

· 网络药理学 ·

# 清心解瘀方组方中药入血成分的网络药理学分析

李圣耀, 杨琳, 高铸焯, 徐浩, 史大卓\*  
(中国中医科学院西苑医院, 北京 100091)

**[摘要]** 采用BATMAN-TCM平台对清心解瘀方组方中药(黄芪、丹参、川芎、藿香、黄连)的19个入血成分进行网络药理学分析,预测得到靶标基因60个,这些基因在27条通路显著富集,提示清心解瘀方可能通过抑制炎症反应、抗血小板、调节心肌细胞钙稳态、抑制交感神经系统、调节糖脂代谢等环节发挥治疗冠心病的作用。通过靶标基因的疾病条目富集分析发现,清心解瘀方不仅可以治疗缺血性心脏病、心律失常、高血压、心力衰竭等心血管疾病,可能对帕金森氏病、慢性阻塞性肺病、抑郁症等当今社会的常见病、多发病亦有一定的治疗作用。

**[关键词]** 清心解瘀方; 冠心病; 瘀毒; 网络药理学; 炎症反应

**[中图分类号]** R24;R285;R96;R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)05-0198-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2018050198

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171213.1032.036.html>

**[网络出版时间]** 2017-12-13 16:36

## Network Pharmacological Analysis of Absorbed Components of Qingxin Jieyu Formula in Blood

LI Sheng-yao, YANG Lin, GAO Zhu-ye, XU Hao, SHI Da-zhuo\*

(Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

**[Abstract]** Nineteen components from Qingxin Jieyu formula in blood were imported in BATMAN-TCM platform to make the network pharmacological analysis. Sixty target genes were significantly enriched in 27 *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) signaling pathways, which were related with inhibiting inflammatory reaction, antiplatelet, regulating calcium homeostasis, inhibiting sympathetic nervous system, regulating glucose and lipid metabolism, et al. In addition, the disease items enrichment analysis showed that not only cardiovascular diseases, such as ischemic heart disease, arrhythmia, hypertension and heart failure, but also other common diseases, such as Parkinson's disease, chronic obstructive pulmonary disease, depression and so on, may be treated by Qingxin Jieyu formula.

**[Key words]** Qingxin Jieyu formula; coronary artery disease; blood stasis-toxin; network pharmacology; inflammatory reaction

清心解瘀方由黄芪、丹参、川芎、藿香、黄连组成,是针对冠心病“瘀毒”病因病机<sup>[1]</sup>的代表方,由陈可冀院士治疗心肌梗死的经验方——愈梗通瘀汤化裁而来。既往临床研究发现<sup>[2]</sup>,清心解瘀方具有降低冠心病患者的炎症因子、调节糖脂代谢、改善阿司匹林抵抗等作用,但其分子机制尚不清楚。

目前,网络药理学已成为研究中药复方分子作用机制的有力工具。BATMAN-TCM<sup>[3]</sup>(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm>)作为实现一站式网络药理学分析的研究平台,其整合了DrugBank<sup>[4]</sup>(版本号20150726),京都基因和基因组百科全书(KEGG,版本号20140731)<sup>[5]</sup>,治疗靶点数据库

**[收稿日期]** 20170813(010)

**[基金项目]** 国家科技支撑计划项目(2013BAI02B01);中国中医科学院博士研究生创新人才培养基金项目(CX201602)

**[第一作者]** 李圣耀,博士,从事中西医结合心血管病研究,E-mail:lsycardio@163.com

**[通信作者]** \*史大卓,研究员,从事中西医结合心血管病研究,Tel:010-62860499,E-mail:shidztc@163.com

(TTD, 版本号 4.3.02)<sup>[6]</sup> 等数据库中的“已知药物-靶标”数据, 利用该平台进行的中药复方药靶预测在实验中也成功得到了验证<sup>[7]</sup>。故本研究拟利用 BATMAN-TCM 平台对清心解瘀方组方中药入血成分进行靶点预测、药靶功能分析及中药成分-靶点-通路-疾病网络的可视化呈现, 以尝试揭示该复方治疗冠心病的分子作用机制。

## 1 方法

### 1.1 文献检索清心解瘀方组方中药的入血化合物

只有入血成分才是中药的真正有效成分<sup>[8]</sup>。以黄芪、丹参、川芎、藿香、黄连、入血、药代动力学等为关键词在 CNKI, 万方和 Pubmed 数据库中检索清心解瘀方组方中药的入血化合物, 将其导入 BATMAN-TCM 平台进行靶标基因预测及分析。

1.2 预测靶标基因 靶标基因预测通过计算“入血化合物-靶标”与“已知药物-靶标”之间的相似性得分 (score) 获得, 在 BATMAN-TCM 平台中设置以 score ≥ 20 的靶标作为入血化合物的靶标基因。

1.3 靶标基因富集分析 为阐明清心解瘀方的作用机制, 将靶标基因在信号通路和疾病两方面条目中进行富集分析。信号通路数据来自 KEGG 数据库<sup>[5]</sup> (版本号 20140704), 基因-疾病数据来自在线人类孟德尔遗传数据库<sup>[9]</sup> (OMIM, 版本号 20140313) 和 TTD<sup>[6]</sup> (版本号 4.3.02)。富集分析皆基于超几何累积分布检验, 多重测试校正基于 Benjamini-Hochberg 校正方法。如果靶标在 KEGG 信号通路和 OMIM/TTD 疾病信息等某一条目上的超几何分布检验校正后的 *P* 小于设定界值 (*P* < 0.05), 即认为靶标在该条目上富集。

1.4 分析与冠心病发病与治疗相关的靶标基因与通路 将 BATMAN-TCM 平台预测出的靶标基因与信号通路带入首个针对冠心病的网络药理学研究软件平台 CHD@ ZJU (Ver 2.0)<sup>[10]</sup> (<http://pharminfo.zju.edu.cn/chd>) 进行比对, 该平台包含基于文献证实的 1 073 个与冠心病发病及治疗相关的基因和 45 条信号通路。靶标基因对应的蛋白及功能通过 UniProt 数据库<sup>[11]</sup> (<http://www.uniprot.org>) 查询。

## 2 结果

2.1 清心解瘀方组方中药的入血化合物 检索得到黄芪中的黄芪甲苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、毛蕊异黄酮-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷和黄芪皂苷 II, 丹参中的丹参素、原儿茶醛、丹酚酸 B 和丹参酮 II<sub>A</sub>, 川芎中的阿魏酸、川芎嗪、藁本内酯, 藿香中的广藿香醇, 黄连中的盐酸小檗碱、表小檗碱、药根碱、

黄连碱、巴马汀共 19 个明确入血的化合物。

2.2 清心解瘀方的靶标基因 score ≥ 20 分的靶标基因有 60 个, 其中 19 个在 CHD@ ZJU (Ver 2.0) 平台中收录, 见表 1。在 UniProt 数据库中检索这些基因对应的蛋白, 包括与炎症反应有关的趋化因子 4 型受体, 与血小板功能有关的花生四烯酸 5-脂氧合酶、血小板糖蛋白 4 和前列腺素 G/H 合酶 1, 与凝血功能有关的凝血酶原, 与交感神经系统有关的 β-1 肾上腺素能受体和 β-2 肾上腺素能受体, 与心肌细胞钙稳态有关的心脏磷蛋白, 与一氧化氮代谢有关的环磷酸鸟苷 (cGMP) 特异性 3', 5'-环核苷酸磷酸二酯酶等。

表 1 收录于 CHD@ ZJU (Ver 2.0) 平台的清心解瘀方靶标基因 (score ≥ 20)

Table 1 Target genes (score ≥ 20) of Qingxin Jieyu formula recorded in CHD@ ZJU (Ver 2.0)

中药	入血成分	基因编号	基因名	score
黄芪	黄芪甲苷	7852	CXCR4	48.000
	黄芪皂苷 II	7852	CXCR4	48.000
丹参	原儿茶醛	5742	PTGS1	48.000
	原儿茶醛	5743	PTGS2	48.000
	丹参素	151	ADRA2B	48.000
	丹参素	153	ADRB1	48.000
	丹参素	154	ADRB2	48.000
	丹参素	155	ADRB3	48.000
	丹参素	240	ALOX5	48.000
川芎	丹参素	7054	TH	48.000
	川芎嗪	2147	F2	80.882
	川芎嗪	2562	GABRB3	80.882
	川芎嗪	948	CD36	22.373
广藿香	川芎嗪	6385	SDC4	22.373
	广藿香醇	367	AR	48.000
黄连	盐酸小檗碱	52	ACP1	373.000
	盐酸小檗碱	4507	MTAP	373.000
	巴马汀	5144	PDE4D	55.444
	巴马汀	5350	PLN	22.373
	巴马汀	8654	PDE5A	22.373

### 2.3 靶标基因的富集分析

2.3.1 KEGG 通路 60 个潜在靶标在 27 条通路显著富集, 其中 3 条通路在 CHD@ ZJU (Ver 2.0) 平台收录, 包括钙离子通道、心肌细胞中的肾上腺素信号通路和间隙连接信号通路。还有 15 条通路虽未显著富集, 但在 CHD@ ZJU (Ver 2.0) 平台收录, 包括血管平滑肌收缩通路, 脂肪细胞因子信号通路, ErbB 受体酪氨酸激酶信号通路, 促性腺激素释放激素 (GnRH) 信号通路, 黑素生成通路, 缺氧诱导因子-1 (HIF-1) 信号通路, Wnt 信号通路, 胰岛素信号

通路,血管内皮生长因子(VEGF)信号通路,补体和凝血级联信号通路,过氧化物酶体增殖物激活型受体(PPAR)信号通路,黏合连接信号通路,核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路,白细胞经内皮迁移及趋化因子信号通路。这些通路涉及的功能见图 1。

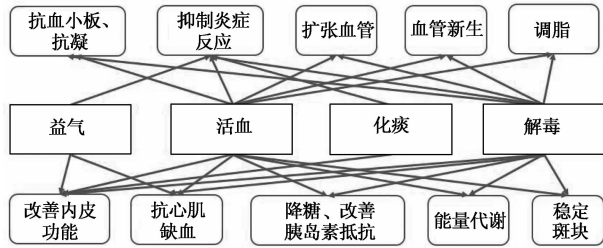


图 1 清心解瘀方治疗冠心病的可能机制  
Fig.1 Possible mechanism of Qingxin Jieyu formula for treating coronary artery disease

2.3.2 OMIM/TTD 疾病条目 60 个靶标基因在 40 个 OMIM 以及 58 个 TTD 疾病条目显著富集。不仅涉及缺血性心脏病、心律失常、高血压、心力衰竭等心血管疾病,还涉及帕金森氏病、慢性阻塞性肺病、抑郁症等当今社会的常见病、多发病。

2.3.3 有效成分-靶标基因-信号通路/疾病的网络可视化 使用 Cytoscape 3.2.0 软件将有效成分-靶标基因-信号通路-疾病显著富集的相关性进行网络呈现,见图 2。

在有效成分-靶标基因-信号通路-疾病关网络中,包含 4 种类型的节点,橙色七边形表示清心解瘀方可能的有效成分,蓝色菱形表示靶标基因,黄色圆形表示 KEGG 信号通路,红色正方形表示 OMIM 收录疾病,绿色正方形表示 TTD 收录疾病。这些节点

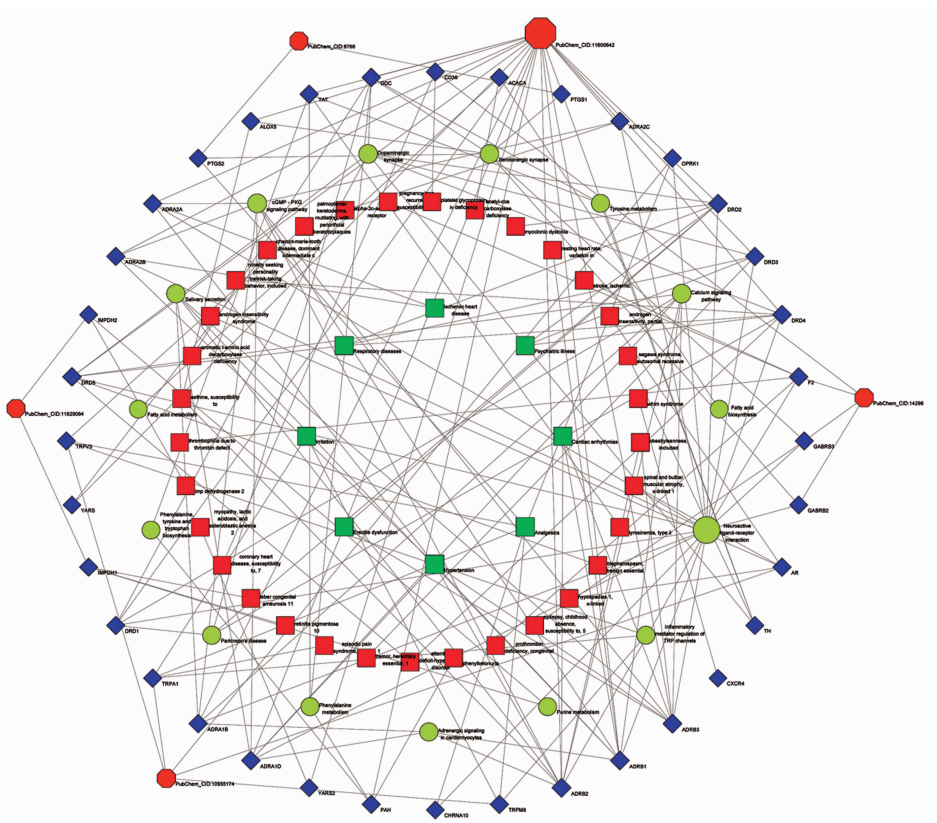


图 2 清心解瘀方有效成分-靶标基因-显著富集的信号通路/疾病关网络  
Fig.2 Association network of active components-target genes-significant enriched signal pathways/diseases for Qingxin Jieyu formula

的大小与其在网络中的连接度呈正相关;与靶标连接的化合物越多,与通路/疾病连接的靶标越多,则相应的节点越大。关网络中的边则用来表示有效成分-靶标基因、靶标基因-通路及靶标基因-疾病的联系。由此可见,清心解瘀方具有多成分、多途径、多靶点的作用特点。

### 3 讨论

本研究采用网络药理学方法预测到了清心解瘀方的潜在靶标基因 60 个,在 27 条通路显著富集,有 18 条通路在冠心病网络生物学平台 CHD@ZJU (Ver 2.0) 收录,涉及炎症反应、血小板功能、心肌细胞钙稳态、交感神经系统调节、糖脂代谢等过程。

由图1可知,组方药物中,活血药(丹参、川芎)和解毒药(黄连)作用在多数预测到的冠心病治疗靶点,从药理学层面印证了活血解毒是清心解瘀方起效的核心配伍。活血药和解毒药共同作用于钙信号通路、心肌细胞中的肾上腺素信号通路和脂肪细胞因子信号通路。钙离子通路主要参与信号转导、心肌细胞的生成和分化<sup>[12]</sup>、血管平滑肌细胞收缩和增殖<sup>[13]</sup>、血小板活化<sup>[14]</sup>等过程;心肌细胞中的肾上腺素信号通路主要参与交感神经刺激诱导的心肌细胞正性变力和变时效应<sup>[15]</sup>、心肌细胞凋亡<sup>[16]</sup>;脂肪细胞因子信号通路主要参与脂肪、瘦素、脂联素、胰岛素等的代谢<sup>[17]</sup>,还与炎症反应和斑块破裂<sup>[18]</sup>有关。这不仅与本课题组前期的临床研究<sup>[19]</sup>、实验研究<sup>[20]</sup>、蛋白质组学研究<sup>[21]</sup>、基因芯片研究<sup>[22]</sup>的结果(活血解毒中药配伍能抗血小板、调脂、抑制炎症反应)一致,同时也启发了从调节钙离子通道、调节交感神经系统功能、降糖等方面入手研究“瘀毒”表征及活血解毒中药功效的新思路。

疾病条目富集方面,清心解瘀方不仅能治疗心律失常、高血压、心力衰竭等心血管疾病,还涉及帕金森氏病、慢性阻塞性肺病、抑郁症等疾病。这些疾病多为老年人的常见合并病,清心解瘀方有望在治疗冠心病的同时,使这些合并病得到改善;同时还有望应对常用联合西药的副作用,如他汀类降脂药会增加新发糖尿病风险<sup>[23]</sup>,而清心解瘀方则能降糖降脂并举,这彰显了中医“异病同治”、与西药联用可“减毒增效”的优势。未来应在临床实践中进一步观察,条件成熟时采用随机对照试验进行验证。

本研究也存在一些局限性。纳入网络药理学分析的血成分来源于清心解瘀方组方中药每味药的文献记载,没有考虑不同中药在体内的相互作用,也没有对入血成分进行量化,可能会在一定程度上影响分析结果的准确性,这是目前网络药理学研究普遍存在的瓶颈。本课题组前期临床研究<sup>[2]</sup>所用的清心解瘀方组方中药的配方颗粒(黄芪7.5g,丹参7.5g,川芎5g,藿香5g,黄连2.5g)由深圳华润三九医药贸易有限公司生产,批号1405001H。该配方颗粒每味中药独立包装,剂量固定,质量可控,有效成分相对明确,后续本课题组将用该配方颗粒对本研究预测药靶进行验证试验。本研究基于的BATMAN-TCM平台整合的KEGG信号通路等数据库信息截止至2014年,近3年数据未纳入分析,可能会影响预测结果的完整性和准确性。综上可知,基于网络药理学分析后发现清心解瘀方可能通过抑

制炎症反应、抗血小板、调节心肌细胞钙稳态、抑制交感神经系统、调节糖脂代谢等环节发挥治疗冠心病的作用。

[参考文献]

- [1] 徐浩,史大卓,殷惠军,等.“瘀毒致变”与急性心血管事件:假说的提出与临床意义[J].中国中西医结合杂志,2008,28(10):934-938.
- [2] LI S, GUO M, MAO H, et al. Qing-Xin-Jie-Yu granules in addition to conventional treatment for patients with stable coronary artery disease (QUEST Trial): study protocol for a randomized controlled trial [J]. *Trials*, 2016, 17(1):451.
- [3] LIU Z, GUO F, WANG Y, et al. BATMAN-TCM: a bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine [J]. *Sci Rep*, 2016, doi: 10.1038/srep21146.
- [4] Wishart D S, Knox C, GUO A C, et al. DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36 ( Database issue ): D901-D906.
- [5] Kanehisa M, Goto S, Sato Y, et al. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40 ( Database issue ): D109-D114.
- [6] ZHU F, SHI Z, QIN C, et al. Therapeutic target database update 2012: a resource for facilitating target-oriented drug discovery [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40 ( Database issue ): 1128-1136.
- [7] WANG Y, LIU Z, LI C, et al. Drug target prediction based on the herbs components: the study on the multitargets pharmacological mechanism of Qishenkeli acting on the coronary heart disease [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, doi: 10.1155/2012/698531.
- [8] 王喜军. 中药及中药复方的血清药物化学研究 [J]. *世界科学技术*, 2002, 4(2):1-4.
- [9] Amberger J S, Bocchini C A, Schiettecatte F, et al. OMIM. org: online mendelian inheritance in man (OMIM®), an online catalog of human genes and genetic disorders [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43 ( Database issue ): D789-D798.
- [10] WU L, LI X, YANG J, et al. CHD @ ZJU: a knowledgebase providing network-based research platform on coronary heart disease [J]. *Database (Oxford)*, 2013, doi:10.1093/database/bat047.
- [11] UniProt Consortium. UniProt: a hub for protein information [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43 ( Database

- issue) :D204-D212.
- [12] WANG Y Q, LIU M Y, WU X S. Progress of the calcium signal pathway during cardiomyogenesis and cardiomyocyte differentiation [J]. *Hereditas*, 2004, 26 (2) :227-230.
- [13] Cribbs L L. T-type  $Ca^{2+}$  channels in vascular smooth muscle; multiple functions [J]. *Cell Calcium*, 2006, 40 (2) :221-230.
- [14] ZHAO B. Role of lipoproteins in platelet activation [J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 1996, 7(2) :270-273.
- [15] Wallukat G. The beta-adrenergic receptors [J]. *Herz*, 2002, 27(7) :683-690.
- [16] XIAO R P.  $\beta$ -Adrenergic signaling in the heart; dual coupling of the  $\beta_2$ -adrenergic receptor to G(s) and G(i) proteins [J]. *Sci STKE*, 2001, 2001(104) :re15.
- [17] Gual P, Le Marchand-Brustel Y, Tanti J F. Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation [J]. *Biochimie*, 2005, 87(1) :99-109.
- [18] Lee K, Santibanez-Koref M, Polvikoski T, et al. Increased expression of fatty acid binding protein 4 and leptin in resident macrophages characterises atherosclerotic plaque rupture [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 226 (1) :74-81.
- [19] 陈浩,高铸焯,徐浩,等. 活血解毒中药配伍干预介入后不稳定型心绞痛的临床研究 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2009, 7(10) :1135-1137.
- [20] 姚青,韩静,黄黎明,等. 活血解毒方对糖尿病大鼠视网膜病变内皮素-1 表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(20) :169-172.
- [21] 尚青华. 冠心病血瘀证“瘀毒”病机转变的蛋白质组学研究 [D]. 北京:北京中医药大学, 2013.
- [22] 白瑞娜. 冠心病瘀毒证差异 ncRNAs 表达谱的构建及赤芍枳壳活性成分干预效应研究 [D]. 北京:中国中医科学院, 2015.
- [23] Sattar N, Preiss D, Murray H M, et al. Statins and risk of incident diabetes; a collaborative Meta-analysis of randomised statin trials [J]. *Lancet*, 2010, 375 (9716) :735-742.

[责任编辑 刘德文]