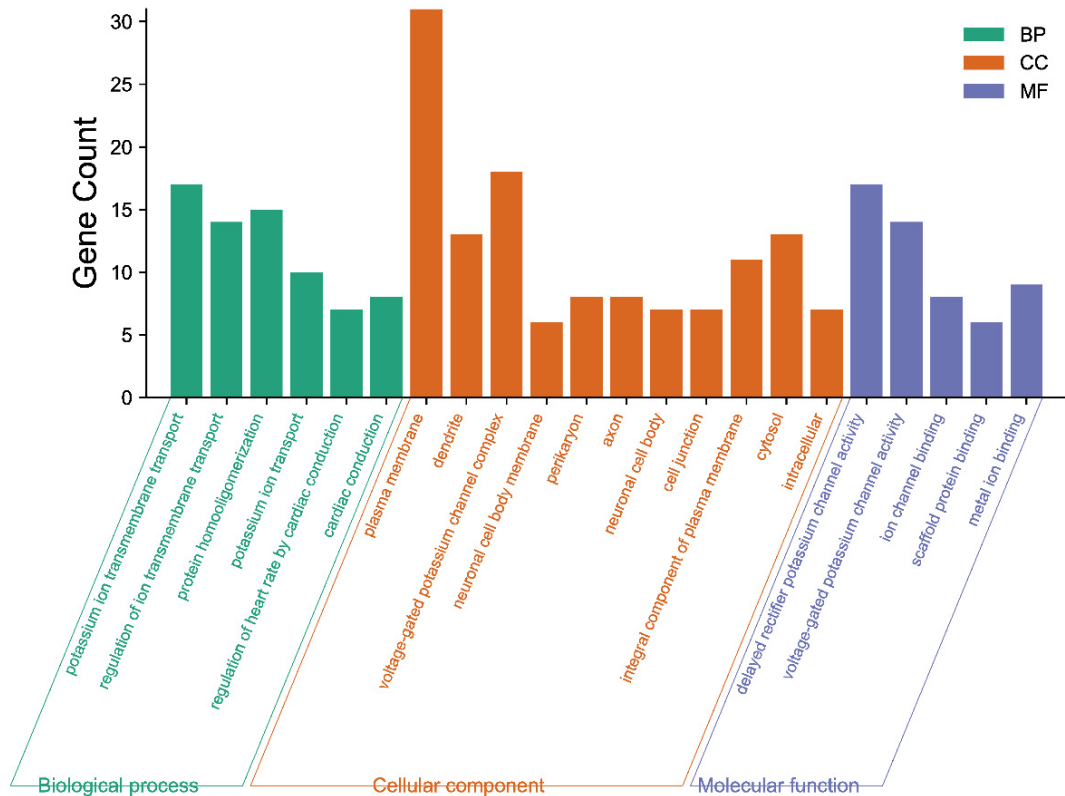


图 3: 参松养心胶囊治疗冠心病的潜在作用靶点的 GO 分析

Figure 3. Go analysis of potential targets of Shensong Yangxin Capsule for Coronary Atherosclerotic Heart Disease

利用 DAVID 数据库进行 KEGG 信号通路分析。设定参考 由 9 个潜在靶标共同控制，分别是 HTR1B、HTR2A、HTR2C、
 阈值 P 值 < 0.01、最小计数值为 6，共筛选得出 22 条通路， HTR3A、CACNA1D、CACNA1S、KCND2、PRKCA、PRKCB。钙离子
 详见图 5。其中富集到靶点数量居前 2 位的信号通路主要有： 信号通路由 8 个潜在靶标共同调控，分别为 HTR2A、HTR2C、
 5- 羟色胺神经突触、钙离子信号通路。5- 羟色胺能突触途径 CACNA1D、CACNA1S、NOS3、PDE1C、PRKCA、PRKCB。

表 1: KEGG 通路的核心靶点数与 FDR 值

KEGG 通路	核心靶点数	FDR
Serotonergic synapse	9	0.000000039
Calcium signaling pathway	8	0.000015
Gap junction	5	0.0022
Morphine addiction	5	0.0022
Cholinergic synapse	5	0.0037
Adrenergic signaling in cardiomyocytes	5	0.0071
Renin secretion	4	0.0073
Oxytocin signaling pathway	5	0.0073
Aldosterone synthesis and secretion	4	0.012
GABAergic synapse	4	0.012
Insulin secretion	4	0.012
GnRH signaling pathway	4	0.013
HIF-1 signaling pathway	4	0.014
Inflammatory mediator regulation of TRP channels	4	0.014
Retrograde endocannabinoid signaling	4	0.014
Thyroid hormone signaling pathway	4	0.019
Vascular smooth muscle contraction	4	0.019
Sphingolipid signaling pathway	4	0.019
Dopaminergic synapse	4	0.022
cGMP-PKG signaling pathway	4	0.035
cAMP signaling pathway	4	0.052
MAPK signaling pathway	4	0.078

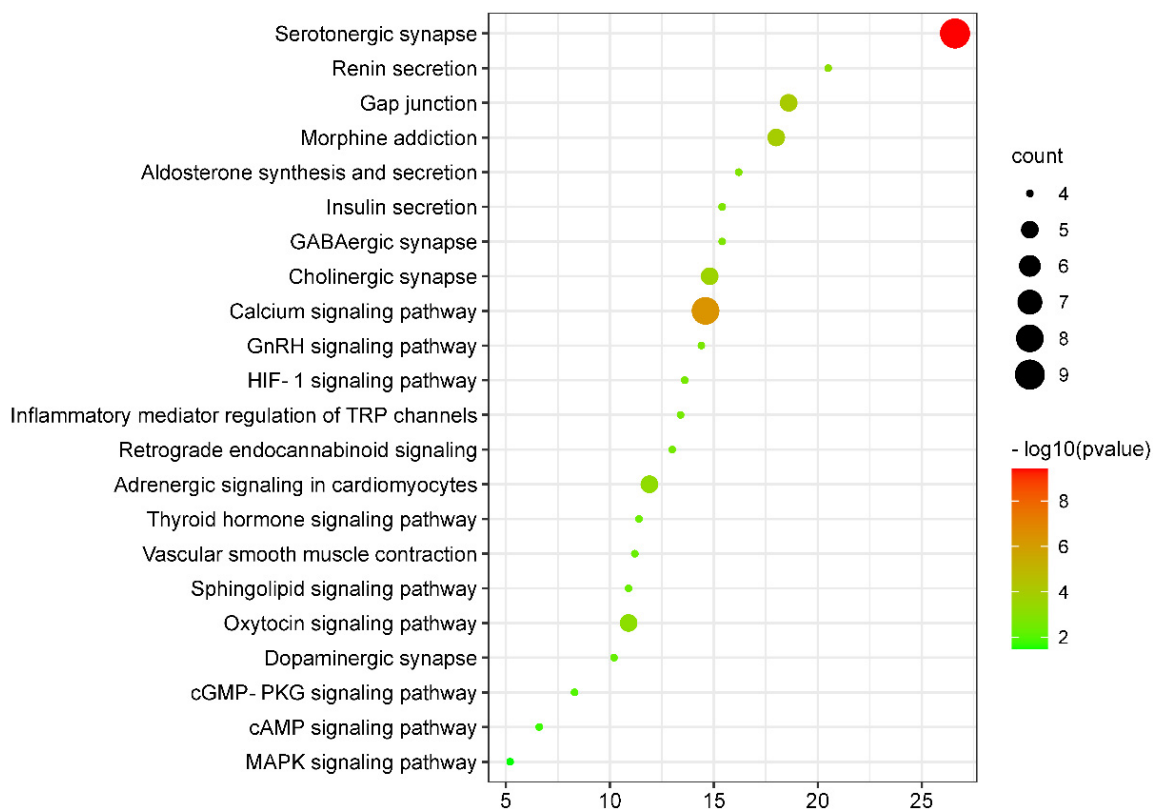


图 4: 参松养心胶囊治疗冠心病的潜在作用靶点的 KEGG 信号通路富集分析

Figure 4. KEGG signaling pathways enrichment analysis of potential targets of Shensong Yangxin Capsule for Coronary Atherosclerotic Heart Disease

3.5 药物活性成分—核心靶点—信号通路网络构建

利用 Cytoscape 3.7.1 软件构建药物活性成分—核心靶点—信号通路网络交互网络, 详见图 6。由图可知, 共 12 种活性成分作用于上述 20 种信号通路, 其中 5-羟色胺神经突触 (Serotonergic synapse)、钙离子信号通路 (Calcium signaling pathway) 在此过程中发挥重要作用。从 KEGG 信号通路分析结果可得知 5-羟色胺神经突触 (Serotonergic synapse) 涉及 9 个作用基因, 钙离子信号通路 (Calcium signaling pathway) 涉及 8 个作用基因。根据药物活性成分—共同靶点—信号通路网络图的 Degree 值, 其中靶标 HTR2A、NOS3 与此作用过程关系最为密切, 可能是参松养心胶囊治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病的关键靶点。提示参松养心胶囊主要通过 HTR2A 核心靶点介导 5-羟色胺能突触, 同时也通过 HTR2A、NOS3 核心靶点介导钙离子信号通路发挥治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病的作用。

4 讨论

本文基于网络药理学的方法, 利用相关数据库和软件对参松养心胶囊治疗冠心病的作用机制进行研究。分析结果显示, 参松养心胶囊共含有 12 味中药, 有效活性成分 185 个, 对应活性成分相关靶点 531 个。冠心病相关靶点 216 个。其中, 冠心病与参松养心胶囊共有基因 44 个。通过“药物—活性成分—共同靶点”网络图、“药物活性成分—核心靶点—信号通路”网络图, 发现丹参、黄连两味中药在参松养心胶囊治疗冠心病的作用尤为突出。已有研究表明丹参可以明显改善胸痛、胸闷、心悸、呼吸急促等冠心病症状。丹参有心血管保护作用多种机制, 包括抗炎, 抗氧化, 抗血栓, 抗血管平滑肌细胞增殖, 抑制血管内皮细胞和白细胞中粘附分子的表达, 急

性心肌缺血的改善^[6]等。近年研究发现黄连在冠心病同样有保护作用^[7]。依据“药物—活性成分—共同靶点”网络图、“药物活性成分—核心靶点—信号通路”网络图, 提示 HTR2A、NOS3 是参松养心胶囊治疗冠心病过程中最核心的靶点。NO 是最具有特征性内皮源性舒张因子, 当内皮细胞释放一氧化氮 (NO) 的能力降低时, 这将可能导致动脉粥样硬化和冠心病的一系列事件^[8]。因此, NO 在内皮细胞对冠心病的保护中起关键作用。它由一氧化氮合酶 (内皮型一氧化氮合酶 (eNOS), NOS3) 的内皮组成型亚型产生的。在冠心病的发展过程中, NOS3 生成减少及活性降低可导致 cAMP 产生增加, 激活蛋白激酶 A (PKA) 导致 L 型钙通道的磷酸化和随后的钙内流^[9], 导致血管平滑肌收缩。丹参的主要成分丹参酮 II-A 磺酸钠通过抑制 L 型 Ca^{2+} 通道诱导大鼠肠系膜动脉血管舒张^[10], 这表明丹参可用于临床心血管疾病治疗。

5-羟色胺 (5-HT) 是一种导致平滑肌收缩的物质, 5-HT 通过激活冠状动脉平滑肌细胞 5-HT_{2A} 受体增加细胞内 Ca^{2+} 水平, 通过释放细胞内储存的 Ca^{2+} 和 (或) 激活 L 型 Ca^{2+} 通道, 致冠状动脉舒张^[11]。

本次研究 GO 富集主要涉及离子跨膜转运、离子跨膜转运的调控、钙离子释放。KEGG 信号通路分析以 5-羟色胺神经突触、钙离子信号通路最为突出。综上所述, 本研究应用网络药理学方法, 对参松养心胶囊治疗冠心病的作用机制进行初步研究。结果表明参松养心胶囊主要通过丹参、黄连两位中药, 辅以其他中药, 以 HTR2A、NOS3 核心作用靶点, 通过 5-羟色胺神经突触、钙离子信号通路发挥治疗冠心病的作用。本研究为参松养心胶囊的进一步基础研究和临床研究提供了新的科学依据。

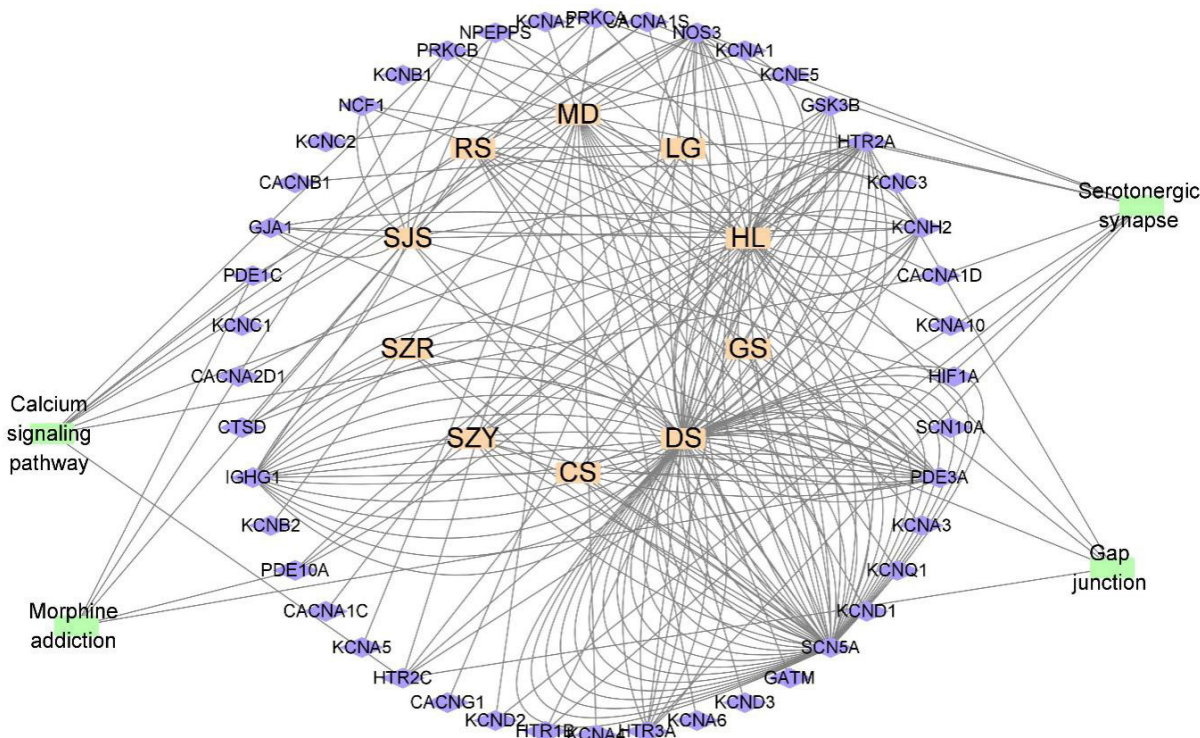


图 6: 参松养心胶囊治疗冠心病的“药物活性成分-靶点-通路”网络图

Figure 6. Network diagram of “active ingredients-target-pathway” of Shensong Yangxin Capsule for Coronary Atherosclerotic

参考文献:

[1] Zhou M , Wang H , Zhu J , et al. Cause-specific mortality for 240 causes in China during 1990-2013: a systematic subnational analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. [J]. Lancet, 2016, 387(10015):251-272..

[2] Camilla M , Giuseppe L . Cancer statistics: a comparison between World Health Organization (WHO) and Global Burden of Disease (GBD)[J]. The European Journal of Public Health, 2019:1-2.

[3] Gar A , Gam B , Fuster CV . The Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risks[J]. Journal of the American College of Cardiology, 2020, 76(25):2980-2981.

[4] 曹丽君 . 参松养心胶囊联合丹参川芎嗪治疗冠心病心绞痛的效果探讨 [J]. 中国实用医药, 2020, 15(06):118-120.

[5] 裴毅 . 观察参松养心胶囊联合美托洛尔缓释片治疗老年冠心病心律失常的可行性及有效性 [J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(30):71+152.

[6] Li Z M , Xu S W , Liu P Q . Salvia miltiorrhizaBurge (Danshen): A golden herbal medicine in cardiovascular therapeutics[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2018.

[7] Wang J , Wang L , Lou G H , et al. Coptidis Rhizoma: a comprehensive review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology[J]. Pharmaceutical Biology, 2019, 57(1):193-225.

[8] Garcia V , Sessa W C . Endothelial NOS: perspective and recent developments[J]. British Journal of Pharmacology, 2019, 176(2):189-196..

[9] Sessa, William, C, et al. Contemporary Approaches to Modulating the Nitric Oxide-cGMP Pathway in Cardiovascular Disease[J]. Circulation Research A Journal of the American Heart Association, 2017,120(7):1174-1182.

[10] Zhang X D , He C X , Cheng J , et al. Sodium Tanshinone II-A Sulfonate (DS-201) Induces Vasorelaxation of Rat Mesenteric Arteries via Inhibition of L-Type Ca²⁺ Channel[J]. Front Pharmacol, 2018, 9:62-.

[11] Wang H , Gao X Y , Rao F , et al. Mechanism of contractile dysfunction induced by serotonin in coronary artery in spontaneously hypertensive rats[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2020 Nov;393(11):2165-2176.

(上接第 9 页)

本次研究证实, 基于急诊动脉栓塞术下, 产妇止血效果、手术用时以及并发症情况均得到了合理的优化。

综上, 为了有效提升产妇产后大出血治疗效果, 医疗人员应积极做好急诊动脉栓塞术在临床过程中的应用。

参考文献:

[1] 胡本玲, 田佳佳, 高兴斌 . 盆腔动脉介入栓塞在产科急性大出血中的临床应用进展 [J]. 当代医学, 2019,

25(19):192-194.

[2] 郑亚成 . 急诊介入子宫动脉栓塞术对产后大出血患者的临床研究 [J]. 中国实用医药, 2019, 14(15):46-47.

[3] 杜紫雷 . 产后大出血急诊介入治疗临床疗效观察 [J]. 现代医用影像学, 2019, 28(02):278-279.

[4] 薛顺青, 朱鹏飞, 沙卫华 . 子宫动脉栓塞术在产后大出血临床治疗中的应用价值 [J]. 中国卫生标准管理, 2017, 8(11):67-68.