

基于 DNA 能量弛豫机制调节亚健康的人参四逆汤系统药理学分析

王忠策, 郑永春

吉林农业科技学院电气与信息工程学院 吉林

【摘要】探讨人参四逆汤 (Ginseng-Sini Decoction, GSSD) 在亚健康调理方面的生理作用机制。方法: 基于 TCM (Traditional Chinese Medicine) 网络药理学分析平台 (TCMSP), 我们在 GSSD 中检索到四种中药 (人参、附子、生姜和甘草) 的化学成分和靶位。构建复合靶网络和蛋白质相互作用 (PPI) 网络, 进行基因本体 (GO) 功能性富集分析, 进行京都基因和基因组 (KEGG) 通路富集分析, 分析蛋白质能量转移的分子机制和基因载体。结果: 复合靶网络含有 137 种化合物和 60 个相应的靶标, 关键靶标涉及前列腺素 G/H 合酶 2 (PTGS2), 雌激素受体, 钙调蛋白等。PPI 网络含有 39 个蛋白质, 关键蛋白质包括 Jun, Ar, NCOA1 蛋白等。GO 功能富集分析产生 167 个作用实体。KEGG 通路富集筛选 70 个信号通路涉及钙信号通路, 神经活性配体受体相互作用, 癌症的通路, 光谱分析结合 DNA 能量弛豫机制等。本研究结果初步验证了 GSSD 在预防和治疗亚健康方面的分子及生物物理学机制, 并为进一步探索其机制提供参考信息和依据。

【关键词】人参四逆汤 (GSSD); 网络药理学; 蛋白质相互作用网络 (PPI); 基因本体 (GO); 信号途径; 分子动力学; DNA 能量弛豫

【基金项目】吉林省教育厅课题编号: JJKH20210415KJ

【收稿日期】2023 年 10 月 17 日 **【出刊日期】**2023 年 11 月 22 日 **【DOI】**10.12208/j.ijcr.20230351

Pharmacological analysis of the regulation of sub-health system of Ginseng Sini Decoction based on DNA energy relaxation mechanism

Zhongce Wang, Yongchun Zheng

Electrical and information Engineering College, Jilin

【Abstract】To explore the physiological mechanism of Ginseng Sini Decoction decoction decoction treating sub-health. Methods: Based on TCM(Traditional Chinese Medicine) Network Pharmacological Analysis platform (TCMSP), we searched the chemical constituents and target sites of four Chinese herbs (ginseng, aconite, ginger and licorice) in GSSD. The complex target network and protein interaction (PPI) network were constructed, gene ontology (GO) functional enrichment analysis was performed, Kyoto gene and genome (KEGG) pathway enrichment analysis was performed, and the molecular mechanism of protein energy transfer and gene vector were analyzed. Results: The complex target network contained 137 compounds and 60 corresponding targets, the key targets involved prostaglandin G/H synthase 2(PTGS2), estrogen receptor, calmodulin and so on. The PPI network contains 39 proteins, the key proteins include Jun, Ar, NCOA1 protein and so on. GO functional enrichment analysis produced 167 acting entities. KEGG pathway enrichment screened 70 signaling pathways involved in calcium signaling pathways, neuroactive ligand receptor interactions, cancer pathways, spectral analysis combined with DNA energy relaxation mechanisms, etc. The results of this study preliminarily verified the molecular and biophysical mechanism of GSSD in the prevention and treatment of sub-health, and provided reference information and basis for further exploration of its mechanism.

【Keywords】Ginseng Sini Decoction (GSSD); Network pharmacology; Protein interaction Network (PPI); Gene ontology (GO); Signal pathway; Molecular dynamics; DNA energy relaxation

在今天的社会中, 许多人总是感到不适, 心情不好。然而, 当他们去医院进行检查时, 却无法找到任何物理病灶位置。通常被称为亚健康状态。亚健康是一种健康而低质量的状态, 人们身心在健康和疾病之间, 它是从健康转化到疾病的过程中的过渡阶段。中药文化具有“预防疾病”的特征, 因此其优势作用明显。随着中国中医文化的逐步发展, 鉴于现代人一般对传统中医的理论体系普遍不了解这一事实, 通过系统(网络)药理学^[1,2]和生物物理学更好地阐明了这种处方的原理和疗效, 希望为 GSSD 的深入实验研究和临床合理应用提供参考。

1 材料和方法

1.1 筛选化学成分

为了筛选人参四逆汤(GSSD)的化学成分, 针对典型的亚健康药物的处方, 本研究采用中药网络药理学技术平台(TCMSP)和分子动力学技术。

1.2 预测目标和疾病

基于 TCMSP 数据库和所获得 GSSD 中的有效化合物, 典型的亚健康调理药物, 逐一与潜在目标配对。同时, 使用蛋白质数据库(Uniprot 数据库, <https://www.uniprot.org/>), 筛选物种目标位点, 并获得与候选化合物相关的目标蛋白质信息。同时, 在 TCMSP 数据库中筛选对应于目标的疾病。

1.3 复合靶网络, 靶疾病网络和 PPI 的构建

通过 Cytoscape 3.9.1 软件, 将人参四逆汤中的候选化合物和相关靶蛋白, 靶蛋白和相关疾病关联构建为复合靶网络和靶疾病网络, 探讨人参四逆汤的药理学机制。并使用 String 数据库构建对应于靶蛋白基因的 PPI 网络, 并通过 Cytoscape 软件获得度值前 11 节点对应主要作用蛋白。

1.4 在本研究中的 GO 富集和 KEGG 通路富集分析

David 6.8 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)和 kobas3.0 数据库(<http://kobas.cbi.pku.edu.cn>)用于靶蛋白的富集分析和 KEGG 通路聚类分析。获得人参四逆汤靶的主要生物功能, 以及药理机制中可能的通路, 并在 GO 聚类分析中绘制 GO 项目的条形图和 KEGG 通路聚类分析中的通路。

1.5 组合系统动力学和光谱方法, 确认 ATP 对 DNA 活性的促进机制

基于生物信息学, 解决药效动力学的逻辑问题, 借助分子动力学和光谱分析技术, 我们可以了解与信号通路相关的 ATP 水解能量转移和相关 DNA 的能量转

移, 特别是如何在其他条件一致的前提下增加 DNA(相关基因片段)的振动频率。

2 结果

2.1 筛选活性化合物

通过 TCMSP 收集 GSSD 中总共 683 种化合物, 其中 190 个来自人参, 65 个来自附子, 280 个来自甘草, 148 个来自生姜。口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性(DL) ≥ 0.18 。137 个活性化合物, 其中 22 个来自人参, 21 个来自附子, 90 个来自甘草, 4 个来自干姜。表 1 显示了人参汤中含有 137 个活性化合物的基本信息(部分)。

2.2 GSSD 化合物与靶点相互作用网络

GSSD 的化合物与靶点相互作用网络, 如图 1 所示, 橙色代表化合物; 蓝色表示目标; 节点的度表示与化合物的关联程度。

2.3 GSSD 靶 PPI 网络的构建与分析

PPI 网络包含 38 个节点和 174 个边, 其中节点代表蛋白质, 边表示蛋白质之间的相互作用。根据节点的度, 绘制了前 32 个关键节点的条形图(图 2)。具有度 ≥ 14 的节点包括 Jun, Ar, NCOA1, HSP90AA1, Casp3, HTR2A, Chram1 等。度居前三位节点是蛋白激酶 Jun, cAMP 依赖性蛋白激酶 AR, 核受体共激活因子 1(NCOA1), 分别可以与 18、16 和 14 个蛋白质相互作用。

2.4 GO 功能富集分析

使用 David 实现蛋白质名称的转化和相应的基因名称, Kobas 平台用于 GO 功能富集分析, 研究了 38 种蛋白参与基因功能中 GSSD PPI 网络的作用。基于校正 P 值 < 0.001 , 筛选 167 个 GO 通路, 表 2 根据校正 P 值列出了前 14 组通路, 生物过程主要涉及对有机物质的反应, 分子调节功能, 系统过程的调节, 调节多细胞生物过程, 级联反应, 细胞坏死和细胞凋亡的调节等。与分子功能相关的项目主要涉及感受器活性, 神经递质结合等。与细胞成分有关的项目主要涉及细胞组成、质膜等。

2.5 KEGG 通路富集分析

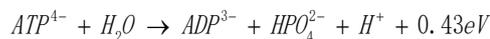
使用 Kobas 平台的 KEGG 通路聚类分析功能, 研究了 38 个蛋白在信号通路中 GSSD 的 PPI 网络中涉及的作用, 获得了 70 个信号通路(根据校正 P 值 < 0.001), 前 20 项被筛选出来(表 3, 图 3),

鉴定了 167 个 GO 对象(校正 P 值 < 0.001 , 表 3 中列出了前 9 项), 其中与生物过程有关的 GO 通路是最多的, 主要涉及对有机物质的反应, 分子功能调节,

系统的调节流程, 调控多细胞生物学过程, 级联反应, 细胞坏死和凋亡的调节等。分子功能相关的, 主要涉及受体活性, 神经递质结合等细胞组合物, 主要涉及细胞组成、细胞质膜等。

2.6 DNA 典型的碱基光谱

GSSD 的动力学通路具有 ATP 增强功能 (人参丰富的化合物可以引发 AMPK 促进 ATP 生产)。在糖、脂质和蛋白质的氧化分解中释放的能量相当大的部分能量磷酸化 ADP 进入 ATP, 从而在 ATP 分子中保持能量。ATP 水解平衡式, ATP 分子在发生以下水解反应时释放 0.43 eV 能量。



能量 $E = \text{普朗克常数 } h * \text{光子频率} = \text{普朗克常数 } h * \text{光速 } c / \text{光波长}$, 1 电子伏 = 1.6×10^{-19} J, 对应波长为 $6.626 * 10^{-34} * 3 * 10^8 / (0.43 * 1.6 * 10^{-19}) = 2.88924 \text{ um}$, 波数为 3461 cm^{-1} 。如图 4 所示, A-T 碱基对光谱的吸收峰值是 3446 cm^{-1} , 高斯计算光谱误差为 10%-20%^[3]。同时, 考虑到展宽特性, 因为它们与 ATP 水解释放的能量光谱之间的波数误差为 0.43%, 它们可以吸收通过 ATP 水解释放的能量^[4]。使用 Gaussian09 计算 DNA 典型的碱基对光谱^[3]:

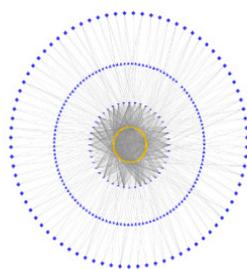
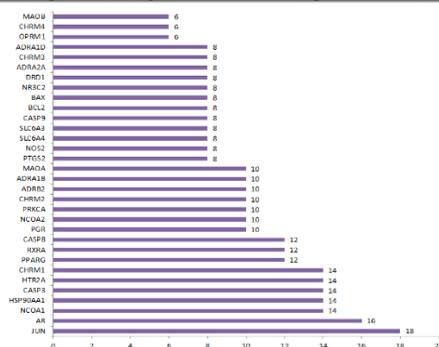


图 1 GSSD 的化合物-靶点网络

表 1 来自化合物-靶点网络的汇集节点的拓扑特性 (部分)

Name	Type	BetweennessCentrality	Degree
MOL000118	Compound	0.049226656	44
Prostaglandin G/H synthase 2	Target	0.228320693	42
MOL001789	Compound	0.196802534	31
MOL000131	Compound	0.038849282	30
Prostaglandin G/H synthase 1	Target	0.16877265	28
Nuclear receptor coactivator 2	Target	0.081927379	26
MOL001738	Compound	0.151884596	22
MOL000269	Compound	0.053035977	22
MOL000449	Compound	0.113051835	21
MOL000126	Compound	0.043653007	21
Retinoic acid receptor RXR-alpha	Target	0.019451677	15



数字表示特定节点的度

图 2 来自 PPI 网络的汇集节点

表 2 PPI 网络中的条目 (Corrected P-value < 0.001) (部分) 总共 167 个对象

Term	ID	Input	Total	P-Value	Corrected P-Value
integral component of presynap...	GO:0099056	10	59	8.63E-20	1.08E-16
integral component of postsyna...	GO:0099055	8	45	3.76E-16	1.17E-13
protein binding	GO:0005515	35	11779	1.09E-14	1.94E-12
adenylate cyclase-activating a...	GO:0071880	6	15	3.43E-14	5.35E-12
response to drug	GO:0042493	10	280	2.17E-13	2.64E-11
plasma membrane	GO:0005886	24	4619	2.19E-13	2.64E-11
identical protein binding	GO:0042802	16	1456	2.33E-13	2.64E-11
adenylate cyclase-modulating G...	GO:0007188	7	61	4.99E-13	5.18E-11
G protein-coupled receptor sig...	GO:0007187	7	65	7.56E-13	7.25E-11
adenylate cyclase-inhibiting G...	GO:0007197	5	8	9.45E-13	8.42E-11
G protein-coupled receptor act...	GO:0004930	12	739	5.33E-12	4.43E-10
response to estradiol	GO:0032355	7	105	1.81E-11	1.25E-09
positive regulation of vasocon...	GO:0045907	4	30	3.76E-08	8.53E-07
positive regulation of apoptot...	GO:0043065	7	335	4.32E-08	9.61E-07

表 3 PPI 网络中的通路 (Corrected P-value < 0.001) (部分) 总共 147 个相关通路

Term	Database	ID	Input	Total	P-Value	Corrected P-Value
Pathways in cancer	KEGG PATHWAY	hsa05200	15	530	2.08E-18	1.29E-15
Calcium signaling pathway	KEGG PATHWAY	hsa04020	11	193	8.33E-17	3.46E-14
Neuroactive ligand-receptor in...	KEGG PATHWAY	hsa04080	12	338	6.53E-16	1.63E-13
Serotonergic synapse	KEGG PATHWAY	hsa04726	9	115	4.53E-15	9.41E-13
Hepatitis B	KEGG PATHWAY	hsa05161	8	163	5.99E-12	4.67E-10
Toxoplasmosis	KEGG PATHWAY	hsa05145	6	113	2.05E-09	6.54E-08
Cocaine addiction	KEGG PATHWAY	hsa05030	5	49	2.26E-09	7.02E-08
Apoptosis	KEGG PATHWAY	hsa04210	6	136	5.93E-09	1.72E-07
Measles	KEGG PATHWAY	hsa05162	6	138	6.45E-09	1.83E-07

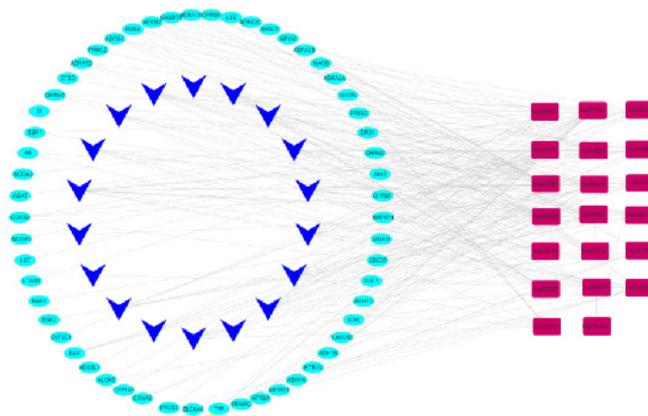
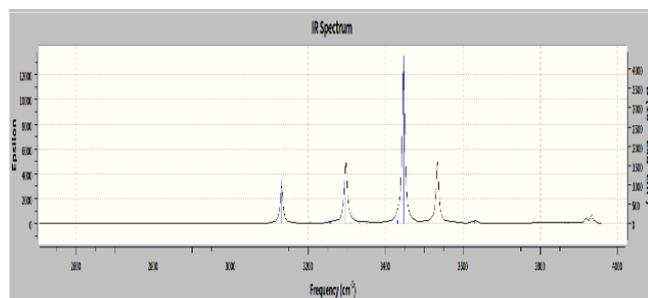
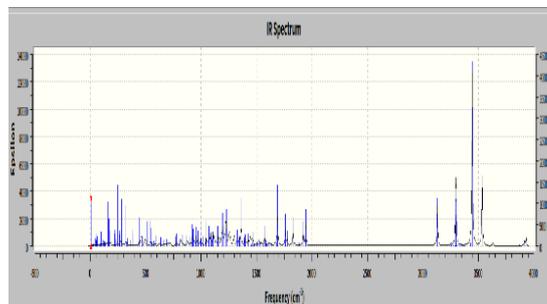


图 3 靶点-通路网络 (Corrected P-value < 0.001)



(a) A-T 碱基对光谱



(b) A-T 碱基对光谱局部放大

图4 A-T 碱基对光谱

3 讨论

通过 GO 分析和 KEGG 富集分析, GSSD 治疗心力衰竭涉及 NF 信号通路, CGMP-PKG 信号通路, cAMP 信号通路等心脏肾上腺素信号通路与 cAMP 信号通路有关。前者含有三个 ARS 亚型, 即肾上腺素能受体 ($\beta 1AR$), 肾上腺素能受体 ($\beta 2AR$) 和肾上腺素能受体 ($\beta 3AR$)。在并被活化后, GS 蛋白-腺苷酸环酶 (AC) - 丙烷蛋白激酶 A (PKA) 可以激活 GS-AC-CAMP-PKA 信号通路以增强心脏功能。

附子基于前列腺素 (PGS) 和白三烯 (LTS) 代谢途径具有常见的信号途径, 用于治疗可能成为亚健康诱因的心力衰竭和类风湿性关节炎。

甘草具有多组分、多目标和多通路的特点。它通过 PI3K-AKT 信号通路, 类 NOD 的受体信号通路调节细胞增殖和细胞凋亡, 同时施加免疫调节以改善亚健康状态。

在亚健康下, GSSD 可以提高 ATP 合成效率, 在 ATP 水解过程中释放能量, 以对应于红外辐射的非热生物效应形式增强 DNA 化学键的振动频率, 促进及改善 DNA 和蛋白质中的能量分布。以分子动力学能量弛豫形式, 提高生物分子活性, 从而改善亚健康状态。

DNA 能量转移弛豫效应, ATP 水解能量释放被 DNA 碱基振动弛豫吸收。提高 DNA 的振动能级, 振动能级在太赫兹频带中。根据现有的研究数据, 太赫兹带中的振动频率可以促进生物分子活动的维持和人体功能的改善。以上是在 GSSD 网络药理学和分子动力学的角度下改善蛋白质活性和 DNA 活性的阐释, 以调节亚健康状态。

创新点: 1) 应用网络药理学理论探讨 GSSD 调节

亚健康的主要靶点和蛋白质相互作用机制; 2) 利用光谱分析技术探索 ATP 水解能量释放和 DNA 能量吸收机制, 提高其分子生物活性。

参考文献

- [1] Chang-xiao Liu, Rui Liu, Hui-rong Fan, Xue-feng Xiao, Xiao-peng Chen, Hai-yu Xu, et al. Network Pharmacology Bridges Traditional Application and Modern Development of Traditional Chinese Medicine[J]. Chinese Herbal Medicines 2015; 0(1):3-17.
- [2] 张彦琼,李梢.网络药理学与中医药现代研究的若干进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2015,29(06):883-892.
- [3] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, G.Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G.A. Petersson, et al. Gaussian 09 Gaussian, Inc. (2009)
- [4] 高文斌,沈玉其, J.H ger 等.CH₂Cl₂ 分子慢振动-振动能量转移——SSH 理论计算[J].量子电子学, 1984(02): 168-171.
- [5] 段戡,延伟伟,王雯雯,等.基于 DNA 甲基化和 miRNA 探讨中医药干预骨关节炎研究进展[J].辽宁中医药大学学报, 2023, 25(1):4.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

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



OPEN ACCESS