

基于网络药理学的黄芪治疗心力衰竭作用机制研究

王单单, 郭丽娜, 田会东, 裴媛, 王瑞* (漯河市中心医院临床药理科, 河南 漯河 462300)

摘要: 目的 利用网络药理学方法探讨黄芪治疗心力衰竭的作用机制。方法 利用 TCMSP 平台提取出黄芪的化学成分, 并通过该数据库检索与活性成分相关的作用靶点; 利用 CTD 在线分析平台查询与心力衰竭相关的靶点。从而构建出成分-靶点、靶点-靶点蛋白互作、成分-靶点-生物学通路网络图。结果 通过筛选, 得到 87 个候选化合物, 相应靶点 326 个, 其中与心力衰竭相关的靶点 36 个, 这些靶点涉及信号通路 27 条。结论 本研究对黄芪治疗心力衰竭药效作用机制进行初步探讨, 为进一步深入研究提供参考。

关键词: 网络药理学; 黄芪; 心力衰竭

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)01-0019-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.01.004

引用本文: 王单单, 郭丽娜, 田会东, 等. 基于网络药理学的黄芪治疗心力衰竭作用机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(1): 19-24.

Study on the Mechanism of *Astragalus Membranaceus* in the Treatment of Heart Failure Based on Network Pharmacology

WANG Dandan, GUO Lina, TIAN Huidong, PEI Yuan, WANG Rui* (Department of Clinical Pharmacology, Luohe Central Hospital, Luohe 462300, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the pharmacology mechanism of *Astragalus membranaceus* for heart failure based on network pharmacology. **METHODS** All of chemical components related to the *Astragalus membranaceus* were collected from the TCMSP database. The targets related to molecular compounds were found through the TCMSP, the targets related to heart failure were found through CTD online analysis platform. Thus, a component-target, target-protein interaction, and component-target-biological pathway network diagram was constructed. **RESULTS** Eighty seven candidate active molecules, 326 corresponding targets were obtained through network pharmacology screening, 36 targets related to heart failure. These targets could joint in 27 pathways. **CONCLUSION** The results preliminarily verify the activity components *Astragalus membranaceus*, and provides a good foundation for further study on the mechanism of action.

KEYWORDS: network pharmacology; *Astragalus membranaceus*; heart failure

黄芪(*Astragalus membranaceus*)为豆科植物蒙古黄芪和膜荚黄芪的干燥根, 其性温、味甘, 归肺、脾经, 具有利水消肿、补气固表、托毒生肌之功效^[1]。研究表明, 黄芪及其有效成分能够改善心力衰竭所导致的排血量不能满足机体代谢需要的状态, 进而改善心力衰竭病程^[2]。全欣等^[3]研究发现, 黄芪的化学成分可通过改善心肌细胞能量代谢、增强心肌收缩力及保护血管等途径, 从而发挥治疗心血管疾病的作用。以上研究表明, 黄芪治疗心力衰竭疗效确切。但目前多从单一成分或单一靶点对黄芪治疗心力衰竭的物质基础和作用机制进行研究^[4-6]。中药具有多成分作用于多靶点, 调控多条通路发挥药效的特点, 从单方面研究很难阐明中药治疗疾病的整体性与系统性。

网络药理学作为一种研究传统药物的新模式, 其建立在计算机技术高速发展的基础上, 将系统生物学和多向药理学的方法加以整合, 通过分析中药活性组分、靶点、通路及疾病之间的关系, 从而能够在整体水平阐明中药的药效物质基础和作用机制^[7-9]。因此, 本研究借助网络药理学方法, 通过建立“成分-靶点-信号通路”多层次网络模型, 分析黄芪治疗心力衰竭的成分、作用靶点及调控通路的信息, 从整体角度研究黄芪发挥治疗心力衰竭药效的物质基础和作用机制。以期为黄芪治疗心力衰竭制剂的进一步研究开发提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 黄芪成分筛选

以黄芪为关键词, 利用中药系统药理分析平

作者简介: 王单单, 女, 硕士, 药师 Tel: (0395)3356189
(0395)3356189 E-mail: wangrui56189@163.com

E-mail: Wdd91106@163.com

*通信作者: 王瑞, 男, 主任药师 Tel:

台(TCMSP)检索黄芪全部化学成分,将所检索出的全部化学成分纳入本研究中。

1.2 成分-靶点网络构建

利用 TCMSP 平台查询候选化合物的作用靶点。所得的靶点需要输入 Uniprot 数据库中,使用 UniprotKB 查询出靶蛋白的规范名称。将成分-靶点关联信息上传到 Cytoscape 3.6.1 软件,从而构建出黄芪成分-靶点网络图。

1.3 心力衰竭疾病靶蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI)网络构建

通过 Comparative Toxicogenomics Database (CTD)找出与心力衰竭相关基因 103 个。为了进一步研究黄芪靶点与心力衰竭疾病靶点在蛋白水平上的相互作用关系,本研究选取黄芪成分作用靶点与心力衰竭相关蛋白的交集蛋白上传至在线 STRING 10.0 软件,设定置信度为 0.7,获取 PPI 数据。将 PPI 数据导入 Cytoscape 3.6.1 软件构建交集蛋白相互作用网络图。

1.4 KEGG 通路富集分析

将“1.3”项下筛选出的交集蛋白上传至 Cytoscape 3.6.1 软件,利用软件中的 ClueGO 功能进行 KEGG 通路富集分析。

1.5 成分-靶点-信号通路网络构建

将“1.3”项下筛选出的交集蛋白与其相关联的黄芪成分相互作用信息,上传到 Cytoscape 3.6.1 软件中构建成与心力衰竭相关的黄芪成分-靶点网络图。将“1.3”项下筛选出的交集蛋白与 KEGG 富集出生物通路的相互作用信息,上传到 Cytoscape 3.6.1 软件中构建出心力衰竭靶点-通路网络图。利用 Cytoscape 3.6.1 软件中的 Merge 功能将以上 2 种网络合并,从而得出成分-靶点-信号通路网络图。

2 结果

2.1 黄芪候选化合物筛选

利用 TCMSP 平台共检索出黄芪成分 87 种,具体信息见表 1。

2.2 黄芪成分-靶点网络构建

利用 TCMSP 查询与候选化合物相关的靶点,将成分-靶点的关联数据导入 Cytoscape 3.6.1 软件,得出黄芪成分-靶点网络图,见图 1。成分-靶点网络中共有 383 个节点,968 条边。黄芪中共筛选出 87 个化合物,其中 M374、M398 及 M438 等 30 个成分在 TCMSP 数据库中未找到相应靶标,

所以在成分-靶点网络图中只显示有作用靶点的 57 个成分节点,剩余 326 个为靶节点。成分节点用正六边形表示,其中与心力衰竭相关靶节点用正八边形表示;靶节点用圆点。与节点相连的边越多,节点的度值越高,度值高的节点为网络的核心节点,在网络中的作用较强,该节点的形状相应增大。其中化合物槲皮素(quercetin, M98)有 151 相互作用靶标,化合物黄芪甲苷(astragaloside A, M413)有 16 个作用靶点。这些具有较多靶点的成分,可能是黄芪发挥药理作用的核心成分。另外网络中度值较高的靶标分别为前列腺素 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)及过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor gamma, PPARG),度值较高的靶标可能是黄芪发挥药效的关键或者上游靶点。从黄芪成分-靶点网络图中可以得出中药黄芪是通过多成分、多靶点发挥药理作用,符合中药治疗疾病的系统性和整体性。

2.3 心力衰竭疾病 PPI 网络

在 CTD 数据库中输入疾病名称——心力衰竭,找出心力衰竭相关的蛋白 103 个,经筛选得出 36 个黄芪成分作用靶点与心力衰竭相关蛋白的交集蛋白。将 36 个交集蛋白上传至在线 STRING 10.0 软件,得到交集蛋白的相互作用关系。将相互作用关系数据上传至 Cytoscape 3.6.1 软件,从而构建出心力衰竭疾病 PPI 网络,见图 2。图中包括 35 个存在相互作用的交集蛋白节点用正八边形表示,278 条边。由图中可以看出,与其它靶点有较多相互作用靶点为肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白介素 6 (interleukin-6, IL-6)、血管内皮生长因子 α (vascular endothelial growth factor A, VEGFA)及一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, endothelial, NOS3)等。长期以来心力衰竭被认为是一种炎症性疾病,研究表明 TNF、IL-6 及 NOS3 与心力衰竭的发生发展密切相关^[10-11]。

2.4 KEGG 通路富集分析

利用 Cytoscape 3.6.1 软件中 ClueGO 功能对黄芪作用靶点与心力衰竭相关蛋白的交集蛋白进行 KEGG 通路富集分析。将所涉及的 36 种蛋白质上传至 Cytoscape 3.6.1 软件,通过 KEGG 富集分析探讨黄芪治疗心力衰竭所涉及的信号通路。通过分析发现这些靶点共涉及血管内皮生长因子信号

表1 黄芪通过 OB 和 DL 筛选出 87 个候选化合物

Tab. 1 Eighty seven candidate compounds predicted in *Astragalus membranaceus* through OB and DL

编号	名称	靶点数目	编号	名称	靶点数目
M398	isoflavanone	0	M394	choline	0
M436	(Z)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl) prop-2-en-1-one	22	M375	5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di-O-glucoside_qt	1
M429	Crystal VI	21	M415	rutin	21
M61	prolinum	20	M423	rhamnocitrin-3-O-glucoside	2
M378	7-O-methylisomucronulatol	45	M393	soyasaponin I	0
M392	formononetin	39	M382	arabinose, d	2
M433	FA	3	M437	hirsutrin	3
M438	(3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl) chroman-7-ol	0	M377	7-hydroxy-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxy-phenyl) chromone	0
M381	13-hydroxy-9,11-octadecadienoic acid	3	M380	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H- benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	22
M372	3-hydroxy-2-picoline	5	M396	(+)-syringaresinol	8
M211	mairin	1	M295	alexandrin	14
M414	caffate	9	M390	daidzein	70
M389	ferulic acid(CIS)	14	M411	astraisoflavanin	3
M395	GGB	0	M400	flavaxin	1
M371	3,9-di-O-methylnissolin	23	M384	DL-glucuronic acid	0
M420	XLS	2	M406	Astragaloside III_qt	0
M239	jaranol	3	M412	Mucronulatol	24
M5928	isoferulic acid	12	M435	acetylastragaloside I_qt	0
M424	RAM	16	M416	lariciresinol	9
M354	isorhamnetin	37	M383	D-galacturonic acid, homopolymer	0
M439	isomucronulatol-7,2'-di-O-glucosiole	1	M356	lupeol	13
M417	calycosin	22	M955	heriguard	0
M421	nicotinic acid	17	M441	lupeone	0
M54	L-arginine	2	M404	Astragaloside II_qt	0
M401	astragaloside I	0	M391	ononin	10
M98	Quercetin	154	M419	astrasieversianin XV	0
M403	astragaloside II	0	M425	asernestioside A	0
M397	cis-p-coumarate	14	M408	Astragaloside IV_qt	0
M432	linolenic acid	16	M428	asernestioside B_qt	0
M434	acetylastragaloside I	0	M251	rhamnocitrin	19
M386	fucopyranose, L-	2	M427	asernestioside B	0
M131	EIC	15	M402	Astragaloside I_qt	0
M422	Kaempferol	63	M376	7,2'-dihydroxy-3',4'-dimethoxyisoflavone-7-O-β-D -glucoside	2
M374	5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di-O-glucoside	0	M399	docosanoate	0
M430	betaine	32	M440	isomucronulatol-7,2'-di-O-glucosiole_qt	0
M442	1,7-dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene	4	M388	gamma-aminobutyric acid	19
M296	hederagenin	24	M418	3'-hydroxy-4'-methoxyisoflavone-7-O-beta-D- glucoside	3
M379	9,10-dimethoxypterocarp-3-O-β-D-glucoside	3	M373	(2S)-4-methoxy-7-methyl-2-[1-methyl-1- [(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-methylol- tetrahydropyran-2-yl]oxy-ethyl]-2,3-dihydrofuro [3,2-g]chromen-5-one	4
M33	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17- [(2R,5S)-5-propan-2-yloctan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11, 12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a] phenanthren-3-ol	1	M431	coumarin	16
M114	vanillic acid	8	M413	astrachrysoside A	0
M405	Astragaloside III	0	M426	asernestioside A_qt	0
M387	bifendate	7	M069	palmitic acid	17
M407	Astragaloside IV	0			

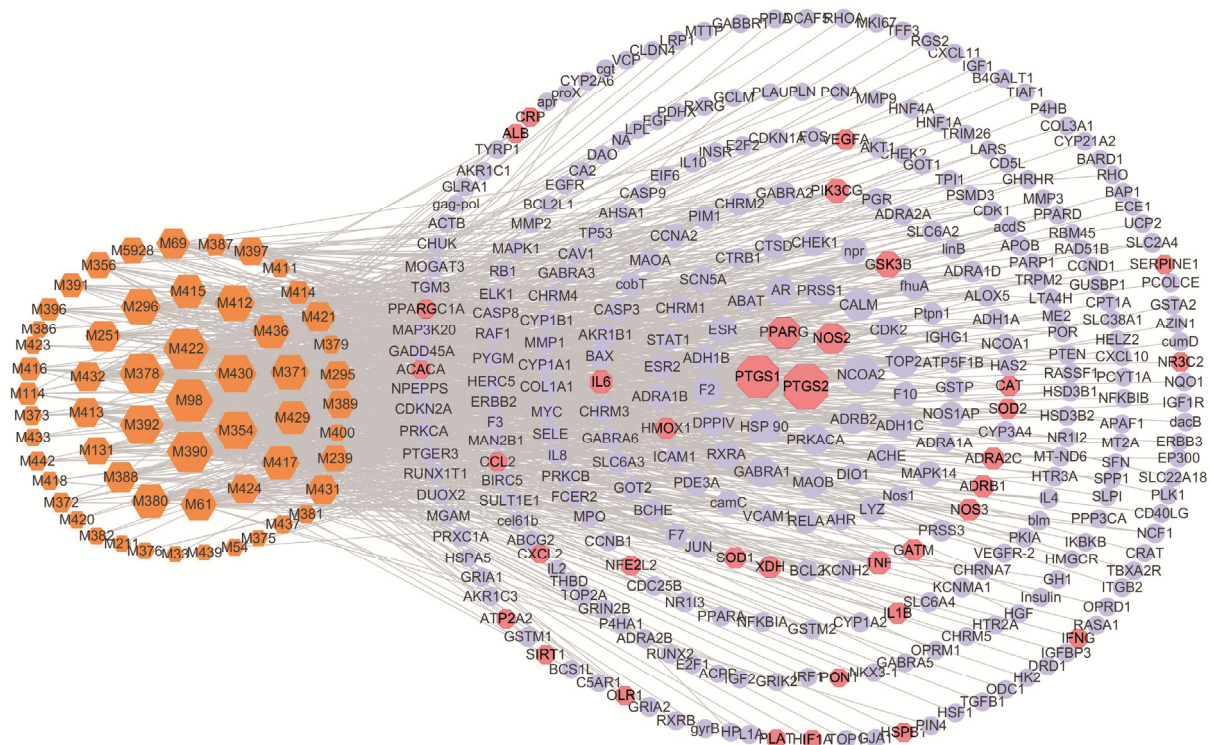


图 1 黄芪成分-靶点图

Fig. 1 Compound-target network of *Astragalus membranaceus*

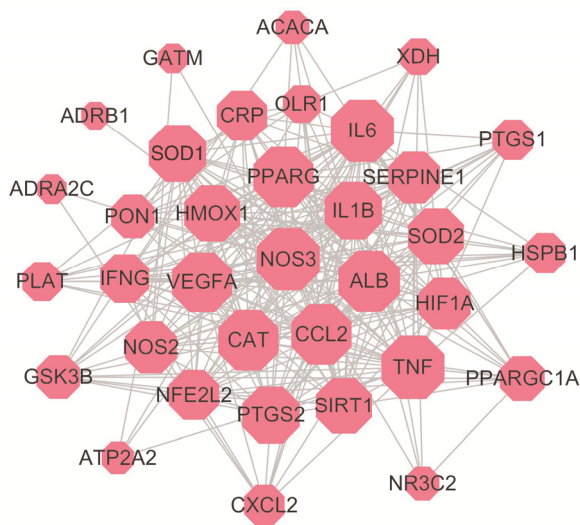


图 2 心力衰竭疾病 PPI 网络

Fig. 2 PPI network of heart failure related targets

通路(VEGF signaling pathway)、NF- κ B 信号通路(NF- κ B signaling pathway)及血流剪切力与动脉粥样硬化(TNF signaling pathway)、过氧化物酶体(peroxisome)、HIF-1 信号通路(HIF-1 signaling pathway)等 27 条信号通路。这些信号通路与心力衰竭病理过程密切相关^[12-13], 具体信息见表 2 和图 3。

2.5 成分-靶点-信号通路构建

利用 Cytoscape 3.6.1 软件中的 Merge 功能构建黄芪活性成分-作用靶点-代谢通路网络。图中包括黄芪成分 45 种, 用正六边形表示; 心力衰竭疾病相关靶点 28 个, 用正八边形表示; 信号通路 27 条, 用菱形表示。筛选出的黄芪候选活性成分的作用靶点分布在不同的信号通路, 相互协调, 通过调控不同的信号通路发挥治疗心力衰竭作用。结果见图 4。

成分-靶点-信号通路网络显示, 所预测出黄芪治疗心力衰竭中 45 种潜在的活性成分与 TNF、IL6、VEGFA、NOS3、PTGS1 及 PTGS2 等 28 个靶蛋白存在较强的相互作用, 通过网络富集发现这些靶点主要集中在 VEGF 信号通路、NF- κ B 信号通路及血流剪切力与动脉粥样硬化等 27 条信号通路, 参与调控心力衰竭病理过程的不同环节。由黄芪成分-靶点-信号通路可以得出, 黄芪中的多种成分通过作用于多个靶点, 调节多条信号通路, 从而调控心力衰竭病理过程不同环节, 与中药治疗疾病的系统性和整体性的特点相符合。

表 2 KEGG 通路富集结果

Tab. 2 List of pathway of KEGG enrichment results

ID	Pathway	ID	Pathway
KEGG:00330	Arginine and proline metabolism	KEGG:04940	Type I diabetes mellitus
KEGG:04923	Regulation of lipolysis in adipocytes	KEGG:05418	Fluid shear stress and atherosclerosis
KEGG:04931	Insulin resistance	KEGG:05132	Salmonella infection
KEGG:04066	HIF-1 signaling pathway	KEGG:05133	Pertussis
KEGG:04370	VEGF signaling pathway	KEGG:05134	Legionellosis
KEGG:04371	Apelin signaling pathway	KEGG:05140	Leishmaniasis
KEGG:04933	AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	KEGG:05142	Chagas disease
KEGG:04146	Peroxisome	KEGG:05020	Prion diseases
KEGG:04211	Longevity regulating pathway	KEGG:05143	African trypanosomiasis
KEGG:05014	Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	KEGG:05144	Malaria
KEGG:04064	NF-kappa B signaling pathway	KEGG:05146	Amoebiasis
KEGG:04657	IL-17 signaling pathway	KEGG:05321	Inflammatory bowel disease (IBD)
KEGG:04668	TNF signaling pathway	KEGG:05323	Rheumatoid arthritis
		KEGG:05332	Graft-versus-host disease

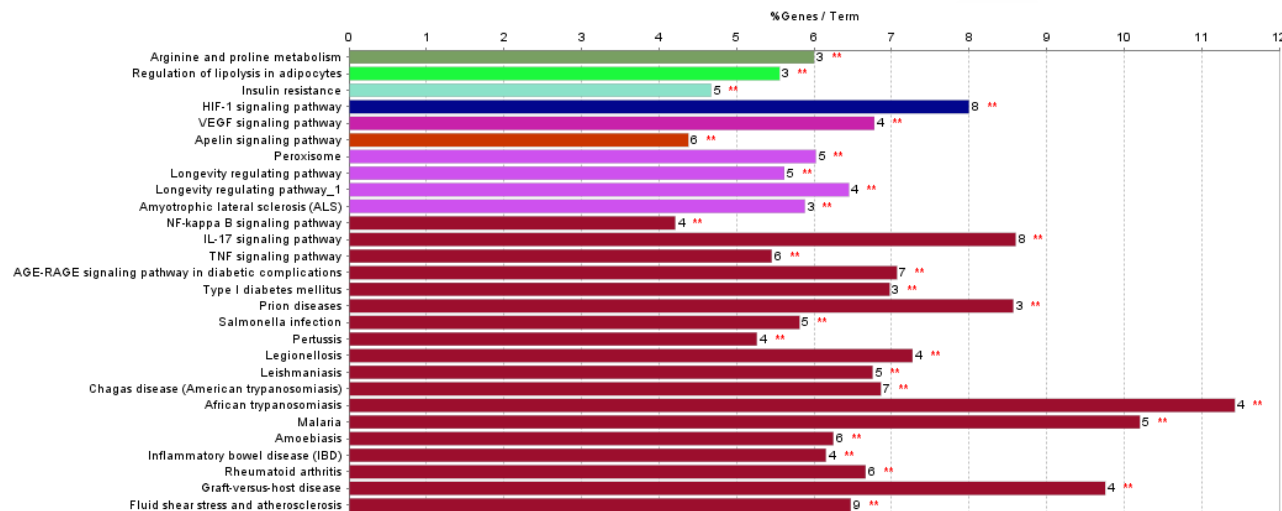
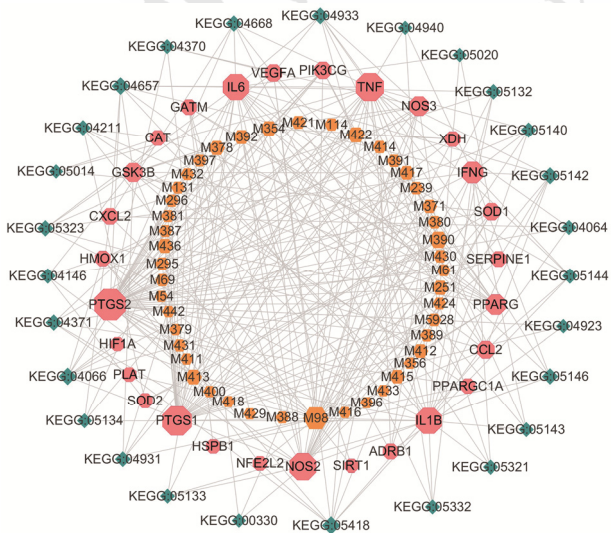


图 3 黄芪活性成分潜在靶蛋白 KEGG 通路富集分析

Fig. 3 Barplot diagram of KEGG enrichment of heart failure related targets



理过程的不同环节。

通过分析黄芪治疗心力衰竭的成分-靶点-信号通路预测黄芪发挥治疗心力衰竭药效可能的化学成分为黄芪甲苷、芒柄花素(formononetin, M00392)、槲皮素、异鼠李素(isorhamnetin, M354)及毛蕊异黄酮(calycosin, M00417)等 45 种化学成分。研究表明芒柄花素可通过抑制活性氧和超氧离子保护心肌细胞^[14]；黄芪甲苷可通过抑制慢性心力衰竭大鼠心肌纤维化等方面发挥心脏保护作用^[15]。通过文献调研也印证了本研究通过网络药理学方法预测结果的可靠性。所预测出黄芪治疗心力衰竭中 45 种潜在的活性成分与 TNF、IL6、VEGFA、NOS3 及前列腺素内源性过氧化物合酶(PTGS1, PTGS2)等 28 种蛋白存在较强的相互作用,通过网络富集发现这些靶点主要集中在 VEGF 信号通路、NF- κ B 信号通路及血流剪切力与动脉粥样硬化等 27 条信号通路。研究表明,在心力衰竭失代偿中,可激活 NF- κ B 信号通路调节细胞因子的生成和激活,从而释放大量的细胞因子^[13,16]。由此可见,黄芪中多种成分通过作用于多个靶点、调控多条信号通路,从而改善心力衰竭,同时也体现了中药治疗疾病的整体性与系统性。

本研究从网络药理学角度出发,初步阐述了中药黄芪治疗心力衰竭的潜在活性成分、可能作用的靶点及发挥药效的关键生物学通路。研究结果初步揭示了黄芪治疗心力衰竭的相关机制,为进一步深入研究其药理作用机制提供参考。当然,本研究也存在一定的局限性,只是通过挖掘数据对黄芪治疗心力衰竭的药效机制进行预测,还需要通过药理和临床实验进一步验证。因此本研究仅为深入研究黄芪治疗心力衰竭的作用机制提供思路和参考。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2015: 302-303.
- [2] 张萌, 高俊虹, 王玉敏, 等. 黄芪及其有效成分治疗心功能衰竭

- 机制的研究[J]. 中医杂志, 2011, 52(4): 349-352.
- [3] TONG X. The pharmacology study of active constituents from *Astragalus* [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2011, 22(5): 1246-1249.
- [4] LI S N, NONG Y B, GAO Q, et al. *Astragalus* granule prevents Ca^{2+} current remodeling in heart failure by the downregulation of CaMKII [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2017: 7517358.
- [5] JI Y S, LI L, ZHAO R H, et al. Discussion on the effect and its mechanism of Astragalosides on calcium transport in rats with chronic heart failure [J]. Mod J Integr Chin Tradit West Med(现代中西医结合杂志), 2018, 27(1): 13-18.
- [6] WANG H Z, CHAI Y H, GAO J, et al. Influence of astragaloside on vitamin D receptor mRNA expression of H9C2 myocardial cell induced by isoproterenol [J]. Liaoning J Tradit Chin Med(辽宁中医杂志), 2017, 44(7): 1454-1456.
- [7] LI S, ZHANG B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: theory, methodology and application [J]. Chin J Nat Med, 2013, 11(2): 110-120.
- [8] WANG B L. Network pharmacology study of anticancer mechanism of three main components in kanglaite injection [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(1): 58-63.
- [9] LI B, LEI S S, LI H, et al. Systematic understanding the mechanisms of Ji Mai Tong tablet treatment on hypertension [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(1): 49-57.
- [10] 金春花, 刘文博, 关宏铜, 等. 一氧化氮合酶各种亚型的信号通路对心力衰竭的作用机制与治疗的研究进展[J]. 中国循环杂志, 2017, 32(8): 830-832.
- [11] WU Y J, LI L. Clinical value of serum BNP, TNF- α , MMP-9 and IL-6 detection in CHF patients with different heart function grades [J]. Int J Lab Med(国际检验医学杂志), 2016, 37(7): 904-906.
- [12] GHATALIA P, MORGAN C J, JE Y, et al. Congestive heart failure with vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2015, 94(2): 228-237.
- [13] MAIER H J, SCHIPS T G, WIETELMANN A, et al. Cardiomyocyte-specific I κ B kinase (IKK)/NF- κ B activation induces reversible inflammatory cardiomyopathy and heart failure [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(29): 11794-11799.
- [14] CHENG Y Y, XIA Z Y, HAN Y F, et al. Plant natural product formononetin protects rat cardiomyocyte H9c2 cells against oxygen glucose deprivation and reoxygenation Via inhibiting ROS formation and promoting GSK-3 β phosphorylation [J]. Oxid Med Cell Longev, 2016: 2060874. Doi: 10.1155/2016/2060874.
- [15] TANG B, ZHANG J G, TAN H Y, et al. Protective effect of *Astragalus* IV on heart in rats with chronic heart failure [J]. Shanghai J Tradit Chin Med(上海中医药杂志), 2016, 50(11): 89-94.
- [16] KILLEEN M J, LINDER M, PONTONIERE P, et al. NF- κ B signaling and chronic inflammatory diseases: exploring the potential of natural products to drive new therapeutic opportunities [J]. Drug Discov Today, 2014, 19(4): 373-378.

收稿日期: 2019-01-29

(本文责编: 沈倩)