

基于网络药理学研究升陷汤治疗心力衰竭的作用机制

王明珠¹, 符德玉^{2*}, 姚磊², 桂明泰², 卢波², 李建华²

(1. 上海中医药大学, 上海 201203; 2. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院心血管研究室、心内科, 上海 200437)

摘要: 目的 基于网络药理学研究升陷汤治疗心力衰竭的作用机制。方法 以化合物的口服药物生物利用度(OR)和类药性(DL)为标准, 借助中药系统药理学分析平台(TCMSP)、TCM Database、OMIM 和 Genecards 数据库、反向分子对接服务器(DRAR-CPI)筛选并预测升陷汤的活性成分及治疗心力衰竭的作用靶标。借助 STRING 数据库构建靶蛋白相互作用(PPI)网络, 运用 Cytoscape 软件绘制疾病靶点 PPI 网络, 进一步进行基因 GO 功能和 KEGG 通路富集分析, 初步构建升陷汤活性成分-心力衰竭作用靶点网络。**结果** 从升陷汤中共筛选出 76 个活性成分, 197 个与心力衰竭相关的作用靶点, 包括蛋白激酶(AKT1)、白介素(IL-6)、血管内皮生长因子 A(VEGFA)等。经 GO 和 KEGG 通路富集分析显示, 升陷汤参与 RNA 聚合酶 II 启动子转录调控、辅酶因子结合、细胞因子结合、酰胺结合、细胞因子活性、类固醇激素受体活性、氧化还原还原酶活性、G 蛋白偶联受体活性以及炎症反应等多种生物途径, 并且抑制肾素血管紧张素系统激活, 具有抗氧化能力; 参与调控 PI3K-Akt(磷脂酰肌醇 3 羟基激酶-蛋白激酶)信号通路、IL-17 信号通路、低氧诱导因子(HIF-1)信号通路、肿瘤坏死因子(TNF)信号通路等。**结论** 升陷汤活性成分能通过多个靶点、多条通路发挥治疗心力衰竭的作用, 可能是通过参与调节 AKT1、VEGFA 基因, 干预 PI3K-Akt 信号通路来实现的。

关键词: 升陷汤; 心力衰竭; 作用机制; 网络药理学

中图分类号: R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2021)01-0228-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.01.047

心力衰竭是由于心脏结构或功能异常导致心室充盈或射血能力受损的复杂临床综合征, 为各种心脏疾病的严重表现或晚期阶段^[1], 主要表现为呼吸困难、疲乏、液体潴留, 包括肺瘀血、体循环瘀血、外周水肿等^[2], 在发达国家其死亡率为 1.5%~2.0%, 70 岁以上的人群患病率≥10%^[3], 而在我国住院患者病死率约为 4.1%^[4]。原发性心肌损害和异常是心力衰竭最主要的病因, 并且除了心血管疾病外, 非心血管疾病也可导致其发生, 目前它是一种慢性、自发进展性疾病^[5]。2018 年中国心力衰竭诊断和治疗指南提出, 神经内分泌系统激活导致心肌重构是引起心力衰竭发生发展的关键因素, 推荐尽早使用沙库巴曲缬沙坦类药物, 以进一步减少其发病率及死亡率^[6]。

中医认为, 心气是心脏功能活动的原动力, “心气不足”是心力衰竭发生的病理基础及其转归预后的决定因素^[7]。心力衰竭总属本虚标实之证, 以心气不足、心阳虚衰为本, 血脉瘀滞、水饮内停、痰浊不化为标, 益气、活血、利水为治疗大法^[8]。

升陷汤出自《医学衷中参西录》, 主治胸中大气下陷, 方剂药味简单, 量大功专^[9]。方中重用黄芪六钱甚达数

两, 以其补气升阳重用为君药; 柴胡、升麻共用以升阳举陷, 前者引下陷之大气自左而升, 后者引下陷之大气自右而升, 同为臣药; 知母清热凉润, 可缓黄芪之温燥, 为佐药; 桔梗为舟楫, 载诸药上达于胸中, 为使药, 诸药配伍, 共奏补气、升阳、举陷之功效^[10], 主治“胸中大气下陷, 气短不足以息, 或努力呼吸, 有似乎喘; 或气息将停, 危在顷刻。其兼证, 或寒热往来, 或咽干作渴, 或胸闷怔忡, 或神昏健忘”^[11]。张锡纯提出“大气下陷”理论, 即胸中气陷、行血乏力, 与现代医学对血液循环心脏泵血功能衰竭的认识一致, 可认为是中医“心衰病”之主要病机之一^[12], 他所创的升陷汤、回阳升陷汤等方剂了可灵活运用于心力衰竭的治疗, 随证加减, 往往取得较好的临床疗效^[13]。

中药及其复方具有多成分、低选择性、多靶点相互作用的特点, 这种复杂性使其质量难以控制, 缺乏合理有效的安全评价体系, 对其作用、配伍机制的分析也相对困难^[14-15]。近年来网络药理学在国际上兴起, 它具有多方向交叉融合的特点, 可实现对中药及其复方的综合网络分析, 从系统层次了解疾病的发生机制, 其研究策略的整体性、系统性与中医整体观念、辨证论治不谋而合, 在识别中药

收稿日期: 2019-10-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(8177141253); 上海市进一步加快中医药事业发展三年行动计划(2018 年-2020 年)(中医心脏病专科)(2018); 上海中医药大学预算内项目(2019LK022)

作者简介: 王明珠(1991—), 男, 博士生, 从事心血管病的中西医结合临床研究。Tel: 18616826167, E-mail: wangmingzhu1991@126.com

*通信作者: 符德玉(1965—), 女, 教授, 主任医师, 博士生导师。E-mail: fdy65@126.com

及其复方活性成分及作用靶点、阐明作用机制、解释组方规律具有重要的优势及潜力^[16-17]。因此,本研究采用网络药理学分析升陷汤治疗心力衰竭的药效物质基础和分子机制,建立“药效成分-靶标-通路”关系网络,探究该方多成分、多靶点、多途径作用机制,为其基础实验研究和临床合理应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 成分虚拟筛选 本研究通过中药系统药理数据(TCMSP, <http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/Tcmsp.php>)、台湾中医药资料库(TCM Database, <http://tcml.cmu.edu.tw/zh-tw>)检索升陷汤所有化学成分,将其进行筛选,化合物口服生物利用度(OB)筛选阈值均≥30%,化合物类药性(DL)筛选阈值均≥0.18。

1.2 候选化合物靶点预测 通过中药系统药理数据库(TCMSP, <http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>)检索候选化合物靶点,并通过Uniprot数据库(<http://www.uniprot.org/>)将预测出的靶点蛋白名转换为基因名。

1.3 化合物-靶点网络和靶点-疾病网络的构建 通过Genecards数据库(<https://www.genecards.org/>)与OMIM数据库(<https://www.genecards.org/>)检索与心力衰竭相

关的基因,通过R软件将化合物、心力衰竭靶点进行统计分析,获得药物-靶点网络,并且绘制药物靶点韦恩图,存在交集的蛋白质即有可能是升陷汤活性成分治疗心力衰竭的靶点。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建 将药物靶点和疾病靶点基因,从STRING数据库(<http://string-db.org>)中绘制PPI网络,获得蛋白互作CSV文件,通过R软件进行基因关联度分析,并获得关联度排名前30的基因。再采用Cytoscape3.7.1软件,将靶点基因、药物组成进行网络拓扑分析,进一步筛选升陷汤干预心力衰竭的潜在药物、基因靶点。

1.5 基因富集分析 通过R软件ClusterProfile程序包(<http://bioconductor.org/biocLite.R>)对筛选出的基因进行GO功能、KEGG通路富集分析,获得柱状图、富集图相关通路图,以进一步阐明升陷汤的潜在靶点在基因功能和信号通路中的作用。

2 结果

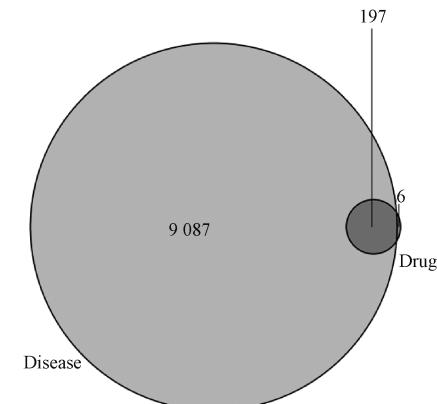
2.1 升陷汤活性成分筛选 共检索出806种成分,其中柴胡349种,黄芪87种,桔梗102种,升麻187种,知母81种。以OB≥30%、DL≥0.18为标准,共筛选出76种作为候选化合物。具体见表1。

表1 升陷汤中生物利用度较高的化合物

分子ID	化合物	OB/%	DL	来源	分子ID	化合物	OB/%	DL	来源
MOL004598	柴胡三萜皂苷	31.97	0.59	柴胡	MOL004355	波甾醇	42.98	0.76	桔梗
MOL004644	柴胡皂苷	79.91	0.23	柴胡	MOL004580	花旗松素	66.44	0.27	桔梗
MOL004702	柴胡皂苷C	30.50	0.63	柴胡	MOL005996	桔梗皂甲酯	45.15	0.25	桔梗
MOL013187	荜澄茄素	57.13	0.64	柴胡	MOL000006	木犀草素	36.16	0.25	桔梗
MOL004718	波甾醇	42.98	0.76	柴胡	MOL006026	桔梗皂苷	39.21	0.25	桔梗
MOL004653	川白芷内酯	46.06	0.66	柴胡	MOL006070	洋槐苷	39.84	0.71	桔梗
MOL000449	豆甾醇	43.83	0.76	柴胡	MOL011991	升麻内酯A	47.64	0.35	升麻
MOL000098	槲皮素	46.43	0.28	柴胡	MOL011999	升麻醇	31.31	0.42	升麻
MOL002776	黄芩苷	40.12	0.75	柴胡	MOL012011	升麻昔	30.04	0.32	升麻
MOL004628	羟基羽扇豆烷宁	47.82	0.28	柴胡	MOL012023	7,8-二羟基升麻醇	36.79	0.40	升麻
MOL004648	曲克芦丁	31.60	0.28	柴胡	MOL012040	升麻原酮	31.31	0.84	升麻
MOL000422	山奈酚	41.88	0.24	柴胡	MOL012052	韭子碱甲	102.67	0.34	升麻
MOL000354	水仙苷	49.60	0.31	柴胡	MOL012053	升麻酸	83.02	0.45	升麻
MOL001645	乙酸亚油醇酯	42.10	0.20	柴胡	MOL012055	黑升麻昔	33.84	0.74	升麻
MOL004609	茵陈黄酮	48.96	0.41	柴胡	MOL012062	升麻环氧醇	37.19	0.40	升麻
MOL004624	长管贝壳杉素A	47.72	0.53	柴胡	MOL012073	甲基升麻糖苷	30.19	0.24	升麻
MOL004598	柴胡三萜皂苷	31.97	0.59	柴胡	MOL012078	齿阿米醇	50.01	0.23	升麻
MOL000438	黄芪紫檀烷苷	67.67	0.26	黄芪	MOL012081	升麻酮醇	40.10	0.76	升麻
MOL000033	黄芪皂苷	36.23	0.78	黄芪	MOL001924	芍药苷	53.87	0.79	升麻
MOL000371	黄芪异黄烷苷	53.74	0.48	黄芪	MOL001925	芍药总苷	68.18	0.40	升麻
MOL000378	黄芪异黄烷苷	74.69	0.30	黄芪	MOL000359	谷甾醇	36.91	0.75	升麻
MOL000379	黄芪异黄烷苷	36.74	0.92	黄芪	MOL000449	豆甾醇	43.83	0.76	升麻
MOL000374	黄芪多糖	41.72	0.69	黄芪	MOL000483	阿魏酰酪胺	118.35	0.26	升麻
MOL000442	紫檀烯	39.05	0.48	黄芪	MOL001677	金色酰胺醇酯	58.02	0.52	知母
MOL000354	异鼠李素	49.60	0.31	黄芪	MOL003773	甘露酸	36.16	0.84	知母
MOL000398	异黄烷酮	109.99	0.30	黄芪	MOL000422	菝葜醇	41.88	0.24	知母
MOL000439	三苯甲酸酯	49.28	0.62	黄芪	MOL004373	知母酵素	45.41	0.44	知母
MOL000417	毛蕊异黄酮	47.75	0.24	黄芪	MOL004489	知母皂苷F	60.06	0.79	知母
MOL000392	芒柄花黄素	69.67	0.21	黄芪	MOL004492	橘黄素	38.72	0.58	知母
MOL000387	联苯双酯	31.10	0.67	黄芪	MOL004497	小星蒜碱	51.65	0.62	知母
MOL000422	菝葜醇	41.88	0.24	黄芪	MOL004514	知母皂苷B	35.26	0.87	知母
MOL000380	甲基异甘草皂苷元	64.26	0.42	黄芪	MOL000449	豆甾醇	43.83	0.76	知母
MOL000239	华良姜素	50.83	0.29	黄芪	MOL004528	淫羊藿昔	41.58	0.61	知母
MOL000098	槲皮素	46.43	0.28	黄芪	MOL004540	知母皂苷C	35.5	0.87	知母
MOL000433	氟代乙脒	68.96	0.71	黄芪	MOL004542	知母皂苷E	30.67	0.86	知母
MOL000296	长春藤皂苷元	36.91	0.75	黄芪	MOL000483	阿魏酰酪胺	118.35	0.26	知母
MOL000438	黄芪紫檀烷苷	67.67	0.26	黄芪	MOL000546	薯蓣皂素	80.88	0.81	知母
MOL001689	金合欢素	34.97	0.24	桔梗	MOL000631	香豆酰酪胺	112.9	0.20	知母

2.2 药物靶点与疾病靶点的交集预测 将药物靶点与心力衰竭疾病基因靶点通过 R 语言进行统计分析, 获得升陷汤药物成分-心力衰竭靶点基因交集, 并绘制药物靶点韦恩图, 见图 1。共获得药物-疾病交集基因 197 个, 可认为是升陷汤干预心力衰竭的潜在基因靶点, 具体见表 2。

2.3 蛋白靶点 PPI 网络构建 通过 STRING 蛋白数据库获取靶点蛋白的相互作用, 并根据其基因相互结合度进行数据显示统计, 结果见图 2。再筛选出蛋白相互作用度>60 的基因, 绘制柱状图, 发现排名前 20 的作用靶点为 AKT1、IL6、VEGFA、CASP3、JUN、MAPK1、EGFR、MAPK8、MYC、PTGS2、EGF、CXCL8、MMP9、FOS、ESR1、IL1B、CCND1、CAT、CCL2、ERBB2, 它们是升陷汤干预心力衰竭可能性最大的基因靶点, 具体见图 3。



注: 大圆圈为心力衰竭基因靶点, 小圆圈为升陷汤药物靶点, 两者交集为药物-疾病的潜在干预靶点。

图 1 药物靶点与疾病靶点的韦恩图

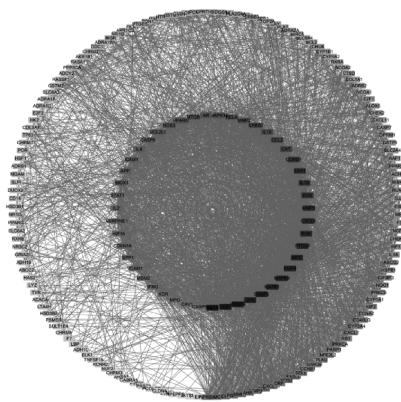
表 2 升陷汤与心衰靶点疾病交集基因

序号	基因	序号	基因	序号	基因	序号	基因	序号	基因	序号	基因
1	PGR	31	F7	61	TNFSF15	91	EGFR	121	CAV1	151	CXCL11
2	NOS2	32	ACHE	62	AHSA1	92	VEGFA	122	MYC	152	CXCL2
3	PTGS1	33	MAOB	63	CASP3	93	CCND1	123	F3	153	CHEK2
4	AR	34	RELA	64	MAPK8	94	BCL2L1	124	GJA1	154	CLDN4
5	SCN5A	35	NCF1	65	MMP1	95	FOS	125	IL1B	155	PPARA
6	PTGS2	36	OLR1	66	STAT1	96	CDKN1A	126	CCL2	156	HSF1
7	ESR2	37	ADRB1	67	HMOX1	97	EIF6	127	PTGER3	157	CRP
8	CHEK1	38	HTR3A	68	CYP3A4	98	CASP9	128	CXCL8	158	CXCL10
9	PRSS1	39	ADRA2C	69	CYP1A2	99	PLAU	129	PRKCB	159	CHUK
10	NCOA2	40	ADRB2	70	CYP1A1	100	MMP2	130	BIRC5	160	SPP1
11	CHRM3	41	ADRA1D	71	ICAM1	101	MMP9	131	DUOX2	161	RUNX2
12	CHRM1	42	OPRM1	72	SELE	102	MAPK1	132	NOS3	162	RASSF1
13	CHRM2	43	KCNH2	73	VCAM1	103	IL10	133	HSPB1	163	E2F1
14	ADRA1B	44	CHRM5	74	NR1I2	104	EGF	134	SULT1E1	164	E2F2
15	GABRA1	45	OPRD1	75	CYP1B1	105	RB1	135	MGAM	165	CTSD
16	GRIA2	46	ADRA1A	76	ALOX5	106	IL6	136	IL2	166	IGFBP3
17	ADH1B	47	SLC6A3	77	HAS2	107	TP63	137	CCNB1	167	IGF2
18	ADH1C	48	SLC6A4	78	GSTP1	108	ELK1	138	PLAT	168	CD40LG
19	LYZ	49	RXRB	79	AHR	109	NFKBIA	139	THBD	169	IRF1
20	CHRM3	50	KDR	80	PSMD3	110	POR	140	SERPINE1	170	ERBB3
21	CHRM1	51	MET	81	SLC2A4	111	ODC1	141	COL1A1	171	PON1
22	ESR1	52	JUN	82	NR1I3	112	CASP8	142	IFNG	172	PCOLCE
23	PPARG	53	IL4	83	INSR	113	TOP1	143	IL1A	173	NPEPPS
24	MAPK14	54	ATP5F1B	84	DIO1	114	RAF1	144	MPO	174	HK2
25	GSK3B	55	HSD3B2	85	PPP3CA	115	SOD1	145	TOP2A	175	RASA1
26	CCNA2	56	HSD3B1	86	GSTM1	116	PRKCA	146	ABCG2	176	NR3C1
27	PYGM	57	IKBKB	87	GSTM2	117	HIF1A	147	NFE2L2	177	NR3C2
28	PPARD	58	AKT1	88	AKR1C3	118	RUNX1T1	148	NQO1	178	ADRA2A
29	AKR1B1	59	BCL2	89	SLPI	119	ERBB2	149	PARP1	179	LTA4H
30	NCOA1	60	BAX	90	MMP3	120	ACACA	150	COL3A1	180	MAOA

进一步缩小范围, 将基因关联度排名最靠前的 AKT1、IL6、VEGFA 基因单独绘制蛋白靶点, 以更加明确地展示其相互作用机制, 并更直观地展示升陷汤干预心力衰竭最有可能的潜在靶点, 具体见图 4。

2.4 基因-化合物-疾病靶点互作图 采用 Cytoscape3.7.1 软件, 将升陷汤组成成分、交集靶点基因进行网络拓扑分

析, 绘制可视化的相互作用图, 结果见图 3。升陷汤中发挥主要作用的成分有 32 种, 其中黄芪 11 种, 升麻 8 种, 知母 5 种, 柴胡 4 种, 桔梗 4 种, 主要包括黄芪异黄烷苷、黄芪糖苷类、知母皂苷类、升麻萜类、桔梗苷甲酯等化合物, 具体见图 5。再提取排名最靠前的 3 个基因靶点 AKT1、IL-6、VEGFA, 构建互作图, 筛选出 5 种成分, 分



注：颜色越深，表示基因结合度越高；颜色越浅，表示基因结合度越小。中间小圆圈为结合度相对较高的基因。

图2 药物-疾病靶点蛋白作用网络

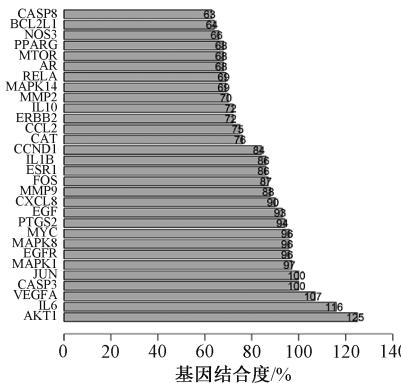
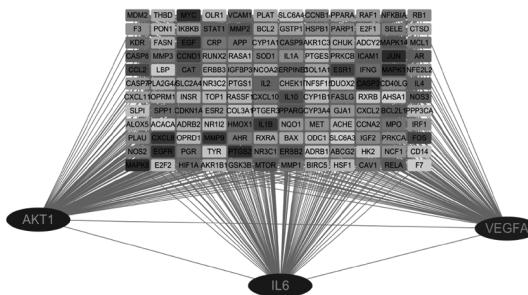


图3 药物靶点与疾病靶点的交集基因柱状图



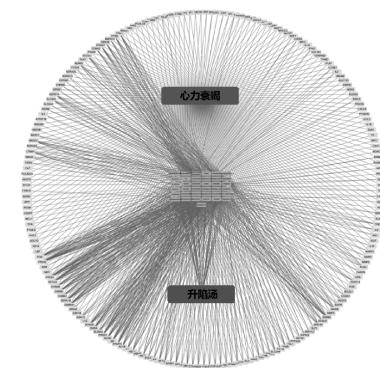
注：颜色越深，基因结合度越大；颜色越浅，基因结合度越小。

图4 排名前3名基因的相互作用图

别为薯蓣皂苷、菝葜皂苷、木犀草素、芍药苷、槲皮素，对其作进一步分析，结果见图6。

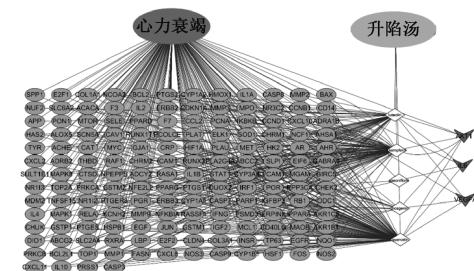
2.5 GO富集分析 通过R语言软件中的ClusterProfiler对升陷汤成分-靶点-疾病网络所涉及的197个蛋白质功能进行富集分析，确定了182个GO条目($P<0.05$)，并对其进行分析，列出前20条主要生物过程，进行柱状图统计，主要包括转录因子活性、辅因子结合、细胞因子受体结合、受体配体活性、酰胺结合、蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性、细胞因子活性等，具体见图7。

另外，主要涉及“细胞组成”的有转录因子激活、细



注：大圆圈为升陷汤-心力衰竭的相互作用靶点，中间方形为升陷汤药物组成。

图5 升陷汤药物组成-心力衰竭靶点相互作用网络



注：箭头为TOP3基因，菱形为筛选所得升陷汤化合物成分，椭圆为相互关联的基因靶点。

图6 AKT1、IL-6、VEGFA 基因-化合物-疾病互作图

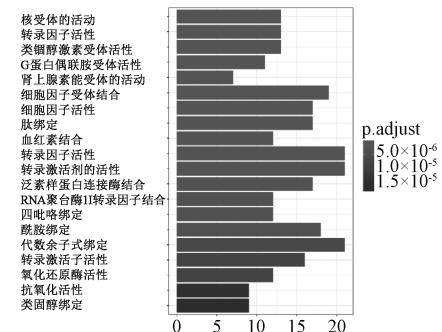


图7 GO 条目柱状图

胞因子受体结合、酰胺及多肽结合、G蛋白偶联受体活性、类固醇激素受体活性等；预测靶点在“生物过程”中，主要富集于调节细胞增殖和凋亡、RNA信号转录、信号传导、炎症反应等；在“分子功能”中，主要富集于蛋白结合、酶结合、蛋白酶活性及细胞因子活性等方面，其GO条目富集图见图8。

2.6 KEGG通路富集分析 通过R语言软件中的ClusterProfiler KEGG对筛选出的基因进行KEGG通路富集分析，建立靶点-通路网络图，197个靶点可富集到160条信号通路中($P<0.05$)，前20条主要通路见图7。再对其进行富集分析，排除与肿瘤、抗病毒等无关的通路，发现富集度最高的为PI3K-Akt信号通路，同时还涉及到TNF-、IL-17信号通路等，具体见图9~10。

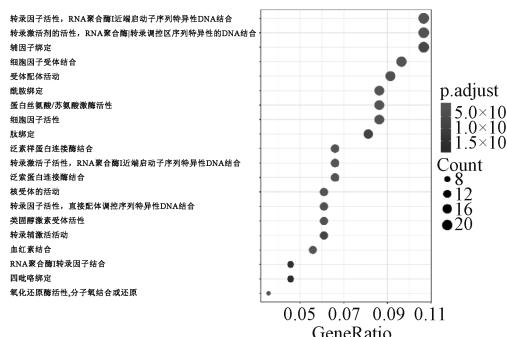


图 8 GO 分析条目富集图

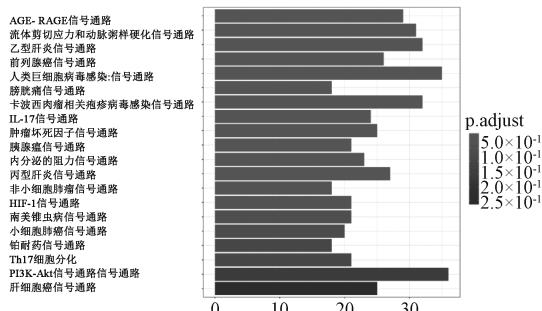


图 9 KEGG 条目柱状图

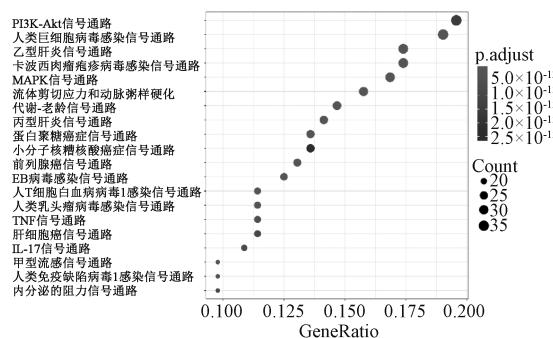


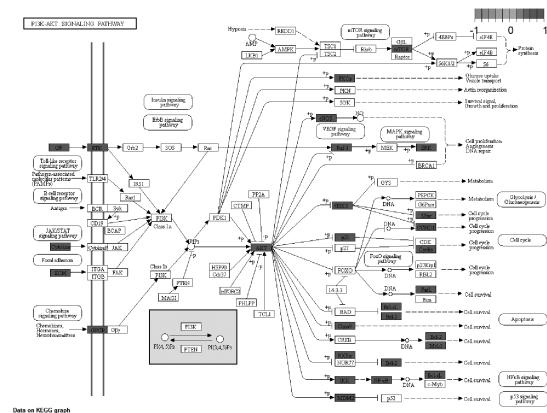
图 10 KEGG 通路富集图

2.7 通路图标注 根据KEGG富集分析所得到的通路ID信息，从通路数据库中获取具体通路图，将富集度最高的PI3K-Akt信号通路进行富集分析，发现基因关联度最高的基因为AKT1，起到中枢调节作用，意义最大。具体见图11。

3 讨论

心力衰竭的发生与离子缺陷、炎症和重构、心肌肥厚等密切相关，新型生物标志物的发现有利于其早期诊断。中医药在心力衰竭诊断治疗过程中的优势和特色明显，积累了丰富的临床经验，中西医结合有利于患者得到全方位综合性治疗。升陷汤作为临幊上常用的治疗心力衰竭的经典中医方剂，对其药理机制的研究显得尤为迫切。

本研究采用网络药理学方法构建了升陷汤“成分-疾病-靶点”交互网络图，筛选出 76 种潜在药物成分和 197 个共同作用蛋白靶点。其中，药物成分主要有黄芪总皂苷、柴胡皂苷、升麻皂苷、知母皂苷等，与心力衰竭关系密切，例如黄芪总皂苷干预阿奇霉素诱导的心力衰竭大鼠模型中



注：深颜色框图为富集到 PI3K-Akt 通路的靶点

图 11 升陷汤调节 PI3K-Akt 通路的具体因子

可明显升高 EF，降低 FS、LVIDs、LVIDd 明显缩小，并且收缩时左室间隔厚度增加，左室重量指数减少，从而改善心力衰竭大鼠心功能，延缓左室重构^[18]；黄芪多糖可能通过激活慢性心衰大鼠 AMPK 相关通路来促进心肌摄取利用 FFA，从而改善慢性心衰^[19]；柴胡皂苷可使离体蛙心心肌收缩力先增强后减弱，其作用机制可能与激动心肌细胞上的 β 受体进而激活 L 型钙通道有关，从而改善心功能^[20]；升麻昔在体外培养的乳鼠心脏微血管内皮细胞中金额明显抑制血管内皮细胞分泌炎性细胞因子，从而起到保护心脏微血管的作用^[21]。

在升陷汤干预心力衰竭的核心基因靶点筛选和信号通路富集分析中发现，基因关联度最高的为 Akt1，信号通路富集度最高的是 PI3K/Akt。丝氨酸/苏氨酸激酶 Akt 在哺乳动物中 Akt 有 3 种亚型，即 Akt1、Akt2、Akt3^[22]，其中 Akt1 主要参与细胞凋亡的途径，来调节细胞的存活与否；Akt2、Akt3 分别多表达于胰岛组织、脑组织^[23]，它是 PI3K/Akt 信号通路的中心，为 PI3K 信号转导通路中重要的下游靶点^[24]。PI3K/Akt 信号通路是参与细胞增殖调控的重要通路之一，既有抗凋亡作用，又有促凋亡作用，以前者为主，它是调节细胞周期的重要通路，与其生长、增殖密切相关，在维持细胞生存中发挥重要作用^[25]。

心功能障碍、恶化是多种心血管疾病的最终归宿，尤其是心力衰竭，可加速心室重构、心肌细胞凋亡、心肌纤维化等最终导致心脏结构、功能发生改变，最终导致心功能急剧恶化^[26]。PI3K/Akt 是调节心脏功能的一条重要的信号转导通路，是心脏调制的压力阀，适度激活可抑制心肌细胞凋亡，抑制心室重构、节约能量代谢，但过度激活反而会导致心功能障碍^[27-28]。Sun 等^[29]发现，在心衰大鼠中激活 PI3K/Akt 信号通路可减轻心功能障碍，抑制心脏纤维化，并且其心肌肥厚也得以控制。心肌纤维化在心力衰竭的病因学中起着重要的作用，有研究表明 PI3K/Akt-mTOR 信号通路可调节心肌成纤维细胞的增殖和迁移，可能与心力衰竭的心肌纤维化和功能障碍相关^[30]；Li 等^[31]报道 在氨基己酸诱导的心力衰竭大鼠模型中 PI3K/

Akt信号通路可激活对心脏组织炎症、氧化应激、凋亡的抑制作用；心脏的能量代谢在维持心脏功能方面发挥关键作用，新近研究发现，PI3K/Akt信号通路可平衡心脏能量代谢，能促使葡萄糖、蛋白质、脂质等特定基因表达增加，进一步调节心肌细胞中葡萄糖、脂类的能量代谢途径，从而更好地发挥为心肌细胞供能的作用，有效延缓心脏功能障碍的速度^[32-33]。

综上所述，本研究所发现的升陷汤相关通路及靶点可为该方今后的深入探讨奠定理论基础。但本研究仅从网络药理学角度推测了升陷汤主要活性成分及其可能作用机制，后期仍需进行实验验证，尤其是新发现的抗肿瘤、抗病毒、调节糖尿病相关通路。

参考文献：

- [1] Yancy C W, Jessup M, Bozkurt B, et al. 2017 ACC/AHA/HFSA focused update of the 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of cardiology/american heart association task force on clinical practice guidelines and the heart failure society of America[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 70(6): 776-803.
- [2] Ponikowski P, Voors A A, Anker S D, et al. 2016 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure[J]. *Kardiol Pol*, 2016, 74(10): 1037-1147.
- [3] Mosterd A, Hoes A W. Clinical epidemiology of heart failure [J]. *Heart*, 2007, 93(9): 1137-1146.
- [4] Zhang Y H, Zhang J, Butler J, et al. Contemporary epidemiology, management, and outcomes of patients hospitalized for heart failure in China: results from the china heart failure (China-HF) registry[J]. *J Card Fail*, 2017, 23(12): 868-875.
- [5] 建宇, 李杨, 文竹.《中医内科常见病诊疗指南》发布[J].光明中医, 2008, 23(10): 1631.
- [6] 魏安华, 李娟.《中国心力衰竭诊断和治疗指南2018》药物更新透视[J].医药导报, 2019, 38(5): 539-543.
- [7] 陈可冀, 吴宗贵, 朱明军, 等.慢性心力衰竭中西医结合诊疗专家共识[J].心脑血管病防治, 2016, 16(5): 340-347.
- [8] 李金根, 徐浩.慢性心力衰竭中西医结合诊疗专家共识:亮点与解读[J].中国中西医结合杂志, 2016, 36(2): 142-145.
- [9] 冯瑞雪, 张紫微, 张再康.论张锡纯胸中大气下陷学说的形成[J].中医杂志, 2016, 57(17): 1455-1459.
- [10] 赵菁, 杨月艳, 林琳, 等.从升陷汤探析大气下陷的证治[J].中国中医急症, 2017, 26(2): 258-260.
- [11] 徐文伟, 李乙根, 杨忠奇, 等.基于宗气理论治疗心衰病的探析[J].中国中医急症, 2018, 27(5): 932-934.
- [12] 罗庆盛, 杜武勋, 林圆圆, 等.升陷汤在治疗慢性心衰病早期的应用[J].四川中医, 2013, 31(10): 31-33.
- [13] 罗庆盛, 张刚, 刘炜.慢性心衰病大气下陷证与中气下陷证探析[J].中国中医基础医学杂志, 2017, 23(10): 1358-1359.
- [14] 姚贺之, 孙明月, 柴露露, 等.基于网络药理学研究舒肝降脂胶囊治疗非酒精性脂肪性肝病的作用机制[J].中成药, 2018, 40(11): 2389-2393.
- [15] Liu C X, Liu R, Fan H R, et al. Network pharmacology bridges traditional application and modern development of traditional Chinese medicine[J]. *Chin Herb Med*, 2015, 7(1): 3-17.
- [16] Huang T, Zhong L L D, Lin C Y, et al. Approaches in studying the pharmacology of Chinese Medicine formulas: bottom-up, top-down-and meeting in the middle [J]. *Chin Med*, 2018, 13: 15.
- [17] 王冉冉, 李韶勇, 乔卫, 等.基于网络药理学的海蓬子活性成分抗糖尿病作用机制[J].中成药, 2018, 40(4): 802-809.
- [18] 桑震池, 徐三彬, 钱俊峰, 等.黄芪总皂苷对心力衰竭大鼠心功能及左室重构的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15(17): 2114-2116.
- [19] 宋杰, 胡阳黔, 刘坚, 等.黄芪多糖对慢性心衰大鼠心肌AMPK活性和FFA代谢的影响[J].中国病理生理杂志, 2015, 31(1): 28-32.
- [20] 陈静, 孙浪, 罗林, 等.柴胡皂苷d对离体蟾蜍心脏功能的影响[J].中国老年学杂志, 2019, 39(3): 659-663.
- [21] 曹莹, 梁日欣, 王岚.升麻甙与5-O甲基维斯阿米醇甙对血管内皮细胞分泌细胞因子的影响[J].中药药理与临床, 2007, 28(3): 13-15.
- [22] Hamzehzadeh L, Atkin S L, Majeed M, et al. The versatile role of curcumin in cancer prevention and treatment: A focus on PI3K/AKT pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(10): 6530-6537.
- [23] Lopes F, Torres F, Soares G, et al. The role of AKT3 copy number changes in brain abnormalities and neurodevelopmental disorders: four new cases and literature review[J]. *Front Genet*, 2019, 10(27): 58.
- [24] Shi X, Wang J, Lei Y, et al. Research progress on the PI3K/AKT signaling pathway in gynecological cancer[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(6): 4529-4535.
- [25] Kawade V S, Satpute P S, Dhulap S A, et al. Therapeutic potential of PI3K/Akt/mTOR signalling pathway: effective combination therapy for cancer[J]. *Indian J Pharm Sci*, 2018, 80(4): 702-708.
- [26] Nakamura M, Sadoshima J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15(7): 387-407.
- [27] Chen X J, Wang R H, Chen W, et al. Decoy receptor-3 regulates inflammation and apoptosis via PI3K/AKT signaling pathway in coronary heart disease[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(4): 2614-2622.
- [28] Wu J, Sun C, Wang R Y, et al. Cardioprotective effect of paeonol against epirubicin-induced heart injury via regulating miR-1 and PI3K/AKT pathway[J]. *Chem-Biol Interact*, 2018, 286(7): 17-25.
- [29] Sun G W, Qiu Z D, Wang W N, et al. Flavonoids extraction from propolis attenuates pathological cardiac hypertrophy through PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 6281376.

- [30] Yang W B, Wu Z J, Yang K, et al. BMI1 promotes cardiac fibrosis in ischemia-induced heart failure via the PTEN-PI3K/Akt-mTOR signaling pathway [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2019, 316(1): H61-H69.
- [31] Li L, Hao J H, Jiang X, et al. Cardioprotective effects of ulinastatin against isoproterenol-induced chronic heart failure through the PI3K-Akt, p38 MAPK and NF- κ B pathways [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1): 1354-1360.
- [32] Cao Y, Ruan Y, Shen T, et al. Astragalus polysaccharide suppresses doxorubicin-induced cardiotoxicity by regulating the PI3k/Akt and p38MAPK pathways [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 674219.
- [33] MacLean J, Pasumarthi K B S. Signaling mechanisms regulating fibroblast activation, phenoconversion and fibrosis in the heart [J]. *Indian J Biochem Biophys*, 2014, 51(6): 476-482.

基于网络药理学研究脑血疏口服液治疗脑出血的作用机制

张友刚^{1,2}, 李昊楠², 史永平^{1,2}, 张姗姗², 李晓彬², 曾英姿³, 韩利文^{2,4*}, 田青平^{1*}, 刘可春²

[1. 山西医科大学药学院, 山西 太原 030001; 2. 齐鲁工业大学(山东省科学院), 山东省科学院生物研究所, 山东 济南 250103; 3. 山东沃华医药科技股份有限公司, 山东 潍坊 261205; 4. 山东第一医科大学药学与制药科学学院, 山东 济南 250001]

摘要: 目的 基于网络药理学研究脑血疏口服液治疗脑出血的作用机制。方法 利用TCMSP数据库, 筛选出脑血疏口服液的活性成分。通过DisGeNET、Genecards数据库, 筛选出脑出血疾病相关的靶点, 两者取交集得到相同的靶点。将交集基因用David软件进行GO注释分析和KEGG通路分析。采用Cytoscape3.7.1软件, 建立单味药-成分-靶点网络模型、交集基因蛋白质相互作用网络模型、活性成分-靶点-通路网络模型; 利用Ledeck分子对接软件, 验证预测结果。**结果** 脑血疏口服液治疗脑出血的活性成分共56种, 其中黄芪紫檀烷苷、槲皮素、汉黄芩素、川芎嗪、桉脂素等可能是重要物质基础。脑血疏口服液治疗脑出血的机制涉及靶标40个、相关信号通路20条, 可能与PI3K-Akt、肿瘤坏死因子、细胞凋亡等信号通路有关, 而且ESR1、AKT1、PIK3CA、AKT3、EGFR、PTGS2、MMP2、MMP3等靶点可能在治疗脑出血过程中起着关键性的作用。**结论** 本研究基于整体观角度, 通过网络药理学构建了脑血疏口服液治疗脑出血的成分-靶点-信号通路的相互关联网络, 系统揭示了该制剂治疗脑出血的主要药效物质以及作用机制, 可为临床科学使用提供依据。

关键词: 脑血疏口服液; 脑出血; 作用机制; 网络药理学

中图分类号: R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2021)01-0234-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2021.01.048

脑出血(cerebral hemorrhage, CH)是一种常见的脑血管疾病, 其通常是由脑内血管发生病变、坏死、破损引起, 大多数患者不是由于脑出血导致原有病情加重, 而是由于脑出血引起的一系列生理病理变化致残致死^[1-2]。脑出血一般发病较为突然, 若不及时治疗, 轻则使患者留下后遗症, 重则导致患者死亡^[3]。脑出血在临幊上病死率极高, 受到了医药部门的高度重视, 临幊上对于脑出血的治疗包括西医治疗、中医治疗、中西医结合治疗, 其中以

中西医结合治疗的效果最佳。脑出血是影响我国国民健康的重大公共卫生问题, 防治脑出血的发生、发展十分重要。

中医认为, 脑出血为“瘀血阻滞, 脉道不利”, 治疗上多采用活血化瘀的方法^[4]。脑血疏口服液是我国国家中药保护品种, 具有益气、活血、化瘀, 通腑的功效^[5]。脑血疏口服液由黄芪、大黄、牛膝、牡丹皮、石菖蒲、川芎、水蛭7味中药制成, 是唯一一个治疗脑出血的中成药。临

收稿日期: 2019-06-06

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1707300); 山东省重点研发计划(2017YYSP032); 山东省农业科技园区产业提升工程项目(2017YQ001)

作者简介: 张友刚(1994—), 男, 硕士生, 从事中药制剂分析研究。Tel: 15706804667, E-mail: 1628942675@qq.com

*通信作者: 韩利文(1980—), 男, 博士, 副研究员, 从事中药质量生物评价研究。Tel: (0531) 82605331, E-mail: hanliwen08@126.com

田青平(1966—), 女, 博士, 教授, 从事药物制剂研究。Tel: (0351) 3985245, E-mail: tianqp123456@163.com