

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2021.10.010

基于网络药理学和分子对接的 “当归-川芎”药对作用机制研究

袁可欣, 谭 艺, 张成玲, 韦佳慧,
戴雪杉, 徐晓玉, 陈 怡

西南大学 药学院中医药学院/重庆市高校中药新药筛选重点实验室/
药理学国家级实验教学示范中心, 重庆 400715

摘要: 研究“当归-川芎”药对的网络药理学机制, 并用分子对接进行验证。通过检索数据库和文献, 筛选出当归和川芎的活性成分及靶点, 构建“成分-靶点”网络, 得到关键靶点, 分析其与 FDA 批准药物靶点的共同靶点, 建立“共同靶点-疾病”网络。将关键靶点进行基因功能和 KEGG 通路分析, 药对活性成分与关键靶点进行分子对接, 共筛选出“当归-川芎”药对活性成分 14 个, 对应 257 个靶点, 分析“成分-靶点”网络得到 54 个关键靶点, 与 FDA 批准药物靶点的共同靶点有 34 个, 涉及 113 种疾病。关键靶点主要参与 155 个生物学过程、29 个细胞组分和 66 个分子功能, 还参与了 Pathways in cancer, Estrogen signaling pathway, Proteoglycans in cancer 等 58 条信号通路。分子对接结果表明: 6 个活性成分与 7 个靶点对接成功。揭示了“当归-川芎”药对的主要活性成分、靶点、潜在治疗的疾病及作用机制, 为其临床应用提供了参考。

关键词: 当归; 川芎; 药对; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: Q949.763.3; R966

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2021)10-0077-07

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Research of the Pharmacological Mechanism of the Drug Pair Angelicae sinensis Radix-Chuanxiong Rhizoma Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

YUAN Kexin, TAN Yi, ZHANG Chenglin, WEI Jiahui,
DAI Xueshan, XU Xiaoyu, CHEN Yi

School of Pharmaceutical Sciences and Chinese Medicine, Southwest University/Chongqing Key Laboratory of
New Drug Screening from Traditional Chinese Medicine/National Demonstration Center for
Experimental Pharmacy Education of Southwest University, Chongqing 400715, China

收稿日期: 2020-06-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(81773984, 81402441); 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2020jcyj-msxmX0451); 重庆市卫生健康
医药科研项目(2020ZY023665); 西南大学国家级药理学实验教学示范中心资助的创新实验项目(XY2017-CXZD-04)。

作者简介: 袁可欣, 硕士研究生, 主要从事中药药理的研究。

通信作者: 陈 怡, 副教授。

Abstract: This study was designed to explore the network pharmacology mechanism of the drug pair *Angelicae Sinensis Radix-Chuanxiong Rhizoma*, and verify it with molecular docking. First, the main active components and targets in the drug pair *Angelicae Sinensis Radix-Chuanxiong Rhizoma* were screened from literature, TCMSP and SEA databases. Next, a “component-target” network was established for key target analysis. Then, the common targets between the key targets and the FDA approved drug targets were selected to construct a “common targets-disease” network. The key targets were subjected to GO enrichment and KEGG pathway analysis. Finally, molecular docking verification was accomplished between the active ingredients and the key targets. A total of 14 active compounds were screened out with 257 targets from this drug pair. Fifty-four key targets were obtained from analyzing the “components-target” network. Thirty-four common targets between the key targets and the FDA approved drug targets were closely related to 113 diseases. The key targets were involved in 155 biological processes, 29 cell components and 66 molecular functions, and in 58 pathways, including pathways in cancer, estrogen signaling pathway and proteoglycans in cancer. In molecular docking, 6 active ingredients showed binding activity with 7 targets. The active components, targets and mechanism of the drug pair *Angelicae Sinensis Radix-Chuanxiong Rhizoma* were revealed in this research for clinical application.

Key words: *Angelicae Sinensis Radix*; *Chuanxiong Rhizoma*; drug pair; network pharmacology; molecular docking

当归性温味甘,归肝、心、脾经,具有补血调经、活血止痛的功效;川芎性温味辛,归肝、胆、心包经,具有活血行气、祛风止痛的功效。“当归-川芎”常形成药对增强其行气活血、补血养血的作用,如四物汤、佛手散、血府逐瘀汤、补阳还五汤、温经汤和生化汤等经典名方^[1-3],但“当归-川芎”药对的物质基础及作用机制尚未阐明。网络药理学是融合了系统生物学、生物信息学的新兴交叉学科,近年来,被广泛应用于中药的研究中,它通过构建“药物-靶点-通路”多层次网络,系统综合地观察中药对整个疾病网络的调控作用,有利于阐明中药多成分、多靶点、多途径协同作用的机制^[4-5]。

本研究通过 TCMSP,SEA 数据库和文献检索,收集“当归-川芎”药对活性成分及其靶点,构建“成分-靶点”网络,分析得到关键靶点,寻找其与美国食品药品监督管理局(FDA)批准药物靶点的共同靶点,利用 TTD 和 TCMSP 数据库分析与共同靶点相关的疾病,建立“共同靶点-疾病”网络。对关键靶点进行基因功能和 KEGG 通路分析,将活性成分和关键靶点进行分子对接验证。

1 材料与方法

1.1 “当归-川芎”药对活性成分的筛选

通过检索 TCMSP(<http://lsp.nwu.edu.cn/index.php>),SEA(<http://sea.bkslab.org/>)数据库和文献,收集“当归-川芎”药对中当归、川芎所含成分,然后利用药代动力学参数,即口服生物利用度 $OB \geq 30\%$,类药性 $DL \geq 0.18$ 及小肠上皮细胞渗透率 $Caco-2 \geq -0.40$,筛选出当归、川芎的活性成分。

1.2 “当归-川芎”药对“成分-靶点”网络的构建和关键靶点的筛选

通过检索 TCMSP,SEA 数据库,获得当归、川芎活性成分的靶点,利用蛋白质数据库 UniProt(<http://www.uniprot.org/>)的搜索功能,将靶点转换为 UniProt ID 导入 STRING 数据库,进行成分-靶点间关联性分析,运用 Cytoscape 3.5.0 软件构建出“当归-川芎”药对“成分-靶点”网络。使用中间介数、接近中间度、度值 3 个指标,对网络进行分析,选择 3 个指标均大于平均值的靶点作为网络中的关键靶点。

1.3 共同靶点的筛选以及相关疾病分析

利用 Drug Bank (<https://www.drugbank.ca/>)和 TTD(<https://db.idrblab.org/ttd/>)数据库,收集 FDA 批准药物靶点,筛选得到关键靶点和药物靶点的共同靶点。利用 TCMSP 和 TTD 数据库获得共同靶点相关疾病,按照医学主题词表 MeSH(<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>)将疾病分类,运用 Cytoscape 3.5.0 软件构建出“共同靶点-疾病”网络。

1.4 关键靶点的富集分析和分子对接

将关键靶点导入 DAVID 数据库(<https://david.ncicrf.gov/>), 进行基因功能和 KEGG 通路富集分析. 从 Pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中获取“当归-川芎”药对活性成分的分子结构, 将其与关键靶点导入 Systems Dock Web Site(<http://systemsdock.unit.ois.jp/iddp/home/index>)数据库进行分子对接. 对接分数为实验解离/抑制常数值(pKd/pKi)的负对数, 大于 4.25, 表明分子与靶点具有一定的结合活性; 大于 5.0, 表明分子与靶点结合活性较好; 大于 7.0, 表明分子与靶点具有强烈的稳定性及活性.

2 结 果

2.1 “当归-川芎”药对的活性成分

通过检索 TCMSP,SEA 数据库, 获得当归成分 125 个, 川芎成分 189 个, 阈值设定为 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$ 以及 $Caco-2 \geq -0.40$, 共筛选出候选活性成分 8 个, 其中当归 2 个, 川芎 6 个. 通过查阅文献获得 10 个活性成分, 其中当归 4 个, 川芎 6 个. 去除重复成分, 最终得到 14 个活性成分, 其中川芎和当归共有活性成分 4 个, 分别是咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、藁本内酯(表 1).

表 1 “川芎-当归”药对的活性成分

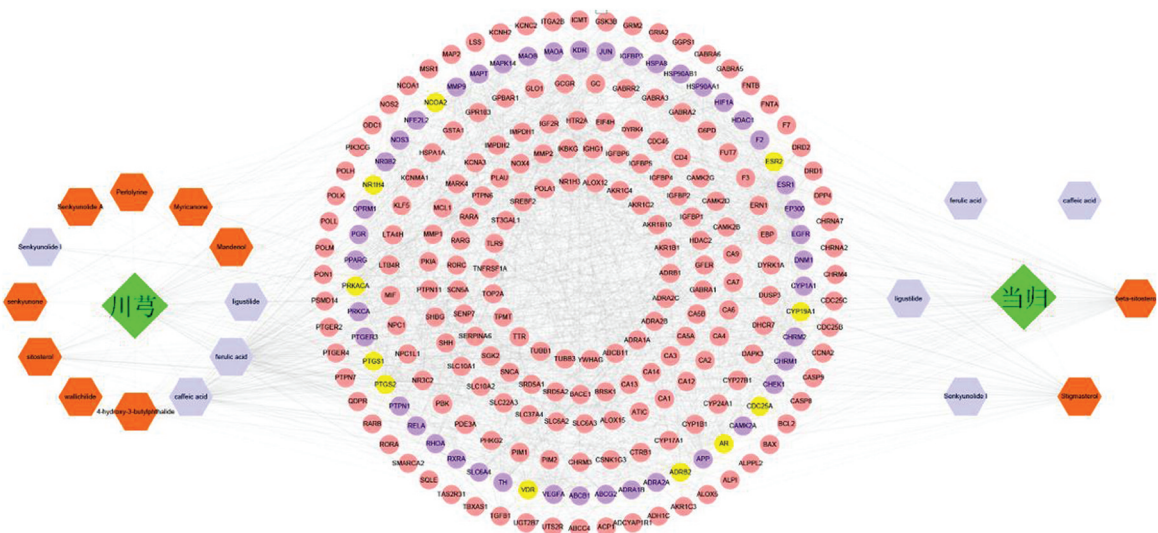
NO.	活性成分	分子式	来源
1	阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	当归/川芎
2	咖啡酸	C ₉ H ₈ O ₄	当归/川芎
3	β-谷甾醇	C ₂₉ H ₅₀ O	当归
4	豆甾醇	C ₂₉ H ₄₈ O	当归
5	谷甾醇	C ₂₉ H ₅₀ O	川芎
6	4-羟基-3-丁基苯酚	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	川芎
7	杨梅酮	C ₂₁ H ₂₄ O ₅	川芎
8	洋川芎酮	C ₂₂ H ₃₀ O ₂	川芎
9	洋川芎内酯 I	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	当归/川芎
10	洋川芎内酯 A	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	川芎
11	川芎啉	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₂	川芎
12	川芎萜呋内酯	C ₂₅ H ₃₂ O ₅	川芎
13	亚油酸乙酯	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	川芎
14	藁本内酯	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	当归/川芎

2.2 “当归-川芎”药对的“成分-靶点”网络

利用 TCMSP,SEA 数据库, 发现川芎 12 个活性成分对应 127 个靶点, 当归 6 个活性成分对应 337 个靶点, 删除重复的靶点, “当归-川芎”药对 14 个活性成分对应 257 个靶点. “当归-川芎”药对的“成分-靶点”网络包含 257 个节点和 2 388 条边(图 1). 分析网络节点的中间介数、接近中间度及度值的平均值, 分别为 0.003 5, 0.441 1, 16.925 3, 筛选 3 个指标均大于等于平均值的靶点, 得到 54 个关键靶点, 其中 11 个是当归和川芎共有靶点, 分别是 PTGS1, VDR, PTGS2, CDC25A, CYP19A1, NR1H4, PRKACA, AR, ESR2, ADRB2, NCOA2, 这些靶点可能是川芎和当归协同作用的物质基础.

2.3 “共同靶点-疾病”网络的构建与分析

通过 TTD 和 Drug Bank 数据库, 获得 1 215 个 FDA 批准药物靶点, 54 个关键靶点和 FDA 批准药物靶点有 34 个共同靶点. 通过 TTD 和 TCMSP 数据库分析, 构建的“共同靶点-疾病”网络由 168 个点和 264 条边组成, 共同靶点与 21 组共 113 种疾病相关, 包括肿瘤(14.2%)、神经系统疾病(12.4%)、心血管疾病(8.8%)、心理疾病(8.8%)、病理状况(7.1%)和女性生殖系统疾病(5.9%)等(图 2), 这可能是“当归-川芎”药对潜在的治疗靶点和对应的疾病.



两边的六边形分别表示川芎和当归的有效成分，其中浅紫色的表示当归和川芎的共有成分，中间的橙色圆形表示“当归-川芎”药对的靶点，紫色圆形表示关键靶点，黄色圆形表示关键靶点中的共有靶点。

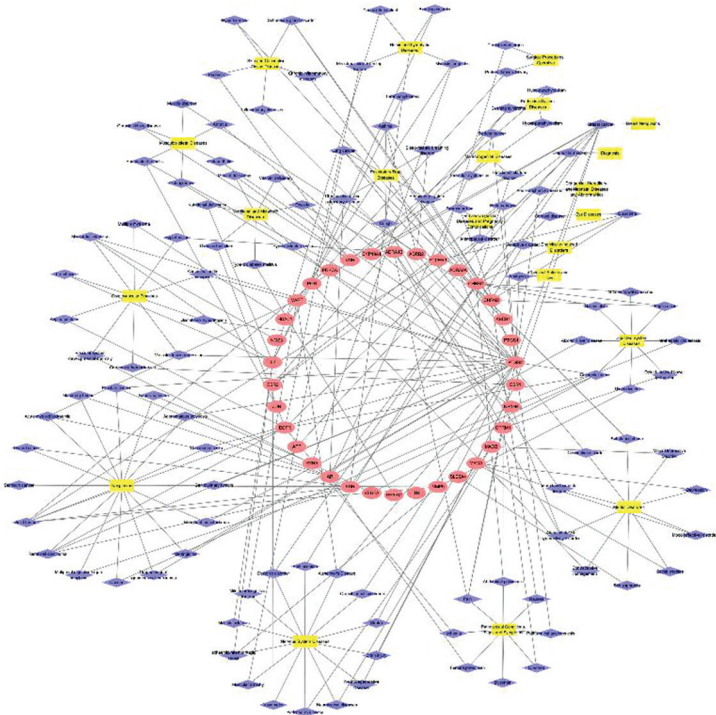
图 1 “当归-川芎”药对“成分-靶点”网络

2.4 基因功能及 KEGG 通路富集分析

34 个共同靶点提示的是“当归-川芎”药对潜在作用的疾病，而 54 个关键靶点能更全面地反映“当归-川芎”药对的成分靶点，因此将 54 个关键靶点导入 DAVID 数据库，从生物学过程、分子功能和细胞组分 3 个不同的方面对基因功能进行分析。结果显示，54 个关键靶点共涉及 155 个生物过程、29 个细胞组分和 66 个分子功能，其中生物过程中排名前 5 的有 Positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter (19 个靶点/35.2%)，Transcription DNA-templated(14 个靶点/25.9%)，Signal transduction(13 个靶点/24.1%)，Negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter (12 个靶点/22.2%)，Response to drug(11 个靶点/20.4%)。细胞组分中排名前 5

的有 Nucleus (34 个靶点/63%)，Plasma membrane (27 个靶点/50.0%)，Nucleoplasm (24 个靶点/44.4%)，Cytosol (23 个靶点/42.6%)，Cytoplasm (23 个靶点/42.6%)。分子功能中排名前 5 的有 Protein binding (46 个靶点/85.2%)，Enzyme binding (19 个靶点/35.2%)，Transcription factor activity, Sequence-specific DNA binding (13 个靶点/24.1%)，DNA binding (13 个靶点/24.1%)，Protein homodimerization activity (12 个靶点/22.2%) (图 3)。这表明“当归-川芎”药对可能参与了人体内的多种生物过程。

KEGG 通路富集分析结果显示，54 个关键靶点共参与 58 条信号通路过程，其中包括 Pathways in



红色椭圆代表关键靶点和 FDA 批准药物靶点的共同靶点，紫色菱形代表疾病，黄色长方形代表疾病所属大类，根据 MeSH 分为 21 组。

图 2 关键靶点-疾病网络

cancer, Estrogen signaling pathway, Proteoglycans in cancer, Calcium signaling pathway, HIF-1 signaling pathway 等, 涉及癌症、黏附、细胞周期、炎症、细胞凋亡、血管生成及激素调节等, 表 2 展示了涉及靶点数目排名前 20 的通路信息.

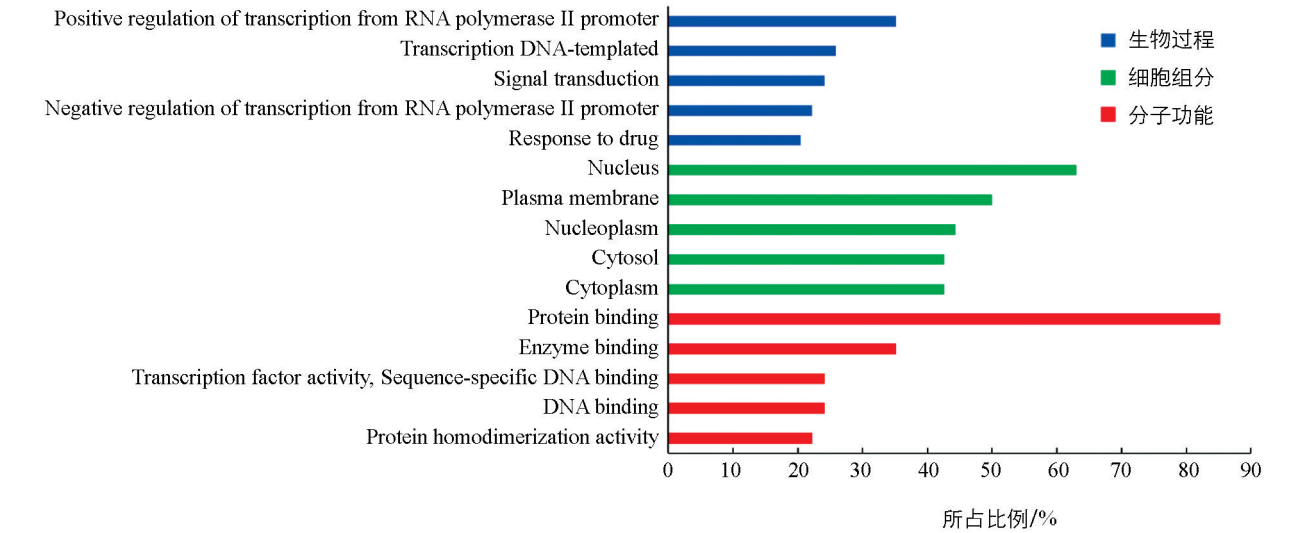


图 3 排名前 5 的基因功能分析

表 2 排名前 20 的 KEGG 通路信息

No	通 路 名 称	靶点数	所占比例/%
1	Pathways in cancer	18	33.3
2	Estrogen signaling pathway	11	20.4
3	Proteoglycans in cancer	11	20.4
4	PI3K-Akt signaling pathway	11	20.4
5	Calcium signaling pathway	10	18.5
6	cAMP signaling pathway	10	18.5
7	HIF-1 signaling pathway	8	14.8
8	Serotonergic synapse	8	14.8
9	Thyroid hormone signaling pathway	8	14.8
10	Oxytocin signaling pathway	8	14.8
11	Amphetamine addiction	7	13.0
12	Dopaminergic synapse	7	13.0
13	VEGF signaling pathway	6	11.1
14	Bile secretion	6	11.1
15	Cocaine addiction	6	11.1
16	Progesterone-mediated oocyte maturation	6	11.1
17	Prostate cancer	6	11.1
18	GnRH signaling pathway	6	11.1
19	Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption	5	9.3
20	Regulation of lipolysis in adipocytes	5	9.3

2.5 “当归-川芎”药对活性成分与关键靶点有结合活性

将“当归-川芎”药对活性成分豆甾醇、 β -谷甾醇、洋川芎内酯 A、藁本内酯、阿魏酸和 4-羟基-3-丁基苯酚与度值排名前 10 的关键靶点进行分子对接. 结果表明, 6 个活性成分与 7 个靶点对接成功, 其中豆

甾醇、β-谷甾醇、洋川芎内酯 A、藁本内酯与 NCOA2,ESR2,EP300,ESR1 等靶点有较好的结合活性以及稳定性(表 3).

表 3 “当归-川芎”药对活性成分与关键靶点分子对接

成分	靶点	PDB ID	对接分数	成分	靶点	PDB ID	对接分数
豆甾醇	NCOA2	1T65	8.355	β-谷甾醇	NCOA2	1T65	8.354
	ESR2	1QKM	8.328		ESR2	1QKM	8.309
	EP300	3BIY	8.255		EP300	3BIY	8.371
	ESR1	3CBP	7.525		ESR1	3CBP	7.547
	HIF1A	1LM8	7.341		HIF1A	1LM8	7.282
	ADRB2	2RH1	5.518		ADRB2	2RH1	5.557
	MMP9	1ITV	4.953		MMP9	1ITV	4.980
洋川芎内酯 A	NCOA2	1T65	5.749	藁本内酯	NCOA2	1T65	5.689
	ESR2	1QKM	5.838		ESR2	1QKM	5.818
	EP300	3BIY	5.495		EP300	3BIY	5.450
	ESR1	3CBP	5.001		ESR1	3CBP	4.986
	HIF1A	1LM8	4.477		HIF1A	1LM8	4.130
	ADRB2	2RH1	4.163		ADRB2	2RH1	4.066
	MMP9	1ITV	4.218		MMP9	1ITV	3.917
阿魏酸	NCOA2	1T65	4.075	4-羟基-3-丁基苯酚	NCOA2	1T65	4.388
	ESR2	1QKM	4.284		ESR2	1QKM	4.392
	EP300	3BIY	4.032		EP300	3BIY	3.831
	ESR1	3CBP	3.410		ESR1	3CBP	3.570
	HIF1A	1LM8	3.157		HIF1A	1LM8	3.035
	ADRB2	2RH1	3.270		ADRB2	2RH1	3.073
	MMP9	1ITV	2.894		MMP9	1ITV	2.900

3 讨 论

当归、川芎都是血分之主药，当归味甘，具有养血活血之功效，川芎味辛，是血中气药，具有活血祛瘀、行血散血的功效，两者相使配伍同用，可增强活血化瘀、养血活血之功效，因此“当归-川芎”常作为活血化瘀的药对使用，但它们配伍增效的物质基础并未阐明，我们通过数据库和文献检索获得川芎和当归 14 个有效成分，其中 4 个共有成分，分别是咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、藁本内酯。其中咖啡酸和阿魏酸是酚酸类成分，咖啡酸在机体内儿茶酚氧位甲基转移酶的作用下可转化成阿魏酸，而阿魏酸具有抗氧化、抗血栓、降血脂、降低心肌缺氧、抗菌、抗肿瘤和脑保护等多种药理作用^[6-7]。洋川芎内酯 I 和藁本内酯是苯酚类成分，洋川芎内酯 I 具有保护脑、抗凝血作用，藁本内酯具有抗动脉粥样硬化、抗炎镇痛、抗衰老痴呆、抗脑缺血、抗肿瘤、抗脂质过氧化、改善微循环等作用^[8-9]。这些共有成分可能是“当归-川芎”药对配伍增效的物质基础，可以进一步通过成分敲出、敲入等技术来验证。

“当归-川芎”常常配对使用，尤其多见于一些治疗妇科疾病的名方，比如四物汤、佛手散、血府逐瘀汤、温经汤等。通过数据库检索发现，构建和分析“当归-川芎”药对的“成分-靶点”网络，获得 54 个关键靶点，其中 11 个是川芎和当归共有靶点，分别是 PTGS1,VDR,PTGS2,CDC25A,CYP19A1,NR1H4,PRKACA,AR,ESR2,ADRB2,NCOA2。有研究发现 PTGS2 是 FDA 批准的治疗子宫内膜异位症的靶点之一^[10]，而且“当归-川芎”药对中的阿魏酸和川芎嗪能抑制 PTGS2 的表达^[11-14]。CYP19A1 参与雌激素合成，ESR2 是雌激素受体，分子对接结果中，豆甾醇、β-谷甾醇、洋川芎内酯 A、藁本内酯与 ESR2 有较好的结

合活性,也有研究发现阿魏酸和川芎嗪能抑制雌激素水平^[4, 10],但是“当归-川芎”药对及其活性成分对 CYP19A1 和 ESR2 的作用还未见报道,值得研究. 其中 34 个关键靶点也是 FDA 批准药物靶点,PTGS2, ESR2 可作为治疗女性生殖系统疾病及妊娠并发症的靶点,进一步 KEGG 通路富集分析发现,关键靶点调控多条与雌激素、孕激素相关的通路,包括 Estrogen signaling pathway, Oxytocin signaling pathway, Progesterone-mediated oocyte maturation, GnRH signaling pathway, Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption,这可能是“当归-川芎”配对于治疗妇科疾病的机制,值得进一步深入研究.

参考文献:

[1] 李伟霞,唐于平,王 欢,等. 药对研究(Ⅷ)——当归-川芎药对 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(24): 4220-4226.

[2] 李佳琦,林 燕. 基于数据挖掘的当归、川芎在《汤头歌诀》中的临床应用 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2019, 17(22): 65-67.

[3] 邹 亮,彭镰心,罗杰英,等. 中药补阳还五汤的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2009, 31(4): 48-51.

[4] 张 莹,韦佳慧,张成玲,等. 基于网络药理学的加味佛手散抑制子宫内膜侵袭转移机制研究 [J]. 药学学报, 2018, 53(9): 1398-1405.

[5] 陈 晶,邵先明,侯志涛. 基于网络药理学的黄芪-山药药对治疗 2 型糖尿病作用机制研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(6): 89-95.

[6] ZHOU Z Y, XU J Q, ZHAO W R, et al. Ferulic Acid Relaxed Rat Aortic, Small Mesenteric and Coronary Arteries by Blocking Voltage-Gated Calcium Channel and Calcium Desensitization via Dephosphorylation of ERK1/2 and MYPT1 [J]. European Journal of Pharmacology, 2017, 815: 26-32.

[7] 张 欣,高增平. 阿魏酸的研究进展 [J]. 中国现代中药, 2020, 22(1): 138-147.

[8] 李海刚,胡晒平,周 意,等. 川芎主要药理活性成分药理研究进展 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2018, 23(11): 1302-1308.

[9] 姚淞允,张开霞,马 强,等. 藁本内酯的临床前研究进展 [J]. 药学服务与研究, 2019, 19(2): 106-110.

[10] WEI J, ZHAO B, ZHANG C, et al. Jiawei Foshou San Induces Apoptosis in Ectopic Endometrium Based on Systems Pharmacology, Molecular Docking, and Experimental Evidence [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019, 2019: 2360367.

[11] KIMB W, KOPPULA S, PARK S Y, et al. Attenuation of Neuroinflammatory Responses and Behavioral Deficits by Ligusticum Officinale (Makino) Kitag in Stimulated Microglia and MPTP-Induced Mouse Model of Parkinson's Disease [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2015, 164: 388-397.

[12] MANCUSO C, SANTANGELO R. Ferulic Acid: Pharmacological and Toxicological Aspects [J]. Food and Chemical Toxicology, 2014, 65: 185-195.

[13] MICHELH E, TADROS M G, ESMAT A, et al. Tetramethylpyrazine Ameliorates Rotenone-Induced Parkinson's Disease in Rats; Involvement of Its Anti-Inflammatory and Anti-Apoptotic Actions [J]. Molecular Neurobiology, 2017, 54(7): 4866-4878.

[14] YU B, RUAN M, LIANG T, et al. Tetramethylpyrazine Phosphate and Borneol Combination Therapy Synergistically Attenuated Ischemia-Reperfusion Injury of the Hypothalamus and Striatum via Regulation of Apoptosis and Autophagy in a Rat Model [J]. American Journal of Translational Research, 2017, 9(11): 4807-4820.

责任编辑 周仁惠