

基于网络药理学分析调肝益气定悸药对甘松-仙鹤草 治疗心律失常的分子机制

艾玉珍¹, 马晓娟¹, 邢雅璇², 闫龙美², 高安冉², 徐琪武², 许志杰², 吴弦宇²,
高慧容², 张京春^{1*}

(1. 中国中医科学院西苑医院国家中医心血管病临床医学研究中心, 北京 100091;
2. 北京中医药大学, 北京 100029)

[摘要] 目的:利用网络药理学方法和分子对接探讨调肝益气定悸药对甘松-仙鹤草治疗常见心律失常室性期前收缩(PVCs)的物质基础和作用机制。方法:通过中药系统药理学数据库及分析平台(TCMSP)结合相关文献筛选甘松、仙鹤草的化学成分及其靶点。借助人类基因数据库(GeneCards),在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM),DrugBank数据库寻找治疗PVCs的潜在靶点。通过STRING平台进行蛋白质相互作用分析。利用Metascape平台进行基因本体(GO)富集分析与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。利用Cytoscape 3.8.0软件,构建甘松-仙鹤草药对化学成分-潜在靶点-信号通路网络。利用AutoDock 4.2.6将主要靶点蛋白与甘松-仙鹤草活性成分进行分子对接。结果:甘松-仙鹤草药对中槲皮素、山柰酚、金合欢素等9种活性成分治疗PVCs的靶点主要涉及肿瘤坏死因子(TNF),丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1),蛋白激酶B1(Akt1)等。其潜在靶点主要富集在癌症通路(pathways in cancer),高级糖基化终末产物/高级糖基化终末产物受体信号通路(AGE/RAGE signaling pathway in diabetic complications)等26条相关信号通路。分子对接结果显示该药对大部分活性成分(92.59%)与主要靶点蛋白TNF,MAPK1,Akt1的结合活性较好。结论:甘松-仙鹤草药对中多种活性成分可通过多靶点、多通路的干预,发挥调节心肌离子通道、抗炎症、抗氧化应激等作用以治疗PVCs,同时还可通过抑制单胺氧化酶活性、抗神经损伤等改善抑郁、焦虑相关症状。为进一步探索其治疗PVCs的物质基础及作用机制提供了研究思路和理论基础。

[关键词] 甘松; 仙鹤草; 心律失常; 网络药理学; 分子对接

[中图分类号] R285;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)03-0204-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220213

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211203.2049.004.html>

[网络出版日期] 2021-12-6 20:25

Molecular Mechanism of Nardostachyos Radix et Rhizoma-Agrimoniae Herba in Treatment of Arrhythmia Based on Network Pharmacology

AI Yu-zhen¹, MA Xiao-juan¹, XING Ya-xuan², YAN Long-mei², GAO An-ran², XU Qi-wu², XU Zhi-jie²,
WU Xian-yu², GAO Hui-rong², ZHANG Jing-chun^{1*}

(1. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Cardiology, Xiyuan Hospital,
China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;
2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] Objective: To explore the material basis and mechanism of Nardostachyos Radix et Rhizoma (NRER)-Agrimoniae Herba (AH), the herbal pair effective in regulating the liver, invigorating Qi,

[收稿日期] 20211028(024)

[基金项目] 中国中医科学院科技创新工程项目(CI2021A00915);国家自然科学基金项目(81573817,81373825);北京中医药文化资源之宫廷医学专题调查项目(WHZX-2020-22)

[第一作者] 艾玉珍,在读博士,从事中西医结合防治心血管疾病研究,Tel:010-62835314,E-mail:aiyuzhenzy@126.com

[通信作者] *张京春,博士,主任医师,博士生导师,从事中西医结合防治心血管疾病研究,Tel:010-62835314,E-mail:zhangjingchun276@126.com

and calming palpitations, in the treatment of premature ventricular contractions (PVCs) by network pharmacology and molecular docking. **Method:** The chemical components and targets of NRER and AH were collected from the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) combined with relevant literature. GeneCards, Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), and DrugBank were used to predict the potential targets against PVCs. STRING platform was used for protein-protein interaction (PPI) analysis. Metascape platform was used for Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis. Cytoscape 3.8.0 was used to construct the NRER-AH component-potential target-signaling pathway network. The main target proteins underwent molecular docking to the active components of NRER-AH by AutoDock 4.2.6. **Result:** The targets of nine active components in NRER-AH (such as quercetin, kaempferol, and acetin) against PVCs mainly involved tumor necrosis factor (TNF), mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1), and protein kinase B1 (Akt1). The potential targets were mainly enriched in 26 signaling pathways, such as pathways in cancer and the advanced glycosylation end product (AGE)-receptor of advanced glycosylation end product (RAGE) signaling pathway. The results of molecular docking showed that the majority of the active components (92.59%) of NRER-AH had good binding activities with the main target proteins TNF, MAPK1, and Akt1. **Conclusion:** The active components of NRER-AH can regulate cardiac ion channels, resist inflammation, and combat oxidative stress to treat PVCs through multi-target and multi-pathway interventions. They can also improve symptoms related to depression and anxiety by inhibiting monoamine oxidase activity and protecting nerves from damage. This study is expected to provide research ideas and the theoretical basis for further exploring the material basis and mechanism of NRER-AH in the treatment of PVCs.

[Keywords] Nardostachyos Radix et Rhizoma; Agrimoniae Herba; arrhythmia; network pharmacology; molecular docking

室性期前收缩(PVCs),是指希氏束及其分支以下心室肌的异位兴奋灶提前除极而产生的心室期前收缩^[1]。在普通人群中,其发病率为1%~4%^[1],是一种最常见的心律失常。既往多认为无心脏结构异常的患者发生的PVCs是良性的。然而一项纳入11项普通人群观察性研究(共106 195例受试者)的荟萃分析结果显示,PVCs与心脏性猝死的风险显著增加有关^[2]。多项研究表明,PVCs还可引起心脏结构异常,导致心肌病,进而发展为心力衰竭^[3-4]。因此,无论是否合并心脏结构异常,临床均应对PVCs患者加以关注。目前临床常用治疗PVCs药物 β 受体阻滞剂或非二氢吡啶类钙通道阻滞剂疗效有限,而可能更有效的I, III类抗心律失常药在无结构性心脏病PVCs患者中应用的风险获益比又不清楚,甚至可能会增加合并严重结构性心脏病患者的死亡^[1]。发挥中医药特色,辨病选药与辨证论治相结合,深入挖掘中药的抗心律失常作用,对临床防治PVCs具有重要意义。

PVCs归属于中医心悸、怔忡、惊悸等范畴。随着现代生活节奏的加快,生活、工作、学习等压力接踵而至,PVCs常伴有抑郁、焦虑、睡眠障碍等精神

心理问题,多属肝郁气滞、心虚胆怯证,治法宜调肝益气、养心定悸。相关荟萃分析结果显示,基于双心医学,从肝论治心律失常无论是在临床症状疗效、中医症状疗效和24 h动态心电图疗效还是在改善24 h动态心电图异常心律次数方面均有一定优势^[5]。甘松,性温,味辛、甘,可行肝脾之经,解久病之郁滞,入心经,养心血,具止悸安神定志的功效^[6];仙鹤草又称“十大功劳叶”“脱力草”,性平,味苦、涩,归心、肝经,可益气补虚而不助火,二药配伍应用,共奏调肝益气、养心定悸之功。现代药理研究亦表明,甘松、仙鹤草均有抗心律失常作用^[7-8],其中甘松还兼有抗抑郁、镇静等作用^[9-11]。本团队在长期临床实践中结合中医经典文献、宫廷医学心悸病证文献研究及陈可冀院士学术思想与临证经验研究,基于《黄帝内经》“百病皆生于气”、御医佟阔泉“万病由肝,治肝为先”理论创立“调肝益气、养心定悸”法治治疗心律失常,拟调肝益气定悸方(由甘松15 g,仙鹤草15 g等组成),针对PVCs和房颤等快速性心律失常伴抑郁、焦虑、失眠等精神心理问题。回顾性收集整理2017—2019年本团队治疗心律失常确有疗效的处方共计266首,发现调肝益气定悸

方是本团队治疗快速性心律失常最常用的特色处方,处方频率约占60%^[12]。本课题组完成的调肝益气定悸方治疗心律失常相关的单病例随机对照试验证实其能够预防房颤复发,减少发作频率及缩短持续时间,改善心率变异性、临床症状,提高生活质量,安全性良好^[13]。另外,临床研究表明,甘松、仙鹤草同用的参麦稳心胶囊、养心熄风汤治疗心律失常亦取得满意疗效。其中参麦稳心胶囊治疗良性PVCs总有效率达80.0%,安全有效^[14];养心熄风汤改善房颤症状的总有效率达70%^[15]。综上,甘松-仙鹤草药对已在临床广泛应用,治疗心律失常确有疗效,但该药对治疗PVCs的具体作用机制尚未明确。因此,本研究拟基于网络药理学及分子对接技术探讨甘松-仙鹤草从肝论治PVCs的物质基础和作用机制,为深入探究该药对治疗PVCs的药理作用研究提供思路与方向,进而为该药对在临床应用提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 甘松-仙鹤草药对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/tcmssp.php>)检索甘松、仙鹤草的化学成分,以口服生物利用度(OB)≥30%且类药性(DL)≥0.18为限制条件筛选化学成分及对应蛋白质靶点^[16],并根据已发表文献报道补充未预测到的化学成分及其靶点。使用UniProt(<https://ebi14.uniprot.org/>)校正化学成分靶点基因名称,使蛋白质靶点信息标准化。

1.2 室性期前收缩相关靶点筛选 以“premature ventricular contraction”“premature ventricular beat”“ventricular extrasystole”“premature ventricular complex”“premature ventricular depolarization”等为关键词挖掘 GeneCards(<https://www.genecards.org/>),在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM,<https://omim.org/>),DrugBank(<https://go.drugbank.com/>)数据库,寻找治疗PVCs的潜在靶点。在GeneCards数据库中,Score值越高则代表该靶点与疾病联系越密切。根据经验,若靶点过多则设定Score值>75百分位数(P75)的目标靶点为PVCs的潜在靶点,合并3个疾病数据库靶点后,删除重复值得到PVCs靶点。

1.3 甘松-仙鹤草药对化学成分-室性期前收缩靶点蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建 筛选出药物、疾病的共同靶标并利用蛋白质相互作用网络数据库 STRING 11.0(<https://string-db.org/>)构建PPI网

络图,将生物种类设定为“Homo sapiens”,最小相互作用阈值设定为“highest confidence”(>0.9),隐藏孤立节点,其余设置均为默认设置,得到蛋白质互作关系数据。将结果导入Cytoscape 3.8.0进行可视化显示。

1.4 基因本体(GO)功能富集分析与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 将甘松-仙鹤草药对治疗PVCs的潜在靶点录入Metascape平台(<https://metascape.org/>),设置 $P < 0.01$,分析基因的分子功能(molecular function),细胞组分(cellular component),参与的生物过程(biological process)与代谢通路并进行富集分析。借助微生信(<http://www.bioinformatics.com.cn>)在线数据分析可视化平台对结果可视化。

1.5 甘松-仙鹤草药对化学成分-潜在靶点-信号通路网络构建 将甘松-仙鹤草药对治疗PVCs的化学成分、潜在靶点及信号通路导入Cytoscape 3.8.0软件,构建甘松-仙鹤草药对化学成分-潜在靶点-信号通路网络,并对其进行拓扑分析判断该药对治疗PVCs的主要成分及靶点。

1.6 分子对接 分析得到甘松-仙鹤草药对-室性期前收缩靶点-通路网络图中度值排名前3的靶点,利用AutoDock 4.2.6将3个靶点蛋白与甘松-仙鹤草活性成分进行分子对接。从TCMSP下载活性成分的结构式(MOL2格式),利用PyMOL软件转化为PDB格式。利用PDB(<http://www1.rcsb.org/>)数据库获取靶点蛋白结构,并通过PyMOL软件对蛋白质进行去除溶剂、移除配体等。利用AutoDock 4.2.6对蛋白进行加氢、计算电荷、添加原子类型,对活性成分加氢、计算电荷、设置可扭转键。将Grid Box网格区覆盖整个靶点蛋白。选择默认对接参数,采用拉马克遗传算法(Lamarckian GA 4.2)进行半柔性对接,对接结果只保留每对分子对接的结合能($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)绝对值最高者。最后通过Pymol进行可视化分析。

2 研究结果

2.1 甘松-仙鹤草药对化学成分及靶点的获取 检索TCMSP获得10种化学成分,其中甘松化学成分5种,仙鹤草化学成分5种。另经文献调研,甘松中甘松新酮^[17-18]及仙鹤草中仙鹤草素^[19]均可能为抗心律失常相关主要有效成分,故将其纳入后期靶点挖掘的化合物库。甘松-仙鹤草药对成分信息见表1。该药对成分潜在作用靶点185个(去重后),其中甘松作用靶点47个,仙鹤草作用靶点166个。

表1 甘松-仙鹤草主要化学成分

Table 1 Main chemical components of *Nardostachyos Radix et Rhizoma* and *Agrimoniae Herba*

药物	MOLID	标记	化学成分	OB/%	DL
甘松	MOL001040	GS1	(2R)-5,7-二羟基-2-(4-羟基苯基)苯并吡喃-4-酮[(2R)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one]	42.36	0.21
	MOL010543	GS2	蒙花苷(acaciin)	39.84	0.71
	MOL001689	GS3	金合欢素(acacetin)	34.97	0.24
	MOL000359	GS4	谷甾醇(sitosterol)	36.91	0.75
	MOL007088	GS5	隐丹参酮(cryptotanshinone)	52.34	0.40
	MOL010540	GS6	甘松新酮(Nardosinone)	66.34	0.17
仙鹤草	MOL001002	XHC1	鞣花酸(ellagic acid)	43.06	0.43
	MOL000422	XHC2	山柰酚(kaempferol)	41.88	0.24
	MOL000492	XHC3	(+)-儿茶素[(+)-catechin]	54.83	0.24
	MOL000006	XHC4	木犀草素(Luteolin)	36.16	0.25
	MOL000098	XHC5	槲皮素(querctetin)	46.43	0.28
	MOL006178	XHC6	仙鹤草素(agrimoniin)	19.38	0.28

2.2 甘松-仙鹤草药对化学成分及靶点的获取 以“premature ventricular contraction”“premature ventricular beat”“ventricular extrasystole”“premature ventricular complex”“premature ventricular depolarization”为关键词挖掘 GeneCards 数据库获得 PVCs 靶点 Score 最大值为 112.93, 最小值为 0.18, 75 百分位数(P75)为 9.56, 故设定 Score ≥ 9.56 的靶点为 PVCs 的潜在靶点。合并 GeneCards, OMIM, DrugBank 疾病数据库靶点后, 删除重复值, 获得 PVCs 靶点 1 414 个。

2.3 甘松-仙鹤草药对化学成分-室性期前收缩靶点 PPI 网络 将已获取的甘松-仙鹤草药对化学成分相关靶点与 PVCs 靶点取交集, 筛选出药物、疾病的共同靶标共计 86 个。将共同靶标录入 STRING 11.0, 得到甘松-仙鹤草药对化学成分-室性期前收缩靶点 PPI 网络, 见图 1。

2.4 GO 富集分析与 KEGG 通路富集分析 应用 Metascape 数据平台对甘松-仙鹤草药对治疗 PVCs 的潜在靶点进行 GO 与 KEGG 分析。甘松-仙鹤草主要参与的生物过程为对无机物质的反应、对受伤的反应、上皮细胞增殖、活性氧代谢过程等, 见表 2。KEGG 富集分析显示甘松-仙鹤草药对治疗 PVCs 的潜在靶点主要富集在癌症通路、高级糖基化终末产物/高级糖基化终末产物受体信号通路(AGE/RAGE 信号通路)等 26 条相关信号通路, 见图 2。

2.5 甘松-仙鹤草药对化学成分-潜在靶点-信号通路网络构建 利用 Cytoscape 3.8.0 软件, 构建甘松-仙鹤草药对化学成分-潜在靶点-信号通路网络, 见

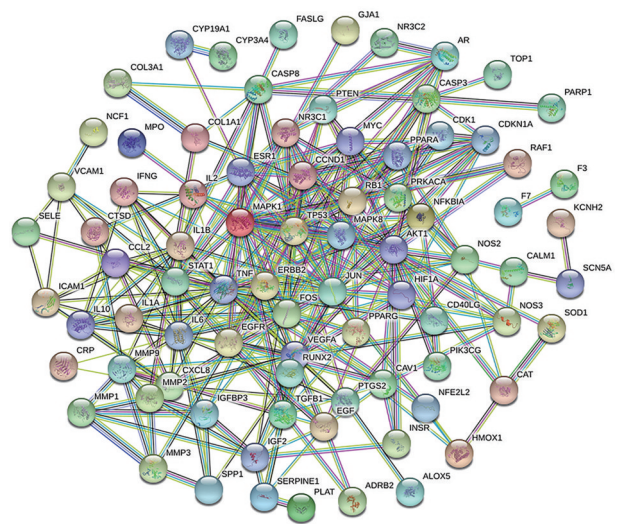


图1 甘松-仙鹤草药对化学成分-室性期前收缩靶点 PPI 网络

Fig. 1 PPI network of chemical components of *Nardostachyos Radix et Rhizoma-Agrimoniae Herba*-target of premature ventricular contractions

图 3。Cytoscape 网络分析显示, 槲皮素连接度 66, 其次为山柰酚(连接度为 23), 金合欢素(连接度为 11), 预测槲皮素、山柰酚、金合欢素为甘松-仙鹤草药对治疗 PVCs 的主要活性成分。肿瘤坏死因子(TNF)在网络中的连接度为 13, 介度为 0.028 211, 紧密度 0.471 111, 预测 TNF 为甘松-仙鹤草药对治疗 PVCs 最主要的靶点。以连接度排序, 丝裂原活化蛋白激酶 1(MAPK1), 蛋白激酶 B1(Akt1), γ 干扰素(IFN- γ), 白细胞介素-6(IL-6), 前列腺素 G/H 合酶 2(PTGS2), 转化生长因子- β_1 (TGF- β_1), 细胞肿瘤抗原 p53(TP53), 丝裂原活化蛋白激酶 8

表2 甘松-仙鹤草药对活性成分治疗室性期前收缩潜在靶点的GO富集分析

Table 2 GO enrichment analysis for potential targets of active ingredients of *Nardostachyos Radix et Rhizoma-Agrimoniae Herba* in treatment of premature ventricular contractions

类别	GO 注释	描述	基因数/个
生物过程	GO:0010035	对无机物质的反应(response to inorganic substance)	34
生物过程	GO:0009611	对受伤的反应(response to wounding)	35
生物过程	GO:0050673	上皮细胞增殖(epithelial cell proliferation)	29
生物过程	GO:0072593	活性氧代谢过程(reactive oxygen species metabolic process)	25
生物过程	GO:0032496	对脂多糖的反应(response to lipopolysaccharide)	25
细胞组成	GO:0045121	膜筏(membrane raft)	17
细胞组成	GO:0031983	囊腔(vesicle lumen)	12
细胞组成	GO:0031012	细胞外基质(extracellular matrix)	14
细胞组成	GO:0000323	裂解型液泡(lytic vacuole)	13
细胞组成	GO:0098797	质膜蛋白复合物(plasma membrane protein complex)	12
分子功能	GO:0005126	细胞因子受体结合(cytokine receptor binding)	16
分子功能	GO:0019904	蛋白质结构域特异性结合(protein domain specific binding)	20
分子功能	GO:0008134	转录因子结合(transcription factor binding)	17
分子功能	GO:0019900	激酶结合(kinase binding)	17
分子功能	GO:0032813	肿瘤坏死因子受体超家族结合(tumor necrosis factor receptor superfamily binding)	6

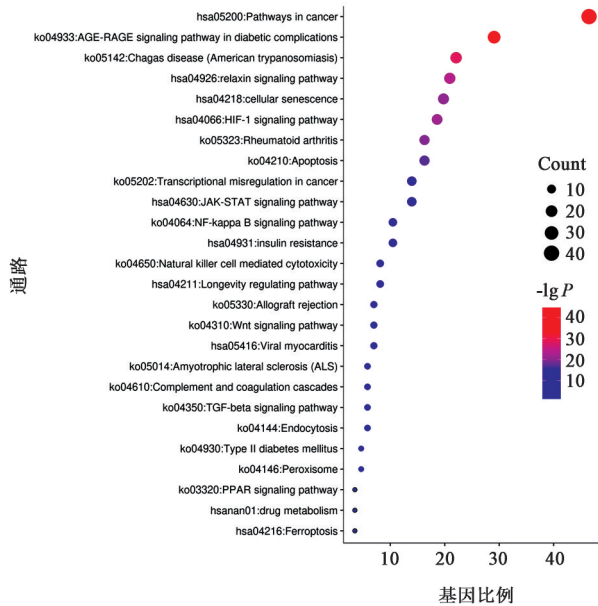


图2 甘松-仙鹤草药对活性成分治疗室性期前收缩潜在靶点的KEGG通路富集分析

Fig. 2 KEGG enrichment analysis for potential targets of active ingredients of *Nardostachyos Radix et Rhizoma-Agrimoniae Herba* in treatment of premature ventricular contractions

(MAPK8), 半胱天冬酶-3(Caspase-3), AP-1 转录因子(JUN), CXC 趋化因子配体 8(CXCL8) 排名靠前, 亦为相对重要的靶点, 见表3。

2.6 分子对接 分子对接作为一种结合了物理化学原理和科学计算算法的新兴研究方法, 可预测给

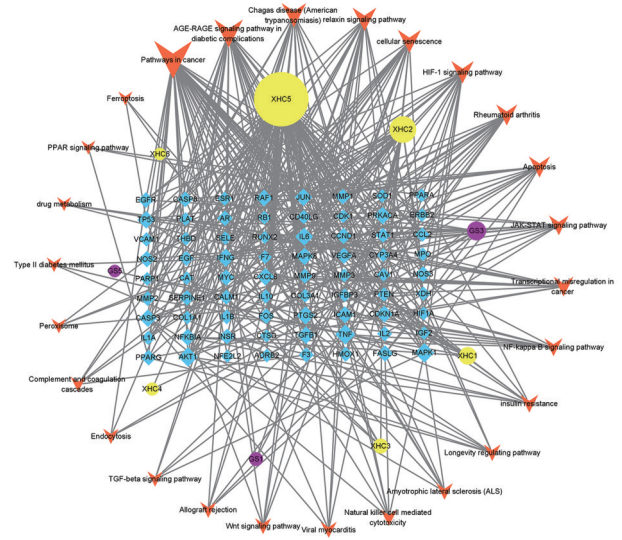


图3 甘松-仙鹤草药对化学成分-室性期前收缩靶点-通路网络

Fig. 3 Network of chemical components of *Nardostachyos Radix et Rhizoma-Agrimoniae Herba*-potential targets of premature ventricular contractions-signal pathways

定蛋白质-配体复合物的结合模式和结合亲和力^[20]。一般认为分子对接结合能<0表示配体与受体可以自发结合,结合能≤-5.0 kJ·mol⁻¹有较好活性^[21-22]。利用 AutoDock 4.2.6 将 TNF (PDB ID: 5UUI), MAPK1 (PDB ID: 6G54), Akt1 (PDB ID: 4EKL) 与

表3 甘松-仙鹤草药对活性成分靶点网络节点特征参数

Table 3 Network node characteristic parameters of potential targets of active ingredients of Nardostachyos Radix et Rhizoma-Agrimoniae Herba in treatment of premature ventricular contractions

靶点	连接度	介度	紧密度	靶点	连接度	介度	紧密度
TNF	13	0.028 211	0.471 111	TGF-β ₁	9	0.014 252	0.458 874
MAPK1	12	0.022 447	0.471 111	TP53	9	0.020 983	0.462 882
Akt1	12	0.021 108	0.475 336	MAPK8	9	0.010 246	0.425 703
IFN-γ	10	0.016 542	0.462 882	Caspase-3	9	0.014 709	0.458 874
IL-6	10	0.011 958	0.462 882	JUN	9	0.009 959	0.458 874
PTGS2	10	0.066 407	0.466 960	CXCL8	9	0.011 675	0.458 874

甘松-仙鹤草活性成分进行分子对接。分子对接结果显示,结合能最小值为-7.98 kJ·mol⁻¹,最大值为-4.18 kJ·mol⁻¹,其中结合能≤-5 kJ·mol⁻¹者25种(92.59%),说明大部分活性成分与靶点蛋白的结合活性较好。甘松-仙鹤草活性成分与TNF,MAPK1,Akt1对接结合能最小者均为隐丹参酮,分别为-7.98,-6.92,-7.52 kJ·mol⁻¹,隐丹参酮与TNF中VAL-150残基形成氢键,与MAPK1中MET-108残基形成2个氢键,与Akt1中ASP-439,LEU-156残基形成3个氢键。利用PyMOL对结果进行可视化分析,见图4。

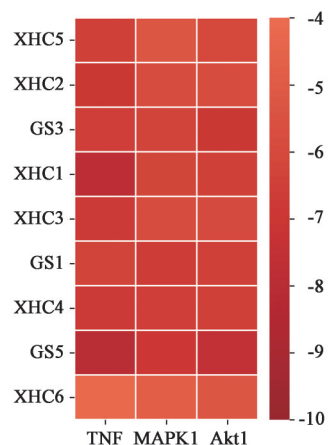


图4 甘松-仙鹤草药对活性成分分子对接

Fig. 4 Molecular docking potential targets of tactive ingredients of Nardostachyos Radix et Rhizoma-Agrimoniae Herba in treatment of premature ventricular contractions

3 讨论

随着PVCs危险因素(血压、糖尿病、肥胖、精神心理疾病等)流行趋势上升,其发病率也越来越高,严重影响患者的生活质量和生命健康,已成为重大公共卫生问题。甘松、仙鹤草均为临床常用抗心律失常药物^[23-25],该药对从肝论治PVCs,药精力专,治法切用,标本兼顾,直中PVCs肝郁气滞、心虚胆怯

之病机,具有较好应用前景。

本研究通过网络药理学方法初步筛选出槲皮素、山柰酚、金合欢素等为甘松-仙鹤草药对治疗PVCs的主要活性成分。相关实验研究表明,槲皮素可能通过抑制钙、钠离子内流、促进钾离子外流、保护心肌细胞膜上的Na⁺-K⁺-腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)酶等多种途径,降低心肌细胞自律性、延长不应期,从而对抗心律失常^[26]。山柰酚可增强线粒体钙摄取而抑制心律失常^[27]。金合欢素前药对心肌缺血再灌注损伤具保护作用,可明显减少室性心律失常^[28]。另外,槲皮素、山柰酚、金合欢素均可抑制单胺氧化酶活性^[29],可增加脑内去甲肾上腺素,5-羟色胺,多巴胺等单胺类水平而发挥抗抑郁作用。分子对接结果亦表明,槲皮素、山柰酚、金合欢素与PVCs相关主要靶点TNF,MAPK1,Akt1结合活性较强。因此,推测甘松-仙鹤草可能主要通过槲皮素、山柰酚、金合欢素等活性成分治疗PVCs,兼顺改善抑郁症相关症状。

甘松-仙鹤草药对治疗PVCs的靶点主要为TNF,MAPK1,Akt1等。TNF-α可造成钙调控紊乱,提升致心律失常性触发活动的可能^[30]。MAPK1与Akt1均与钾通道的激活有关,MAPK1还与L型钙通道,Na⁺/H⁺交换器有关^[31]。其中TNF-α还可影响神经递质系统,与抑郁症的发生与治疗密切相关^[32]。对接结果亦显示,TNF,MAPK1,Akt1靶点蛋白与甘松-仙鹤草药对大部分活性成分的结合活性较好。因此,该药对可能主要通过调节TNF,MAPK1,Akt1等主要靶点治疗PVCs,还可治疗抑郁症。

KEGG富集分析显示甘松-仙鹤草药对治疗PVCs的潜在靶点主要富集在癌症通路,AGE/RAGE信号通路等。癌症通路的下游信号通路包括MAPK,PI3K/Akt等。已有研究表明,通过抑制MAPK信号通路可抑制IL-17,IL-6,TNF-α,IL-1β,

IL-8等炎症因子表达,减轻炎症反应,降低纤维化和凋亡水平,从而抑制室性心律失常^[33]。激活PI3K/Akt可增加缝隙连接蛋白43(Cx43)表达,抗缺血/再灌注性心律失常。AGE/RAGE可通过蛋白激酶C(PKC),p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)等多种信号通路激活氧化应激反应^[34],而氧化应激水平增加可损害肌细胞间的电耦合,导致心律失常发生^[35]。另一方面,越来越多研究表明炎症、氧化应激反应还可导致神经细胞损伤,是抑郁症、焦虑症病理机制中关键环节^[36-37]。故推测甘松-仙鹤草药对可能主要通过调节癌症通路,AGE/RAGE信号通路治疗PVCs,兼顾改善抑郁、焦虑等相关症状。

综上所述,预测甘松-仙鹤草中槲皮素、山柰酚、金合欢素等活性成分可通过多靶点、多通路的干预,发挥调节心肌离子通道、抗炎症、抗氧化应激等作用以治疗PVCs,同时还可通过抑制单胺氧化酶活性、抗神经损伤等改善与PVCs发生、发展密切相关的抑郁、焦虑等精神心理问题。本研究为进一步探索甘松-仙鹤草药对从肝论治PVCs的物质基础及作用机制提供了研究思路和理论基础,为临床应用该药对治疗PVCs提供理论参考。但限于网络药理学和分子对接的局限性,尚需进一步实验验证。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 中华医学会心电生理和起搏分会,中国医师协会心电学专业委员会. 2020室性心律失常中国专家共识(2016共识升级版)[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2020, 34(3): 189-253.

[2] ATAKLTE F, ERQOU S, LAUKKANEN J, et al. Meta-analysis of ventricular premature complexes and their relation to cardiac mortality in general populations[J]. Am J Cardiol, 2013, 112(8): 1263-1270.

[3] TRAN C T, CALKINS H. Premature ventricular contraction-induced cardiomyopathy: an emerging entity[J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2016, 14(11): 1227-1234.

[4] DUKES J W, DEWLAND T A, VITTINGHOFF E, et al. Ventricular ectopy as a predictor of heart failure and death[J]. J Am Coll Cardiol, 2015, 66(2): 101-109.

[5] 雷舒雁. 基于数据挖掘的从肝论治心律失常组方用药规律研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2017.

[6] 周海燕. 浅析甘松在心系疾病治疗中的应用[J]. 山东医学高等专科学校学报, 2018, 40(1): 76-78.

[7] LI M, XU X, YANG X, et al. The cardioprotective and antiarrhythmic effects of *Nardostachys chinensis* in

animal and cell experiments [J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17(1): 398.

[8] 黄兴,王哲,王保和. 仙鹤草药作用及临床应用研究进展[J]. 山东中医杂志, 2017, 36(2): 172-176.

[9] 李艳忙. 甘松的化学成分研究及抗抑郁活性初筛[D]. 北京:北京中医药大学, 2015.

[10] 南笑珂,张鲁,罗琳,等. 中药甘松化学成分与药理作用的研究进展[J]. 中国现代中药, 2018, 20(10): 1312-1318.

[11] 武姣姣,石晋丽,唐民科,等. 甘松对动物行为绝望模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(07): 205-207.

[12] 刘蓓. 张京春教授研究宋代宫廷医学相关文献及其治疗心律失常的临证经验[D]. 北京:中国中医科学院, 2020.

[13] 毛婷,张京春,张珊,等. 调肝益气定悸方治疗阵发性心房颤动合并阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的单病例随机对照临床研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(17): 2871-2878.

[14] 花继平. 参麦稳心胶囊治疗气阴两虚型良性室性早搏例临床观察[J]. 内蒙古中医药, 2014, 33(22): 53-54.

[15] 罗晓明. 养心熄风汤治疗阵发性房颤的临床研究[D]. 济南:山东中医药大学, 2013.

[16] 董又滋,赵泉霖,高丽君,等. 黄芪-当归药对治疗糖尿病心肌病的分子机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(18): 16-24.

[17] 钱薇,邹丽,王秀秀,等. 甘松新酮对SD大鼠心室肌细胞钠离子通道电流的影响[J]. 当代医药论丛, 2019, 17(16): 2-5.

[18] 简鹏,李庆海,范立华. 甘松新酮对快速性心律失常大鼠心肌细胞抑制作用的实验研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(22): 2240-2242.

[19] 高学敏. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2007: 302-303.

[20] GRINTER S, ZOU X. Challenges, applications, and recent advances of protein-ligand docking in structure-based drug design[J]. Molecules, 2014, 19(7): 10150-10176.

[21] 秦凤凤,李时超,孙亚宁,等. 基于网络药理学与分子对接探索血必净治疗新型冠状病毒感染所致的ARDS的分子机制[J]. 中药药理与临床, 2020, 36(3): 21-28.

[22] 邓晶晶,江华娟,兰兴,等. 基于网络药理学和分子对接探究经典名方桃红四物汤异病同治作用机制[J]. 中草药, 2021, 52(10): 3018-3029.

[23] 王凤,杜文婷,章怡祎,等. 辨病症论治心律失常概况与展望[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(13):

- 217-221.
- [24] 王庆军. 仙鹤草治疗心律失常[J]. 中医杂志, 2006, 47(5):336.
- [25] 王丹丹. 参松定悸方治疗冠心病室性早搏(心血瘀阻型)伴焦虑状态的临床疗效观察[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2019.
- [26] 张明爽,徐长庆,王秀丽,等. 槲皮素抗实验性心律失常作用的研究[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2007, 41(2):115-117.
- [27] SCHWEITZER M K, WILTING F, SEDEJ S, et al. Suppression of arrhythmia by enhancing mitochondrial Ca^{2+} uptake in catecholaminergic ventricular tachycardia models[J]. JACC Basic Transl Sci, 2017, 2(6):737-747.
- [28] LIU H, YANG L, WU H, et al. Water-soluble acacetin prodrug confers significant cardioprotection against ischemia/reperfusion injury [J]. Sci Rep, 2016, doi: 10.1038/srep36435.
- [29] PRIYANKA D, NEELAM M, EDUARDO S, et al. Quercetin and related chromenone derivatives as monoamine oxidase inhibitors targeting neurological and mental disorders [J]. Molecules, 2019, doi: 10.3390/molecules24030418.
- [30] 左嵩,李林凌,蒋乐,等. 肿瘤坏死因子 α 对小鼠心房细胞内钙释放的急性调节作用[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2019, 33(3):236-239.
- [31] HU Z, LIU J, ZHOU L, et al. AKT and ERK1/2 activation via remote ischemic preconditioning prevents Kcne2-dependent sudden cardiac death [J]. Physiol Rep, 2019, 7(3):e13957.
- [32] MA K, ZHANG H, BALOCH Z. Pathogenetic and therapeutic applications of tumor necrosis factor- α (TNF- α) in major depressive disorder a systematic review [J]. Int J Mol Sci, 2016, doi: 10.3390/ijms17050733.
- [33] HSIAO Y, TSAI Y, HUANG Y, et al. Rhodiola crenulata reduces ventricular arrhythmia through mitigating the activation of IL-17 and inhibiting the MAPK signaling pathway[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2020, doi:10.1007/s10557-020-07072-z.
- [34] KAY A M, SIMPSON C L, STEWART J A. The role of AGE/RAGE signaling in diabetes-mediated vascular calcification [J]. J Diabetes Res, 2016, doi: 10.1155/2016/6809703.
- [35] 张宾,刘刚,郑明奇,等. 氧化应激致心律失常机制新进展[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2017, 9(9): 1141-1142.
- [36] 杨皓然,刘丽娜,葛飞,等. 基于海马小胶质细胞M1型极化研究逍遥散对OVX联合CUS焦虑抑郁模型大鼠的影响[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(20):4964-4970.
- [37] D AMICO R, SIRACUSA R, FUSCO R, et al. Protective effects of colomast[®], a new formulation of adelmidrol and sodium hyaluronate, in a mouse model of acute restraint stress [J]. Int J Mol Sci, 2020, doi: 10.3390/ijms21218136.

[责任编辑 顾雪竹]