

基于网络药理学构建新型中药复方降压抗纤方 抗高血压心肌纤维化的作用

陈凯, 刘馨, 管怡晴, 庄宇鑫, 党文振, 吕琳, 张国华*
(南方医科大学, 广州 510515)

[摘要] **目的:**结合网络药理学和传统中医理论构建治疗高血压心肌纤维化的新型中药复方——降压抗纤方,并探讨其对自发性高血压大鼠(SHR)心肌纤维化的治疗效果。**方法:**获取中药网络药理学数据库中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)中的中药、成分和靶标等信息,运用网络分析软件 Cytoscape 从中筛选出能作用于高血压心肌纤维化疾病靶标的中药,再根据中医辨证理论和组方原则进一步筛选并构建复方。通过 SHR 动物模型实验观察降压抗纤方抗心肌纤维化的作用,以5只正常血压大鼠(normal blood pressure rat, WKY)为空白组,30只12周龄的 SHR 大鼠随机分为5组,分别为高血压模型组(SHR),降压抗纤方低剂量组(KXL, $2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),降压抗纤方中剂量组(KXM, $4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),降压抗纤方高剂量组(KXH, $8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和卡托普利阳性药组(CAP, $13.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),每组5只。连续灌胃12周后停药,取材前禁食12h。运用大鼠无创尾压仪和彩色多普勒超声诊断仪检测血压及心脏功能,运用组织学染色和相应检测试剂盒观察心脏组织形态学改变及血清生化指标。**结果:**确认降压抗纤方组成分为丹参、三七、黄芪、鸡血藤和化橘红。动物实验结果表明,与正常组比较,模型组的血压明显升高($P < 0.01$),心脏功能指标下降($P < 0.01$),同时血清中心肌酶谱的水平升高($P < 0.05, P < 0.01$),炎症因子水平升高($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,各给药组能有效逆转上述指标($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**运用网络药理学和传统中医理论所构建的新型复方降压抗纤方具有抗高血压心肌纤维化的作用,并对肝肾无毒副作用。

[关键词] 网络药理学; 中药复方; 高血压; 心肌纤维化; 自发性高血压大鼠

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)20-0115-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20182041

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180727.1149.011.html>

[网络出版时间] 2018-07-30 14:04

Effect of New Chinese Medicine Compound Jiangya Kangxian Decoction Constructed Based on Network Pharmacology

CHEN Kai, LIU Xin, GUAN Yi-qing, ZHUANG Yu-xin, DANG Wen-zhen, LYU Lin, ZHANG Guo-hua*
(Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To develop new Chinese medicine compound Jiangya Kangxian decoction for the treatment of hypertensive myocardial fibrosis using network pharmacology and traditional Chinese medicine (TCM) theory, in order to explore its therapeutic effect on hypertensive myocardial fibrosis in spontaneously hypertensive rats (SHR). **Method:** Data of Chinese herbs, ingredients, targets and diseases was obtained from traditional Chinese medicine systems pharmacology (TCMSP) databases. Chinese herbs that can act on targets of hypertension and myocardial fibrosis were selected using Cytoscape, and then further screened out according to TCM theory of syndrome differentiation, in order to into a new Chinese medicine compound on the basis of the principles of formula composition. Five rats with normal blood pressure (WKY) were taken as blank group; 30 12-week-old

[收稿日期] 20180425(002)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81373811,81072937)

[第一作者] 陈凯,在读硕士,从事心血管疾病研究,E-mail:344405885@qq.com

[通信作者] *张国华,博士,教授,从事心血管疾病研究,E-mail:zghgz@163.com

SHR rats were taken as the study object and randomly divided into five groups: spontaneous hypertensive rat group (SHR), low-dose Jiangya Kangxian decoction group (KXL, $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), moderate-dose Jiangya Kangxian decoction group (KXM, $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), high-dose Jiangya Kangxian decoction group (KXH, $8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and captopril positive control group (CAP, $13.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). The rats were orally administered with drugs for consecutively 20 weeks and then fasted for 12 h before being put to death. The noninvasive tail voltmeter and Color Doppler were used to detect blood pressure and cardiac function. Tissue staining and biochemical kit were used to observed heart histomorphology and serum biochemical indexes. **Result:** It was confirmed that Jiangya Kangxian decoction consists of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, *Notoginseng Radix et Rhizoma*, *Astragali Radix*, *Spatholobi Caulis* and *Citri Grandis Exocarpium*. The results of animal experiments showed that, compared with the normal group, the blood pressure of the model group increased significantly ($P < 0.01$), the cardiac function index decreased ($P < 0.01$), the levels of serum myocardial enzymes increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the level of inflammatory factors was increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, each drug group could effectively reverse the above indicators ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Jiangya Kangxian decoction constructed by network pharmacology and TCM theory has a therapeutic effect on hypertensive myocardial fibrosis in SHR, with no side effects on liver and kidney.

[Key words] network pharmacology; Chinese herbal compound; hypertension; myocardial fibrosis; spontaneous hypertensive rat

心肌纤维化 (myocardial fibrosis, MF) 是高血压性心脏病的主要病理改变之一, 主要表现为心肌组织中胶原纤维的过量沉积, 它可引起心脏结构紊乱、组织异质性增高, 是发生心律失常的结构基础, 也是猝死和慢性心力衰竭的潜在危险因素^[1]。近年来的研究多从中医理论角度阐述高血压 MF 的病因病机, 且应用中药复方进行干预具有较好的疗效, 已经得到临床的广泛重视^[2-3]。

中药复方具有多靶点、多途径等作用特点, 适用于心血管等复杂疾病的治疗, 但同时也存在着成分过于复杂、作用机制不清的问题, 传统的药理实验方法研究其药理作用及机制存在较大的困难, 耗费较高。鉴于中药复方研究的问题, 有研究者提出了中药网络药理学这一理论。网络药理学是从相互联系的角度研究问题, 恰恰与中药的整体观思想不谋而合^[4]。因此, 将网络药理学应用于中药研究具有独特的优势和巨大的发展潜力, 为中药的现代化提供了新的研究思路。

中药系统药理学数据库和分析平台 (TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 中药网络药理学数据库搜集了 2015 年版《中药药典》中的 499 味中药, 且通过文献挖掘和数据库整合得到了每味中药所包含的成分数据, 同时结合模型预测和现有实验数据得到这些中药分子对应的靶标及疾病信息^[5], 形成一个统一的完整的数据模型, 可从系统水平研究中药和机体的相互作用, 为新药开发、靶点发现、

新的治疗策略等提供研究基础。

利用 TCMSP 数据库, 史海龙等^[6]从海量的传统中药数据中高通量虚拟筛选小分子抑制剂, 并进一步探索候选药物分子与靶点之间的结合模式, 以期有助于发现新型抗艾滋病药物的前导物; 袁长胜等^[7]建立玫瑰花黄酮和挥发油候选化合物库, 利用 SysDT 模型筛选二者的作用靶点, 并对其相关疾病进行映射, 最后筛得了玫瑰花黄酮和挥发油的共同作用靶点, 推断出玫瑰花黄酮和挥发油具有协同的心肌保护作用。

可见, 中药网络药理学方法多用来寻找中药的潜在靶点并阐述中药的作用机制, 然而目前尚未有利用网络药理学以及 TCMSP 数据库构建中药复方的报道。因此本实验的目的是基于网络药理学的理论, 分析筛选 TCMSP 的数据并结合传统中医理论构建治疗高血压 MF 的新型中药复方——降压抗纤方, 再进一步通过体内实验研究该新型复方抗高血压 MF 的作用。试图为中医药现代化提供切实的实验室数据。

1 材料与方法

1.1 候选中药的筛选 运用网络药理学的理论和方法筛选出一批能治疗高血压 MF 的候选中药。通过下载 TCMSP 中的整库数据并导入网络分析软件 Cytoscape3. 6. 0^[8] 中构建“中药-成分-靶标-疾病”的总网络图, 再从网络的疾病模块中抽离并构建“高血压”和“MF”对应的“中药-成分-靶标”网络, 对这

两批数据取交集即能得到共同作用于高血压和 MF 的候选中药。

1.2 新型中药复方的构建 为了使所构建的新型中药复方既符合现代网络药理学,又能切合传统的中医辨证体系,因此运用中医理论对候选中药作进一步筛选。根据中医辨证和流行病学调查显示,高血压 MF 以“血瘀”“气虚”“痰阻”为证候特点,其中更以“血瘀”为主要方面^[9-10],因此在上述候选中药的基础上进一步选取具备化瘀、补气、祛痰等功能的中药。最后根据中药配伍原则^[11],以化瘀药为君,补气祛痰药为臣,共同组合成治疗高血压 MF 的新型中药复方——降压抗纤方。

1.3 动物与分组 模型组选用 12 周龄的雄性自发高血压大鼠 (SHR) 30 只,体质量 (205.31 ± 6.32) g; 正常组则选用同龄同性别的正常血压的 WKY 大鼠 5 只,体质量 (206.97 ± 5.26) g,皆由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物合格证号 SCXK(粤)2016-0006。饲养于南方医科大学实验动物科学部 SPF 级动物房(伦理委员会编号 L2018010),喂食标准饲料并自由饮水。

将 30 只 12 周龄的雄性 SHR 随机分为 5 组,分别为高血压模型组,降压抗纤方低剂量组 (KXL, $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),降压抗纤方中剂量组 (KXM, $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),降压抗纤方高剂量组 (KXH, $8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和卡托普利阳性药组 (CAP, $13.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),每组 5 只。另取 5 只 WKY 大鼠为正常组。各治疗组大鼠均通过灌胃给药,WKY 和 SHR 组大鼠分别给予等量蒸馏水,连续灌胃给药 12 周。

1.4 药物、试剂与仪器 中药免煎颗粒(广东一方制药有限公司,批号 20131116)和卡托普利片(中美上海施贵宝制药有限公司,批号 1209031),均购自南方医科大学第一附属医院南方医院。生化试剂盒包括肌酸激酶(CK),肌酸激酶同工酶(CK-MB),乳酸脱氢酶(LDH),肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-6(IL-6),单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1),肌酐(Cr),尿素氮(BUN),天门冬氨酸氨基转移酶(AST),丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 A032, H197, A020-2, H052, H007, H115, C011-1, C013-2, C010-2, C009-2);马松(Masson)染色试剂盒(雷根生物科技有限公司,批号 DC0032) ALC-NIBP 型小动物无创尾压仪(上海奥尔科特生物科技有限公司);S40 型彩色多普勒超声诊断仪(深圳开立科技有限公司);iMark 型全自动酶标仪(美国伯乐生命医学产品有限公

司)。

1.5 大鼠血压及心脏功能的检测 灌胃给药期间,每周使用小动物无创尾压仪和无创血压分析系统对各组大鼠的收缩压(SBP)和舒张压(DBP)进行检测,观察并记录各组大鼠每周的血压水平变化。此外,每周使用彩色多普勒超声诊断仪于 M 型超声心动图模式下观察大鼠心脏左室二尖瓣的张合幅度和心室肌厚度,据此计算出评价心脏功能的两个指标:射血分数(EF)和短轴缩短率(FS)。以上测量均由同一操作者完成并记录数据,在同一部位重复至少 3 次并取其平均值。

1.6 心脏质量指数 灌胃 12 周后,大鼠麻醉固定四肢,迅速开胸取出心脏,放入 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)中充分修剪和灌洗,滤纸吸干水分,电子天平称重。计算心脏质量(HW)和体质量(BW)的比值,间接反映大鼠心脏的肥厚程度。

1.7 心脏组织形态学观察 大鼠完整心脏经 4% 多聚甲醛固定后沿心脏冠状面切片,常规石蜡包埋脱蜡后,按马松(Masson)染色试剂说明染色、脱水、包埋,分别取心脏的冠状切面观察以及在 100 倍光学显微镜下观察,Masson 染液能将组织中的胶原纤维染成蓝色,以此评价心肌组织的纤维化程度。

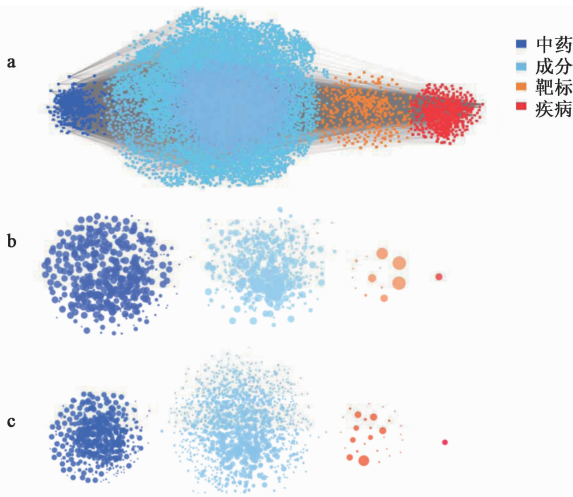
1.8 血清中相关指标的检测 灌胃 12 周后从尾静脉取血,全血样品在 $4 \text{ }^\circ\text{C}$, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,收集血清并严格按照相关生化试剂盒说明书检测大鼠血清中的心肌酶谱指标(CK,CK-MB 和 LDH),炎症因子指标(TNF- α , IL-6, MCP-1)和肝肾损伤指标(Cr, BUN, AST 和 ALT)。

1.9 统计学方法 应用 SPSS 22.0 软件包进行统计分析,所有计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组治疗前后比较采用配对 t 检验。组间比较,方差齐采用单因素方差分析,若方差不齐则用 KruskalWallisTest 进行整体检验,整体检验有显著性时,采用 Nemenyi 法进行两两比较,以 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 候选中药的筛选 下载 TCMS 的原始数据得到了 499 味中药,29 384 种中药成分,3 311 个疾病靶标,837 种疾病以及它们之间的相互关系,将上述数据导入 Cytoscape3.6.0 构建中出“中药-成分-靶标-疾病”的总网络图,再从总网络中分离出高血压和 MF 对应的“中药-成分-靶标”网络。各网络节点数量,其中高血压网络中包含 172 味中药,MF 网络中包含 125 味中药,二者取交集即筛选出能共同作用于高血压和 MF 的候选中药,最后共得到 82 味,

根据候选中药所含有的能共同作用于高血压和 MF 的成分(简称为药效成分)数量进行排序。见图 1, 表 1, 2。



蓝色节点代表中药;青色节点代表中药成分;橙色节点代表疾病靶标;红色节点代表疾病;a. 总网络;b. 高血压;c. 心肌纤维化

图 1 中药-成分-靶标网络

Fig.1 Network of traditional Chinese medicine-components-targets

表 1 各网络节点数量

Table 1 Number of network nodes

组别	总网络	高血压网络	MF 网络
中药	499	172	125
成分	29 384	2 548	3 604
靶标	3 311	13	32
疾病	837	1	1

2.2 降压抗纤方的构建 根据高血压 MF 血瘀、气虚、痰阻的中医辨证特点,从以上筛选的药物中进一步选取具备活血化瘀功效的药物,分别为丹参、鸡血藤和三七,再搭配上益气的黄芪和祛痰的化橘红,最终组成治疗高血压 MF 的中药复方,并命名为降压抗纤方。其中丹参、鸡血藤、三七共为君药,可活血通经,祛瘀止痛;黄芪、化橘红为臣药,黄芪可补益心气,气为血帅,气行则血行;化橘红有理气宽中、祛痰利湿之效。诸药搭配,可有效针对治疗高血压 MF。

2.3 降压抗纤方对大鼠心脏肥厚和 MF 的影响 根据大鼠心脏质量指数和心脏 Masson 染色的冠状切面图像显示,与正常大鼠比较,模型组的心脏明显肥厚,降压抗纤方各剂量组和卡托普利组均能明显减轻心脏的肥厚程度。100 倍光镜下观察心脏 Masson 染色切片发现,SHR 组心肌组织中出现了大量的胶原沉积,且心肌细胞排列紊乱,而药物治疗后均能减少心肌组织中的胶原沉积,使心肌细胞排列

表 2 治疗高血压 MF 的中药及其药效成分数量(节选)

Table 2 Chinese medicine for treatment of hypertensive myocardial fibrosis and number of medicinal ingredients they have(excerpt)

中药	药效成分数量	中药	药效成分数量
丹参	23	延胡索	13
三七	20	郁金	13
柴胡	19	当归	13
麻黄	18	丁香	13
吴茱萸	17	高良姜	13
石菖蒲	17	藁本	13
杜仲	16	枸杞子	13
肉豆蔻	16	花椒	13
关黄柏	15	连翘	13
山茱萸	15	银杏叶	12
大枣	14	豆蔻	12
板蓝根	14	桂枝	12

有序、界限清楚,其中以高剂量组和卡托普利组效果最为明显。见表 3,图 2。

表 3 降压抗纤方对大鼠心脏质量指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

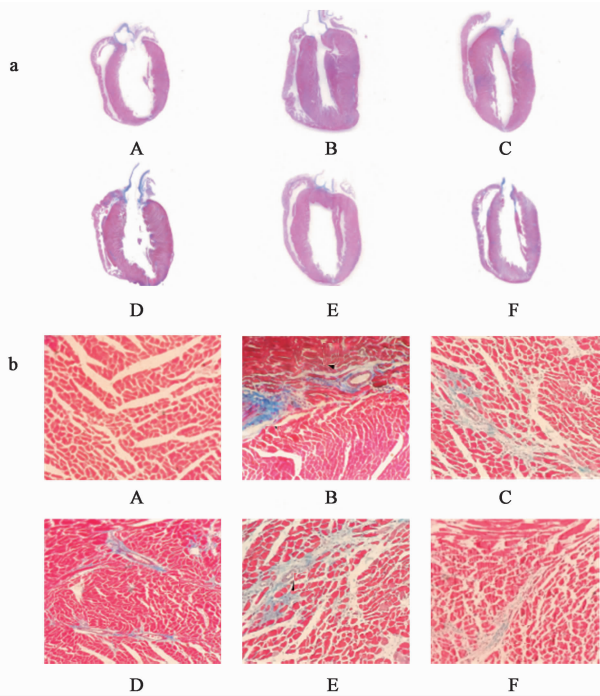
Table 3 Effect of Jiangya Kangxian decoction on heart quality index($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	心脏质量指数/ $g \cdot g^{-1}$
正常	-	3.08 ± 0.33
模型	-	$4.78 \pm 0.19^{1)}$
降压抗纤方	2	4.60 ± 0.15
	4	$4.02 \pm 0.20^{3)}$
	8	$3.44 \pm 0.30^{3)}$
卡托普利	0.013 5	$3.61 \pm 0.26^{3)}$

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 4~6 同)。

2.4 降压抗纤方对大鼠血压和心脏功能的影响 与正常组比较,模型组大鼠的 SBP 和 DBP 显著升高($P < 0.01$),而 EF 和 FS 显著降低($P < 0.01$)。与模型组大鼠比较,降压抗纤方各剂量治疗后均能降低 SBP 和 DBP,且效果呈剂量依赖性关系,但降压效果与阳性药卡托普利比较仍有较大差距。此外,比较模型组,降压抗纤方各剂量组能有效增加 EF 和 FS($P < 0.01$),其中降压抗纤方高剂量组的效果要优于卡托普利组。见表 4。

2.5 降压抗纤方对 MF 大鼠血清指标的影响 与正常组比较,模型组血清 CK 和 CK-MB 显著升高($P < 0.01$),提示压力超负荷引起心脏损害。降压抗纤方各剂量治疗后均能减少血清中 CK 和 CK-MB 的含量($P < 0.01$),其中降压抗纤方高剂量的治疗



a. 心脏冠状切面; b. 心脏组织光镜放大切面 (Masson, $\times 100$); A. 正常组; B. 模型组; C. 降压抗纤方 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; D. 降压抗纤方 $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; E. 降压抗纤方 $8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; F. 卡托普利组

图 2 降压抗纤方对 MF 大鼠心脏肥厚和 MF 的影响

Fig. 2 Effect of Jiangya Kangxian decoction on cardiac hypertrophy and myocardial fibrosis in MF rats

表 4 降压抗纤方对大鼠血压和心脏功能指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 4 Effect of Jiangya Kangxian decoction on blood pressure and cardiac function ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	SBP/mmHg	DBP/mmHg	EF/%	FS/%
正常	-	122.98 \pm 2.19	98.96 \pm 4.11	86.82 \pm 0.84	56.58 \pm 1.52
模型	-	186.08 \pm 5.69 ¹⁾	139.07 \pm 3.72 ¹⁾	68.76 \pm 2.95 ¹⁾	34.03 \pm 3.24 ¹⁾
降压抗纤方	2	175.97 \pm 3.40 ³⁾	123.94 \pm 3.86 ⁴⁾	73.21 \pm 1.30 ²⁾	38.81 \pm 1.64 ²⁾
	4	158.07 \pm 3.58 ⁴⁾	113.13 \pm 3.86 ⁴⁾	76.58 \pm 1.14 ⁴⁾	42.79 \pm 1.48 ⁴⁾
	8	144.75 \pm 4.45 ⁴⁾	108.54 \pm 5.54 ⁴⁾	83.84 \pm 0.84 ⁴⁾	51.04 \pm 1.22 ⁴⁾
卡托普利	0.013 5	125.35 \pm 3.49 ⁴⁾	99.61 \pm 4.15 ⁴⁾	81.22 \pm 0.84 ⁴⁾	48.76 \pm 1.30 ⁴⁾

注: 1 mmHg = 0.133 kPa。

表 5 降压抗纤方对大鼠血清心肌酶谱指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 5 Effect of Jiangya Kangxian decoction on serum myocardial enzymes ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	CK/ $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$	CK-MB/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	LDH/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$
正常	-	0.49 \pm 0.06	25.89 \pm 1.70	5 178.26 \pm 411.22
模型	-	0.65 \pm 0.06 ¹⁾	33.04 \pm 1.96 ¹⁾	7 717.39 \pm 625.99 ¹⁾
降压抗纤方	2	0.56 \pm 0.03 ²⁾	30.09 \pm 1.51 ²⁾	7 373.91 \pm 506.16
	4	0.56 \pm 0.06 ²⁾	30.09 \pm 1.89 ²⁾	7 456.52 \pm 788.38
	8	0.52 \pm 0.05 ³⁾	28.55 \pm 1.09 ³⁾	7 234.78 \pm 655.04
卡托普利	0.013 5	0.51 \pm 0.05 ³⁾	26.12 \pm 1.20 ⁴⁾	7 147.83 \pm 706.94

效果与卡托普利无统计学差异 ($P < 0.05$)。降压抗纤方各剂量对 LDH 无显著性改变。见表 5。模型组血清中的 MCP-1, TNF- α 和 IL-6 水平比较正常组明显升高, 降压抗纤方各剂量治疗后能降低 MCP-1 和 IL-6 的水平 ($P < 0.05$), 其中以中剂量和高剂量组降幅最大且优于卡托普利组, 但降压抗纤方各剂量组对 TNF- α 没有明显影响。见表 6。结果显示, 降压抗纤方各剂量治疗组的肝肾功能与模型组比较没有统计学差异。见表 7。

3 讨论

近年来, 中医药治疗高血压 MF 成为抗高血压 MF 的研究热点。借助现代医学手段对一些中药单药及复方研究表明, 中药对逆转高血压 MF 有显著作用。侯彦宏等^[12] 研究中药复方——四妙勇安汤可显著抑制高血压大鼠主动脉的增厚和冠状动脉纤维化的形成。吴赛等^[13] 通过动物实验发现半夏白术天麻汤可有效降低血压、减少心脏后负荷、有明显的保护作用。然而, 中医药治疗疾病一直存在着成分不清、具体作用机制不明确等问题。

中医药的特色体现在中药对复杂疾病整体的辨证论治上, 强调从整体把握疾病的特点, 通过多味中药的协调配合实现对机体病理失衡状态的调节,

表 6 降压抗纤方对大鼠血清炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 6 Effect of Jiangya Kangxian decoction on serum inflammatory factors ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

ng·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-6	MCP-1	TNF-α
正常	-	51.72 ± 7.21	458 ± 58.91	155.72 ± 24.56
模型	-	147.35 ± 8.37 ¹⁾	856 ± 98.99 ¹⁾	240.71 ± 13.74 ¹⁾
降压抗纤方	2	119.84 ± 12.66 ³⁾	788 ± 98.34	220.71 ± 17.75
	4	92.97 ± 12.93 ⁴⁾	584 ± 56.3 ⁴⁾	226.43 ± 20.92
	8	64.22 ± 8.01 ⁴⁾	492 ± 57.71 ⁴⁾	212.86 ± 21.81 ²⁾
卡托普利	0.013 5	89.84 ± 14.12 ⁴⁾	692 ± 82.64 ²⁾	191.43 ± 19.15 ³⁾

表 7 降压抗纤方对大鼠血清肝肾功能指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 7 Effect of Jiangya Kangxian decoction on serum and hepatorenal function ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	Cr/μmol·L ⁻¹	BUN/mmol·L ⁻¹
正常	-	55.15 ± 4.35	31.66 ± 2.93	118.46 ± 13.91	5.82 ± 0.39
模型	-	57.01 ± 4.50	31.93 ± 2.51	141.83 ± 9.41 ¹⁾	7.04 ± 0.47 ²⁾
降压抗纤方	2	57.83 ± 5.29	31.57 ± 2.71	137.00 ± 11.4	6.82 ± 0.46
	4	55.66 ± 4.51	31.38 ± 4.52	137.40 ± 9.17	6.91 ± 0.38
	8	57.01 ± 4.72	30.75 ± 2.80	126.92 ± 9.45	6.69 ± 0.43
卡托普利	0.013 5	54.75 ± 4.86	31.66 ± 2.67	126.52 ± 7.18 ³⁾	6.18 ± 0.26 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$

这些理念充分体现了中药治疗多成分、多靶点及系统调控的思想。

网络药理学^[14]是建立在高通量组学数据分析、计算机虚拟技术及网络数据库检索基础上的生物信息网络构建及网络拓扑结构分析的科学思想和研究策略。网络药理学从系统生物学和生物网络平衡的角度阐释疾病的发生发展过程,从恢复生物网络平衡的整体观角度认识药物与机体的相互作用并指导新药发现。网络药理学对疾病分子作用机制的认识与传统的中医辨证理论有异曲同工之妙,且中医疾病证候与生物网络的调节机制有很大相关性,使得网络药理学成为中药研究领域的一种新方法^[15]。因此,可以应用网络药理学的技术和方法,通过挖掘网络中的关键节点和功能模块构建多分子、多靶点的复方制剂。

本实验首次通过下载 TCMSPP 的原始数据进行网络分析,从中筛选出针对高血压 MF 的中药,并根据中医辨证理论作进一步的筛选组方,构建治疗高血压 MF 的新型中药复方——降压抗纤方,由丹参、三七、鸡血藤、黄芪和化橘红组成。

从网络药理学的角度来看,降压抗纤方所含的中药成分能作用于相关疾病靶标来改善高血压和 MF。丹参中的主要活性成分为醌类化合物丹参酮 I, II_A, II_B, 其中丹参酮 II_A 能抑制心肌成纤维细

胞中的转化生长因子(TGF)-β₁/Smads 信号转导,减少成纤维细胞的活化和胶原分泌,从而改善大鼠压力负荷所致的 MF^[16]。三七总皂苷中含有多种皂苷类成分,通过成分间的协同作用,能够有效抑制心血管系统的炎症反应^[17]。鸡血藤具有一定的抗氧化作用,其提取物能提高缺血再灌注心肌组织中 CK, LDH 和 SOD 的水平,表明鸡血藤对心脏的缺血再灌注损害具有一定的保护作用,可降低心肌的损伤程度^[18]。黄芪中的黄芪甲苷可以降低慢性心肌炎小鼠的死亡率、降低心肌胶原容积分数(CVF),减轻 MF,其抗 MF 的作用是通过抑制 TGF-β₁, 促进基质金属蛋白酶(MMP)-13 和 MMP-14 在心脏中的表达而实现的^[19]。化橘红能影响心肌细胞中的 TGF-β₁/Smad 信号通路,从而抑制糖尿病心肌病的 MF 进程,保护心脏功能^[20]。

从传统的中医辨证理论上讲,降压抗纤方组方合理、治疗效果明确,《中药大辞典》中记载丹参善于通血脉,散郁结,去瘀生新,调经顺脉,有活血祛瘀,通络止痛之功;三七可散瘀止血,消肿定痛,用于治疗咯血、衄血、崩漏、外伤出血、胸腹刺痛等;鸡血藤能去瘀血、生新血、流利经脉,有活血舒筋,养血调经的功效;黄芪可补中益气,能治疗气虚血脱、崩漏、带下等慢性虚损疾病;化橘红燥湿、利气、消痰,可治胸中痰滞、咳嗽气喘等。诸药共用,可有效针对高血

压 MF 血瘀、气虚和痰湿的病理特点。

实验结果表明,与正常组比较,模型的 SBP 和 DBP 显著升高,EF 和 FS 降低,且心脏明显肥厚、心肌组织中出现了大量的胶原沉积,提示高血压会影响大鼠心脏的结构和功能、导致明显的 MF。而降压抗纤方各剂量治疗后能有效逆转上述指标,且效果呈剂量依赖性关系,其中对血压的降低作用与阳性药卡托普利比较还有一定差距,而对 EF 和 FS 的改善效果明显且高剂量组和卡托普利组之间无统计学差异。由此可见,降压抗纤方在降低 SHR 血压的同时能减少 MF,改善心脏的结构和功能损害,对高血压 MF 具有良好的治疗效果。

MF 是胶原纤维向正常心肌组织侵害的结果,因此会导致侵害部位正常心肌细胞的大量坏死,而常规的形态学观察无法很好地评估心肌组织的损伤情况。当心肌细胞损伤坏死时,细胞中所含的特异性酶类会释放进入血中,导致血液内这些酶的活性(含量)增高,其中以 CK,CK-MB 和 LDH 的特异性最高,以上指标合称为心肌酶谱,在临床上常用于评价心肌的损伤情况。实验发现,经降压抗纤方各剂量和卡托普利治疗后均能有效降低 SHR 血清中升高的 CK 和 CK-MB,对心脏损伤有良好的保护作用,且高剂量组和卡托普利之间没有统计学差异。

在 MF 的病理进展中,心肌细胞的损伤坏死会招募炎性细胞聚集并产生大量的炎症因子。这些炎症因子会通过多条途径刺激心肌成纤维细胞的增殖和胶原分泌,进一步促进 MF 的发生发展,形成恶性循环。在众多因子中,TNF- α ,MCP-1 和 IL-6 是促进 MF 发展的主要炎症因子^[21]。实验结果表明,降压抗纤方各剂量组均能显著降低 MCP-1 和 IL-6 的水平,且中、高剂量组的效果要优于卡托普利,但各剂量组对 TNF- α 的下调作用不明显。说明降压抗纤方能有效抑制心脏的炎症反应、改善 MF 的预后。

此外,近年来有不少关于中药肝肾毒性的研究报道^[22-26],本实验检测了各组大鼠的肝肾功能指标,包括 Cr,BUN,ALT 和 AST,结果显示降压抗纤方灌胃给药后各组大鼠均未出现肝肾损伤,提示本方作用安全无肝肾毒性。

本文首次运用网络药理学的理论和技术构建了新型中药复方并通过动物实验验证其有效性,为研发中药复方制剂开辟了新的途径,有利于推动中药的现代化发展。然而,本实验仅研究降压抗纤方对高血压 MF 的影响,并未阐明其具体的作用靶标及机制,因此需进一步的实验来探索。

[参考文献]

- [1] Kong P, Christia P, Frangogiannis N G. The pathogenesis of cardiac fibrosis[J]. Cell Mol Life Sci, 2014,71(4):549-574.
- [2] 吕仕超,杨锡燕,张军平. 中医药治疗高血压心肌纤维化的研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015,17(6):1295-1299.
- [3] 曾紫凡,王伟. 中医药治疗心肌纤维化的研究进展[J]. 中国中医急症,2018,27(3):545-547.
- [4] 邢心睿,吕狄亚,柴逸峰,等. 网络药理学在中药作用机制中的研究进展[J]. 药学实践杂志,2018,36(2):97-102.
- [5] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform,2014, doi:10.1186/1758-2946-6-13.
- [6] 史海龙,王玉成,樊莹莹,等. 基于药物靶点从传统中药库中高通量虚拟筛选 HIV-1 整合酶抑制剂[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(19):159-164.
- [7] 袁长胜,陈文. 基于 TCMSP 对玫瑰花黄酮和挥发油防治心血管疾病的协同作用及其机制研究[J]. 石河子大学学报:自然科学版,2016,34(6):731-738.
- [8] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. Genome Res, 2003,13(11):2498-2504.
- [9] 吕仕超,张军平. 以心肌纤维化为病理基础的心系疾病证候差异[J]. 辽宁中医药大学学报,2014,16(1):83-85.
- [10] 贾微,郭超峰,杨小英,等. 632 例高血压病中医症状与证候要素的相关性研究[J]. 内蒙古中医药,2017,36(11):2-3.
- [11] 吕春艳,吕邵娃,李国玉,等. 中药复方性味与组分配伍药理效应的研究进展[J]. 中国中药杂志,2018,43(6):1099-1103.
- [12] 侯彦宏,沈晓旭,宫媛媛,等. 四妙勇安汤活性部位对一氧化氮合成酶抑制剂诱导的高血压大鼠血管重构的作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(4):112-117.
- [13] 吴赛,姜月华,杨传华,等. 半夏白术天麻汤对痰湿壅盛型高血压大鼠心肌 MAPK 信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(8):159-165.
- [14] Hopkins A L. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery[J]. Nat Chem Biol,2008,4(11):682-690.
- [15] 张贵彪,陈启龙,苏式兵. 中药网络药理学研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2013,20(8):103-106.
- [16] GAO S, LIU Z, LI H, et al. Cardiovascular actions and

- therapeutic potential of tanshinone II_A [J]. *Atherosclerosis*, 2012, 220(1):3-10.
- [17] 李光, 邢小燕, 张美双, 等. 中药三七对缺血/再灌注损伤的保护作用及应用前景[J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(10):1340-1344.
- [18] 刘仰斌, 张志花. 鸡血藤提取物对离体缺血再灌注损伤心肌生化指标的影响[J]. *湘南学院学报:医学版*, 2013, 15(4):6-8.
- [19] 蒋洪强, 张金国, 谭洪勇, 等. 黄芪甲苷对慢性心力衰竭大鼠心肌纤维化和结缔组织生长因子表达的影响[J]. *中国循环杂志*, 2016, 31(2):165-169.
- [20] 杨澄, 刘历威. 橘红对糖尿病心肌病心肌细胞 TGF- β_1 /Smad 信号通路的干预作用[J]. *分子影像学杂志*, 2017, 40(2):170-174.
- [21] 苏景力, 宫海滨, 吕茜, 等. 炎症因子与心肌纤维化[J]. *现代生物医学进展*, 2010, 10(8):1559-1561.
- [22] 喻慧, 徐斌权, 贺支支, 等. 常用中药的肾毒性研究概况[J]. *实用中西医结合临床*, 2016, 16(8):89-92.
- [23] 杨小平. 中药药物成分对肝脏毒性作用的研究概况[J]. *中医药导报*, 2017, 23(15):86-88.
- [24] 王晓烨, 林瑞超, 董世芬, 等. 含汞矿物药的毒性研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(7):1258-1264.
- [25] 吴豪, 钟荣玲, 夏智, 等. 潜在肝毒性中药的成分研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(17):3209-3217.
- [26] 宋捷, 钟荣玲, 夏智, 等. 中药肝毒性研究方法技术的新进展及其应用[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(1):41-48.

[责任编辑 周冰冰]