基于网络药理学探讨丹参-檀香治疗冠心病的作用机制

马天泽，王雨欣，孙雨婷，付丹妮，甄东

1. 内蒙古民族大学医学院，内蒙古 通辽 028043
2. 内蒙古自治区蒙药心脑血管药理学重点实验室，内蒙古 通辽 028043

［摘要］**目的：**应用网络药理学相应原理探讨丹参-檀香药对治疗冠心病（CHD）的作用机制。**方法：**在网络药理学的相应原理基础上，首先分别用“丹参”和“檀香”为关键词，在中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP）中获取其活性成分和相应的靶点蛋白，在数据库检索“冠心病”，筛选出潜在的、可治疗CHD的“丹参-檀香”药对的靶点，然后在DAVID数据库和Matescape数据库中进行GO分析、KEGG的富集分析。**结果：**通过使用TCMSP进行检索，可得到檀香的有效成分有3个，丹参的有效成分有65个。在韦恩图中，筛选出的CHD与药对共有靶点27个。KEGG和GO富集分析表明丹参-檀香药对改善CHD可能与脂质与动脉粥样硬化途径、流体切应力和动脉粥样硬化途径有关。分子对接结果表明丹参-檀香能够与CHD相关靶点紧密结合。分析表明，丹参-檀香配伍后可能存在针对CHD的协同作用。**结论：**丹参-檀香药对治疗CHD的过程涉及多种有效成分、靶点和通路，该结果可进一步为研究丹参-檀香药对治疗CHD的作用机制提供相应参考。

［关键词］冠心病；丹参；檀香；网络药理学；作用机制
［中图分类号］R285 ［文献标志码］A ［文章编号］0256-7415（2023）05-0036-06
DOI：10.13457/j.cnki.jncm.2023.05.007

Study on the Mechanism of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma-Santali Albi Lignum in Treating Coronary Heart Disease Based on Network Pharmacology

MA Tianze, WANG Yuxin, SUN Yuting, FU Danni, ZHEN Dong

Abstract：Objective：To explore the mechanism of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma-Santali Albi Lignum in treating coronary heart disease (CHD) by applying the corresponding principles of network pharmacology. **Methods：**On the basis of the corresponding principles of network pharmacology, the active components and corresponding target proteins were obtained from Traditional Chinese Medicine Systematic Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) with "Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma" and "Santali Albi Lignum" as the keywords respectively, and the "coronary heart disease" was searched in the database to screen out the potential targets of "Salvia sandalwood" drug pairs that can treat CHD, and then GO analysis was conducted in DAVID database and Matescape database Enrichment analysis of KEGG. **Results：**By using TCMSP to search, we can get 3 active components of Santali Albi Lignum and 65 active ingredients of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma. In the Venn diagram, there are 27 targets for CHD and drug pairs. The enrichment analysis of KEGG and GO indicated that the improvement of CHD by Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma- Santali Albi Lignum may be related to lipid and atherosclerotic pathways, fluid shear stress and atherosclerotic pathways. The results of molecular docking showed that Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma-Santali Albi Lignum could closely combine with CHD

［收稿日期］2022-09-15
［修回日期］2023-01-05
［基金项目］内蒙古自然科学基金项目（2020BS08013）；内蒙古民族大学博士科研启动项目（BS638）
［作者简介］马天泽（2003-），男，在读本科生，E-mail：2483025433@qq.com。
［通信作者］付丹妮（1984-），女，讲师，E-mail：biops2016@163.com。甄东（1991-），男，讲师，E-mail：dongzhen@imun.edu.cn。

related targets. The analysis shows that there may be a synergistic effect against CHD after the compatibility of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma and Santali Albi Lignum. **Conclusion**: The process of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma–Santali Albi Lignum in the treatment of CHD involves a variety of effective components, targets and pathways. The results can further provide a reference for the study of the mechanism of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma–Santali Albi Lignum in the treatment of CHD.

Keywords: Coronary heart disease; Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma; Santali Albi Lignum; Network pharmacology; Action mechanism

研究表明冠心病(CHD)主要病因是冠状动脉病变，包括冠状动脉粥样硬化和冠状动脉痉挛两种，患者中绝大多数是由冠状动脉粥样硬化所导致[1]。

CHD归属于中医学胸痹的范畴，该病位在心，由很多原因引发，其中较为常见的是瘀血积滞、气血不畅、正气亏虚，还有痰浊阻塞[2]。丹参-檀香药对是施今墨先生经过多年试验总结出的治疗胸痹以及心痛的一个常用药对，其中丹参活血化瘀、散寒止痛，檀香宣发气滞、畅膈宽中，将两药配伍使用，刚好一气一血，气血双调，行气活血，可显著增强通络止痛的功效[3]。

网络药理学是一种系统生物学的研究方法，借助统计学、复杂网络等数学手段，能够更好地诠释中药多成分与机体的网络作用关系，是一种新兴的研究方法[4]。本研究选择网络药理学探讨丹参-檀香药对治疗CHD的作用机制。

1 资料与方法

1.1 药对有效活性成分筛选 在中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)中，分别以“丹参”“檀香”[5]作为关键词检索，然后根据口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18[6]选出其主要有效活性成分。其中，OB描述的是口服药物经由胃肠道以及经过肝脏之后而到达体循环血液中的药量占整体口服剂量的百分比，而DL反映的是某化合物和已知药物两者之间的相似性，OB和DL二者在中药网络药理学研究的有效化合物评价中起到重要作用。

1.2 药物与疾病靶标筛选 应用TCMSP数据库检索丹参-檀香药对有效活性成分信息，可查到靶标基因总称，然后通过Uniprot数据库(https://www.uniprot.org/)将药物有效活性成分产生的结果转准化为相对应的基因简称，之后在GeneCards数据库(https://www.genecards.org/)中以“coronary heart disease”作为关键词，检索CHD的靶标基因。最后将药物的靶标基因与疾病的靶标基因进行比对，从中筛选出共有的靶标，从而得到丹参-檀香药对治疗CHD的靶标。

1.3 有效活性成分靶标的网络构建 将疾病和药对共有靶点作为研究对象，然后把丹参-檀香药对中的有效相应活性成分靶点还有CHD的靶点一同上传到Cytoscape 3.9.1软件，进行一次可视化的呈现，后由软件绘制成有效活性成分-疾病之间的网络构建图，在该网络中，关键的化合物和靶标用节点表示，而CHD靶标和化合物有效活性成分之间的作用以边来反映[7]。

1.4 通路富集分析 将共有靶标传到DAVID数据库，进行通路富集分析，绘制成图。

1.5 分子对接 选择在KEGG和GO分析结构中显著富集的ENOSF1、MMP9、PPAR 3个核心靶标作为蛋白受体，将其与活性成分中比较重要的luteolin、salviolone、tanshinonen iia 3个化合物作为小分子配体通过AutoDock软件进行分子对接模拟，最终将其结果以热图形式呈现。

2 结果

2.1 丹参-檀香药对有效成分筛选 见表1。通过TCMSP检索可获得檀香有效成分为3个，丹参有效成分为65个。

2.2 丹参-檀香药对与冠心病靶标筛选 见图1。在Gene Cards数据库中以“coronary heart disease”作为关键词，检索CHD的靶标基因，去重后共筛选出1 576个靶点，将丹参和檀香的靶点与CHD的靶点通过Venny2.1在线构建韦恩图筛选出疾病与药物的共有靶点，筛选出CHD与药对共有靶点27个，分

别为 MMP2、CD40LG、TP53、F7、DPP4、GPER1、GSTK1、HMOX1、MET、IGF1R、ICAM1、IFNGR2、IL2、IL6R、MMP1、MMP9、NOS2、NOS3、PPARG、PIK3CG、PTGS1、PTGS2、AKT1、F2、RELA、TNFRSF1A、VEGFA。

2.3　丹参-檀香药对活性成分于冠心病靶标网络构建　见图 2。将 CHD 和药对共有靶点作为研究对象，在 Cytoscape 3.9.1 软件中把药对靶点和疾病靶点相继导入，得到了药对-靶点-疾病的网络构建图，靶点在最下方用深蓝色长方形节点表示，药对在左上方用三角形橘色节点表示，疾病在右上方用紫色菱形节点表示。图中连线越密集，表示该靶点越重要，即靶向关联度越高，而 luteolin 存在于丹参和檀香两种药物之中，且靶向关联度较高，推测其为丹参-檀香药对治疗 CHD 的有效成分。在中药丹参中，与靶点关联度最强的是 tanshinone Ⅱa，其次是 salviolone 和 dihydrotanshinlactone。在中药檀香中，luteolin 与其关联最强，其次是 isorhamnetin。

表 1　丹参-檀香药物有效活性成分

药物	Mol ID	分子名称	OB(%)	DL
丹参	MOL007108	isocryptotanshi-none	54.98	0.39
丹参	MOL007088	cryptotanshinone	52.34	0.40
丹参	MOL007154	tanshinoneiia	49.89	0.40
丹参	MOL007093	dan-shexinkum d	38.88	0.55
丹参	MOL001601	1,2,5,6-tetrahydrotanshinone	38.75	0.36
丹参-檀香	MOL000006	luteolin	36.16	0.25
丹参	MOL007049	4-methylenemiltirone	34.35	0.23
丹参	MOL007145	salviolone	31.72	0.24
檀香	MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31
檀香	MOL002322	isovitexin	31.29	0.72

注：丹参-檀香根据 OB 值仅列出前 10 位有效活性成分，其中 luteolin 为丹参与檀香共有化合物。

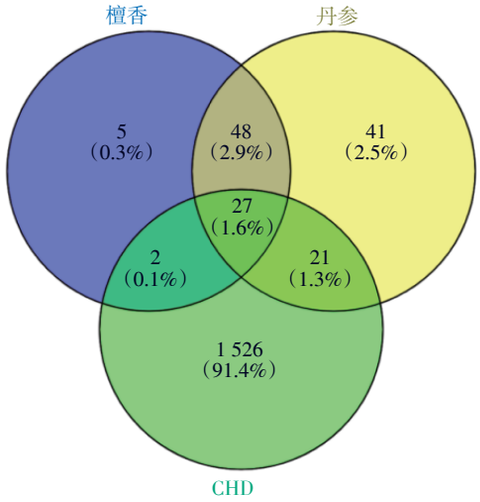


图 1　CHD 与丹参-檀香的共有靶点 venn 图

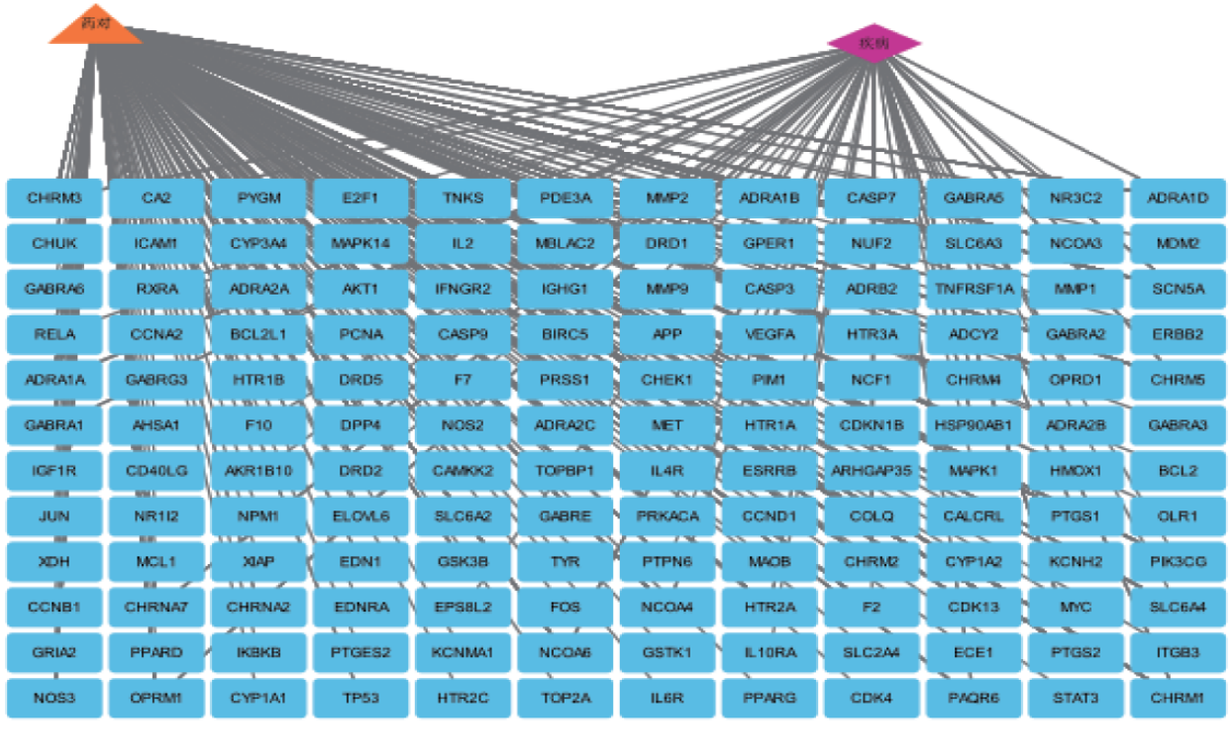


图 2　药对-靶点-疾病网络构建图

2.4　关键靶点筛选　见表2。在Cytoscape 3.9.1中对交集靶点进行拓朴分析，根据拓朴结果Closeness unDir≥0.011 2，Betweenness unDir≥45.333 3，Degree unDir≥12.125对靶点进行筛选，得到关键靶点12个。

2.5　GO通路富集分析　把关键靶点输入在DAVID数据库中进行GO富集分析，在“Homo sapiens”精细分析后得到结果分子功能(MF)、细胞成分(CC)、生物过程(BP)，选出其中富集倍数排在前五的作柱状图分析，结果如图3(横轴表示Count值)，由上到下依次为MF、CC、BP，可考虑将其作为判断关键靶点对疾病影响的依据。

2.6　KEGG通路富集分析　见图4。Matescape数据库中丹参-檀香药对的KEGG分析结果中，共143条有效途径，对Count值前20个通路做柱状图分析。其中，癌症途径、脂质与动脉粥样硬化途径、流体切应力和动脉粥样硬化途径排在前三[8-10]。

表2　关键靶点

名称	Betweenness unDir	Closeness unDir	Degree	Degree unDir
PPARG	93.779 9	0.014 1	25	25
NOS3	134.928 2	0.013 7	23	23
AKT1	302.500 4	0.016 4	34	34
EDN1	99.669 3	0.013 2	20	20
IL2	62.507 1	0.012 3	19	19
STAT3	91.246 1	0.013 5	23	23
TP53	102.708	0.014 3	26	26
FOS	113.064 5	0.013 2	21	21
NOS2	119.442 6	0.012 3	17	17
PTGS2	68.051 1	0.013 7	24	24
MMP9	156.387 9	0.014 5	26	26
VEGFA	139.032 9	0.015 2	29	29

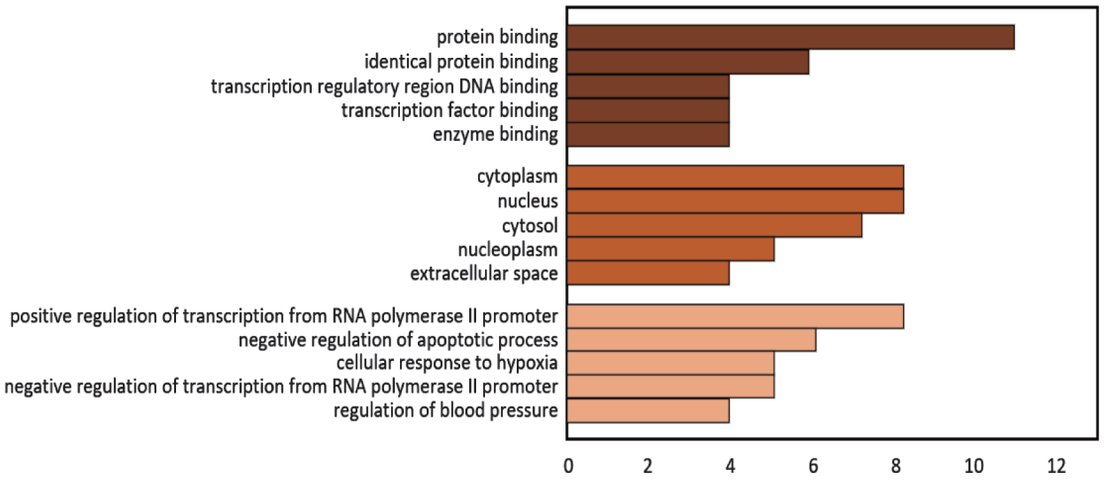


图3　MF、CC、BP富集分析图

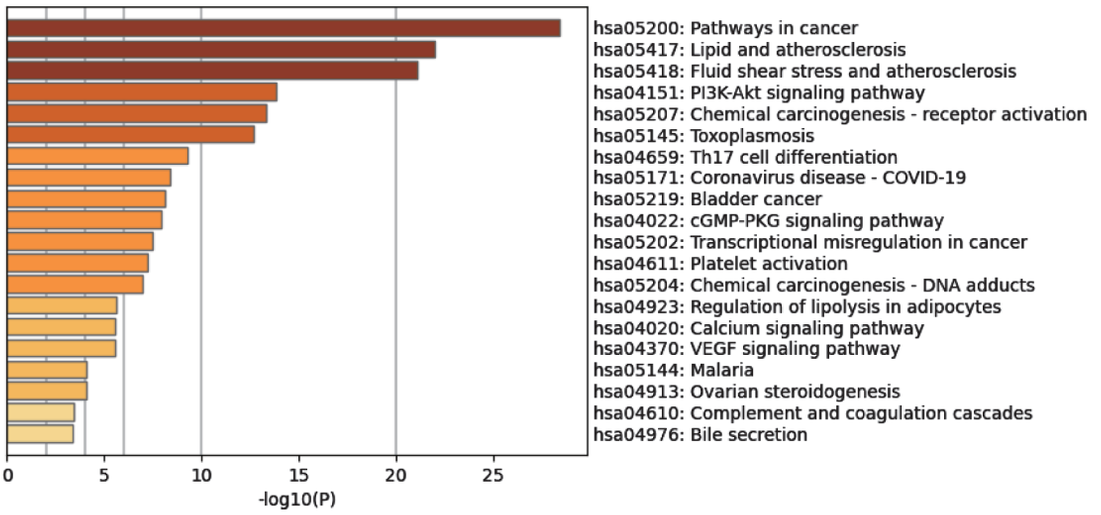


图4　丹参-檀香药对治疗CHD的KEGG通路富集分析

2.7　分子对接验证结果　见表3、图5。本研究选择了在KEGG和GO分析结果中显著富集的PPARG（PDB ID：1i7i）、MMP9（PDB ID：1l6j）、AKT1（PDB ID：3cpu）、TP53（PDB ID：1gzh）及Fos（PDB ID：1fos）5个核心靶标作为蛋白受体，与活性成分中比较重要的luteolin通过AutoDock软件进行分子对接模拟，将对接结果进行可视化处理。在分子对接结果中，结合能≤-5的视为能够自发进行结合，结合能≤-7时认为结合较为紧密。

表3　结合能信息

AKTI	FOS	MMP9	PPARG	TP53
-7.7	-8.7	-7.6	-7.5	-7.4

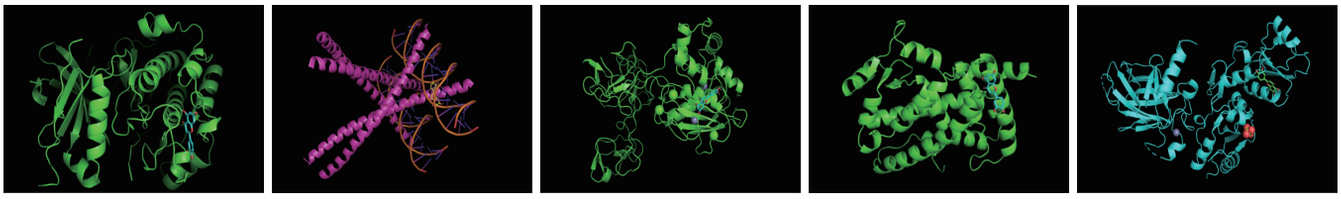


图5　部分成分与靶点的分子对接图像

3　讨论

本研究主要采用网络药理学方法探讨丹参-檀香药对与CHD靶点之间的关系，拟通过此项研究为探讨丹参-檀香治疗CHD作用机制提供研究方向并缩小研究范围。丹参及檀香是中医临床常用药材，丹参注射液是由丹参作为单方治疗冠心病的代表性药物，丹参及其制剂中所含的化学成分因制备方式存在差异，疗效偶尔存在不稳定性[11]。临床上多采用多种药材配伍使用达到增效减毒的目的。檀香多用于寒凝气滞、胸膈不舒、胸痹心痛、脘腹疼痛。本研究借助网络药理学解析丹参及檀香联合应用治疗CHD可能的作用机制。

本研究发现毛地黄黄酮（luteolin）、丹参酮ⅡA（tanshinone iia）、鼠尾草酚酮（salviolone）、异鼠李素（isorhamnetin）、二氢丹参内酯（dihydrotanshinlactone、2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮（2-isopropyl-8-methylphenanthrene-3,4-dione）、四乙基米氏酮（4-methylenemiltirone）、异隐丹参酮（isocryptotanshinone）、隐丹参酮（cryptotanshinone）、四氢丹参酮I（1,2,5,6-tetrahydrotanshinone）、丹参新醌aj（danshexinkum）等作为丹参和檀香的主要化学成分在整个药理学网络中的关联度较高，很有可能是治疗CHD的关键化学成分[12-14]，其有效成分主要涉及的生物过程为血液循环、对氧气水平下降的反应和炎症应答等，主要涉及的途径有癌症途径、脂质与动脉粥样硬化途径、流体切应力和动脉粥样硬化途径等。现代药理学研究表明，luteolin转化生长因子β受体1抑制VSMC增殖、迁移改善CHD[15]。丹参酮ⅡA磺酸钠可明显改善患者血液流变学，调节血脂水平，降低细胞因子水平，治疗CHD心绞痛。这些结果表明丹参和檀香的活性成分相互协调、共同发挥治疗CHD的作用。另外，本研究中丹参-檀香药对的关键靶点分析显示其可分为脂质代谢有关靶点PPARG、肿瘤相关靶点TP53、细胞增殖相关靶点AKT1、FOS、蛋白重组相关靶点MMP9等几大类。进一步GO和KEGG富集分析表明，脂质与动脉粥样硬化途径、流体切应力和动脉粥样硬化途径可能为治疗CHD的通路，而分子对接结果显示，丹参-檀香药物中关键成分尤其是最为重要的成分luteolin与PPARG、TP53、AKT1、FOS和MMP9等靶点均能够良好结合，说明丹参-檀香可能通过这些通路相互协调，共同作用来发挥治疗心绞痛的目的。

因此，应用丹参-檀香药对治疗CHD的过程涉及多种有效成分、靶点和通路，符合中医药治疗疾病的特点，即多成分、多靶点和多通路，而该结果也可为进一步研究丹参-檀香药对治疗CHD的作用机制提供相应参考。但是基于目前的研究结果尚不能准确描述其具体的作用机制及特点，需在后续实验中进行更深一步探究。

[参考文献]

[1]　谭成富，严洁，王超，等. 针灸预处理对心肌缺血再灌注损伤兔不同时间热休克蛋白27、70、90表达的影响[J]. 针刺研究，2017，42(1)：31-38.

[2] 吴雨泉，王硕，杜紫微，等. 丹参水溶性成分治疗冠心病的网络药理学研究[J]. 重庆理工大学学报(自然科学)，2021，35(3)：213-221.
[3] 何天竺. 不同配比丹参-檀香“药对”抗心肌缺血再灌注损伤的功效比较及心肌细胞保护机制研究[D]. 长春：长春中医药大学，2019.
[4] 陈善达，万彩云，李亮. 基于数据挖掘和网络药理学的冠心病中医用药研究[J]. 湖南中医杂志，2022，38(1)：21-28.
[5] 党占翠. 藏药三味檀香散改善低氧性肺动脉高压大鼠右心室肥厚和纤维化的机制研究[D]. 青海：青海大学，2020.
[6] 杨静，任星，张菀桐，等. 基于网络药理学探讨藏红花抗动脉粥样硬化的作用机制[J]. 海南医学院学报，2021，27(12)：925-931.
[7] 任雯庆，张世亮. 基于网络药理学研究川芎-丹参药对治疗冠心病的作用机制[J]. 海南医学院学报，2021，27(17)：1319-1327.
[8] 杨丽丽. 基于表达谱数据分析的卵巢癌标志物识别研究及机理分析[D]. 长春：吉林大学，2019.
[9] 张治国. 动脉系统中物质的传输与动脉粥样硬化的相关性[D]. 大连：大连理工大学，2007.
[10] 张英. 流体切应力对人脐静脉内皮细胞P选择素mRNA表达的影响[D]. 大连：大连医科大学，2004.
[11] 郝晨伟，李正翔，张铭慧，等. 丹参及其配伍制剂治疗冠心病的研究进展[J]. 中草药，2021，52(13)：4096-4106.
[12] 刘胜伟，程心旺，廖原，等. 木犀草素抗脑缺血的网络药理学研究[J]. 中国药物警戒，2021，18(8)：760-762.
[13] 凌云飞，李田歌，曹嵘，等. 木犀草素对体外循环导致急性肺损伤的保护作用及其机制研究[J/OL]. 中国胸心血管外科临床杂志，https://kns.cnki.net/kcms/detail/51.1492.R.20210721.1003.012.html.
[14] 刘美萱，刘沙，张蓬，等. 载丹参酮IIA ROS敏感纳米胶束的制备及体外抗炎作用[J/OL]. 烟台大学学报(自然科学与工程版)，https://doi.org/10.13951/j.cnki.37-1213/n.220112.
[15] 吴玉婷. 木犀草素通过转化生长因子β受体1抑制血管平滑肌细胞增殖、迁移及血管内膜增生的作用研究[D]. 广州：南方医科大学，2020.

(责任编辑：吴凌，李海霞)