

基于网络药理学探讨黄连温胆汤治疗心律失常的机制

陈智勇, 车驰, 王晓琳, 黄婉清, 李林*, 徐丽丽*

江西中医药大学, 江西 南昌 330006

摘要: 目的 通过网络药理学探讨黄连温胆汤治疗心律失常的机制。方法 通过 TCMSP 平台收集黄连温胆汤相关药物的有效成分及作用靶点; 经过 UniProt 获取标准蛋白名并转换靶点基因名; 使用 DIGSEE、OMIN、Drugbank 等数据库收集心律失常疾病基因靶点, 合并后去重与复方中药靶点取交集; 使用 String 数据库绘制蛋白相互作用 (PPI) 网络, 使用 Cytoscape 3.9.1 经过拓扑分析获取核心靶点; 使用 R 语言进行京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 及基因本体 (GO) 富集分析并对排名靠前的通路进行可视化处理; 对 KEGG 排名靠前的通路使用 Cytoscape 3.9.1 构建中药成分 - 靶点 - 通路图。结果 通过拓扑分析得到表皮生长因子受体 (EGFR)、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)1、MAPK3、信号转导和转录激活因子 3 (STAT3)、CAMP 反应性元素结合蛋白 1 (CREB1)、雌激素受体 (ESR1) 等 19 个核心靶点; 通过 KEGG 富集分析共得到 186 条信号通路, 黄连温胆汤可能通过晚期糖基化终产物及其受体 (AGE-RAGE)、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K) / 蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、MAPK 等信号通路对心律失常起治疗作用。结论 黄连温胆汤可通过多种目标基因、分子通路治疗心律失常。

关键词: 黄连温胆汤; 心律失常; 网络药理学; 靶点; 信号通路; 作用机制

中图分类号: R972 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2022)08-1718-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.08.006

Mechanism of Huanglian Wendan Decoction in treatment of arrhythmia based on network pharmacology

CHEN Zhi-yong, CHE Chi, WANG Xiao-lin, HUANG Wan-qing, LI lin, XU Li-li

Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of Huanglian Wendan Decoction in treatment of arrhythmia based on network pharmacology. **Methods** The effective components and targets of Huanglian Wendan Decoction were collected by TCMSP platform. The standard protein name was obtained by UniProt and the target gene name was converted. The gene targets of arrhythmia were collected by DIGSEE, OMIN, Drugbank, and other databases. PPI protein interaction network was drawn using String database, and the core target was obtained using Cytoscape 3.9.1 through topological analysis. KEGG and GO enrichment analysis was performed using R language, and the top-ranked pathways were visualized. Cytoscape 3.9.1 was used to construct TCM component-target-pathway map for pathways with high KEGG ranking. **Results** 19 Core targets including EGFR, MAPK1, MAPK3, STAT3, CREB1, and ESR1 were obtained. A total of 186 signaling pathways were obtained through KEGG enrichment analysis. Huanglian Wendan Decoction may have therapeutic effects on arrhythmia through AGE-RAGE, PI3K-Akt, and MAPK and other signaling pathways. **Conclusion** Huanglian Wendan Decoction can treat arrhythmia through multiple target gene and molecular pathways.

Key word: Huanglian Wendan Decoction; arrhythmia; network pharmacology; target; pathway signaling; mechanism

心律失常是由于心脏电生理活动的起源和(或)传导障碍导致心脏搏动的频率和(或)节律异常, 多由各类心脏疾病所引起, 症状轻者无明显临床表

现, 典型表现为心悸、胸闷, 严重者可出现晕厥, 甚至猝死^[1]。黄连温胆汤出自《六因条辩》, 由黄连、半夏、竹茹、枳实、陈皮、茯苓、甘草、生姜、大

收稿日期: 2022-04-21

基金项目: 江西省自然科学基金资助项目 (2020BABL206141); 国家自然科学基金项目 (81960820); 全国中医药创新骨干人才[国中医药人教函 (2019) 128 号]; 江西省中医药中青年骨干人才[赣中医药科数字 (2020) 2 号]

作者简介: 陈智勇 (1996—), 男, 硕士研究生, 主要从事中医对心血管疾病的临床研究。E-mail: 2650571431@qq.com

*通信作者: 李林 (1982—), 男, 副教授, 博士, 主要从事中医对心血管疾病的临床研究。E-mail: lilin330000@126.com

徐丽丽, 女, 研究方向为护理学。E-mail: lilin330000@126.com

枣等组成，具有清热化痰、宁心安神的功效，适用于治疗痰热扰心型心律失常。网络药理学是基于人工智能和大数据的药物系统研究中的一门新兴交叉学科，强调从整体系统层面和生物网络层面分析药物与治疗对象之间的分子关联，以药物研究为重点，为基于复杂系统的中医药研究提供新的思路。而随着研究的深入，网络药理学的研究范式从“一药一靶点”的模式发展为“多成分-多靶点网络”，揭示药物-基因-疾病共模的关联性，以高通量方式从草药配方中筛选协同多化合物，并解释草药配方的组合规则和网络调节效应，为中医从经验医学向循证医学体系的转化提供新的研究范式^[2-4]。

本研究旨在基于网络药理学，建立“黄连温胆汤-药物靶点-心律失常基因”模型探讨黄连温胆汤治疗心律失常的可能机制，为临床心律失常的治疗提供理论基础，以期为心律失常的治疗提供新方向。

1 材料与方法

1.1 黄连温胆汤有效成分、作用靶点的收集

通过中药系统药理数据库与分析平台（TCMSP, <https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>）收集黄连温胆汤主要成分的有效成分，以药物吸收度（OB \geqslant 30%）及类药性（DL \geqslant 0.18）为度值进行筛选；对TCMSP未收录的中药，通过检索其他数据库及文献查找等方式补充有效成分后使用SwissDrugDesign (<http://swisstargetprediction.ch/>) 进行吸收、分布、代谢、排泄（ADME）分析筛选^[5]；将筛选后的成分与TCMSP未收录作用靶点的有效成分通过pharmmapper平台（<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>）进行靶点预测后进行筛选^[6]。通过UniProt数据库^[7] (<https://www.uniprot.org/>) 对获得的靶点信息进行规范化处理并获得标准基因名，将数据导入Cytoscape 3.9.1^[8]并绘制复方中药-靶点作用图。

1.2 心律失常疾病靶点的收集

以“cardiac arrhythmia”“arrhythmia”为关键词对DIGSEE数据库 (<http://210.107.182.61/geneSearch/>)^[9]、OMIM数据库 (<https://www.omim.org/>)^[10]、Drugbank数据库 (<https://go.drugbank.com/>)^[11]、Genecard数据库 (<https://www.genecards.org/>)^[12]、TTD数据库 (<http://db.idrblab.net/ttd/>)^[13]、Disgenet数据库 (<https://www.disgenet.org/>)^[14]及NCBI Gene数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>) 进行检索，对检索得到的数据进行筛选、合并后去重。

1.3 获取黄连温胆汤-心律失常交集基因

使用Venny 2.1在线平台 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) 对中药复方作用靶点基因及心律失常疾病基因取交集，获得黄连温胆汤-心律失常共同靶点基因。

1.4 绘制蛋白相互作用（PPI）网络

将上一步得到的共有基因靶点上传至String数据库^[15] (<https://cn.string-db.org/>)，绘制PPI网络，下载网络使用Cytoscape 3.9.1进行cytoNCA分析后使用Rx64 version 4.1.2进行拓扑分析，获得核心靶点。

1.5 信号通路富集分析

利用Bioconductor数据库Rx64 version 4.1.2对核心靶点进行京都基因与基因组百科全书（KEGG）及基因本体（GO）富集分析，对P值排名靠前的通路进行可视化分析。使用Cytoscape 3.9.1对排名靠前的KEGG通路绘制成分-靶点-通路图。

2 结果

2.1 黄连温胆汤活性成分、作用靶点的获取

通过检索TCMSP数据库获得黄连温胆汤各味中药的成分；竹茹未被TCMSP数据库收录，通过检索TCMID (<https://ngdc.cncb.ac.cn/databasecommons/database/id/437>)^[16]和ETCM (<http://www.tcmip.cn/ETCM/>)^[17]数据库及查阅文献^[18-19]进行补充，共获得23种成分（表1），使用Chemdraw 19.1绘制有效成分结构图，上传至SwissDrugDesign平台，进行毒药物动力学（ADME）分析，以胃肠吸收度为“High”及类药性类别中有2个以上的“Yes”为筛选条件，共筛选出9种有效成分。在PharmMapper数据库对TCMSP数据库中未检作用靶点的有效成分及筛选出来的竹茹有效成分进行靶点预测，以“Norm Fit” \geqslant 0.8为度进行筛选。共获得作用靶点黄连55个、茯苓76个、大枣70个、生姜31个、枳实60个、竹茹57个。

2.2 中药成分-靶点作用图构建

通过UniProt数据库对中药复方作用靶点蛋白名称进行规范化处理、转化标准基因名，将中药有效成分、作用靶点及基因名上传Cytoscape 3.9.1，并绘制中药成分-靶点作用图，其中共有563个节点、3229条边（图1）。

2.3 心律失常疾病靶点的获取

以“cardiac arrhythmia”“arrhythmia”为关键词，检索Digsee数据库、OMIM数据库、Drugbank数据库、Genecard数据库、TTD数据库、Gisnet数

表 1 黄连温胆汤有效成分

Table 1 Active ingredients in Huanglian Wendan Decoction

编号	成分	中文名	来源
A1	beta-sitosterol	β-谷甾醇	半夏、大枣、生姜
A2	stigmasterol	豆甾醇	半夏、大枣、生姜
C1	sitosterol	谷甾醇	陈皮、甘草
C2	5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)chroman-4-one	橙皮素	陈皮、枳实
C3	nobiletin	川皮苷	陈皮、枳实
D1	berberine	黄连素	大枣、黄连
D2	mairin	白桦脂酸	大枣、甘草
D3	quercetin	槲皮素	大枣、甘草、黄连
D4	moupinamide	N-反式阿魏酰酷胺	大枣、黄连
B2	naringenin	柚皮素	陈皮、甘草、枳实
E1	licoricone	甘草利酮	甘草、竹茹
F1	obacunone	黄柏酮	黄连、枳实
HL1	berberrubine	小檗红碱	黄连
HL2	epiberberine	表小檗碱	黄连
HL3	(R)-canadine	四氢小檗碱	黄连
HL4	berlambine	小檗浸碱	黄连
HL5	corchoroside A_qt		黄连
HL6	magnograndiolide	木兰内酯	黄连
HL7	palmidin A	棕榈素 A	黄连
HL8	palmatine	黄藤素	黄连
HL9	coptisine	黄连碱	黄连
HL10	worenine	甲基黄连碱	黄连
BX1	24-ethylcholest-4-en-3-one		半夏
BX2	cavidine	卡维丁	半夏
BX3	baicalein	黄芩素	半夏
BX5	gondoic acid	顺式-11-二十碳烯酸	半夏
BX6	coniferin	松柏苷	半夏
BX7	10,13-eicosadienoic		半夏
BX8	12,13-epoxy-9-hydroxynonadeca-7,10-dienoic acid		半夏
BX9	(3S,6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl)piperazine-2,5-quinone		半夏
BX10	cycloartenol	环阿屯醇	半夏
BX11	beta-D-ribofuranoside, xanthine-9	黄昔二水合物	半夏
ZR1	vanillin	香兰素	竹茹
ZR2	syringaldehyde	丁香醛	竹茹
ZR3	succinic acid	丁二酸	竹茹
ZR4	p-coumaric acid ethyl ester	反式对羟基肉桂酸乙酯	竹茹
ZR5	coniferaldehyde, coniferyl aldehyde, trans-coniferyl aldehyde	针叶醛, 针叶醛, 反式针叶醛	竹茹
ZR6	azelaic acid	壬二酸	竹茹
ZR7	3-tert-butyladipic acid		竹茹
ZR8	(-) -syringaresinol	(-) -丁香树脂酚	竹茹

续表1

编号	成分	中文名	来源
ZS1	poncirin	枸橘苷	枳实
ZS2	isosinensetin	异橙黄酮	枳实
ZS3	5,7,4'-trimethylapigenin		枳实
ZS4	isosakuranetin-7-rutinoside	香风草苷	枳实
ZS5	prangenin	环氧前胡醚	枳实
ZS6	prangenin hydrate		枳实
ZS7	poncimarin		枳实
ZS8	isoponcimarin		枳实
ZS9	6-methoxy aurapten		枳实
ZS10	citrusin B	柑橘素 B	枳实
ZS11	neohesperidin_qt		枳实
ZS12	sinensetin	甜橙黄酮	枳实
ZS13	ammidin	欧前胡素	枳实
ZS14	eriodyctiol (flavanone)		枳实
ZS15	didymin	香风草苷	枳实
ZS16	luteolin	木犀草素	枳实
ZS17	tetramethoxyluteolin	3,4,5,7-四甲氧基黄酮	枳实
ZS18	4-[(2S,3R)-5-[(E)-3-hydroxyprop-1-enyl]-7-methoxy-3-methylol-2,3-dihydrobenzofuran-2-yl]-2-methoxy-phenol	去氢双松柏醇	枳实
CP1	citromitin		陈皮
FL1	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-6-methylhept-5-enoic acid		茯苓
FL2	trametenolic acid		茯苓
FL3	7,9(11)-dehydropachymic acid	去氢茯苓酸	茯苓
FL4	cerevisterol	啤酒甾醇	茯苓
FL5	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid	去氢土莫酸	茯苓
FL6	ergosta-7,22E-dien-3beta-ol		茯苓
FL7	ergosterol peroxide	过氧麦角甾醇	茯苓
FL8	(2R)-2-[(5R,10S,13R,14R,16R,17R)-16-hydroxy-3-keto-4,4,10,13,14-pentamethyl-1,2,5,6,12,15,16,17-octahydrocyclopenta [a]phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid		茯苓
FL9	3beta-hydroxy-24-methylene-8-lanostene-21-oic acid		茯苓
FL10	pachymic acid	茯苓酸	茯苓
FL11	poricoic acid A	茯苓新酸 A	茯苓
FL12	poricoic acid B	茯苓新酸 B	茯苓
FL13	poricoic acid C	茯苓新酸 C	茯苓
FL14	hederagenin	常春藤皂苷元	茯苓
FL15	dehydroeburicoic acid	去氢齿孔酸	茯苓
GC1	inermine	高丽槐素	甘草
GC2	DFV	甘草素	甘草
GC3	glycyrol	甘草酚	甘草

续表 1

编号	成分	中文名	来源
GC4	jaranol	华良姜素	甘草
GC5	medicarpin	美迪紫檀素	甘草
GC6	isorhamnetin	异鼠李素	甘草
GC7	lupiwighteone	黄羽扇豆魏特酮	甘草
GC8	7-methoxy-2-methyl isoflavone		甘草
GC9	formononetin	刺芒柄花素	甘草
GC10	calycosin	毛蕊异黄酮	甘草
GC11	kaempferol	山柰酚	甘草
GC12	(2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyrano[2,3-f]chromen-4-one		甘草
GC13	euchrenone		甘草
GC14	glyasperin B		甘草
GC15	glyasperin F		甘草
GC16	glyasperin C		甘草
GC17	isotrifoliol	异吐唑醇	甘草
GC18	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl)prop-2-en-1-one		甘草
GC19	kanzonols W		甘草
GC20	(2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one		甘草
GC21	semilicoisoflavone B	半甘草异黄酮 B	甘草
GC22	glepidotin A		甘草
GC23	glepidotin B		甘草
GC24	phaseolinisoflavan		甘草
GC25	glypallichalcone		甘草
GC26	8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol		甘草
GC27	licochalcone B	甘草查尔酮 B	甘草
GC28	licochalcone G		甘草
GC29	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin		甘草
GC30	gancaonin A		甘草
GC31	gancaonin B		甘草
GC32	licorice glycoside E		甘草
GC33	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone		甘草
GC34	5,7-dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone	甘草宁 M	甘草
GC35	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl) chromone	甘草宁 O	甘草
GC36	glycyrin	格里西轮	甘草
GC37	licocoumarone		甘草
GC38	licoisoflavone	甘草异黄酮 A	甘草
GC39	licoisoflavone B	甘草异黄酮乙	甘草
GC40	licoisoflavanone	甘草异黄烷酮	甘草
GC41	shinpterocarpin		甘草
GC42	(E)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one		甘草

续表1

编号	成分	中文名	来源
GC43	liquiritin	甘草昔	甘草
GC44	licopyranocoumarin		甘草
GC45	3,22-dihydroxy-11-oxo-delta(12)-oleanene-27-alpha-methoxycarbonyl-29-oic acid		甘草
GC46	glyzaglabrin		甘草
GC47	glabranin	光甘草定	甘草
GC48	glabrene	光甘草素	甘草
GC49	glabrone	光果甘草酮	甘草
GC50	1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone		甘草
GC51	1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone		甘草
GC52	eurycarpin A	黄甘草异黄酮 A	甘草
GC53	glycyroside		甘草
GC54	(-)-medicocarpin		甘草
GC55	sigmoidin-B	乌拉尔宁	甘草
GC56	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one		甘草
GC57	(2S)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chroman-4-one	异补骨脂二氢黄酮	甘草
GC58	isoglycyrol		甘草
GC59	isolicoflavonol	异甘草黄酮醇	甘草
GC60	HMO		甘草
GC61	1-methoxyphaseollidin	1-甲氧基菜豆素	甘草
GC62	3'-hydroxy-4'-O-Methylglabridin		甘草
GC63	licochalcone a	甘草查尔酮 A	甘草
GC64	3'-methoxyglabridin		甘草
GC65	2-[(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[6,5-f]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol		甘草
GC66	inflacoumarin A		甘草
GC67	icos-5-enoic acid		甘草
GC68	kanzonol F		甘草
GC69	6-prenylated eriodictyol		甘草
GC70	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-arylcoumarin		甘草
GC71	7-acetoxy-2-methylisoflavone		甘草
GC72	8-prenylated eriodictyol		甘草
GC73	gadelaidic acid		甘草
GC74	vestitol		甘草
GC75	gancaonin G	甘草宁 G	甘草
GC76	gancaonin H		甘草
GC77	licoagrocarpin		甘草
GC78	glyasperins M		甘草
GC79	glycyrrhiza flavonol A		甘草
GC80	licoagroisoflavone		甘草
GC81	18 α -hydroxyglycyrrhetic acid		甘草
GC82	odoratin		甘草
GC83	phaseol		甘草

续表 1

编号	成分	中文名	来源
GC84	xambioona		甘草
GC85	dehydroglyasperins C		甘草
GC86	quercetin	槲皮素	甘草
SJ1	dihydrocapsaicin	二氢辣椒素	生姜
SJ2	6-methylgingediacetate2		生姜
SJ3	poriferast-5-en-3beta-ol		生姜
DZ1	stepharine	光千金藤碱	大枣
DZ2	spiradine A		大枣
DZ3	zizyphus saponin I_qt		大枣
DZ4	jujuboside A_qt	酸枣仁皂苷 A	大枣
DZ5	coumestrol	拟雌内酯	大枣
DZ6	daechuine S6		大枣
DZ8	jujubasaponin V_qt		大枣
DZ9	jujuboside C_qt	酸枣仁皂苷 D	大枣
DZ10	mauritine D		大枣
DZ11	(S)-coclaurine	衢州乌药碱	大枣
DZ12	ziziphin_qt	酸枣仁皂苷 B	大枣
DZ13	ruvoside_qt		大枣
DZ14	(+)-catechin	(+)-儿茶素	大枣
DZ15	malkangunin		大枣
DZ16	stepholidine	左旋千金藤啶碱	大枣
DZ17	nuciferin	荷叶碱	大枣
DZ18	protoporphyrin	原卟啉	大枣
DZ19	fumarine	原阿片碱	大枣
DZ20	emmolic Acid	美洲茶酸	大枣
DZ21	beta-carotene	β -胡萝卜素	大枣
DZ22	(-)-catechin	(-)-儿茶素	大枣
DZ23	(3S,6R,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(1R,4R)-4-ethyl-1,5-dimethylhexyl]-10,13-dimethyl-2,3,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-3,6-diol		大枣

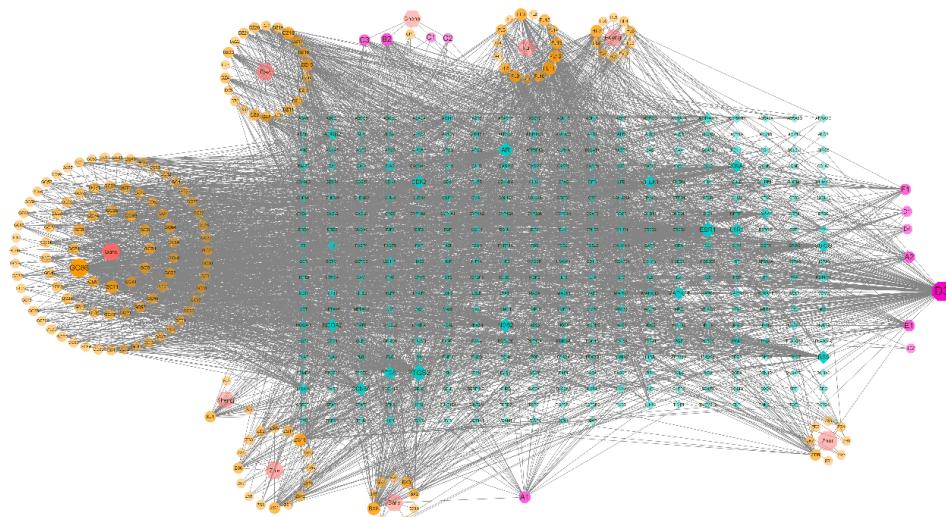


图 1 中药成分 - 靶点图

Fig. 1 Ingredients of traditional Chinese medicine-target

据库、PharmGKB 数据库及 NCBI Gene 数据库。其中 Digsee 数据库获得 32 个心律失常疾病基因; OMIM 数据库获得 140 个心律失常疾病基因; Drugbank 数据库获得 32 个心律失常疾病基因; 对 Genecard 数据库检索结果进行筛选, 以“Relevance score” ≥ 1 为筛选条件, 获得 3 626 个心律失常疾病基因; TTD 数据库获得 23 个心律失常疾病基因; 对 Gisgnet 数据库检索结果进行筛选, 以“Score” ≥ 0.1 为筛选条件, 获得 190 个心律失常疾病基因; PharmGKB 数据库获得 175 个心律失常疾病基因; NCBI Gene 数据库中去除非人物种后获得 90 个心律失常疾病基因。将各数据库获得的疾病基因合并后去重, 共得到 3 852 个疾病基因靶点。

2.4 黄连温胆汤 - 心律失常交集靶点构建

将黄连温胆汤与心律失常疾病基因上传至

Venny 2.1 绘制韦恩图, 得到 229 个交集基因(图 2)。

2.5 PPI 网络构建

将中药 - 疾病交集基因上传至 String 网站, 物种选择“Homo sapiens”, 最低要求交互分数设置为 ≥ 0.9 , 隐藏无互相作用关系的节点, 获得 PPI 蛋白互作网络图(图 3)。

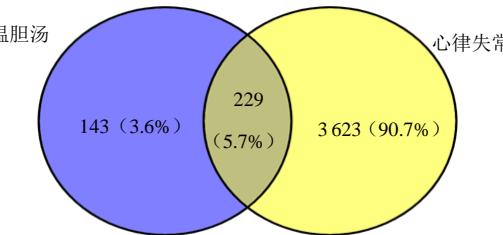


图 2 黄连温胆汤与心律失常韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of Huanglian Wendan Decoction and arrhythmia

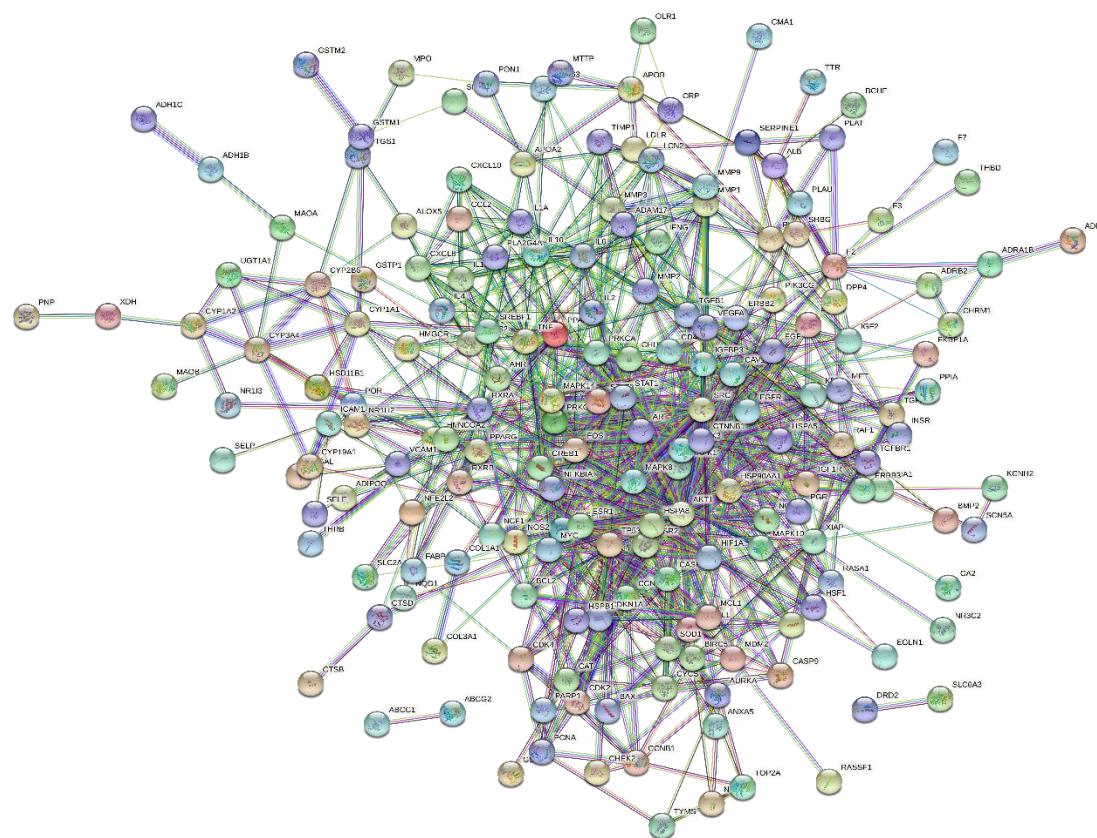


图 3 PPI 网络图

Fig. 3 PPI network diagram

2.6 拓扑分析

将交集基因 PPI 网络图数据下载, 导入 Cytoscape 3.9.1, 其中有 186 个节点, 900 条边。使用 cytoNCA 进行分析, 以介度(Betweenness)、接近中心性(Closeness)、度(Degree)、特征向量

(Eigenvector)、局部平均连通度中心性(LAC)及网络(Network)为关键值, 使用 Rx64 version 4.1.2 对其进行 2 次中位数筛选, 获得 19 个核心靶点(图 4)后, 使用 Cytoscape 3.9.1 绘制核心靶点互作图(图 5)。

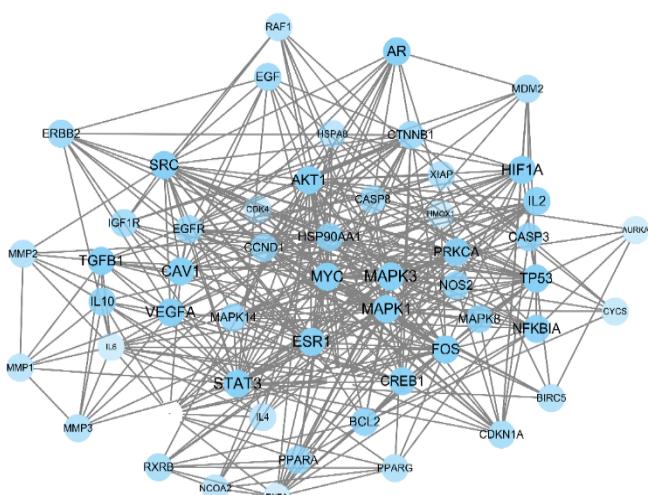


图 4 核心靶点第 1 次筛选

Fig. 4 Core target screened for the first time

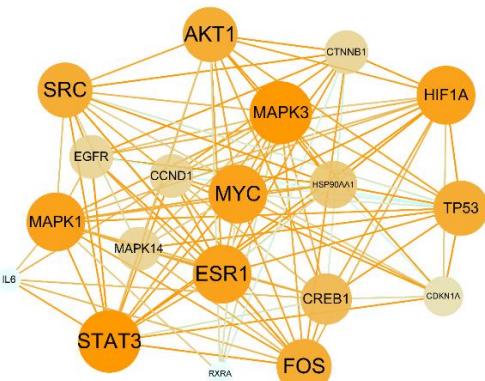


图 5 PPI 网络核心靶点互作图

Fig. 5 PPI network core target interaction diagram

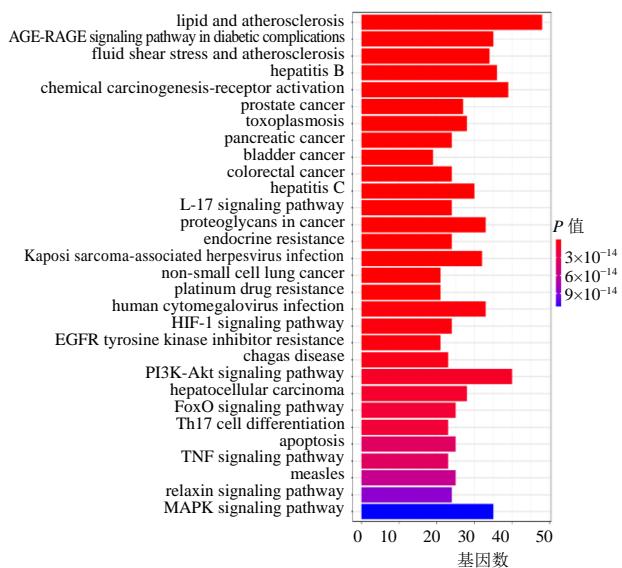


图 6 KEGG 富集分析

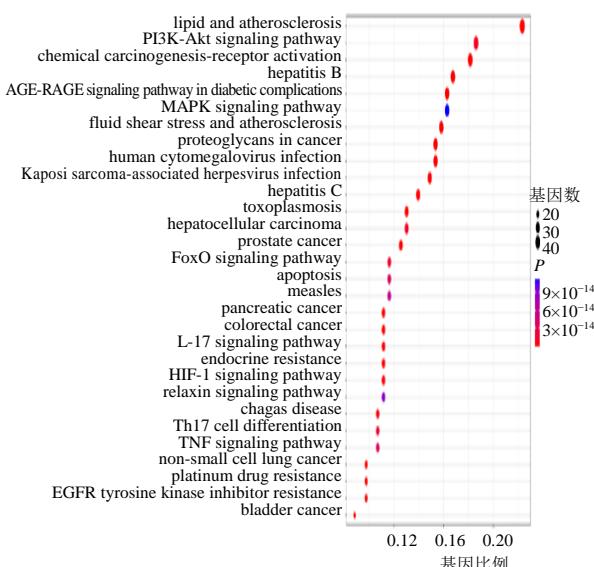
Fig. 6 KEGG enrichment analysis

2.7 KEGG 和 GO 通路分析及成分 - 靶点 - 通路构建

使用 Bioconductor 数据库 Rx64 version 4.1.2 对黄连温胆汤与心律失常的交集基因进行 KEGG 和 GO 通路富集分析，后者主要包括生物过程 (BP)、细胞成分 (CC) 和分子功能 (MF)。KEGG 通路富集分析共得到 186 条通路，主要与血脂异常与动脉粥样硬化、糖尿病患者晚期心梗后室性心律失常、抗心肌纤维化及促进梗死区心肌细胞存活、细胞凋亡和炎症等有关。

GO 富集分析共得到 3 228 个结果，其中 BP 2 837 条，CC 127 条，MF 264 条。其中 BP 主要和调节心率、心室重构与心肌肥大纤维化、心脏神经嵴细胞分化、心肌收缩力、交感神经刺激、钙离子转运调控、钙离子跨膜转运蛋白活性的调节、阳离子跨膜转运、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 级联通路的调控等有关；CC 主要与电压门控钙离子通道、肌节收缩、低密度脂蛋白、三酰甘油等相关联；MF 主要与儿茶酚胺的结合相关。

使用 R x64 version 4.1.2 对 KEGG 前 20 及 GO 排名前 10 的通路进行可视化分析（图 6、7）。条形图横坐标长度代表基因富集在该通路上的基因数目，纵坐标为通路名称，条形图颜色越红代表基因富集程度越高；气泡图颜色越红代表富集程度越高，气泡大小代表富集在该通路上的基因数量，气泡越大表示基因数量越多，气泡越小表示基因数量越少。将排名靠前的 KEGG 通路信息导入 Cytoscape 3.9.1 绘制成分 - 靶点 - 通路图（图 8）。



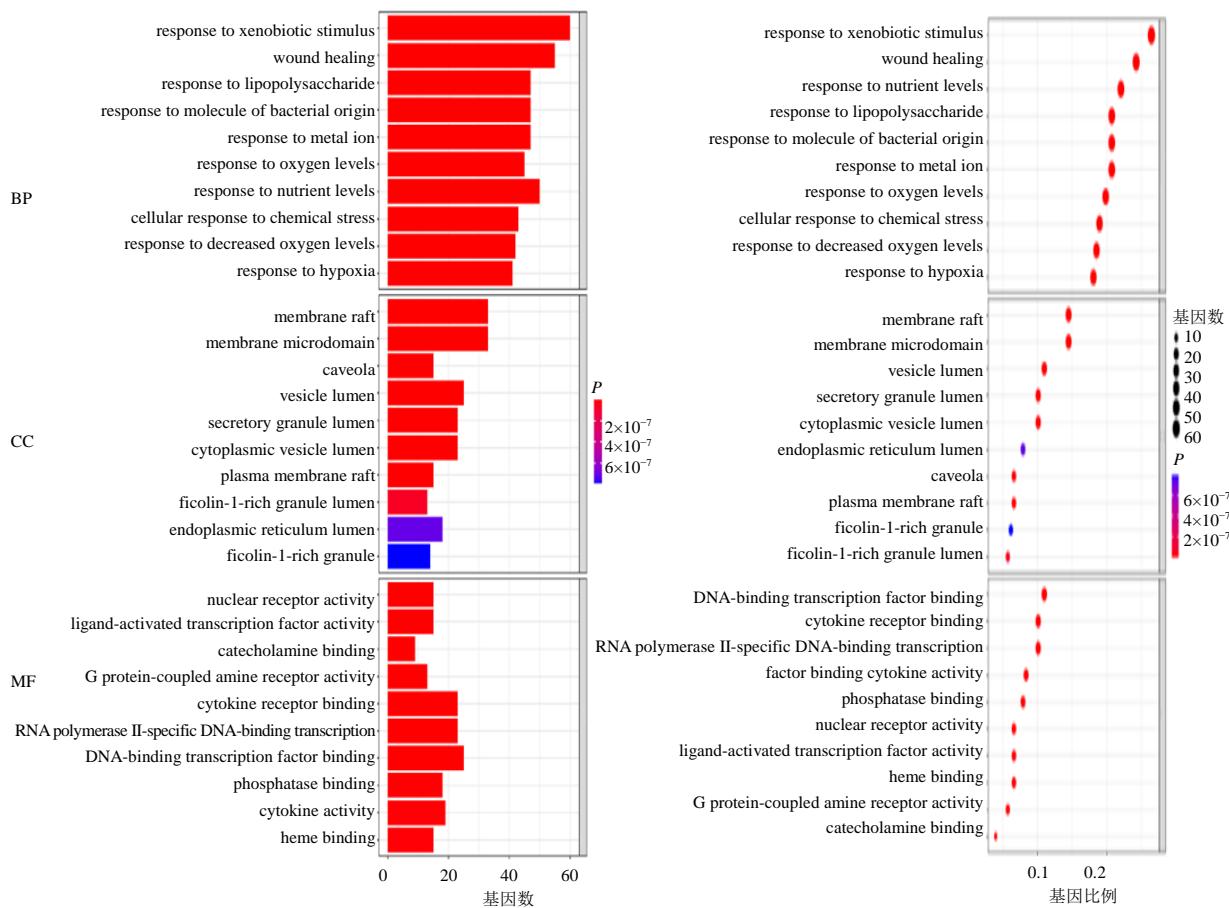


图7 GO富集分析

Fig. 7 GO enrichment analysis

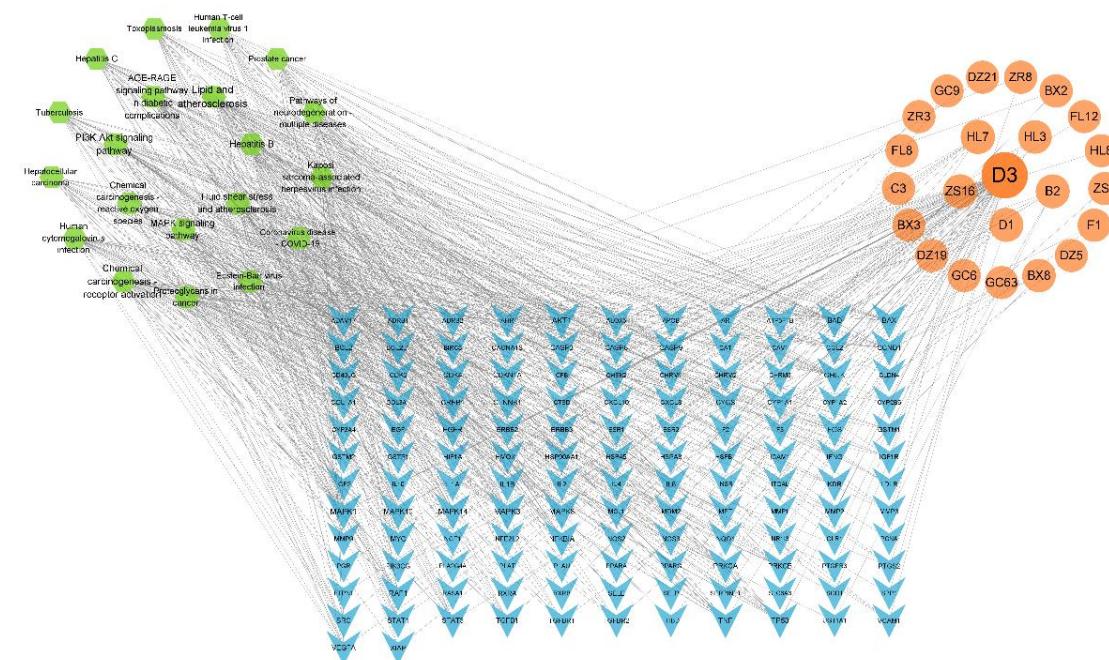


图8 成分-靶点-通路图

Fig. 8 Composition - target - pathway diagram

3 讨论

心律失常属于临床常见病症，常继发于各种心血管疾病，亦可单独为病，其病理机制具有多样性。黄连温胆汤源于唐·孙思邈《千金方》之温胆汤，由半夏、枳实、陈皮、竹茹、甘草、生姜组成，主要用于温养胆气，宋·陈无择在原方加上茯苓和大枣，进一步扩大治疗范围；清·陆廷珍《六因条辨》在前人基础上加入黄连，即今黄连温胆汤，用于胆郁痰热、胆胃不和等症的治疗，全方起到清热化痰、宁心安神的功效，临幊上心律失常证属痰热扰心常用黄连温胆汤治疗。现代药理学研究表明黄连温胆汤不仅能够有效缓解精神疾病、神经系统疾病以及心脑血管循环问题，还能够可调节心肌细胞钙离子的流通，抑制折返性心律失常^[20]。

本研究基于网络药理学方法，筛选出黄连温胆汤的有效活性成分及作用靶点，通过 KEGG、GO 富集分析探索黄连温胆汤对心律失常的干预治疗机制。通过 PPI 蛋白互作网络拓扑分析，共筛选出表皮生长因子受体 (EGFR)、MAPK1、MAPK3、信号转导和转录激活因子 3 (STAT3)、cAMP 反应性元素结合蛋白 1 (CREB1)、雌激素受体 (ESR1) 等 19 个核心靶点。EGFR 不仅在多种肿瘤类型中高度表达，而且在许多正常组织中如心脏、血管广泛表达，并能调节各种细胞功能。研究表明，EGFR 能够通过增强心脏 Na^+ 和 1 型 Ca^{2+} 通道的酪氨酸磷酸化介导的缺血再灌注导致的心律失常，且与房颤具有显著相关性^[21-22]。此外，EGFR 还参与了钾离子通道抑制剂对心律失常的作用过程^[23]。MAPK1/3 作为 MAP 激酶信号转导途径的重要组成部分，不仅 MAPK1 参与 MAPK1/miRNA-26/NFAT 途径介导的心肌纤维化，两者与 ERK1/2 依赖性细胞存活信号通路介导的抗心律失常作用机制有显著联系，对再灌注心肌损伤心律失常具有重要的意义^[24-25]。STAT3 是一种多功能转录因子，具有高度的多效性，在调节炎症、肥大、增殖、生长、分化、迁移、细胞外基质合成、纤维化和生存等重要基因程序中发挥重要作用。STAT3 能通过白细胞介素-6 (IL-6) 激活的结构性 STAT3 促进胶原生物合成和肌成纤维细胞活化，抑制 STAT3 降低细胞外基质沉积。与它在心肌成纤维细胞中的作用相反，STAT3 抑制心肌细胞的前纤维化通路。通过 IL-11 激活心肌细胞中的 STAT3 可以防止广泛的梗死后纤维化和心室重构。STAT3 磷酸化可驱动促纤维化基因表达。STAT3

活性的增加还与房颤的发展有关，研究发现持续性房颤患者 STAT3 的蛋白含量增加。观察发现，特异性 STAT3 缺失会导致纤维化、心功能受损、心室重构和死亡率增加。此外，STAT3 转录因子在心脏中的表达具有心脏保护作用并减少活性氧^[26-27]。STAT3 已经成为心律失常治疗的新靶点。CREB1 存在于许多病毒和细胞启动子中的序列，在与 DNA cAMP 反应元件 (CRE) 结合时刺激转录。实验证明，CREB1 作为 miR-425-5p 的直接目标，可有效改善可改善心房重塑，降低心房颤动易感性^[28]。ESR1 与雌激素的结合物能够调节诸如内皮依赖性舒张因子、血管紧张素等对血管具有舒张、收缩作用的物质的合成、释放，具有改善血管内皮功能、抗炎、抗动脉粥样硬化等作用^[29]。

KEGG 分析黄连温胆汤治疗心律失常的靶点主要富集在癌症通路及磷脂酰肌醇 3- 激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K) / 蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、MAPK、晚期糖基化终产物及其受体 (AGE-RAGE) 等信号通路。PI3K/Akt 及 MAPK 信号通路属于癌症通路的下游通路^[30]，前者与心肌缺血再灌注损伤严重程度显著相关，并在氧化应激、钙超载、炎症和线粒体障碍等各个环节中处于核心位点。PI3K/Akt 信号通路不仅可以调控 Cx43 的表达和磷酸化水平，减少心肌梗死面积、再灌注性心律失常，还可以阻止 FoxO3 进入细胞，起到抗心肌细胞凋零的作用^[30]，PIP3 信号转导的活性降低可导致心律失常^[31]。MAPK 信号通路在调节着细胞的生长、分化、应激、炎症反应等多种重要效应中具有重要地位，抑制 MAPK 信号通路可抑制炎症因子的表达，从而减轻炎症反应，降低纤维化和凋亡水平，进而抑制室性心律失常^[30]，MAPK 亚家族 JNK 和 p38 MAPK 信号通路在炎症和细胞凋亡等应激反应中也具有重要作用。AGE/RAGE 可通过蛋白激酶 C, 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，增加损害性电耦合，导致心律失常发生^[30]。AGE 与 RAGE 的相互作用可以通过改变细胞蛋白和细胞外基质诱导房颤和心房结构和电重构^[32]。

GO 富集分析结果提示黄连温胆汤治疗心律失常可能与调节心率、心室重构与心肌肥大纤维化、心脏神经嵴细胞分化、交感神经刺激、钙离子转运调控、钙离子跨膜转运蛋白活性的调节、阳离子跨膜转运、MAPK 级联通路的调控、电压门控钙离子

通道、肌节收缩、低密度脂蛋白、三酰甘油、儿茶酚胺结合相关。

综上所述，黄连温胆汤与心律失常基因靶点存在有较多交集基因，黄连温胆汤对心率失常的治疗具有多靶点、多通路的特点。中药有效成分及作用靶点的筛选可能存在误差，本研究并不能阐述黄连温胆汤治疗心律失常的完整机制，仍需要进一步的实验验证与技术支持来展开进一步的探讨。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张玉洁. 134 例心律失常临床疗效与护理干预分析 [J]. 科教导刊: 电子版: 中旬, 2017(8): 291.
- [2] Zhang B, Wang X, Li S. An integrative platform of TCM network pharmacology and its application on a herbal formula, Qing-Luo-yin [J]. *Evid Based Complementary Altern Med*, 2013, 2013: 456747.
- [3] Li S, Zhang B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: Theory, methodology and application [J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(2): 110-120.
- [4] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [5] Daina A, Michelin O, Zoete V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42717.
- [6] Wang X, Shen Y H, Wang S W, et al. PharmMapper 2017 update: A web server for potential drug target identification with a comprehensive target pharmacophore database [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(W1): W356-W360.
- [7] The UniProt Consortium. UniProt: The universal protein knowledgebase [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1): D158-D169.
- [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] Kim J, Kim J J, Lee H. An analysis of disease-gene relationship from Medline abstracts by DigSee [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40154.
- [10] McKusick V A. Mendelian inheritance in man and its online version, OMIM [J]. *Am J Hum Genet*, 2007, 80(4): 588-604.
- [11] Wishart D S, Feunang Y D, Guo A C, et al. DrugBank 5.0: A major update to the DrugBank database for 2018 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D1074-D1082.
- [12] Safran M, Rosen N, Twik M, et al. The GeneCards Suite [M]. Singapore: Springer Nature Singapore, 2021: 27-56.
- [13] Zhou Y, Zhang Y T, Lian X C, et al. Therapeutic target database update 2022: Facilitating drug discovery with enriched comparative data of targeted agents [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D1398-D1407.
- [14] Piñero J, Saüch J, Sanz F, et al. The DisGeNET cytoscape app: Exploring and visualizing disease genomics data [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2021, 19: 2960-2967.
- [15] Szklarczyk D, Franceschini A, Kuhn M, et al. The STRING database in 2011: Functional interaction networks of proteins, globally integrated and scored [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(Database issue): D561-D568.
- [16] Huang L, Xie D L, Yu Y R, et al. TCMID 2.0: A comprehensive resource for TCM [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D1117-D1120.
- [17] Xu H Y, Zhang Y Q, Liu Z M, et al. ETCM: An encyclopaedia of traditional Chinese medicine [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D976-D982.
- [18] 王小双, 魏文峰, 霍金海, 等. 基于网络药理学探讨橘皮竹茹汤治疗胃食管反流病的作用机制 [J]. 中国中医药科技, 2021, 28(2): 215-220.
- [19] 楼鼎鼎. 竹茹超临界萃取物的组成分析和功能性研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- [20] 才晓晨, 杨雨民. 中医疗法在快速型心律失常治疗中的应用 [J]. 山西医药杂志, 2022, 51(6): 651-654.
- [21] Feng M, Xiang J Z, Ming Z Y, et al. Activation of epidermal growth factor receptor mediates reperfusion arrhythmias in anaesthetized rats [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 93(1): 60-68.
- [22] Büttner P, Werner S, Sommer P, et al. EGF (epidermal growth factor) receptor ligands in atrial fibrillation: From genomic evidence to the identification of new players [J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2019, 12(4): e007212.
- [23] Tahara S, Fukuda K, Kodama H, et al. Potassium channel blocker activates extracellular signal-regulated kinases through Pyk2 and epidermal growth factor receptor in rat cardiomyocytes [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2001, 38(5): 1554-1563.
- [24] Liu L S, Luo F Y, Lei K B. Exosomes containing LINC00636 inhibit MAPK₁ through the miR-450a-2-3p overexpression in human pericardial fluid and improve cardiac fibrosis in patients with atrial fibrillation [J]. *Mediat Inflamm*, 2021, 2021: 9960241.
- [25] Hu Z Y, Ju F, Du L, et al. Empagliflozin protects the heart against ischemia/reperfusion-induced sudden cardiac death [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2021, 20(1): 199.
- [26] Wang Y Z, Cai W J, Gu L Y, et al. Comprehensive analysis of pertinent genes and pathways in atrial fibrillation [J]. *Comput Math Methods Med*, 2021, 2021: 4530180.

- [27] Patel N J, Nassal D M, Gratz D, et al. Emerging therapeutic targets for cardiac arrhythmias: Role of STAT3 in regulating cardiac fibroblast function [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2021, 25(1): 63-73.
- [28] Wei F Y, Ren W J, Zhang X, et al. miR-425-5p is negatively associated with atrial fibrosis and promotes atrial remodeling by targeting CREB1 in atrial fibrillation [J]. *J Cardiol*, 2022, 79(2): 202-210.
- [29] 叶嘉豪, 胡志希, 钟森杰, 等. 基于网络药理学探讨炙甘草汤治疗心律失常的作用机制 [J]. 世界中医药, 2022, 17(6): 760-766.
- [30] 谢延峥, 马金, 邹旭. PI3K/Akt 信号通路串扰在心肌缺血再灌注损伤中的作用及中医药防治进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(24): 201-210.
- [31] 常燕, 林建国, 李成, 等. 基于网络药理学及分子对接探讨交泰丸治疗心律失常的作用机制 [J]. 世界中医药, 2021, 16(13): 1948-1953.
- [32] Prasad K. AGE-RAGE stress in the pathophysiology of atrial fibrillation and its treatment [J]. *Int J Angiol*, 2020, 29(2): 72-80.

【责任编辑 金玉洁】