引用本文:张莹莹,张科,宋崟,等."川芎-当归"药对主要活性成分的网络药理学研究[J].安徽医药,2023,27(1):19-24.**DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.01.005.**

◇药学研究◇

"川芎-当归"药对主要活性成分的网络药理学研究

张莹莹[1],张科[2],宋崟[2],马红英[2],邵佳[1],张弋[1]

作者单位:[1]天津市第一中心医院药学部,天津300192;[2]天津医科大学总医院药剂科,天津300052

通信作者:张弋,女,主任药师,硕士生导师,研究方向为医院药学与临床药学,Email:wing_zh1821@sina.com

摘要: **目的** 应用网络药理学方法探究川芎-当归药对的主要活性成分、靶点和药理作用机制。**方法** 研究时间为2020年9—12月。首先以"川芎""当归"为关键词,在TCMSP 2.3数据库中检索药材的成分、靶点和对应疾病数据,构建"药物-成分-靶点-疾病"网络,进行基因本体(gene ontology,GO)分类富集分析、京都基因和基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)通路富集分析,探究"川芎-当归"药对作用机制。**结果** "药物-成分-靶点-疾病"网络包含2个药物、10个活性成分,71个作用靶点,191种疾病。关键靶点涉及环氧化酶2(PTGS2)、过氧化物酶体增生激活受体γ(PPARG)、雌激素受体(ESR1)、β2肾上腺素能受体(ADRB2)、周期蛋白依赖激酶2(CDK2)、热休克蛋白90(HSP90)、促分裂原活化蛋白激酶14(MAPK14)、胆碱能受体2(CHRM2)、5羟色胺受体2A(HTR2A)、凝血因子Ⅱ受体(F2R)、盐皮质激素受体(NR3C2)、内皮型一氧化氮合酶(NOS3)等,关键疾病涉及疼痛、心血管疾病、乳腺癌、阿尔茨海默病、炎症、癌症、焦虑症、精神分裂症、前列腺癌、实体肿瘤、脑损伤等。GO富集分析得到237个条目,包括生物过程178个,分子功能26个,细胞组成33个。通路富集分析包含66条通路,主要涉及神经活性配体-受体相互作用、钙离子信号通道、癌症通路、5-羟色胺能突触、大肠癌、雌激素信号通路、心肌细胞的肾上腺素能信号、甲状腺激素信号通路、cAMP信号通路、血管内皮生长因子信号通路等。**结论** "川芎-当归"药对中多个成分作用于多个靶点和通路,对疼痛、心血管疾病、乳腺癌、阿尔茨海默病、炎症、癌症等多种疾病均一定的治疗作用。

关键词: 川芎; 当归; 药对; 网络药理学; 靶点; 信号通路; 作用机制; 环氧化酶2; 细胞周期蛋白依赖激酶2; 受体,盐皮质激素; 京都基因和基因组百科全书(KEGG)

Study on the network pharmacology of the main active components of "ligusticum-angelica" herb couple

ZHANG Yingying[1],ZHANG Ke[2],SONG Yin[2],MA Hongying[2],SHAO Jia[1],ZHANG Yi[1]

Author Affiliations:[1]Department of Pharmacy,Tianjin First Cenral Hospital,Tianjin 300192,China;[2]Department of Pharmacy,Tianjin Medical University General Hospital,Tianjin 300052,China

Abstract: **Objective** To explore the main active components, targets and mechanism of action of Ligusticum-Angelica herb pair by using the method of network pharmacology.**Methods** This study starts and ends from September 2020 to December 2020. The components, targets and corresponding disease datas of Ligusticum-Angelica were retrieved by Chinese medicine Systems pharmacology database and analysis platform (TCMSP) , and a "drug-component-target-disease" network was constructed, gene ontology (GO) and pathway enrichment (KEGG) were analyzed to explore the mechanism of "Ligusticum-Angelica".**Results** The "drug-component-target-disease" network consisted 2 drugs, 10 active components, 71 active targets and 191 diseases. The key targets involved: PTGS2, PPARG, ESR1, ADRB2, CDK2, HSP90, MAPK14, CHRM2, HTR2A, F2R, NR3C2, NOS3, etc., and key diseases included alzheimer's disease, pain, cancer, breast cancer, cardiovascular disease, anxiety, brain damage, inflammation, prostate cancer, and solid tumors. GO enrichment analysis resulted in 237 items, including 178 items of biological process (BP), 26 items of molecular function (MF) and 33 items of cell composition (CC) . Pathway enrichment analysis included 66 KEGG pathways, including neuroactive ligand-receptor interaction, calcium signaling pathway, pathways in cancer, serotonergic synapse etc.**Conclusion** Multiple components of "Ligusticum-Angelica" herb pair act on multiple targets and pathways, and have therapeutic effects on pain, cardiovascular disease, breast cancer, alzheimer's disease, inflammation, cancer and other diseases.

Key words: Ligusticum; Angelica; Herb couple; Network pharmacology; Targets; Signal pathway; Mechanism of action; Cyclooxygenase 2; Cyclin-dependent kinase 2; Receptors, mineralocorticoid; Kyoto encyclopedia of genes and genomes(KEGG)

"川芎-当归"药对出自宋代《太平惠民和剂局方》的"芎归汤",现已开发为舒脑欣滴丸,临床用于血虚血瘀引起的偏头痛,症见头痛、头晕、视物昏花、健忘、失眠等[1]。当归性温味甘辛,归心、肝、脾

经,善补血活血,调经止痛,润肠通便,并能散寒,凡血虚血瘀有寒症均宜[2],川芎性温味辛,归肝、胆、心包经,善活血行气,祛风止痛,治血瘀气滞诸痛,兼寒者最宜[3]。川芎-当归药对在中医方剂中应用广泛,王欢等[4]利用中医方剂数据库对当归-川芎药对不同配比的中医应用数据进行分析,结果显示含有川芎、当归的方剂共1 242首,对多种疾病有一定的治疗作用。现代研究表明,川芎-当归药对具有扩张血管,尤其是冠状血管,增加冠脉血量,改善心肌缺血和抑制血小板凝聚等药理作用。但目前还没有从分子层面上对该药对的物质基础及作用机制进行研究的论述和报道。近年来,基于网络药理学对中药复方进行"药物-成分-靶点-疾病"相互作用网络和物质基础、靶点、通路分析的研究成为热点。该方法通过构建多层次网络,从基因、分子和细胞层面阐释药物的作用机制[5]。本研究拟通过该方法探究"川芎-当归"药对的主要活性成分、靶点和药理作用机制,本研究起止时间为2020年9—12月。

1 方法

1.1 成分和用靶点的收集与筛选 打开TCMSP 2.3数据库(https://tcmspw.com/tcmsp.php),以"川芎""当归"为检索词,检索药材的成分和靶点。口服生物利用度(OB)是药物研发过程中关键药动学参数,它表示药物经血管外途径给药后,经肝脏进入体循环血液药量中的相对量,其与药物疗效密切相关。OB值与类药性(DL)正相关,OB值高的活性成分其成为药物的可能性越高[6-8]。目前成分常规筛选条件按照口服生物利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18[9]进行筛选。但是由于筛选条件的限制,不能囊括所有的化学成分,对于川芎和当归药材中两个主要化学成分阿魏酸和川芎嗪,由于DL值很低被筛选排除,考虑到这两个成分是药材中的主要成分,且很多研究已经证实有明显的药理作用。因此,将其作为候选成分进行分析。

1.2 疾病数据的收集和靶点对应基因的获取 根据"1.1"节所得靶点,收集TCMSP 2.3数据库中靶点对应的疾病,然后使用Uniprot获取靶点相应基因。具体方法:打开Uniprot网站(https://www.uniprot.org/),选择UniprotKB数据库,以"reviewed:yes AND organism:Homo sapiens (Human)"检索式进行检索,共获得20 394条人的靶蛋白及对应基因的数据,以Excel格式导出,再使用"VLOOKUP"函数匹配所获得疾病靶点对应的基因信息[10]。

1.3 "药物-成分-靶点-疾病"网络的构建 将"川芎-当归"的药物、成分、靶点和疾病数据处理后导入Cytoscape 3.7.1软件中,构建"药物-成分-靶点-疾病"网络,然后使用软件的NetworkAnalyzer进行分析。在网络中,度值(Degree)表示某一节点与其他节点连接边的数量[11];中介中心度(betweenness centrality,BC)表示一个节点担任其他两个结点之间最短路的桥梁的次数。BC值越大,表示节点在网络拓扑结构中的枢纽程度越重要[12]。目前,网络分析的主要方法是选择节点Degree值及BC值高的作为网络的关键节点[11]。本研究也采用该分析方法,探究"川芎-当归"的主要作用靶点、疾病及作用机制。

1.4 GO富集分析和KEGG通路富集分析 将筛选得到的川芎-当归药对靶点基因进行基因功能注释分析和功能富集分析,探究特定基因或蛋白的生物学意义[13]。具体方法,打开DAVID 6.8(https://david. ncifcrf. gov/tools. jsp)数据库,选择"OFFICIAL_GENE_SYMBOL"选项,选择"Homo Sapiens"选项,提交靶点基因列表,进行分析。经数据库处理后,导出数据,设定阈值$P<0.05$,对生物学过程和信号通路进行筛选,并进行绘图[14]。

2 结果

2.1 川芎-当归药对化学成分的确定 在TCMSP 2.3数据库中检索到川芎-当归化学成分314个,其中当归125个,川芎189个。按照OB≥30%和DL≥0.18和结合现有研究结果进行自选的条件筛选,共得到11个化学成分,主要包括:黄酮类、有机酸类、豆甾醇、β-谷甾醇、阿魏酸和川芎嗪等成分,见表1。

2.2 "药物-成分-靶点-疾病"网络分析 "川芎-当归"药对的"药物-成分-靶标-疾病"网络图含有274个节点[2个药物,10个成分,其中洋川芎醌(senkyunone)没有对应靶点,71个靶标,191种疾病]和443条边线,选择Degree和BC排名靠前作为关键节点。网络中Degree值≥10的成分、靶标和Degree值≥5的疾病节点见表2。结果显示:(1)Degree值>10的成分有4个,其中DG-1(β-谷甾醇)、DG-2(豆甾醇)、CX-2(杨梅黄酮)、DG-3(阿魏酸)Degree分别为39、32、26、15,远高于其他化合物节点,为网络中关键节点;(2)Degree≥10的关键靶标12个,包括:环氧化酶2(PTGS2)、过氧化物酶体增生激活受体γ(PPARG)、雌激素受体(ESR1)、β2肾上腺素能受体(ADRB2)、周期蛋白依赖激酶2(CDK2)、热休克蛋白90(HSP90)、促分裂原活化蛋白激酶14(MAPK14)、胆碱能受体2(CHRM2)、5羟色胺受体2A(HTR2A)、凝血因子Ⅱ受体(F2R)、盐皮质激素受体(NR3C2)、内皮型一氧化氮合酶(NOS3);(3)Degree值≥5的疾病11种,包括:疼痛、心血管疾病、乳腺癌、阿尔茨海默病、炎症、癌症、焦虑症、精神分裂症、前列腺癌、实体肿瘤、脑损伤。

表1 川芎-当归中9个化学成分信息

药物	编号	英文名称	中文名称	分子式	相对分子质量	生物利用度/%	类药性
当归	DG-1	beta-sitosterol	β-谷甾醇	$C_{29}H_{50}O$	414	36.91	0.75
	DG-2	stigmasterol	豆甾醇	$C_{29}H_{48}O$	412	43.83	0.76
	DG-3	ferulic acid	阿魏酸	$C_{10}H_{10}O_4$	194	54.57	0.06
川芎	CX-1	sitosterol	谷甾醇	$C_{29}H_{50}O$	414	36.91	0.75
	CX-2	myricanone	杨梅黄酮	$C_{21}H_{24}O_5$	356	40.60	0.51
	CX-3	mandenol	亚油酸乙酯	$C_{20}H_{36}O_2$	308	42.00	0.19
	CX-4	wallichilide	川芎萘呋内酯	$C_{25}H_{32}O_5$	412	42.31	0.71
	CX-5	senkyunone	洋川芎醌	$C_{22}H_{30}O_2$	326	47.66	0.24
	CX-6	perlolyrine	川芎哚	$C_{16}H_{12}N_2O_2$	264	65.95	0.27
	CX-7	FA	叶酸	$C_{19}H_{19}N_7O_6$	441	68.96	0.71
	CX-8	tetramethylpyrazine	川芎嗪	$C_8H_{12}N_2$	136	20.01	0.03

注:DG-1~DG-3为当归成分1~3;CX-1~CX-8为川芎成分1~8。

表2 “药物-成分-靶点-疾病”网络节点及其参数

类型	名称	度值	中介中心度
活性成分	DG-1	39	0.332 7
活性成分	DG-2	32	0.193 9
活性成分	CX-2	26	0.300 8
活性成分	DG-3	15	0.047 0
靶标	PTGS2	39	0.257 4
靶标	PPARG	22	0.093 9
靶标	ESR1	19	0.056 0
靶标	ADRB2	17	0.096 4
靶标	CDK2	15	0.073 7
靶标	HSP90	14	0.074 5
靶标	MAPK14	14	0.058 7
靶标	CHRM2	13	0.050 6
靶标	HTR2A	12	0.054 4
靶标	F2R	11	0.047 4
靶标	NR3C2	10	0.033 9
靶标	NOS3	10	0.046 8
疾病	疼痛	7	0.022 4
疾病	心血管疾病	7	0.027 0
疾病	乳腺癌	7	0.020 3
疾病	阿尔茨海默病	7	0.033 4
疾病	炎症	6	0.037 1
疾病	癌症	6	0.020 7
疾病	焦虑症	5	0.004 4
疾病	精神分裂症	5	0.008 7
疾病	前列腺癌	5	0.011 5
疾病	实体肿瘤	5	0.008 9
疾病	脑损伤	5	0.005 0

2.3 GO富集分析结果 DAVID 6.8数据库得到GO功能富集分析的结果:GO条目237个(P<0.05),其中生物过程(biological process,BP)178个,分子功能(molecular function,MF)26个,细胞组成(cellular component,CC)33个,具体信息见图1,表3。

2.4 KEGG通路富集分析结果 KEGG通路富集分析结果得到66条(P<0.05)信号通路。主要神经活性配体-受体相互作用、钙离子信号通道、癌症通路、5-羟色胺能突触、大肠癌、雌激素信号通路、心肌细胞的肾上腺素能信号、甲状腺激素信号通路、cAMP信号通路、血管内皮生长因子信号通路等;各个信号通路基因富集结果见表4,其中神经活性配体-受体相互作用通路涉及的30个基因,主要包括:GABRB3、CHRM2、GABRA2、CHRM3、GABRA1、CHRM1、CHRNA2、GABRA5、CHRM4、CHRNA7、F2R、ADRB1、ADRB2、HTR2A、OPRM1、ADRA1B、NR3C1、ADRA1A、ADRA2B、ADRA2A、DRD1。

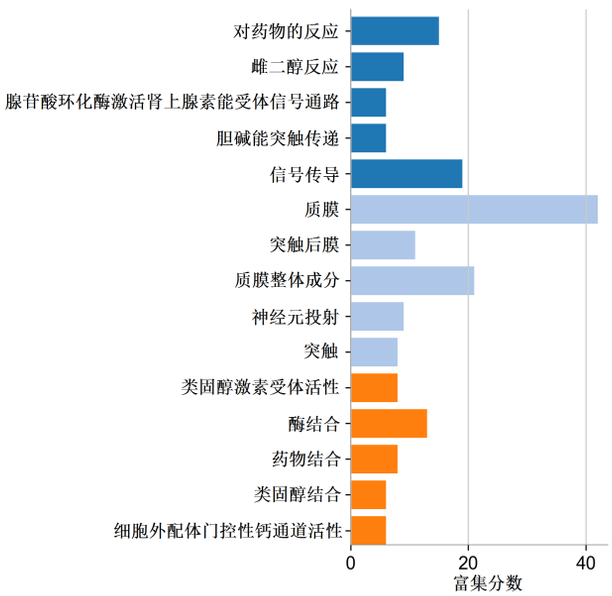

图1 川芎-当归靶标的GO富集分析(P<0.05,BP、MF、CC的P值前5)

3 讨论

本研究应用网络药理学方法对川芎-当归药对的作用机制进行研究。结果显示:从川芎-当归药对314个已知化学成分中,按照OB≥30%和DL≥0.18以及结合现有研究结果进行自选的条件筛选,共得到12个化学成分,主要包括:β-谷甾醇、豆甾醇、阿魏酸、谷甾醇、杨梅黄酮、亚油酸乙酯、川芎萘呋内酯、

表3 川芎-当归药对相应基因GO富集分析结果(阈值$P<0.05$,BP、MF、CC的P值前5注释)

GO生物学过程注释	类型	P值	基因比/%	基因
对药物的反应	BP	1.91×10^{-11}	21.43	JUN, HSP90AA1, TGFB1, MAOB, HTR2A, PTGS2, SLC6A2, ADRA1A, SLC6A3, SLC6A4, CASP3, PDE3A, BCL2, PPARG, DRD1
雌二醇反应	BP	3.47×10^{-9}	12.86	NCOA1, CASP9, F7, TGFB1, CASP8, CASP3, PTGS2, ESR1, SLC6A4
腺苷酸环化酶激活肾上腺素能受体信号通路	BP	1.12×10^{-8}	8.57	ADRB1, ADRB2, ADRA1B, ADRA1A, ADRA2B, ADRA2A
胆碱能突触传递	BP	3.98×10^{-7}	8.57	CHRM2, CHRM3, CHRM1, CHRNA2, CHRNA7, CHRM4
信号转导	BP	6.70×10^{-7}	27.14	GABRB3, CHRM3, HSP90AA1, CHRM1, CHRNA2, GABRA5, CHRM4, CHRNA7, MAPK14, NR3C1, ESR1, ADRA1A, ESR2, ADRA2A, NR3C2, AR, PLAU, PGR, PPARG
质膜	CC	4.85×10^{-11}	60.00	GABRB3,CHRM2,CHRM3,GSK3B,CHRM1,CHRNA2,CHRM4,CHRNA7, ADRB1,ADRB2,HTR2A,ADRA1B,SLC6A2,ADRA1A,SLC6A3,PIK3CG, SLC6A4,DPP4,PLAU,CASP3,KDR,PIM1,LTA4H,DRD1,SCN5A,PRKACA, KCNH2, GABRA2,GABRA1,HSP90AA1, TGFB1, NOS3, GABRA5, F2R, PRKCA, OPRM1, ADRA2B, ESR1, ADRA2A, F7, AR, CALM3
突触后膜	CC	6.56×10^{-9}	15.71	GABRB3, CHRM2, GABRA2, GABRA1, CHRM3, CHRM1, CHRNA2, GABRA5, CHRNA7, CHRM4, F2R
质膜整体成分	CC	1.60×10^{-7}	30.00	GABRB3, CHRM2, CHRM3, GABRA1, CHRM1, GABRA5, CHRM4, F2R, ADRB1, ADRB2, HTR2A, OPRM1, ADRA1B, SLC6A2, ADRA1A, ADRA2B, SLC6A3, ADRA2A, SLC6A4, KDR, DRD1
神经元投射	CC	3.07×10^{-6}	12.86	NCOA1,HSP90AA1,CASP8,MAP2,OPRM1,PTGS2,SLC6A2,SLC6A3,SLC6A4
突触	CC	5.45×10^{-6}	11.43	GABRB3,CHRM2,GABRA2,GABRA1,CHRM3,CHRM1,GABRA5,CHRM4
类固醇激素受体活性	MF	2.76×10^{-9}	11.43	AR, RXRA, PGR, PPARG, NR3C1, ESR1, ESR2, NR3C2
酶结合	MF	9.17×10^{-9}	18.57	NCOA1, JUN, TGFB1, PRKCA, PTGS2, MAPK14, ESR1, ESR2, AR, RXRA, PGR, PPARG, SCN5A
药物结合	MF	2.44×10^{-8}	11.43	CHRM2, GABRA1, CHRM3, CHRM1, CHRNA2, PPARG, HTR2A, SLC6A3
类固醇结合	MF	7.41×10^{-8}	8.57	AR, PGR, NR3C1, ESR1, ESR2, NR3C2
细胞外配体门控性钙通道活性	MF	2.14×10^{-7}	8.57	GABRB3, GABRA2, GABRA1, CHRNA2, GABRA5, CHRNA7

注:BP为生物过程,CC为细胞组成,MF为分子功能。

表4 川芎-当归相应基因京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析结果(阈值$P<0.05$)

KEGG通路	基因比/%	P值	FDR	基因
神经活性配体-受体相互作用	30.00	1.81×10^{-13}	1.99×10^{-11}	GABRB3, CHRM2, GABRA2, CHRM3, GABRA1, CHRM1, CHRNA2, GABRA5, CHRM4, CHRNA7, F2R, ADRB1, ADRB2, HTR2A, OPRM1, ADRA1B, NR3C1, ADRA1A, ADRA2B, ADRA2A, DRD1
钙离子信号通路	22.86	3.88×10^{-11}	2.13×10^{-9}	CHRM2, CHRM3, CHRM1, NOS2, NOS3, CHRNA7, F2R, PRKCA, ADRB1, ADRB2, HTR2A, ADRA1B, ADRA1A, CALM3, DRD1, PRKACA
癌症的通路	27.14	6.86×10^{-9}	2.51×10^{-7}	GSK3B, JUN, HSP90, TGFB1, NOS2, F2R, PRKCA, PTGS2, PIK3CG, CASP9, AR, CASP8, RXRA, CASP3, CDK2, BCL2, BAX, PPARG, PRKACA
5-羟色胺能突触	14.29	6.12×10^{-7}	1.37×10^{-5}	GABRB3, MAOB, MAOA, CASP3, PRKCA, HTR2A, PRKACA, PTGS2, SLC6A4, PTGS1
乙型肝炎	15.71	6.24×10^{-7}	1.37×10^{-5}	CASP9,CCNA2,JUN,TGFB1,CASP8,CASP3,CDK2,BCL2,BAX,PRKCA,PIK3CG
大肠癌	11.43	1.27×10^{-6}	2.31×10^{-5}	CASP9, GSK3B, JUN, TGFB1, CASP3, BCL2, BAX, PIK3CG
吗啡成瘾	12.86	1.47×10^{-6}	2.31×10^{-5}	GABRB3,GABRA2,GABRA1,GABRA5,PDE3A,PRKCA,DRD1,OPRM1,PRKACA
安非他明成瘾	11.43	1.96×10^{-6}	2.69×10^{-5}	JUN, MAOB, MAOA, CALM3, PRKCA, DRD1, PRKACA, SLC6A3
雌激素信号通路	12.86	2.79×10^{-6}	3.41×10^{-5}	HSP90 JUN, NOS3, CALM3, OPRM1, PRKACA, ESR1, ESR2, PIK3CG
心肌细胞的肾上腺素能信号	14.29	3.83×10^{-6}	4.21×10^{-5}	BCL2, CALM3, ADRB1, PRKCA, ADRB2, SCN5A, ADRA1B, MAPK14, PRKACA, ADRA1A
胆碱能突触	12.86	6.61×10^{-6}	6.61×10^{-5}	CHRM2,CHRM3,CHRM1,CHRNA7,CHRM4,BCL2,PRKCA,PRKACA,PIK3CG
甲状腺激素信号通路	12.86	8.60×10^{-6}	7.89×10^{-5}	NCOA1, CASP9, NCOA2, GSK3B, RXRA, PRKCA, PRKACA, ESR1, PIK3CG
cAMP信号通路	15.71	1.05×10^{-5}	8.90×10^{-5}	CHRM2, JUN, CHRM1, F2R, PDE3A, CALM3, ADRB1, DRD1, ADRB2, PRKACA, PIK3CG
唾液分泌	11.43	1.17×10^{-5}	9.20×10^{-5}	CHRM3, CALM3, ADRB1, PRKCA, ADRB2, ADRA1B, PRKACA, ADRA1A
血管内皮生长因子信号通路	10.00	1.74×10^{-5}	1.27×10^{-4}	CASP9, NOS3, KDR, PRKCA, MAPK14, PTGS2, PIK3CG
多巴胺能突触	12.86	1.89×10^{-5}	1.30×10^{-4}	GSK3B,MAOB,MAOA,CALM3,PRKCA,DRD1,MAPK14,PRKACA,SLC6A3

注:FDR为错误发现率。

洋川芎醌、川芎哚、叶酸、川芎嗪。网络拓扑结构分析表明,“川芎-当归”药对中Degree值前四的活性成分为:β-谷甾醇、豆甾醇、杨梅黄酮、阿魏酸。研究显示,在体外β-谷甾醇可以抑制乳腺癌细胞的增殖[15]。李庆勇等[16]通过对豆甾醇抗肿瘤活性以及活性氧(ROS)的研究,发现豆甾醇通过ROS的氧化,钙离子浓度上升的级联反应和阻滞细胞周期的S期和G2/M期从而诱导人肝癌细SMMC-7721凋亡。邢树刚等[17]研究发现:杨梅黄酮可以降低小鼠脑胶质瘤中GL261细胞的MMP-2和MMP-9mRNA的表达水平诱导其凋亡,起到抑制胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭的作用。在网络药理学研究过程中,必要时可以将一些不符合常规筛选条件的,但已经证实有明显的药理作用成分作为候选成分进行分析。同时,网络药理学研究也不能兼顾中药方剂配伍后成分的变化和中药成分在体内的代谢产物,使得研究预测的结果存在一定的局限性。因此,在网络药理学研究过程中,对于成分筛选的方法还是有待于进一步验证和改良的。

网络拓扑结构分析表明主要靶点包括:环氧化酶2、过氧化物酶体增生激活受体γ、雌激素受体、β2肾上腺素能受体、周期蛋白依赖激酶2、热休克蛋白90、促分裂原活化蛋白激酶14、胆碱能受体2、5羟色胺受体2A、凝血因子Ⅱ受体、盐皮质激素受体、内皮型一氧化氮合酶等关键靶点,发挥对多种疾病的治疗作用。例如与疼痛、炎症、肿瘤相关的靶点环氧化酶2(PTGS2)、过氧化物酶体增生激活受体γ(PPARG)、雌激素受体(ESR1)的Degree值分别为39、22、19,远高于其他靶点节点,推测“川芎-当归”药对可能通过作用这几个关键靶标对各种疼痛、炎症和肿瘤等发挥作用。环氧化酶2是前列腺素E2合成的主要限速酶,主要在细胞因子、生长因子等促炎症因素下发挥作用。前列腺素E2与机体的发热、炎症反应和细胞生长及分化等生理活动密切相关。近年研究发现环氧化酶2与多种类型的肿瘤细胞的增殖和转移有关[18]。研究表明,PPARG激动剂通过作用于PPARG受体保护神经元,抑制活化的小胶质细胞,促进活化的小胶质细胞凋亡,最终调节和控制多种中枢神经系统炎症变性疾病,例如阿尔茨海默病、帕金森病以及多发性硬化[19]。研究表明,雌激素可以通过激活雌激素受体,减少氧化应激导致的脑缺血及再灌注期间血管功能障碍,从而改善微血管功能,在体循环中发挥舒张血管和保护神经的作用[20]。

KEGG通路富集结果显示,其中一些基因富集在神经活性配体-受体相互作用、钙离子信号通道、5-羟色胺能突触、雌激素信号通路、心肌细胞的肾上腺素能信号、甲状腺激素信号通路、cAMP信号通路、血管内皮生长因子信号通路等,其中一些信号通路与神经递质相关。结合“药物-成分-靶标-疾病”网络分析结果,阿尔茨海默病、焦虑症、精神分裂症和脑损伤为该药对网络的关键疾病节点,因此推测大脑可能是“川芎-当归”药对作用的靶器官,同时表明“川芎-当归”药对通过调控上述信号通路发挥脑血管疾病的治疗作用。动物试验研究证实:芎归汤提取液可以明显改善东莨菪碱致痴呆小鼠学习记忆能力,缩短小鼠水迷宫潜伏期,延长小鼠跳台潜伏期和减少跳台错误次数[21];川芎和当归通过水蒸气蒸馏提取的挥发油,均可改善化学性脑缺氧小鼠的能量代谢和中枢胆碱能神经系统的功能,起到保护缺氧组织和维持小鼠正常的能量活动的作用[22]。另外还有一些基因富集在肿瘤通路、大肠癌通路、血管内皮生长因子信号通路等与肿瘤直接相关的信号通路上,这也提示“川芎-当归”药对可能会在多种肿瘤的治疗方面发挥作用,值得进一步研究。

参考文献

[1] 周鸿,黄含含,张静泽,等.川芎-当归药对研究进展[J].中成药,2015,37(1):184-188.

[2] 徐小琼,陈博,张小波,等.甘肃各主产区当归UPLC多成分含量测定及评析[J].天然产物研究与开发,2020,32(6):1014-1022.

[3] 张晓娟,张燕丽,左冬冬.川芎的化学成分和药理作用研究进展[J].中医药信息,2020,37(6):128-133.

[4] 王欢,唐于平,丁安伟,等.当归-川芎药对不同配比的中医应用数据分析[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(11):44-47.

[5] 张晓雨,杨欣宇,张琴,等.方证相应理论的系统生物学研究进展[J].辽宁中医杂志,2018,45(6):1335-1337.

[6] RU J,LI P,WANG J,et al.TCMSP:a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform,2014,6:13.

[7] AHMED SS,RAMAKRISHNAN V. Systems biological approach of molecular descriptors connectivity:optimal descriptors for oral bioavailability prediction [J/OL]. PLoS One,2012,7(7):e40654. DOI: 10.1371/journal.pone.0040654.

[8] URSU O,RAYAN A,GOLDBLUM A,et al. Understanding drug-likeness [J]. Wires Comput Mol Sci,2011,1(5):760-781.

[9] 杨娟,郭丽娜,王单单,等.基于网络药理学研究三草降压汤抗糖尿病合并高血压的分子机制[J].安徽医药,2020,24(3):433-437,后插2.

[10] 吴嘉瑞,蔺梦娟,刘鑫馗.基于网络药理学的“金银花-板蓝根”药对作用机制研究[J].中国医院用药评价与分析,2018,18(1):12-17.

[11] 冯春来,顾於梅,秦悦,等.基于模块分解的生物网络分析算法及其应用[J].中成药,2016,38(10):2227-2232.

[12] 黄海滨,杨路明,王建新,等.基于网络拓扑的生物网络关键节

点识别研究进展[J].数学的实践与认识,2011,41(7):114-125.
[13] 王志旺,李荣科,蔺兴遥,等.当归主咳逆上气的中医药理论及现代研究与应用[J].新中医,2016,48(1):4-6.
[14] 王晓艳,李伟霞,张辉,等.基于网络药理学的甘草黄酮类成分药效作用研究[J].中医学报,2020,35(1):155-163.
[15] 刘威良,姬昱,黄艾祥.β-谷甾醇的研究及开发进展[J].农产品加工(上半月),2019,(1):77-79.
[16] 李庆勇,姜春菲,张黎,等.β-谷甾醇、豆甾醇诱导人肝癌细胞SMMC-7721凋亡[J].时珍国医国药,2012,23(5):1173-1175.
[17] 邢树刚,张丽红,金明华,等.杨梅黄酮对小鼠脑胶质瘤GL261细胞增殖和凋亡的影响[J].吉林大学学报(医学版),2018,44(5):955-961.
[18] 张翅腾,王毅.COX2-PGE2调节肿瘤的发生和发展机制研究进展[J].西南军医,2018,20(1):50-53.
[19] QUINTANILLA RA, UTRERAS E, CABEZASOPAZO FA. Role of PPARγ in the differen-tiation and function of neurons [J]. PPAR Res,2014:768594.DOI: 10.1155/2014/768594.
[20] BROTFAIN E,GRUENBAUM SE,BOYKO M,et al. Neuroprotection by estrogen and progesterone in traumatic brain injury and spinal cord injury [J]. Curr Neuropharmacol, 2016, 14 (6): 641-653.
[21] 李晓宇,钱晓路,孙蓉.芎归汤有效组分抗东莨菪碱致痴呆模型学习记忆能力减退量-效关系研究[J].中药药理与临床,2015,31(6):124-128.
[22] 刘露丝,岳美颖,李文兵,等.当归油与川芎油的化学成分及其对急性化学性脑损伤保护作用差异研究[J].中药药理与临床,2016,32(6):105-108.

(收稿日期:2021-01-16,修回日期:2021-03-02)

引用本文:柯昌虎,王运文,严慧,等.基于网络药理学和分子对接探讨康艾注射液治疗乳腺癌的作用机制[J].安徽医药,2023,27(1):24-29.**DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.01.006.**

◇药学研究◇

基于网络药理学和分子对接探讨康艾注射液治疗乳腺癌的作用机制

柯昌虎[1],王运文[2],严慧[1],冯协和[1],刘佳玲[1],李志浩[1]
作者单位:[1]湖北医药学院附属国药东风总医院药学部,湖北 十堰 442008;
[2]湖北医药学院药学院,湖北 十堰 442000
通信作者:李志浩,男,副教授,主任药师,研究方向为中药分析与筛选,Email:281395565@qq.com
基金项目:湖北省卫生健康委员会科研项目(ZY2019Q029);湖北省教育厅科研项目(B2020364);
十堰市科技局科研项目(21Y72、22Y79);国药东风总医院卓越计划青年人才项目(2021Q07)

摘要: 目的 利用网络药理学和分子对接探讨康艾注射液治疗乳腺癌的分子机制。**方法** 该研究起止时间为2021年3—6月。资料来源是通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)、Swiss Target Prediction数据库挖掘康艾注射液的化学成分及靶点,借助Uniprot数据库进行基因名称校正,在GeneCards、OMIM数据库中检索乳腺癌疾病的相关靶点,利用Venny 2.1在线软件获取药物与疾病的共同靶点,由Cytoscape 3.7.2绘制药物-成分-靶点-疾病网络,STRING数据库在线绘制蛋白互作网络,基于DAVID数据库对靶点进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析,运用AutoDock Vina软件对康艾注射液的关键的活性成分和作用靶点进行分子对接验证。**结果** 康艾注射液的32个有效成分通过调控125个靶点和104条通路对乳腺癌产生作用,4个关键的化合物分别为异鼠李素、槲皮素、山柰酚、氧化苦参碱,可通过肿瘤抑制蛋白(TP53)、外消旋-α丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT1)、核转录因子激活蛋白-1(JUN)、丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1)、肿瘤坏死因子(TNF)等关键靶蛋白介导癌症途径、TNF、低氧诱导因子-1(HIF-1)、磷脂酰肌醇-3-激酶-丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(PI3K-Akt)、凋亡途径、核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)样受体、T细胞受体等信号通路发挥抗乳腺癌作用。分子对接表明筛选的靶点蛋白与有效活性成分具有较好的结合活性。**结论** 康艾注射液治疗乳腺癌具有多成分、多靶点、多途径的作用特点,该研究结果为康艾注射液的临床应用及其机制研究提供了理论依据。

关键词: 乳腺肿瘤; 抗肿瘤药,植物; 康艾注射液; 网络药理学; 分子对接; 基因本体(GO); 京都基因与基因组百科全书(KEGG)

Research on the mechanism of *Kangai* injection in treatment of breast cancer based on network pharmacology and molecular docking

KE Changhu[1],WANG Yunwen[2],YAN Hui[1],FENG Xiehe[1],LIU Jialing[1],LI Zhihao[1]
Author Affiliations:[1]Department of Pharmacy, Sinopharm Dongfeng General Hospital, Hubei University of Medicine,