

基于网络药理学的三黄泻心汤抗 As 作用机制研究

王单单¹, 袁会莹², 吴作敏¹, 田会东¹, 杨忠杰¹, 王瑞¹

(1. 漯河市中心医院临床药理科, 河南省漯河市 462300; 2. 漯河市第二人民医院药剂科, 河南省漯河市 462300)

[关键词] 三黄泻心汤; 大黄; 黄芩; 黄连; 动脉粥样硬化; 网络药理学

[摘要] **目的** 探讨三黄泻心汤抗动脉粥样硬化(As)的作用机制。**方法** 利用中药系统药理学分析平台(TCMSP), 通过设置口服利用度(OB) $\geq 30\%$ 、类药性(DL) ≥ 0.18 为筛选条件并结合文献得到候选化合物, 并通过该数据库检索与活性成分相关的作用靶点; 通过比较毒物基因组学数据库(CTD)检索出动脉粥样硬化相关基因; 利用 Cytoscape 3.6.1 生物信息学软件构建成分-靶点网络和成分-靶点-信号通路网络图; 通过 DAVID 进行通路注释和分析, 预测该三黄泻心汤抗动脉粥样硬化的作用机制。**结果** 三黄泻心汤抗动脉粥样硬化的成分-靶点-信号通路网络中包含 41 种成分, 22 个靶点及 39 条信号通路。其度值较高的候选化合物分子为槲皮素、黄芩素、汉黄芩素、大黄素, 度值较高的靶点为前列腺素 G/H 合成酶 2 (PTGS2)、细胞黏附分子 1 (ICAM-1)、基质金属蛋白酶 9 (MMP-9)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素 6 (IL-6), 涉及缺氧诱导因子 1 信号通路、细胞因子受体相互作用、核因子 κ B 信号通路、血管内皮生长因子信号通路、花生四烯酸代谢及过氧化体增殖物激活受体信号通路等 39 条信号通路。**结论** 三黄泻心汤中活性成分可作用于 PTGS2、ICAM-1、MMP-9、IL-6 等靶点, 通过调节花生四烯酸代谢、NF- κ B 信号通路、血管内皮生长因子信号通路等多条信号通路, 协同干预动脉粥样硬化。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Mechanism of Sanhuang Xiexin decoction in the treatment of atherosclerosis based on network pharmacology

WANG Dandan¹, YUAN Huiying², WU Zuomin¹, TIAN Huidong¹, YANG Zhongjie¹, WANG Rui¹

(1. Luohe Central Hospital, Department of Clinical Pharmacology, Luohe, Henan 462300, China; 2. Department of Pharmacy, the Second People's Hospital of Luohe, Luohe, Henan 462300, China)

[KEY WORDS] Sanhuang Xiexin decoction; rheum palmatum; scutellaria baicalensis; coptis chinensis; atherosclerosis; network pharmacology

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the pharmacology mechanism of Sanhuang Xiexin decoction in the treatment of atherosclerosis. **Methods** All the chemical components and the targets related to Sanhuang Xiexin decoction were searched by the traditional Chinese medicine system pharmacology platform (TCMSP), the oral bioavailability (OB) $\geq 30\%$ and drug likeness (DL) ≥ 0.18 were used as the screening conditions for molecular compounds and the comparative Toxicogenomics Database (CTD) were used to screen the genes related to atherosclerosis. The network map was constructed by Cytoscape 3.6.1 soft ware and the DAVID database was used for pathway annotation and analysis. **Results** The compounds-targets-pathway network of Sanhuang Xiexin decoction related to atherosclerosis contained 41 compounds, 22 corresponding targets and 39 signaling pathway. The top four compounds were quercetin, baicalein, wogonin and emodin. The top five targets were prostaglandin G/H synthase 2 (PTGS2), intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), tumor necrosis factor (TNF) and interleukin-6 (IL-6). Related pathway were HIF-1 signaling pathway, cytokine-cytokine receptor interaction, NF- κ B signaling pathway, VEGF signaling pathway, arachidonic acid metabolism and PPAR signaling pathway. **Conclusion** The active components of Sanhuang Xiexin decoction may regulate arachidonic acid metabolism, NF- κ B signaling pathway, VEGF signaling pathway in the treatment of atherosclerosis mainly through PTGS2, ICAM-1, MMP-9, IL-6 and other targets.

[收稿日期] 2019-07-02

[修回日期] 2019-08-21

[基金项目] 河南省发改委项目(豫发改高技 2019-569-50)

[作者简介] 王单单, 硕士, 药师, 研究方向为中药药理学, E-mail 为 Wdd91106@163.com。通信作者王瑞, 主任药师, 硕士研究生导师, 研究方向为中药药理学, E-mail 为 wangrui56116@163.com。

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)属于一种复杂的慢性进行性疾病,其以内皮细胞损伤为基础,特征为大、中动脉纤维原和脂质异常聚积,是多种心脑血管疾病的重要病理学基础^[1]。多种因素可致动脉粥样硬化,但其确切的发生机制仍不清楚。由于动脉粥样硬化病因及发病机制的复杂性,临床上常采取综合治疗的手段以改善其症状,然而中药具有多成分、多靶点、多通路协同增效的整体作用特点,故中医药在动脉粥样硬化方面应用日益增多^[2]。

三黄泻心汤出自张仲景的《金匮要略》,由大黄、黄芩及黄连三味中药组成,该方具有清心泻火、凉血止血之功效。现代药理学研究表明,三黄泻心汤具有抗菌、抗炎、胃黏膜保护、改善高脂血症、改善血液黏稠度等多种作用,临床应用也较为广泛^[3]。研究证明,三黄泻心汤通过抑制细胞凋亡、减轻炎症反应和抗氧化发挥抗动脉粥样硬化作用^[4]。据报道,在氧化应激所致的大鼠动脉粥样硬化模型上,大黄的活性成分大黄素可通过抗脂质过氧化发挥抗动脉粥样硬化作用^[5]。孙治中等^[6]研究发现黄芩苷可通过改善血脂水平和抑制核因子 κ B(nuclear factor-kappa beta, NF- κ B)信号通路抗动脉粥样硬化。研究显示,小檗碱在载脂蛋白 E(apolipoprotein E, APOE)敲除的小鼠体内可通过抗炎和降低胆固醇聚集从而抑制动脉粥样硬化斑块的形成^[7]。目前对三黄泻心汤抗动脉粥样硬化研究多集中在单一成分或单一靶点上。但是中药具有多组分,可作用于多靶点和多通路的特性,决定了中药治疗疾病具有系统性和整体性的特点。因此,仅从单一成分、单一靶点及单一通路很难阐明三黄泻心汤抗动脉粥样硬化的作用机制。

网络药理学作为药物研究的新模式,其建立在系统生物学、生物信息学及多向药理学等学科的基础上。网络药理学可通过整合策略研究中药复方的配伍规律、药效物质基础及药理作用机制,已成为中药复方研究的新方向^[8-9]。本研究从整体角度出发,利用网络药理学方法对三黄泻心汤抗动脉粥样硬化的主要物质基础和配伍机制进行研究,探究其治疗动脉粥样硬化的作用机制,以为后期研究提供参考和依据。

1 资料和方法

1.1 三黄泻心汤成分筛选

利用中药系统药理分析平台(traditional Chinese medicine system pharmacology platform, TCMSPP)^[10],以三黄泻心汤主要成分大黄、黄芩及黄连三味中药为关键词搜索出三味药材相关的所有化学成分。利用口服生物利用度(oral bioavailability, OB)和化合物类药性(drug likeness, DL)作为三黄泻心汤成分的筛选条件,并结合文献^[11-12],最终确定本研究的候选化合物。

1.2 三黄泻心汤靶蛋白筛选

利用 TCMSPP 平台搜索出候选化合物的全部作用靶点,并通过 Uniprot 数据库中的 UniprotKB 查询功能规范靶点名称。

1.3 动脉粥样硬化疾病靶点的筛选

通过比较毒物基因组学数据库(comparative toxicogenomics database, CTD),以“atherosclerosis”为关键词检索出与动脉粥样硬化相关的基因。

1.4 构建三黄泻心汤成分-靶点网络

利用 Cytoscape 3.6.1 软件分析该中药抗 As 的成分-靶点的关联信息,从而构建出三黄泻心汤成分-靶点网络图,并分析成分与靶蛋白间的关联度。

1.5 构建蛋白质相互作用网络图

蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络可以从生物化学和信号转导角度研究三黄泻心汤的潜在作用靶点与疾病相关蛋白间的相互作用关系^[13]。取三黄泻心汤的作用靶点与动脉粥样硬化相关靶点的交集蛋白上传到 STRING 10.5 数据库中获取蛋白质相互作用信息,并得到蛋白质相互作用网络图。

1.6 核心靶点的通路分析

进一步分析三黄泻心汤与动脉粥样硬化交集蛋白的功能及其在信号通路中的作用,将所得到的交集蛋白导入 DAVID 数据库,进行生物学过程富集分析(gene ontology, GO)和通路富集分析(KEGG pathway analysis, KEGG)^[14]。

1.7 构建成分-靶点-信号通路网络图

将交集蛋白与三黄泻心汤中成分的相互作用信息导入 Cytoscape 3.6.1 软件,构建出三黄泻心汤抗 As 的成分-靶点网络图。交集蛋白与富集出的 KEGG 生物通路的关联信息导入 Cytoscape 3.6.1 软件构建出抗 As 靶点-信号通路网络图。并利用该软件中的合并功能将以上两种网络合并,从而得出三黄泻心汤抗 As 的成分-靶点-信号通路网络图。

2 结果

2.1 三黄泻心汤活性化合物的筛选

利用 TCMSP 检索出三黄泻心汤方剂中大黄中含有成分 92 种,黄芩中含有成分 143 种,黄连中含

有成分 48 种。通过 OB 和 DL 预测化学成分的成药性,设定筛选阈值为 $OB \geq 30\%$ 且 $DL \geq 0.18$,以及结合文献^[5]中报道的活性化学成分,最终筛选出 65 个候选化合物。三黄泻心汤中候选化合物的基本信息见表 1。

表 1. 三黄泻心汤 65 个候选化合物基本信息

Table 1. Basic information of 33 candidate compounds in Sanhuang Xiexin decoction

分子编号	化合物名称	OB/%	DL	靶点数/个	来源
M2235	eupatin	50.8	0.41	16	大黄
M2251	mutatochrome	48.64	0.61	0	大黄
M2259	physciondiglucoside	41.65	0.63	1	大黄
M2260	procyanidin b-5,3'-O-gallate	31.99	0.32	0	大黄
M2268	rhein	47.07	0.28	7	大黄
M2276	sennoside E_qt	50.69	0.61	0	大黄
M2280	torachryson-8-O-beta-D-(6'-oxayl)-glucoside	43.02	0.74	1	大黄
M2281	toralactone	46.46	0.24	9	大黄
M2288	emodin-1-O-beta-D-glucopyranoside	44.81	0.8	1	大黄
M2293	sennoside D_qt	61.06	0.61	0	大黄
M2297	daucosterol_qt	35.89	0.7	2	大黄
M2303	palmidin A	32.45	0.65	0	大黄
M358	beta-sitosterol	36.91	0.75	38	大黄、黄芩
M471	aloe-emodin	83.38	0.24	24	大黄
M554	gallic acid-3-O-(6'-O-galloyl)-glucoside	30.25	0.67	0	大黄
M472	emodin	24.4	0.24	35	大黄
M96	(-)-catechin	49.68	0.24	11	大黄
M1458	coptisine	30.67	0.86	9	黄芩、黄连
M173	wogonin	30.68	0.23	45	黄芩
M552	5,2'-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone	31.71	0.35	21	黄芩
M2714	baicalein	33.52	0.21	37	黄芩
M1506	supraene	33.55	0.42	0	黄芩
M2909	5,7,2,5-tetrahydroxy-8,6-dimethoxyflavone	33.82	0.45	13	黄芩
M1689	acacetin	34.97	0.24	26	黄芩
M2933	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone	36.56	0.27	18	黄芩
M12245	5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyflavanone	36.63	0.27	6	黄芩
M359	sitosterol	36.91	0.75	3	黄芩
M2908	5,8,2'-trihydroxy-7-methoxyflavone	37.01	0.27	0	黄芩
M2925	5,7,2',6'-tetrahydroxyflavone	37.01	0.24	6	黄芩
M12266	rivularin	37.94	0.37	22	黄芩
M2926	dihydrooroxilin A	38.72	0.23	0	黄芩
M10415	11,13-eicosadienoic acid, methyl ester	39.28	0.23	1	黄芩
M525	norwogonin	39.4	0.21	12	黄芩
M2913	dihydrobaicalin_qt	40.04	0.21	4	黄芩
M2910	carthamidin	41.15	0.24	4	黄芩
M2914	eriodictiol (flavanone)	41.35	0.24	8	黄芩
M2928	oroxilin A	41.37	0.23	26	黄芩
M1490	bis[(2S)-2-ethylhexyl] benzene-1,2-dicarboxylate	43.59	0.35	1	黄芩

续表

分子编号	化合物名称	OB/%	DL	靶点数/个	来源
M2879	diop	43.59	0.39	3	黄芩
M449	stigmaterol	43.83	0.76	31	黄芩
M8206	moslosooflavone	44.09	0.25	25	黄芩
M2917	5,2',6'-trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone	45.05	0.33	17	黄芩
M73	ent-epicatechin	48.96	0.24	6	黄芩
M2915	salvigenin	49.07	0.33	18	黄芩
M228	(2R)-7-hydroxy-5-methoxy-2-phenylchroman-4-one	55.23	0.2	22	黄芩
M2937	dihydrooroxylin	66.06	0.23	11	黄芩
M2911	2,6,2',4'-tetrahydroxy-6'-methoxychaleone	69.04	0.22	0	黄芩
M2927	skullcapflavone II	69.51	0.44	21	黄芩
M12246	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavanone	74.24	0.26	6	黄芩
M2932	panicolin	76.26	0.29	14	黄芩
M2935	baicalin	29.53	0.77	2	黄芩
M2934	neobaicalein	104.34	0.44	22	黄芩
M762	palmidin A	35.36	0.65	0	黄连
M2894	berberrubine	35.74	0.73	13	黄连
M2904	berlambine	36.68	0.82	20	黄连
M1454	berberine	36.86	0.78	17	黄连
M2897	epiberberine	43.09	0.78	11	黄连、黄芩
M13352	obacunone	43.29	0.77	0	黄连
M2668	worenine	45.83	0.87	7	黄连
M98	quercetin	46.43	0.28	154	黄连
M2903	(R)-canadine	55.37	0.77	31	黄连
M622	magnograndiolide	63.71	0.19	4	黄连
M785	palmatine	64.6	0.65	19	黄连
M8647	moupinamide	86.71	0.26	0	黄连
M2907	corchoroside A _{qt}	104.95	0.78	2	黄连

2.2 三黄泻心汤成分-靶点网络图

将三黄泻心汤中筛选出的成分与靶点间关联信息导入 Cytoscape 3.6.1 软件中,构建出三黄泻心汤成分-靶点网络图(图 1)。成分-靶点网络图中有 290 个节点和 880 条边,其中包括化合物节点 52 个用橙色正八边形表示,靶节点 238 个用淡紫色圆点表示。由表 1 可知,通过设定 OB、DL 筛选阈值结合调研文献共得到 65 个候选化合物,其中 M2251、M2260 及 M2276 等 13 个化合物无对应靶点,所以在成分-靶点网络图中只显示出 52 个成分节点。在网络中节点对应的边越多,表示该节点的度值越高,度值高的节点为网络的核心节点,在网络中发挥枢纽作用。三黄泻心汤成分-靶点网络中,每个化合物平均与 16.9 个靶点存在相互作用,每个靶节点平均与 3.7 个成分相关联,故可推测三黄泻心汤通过多成分、多靶点发挥药理作用,体现了中药复方

治疗疾病的系统性和整体性特点。在三黄泻心汤成分-靶点网络中,度值排名前 5 化合物分别为槲皮素(quercetin, M98)、汉黄芩素(wogonin, M173)、 β -谷甾醇(beta-sitosterol, M358)、黄芩素(baicalein, M2714)和大黄素(emodin, M472),它们对应的靶点数分别为 154、45、38、37、35,这些度值较高的候选化合物,可能是三黄泻心汤发挥药效作用的核心成分。度值排名前 3 的靶点分别为前列腺素 G/H 合成酶 1(prostaglandin G/H synthase 1, PTGS1)、前列腺素 G/H 合成酶 2(prostaglandin G/H synthase 2, PTGS2)和热休克蛋白 90(heat shock proteins, HSP90),这些具有较高度值的靶点可能为三黄泻心汤发挥药效的关键靶点。

2.3 三黄泻心汤与动脉粥样硬化的交集靶点

利用 TCMS 查询出三黄泻心汤中大黄候选化合物对应 82 个靶点,黄芩候选化合物 123 个靶点,

黄连候选化合物对应 185 个靶点,通过 CTD 数据库检索出动脉粥样硬化相关的基因 85 个。通过在线韦恩图得出大黄、黄芩、黄连与动脉粥样硬化疾病

间存在 29 个共有基因,即三黄泻心汤化学成分的作用靶点与动脉粥样硬化存在 29 个交集蛋白(图 2)。

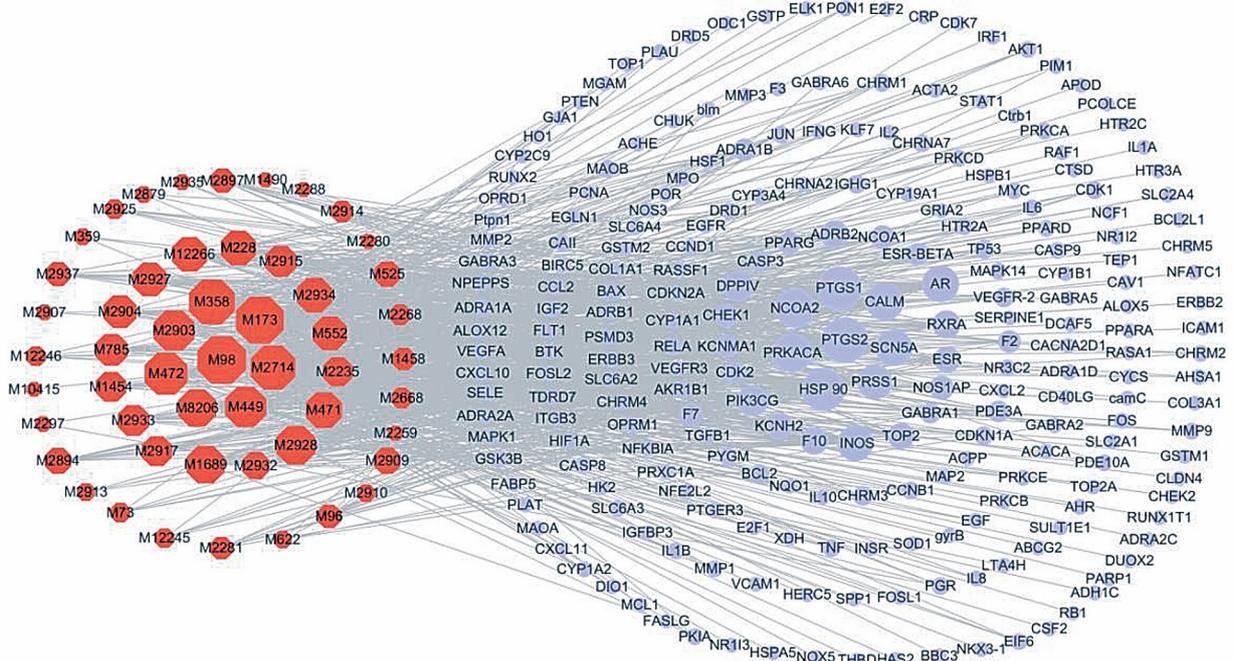


图 1. 三黄泻心汤成分-靶点网络 橙色正八边形代表成分,淡紫色圆点代表靶点

Figure 1. Compound-target network of Sanhuang Xiexin decoction

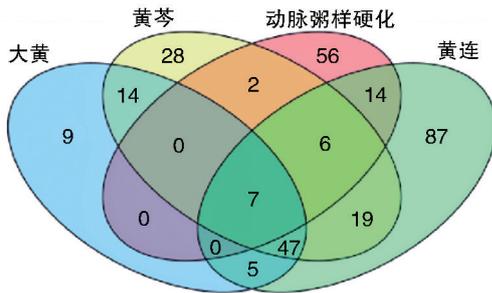


图 2. 三黄泻心汤与动脉粥样硬化相关交集基因韦恩图 蓝色表示大黄,黄色表示黄芩,绿色表示黄连,红色表示动脉粥样硬化

Figure 2. Intersection gene of Sanhuang Xiexin decoction and atherosclerosis related target

2.4 三黄泻心汤与动脉粥样交集蛋白的 PPI 网络图构建

将“2.3”得到的 29 个交集蛋白导入 STRING 10.5 数据库中进行蛋白相互作用分析,从而得到 PPI 网络图(图 3),图中有 29 个节点,210 条边,其中节点表示交集蛋白,边则表示交集蛋白间的相互作用,节点间的关联度大小用边的粗细表示,经计算图中节点的平均度值为 7.2。

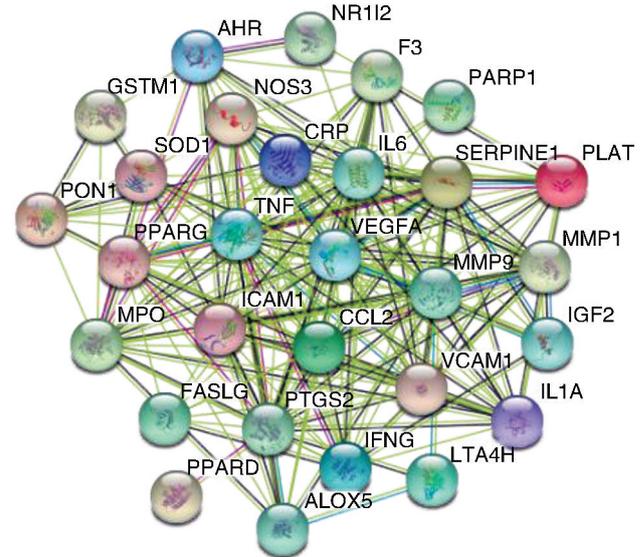


图 3. 三黄泻心汤与动脉粥样硬化交集蛋白相互作用网络图 Figure 3. core protein-protein interaction network diagram of Sanhuang Xiexin decoction and atherosclerosis

2.5 靶点通路分析

将 29 交集蛋白上传至 DAVID 数据库中,进行 GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析。通过 GO 功

能富集分析共得到 205 个条目 ($P < 0.05$), 其中生物过程 (biological process, BP) 172 个, 分子功能

(molecular function, MF) 10 个, 细胞组成 (cell component, CC) 22 个, 如图 4 所示。

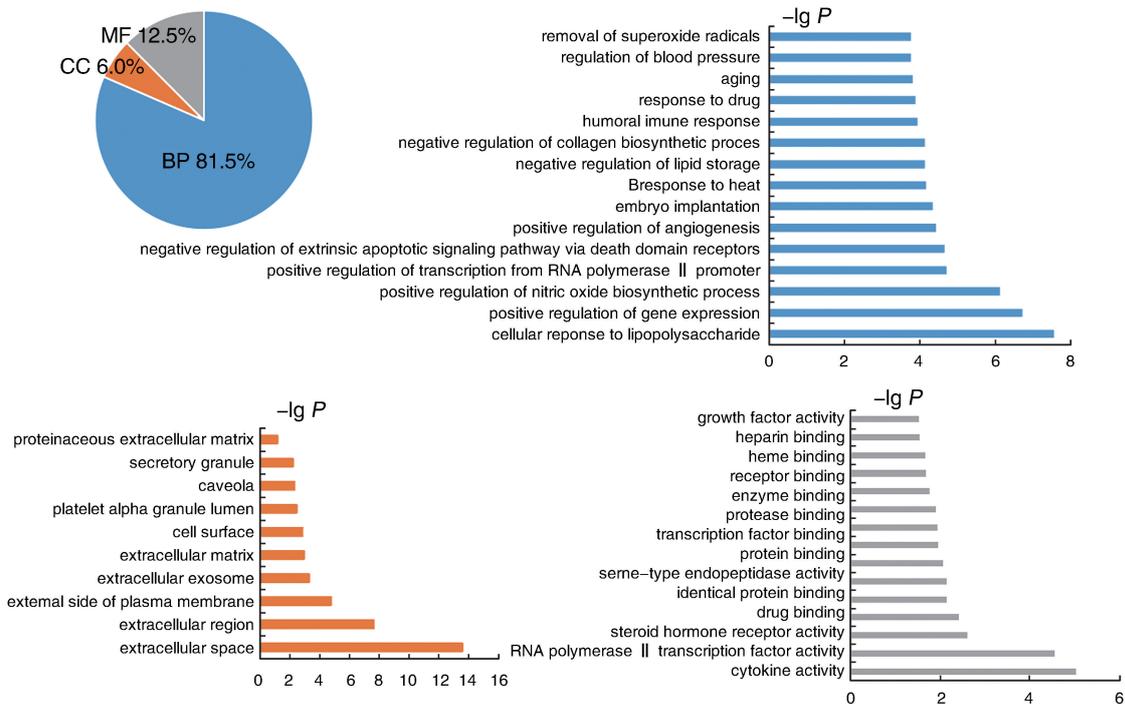


图 4. 三黄泻心汤靶标的 GO 富集分析 蓝色表示生物功能, 橙色表示分子功能, 灰色表示细胞组成
Figure 4. GO enrichment analysis of targets of Sanhuang Xiexin decoction

KEGG 通路富集筛选出 39 条信号通路, 如图 5 所示。其中包括缺氧诱导因子 1 信号通路 (HIF-1 signaling pathway)、细胞因子受体相互作用 (cytokine-cytokine receptor interaction)、NF-κB 信号通路 (NF-κB signaling pathway)、血管内皮生长因子信号通路 (VEGF signaling pathway)、花生四烯酸代谢 (arachidonic acid metabolism) 及过氧化体增殖物激活受体信号通路 (PPAR signaling pathway) 等。

2.6 成分-靶点-信号通路网络构建

KEGG 富集出的信号通路信息, 如表 2 所示。将三黄泻心汤与交集蛋白的关联信息、信号通路与交集蛋白的关联信息分别上传至 Cytoscape 3.6.1 软件中, 利用软件的合并功能将三黄泻抗 As 成分网络图与靶点-信号通路网络图合并, 最终构建出三黄泻心汤抗 As 成分-靶点-信号通路网络图, 如图 6 所示。图中包括成分节点 41 个, 用橙色正六边形表示; 动脉粥样硬化相关靶点 22 个, 用紫色圆形表示; 信号通路 39 条, 用墨绿色菱形表示。由图 6 可知, 筛选出的三黄泻心汤活性成分可通过作用于多个靶点进而调控多条信号通路, 从而协同发挥抗动脉粥样硬化的作用。

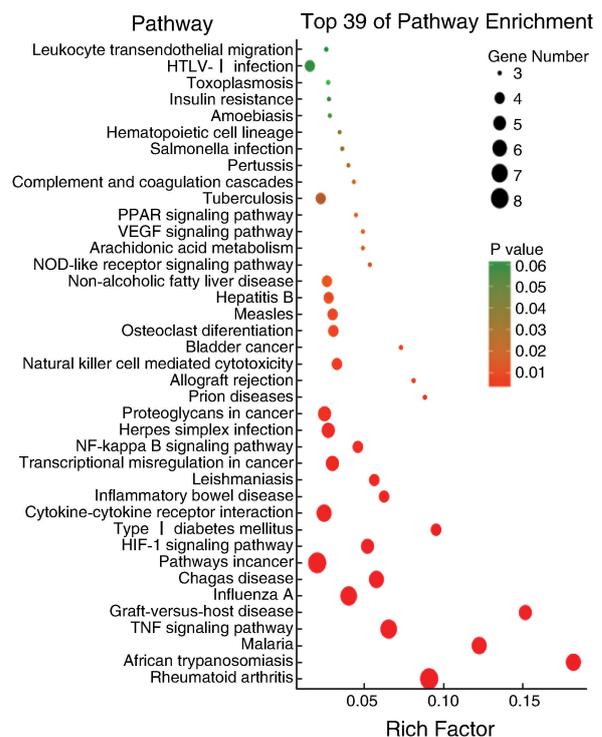


图 5. 三黄泻心汤抗动脉粥样硬化相关靶蛋白 KEGG 富集分析的 39 条通路图
Figure 5. 39 channels of analysis of KEGG concentration in treatment of atherosclerosis by Sanhuang Xiexin decoction

表 2. 动脉粥样硬化关联信号通路信息

Table 2. The correlation information of atherosclerosis related target-pathway

编号	名称	靶点数/个	编号	名称	靶点数/个
hsa05323	Rheumatoid arthritis	8	hsa05219	Bladder cancer	3
hsa05143	African trypanosomiasis	6	hsa04380	Osteoclast differentiation	4
hsa05144	Malaria	6	hsa05162	Measles	4
hsa04668	TNF signaling pathway	7	hsa05161	Hepatitis B	4
hsa04064	NF-kappa B signaling pathway	4	hsa04650	Natural killer cell mediated cytotoxicity	4
hsa05332	Graft-versus-host disease	5	hsa04670	Leukocyte transendothelial migration	3
hsa04621	NOD-like receptor signaling pathway	3	hsa05142	Chagas disease	6
hsa04370	VEGF signaling pathway	3	hsa05200	Pathways in cancer	8
hsa00590	Arachidonic acid metabolism	3	hsa04066	HIF-1 signaling pathway	5
hsa03320	PPAR signaling pathway	3	hsa04940	Type I diabetes mellitus	4
hsa05152	Tuberculosis	4	hsa04060	Cytokine-cytokine receptor interaction	6
hsa04610	Complement and coagulation cascades	3	hsa05321	Inflammatory bowel disease	4
hsa05133	Pertussis	3	hsa05140	Leishmaniasis	4
hsa05132	Salmonella infection	3	hsa05202	Transcriptional misregulation in cancer	5
hsa04932	Non-alcoholic fatty liver disease	4	hsa05164	Influenza A	7
hsa05146	Amoebiasis	3	hsa05168	Herpes simplex infection	5
hsa04931	Insulin resistance	3	hsa05205	Proteoglycans in cancer	5
hsa05145	Toxoplasmosis	3	hsa05020	Prion diseases	3
hsa05166	HTLV-I infection	4	hsa05330	Allograft rejection	3
hsa04640	Hematopoietic cell lineage	3			

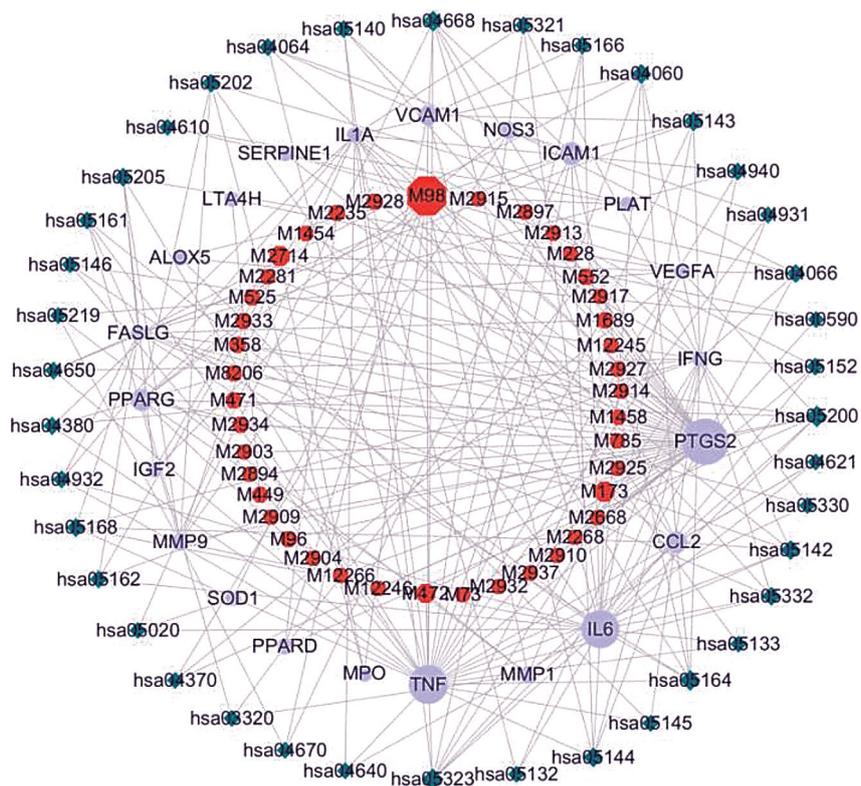


图 6. 三黄泻心汤抗动脉粥样硬化活性成分-靶点-信号通路 橙色正八边形代表成分,淡紫色圆点代表靶点,墨绿色菱形代表信号通路

Figure 6. Compounds-targets-pathway network of Sanhuang Xiexin decoction

3 讨论

本研究基于网络药理学方法研究三黄泻心汤抗动脉粥样硬化的作用机制,通过分析三黄泻心汤中所包含的成分、各活性成分的作用靶点和调控的信号通路,建立三黄泻心汤抗动脉粥样硬化的“活性成分-靶点-信号通路”网络图,从而能够系统分析三黄泻心汤抗动脉粥样硬化潜在的物质基础和作用机制。

通过对三黄泻心汤与动脉粥样硬化的交集蛋白进行 KEGG 通路富集分析,从而得出交集蛋白所涉及的信号通路,进而构建出成分-靶点-信号通路多层次网络图。成分-靶点-信号通路网络图中包括 41 个活性成分,22 个作用靶点,涉及 39 条信号通路。进一步分析活性成分-靶点-信号通路网络图,发现槲皮素、黄芩素、汉黄芩素、大黄素在网络中度值较高,推测这几种成分可能在三黄泻心汤治疗动脉粥样硬化疾病中发挥关键作用。现代药理学研究表明,以上几种成分均具有抗动脉粥样硬化作用^[5, 15-17],在载脂蛋白 E 基因敲除小鼠体内,槲皮素可抑制炎症反应,降低血脂水平,进而减轻动脉粥样硬化斑块^[15];黄芩素可通过调节腺苷酸活化蛋白激酶及核转录因子减少氧化型低密度脂蛋白受体 1 介导的血管内皮氧化功能障碍以及抑制炎症反应,从而发挥抗动脉粥样硬化作用^[16];汉黄芩素可以通过抑制细胞内二酰基甘油的积累及蛋白激酶 C 磷酸化从而抑制血管平滑肌细胞的凋亡,可用于治疗动脉粥样硬化^[17]。网络中具有度值较高的靶点为 PTGS2、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)、斑块内血管细胞黏附分子 1(vascular cell adhesion protein-1, VCAM-1)、细胞黏附分子 1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、基质金属蛋白酶 1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)、内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)、超氧化物歧化酶 1(superoxide dismutase-1, SOD-1)以及基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9),以上靶点可能为三黄泻心汤治疗动脉粥样硬化的关键靶点。通过 GO 基因分析和 KEGG 通路富集分析表明,这些靶点涉及多条信号通路,包括缺氧诱导因子 1 信号通路、细胞因子受体相互作用、NF- κ B 信号通路、血管内皮生长因子信号通路、花生四烯酸代谢及过氧化体增殖物激活受体信号通路等,这些信号与动脉粥样硬化的发生发展密切相关^[18-19]。据报道靶点 VCAM-1 及 ICAM-1 可通过影响炎症反应中白细胞

跨血管内皮细胞的迁移及向炎症部位聚集,从而增加血管内皮通透性使血管内皮受损^[20];靶点 PTGS2 又称环氧化酶(COX2)其为炎症反应的关键酶;TNF 及 IL-6 均参与炎症反应^[21]。此外 MMP-1 及 MMP-9 可降解除多糖外的细胞外基质,从而使血管内膜通透性增加,有利于单核细胞、平滑肌细胞及氧化型低密度脂蛋白侵入到血管内膜下层形成动脉粥样硬化斑块^[22]。研究显示,NOS3 的表达水平与血管内皮细胞的完整性及功能的正常性密切相关,NOS3 缺乏会引起血管平滑肌细胞凋亡增加,进而导致动脉粥样硬化^[23]。病理学研究表明,炎症反应、氧化应激及血管内皮损伤均可参与动脉粥样硬化的发生发展过程。通过分析成分-靶点-信号通路网络图中所涉及的靶点及信号通路,推测三黄泻心汤可能通过抑制炎症反应、降低血管内膜的通透性及抗氧化应激等途径保护血管内皮细胞,进而发挥抗动脉粥样硬化的作用。据报道,三黄泻心汤中的活性成分槲皮素、黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素等,可通过多种机制预防或改善动脉粥样硬化,如体内和体外研究结果显示,槲皮素可通过调节氧化应激、细胞凋亡及调节 NF- κ B 等信号通路抑制炎症反应,从而减缓动脉粥样硬化的发生发展^[24];在人脐静脉内皮细胞上,黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素可显著降低高糖诱导的血管渗透性及 ICAM 的表达,降低活性氧水平以及抑制 NF- κ B 的激活,从而可用于治疗动脉粥样硬化^[25];这些研究结果也从侧面证实本研究结果的可靠性。

利用网络药理学方法研究三黄泻心汤治疗动脉粥样硬化潜在活性成分、可能的作用靶点以及涉及的信号通路,初步阐述三黄泻心汤抗动脉粥样硬化可能的物质基础及作用机制,为三黄泻心汤干预动脉粥样硬化研究提供了理论依据。由于篇幅有限只是通过网络药理学方法对三黄泻心汤抗动脉粥样硬化的药理作用机制进行预测,而忽略了各成分含量、化合物间相互作用及药物体内代谢过程的影响,故后续仍需要通过药理实验和临床研究进一步验证。

[参考文献]

- [1] Emini VB, Perrotta P, Gregory DM, et al. Animal models of atherosclerosis[J]. Eur J Pharmacol, 2017, 816(5): 3-13.
- [2] 张强, 罗毅. 动脉粥样硬化中药治疗机制的研究进展[J]. 中西医结合心血管病杂志, 2019, 7(11): 1-2.
- [3] 李颜, 郭澄. 三黄泻心汤的现代药理研究进展[J]. 中

- 国药房, 2010, 21(11): 1048-1050.
- [4] 殷小杰, 马晓静, 王 岚, 等. 三黄泻心汤活血化瘀优势方抗动脉粥样硬化的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(22): 1-6.
- [5] 张 翔, 江兴林, 周利玲, 等. 大黄素对氧化应激所致动脉粥样硬化模型大鼠的干预研究[J]. 中医药导报, 2016, 22(21): 27-29.
- [6] 孙治中, 江艳君, 纪树亮, 等. 黄芩苷治疗小鼠动脉粥样硬化模型的作用与机制[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(19): 3037-3043.
- [7] 左 璇, 罗金雀, 姜新海, 等. 小檗碱对 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化的影响及机制研究[J]. 药学学报, 2019, 54(1): 120-126.
- [8] Pang XC, Kang D, Fang JS, et al. Network pharmacology-based analysis of Chinese herbal Naodesheng formula for application to Alzheimer's disease [J]. Chin J Nat Med, 2018, 16(1): 53-62.
- [9] 杨凯麟, 曾柳庭, 葛金文. 基于网络药理学的丹参干预动脉粥样硬化分子机制的分析[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(4): 407-413.
- [10] Ru J, Peng L, Wang J, et al. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. J Cheminform, 2014, 6(1): 13-18.
- [11] Kim MT, Sedykh A, Chakravarti SK, et al. Critical evaluation of human oral bioavailability for pharmaceutical drugs by using various cheminformatics approaches [J]. Pharm Res, 2014, 31(4): 1002-1014.
- [12] Machado D, Girardini M, Viveiros M, et al. Challenging the drug likeness dogma for new drug discovery in tuberculosis [J]. Front Microbiol, 2018, 3(9): 1-23.
- [13] 刘鑫馥, 吴嘉瑞, 张 丹, 等. 基于网络药理学的参附汤作用机制分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(16): 203-210.
- [14] 李晓燕, 董 姝, 魏 滨, 等. 六味地黄汤中药成分-靶标-疾病网络分析及效应机制预测 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(5): 189-195.
- [15] 张 梦, 李文婧, 杜 芬, 等. 槲皮素对载脂蛋白 E 基因敲除小鼠动脉粥样硬化斑块的消退作用 [J]. 中国药师, 2019, 22(5): 800-804.
- [16] Tsai KL, Hung CH, Chan SH, et al. Baicalein protects against ox-LDL-caused oxidative stress and inflammation by modulation of AMPK- α [J]. Oncotarget, 2016, 7(45): 72458-72468.
- [17] Liu YM, Wang X, Nawaz A, et al. Wogonin ameliorates lipotoxicity-induced apoptosis of cultured vascular smooth muscle cells via interfering with DAG-PKC pathway [J]. Acta Pharmacol Sin, 2011, 32(12): 1475-1482.
- [18] Song D, Fang G, Mao SZ, et al. Selective inhibition of endothelial NF- κ B signaling attenuates chronic intermittent hypoxia-induced atherosclerosis in mice [J]. Atherosclerosis, 2018, 270(5): 68-75.
- [19] Le NT, Sandhu UG, Quintana-Quezada RA, et al. Flow signaling and atherosclerosis [J]. Cell Mol Life Sci, 2016, 74(10): 1835-1858.
- [20] 张永杰, 赵国安, 林 飞, 等. 红景天苷抗动脉粥样硬化机制研究进展 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(6): 547-552.
- [21] Yu M, Tsai SF, Kuo YM. The therapeutic potential of anti-inflammatory exerkines in the treatment of atherosclerosis [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(6): 1260-1289.
- [22] Brown BA, Williams H, George SJ. Evidence for the involvement of matrix-degrading metalloproteinases (MMPs) in atherosclerosis [J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2017, 147(3): 197-237.
- [23] Kim SM, Huh JW, Kim EY, et al. Endothelial dysfunction induces atherosclerosis: increased aggrecan expression promotes apoptosis in vascular smooth muscle cells [J]. BMB Rep, 2019, 52(2): 145-150.
- [24] Lu XL, Zhao CH, Yao XL, et al. Quercetin attenuates high fructose feeding-induced atherosclerosis by suppressing inflammation and apoptosis via ROS-regulated PI3K/Akt signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 85(1): 658-671.
- [25] Ku SK, Bae JS. Baicalin, baicalein and wogonin inhibits high glucose-induced vascular inflammation in vitro and in vivo [J]. BMB Rep, 2015, 48(9): 519-524.
- (此文编辑 朱雯霞)