

# 基于网络药理学的附子-干姜药对治疗心力衰竭的作用机制分析

刘鑫馗, 吴嘉瑞\*, 张丹, 张晓朦  
(北京中医药大学, 北京 100102)

**[摘要]** **目的:**探讨附子-干姜药对治疗心力衰竭的作用机制。**方法:**本研究首先构建心力衰竭相关的蛋白互作网络,然后选取附子-干姜药对含有的24个活性成分,预测其作用靶点,进而构建附子-干姜药对活性成分-预测靶点网络、构建与心力衰竭相关的附子-干姜药对活性成分-潜在靶点网络、进行基于京都基因与基因组百科全书(KEGG)的生物通路富集分析,研究附子-干姜药对治疗心力衰竭的作用机制。**结果:**与心力衰竭相关的附子-干姜药对活性成分-潜在靶点网络包含23个靶点,关键靶点涉及碳酸酐酶2(CA2),11- $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶1(HSD11B1),基质溶素-1(MMP-3),肽基脯氨酰顺反异构酶FKBP1A(FKBP1A),磷酸二酯酶4D(PDE4D),热休克蛋白90 $\alpha$ (HSP90AA1)等。KEGG通路7条,主要涉及肾素-血管紧张素系统(Renin-angiotensin system)等。**结论:**本研究结果初步验证和预测了附子-干姜药对治疗心力衰竭的作用机制,并为进一步深入揭示其作用机制奠定了良好基础。

**[关键词]** 附子-干姜; 心力衰竭; 网络药理学; 蛋白互作网络; 靶点; 信号通路

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)21-0212-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017210212

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170809.1126.066.html>

**[网络出版时间]** 2017-08-09 11:26

## Mechanism of Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma in Treatment of Heart Failure Based on Network Pharmacology

LIU Xin-kui, WU Jia-rui\*, ZHANG Dan, ZHANG Xiao-meng  
(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the mechanism of Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma in the treatment of heart failure. **Method:** Protein-protein interaction network related to heart failure was constructed, and targets related to 24 active chemical components from Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma were predicted. Active compound-predicted target network, active compound-potential target network related to heart failure, and potential target-pathway network were constructed to explore the mechanism of Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma in the treatment of heart failure. **Result:** The active compound-potential target network of Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma related to heart failure contained 23 targets, in which key targets involved Carbonic anhydrase 2 (CA2), Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1 (HSD11B1), stromelysin-1 (MMP-3), peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP1A (FKBP1A), cAMP-specific 3, 5-cyclic phosphodiesterase 4D (PDE4D), and heat shock protein HSP 90-alpha (HSP90AA1). In Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis, there were 7 KEGG pathways, mainly involving Renin-angiotensin system. **Conclusion:** The findings preliminarily verify and

**[收稿日期]** 20170612(023)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81473547,81673829)

**[第一作者]** 刘鑫馗,在读硕士,从事临床中药学研究,Tel:15811155905,E-mail:lxkchuige@163.com

**[通讯作者]** \*吴嘉瑞,博士,教授,硕士生导师,从事临床中药学研究,Tel:010-84738662,E-mail:exogamy@163.com

predict the basic pharmacological effects and relevant mechanisms of *Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma* in the treatment of heart failure, in order to lay a solid foundation for further studies on the mechanism of *Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma* in the treatment of heart failure.

[ **Key words** ] *Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma*; heart failure; network pharmacology; protein-protein interaction network; target; signaling pathway

附子-干姜为临床常用的回阳救逆、补火温中药对<sup>[1]</sup>,源于《伤寒论》四逆汤、白通汤和干姜附子汤<sup>[2]</sup>。附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* 子根的加工品,功能回阳救逆,补火助阳,散寒止痛。用于亡阳虚脱,肢冷脉微,心阳不足,胸痹心痛,虚寒吐泻,脘腹冷痛,肾阳虚衰,阳痿宫冷,阴寒水肿,阳虚外感,寒湿痹痛。干姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* 干燥根茎,功能温中散寒,回阳通脉,温肺化饮。用于脘腹冷痛,呕吐泄泻,肢冷脉微,寒饮喘咳<sup>[3]</sup>。附子辛甘大热,为纯阳之品,入心、肾、脾经,走而不守,能通行十二经,为回阳救逆第一药;干姜辛而大热,归脾、肾、心、肺经,纯阳之味,守而不走,长于温中散寒。附子与干姜合用,具有协同作用,可使回阳救逆、温中散寒的功效大为增强,并可减低附子的毒性,治疗脾肾阳气虚弱、外寒直中、寒湿痹痛、宫冷阳痿、水肿尿频、腹痛吐泻、咳喘痰涎等<sup>[2,4]</sup>。正如《证治要诀》云:“附子无姜不热。”《本草求真》亦云:“干姜,大热无毒,守而不走,凡胃中虚冷,元阳欲绝,合以附子同投,则能回阳立效。<sup>[1]</sup>”心力衰竭(简称心衰)是由于任何心脏结构或功能异常导致心室充盈或射血能力受损的一组复杂临床综合征,其主要临床表现为呼吸困难和乏力(活动耐量受限),以及液体潴留(肺瘀血和外周水肿)。心衰为各种心脏疾病的严重和终末阶段,发病率高,是当今最重要的心血管病之一。根据心衰发生的时间、速度、严重程度可分为慢性心衰和急性心衰<sup>[5]</sup>。诸多研究表明,附子干姜配伍有明显的抗心衰作用<sup>[6-11]</sup>。随着现代医药学的发展,附子-干姜药对治疗心力衰竭的作用机制研究已进入分子生物学水平,但较多地停留在整体动物指标,应用网络药理学方法在系统层面对附子-干姜药对治疗心力衰竭的作用机制的研究较少。不同于化学药的药理特征通常为单一成分及靶点<sup>[12]</sup>,中医药的特色体现在中药复方对复杂疾病整体上的辨证论治,强调整体性,同时方剂的配伍组方注重“君、臣、佐、使”,通过多味中药的协调配合实现对机体的调节,体现了多成分、多靶点、多途径调控的理念<sup>[13]</sup>,其复杂的作用机制使得中药的深入研究呈现巨大困难,而网络药理学

则为复杂中药系统的研究提供了新的思路和视角<sup>[14]</sup>。网络药理学是在现代药理学研究的基础上提出的药物设计与开发的新方法和新策略,其是以系统生物学为基础,从整体水平观察“药物-靶点-疾病”复杂网络关系,进而指导新药研发及药理作用研究<sup>[15]</sup>。网络药理学提供了一个系统层次的方法来了解疾病的发病机制,其研究策略的整体性和系统性的特点与中医药整体观与辨证论治的原则不谋而合,可用于发现先导化合物、识别靶标和预测适应症<sup>[16]</sup>。本研究采用网络药理学方法分析、预测附子-干姜药对治疗心力衰竭的分子作用机制,希冀为深入开展附子-干姜药对治疗心力衰竭的基础实验研究及临床合理应用提供参考。

## 1 材料与方法

**1.1 心力衰竭相关的靶标蛋白质的收集** Therapeutic Target Database(TTD) (<http://bidd.nus.edu.sg/BIDD-Databases/TTD/TTD.asp>)是一个提供了已知或正在探索的可用作治疗的蛋白质靶点和核苷酸靶点的信息,以及与之相对应的靶疾病,靶通路和相应的药物/配体信息的数据库<sup>[17]</sup>。以“heart failure”为关键词进行搜索,收集与心力衰竭相关的蛋白。

**1.2 心力衰竭相关的蛋白互作网络构建** STRING 10.0 数据库 (<http://string-db.org>)是一个储存已知的和预测的蛋白质相互作用的数据库,包含蛋白质间直接的和间接的相互作用,它对每一个蛋白质相互作用信息都有一个打分值,打分值越高说明蛋白质的相互作用置信度越高<sup>[18]</sup>。将 TTD 中收集到的与心力衰竭相关的蛋白质名称输入到 STRING 10.0 数据库中进行检索,选取打分值高于 0.7 的高置信度蛋白质互作关系数据,将其导入 Cytoscape 3.4.0 (<http://www.cytoscape.org/>)构建心力衰竭相关的蛋白互作 (protein-protein interaction, PPI) 网络。Cytoscape 是一款开源的生物信息分析软件,用于构建由蛋白质、基因、药物等相互作用构成的分子交互网络,实现可视化浏览和分析<sup>[19]</sup>。

**1.3 附子-干姜药对活性成分的收集** 经过文献调研,选取附子、干姜中含有的 24 个活性成分为对象进行研究,通过 TCM Database<sup>®</sup> Taiwan ([• 213 •](http://tcm.</a></p></div><div data-bbox=)

cmu.edu.tw/zh-tw/)<sup>[20]</sup> 和 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)<sup>[21]</sup> 查找并导出 24 个活性成分三维化学结构数据。

**1.4 附子-干姜药对潜在靶点预测** PharmMapper Server (<http://59.78.96.61/pharmmapper/>) 是基于反向药效团匹配法的化学小分子潜在靶点和生物活性预测的服务器,通过对 Targetbank, Binding DB, Drugbank, PDTD 四大数据库进行快速检索获取药物靶点信息,使其预测结果更加可靠<sup>[22]</sup>。将 24 个活性成分的三维化学结构数据分别导入 PharmMapper Server,设置参数为不选择构象变化,选择人类数据库,设置最终产生 30 个蛋白构象,得到的结果导入 Cytoscape 3.4.0 构建活性成分-预测靶点网络。

**1.5 网络合并** 利用 Cytoscape 3.4.0 中 Merge 功能将附子-干姜药对活性成分-预测靶点网络与心力衰竭的 PPI 网络合并,看这两种网络是否存在交集,存在交集的蛋白质很有可能是附子-干姜药对活性成分治疗心力衰竭的潜在作用靶点。通过 Cytoscape 3.4.0 构建附子-干姜药对活性成分-潜在

靶点网络,进而系统地分析附子-干姜药对治疗心力衰竭的潜在作用靶点。

**1.6 KEGG 通路富集分析** 为了说明附子-干姜药对治疗心力衰竭的潜在作用靶点在信号通路中的作用,本研究采用 David v 6.7 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>)<sup>[23]</sup> 对附子-干姜药对活性成分-潜在靶点网络中的蛋白进行基于京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 的生物通路富集分析,并且利用 Cytoscape 3.4.0 对 KEGG 通路富集分析中的信号通路构建靶点-通路网络。

## 2 结果

**2.1 心力衰竭相关的 PPI 网络** TTD 中检索到 51 个与心力衰竭相关的一级蛋白(表 1),在 STRING 10.0 数据库中检索与其相互作用的二级蛋白,总共得到 299 个与心力衰竭相关的二级蛋白。心力衰竭相关的 PPI 网络(图 1)包含 350 个与心力衰竭相关的蛋白和 1 501 条与心力衰竭相关的蛋白质相互作用关系。

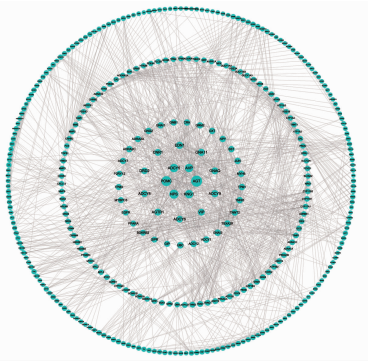
表 1 与心力衰竭相关的 51 个蛋白

Table 1 51 Proteins relating to heart failure

基因名称	蛋白名称	基因名称	蛋白名称
ACE	angiotensin-converting enzyme	MDK	midkine
ADORA1	adenosine receptor A1	MME	neprilysin
ADORA2A	adenosine receptor A2a	MMP-2	72 kDa type IV collagenase
ADRA1A	alpha-1A adrenergic receptor	MMP-3	stromelysin-1
ADRA1D	alpha-1D adrenergic receptor	MMP-9	matrix metalloproteinase-9
ADRA2A	alpha-2A adrenergic receptor	MYBPC	myosin-binding protein C, cardiac-type
ADRA2C	alpha-2C adrenergic receptor	NPR1	atrial natriuretic peptide receptor 1
ADRB1	beta-1 adrenergic receptor	NPR2	atrial natriuretic peptide receptor 2
AGTR1	type-1 angiotensin II receptor	NPR3	atrial natriuretic peptide receptor 3
ATP1A1	sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-1	NRG1	pro-neuregulin-1, membrane-bound isoform
ATP1A2	sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-2	OPRL1	nociceptin receptor
AVPR1A	vasopressin V1a receptor	PDE3A	cGMP-inhibited 3',5'-cyclic phosphodiesterase A
AVPR2	vasopressin V2 receptor	PDE4A	cAMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase 4A
CA2	carbonic anhydrase 2	PDE4B	cAMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase 4B
CHRM2	muscarinic acetylcholine receptor M2	PDE4D	cAMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase 4D
CMA1	chymase	PLN	cardiac phospholamban
CRHR2	corticotropin-releasing factor receptor 2	PPARA	Peroxisome proliferator-activated receptor alpha
CXCL12	stromal cell-derived factor 1	PTGER4	prostaglandin E2 receptor EP4 subtype
CYP11B1	cytochrome P450 11B1, mitochondrial	RYR1	ryanodine receptor 1
CYP11B2	cytochrome P450 11B2, mitochondrial	SCNN1A	amiloride-sensitive sodium channel subunit alpha
DBH	dopamine beta-hydroxylase	SLC12A1	solute carrier family 12 member 1
DRD2	D(2) dopamine receptor	SLC6A2	sodium-dependent noradrenaline transporter
EDN1	endothelin-1	TNNC1	troponin C, slow skeletal and cardiac muscles
GUCY1B3	guanylate cyclase soluble subunit beta-1	TNNT2	troponin T, cardiac muscle
HTR2B	5-hydroxytryptamine receptor 2B	XDH	xanthine dehydrogenase/oxidase
HTR4	5-hydroxytryptamine receptor 4		

**2.2 附子-干姜药对活性成分-预测靶点网络** 表 2 为附子-干姜药对中含有的 24 个活性成分基本信息,其中 16 个来自干姜,8 个来自附子。活性成分-

预测靶点网络(图 2)总共包括 188 个节点(24 个化合物节点和 164 个靶点节点),组成 594 条活性成分-预测靶点联系。



节点表示蛋白,节点的大小与节点的度值呈正比例关系

图 1 与心力衰竭相关的 PPI 网络

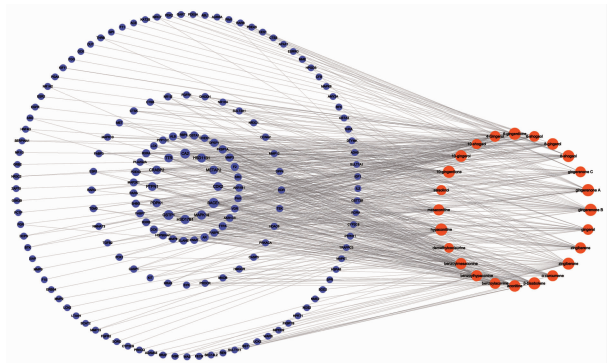
Fig. 1 PPI network relating to heart failure

表 2 附子-干姜药对 24 个活性成分基本信息

Table 2 Information for 24 active compounds of Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma

中文名称	英文名称	来源	来源数据库
10-姜酮	10-gingerdione	干姜	PubChem
10-姜辣素	10-gingerol	干姜	TCM Database@ Taiwan
10-姜烯酚	10-shogaol	干姜	PubChem
4-姜辣素	4-gingerol	干姜	TCM Database@ Taiwan
6-姜酮	6-gingerdione	干姜	PubChem
6-姜烯酚	6-shogaol	干姜	PubChem
8-姜辣素	8-gingerol	干姜	TCM Database@ Taiwan
8-姜烯酚	8-shogaol	干姜	PubChem
姜烯酮 C	gingerone C	干姜	TCM Database@ Taiwan
姜烯酮 A	gingerone A	干姜	PubChem
姜烯酮 B	gingerone B	干姜	PubChem
姜辣素	gingerol	干姜	TCM Database@ Taiwan
姜烯	zingiberene	干姜	TCM Database@ Taiwan
姜酮	zingiberone	干姜	PubChem
α-姜黄烯	α-curcumene	干姜	PubChem
β-没药烯	β-bisabolene	干姜	PubChem
乌头碱	aconitine	附子	PubChem
苯甲酰乌头原碱	benzoylaconine	附子	PubChem
苯甲酰次乌头原碱	benzoylhypaconine	附子	PubChem
苯甲酰新乌头原碱	benzoylmesaconine	附子	PubChem
去甲乌药碱	demethylcoclaurine	附子	PubChem
次乌头碱	hypaconitine	附子	PubChem
新乌头碱	mesaconitine	附子	PubChem
去甲猪毛菜碱	salsolinol	附子	PubChem

2.3 与心力衰竭相关的附子-干姜药对活性成分-潜在靶点网络 将附子-干姜药对活性成分-预测靶点网络和与心力衰竭相关的 PPI 网络合并,从网络中删除没有交集的蛋白,直观得到附子-干姜药对中活性成分治疗心力衰竭的潜在靶点。节点间的连接原则为当附子-干姜药对中活性成分作用靶点与心力衰竭靶点相同时,则将活性成分与心力衰竭联系起来,相同的靶点则为附子-干姜药对中活性成分治疗心力衰竭的潜在靶点。与心力衰竭相关的附子-干姜药对活性成分-潜在靶点网络如图 3 所示。运



橙色表示活性成分,蓝色表示预测靶点,节点的大小与节点的度值呈正比例关系(图 3,4 同)

图 2 附子-干姜药对活性成分-预测靶点网络

Fig. 2 Active compound-predicted target network of Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma

用 Cytoscape 中的 Network Analysis-Analyze Network 对上述网络模型进行分析,得到网络中的潜在靶点的度值(Degree),靶点的度值表示附子-干姜药对活性成分可能作用于该靶点的个数。Degree 越大,附子-干姜药对活性成分通过该靶点发挥作用的可能性就越大。与心力衰竭相关的附子-干姜药对活性成分-潜在靶点的度值见表 3。与心力衰竭相关的附子-干姜药对活性成分-潜在靶点网络总共包括 47 个节点(24 个化合物节点和 23 个靶点节点),组成

表 3 与心力衰竭相关的附子-干姜药对活性成分的潜在靶点

Table 3 Potential targets of Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma

基因名称	蛋白名称	度
CA2	carbonic anhydrase 2	17
HSD11B1	corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1	13
MMP-3	stromelysin-1	9
FKBP1A	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP1A	9
PDE4D	cAMP-specific 3,5-cyclic phosphodiesterase 4D	9
HSP90AA1	heat shock protein HSP 90-alpha	8
SRC	proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	5
PRKACA	cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit alpha	3
MAOB	amine oxidase [flavin-containing] B	3
PGR	progesterone receptor	2
PDE4B	cAMP-specific 3,5-cyclic phosphodiesterase 4B	2
MME	neprilysin	2
REN	renin	2
EGFR	epidermal growth factor receptor	1
ACE	angiotensin-converting enzyme	1
PDE5A	cGMP-specific 3,5-cyclic phosphodiesterase	1
MAPK8	mitogen-activated protein kinase 8	1
MAPK1	mitogen-activated protein kinase 1	1
HPRT1	hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase	1
FKBP1B	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP1B	1
MMP-2	72 kDa type IV collagenase	1
ERBB4	receptor tyrosine-protein kinase erbB-4	1
MMP-9	matrix metalloproteinase-9	1

94 条活性成分-潜在靶点联系。23 个靶点分别为碳酸酐酶 2 (CA2), 11- $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶 1 (HSD11B1), 基质溶素-1 (MMP-3), 肽基脯氨酰顺反异构酶 FKBP1A (FKBP1A), 磷酸二酯酶 4D (PDE4D), 热休克蛋白 90 $\alpha$ (HSP90AA1), 酪氨酸蛋白激酶 Src (SRC), cAMP 依赖性蛋白激酶催化亚基  $\alpha$  (PRKACA), 胺氧化酶 [含黄素] B (MAOB), 孕激素受体 (PGR), 磷酸二酯酶 4B (PDE4B), 脑啡肽酶 (MME), 肾素 (REN), 表皮生长因子受体 (EGFR), 血管紧张素转化酶 (ACE), 磷酸二酯酶 5A (PDE5A), 丝裂原活化蛋白激酶 8 (MAPK8), 丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1), 次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶 (HPRT1), 肽基脯氨酰顺反异构酶 FKBP1B (FKBP1B), 72 kDa IV 型胶原酶 (MMP-2), 受体酪氨酸蛋白激酶 erbB-4 (ERBB4), 基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)。与心力衰竭相关的附子-干姜药对活性成分-潜在靶点网络中靶点 Degree 均值为 4.09, 共有 7 个蛋白的 Degree  $\geq 5$ , 意味着它们很可能是附子-干姜药对活性成分发挥作用的潜在靶点。

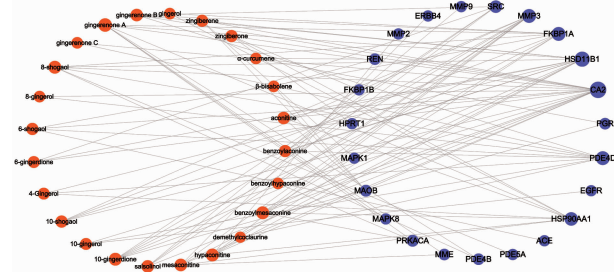


图 3 与心力衰竭相关的附子-干姜药对活性成分-潜在靶点网络  
Fig. 3 Active compound-potential target network of Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma

**2.4 KEGG 通路富集分析** 利用 DAVID 平台的 KEGG 通路富集分析功能, 对与心力衰竭相关的附子-干姜药对活性成分-潜在靶点网络中涉及的 23 个蛋白在信号通路中的作用进行研究, 得到 19 条信号通路, 根据  $P < 0.01$  筛选出 7 条 (表 4, 图 4)。其中, 内分泌调节相关信号通路有 3 条, 包括 GnRH 信号通路 (GnRH signaling pathway), 黄体酮介导的卵母细胞成熟 (progesterone-mediated oocyte maturation) 和肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system)。肿瘤相关信号通路有 2 条, 包括膀胱癌 (bladder cancer) 和肿瘤信号通路 (pathways in cancer)。信号转导相关信号通路为 ErbB 信号通路 (ErbB signaling pathway)。真核生物细胞群落相关信号通路为细胞间隙连接 (Gap junction)。

表 4 与心力衰竭相关的附子-干姜药对潜在靶点富集的通路 ( $P < 0.01$ )

Table 4 List of pathway enrichment results to potential target ( $P < 0.01$ )

编号	通路名称	基因数	P
hsa04912	GnRH signaling pathway	6	$2.25281 \times 10^{-5}$
hsa04914	progesterone-mediated oocyte maturation	5	0.000243549
hsa04012	ErbB signaling pathway	5	0.000254680
hsa05219	bladder cancer	4	0.000463192
hsa04614	renin-angiotensin system	3	0.001739967
hsa04540	Gap junction	4	0.004100354
hsa05200	pathways in cancer	6	0.005933372

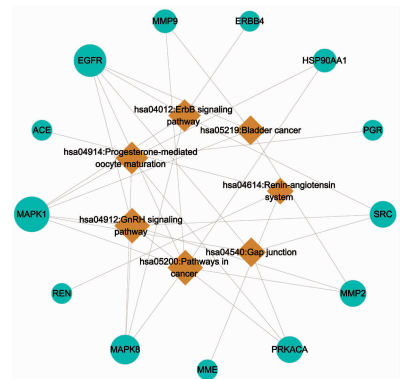


图 4 与心力衰竭相关的附子-干姜药对潜在靶点-通路网络 ( $P < 0.01$ )

Fig. 4 Potential target-pathway network ( $P < 0.01$ )

### 3 讨论

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一组复杂临床综合征, 为心脏疾病的终末阶段<sup>[24]</sup>。心衰致死、致残率高, 医疗花费高, 目前患病率及住院率不断上升, 已成为全球重大的公共卫生问题之一<sup>[25]</sup>。附子主要药理作用为强心、抗心律失常、扩张血管、镇痛、抗炎、抗肿瘤<sup>[26]</sup>, 对多种急、重症疗效独特<sup>[27]</sup>。干姜具有抗氧化、解热抗炎、抗病原体、保肝利胆、抗肿瘤、抗溃疡、改善局部血液循环等药理作用<sup>[28]</sup>。现代对于附子、干姜配伍的研究表明, 二者配伍后在增强心肌收缩力、扩张冠脉、增加心肌血流量、改善微循环等方面具有明显的增效减毒作用<sup>[29]</sup>, 附子干姜配伍有明显的抗心衰作用<sup>[11]</sup>。本研究构建心力衰竭相关的 PPI 网络, 构建附子-干姜药对活性成分-预测靶点网络, 构建与心力衰竭相关的附子-干姜药对活性成分-潜在靶点网络, 进而系统地分析附子-干姜药对治疗心力衰竭的作用机制。

与心力衰竭相关的附子-干姜药对活性成分-潜在靶点网络包含 23 个靶点, 分别为 CA2, HSD11B1, MMP-3, FKBP12, PDE4D, HSP90AA1, SRC,

PRKACA, MAOB, PGR, PDE4B, MME, REN, EGFR, ACE, PDE5A, MAPK8, MAPK1, HPRT1, FKBP12.6, MMP-2, ERBB4, MMP-9。其中, Degree 大于均值的关键靶点为 CA2, HSD11B1, MMP3, FKBP12, PDE4D, HSP90AA1, SRC, 推测附子-干姜药对有效成分可能通过这些靶点发挥作用。CA2 是人  $\alpha$  碳酸酐酶的 14 种形式之一。CA 是金属酶家族的成员, 它催化二氧化碳和水快速转化为碳酸氢盐和质子, 并在生化和生理过程中起重要作用<sup>[30]</sup>。病理性心脏肥大和适应不良性心肌重塑往往进展为心力衰竭, 而 CA2 可以促进心肌细胞肥大<sup>[31]</sup>。心肌 CA 活性在人类糖尿病性缺血性心脏病中明显升高, 可能为糖尿病心力衰竭的靶向治疗开辟新途径<sup>[32]</sup>。因此, 推断附子-干姜药对治疗心力衰竭的作用机制可能与其抑制 CA2 的表达有关。HSD11B1 是糖皮质激素代谢关键酶, 广泛分布于肝脏、脂肪、肺部、脑部和肌肉, 调节皮质醇/皮质酮转化<sup>[33-34]</sup>。HSD11B1 在心肌细胞或血管平滑肌细胞以外的细胞中表达, 限制血管生成, 并促进心肌梗死后不良心室重塑的梗塞扩张。HSD11B1 的早期药理学抑制可能提供一种新的预防与缺血性心脏病相关的心力衰竭的治疗方法<sup>[35]</sup>。因此, 推断附子-干姜药对治疗心力衰竭的作用机制可能与其抑制 HSD11B1 在心肌细胞或血管平滑肌以外的细胞中的表达有关。心室重构是决定心脏病患者心功能及其预后的主要因素之一, 是心脏基质成分合成或降解代谢失衡的结果。基质组织修复再生引起心肌纤维化和进行性心室扩张, 最终导致心力衰竭<sup>[36]</sup>。MMPs 是一组能特异地降解细胞外基质成分的  $Zn^{2+}$  依赖的酶家族, 能溶解纤维胶原, 在组织重构中起重要作用<sup>[37]</sup>。针对 MMP 的研究表明, 心力衰竭程度越严重, 其相应的 MMP-2, 3, 9 蛋白的表达就会随之增加<sup>[38]</sup>。MMP-2, MMP-9 是由血管壁细胞所分泌的明胶酶, 其可降解心肌细胞外基质膜中的间质蛋白及 IV 胶原, 从而引起心肌基质胶原网发生破坏, 此时被破坏的胶原网可释放大量的肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、白细胞介素等生物活性物质, 引起心肌重构, 发生心功能衰竭变化<sup>[39]</sup>。而 MMP-3 是通过对胶原降解的方式来激活 MMPs, 进而参与到心肌重构的过程, MMP-3 蛋白表达增加时会导致 MMP-2, MMP-9 蛋白的增加, 从而促使心肌细胞的外基质降解增加, 最终使心肌组织遭受破坏, 影响心肌收缩等<sup>[38]</sup>。因此, 推断附子-干姜药对可能通过抑制 MMP-2, 3, 9 蛋白的表达起到治疗心力衰竭的作用。FK506 结合蛋白 (FKBPs) 是一个能

够与免疫抑制药物他克莫司 (FK506) 和雷帕霉素结合的蛋白家族, 其家族成员 FK506 结合蛋白 12 (FKBP12) 和 FKBP12.6 普遍表达于哺乳动物各种组织和细胞, 而以心肌细胞含量最多。心肌肌浆网兰尼碱受体 2 (RyR2) 调节功能障碍与心力衰竭中的收缩功能障碍密切相关, FKBP12/12.6 作为 RyR2 的关键调控蛋白, 在稳定 RyR2 的结构及维持其功能的过程中具有重要作用<sup>[40]</sup>。因此, 推断附子-干姜药对可能通过调控 FKBP12/12.6 与 RyR2 通道之间的相互作用, 对心力衰竭的发生、发展起到治疗作用。环磷酸腺苷 (cAMP) 和环磷酸鸟苷 (cGMP) 是细胞内重要的第二信使, 主要通过激活蛋白激酶 A (PKA) 和蛋白激酶 G (PKG) 途径参与能量代谢、记忆、免疫反应、视觉及嗅觉形成等生理活动<sup>[41]</sup>。磷酸二酯酶 (PDEs) 降解 cAMP 和 cGMP, 从而调节心脏和血管平滑肌功能的多个方面<sup>[42]</sup>。磷酸二酯酶 4D (PDE4D), PDE4B, PDE5A 均属于 PDE 家族。PDE4 对 cAMP 具有高度特异性, 有 4 种亚型: PDE4A, PDE4B, PDE4C 和 PDE4D。在对心衰的人类心肌 RyR2 复合体的含量测定中发现, PDE4D 基因在心肌组织中表达的亚型 PDE4D3 较正常组含量减少了 43%, PDE4D3 水解 cAMP 的活性降低了 42%, 这样就导致 PKA 过度磷酸化及 RyR2 信号通路泄露, 进而诱发心功能障碍和心律失常的发生<sup>[43]</sup>。心肌细胞肥大会增加心力衰竭和心律失常的风险。因此已经提出预防或逆转适应不良的心肌细胞肥大表型以治疗心力衰竭。PDE4D 上游保守区域 1 的 PDE4 激活通过特异性抑制核 PKA 活性来减弱心肌细胞肥大<sup>[44]</sup>。PDE5 可以特异性水解 cGMP, 只有 1 种亚型 PDE5A。cGMP 水平升高已被证明可以在各种心血管疾病中发挥心脏保护作用<sup>[45]</sup>。PDE5 抑制剂的心血管保护作用通过增加细胞 cGMP 水平来实现<sup>[46]</sup>。对于心力衰竭患者, PDE5 抑制剂可缓解临床症状, 改善血流动力学参数<sup>[47]</sup>。因此, 推断附子-干姜药对治疗心力衰竭的作用机制可能与其调控 PDE4D, PDE4B, PDE5A 的表达有关。HSP90AA1 属于 HSP90 家族。病理性心脏重构出现左心室质量的增加和过度的细胞外基质沉积, 随着时间的推移可导致心力衰竭衰竭。转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 是控制该过程的主要细胞因子, 而分子伴侣 Hsp90 通过稳定 TGF- $\beta$  信号级联在 TGF- $\beta$  信号转导中发挥关键作用<sup>[48]</sup>。因此, 推断附子-干姜药对治疗心力衰竭的作用机制可能与其调控 HSP90AA1 的表达有关。

在基因的 KEGG 通路富集中,筛选得到 7 条信号通路,其中内分泌调节相关信号通路包括 GnRH 信号通路、黄体酮介导的卵母细胞成熟和肾素-血管紧张素系统;肿瘤相关信号通路包括膀胱癌和肿瘤信号通路;信号转导相关信号通路为 ErbB 信号通路;真核生物细胞群落相关信号通路为细胞间隙连接。因此,推测附子-干姜药对活性成分可能通过作用于这些信号通路中的关键因子达到治疗心力衰竭的目的。肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)在机体内广泛存在,分布于血管壁、心脏、肾脏和肾上腺等组织中,主要由肾素、血管紧张素原、血管紧张素转化酶、血管紧张素 I, II, III 等及其受体组成,具有调节血管收缩和维持内环境稳态的作用<sup>[49]</sup>。在心力衰竭时神经、体液、内分泌系统发生一系列改变,包括 RAS 激活,参与心脏前后负荷的形成,使心力衰竭进一步恶化<sup>[9]</sup>。由于 RAS 激活在心血管疾病中起关键作用,故以 RAS 为药物作用靶点来减少心血管疾病危险性的思路是合理的。美国和欧洲的指南指出血管紧张素转化酶抑制剂和  $\beta$  受体阻滞剂是心力衰竭治疗的基石<sup>[50]</sup>。已有研究表明,附子干姜组分配伍对急性心衰阳虚衰证大鼠 RAS 具有调控作用<sup>[9]</sup>,且附子水溶性生物碱对心衰所致的 RAS 活性增高具有一定的抑制效果<sup>[51]</sup>。由此可见,本研究预测结果具有一定的准确性,然而,附子-干姜药对活性成分调控其他 6 条信号通路对心力衰竭发挥治疗作用的相关报道较少,值得进一步深入研究。

综上所述,本研究应用网络药理学方法,对附子-干姜药对治疗心力衰竭多成分、多靶点、多途径的复杂网状关系进行研究。研究结果初步验证和预测了附子-干姜药对治疗心力衰竭的分子机制,为进一步深入探讨其作用机制提供了先导信息和基础,也为研究成分更为复杂的中药复方作用机制提供了借鉴。

#### [参考文献]

[1] 李贵海,涂晓龙. 常用中药药对分析与应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:546.  
[2] 彭成. 中药药理学[M]. 4 版. 北京:中国中医药出版社,2016:207-208.  
[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:14-15,191-193.  
[4] 张冰. 临床中医学[M]. 北京:中国中医药出版社,2012:288.  
[5] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014[J].

中华心血管病杂志,2014,42(2):98-122.

[6] 展海霞,彭成. 附子与干姜配伍对心衰大鼠血流动力学的影响[J]. 中药药理与临床,2006,22(1):42-44.  
[7] 唐劲松. 附子、干姜组分配伍治疗心力衰竭作用机理研究[D]. 成都:成都中医药大学,2008.  
[8] 曾代文,彭成,余成浩,等. 附子干姜组分配伍对急性心衰阳虚证大鼠血流动力学的影响[J]. 中药药理与临床,2011,27(5):93-96.  
[9] 曾代文,彭成,余成浩,等. 附子与干姜组分配伍对急性心衰阳虚证大鼠血浆肾素-血管紧张素-醛固酮系统的影响[J]. 中药药理与临床,2011,27(4):5-7.  
[10] 吕莹,张栋,张超,等. 附子与干姜不同比例配伍对急性心衰大鼠神经激素释放的影响[J]. 吉林中医药,2014,34(12):1280-1283.  
[11] 梁涛,耿姗,周玲玲,等. 附子及附子干姜配伍对心衰大鼠血流动力学和 cAMP-PKA 信号转导通路的影响[J]. 中国老年学杂志,2015,35(19):5392-5394.  
[12] 刘鑫馗,吴嘉瑞,蔺梦娟,等. 基于网络药理学的四君子汤作用机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(16):194-202.  
[13] 韩彦琪,孟凡琴,许凌,等. 基于网络药理学方法的元胡止痛滴丸治疗原发性痛经的配伍合理性研究[J]. 中草药,2017,48(3):526-532.  
[14] 吴嘉瑞,金燕萍,王凯欢,等. 基于网络药理学的“金银花-连翘”药对作用机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(5):179-183.  
[15] 高宁,李天聪,程玉鹏,等. 龙胆胆环环醚萜类有效成分作用机理的网络药理学研究[J]. 化学工程师,2017(1):14-16,26.  
[16] LI W W, YUAN G Q, PAN Y X, et al. Network pharmacology studies on the bioactive compounds and action mechanisms of natural products for the treatment of diabetes mellitus: a review [J]. Front Pharmacol, 2017,8(74):15-24.  
[17] 刘鑫馗,吴嘉瑞,张丹,等. 基于网络药理学的参附汤作用机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(16):211-218.  
[18] 任真真,张燕玲,王星,等. 三七皂苷类成分的蛋白质相互作用网络分析[J]. 中国中药杂志,2014,39(11):2097-2101.  
[19] 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.  
[20] CHEN C Y. TCM Database @ Taiwan: the world's largest traditional Chinese medicine database for drug screening in silico [J]. PLoS One, 2011,6(1):e15939.  
[21] WANG Y, XIAO J, Suzek T O, et al. PubChem: a public information system for analyzing bioactivities of small molecules [J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37 ( Web

- Server issue): 623-633.
- [22] LIU X, OUYANG S, YU B, et al. PharmMapper server: a web server for potential drug target identification using pharmacophore mapping approach [J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38 (Web Server issue): 609-614.
- [23] HUANG D W, Sherman B T, Lempicki R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID Bioinformatics Resources [J]. *Nature Protoc*, 2009, 4 (1): 44-57.
- [24] 杨永健. 心力衰竭治疗进展述评[J]. *西部医学*, 2016, 28(3): 297-299, 303.
- [25] 张健, 王运红. 心力衰竭药物治疗的新进展[J]. *中国循环杂志*, 2016, 31(2): 105-107.
- [26] 赫媛媛, 钱旭. 基于文献的附子药理作用再评价[J]. *西部中医药*, 2016, 29(9): 84-88.
- [27] 陈荣昌, 孙桂波, 张强, 等. 附子及其复方中药的药理作用研究进展[J]. *中草药*, 2014, 45(6): 883-888.
- [28] 王文心. 干姜的化学、药理及临床应用特点分析[J]. *中医临床研究*, 2016, 8(6): 146-148.
- [29] 黄颖, 武乾, 石晓路, 等. 附子、干姜配伍机制现代研究概述[J]. *中华中医药学刊*, 2013, 31(9): 1884-1886.
- [30] Kocyigit U M, Aslan O N, Gulcin I, et al. Synthesis and carbonic anhydrase inhibition of novel 2-(4-(Aryl)thiazole-2-yl)-3a, 4, 7, 7a-tetrahydro-1H-4, 7-methanoisindole-1,3(2H)-dione derivatives[J]. *Arch Pharm (Weinheim)*, 2016, 349(12): 955-963.
- [31] Brown B F, Quon A, Dyck J R, et al. Carbonic anhydrase II promotes cardiomyocyte hypertrophy [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2012, 90(12): 1599-1610.
- [32] Torella D, Ellison G M, Torella M, et al. Carbonic anhydrase activation is associated with worsened pathological remodeling in human ischemic diabetic cardiomyopathy [J]. *J Am Heart Assoc*, 2014, 3(2): e000434.
- [33] 张博, 方险峰, 安永涛. 雷公藤多苷对狼疮鼠肝肾组织中 $11\beta$ -羟基类固醇脱氢酶的影响[J]. *中国麻风皮肤病杂志*, 2016, 32(5): 257-259.
- [34] 邹显彤, 纪立农.  $11\beta$ -羟基类固醇脱氢酶1型在代谢综合征中的作用[J]. *中国糖尿病杂志*, 2015, 23(4): 378-380.
- [35] White C I, Jansen M A, McGregor K, et al. Cardiomyocyte and vascular smooth muscle-independent  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase 1 amplifies infarct expansion, hypertrophy, and the development of heart failure after myocardial infarction in male mice [J]. *Endocrinology*, 2016, 157(1): 346-357.
- [36] 吴伟东, 侯文进, 刘丹, 等. MMP-3、MMP-9 和 TIMP-1 的动态平衡可作为心肌基质重构的重要标志[J]. *分子影像学杂志*, 2015, 38(2): 84-88.
- [37] 张冰, 马金国, 吴刚, 等. 普罗布考对心衰大鼠心肌 MMP-3、TIMP-3 及 OPN 表达的影响[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2015, 49(2): 115-120.
- [38] 陈良才, 郑理玲, 陈宏伟. 心力衰竭患者心肌组织 p38 MAPK, MMP-2、3、9, FN 表达与心肌重构的关系[J]. *临床合理用药杂志*, 2017, 10(4A): 117-118.
- [39] 何国强, 张和平, 姚康康, 等. 慢性心力衰竭患者肺部感染血清 MMPs 的变化研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2016, 26(17): 3915-3917.
- [40] 冯霞, 吕嵘. FKBP12/12.6 调控心肌兰尼碱受体的研究进展[J]. *国际心血管病杂志*, 2012, 39(6): 333-335.
- [41] 陈昌亮, 黄爽. 磷酸二酯酶及其抑制剂的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2014, 30(2): 283-286.
- [42] Bobin P, Belacel-Ouari M, Bedioune I, et al. Cyclic nucleotide phosphodiesterases in heart and vessels: A therapeutic perspective [J]. *Arch Cardiovasc Dis*, 2016, 109(6-7): 431-443.
- [43] 李中燕, 汤宇, 田艳, 等. 磷酸二酯酶4在心脏疾病中作用的研究进展[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2013, 27(6): 1025-1028.
- [44] WANG L, Burmeister B T, Johnson K R, et al. UCR1C is a novel activator of phosphodiesterase 4 (PDE4) long isoforms and attenuates cardiomyocyte hypertrophy [J]. *Cell Signal*, 2015, 27(5): 908-922.
- [45] Máttyás C, Németh B T, Oláh A, et al. Prevention of the development of heart failure with preserved ejection fraction by the phosphodiesterase-5A inhibitor vardenafil in rats with type 2 diabetes [J]. *Eur J Heart Fail*, 2017, 19(3): 326-336.
- [46] 李娜. PDE5 抑制剂 Sildenafil 对心梗后心衰线粒体能量代谢保护及机制研究[D]. 北京: 第四军医大学, 2015: 5.
- [47] 黄震华. 磷酸二酯酶5抑制剂在心血管疾病治疗中的应用[J]. *中国新药与临床杂志*, 2015, 34(6): 409-412.
- [48] García R, Merino D, Gómez J M, et al. Extracellular heat shock protein 90 binding to TGF- $\beta$  receptor I participates in TGF- $\beta$ -mediated collagen production in myocardial fibroblasts [J]. *Cell Signal*, 2016, 28(10): 1563-1579.
- [49] 闫斌, 田国庆. 肾素-血管紧张素系统与糖尿病认知障碍的关系及中药的影响[J]. *中国康复理论与实践*, 2017, 23(3): 270-273.
- [50] 韩凌, 唐朝枢. 肾素-血管紧张素系统在心力衰竭中的作用[J]. *心血管病学进展*, 2013, 34(2): 177-181.
- [51] 贺抒, 戴鸥, 刘建林, 等. 附子水溶性生物碱治疗急性心力衰竭的研究[J]. *中药药理与临床*, 2014, 30(2): 89-92.

[责任编辑 邹晓翠]