

基于网络药理学及分子对接探讨参桂汤治疗心律失常的作用机制

邢蔚¹, 李国建¹, 王凤儒^{2*}

¹黑龙江中医药大学研究生院, 黑龙江 哈尔滨

²黑龙江中医药大学附属第一医院心血管四科, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2024年1月29日; 录用日期: 2024年2月23日; 发布日期: 2024年2月29日

摘要

目的: 利用网络药理学探讨参桂汤治疗心律失常的作用机制。方法: 通过TCMSP数据库收集参桂汤药物的有效成分及靶点; 利用UniProt数据库获取转换靶点基因名; 借助人类基因数据库(GeneCards), Disgenet, DrugBank数据库寻找治疗心律失常的潜在靶点; 合并去重后与参桂汤靶点取交集并绘制Venny图; 通过STRING数据库分析得出蛋白质相互作用, 且通过Cytoscape 3.9.1绘制关键靶点的(PPI)互作网络图。利用Metascape平台进行KEGG通路和GO功能富集分析, 后通过Cytoscape 3.9.1软件构建参桂汤对心律失常的药物-药物成分-靶点-疾病-通路网络图。利用Autodock tools 1.5.7、Autodock vina 1.1.2对核心靶点及对应成分进行分子对接, 并运用Pymol 2.5软件进行可视化处理。结果: 参桂汤对治疗心律失常的过程中存在多种成分、多靶点和多通路之间的网络关系, 为进一步为研究参桂汤对治疗心律失常的作用机制具有借鉴意义。

关键词

网络药理学, 分子对接, 参桂汤, 心律失常, 机制

Study on the Mechanism of Shengui Decoction in Treating Arrhythmia Based on Network Pharmacology

Wei Xing¹, Guojian Li¹, Fengru Wang^{2*}

¹School of Graduate, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang

²The Fourth Department of Cardiology, First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang

Received: Jan. 29th, 2024; accepted: Feb. 23rd, 2024; published: Feb. 29th, 2024

*通讯作者。

文章引用: 邢蔚, 李国建, 王凤儒. 基于网络药理学及分子对接探讨参桂汤治疗心律失常的作用机制[J]. 临床医学进展, 2024, 14(2): 4619-4628. DOI: 10.12677/acm.2024.142641

Abstract

Objective: To explore the mechanism of treating arrhythmia by means of network pharmacology. **Methods:** the effective components and targets of compound Shengui decoction were collected by TCMSP database, the gene names of conversion targets were obtained by UniProt database, the potential targets for the treatment of arrhythmias were found with the help of human gene database (GeneCards) and Disgenet, DrugBank database, and the target sites of compound Shengui decoction were intersected with the target points of compound Shengui decoction and Venny map was drawn. The protein-protein interaction data were analyzed by STRING database platform, and the (PPI) interaction network diagram of key targets was drawn by Cytoscape 3.9.1. The KEGG pathway and GO function enrichment analysis were carried out on the Metascape platform, and then the chemical composition-potential target-signal pathway network of compound Shengui decoction on arrhythmia was constructed by Cytoscape 3.9.1 software. **Results:** there is a network relationship among multiple components, multi-targets and multi-pathways in the treatment of arrhythmias, which can be used as a reference for further studying the mechanism of Shengui decoction in the treatment of arrhythmias.

Keywords

Network Pharmacology, Molecular Docking, Shengui Decoction, Arrhythmia, Mechanism

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 资料与方法

1.1. 参桂汤化学成分及靶点筛选

通过中医药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP) (<https://tcmsp.com/tcmsp.php>)检索参桂汤中的苦参、丹参、玄参、桂枝的药物成分,以口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 且类药性(DL) ≥ 0.18 为筛选条件收集药物化学成分及对应蛋白质靶点,并将其利用 UniProt (<https://www.uniprot.org/>)校正靶点基因名,使蛋白质靶点名标准化。

1.2. 心律失常相关靶点筛选

以“cardiac arrhythmia”为关键词挖掘 DisGeNET (<https://www.disgenet.org/>)数据库, Gene Cards (<https://www.genecards.org/>), Drug Bank (<https://go.drugbank.com/>)数据库,取三个数据库 Top 前 500 的靶点合并后取交集,删除重复值得到心律失常预测靶点。

1.3. 参桂汤和心律失常关键靶点的筛选

通过 Venny 2.1 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>),将参桂汤预测靶点和心律失常预测靶点输入制作 Venny 图,得出参桂汤和心律失常的关键靶点。

1.4. 蛋白相互作用网络构建

将关键靶点导入 STRING 数据库中,物种选择为“Homo sapiens”,其余参数默认,得到数据后将

其数据导入 Cytoscape 3.9.1 软件中, 通过软件中的插件(cytoHubba)插件进行网络分析, 按照(Degree 值)进行调节节点的大小和颜色。

1.5. GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

将参桂汤和心律失常的关键靶点通过 Metascape 平台以($p < 0.05$)进行数据分析, 且通过微生信平台(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)制作 KEGG 通路气泡图和 GO 功能富集分析生物过程(biological process, BP)、细胞组成(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF)柱状图。

1.6. 构建“药物-药物成分-靶点-疾病-通路”网络

将 KEGG 通路富集分析的 LogP 前 20 的通路和参桂汤对应的药物成分, 靶点, 疾病相互联系, 通过 Cytoscape 3.9.1 软件绘制“药物-药物成分-靶点-疾病-通路”网络图。

1.7. 分子对接

在 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)中选取蛋白质受体 PDB 格式。从 TCMSP 数据库中获得受体对应的有效成分, 并在 Uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org/>)中获得对应配体的 mol2 格式, 运用 AutoDock Tools 1.5.7 进行去水, 加氢等, 利用 Autodock vina1.1.2 进行分子对接, 受体-配体的结合能小于 4 kcal/mol, 提示具有一定的结合活性, 结合能越低, 对接效果越好, 最后利用 Pymol2.5 进行蛋白对接可视化分析。

2. 结果

2.1. 参桂汤的成分收集预筛选

在 TCMSP 数据库中检索到参桂汤有效化学成分 126 个, 其中苦参有效成分 45 个, 丹参有效成分 65 个, 玄参有效成分 9 个, 桂枝有效成分 7 个, 每个药物选取前 10 的有效成分绘制表格, 见表 1。并通过 UniProt 数据库对上述成分进行校正靶点基因名, 后得到 190 个靶蛋白。

Table 1. Active ingredients of Shengui Decoction

表 1. 参桂汤活性成分具体信息

中药	MolID	化合物	OB%	DL
苦参	MOL001040a	(2R)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	42.36	0.21
苦参	MOL001484	Inermine	75.18	0.54
苦参	MOL003542	8-Isopentenyl-kaempferol	38.04	0.39
苦参	MOL003627	sophocarpine	64.26	0.25
苦参	MOL003648	Inermin	65.83	0.54
苦参	MOL003673	Wighteone	42.8	0.36
苦参	MOL003676	Sophoramine	42.16	0.25
苦参	MOL003680	sophoridine	60.07	0.25
苦参	MOL000392	formononetin	69.67	0.21
苦参	MOL004580	cis-Dihydroquercetin	66.44	0.27
丹参	MOL001601	1,2,5,6-tetrahydrotanshinone	38.75	0.36
丹参	MOL001659	Poriferasterol	43.83	0.76
丹参	MOL001771	poriferast-5-en-3beta-ol	36.91	0.75

续表

丹参	MOL001942	isoimperatorin	45.46	0.23
丹参	MOL002222	sugiol	36.11	0.28
丹参	MOL002651	Dehydrotanshinone II A	43.76	0.4
丹参	MOL002776	Baicalin	40.12	0.75
丹参	MOL000569	digallate	61.85	0.26
丹参	MOL000006	luteolin	36.16	0.25
丹参	MOL006824	a -amyrin	39.51	0.76
玄参	MOL001925	paeoniflorin_qt	68.18	0.4
玄参	MOL002222	sugiol	36.11	0.28
玄参	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
玄参	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
玄参	MOL007657	scropolioside A_qt	38.63	0.77
玄参	MOL007658	14-deoxy-12(R)-sulfoandrographolide	62.57	0.42
玄参	MOL007659	scropolioside D	36.62	0.4
玄参	MOL007660	scropolioside D_qt	33.17	0.82
玄参	MOL007662	harpagoside_qt	122.87	0.32
桂枝	MOL001736	(-)-taxifolin	60.51	0.27
桂枝	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
桂枝	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
桂枝	MOL000492	(+)-catechin	54.83	0.24
桂枝	MOL000073	ent-Epicatechin	48.96	0.24
桂枝	MOL004576	taxifolin	57.84	0.27
桂枝	MOL011169	Peroxyergosterol	44.39	0.82

2.2. 参桂汤与心律失常的靶点交集

将 190 个药物靶点与心律失常三个数据库 Top 前 500 的靶点取交集得到 150 疾病共同靶点, 通过 Venny 平台制作靶点交集图, 获得交集靶点 13 个, 见图 1。

2.3. 关键靶点的(PPI)互作网络

通过 Cytoscape 3.9.1 软件中及其插件(cytoHubba)进行网络分析, 共有 13 个节点, 42 条边, 并依据 Degree 值进行绘图见图 2。Degree 值与蛋白靶标之间的面积, 颜色深度呈正比, 而蛋白靶标之间的关系密切程度与边线密集程度相关。

2.4 GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析

将上述的参桂汤治疗心律失常的关键靶点输入 Metascape 平台以($p < 0.05$)进行 GO 功能富集分析共获得 437 条功能目录, BP 中有 421 条, 主要包括血管平滑肌细胞增殖(smooth muscle cell proliferation)、腺体发育(gland development)、多肽 - 丝氨酸磷酸化[1] (peptidyl-serine phosphorylation)、半胱氨酸型内肽酶

(cysteine-type endopeptidase)、细胞凋亡(apoptotic process)等有关; CC 有 4 条, 包括细胞连接[2] [3] (cell-cell junction)、质膜蛋白复合体(plasma membrane protein complex)、膜筏(membrane raft)、膜微域(membrane microdomain)有关; MF 有 12 条, 主要包括细胞因子[4] (cytokine)、受体配基活性(receptor ligand activity)、信号受体活性(signaling receptor activity)、生长因子[5] (growth factor)、跨膜转运蛋白(transmembrane transporter)选取 TOP 前 10 绘制条形图, 见图 3。KEGG 通路富集分析共获得 72 条信号通路, 主要包括 AGE-RAGE (AGE-RAGE signaling pathway)、HIF-1 (HIF-1 signaling pathway)、C 型凝集素受体信号通路(C-type lectin receptor signaling)、Toll 样受体(Toll-like receptor signaling pathway)、IL-17 (IL-17 signaling)等信号通路预测中存在与心律失常疾病的治疗有联系[6] [7] [8]。选取 TOP 前 20 绘制气泡图, 见图 4。由此可见, 心律失常的产生由多种复杂因素所致, 而参桂汤能以多条通路为媒介发挥治疗心律失常的作用。

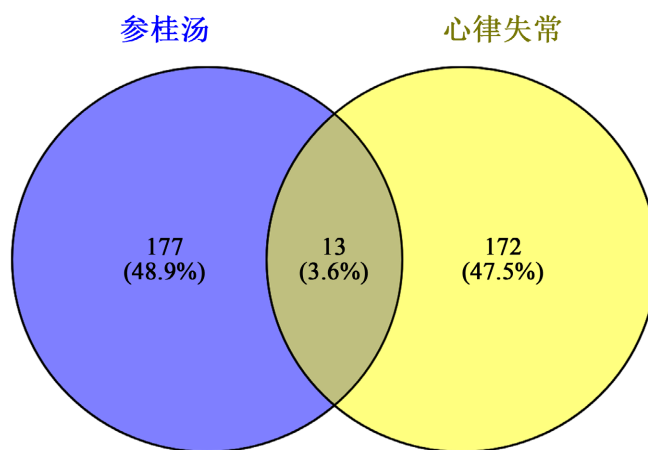


Figure 1. Venny diagram of common targets of Shengui Decoction and arrhythmia
图 1. 参桂汤与心律失常共同靶点 Venny 图

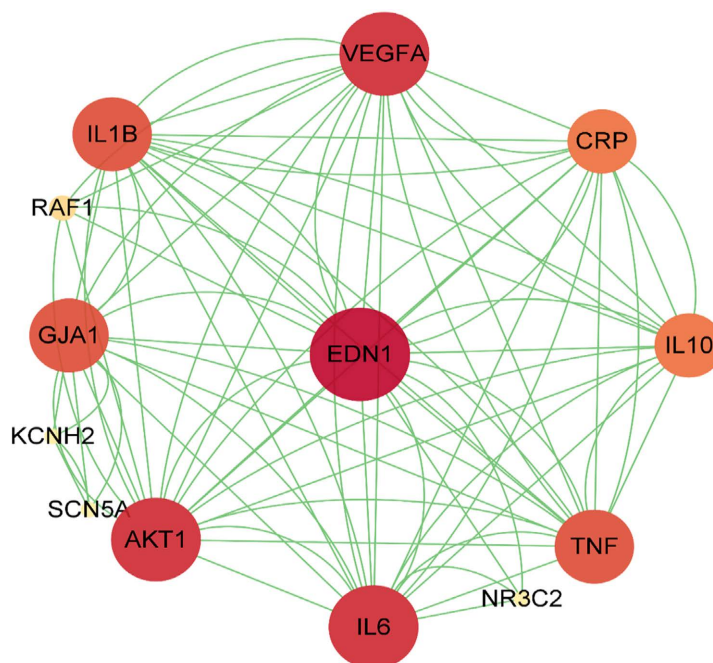


Figure 2. PPI Interaction network diagram of key targets
图 2. 关键靶点的 PPI 互作网络图

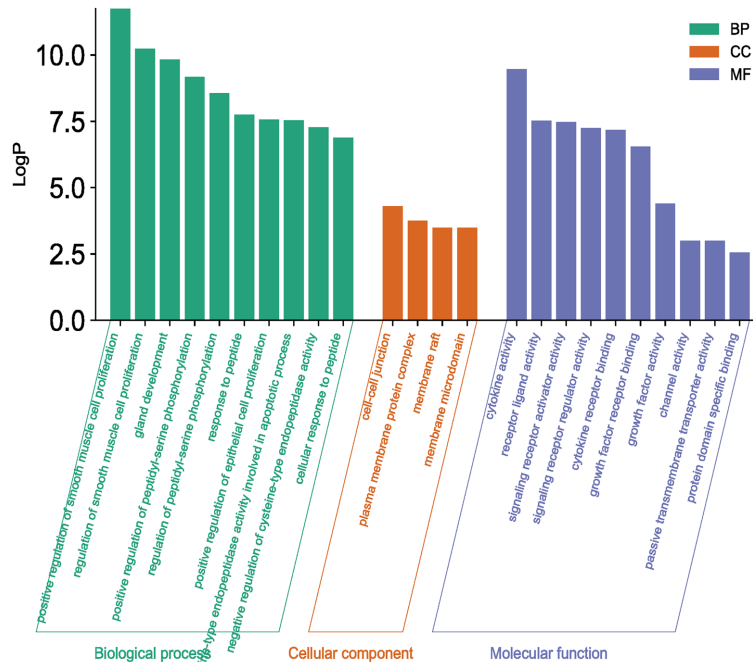


Figure 3. Analysis of GO functional enrichment in the treatment of arrhythmia with Shengui Decoction
 图 3. 参桂汤治疗心律失常的 GO 功能富集分析

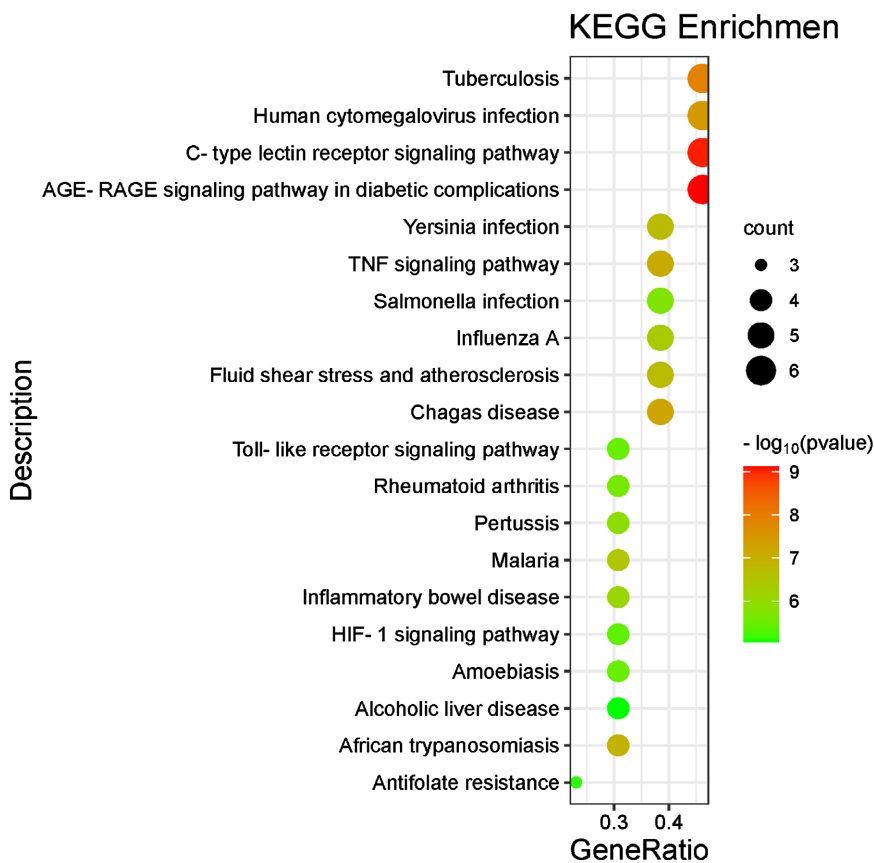


Figure 4. Enrichment analysis of KEGG pathway in the treatment of arrhythmia with Shengui Decoction
 图 4. 参桂汤治疗心律失常的 KEGG 通路富集分析

2.5. 药物 - 药物成分 - 靶点 - 疾病 - 通路网络构建

将苦参、丹参、玄参、桂枝，四种药物所对应的 156 个化学成分，190 个靶点，参桂汤和心律失常 13 个共同靶点及密切程度 TOP 前 20 的通路一同导入 Cytoscape 3.9.1 软件绘制“药物 - 药物成分 - 靶点 - 疾病 - 通路”网络图，见图 5。

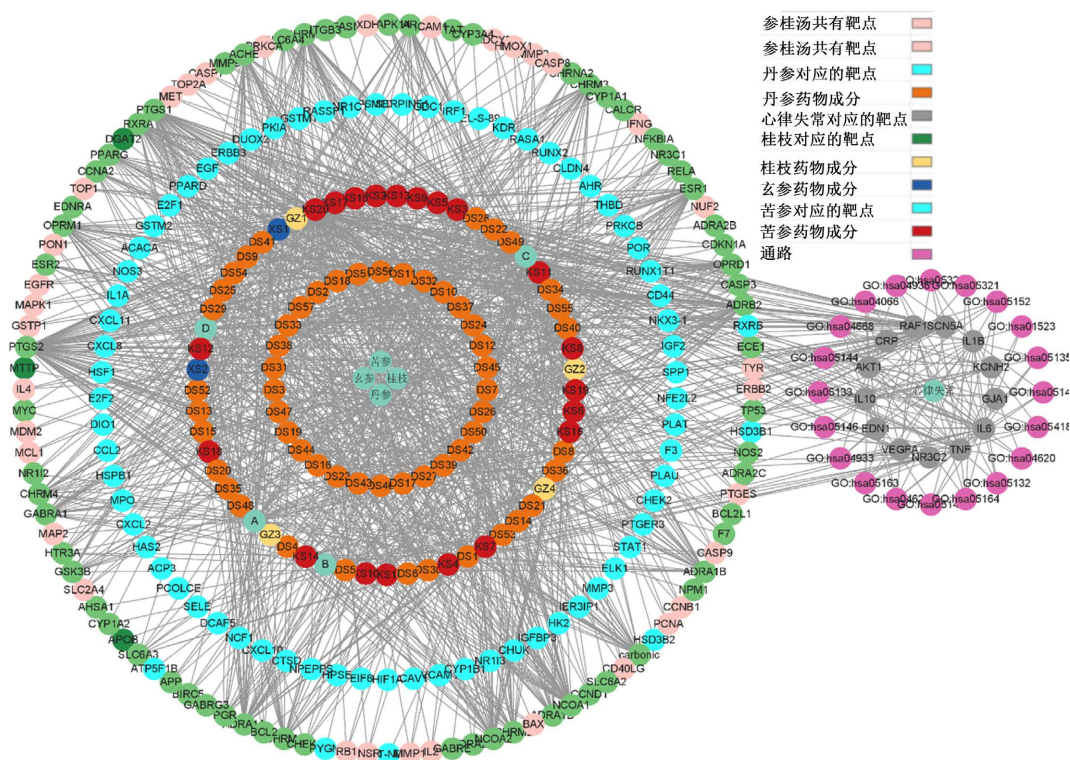


Figure 5. Drug-Drug Component-Target-Disease-Pathway Network Diagram

图 5. 药物 - 药物成分 - 靶点 - 疾病 - 通路网络图

2.6. 分子对接结果

依据核心靶点 Degree 值大小，使丹参酮、木犀草素、槲皮素、槐果碱有效活性成分与 ledp、VEGFA、AKT1、IL6、GJA1、TNF 核心靶点进行分子对接。结果显示平均结合能为 -7.133 kcal/mol，(见表 2)。最后利用 PyMol2.5 进行可视化处理(见图 5)。

Table 2. Target-ligand small molecule-binding energy data

表 2. 靶点 - 配体小分子 - 结合能数据

靶点蛋白	配体小分子	结合能(kcal/mol)
ledp	Cryptotanshinone	-5.8
VEGFA	luteolin	-7.4
AKT1	luteolin	-6.1
IL6	luteolin	-7
GJA1	quercetin	-8.1
TNF	sophocarpine	-8.4

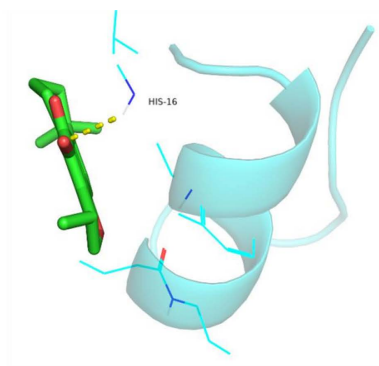


图 6-1 丹参酮和 IEDP 对接模型

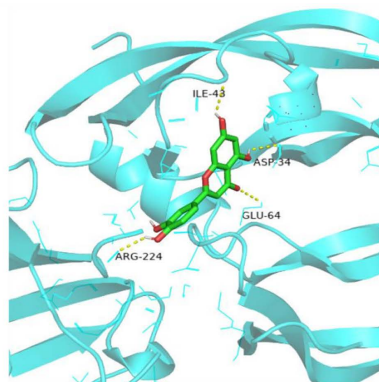


图 6-2 木犀草素和 VEGFA 对接模型



图 6-3 木犀草素和 AKT1 对接模型

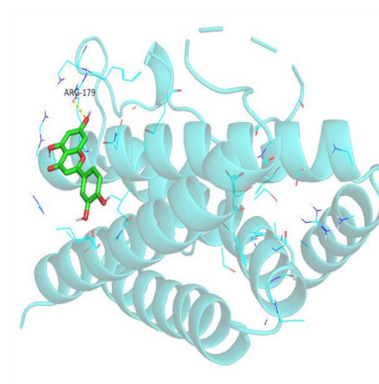


图 6-3 木犀草素和 IL6 对接模型

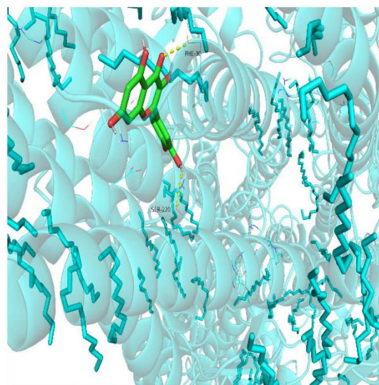


图 6-5 槲皮素和 GJA1 对接模型

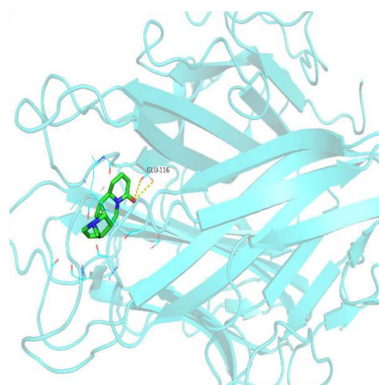


图 6-6 槐果碱和 TNF 对接模型

Figure 6. Molecular docking result diagram

图 6. 分子对接结果图

3. 讨论

我们通过多年临床实践基础及对心律失常的病机认识，总结出方剂“参桂汤”：由苦参(30.0 g)、丹参(20.0 g)、玄参(20.0 g)、桂枝(15.0 g)四味中药组成，其具温通心阳，清热燥湿，滋阴凉血，活血化瘀的功效，对于心血瘀阻型和阴虚火旺型的心律失常疗效明显。苦参作为参桂汤中的君药，发挥苦寒入心，清热燥湿的药效；丹参、玄参二者为臣药，丹参，性味苦寒，入心经，以达到活血祛瘀，凉血安神的药效；玄参苦甘咸寒，具有清热凉血，解毒滋阴之效；二药联用可以助苦参以滋阴清热凉血。桂枝为佐使

药, 助药效直达所, 诸药合用, 共奏益气滋阴活血之功。本研究通过参桂汤对心律失常的作用机制研究, 筛选出参桂汤对应靶点的有效成分 126 个, 主要包括丹参酮、木犀草素、槲皮素、槐果碱、苦参碱、儿茶素等成分, 其中苦参碱, 丹参酮有助于减轻心肌缺血再灌注, 治疗心律失常, 在预防和改善心血管系统疾病中发挥着显著的临床疗效[9] [10] [11] [12] [13]。通过 PPI 互作网络得出参桂汤与心律失常共同靶点, 其中钠电压门控通道 α 亚基 5 (SCN5A) 作用于钠通道在心肌细胞和心脏电脉冲的传导中起关键作用[14], 钾电压门控通道亚家族 H 成员 2 (KCNH2) 在心脏动作电位的复极过程中发挥着至关重要的作用, 有助于降低复极电流与心律失常的发生[15], 缝隙连接蛋白 $\alpha 1$ (GJA1) 在心电节律的维持及心肌缺血的处理中发挥着显著作用[16], 白介素(IL), IL-10、IL-2 的高表达是发生室性心律失常的重要因素[17]。丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt), Fas 激活的 Akt(FASTK)可显著减轻缺氧/复氧所导致的心肌细胞损伤[18], 内皮素 1 (EDN1), ET-1 是心律失常相互作用的重要靶点, 在房性心律失常中具有显著特征[19], C 反应蛋白(CRP) Cheng-Gang Wang 等[20]指出 CRP 是在非 ST 段抬高型心肌梗死患者中恶性室性心律失常的标志物, 肿瘤坏死因子(TNF), 研究指出在急性心肌梗死诱导下 TNF- α 表达导致室性心律失常发生率上升[21]。分子对接显示平均结合能-7.133 kcal/mol, 说明药物与靶点具有较强的结合能力, 通过与 1edp、VEGFA、AKT1、IL6、GJA1、TNF 靶点的对接表示药物可以通过调节免疫、炎症和损伤等方面具有较强的调控能力。

总而言之, 此次研究通过网络药理学及分子对接技术实现了对参桂汤有效成分治疗心律失常的作用机制初步预测, 展现出参桂汤治疗心律失常存在多成分、多靶标、多通路的密切联系。此次研究对阐明参桂汤治疗心律失常作用机制提供了理论支持, 为进一步实验研究提供了理论基础。同时, 可以预想在此实验理论上展开的进一步关于参桂汤治疗心律失常的实验展望, 无论是继续对其综合、单独成分的效果研究, 还是将参桂汤加入临床试验探索, 都已经存在了相当部分的基础。以上其众多研究以及相关的实验内容数据, 都为未来研究的开展提供了坚实的前期基础。

参考文献

- [1] Ai, X., Yan, J. and Pogwizd, S.M. (2021) Serine-Threonine Protein Phosphatase Regulation of Cx43 Dephosphorylation in Arrhythmogenic Disorders. *Cellular Signalling*, **86**, Article ID: 110070. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2021.110070>
- [2] Asimaki, A. and Saffitz, J.E. (2014) Remodeling of Cell-Cell Junctions in Arrhythmogenic Cardiomyopathy. *Cell Communication & Adhesion*, **21**, 13-23. <https://doi.org/10.3109/15419061.2013.876016>
- [3] Liu, Y. and Tse, H.F. (2011) The Proarrhythmic Risk of Cell Therapy for Cardiovascular Diseases. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, **9**, 1593-1601. <https://doi.org/10.1586/erc.11.171>
- [4] Chen, M., Li, X., Wang, S., et al. (2020) The Role of Cardiac Macrophage and Cytokines on Ventricular Arrhythmias. *Frontiers in Physiology*, **11**, Article 1113. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.01113>
- [5] Chang, J.H., Cheng, C.C., Lu, Y.Y., et al. (2021) Vascular Endothelial Growth Factor Modulates Pulmonary Vein Arrhythmogenesis via Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1/NOS Pathway. *European Journal of Pharmacology*, **911**, Article ID: 174547. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174547>
- [6] Soman, S., Raju, R., Sandhya, V.K., et al. (2013) A Multicellular Signal Transduction Network of AGE/RAGE Signaling. *Journal of Cell Communication and Signaling*, **7**, 19-23. <https://doi.org/10.1007/s12079-012-0181-3>
- [7] 郑诗悦, 杨阳, 赵德超. HIF-1 α 在心血管病中的作用[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(5): 1146-1150.
- [8] Mersmann, J., Koch, A., Tran, N., et al. (2010) Toll-Like Receptor 2 Signaling Triggers Fatal Arrhythmias upon Myocardial Ischemia-Reperfusion. *Critical Care Medicine*, **38**, 1927-1932. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181ef455b>
- [9] Sun, X.Y., Jia, L.Y., Rong, Z., et al. (2022) Research Advances on Matrine. *Frontiers in Chemistry*, **10**, Article ID: 867318. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.867318>
- [10] 张明发, 沈雅琴. 苦参碱抗心律失常的临床治疗及其机制的研究进展[J]. 抗感染药学, 2021, 18(2): 153-158.
- [11] 杜秋明, 李忠诚, 王贵荣, 等. 丹参酮IIA 磺酸钠对大鼠心肌缺血/再灌注心律失常的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(3): 183-184.

- [12] 李涛, 袁春桃. 丹参酮IIA 对缺血再灌注损伤大鼠心肌组织和心律失常的保护作用[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(13): 3154-3156.
- [13] 王凤儒, 徐京育, 杜琳, 等. 参桂汤对大鼠急性心肌缺血的保护作用[J]. 中国中医急症, 2020, 29(3): 395-398.
- [14] Li, W., Yin, L., Shen, C., *et al.* (2018) SCN5A Variants: Association with Cardiac Disorders. *Frontiers in Physiology*, **9**, Article 1372. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01372>
- [15] Van Den Boogaard, M., Van Weerd, J.H., Bawazeer, A.C., *et al.* (2019) Identification and Characterization of a Transcribed Distal Enhancer Involved in Cardiac *Kcnh2* Regulation. *Cell Reports*, **28**, 2704-2714.e2705. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.08.007>
- [16] Whisenant, C.C. and Shaw, R.M. (2022) Internal Translation of Gjal (Connexin43) to Produce GJA1-20k: Implications for Arrhythmia and Ischemic-Preconditioning. *Frontiers in Physiology*, **13**, Article ID: 1058954. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1058954>
- [17] 富丽娟, 皮林, 詹小娜, 等. 室性心律失常患者血清微小核糖核酸-155 及 130 表达及白介素水平的变化与临床意义[J]. 心肺血管病杂志, 2022, 41(3): 238-242.
- [18] 胡洸瑜, 杨容金, 孙芳芳, 等. 过表达 Fas 激活的丝氨酸/苏氨酸激酶减轻缺氧/复氧损伤导致的心肌细胞线粒体呼吸功能障碍[J]. 心脏杂志, 2021, 33(2): 123-126+132.
- [19] Lu, Y.Y., Lin, F.J., Chen, Y.C., *et al.* (2022) Role of Endothelin-1 in Right Atrial Arrhythmogenesis in Rabbits with Monocrotaline-Induced Pulmonary Arterial Hypertension. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article 10993. <https://doi.org/10.3390/ijms231910993>
- [20] Wang, C.G., Qin, X.C., Nie, S.P., *et al.* (2019) C-Reactive Protein as a Predictor of Malignant Ventricular Arrhythmias in Non-ST Elevation Myocardial Infarction. *Journal of Geriatric Cardiology*, **16**, 614-620.
- [21] Chen, Y., Chen, Z.J., Liao, Y.H., *et al.* (2010) Effect of Tumor Necrosis Factor- α on Ventricular Arrhythmias in Rats with Acute Myocardial Infarction *in Vivo*. *World Journal of Emergency Medicine*, **1**, 53-58.