

中药治疗射血分数保留心衰的核心用药及其作用机制研究

郭红鑫^{1,2}, 王建茹², 王新陆², 李兴渊², 朱翠玲², 王永霞², 朱明军^{2*}

1. 河南中医药大学第一临床医学院, 河南 郑州 450000

2. 河南中医药大学第一附属医院 心脏中心, 河南 郑州 450000

摘要: 目的 通过数据挖掘总结中药治疗射血分数保留心衰 (heart failure with preserved ejection fraction, HFPEF) 的核心用药, 并使用网络药理学和分子对接的方法对核心中药的作用机制进行探索。方法 检索中国知网 (CNKI)、万方数据 (Wanfang)、维普网 (VIP)、中国生物医学文献数据库 (CBM)、PubMed、Cochrane Libarary 和 Embase 数据库, 收集治疗 HFPEF 疗效明确的方剂, 使用 R 语言对方剂进行频次、关联规则和聚类分析, 得到核心中药。通过 TCMSP、GeneCards、GEO 等数据库筛选核心中药有效成分和 HFPEF 相关靶点并取交集靶点, 对交集靶点进行基因本体论 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析, 利用 Cytoscape 软件构建药物-成分-靶点网络和蛋白互作网络, 并筛选关键成分和靶点。使用 vina 软件对关键成分和核心靶点进行分子对接。结果纳入方剂 103 首, 涉及中药 131 味, 功效以补虚药和活血化瘀药为主, 药性多为温、寒, 药味以甘、苦和辛味为主, 归经多归心、肺和脾经, 结合关联规则和聚类分析得出黄芪和丹参为核心中药。网络药理学获得黄芪和丹参 85 个有效成分, HFPEF 相关靶点 1696 个, 交集靶点共 117 个; GO 分析显示主要与氧化应激和对脂多糖的反应有关; KEGG 分析显示主要与脂质、动脉粥样硬化、糖尿病并发症等通路有关; 筛选出槲皮素、木犀草素、山柰酚、丹参酮IIA 等 10 关键成分和 14 个核心靶点, 且关键成分和核心靶点可稳定结合。**结论** 黄芪和丹参为治疗 HFPEF 的核心中药, 其通过多成分、多靶点调控氧化应激、糖脂代谢和动脉粥样硬化等发挥作用。

关键词: 中药; 射血分数保留心衰; 黄芪; 丹参; 槲皮素; 木犀草素; 山柰酚; 丹参酮IIA

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)18-6017-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.18.020

Study on core medication of traditional Chinese medicine in treatment of heart failure with preserved ejection fraction and its mechanism

GUO Hong-xin^{1,2}, WANG Jianru², WANG Xin-lu², LI Xing-yuan², ZHU Cui-ling², WANG Yong-xia², ZHU Ming-jun²

1. The First Clinical Medical College, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

2. Department of Heart Center, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

Abstract: Objective The core medication of traditional Chinese medicine (TCM) in treatment of heart failure with preserved ejection fraction (HFPEF) were summarized through data mining and the mechanism of the core TCMs were explored using the methods of network pharmacology and molecular docking. **Methods** CNKI, Wanfang, VIP, CBM, PubMed, Cochrane Libarary and Embase databases were searched to collect effective prescriptions for HFPEF. The frequency, association rules and cluster of prescriptions were analyzed using R language, the core Chinese medicine was obtained. The relevant targets of core traditional Chinese medicine and HFPEF were screened through TCMSP, GeneCards, GEO and other databases, and the intersection targets were selected, and the gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analyses were performed for the intersection targets. Cytoscape software was used to construct the drug-components-target network and protein interaction network, and the key components and targets were screened respectively. Molecular docking of key components and core targets was performed using vina software. **Results** A total of 103 prescriptions were included in data mining, involving 131 TCMs; The main efficacy categories were tonic and blood-activating and stasis-removing medicines; The

收稿日期: 2023-03-19

基金项目: 国家重点研发计划重点专项课题 (2019YFC1710003, 2019YFC1710000); 国家自然科学基金重点项目 (82030120); 河南省中医药科学研究专项课题 (2018JDZX009)

作者简介: 郭红鑫, 男, 博士研究生, 从事中西医结合防治心血管疾病的临床和基础研究。E-mail: guohongxin1214@163.com

*通信作者: 朱明军, 男, 博士, 教授, 从事中医药防治心血管疾病的临床和基础研究。E-mail: zhumingjun317@163.com

properties of medicines were mostly warm and cold; The tastes of medicines were mainly sweet, bitter and pungent; The primary meridian tropisms were heart, lung and spleen; Combined with association rules and cluster analysis, it was concluded that Huangqi (*Astragali Radix*) and Danshen (*Salviae Miltorrhizae Radix et Rhizoma*) were the core Chinese medicines. A total of 85 active ingredients of *Astragali Radix* and *Salviae Miltorrhizae Radix et Rhizoma*, 1696 targets of HFPEF, and 117 intersecting targets were obtained by network pharmacology. GO analysis showed that it was mainly related to oxidative stress and reaction to lipopolysaccharide. KEGG analysis showed that it was mainly related to lipid, atherosclerosis, diabetes complications and other pathways. Ten key components including quercetin, luteolin, kaempferol and tanshinone II_A and 14 core targets were screened, and the key components and core targets could be stably combined. Conclusion *Astragali Radix* and *Salviae Miltorrhizae Radix et Rhizoma* were the core TCMs for the treatment of HFPEF, which play a role in regulating oxidative stress, glucose and lipid metabolism and atherosclerosis through multi-components and multi-targets.

Key words: traditional Chinese medicine; heart failure with preserved ejection fraction; *Astragali Radix*; *Salviae Miltorrhizae Radix et Rhizoma*; quercetin; luteolin; kaempferol; tanshinone II_A

射血分数保留心衰(heart failure with preserved ejection fraction, HFPEF)指临床具有心力衰竭的症状或体征,且左心室射血分数正常的一种临床综合征^[1]。该病具有高发病率和高死亡率的特点,流行病学调查显示近半数心力衰竭患者为HFPEF,其再住院率及病死率与射血分数降低心衰相当^[2]。其发病涉及多种脏器和机制,现代医学暂无较好的药物降低其发病率和死亡率,而中药通过多成分、多靶点产生治疗作用,因此探索效优价廉的中医药治疗方案具有重要的临床意义^[3]。

中医药治疗心力衰竭历史悠久,在缓解症状、延缓病情进展等方面具有独到优势,临床证据表明,中医药治疗HFPEF疗效明确^[4]。但由于该病为近年来提出的新病名,目前对其辨证论治尚处于探索阶段,不同研究结果间存在差异,临床缺乏统一规范的辨证用药指导^[5]。中医药学是一门经验性学科,其产生的诊疗信息(证候、方药等)具有多因素、非线性等复杂数据特点,因此仅用常规的统计方法并不能很好地将中医药学术经验传承下去。数据挖掘是指基于大数据,从繁杂、随机的信息中挖掘出潜在规律的过程,被广泛应用于决策支持、经验传承和趋势预测等,是探索中药用药规律的有效方法,既往已有多项研究成功运用该方法探索中药治疗疾病的用药规律^[6-7]。网络药理学是通过高通量从中药处方中筛选多种协同的化合物,从整体层面说明药物作用机制的研究方法,是帮助认识中药治疗疾病分子机制的重要手段^[8-9]。本研究全面收集治疗HFPEF疗效明确的方剂,通过数据挖掘分析组方用药规律,得到其核心中药,使用网络药理学预测核心中药治疗该病的潜在机制,再通过分子对接对网络药理学结果进行验证,以期为HFPEF的临床用药和基础研究提供参考。

1 数据挖掘

1.1 资料与方法

1.1.1 处方来源及信息提取 2名研究者采用主题词结合自由词检索中国知网(CNKI)、万方数据(Wanfang)、维普网(VIP)、中国生物医学文献数据库(CBM)、PubMed、Cochrane Library和Embase数据库从建库起至2022年12月14日有关中药治疗HFPEF的文献。中文检索词为“射血分数保留心衰”“射血分数正常心衰”“舒张性心衰”“中医”“中药”“中西医”“中成药”“医案”“经验”“汤”“丸”“散”;英文检索词为“heart failure with preserved ejection fraction”“heart failure with normal ejection fraction”“diastolic heart failure”“Chinese medicine”“traditional Chinese and western medicine”“Chinese patent medicine”“medical case”“decoction”“pill”“powder”。完成文献筛选后,提取纳入方剂的方药组成、功效、四气、五味及归经等信息。根据《中国药典》2020版^[10]对中药名进行统一。

1.1.2 纳入标准 ①研究类型:随机对照试验、临床观察性文献、名医经验和典型医案。②符合《中国心力衰竭诊断和治疗指南2018》中HFPEF诊断标准^[11],患者性别、年龄、地区不限。③干预措施:包括口服中药汤药、中成药、中药颗粒剂和中药散剂在内的中药内治法,用药剂量及疗程不限。④所载方药有明确的药物组成,且必须疗效明确(中药组和非中药组疗效差异有统计学意义)。⑤重复方药选取发表时间最近者录入。

1.1.3 排除标准 ①数据缺失;②合并其他严重疾病及精神病;③出现严重不良反应的中药;④合并使用多种中药制剂。

1.1.4 数据分析 使用R语言4.1.2进行数据挖掘,

以得出所用中药的药性、药味、功效、配伍和组方等信息，并确定核心中药。首先筛选出使用频次≥10次的高频中药，对高频中药性味归经及功效进行分析。然后通过“arules”包进行关联规则分析挖掘核心配伍，本研究设定最小支持度为0.15，最小置信度为0.75，以网状图进行可视化。最后通过“cluster”包对高频中药进行层次聚类分析以挖掘核心处方，度量区间采用平方Euclidean距离，以Ward.D法构建聚类树状图。

1.2 结果

1.2.1 处方筛选结果 从CNKI中检索获得相关文献296篇、Wanfang 1152篇、VIP 68篇、CBM 292篇、PubMed 6篇、Cochrane Libary 37篇、Embase 4篇，总文献数1855篇。通过排除重复文献531篇及明显不相关文献887篇后，对437篇文献进行全文阅读筛选，最终纳入处方103首，共涉及单味中药131味，累计共使用977次。使用频次>5的中药在103首处方中占比见图1。

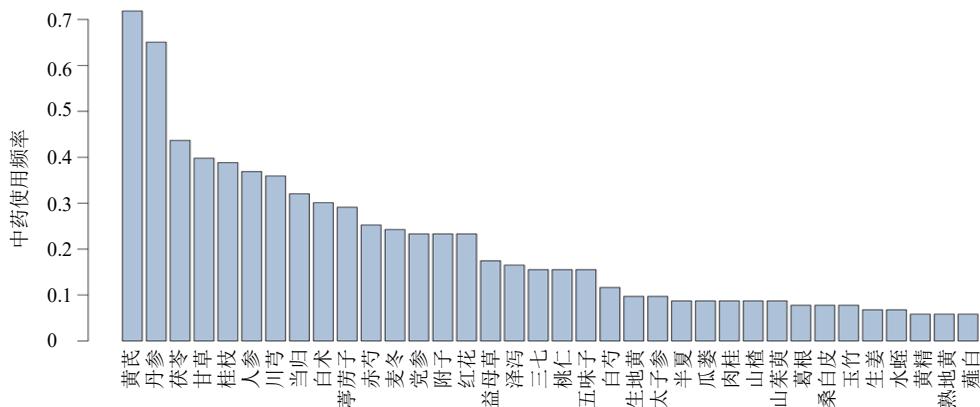


图1 使用频次>5次的中药

Fig. 1 Traditional Chinese medicines of frequency more than five times

1.2.2 高频中药功效及性味归经频数分析 使用频次≥10的高频中药共23味，累计使用674次，占总使用频次的69%；共涉及7种功效，以补虚药(42.7%)、活血化瘀药(26.4%)、温里药(9.5%)和利水渗湿药(9.2%)为主，其中补虚药中75.7%为

补气药，补阴药和补血药占比较少；涉及4种药性，即寒(30.4%)、热(3.6%)、温(45.8%)和平(20.2%)；涉及10条归经，主要为心经(22.1%)、肺经(20.0%)和脾经(19.4%)；五味以甘(44.0%)、苦(27.7%)和辛(19.7%)为主。见图2。

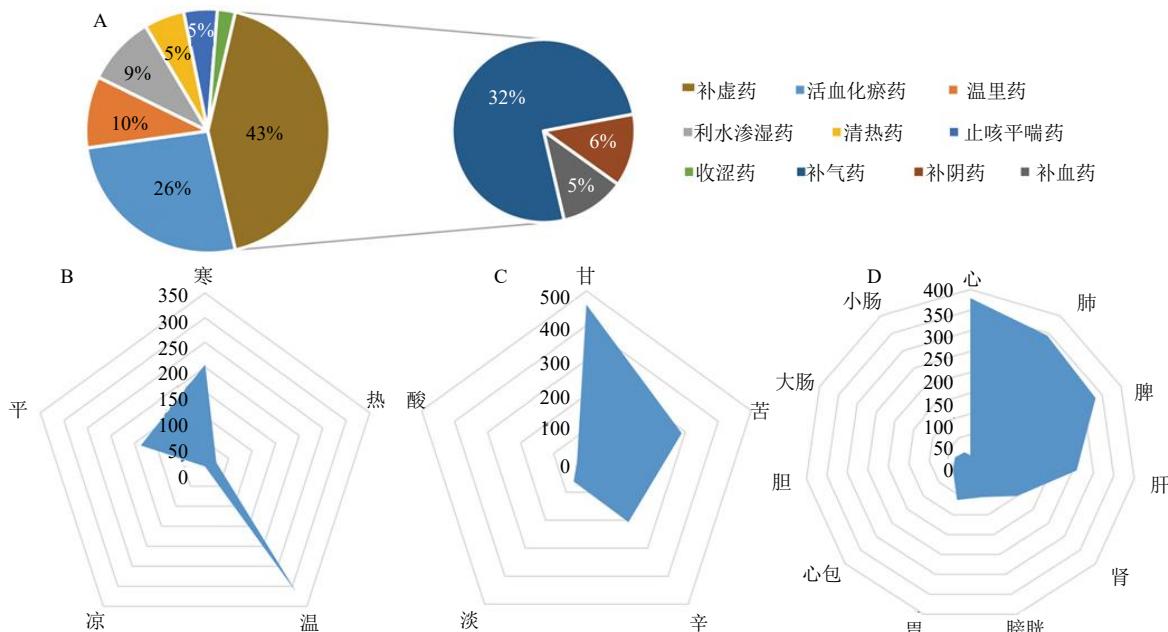


图2 高频中药功效(A)、四气(B)、五味(C)和归经(D)分析

Fig. 2 Analysis of efficacy (A), four qi (B), five flavors (C), and meridian tropisms (D) of high frequency TCMs

1.2.3 关联规则分析 共获得24种药物关联,包含11组药对和13个角药,其中黄芪配伍丹参支持度最高(49.5%)。各关联规则按支持度大小进行排列,

见表1。关联规则可视化网状图见图3,图中圆点的大小和颜色分别反映支持度和置信度,箭头指向次数最多的前2位中药为黄芪和丹参,为核心中药。

表1 103首处方中高频药物的关联规则分析

Table 1 Association rule analysis of high frequency TCMs in 103 prescriptions

序号	关联规则	支持度/%	置信度/%	提升度	序号	关联规则	支持度/%	置信度/%	提升度
1	丹参→黄芪	49.51	76.12	1.06	13	丹参,当归→黄芪	18.45	95.00	1.32
2	桂枝→黄芪	30.10	77.50	1.08	14	红花→黄芪	17.48	75.00	1.04
3	当归→黄芪	27.18	84.85	1.18	15	白术,桂枝→茯苓	17.48	90.00	2.06
4	川芎→黄芪	27.18	75.68	1.05	16	茯苓,桂枝→白术	17.48	75.00	2.49
5	葶苈子→黄芪	24.27	83.33	1.16	17	茯苓,桂枝→黄芪	17.48	75.00	1.04
6	白术→茯苓	24.27	80.65	1.85	18	丹参,桂枝→黄芪	17.48	78.26	1.09
7	丹参,人参→黄芪	21.36	84.62	1.18	19	桂枝,葶苈子→黄芪	16.50	89.47	1.25
8	黄芪,人参→丹参	21.36	78.57	1.21	20	川芎,丹参→黄芪	16.50	77.27	1.08
9	麦冬→丹参	20.39	84.00	1.29	21	益母草→丹参	15.53	88.89	1.37
10	赤芍→黄芪	19.42	76.92	1.07	22	茯苓,葶苈子→黄芪	15.53	84.21	1.17
11	丹参,茯苓→黄芪	19.42	76.92	1.07	23	丹参,葶苈子→黄芪	15.53	76.19	1.06
12	党参→黄芪	18.45	79.17	1.10	24	川芎,当归→黄芪	15.53	84.21	1.17

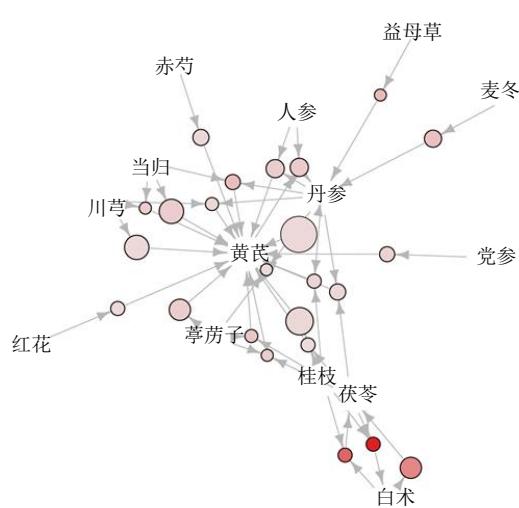


图3 高频中药关联规则分析网状图

Fig. 3 Network diagram of association rule analysis of high frequency TCMs

1.2.4 聚类分析 聚类分析共得到4个新方,见图4,图中方框内药物代表新方组成。

2 网络药理学

2.1 资料与方法

2.1.1 核心药物活性成分筛选及靶点基因预测 对数据挖掘得到的核心中药,以中药名为关键词检索

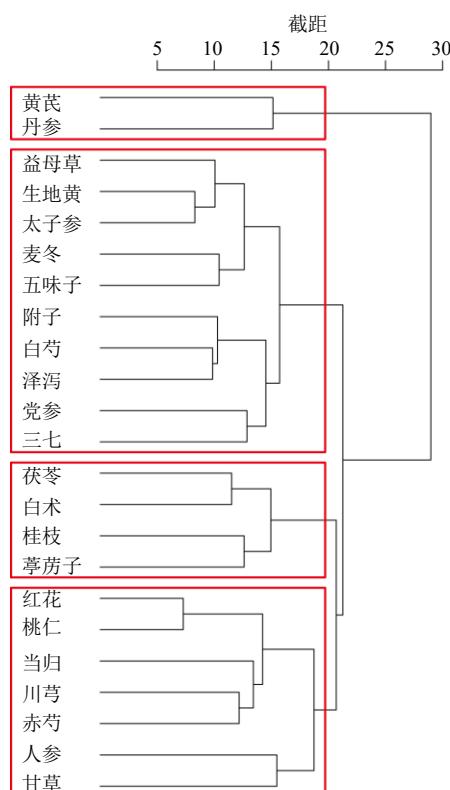


图4 高频药物聚类分析树状图

Fig. 4 Dendrogram of cluster analysis of high frequency TCMs

TCMSP 数据库 (<http://tcmspw.com/tcmsp.php>)，以口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和药物相似性 (drug-likeness, DL) ≥ 0.18 为条件进行筛选获得有效成分及对应的靶点，然后利用 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 对靶点进行规范。

2.1.2 HFPEF 疾病靶点筛选 设置检索词为 “heart failure with preserved ejection fraction”，物种为 “Homo sapiens”，检索 GEO (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)、Genecards (<https://www.genecards.org/>) 和 OMIM (<https://omim.org/>) 数据库，将 3 个数据库所得的相关靶点合并、去重得到 HFPEF 疾病靶点。对 GEO 数据库中获得的数据集，使用 R 4.1.2 中 “limma” 包获取差异基因，设置 $P < 0.05$ 和 $\log_2 \text{fold change}$ (FC) 绝对值 > 0.5 作为筛选差异基因的阈值，由火山图和热图展示。

2.1.3 交集靶点筛选 使用 R 4.1.2 中 “venn” 包将药物有效成分靶点与疾病靶点取交集得到中药治疗 HFPEF 的靶点。

2.1.4 基因本体论 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析 使用 R 4.1.2 中 “org.Hs.eg.db” “enrichplot” “GOpot” “clusterProfiler” “stringi” “digest” “colorspace” “ggplot2” 软件包对交集基因进行 GO 和 KEGG 富集分析，均以 $P < 0.01$ 为筛选条件，以获取交集基因富集的主要功能和代谢通路，结果以圈图可视化。

2.1.5 药物-成分-靶点网络构建及关键成分筛选 将得到的药物-成分、成分-靶点、交集靶点等数据导入 Cytoscape 3.9.1 构建药物-成分-靶点调控网络，使用 Network Analyzer 模块进行拓扑分析，并根据节点连接度值 (degree) 大小筛选出 top10 的有效成分作为关键有效成分。

2.1.6 蛋白互作网络 (protein-protein interaction, PPI) 构建及核心靶点查找 将交集靶点提交至 String 11.5 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)，生物种类设为 “Homo sapiens”，最小作用阈值为 “highest confidence” (> 0.9)，得到 PPI；然后将 TSV 格式的结果导入 Cytoscape 3.9.1，使用 CytoNCA 插件进行网络核心查找，通过计算网络节点的介度中心性 (betweenness centrality, BC)、紧密度中心性 (closeness centrality, CC)、degree、特征向量中心性 (eigenvector centrality, EC)、局部平均连通度 (local average connectivity, LAC) 和网络中心性 (network

centrality, NC) 进行筛选，若某一靶点在上述 6 项结果均大于中位数则保留，否则删除，筛选 2 次后得到 PPI 网络核心靶点。

2.1.7 分子对接 从 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 得到 “2.1.5” 中关键成分的 2D 结构 (sdf 格式)，利用 ChemBio3D Ultra 14.0.0.117 软件进行结构优化并转化为 3D 结构 (mol2 格式)，再通过 AutoDockTools-1.5.7 软件转化为 pdbqt 格式文件，作为配体；从 PDB (<http://www.rcsb.org/>) 得到 “2.1.6” 项中关键靶点的 PDB 文件，后使用 PyMOL 软件去掉其水分子和配体，再使用 AutoDockTools-1.5.7 软件进行加氢和转化为 pdbqt 格式文件等操作，并确定活性口袋，作为受体。最后使用 vina 软件对配体和受体进行分子对接，计算结合能，使用 GraphPad Prism 8 软件绘制结合能热图，使用 PyMOL 软件对分子对接结果可视化。

2.2 结果

2.2.1 药物有效成分和对应靶点 筛选共获得黄芪有效成分 20 个、丹参有效成分 65 个，对应的相关靶点共 216 个。具体有效成分见表 2。

2.2.2 HFPEF 疾病靶点 GEO 数据库中数据集 (GSE192886) 经差异基因表达分析得出 243 个疾病靶点，见图 5；在 GeneCards 数据库按照相关度大于 2 进行筛选获得 1343 个疾病靶点；OMIM 数据库获得 278 个疾病靶点。将以上所得靶点取合集并去重后，共获得疾病靶点 1696 个。

2.2.3 药物-疾病交集靶点 将疾病靶点与药物靶点进行匹配映射，共获得 117 个交集靶点。

2.2.4 GO、KEGG 富集分析 117 个交集靶点共得到 GO 条目 2034 条，其中生物学进程 (biological process, BP) 1831 条、细胞组分 (cellular component, CC) 69 条、分子功能 (molecular function, MF) 134 条，靶点主要参与对氧化应激的反应、对脂多糖的反应、对活性氧的反应等生物过程；共得到 KEGG 条目 140 条，主要富集在糖尿病并发症、脂质和动脉粥样硬化等通路。见图 6。

2.2.5 药物-成分-靶点网络 药物-成分-靶点调控网络见图 7，图中中药有效成分和相关靶点为节点，其相互关系为边。根据 degree 筛选出的关键成分为槲皮素 (quercetin)、木犀草素 (luteolin)、山柰酚 (kaempferol)、丹参酮 II_A (tanshinone II_A)、7-O-甲基-异微凸剑叶莎醇 (7-O-methylisomucronulatol)、二氢丹参内酯 (dihydro-tanshinolactone)、刺芒柄花素 (formononetin)、隐丹参

表2 黄芪和丹参中的化学成分

Table 2 Active components in *Astragalus Radix* and *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*

中药	MOL ID	化学成分	OB/%	DL
丹参	MOL001601	1,2,5,6-tetrahydrotanshinone	38.75	0.36
丹参	MOL001659	Poriferasterol	43.83	0.76
丹参	MOL001771	poriferast-5-en-3beta-ol	36.91	0.75
丹参	MOL001942	isoimperatorin	45.46	0.23
丹参	MOL002222	sugiol	36.11	0.28
丹参	MOL002651	dehydrotanshinone II _A	43.76	0.40
丹参	MOL002776	baicalin	40.12	0.75
丹参	MOL000569	digallate	61.85	0.26
丹参	MOL000006	luteolin	36.16	0.25
丹参	MOL006824	α-amyrin	39.51	0.76
丹参	MOL007036	5,6-dihydroxy-7-isopropyl-1,1-dimethyl-2,3-dihydrophenanthren-4-one	33.77	0.29
丹参	MOL007041	2-isopropyl-8-methylphenanthrene-3,4-dione	40.86	0.23
丹参	MOL007045	3α-hydroxytanshinone II _A	44.93	0.44
丹参	MOL007048	(E)-3-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxy-benzofuran-4-yl]acrylic acid	48.24	0.31
丹参	MOL007049	4-methylenemiltirone	34.35	0.23
丹参	MOL007050	2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-3-benzofurancarboxaldehyde	62.78	0.40
丹参	MOL007051	6-O-syringyl-8-O-acetyl shanzhiside methyl ester	46.69	0.71
丹参	MOL007058	formyltanshinone	73.44	0.42
丹参	MOL007059	3-beta-hydroxymethylenetanshiquinone	32.16	0.41
丹参	MOL007061	methylenetanshiquinone	37.07	0.36
丹参	MOL007063	przewalskin a	37.11	0.65
丹参	MOL007064	przewalskin b	110.32	0.44
丹参	MOL007068	przewequinone B	62.24	0.41
丹参	MOL007069	przewequinone c	55.74	0.40
丹参	MOL007070	(6S,7R)-6,7-dihydroxy-1,6-dimethyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-dione	41.31	0.45
丹参	MOL007071	przewequinone f	40.31	0.46
丹参	MOL007077	sclareol	43.67	0.21
丹参	MOL007079	tanshinaldehyde	52.47	0.45
丹参	MOL007081	danshenol B	57.95	0.56
丹参	MOL007082	danshenol A	56.97	0.52
丹参	MOL007085	salvilenone	30.38	0.38
丹参	MOL007088	cryptotanshinone	52.34	0.40
丹参	MOL007093	danshexinkum d	38.88	0.55
丹参	MOL007094	danshenSpiroketalactone	50.43	0.31
丹参	MOL007098	deoxyneocryptotanshinone	49.4	0.29
丹参	MOL007100	dihydrotanshinlactone	38.68	0.32
丹参	MOL007101	dihydrotanshinone I	45.04	0.36
丹参	MOL007105	epidanshenSpiroketalactone	68.27	0.31
丹参	MOL007107	(4bS,8aS)-4b,8,8-trimethyl-2-propan-2-yl-5,6,7,8a,9,10-hexahydrophenanthren-3-ol	36.07	0.25
丹参	MOL007108	isocryptotanshi-none	54.98	0.39
丹参	MOL007111	isotanshinone II	49.92	0.40
丹参	MOL007115	manool	45.04	0.20
丹参	MOL007118	microstegiol	39.61	0.28

续表2

中药	MOL ID	化学成分	OB/%	DL
丹参	MOL007119	miltionone I	49.68	0.32
丹参	MOL007120	miltionone II	71.03	0.44
丹参	MOL007121	miltipolone	36.56	0.37
丹参	MOL007122	miltirone	38.76	0.25
丹参	MOL007123	miltirone II	44.95	0.24
丹参	MOL007124	neocryptotanshinone II	39.46	0.23
丹参	MOL007125	neocryptotanshinone	52.49	0.32
丹参	MOL007127	1-methyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[5,6-g]benzofuran-6,10,11-trione	34.72	0.37
丹参	MOL007130	prolithospermic acid	64.37	0.31
丹参	MOL007132	(2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[Z]-3-(3,4-dihydroxyphenyl)acryloyl]oxy-propionic acid	109.38	0.35
丹参	MOL007140	(Z)-3-[2-[(E)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)vinyl]-3,4-dihydroxy-phenyl]acrylic acid	88.54	0.26
丹参	MOL007141	salvianolic acid G	45.56	0.61
丹参	MOL007142	salvianolic acid J	43.38	0.72
丹参	MOL007143	salvilenone I	32.43	0.23
丹参	MOL007145	salviolone	31.72	0.24
丹参	MOL007149	podocarpa-8,11,13-trien-7-one, 12-hydroxy-13-isopropyl- (8CI)	34.49	0.28
丹参	MOL007150	(6S)-6-hydroxy-1-methyl-6-methylol-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-quinone	75.39	0.46
丹参	MOL007151	tanshindiol B	42.67	0.45
丹参	MOL007152	przewaqinone E	42.85	0.45
丹参	MOL007154	tanshinone II _A	49.89	0.40
丹参	MOL007155	(6S)-6-(hydroxymethyl)-1,6-dimethyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-dione	65.26	0.45
丹参	MOL007156	tanshinone VI	45.64	0.30
黄芪	MOL000211	mairin	55.38	0.78
黄芪	MOL000239	jaranol	50.83	0.29
黄芪	MOL000296	hederagenin	36.91	0.75
黄芪	MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yloctan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	36.23	0.78
黄芪	MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31
黄芪	MOL000371	3,9-di-O-methylnissolin	53.74	0.48
黄芪	MOL000374	5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di-O-glucoside	41.72	0.69
黄芪	MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.30
黄芪	MOL000379	9,10-dimethoxypterocarpan-3-O-β-D-glucoside	36.74	0.92
黄芪	MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	64.26	0.42
黄芪	MOL000387	bifendate	31.10	0.67
黄芪	MOL000392	formononetin	69.67	0.21
黄芪	MOL000398	isoflavanone	109.99	0.30
黄芪	MOL000417	calycosin	47.75	0.24
黄芪	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
黄芪	MOL000433	folic acid	68.96	0.71
黄芪	MOL000438	(3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol	67.67	0.26
黄芪	MOL000439	isomucronulatol-7,2'-di-O-glucosiole	49.28	0.62
黄芪	MOL000442	1,7-dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene	39.05	0.48
黄芪	MOL000098	quercetin	46.43	0.28

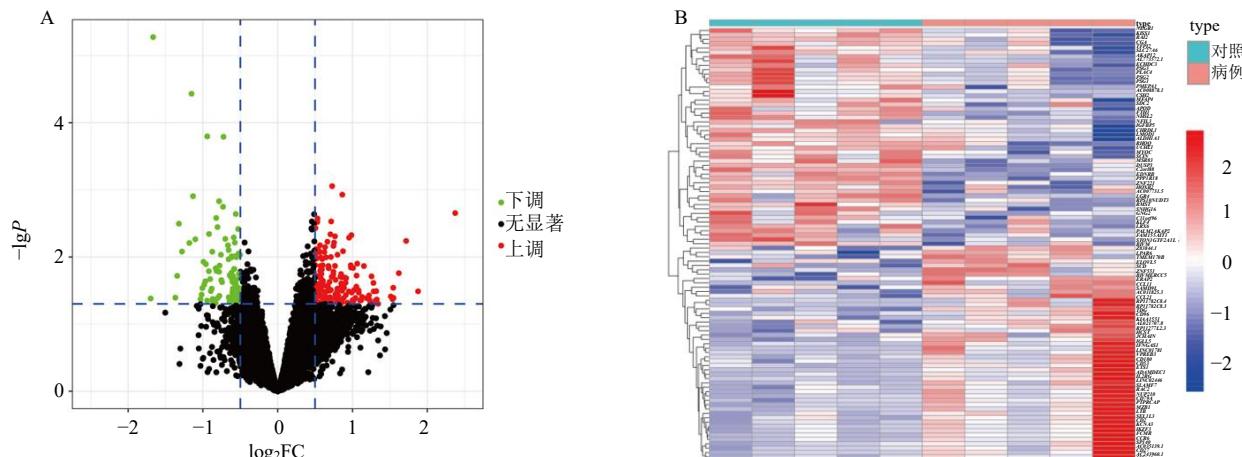


图 5 差异基因表达火山图 (A) 和热图 (B)

Fig. 5 Volcano plot (A) and heat map (B) of differential gene expression

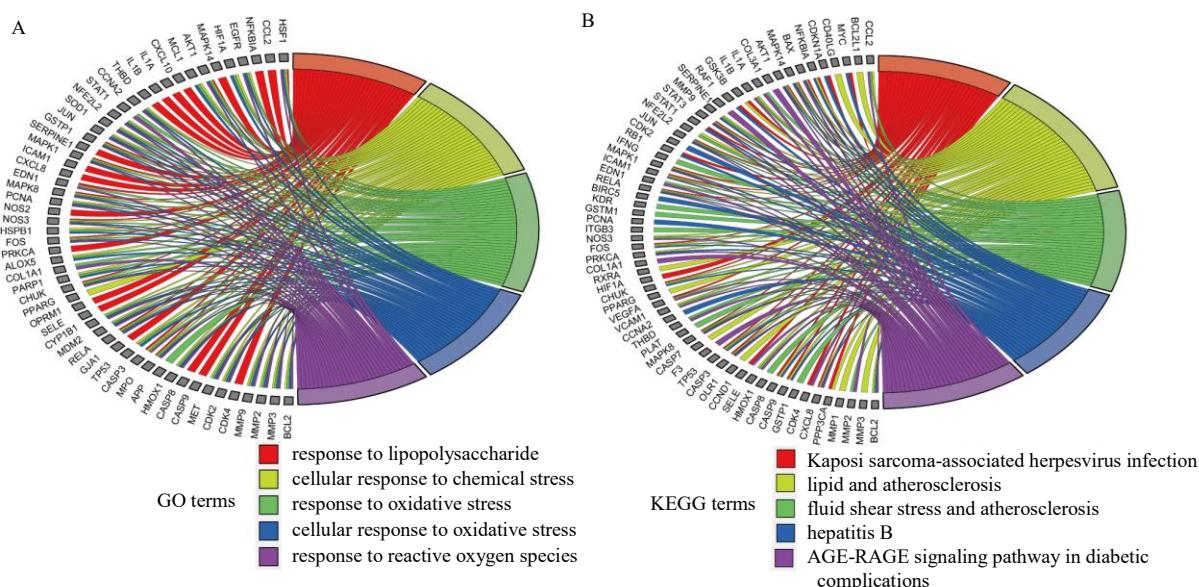


图 6 交集靶点的 GO (A) 和 KEGG (B) 富集分析圈图

Fig. 6 Circle map of GO (A) and KEGG (B) enrichment analysis of intersection target

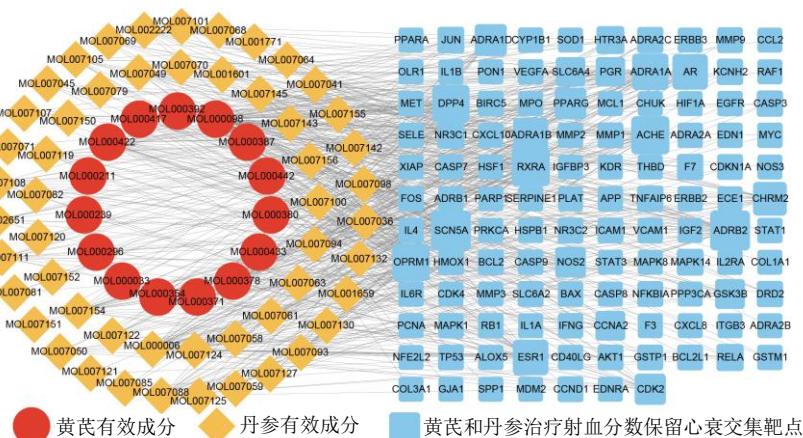


图 7 药物-成分-靶点网络图

Fig. 7 Drug-component-target network diagram

酮(cryptotanshinone)、2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮(2-isopropyl-8-methylphenanthrene-3,4-dione)和4-亚甲丹参新酮(4-methylenemiltirone)。

2.2.6 PPI 网络构建及核心靶点 PPI 网络及核心靶点见图 8, 经 2 次筛选后, 共得到 14 个核心靶点。

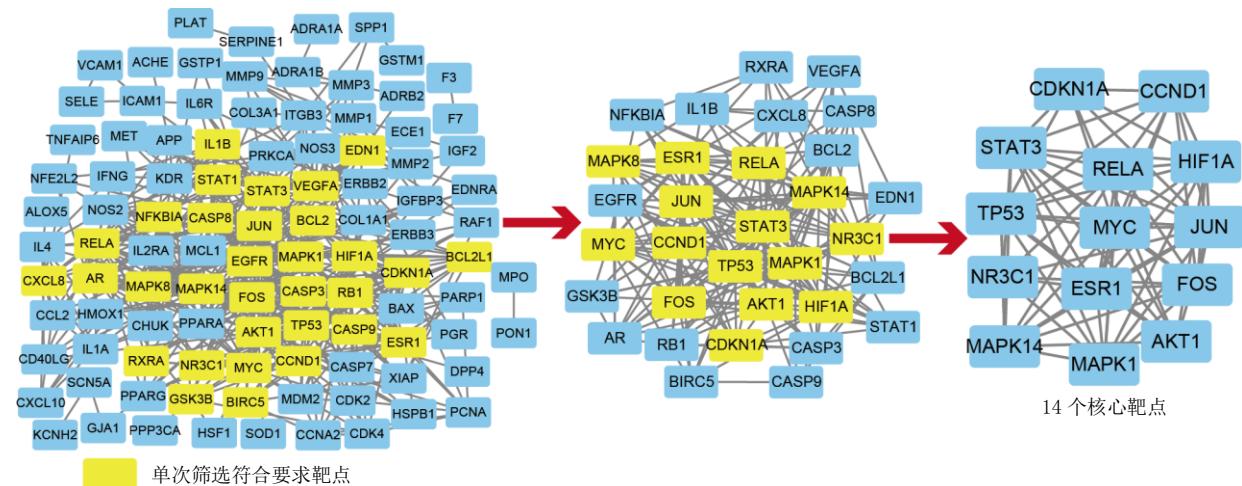


图 8 PPI 网络图

Fig. 8 Network diagram of PPI

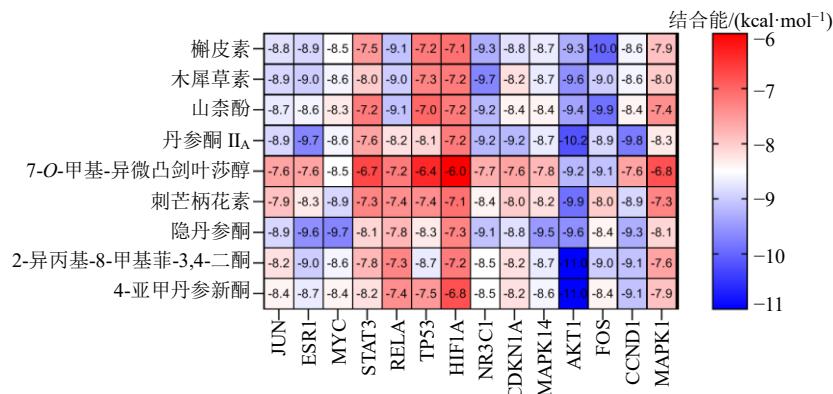


图 9 结合能的热图分析

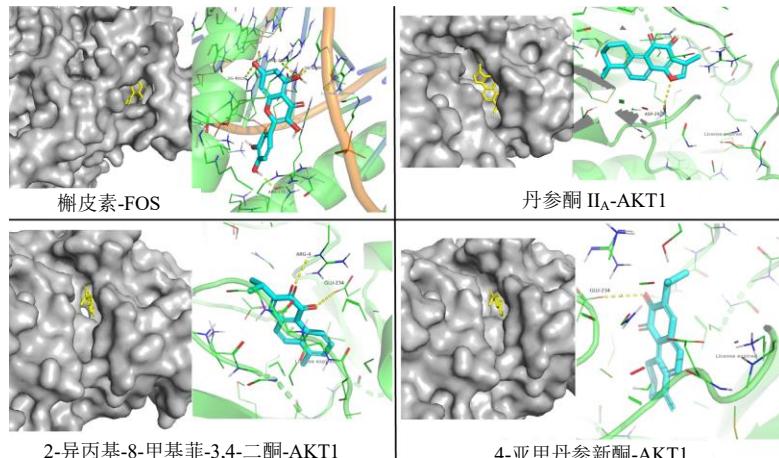
Fig. 9 Thermal diagram analysis of binding affinity

3 讨论

HFPEF 属于中医学“心胀”“心痹”等范畴, 是心力衰竭的一种特殊类型, 专家共识指出心力衰竭为本虚标实之证, 核心病机为“虚”“瘀”“水”, 益气、活血、利水为基本治法, 但对 HFPEF 这一特殊阶段无论述^[5]。近年来有多项研究对该病的用药规律和作用机制进行探索。陈晶晶^[12]对中药治疗 HFPEF 的疗效进行了 Meta 分析, 并对其用药规律和作用机制进行了探讨。但其 Meta 分析纳入颗粒剂、汤剂、中成药等多种形式中药, 结果缺乏针对

2.2.7 分子对接 在 PubChem 中查找所有关键成分结构 sdf 文件, 共找到 9 个, 与 14 个关键靶点进行分子对接, 共得到 126 个对接结果, 各对接结合能均 $\leq -6 \text{ kcal/mol}$ ($1 \text{ kcal} = 4.2 \text{ kJ}$), 表明结合活性均较强, 见图 9。选取结合能最强的 4 个组合进行可视化, 见图 10。

性, 易导致临床选择困难; 且其数据挖掘仅纳入处方 30 首, 多个疗效明确的处方未纳入导致结论可信度较低。黄钰婷等^[13]对该病的用药规律进行了分析, 纳入处方 61 首, 处方数仍相对较少, 且未进行关联规则等深入分析; 在作用机制方面仅进行了简单的文献分析, 且引用文献中的实验对象并非 HFPEF, 与实际差距较大。本研究弥补上述研究不足, 将数据挖掘、网络药理学和分子对接有机结合, 通过对 103 首处方深入挖掘其用药规律和核心中药, 运用网络药理学和分子对接探究其作用机制,



左图为配体分子与靶点结合位置；右图为配体与靶点具体结合方式，彩色线条为配体周围的小分子，黄色虚线为结合氢键
Left side of the figure shows the binding position between the ligand molecule and the target; Right side of the figure shows specific binding method between the ligand and the target; Colored lines represent small molecules within 5A around the ligand, while the yellow dashed lines represent hydrogen bonding

图 10 关键成分与核心靶点分子对接可视化

Fig. 10 Visualization of molecular docking between key ingredients and core target

从多方面对中药治疗 HFPEF 的用药规律进行综合分析，探索中药治疗 HFPEF 的核心内涵。数据挖掘发现使用频率最高的为黄芪（71.8%）和丹参（65.0%），黄芪为治气虚之要药，而丹参为活血化瘀要药。中药功效同样以补气药和活血化瘀药为主，其次是温里药和利水渗湿药，而温里药在本病治疗中多起温阳利水的作用。针对药性分析结果看，用药多为寒热并用；药味以甘味最多，而甘味主补；归经则多归心、肺和脾经。关联规则分析中，黄芪配伍丹参使用频率远高于其他组合，两药相配，益气活血，兼能利水，符合 HFPEF 的病机。由图 3 可知，黄芪为最核心的用药，其次是丹参。聚类分析方 1 亦为黄芪和丹参，其截距接近 30，为组方的基础。综合以上结果显示黄芪和丹参为 HFPEF 治疗的核心用药。黄芪和丹参是治疗心血管病最常用的中药组合之一，为芪参益气滴丸的主要药物组成，多项临床研究表明芪参益气滴丸治疗 HFPEF 在改善患者纽约心脏病学会（New York Heart Association, NYHA）心功能分级疗效、心脏舒张功能及运动耐量等方面疗效明确，在一定程度上肯定了本研究结果^[14]。置信度最高的组合为丹参、当归配伍黄芪，寓意补气生血、活血化瘀。提升度最高的组合为茯苓、桂枝配伍白术，亦为方 3 的主要组成，表明这 3 味药关系密切，为苓桂术甘汤主要组成，主温阳化饮、健脾利湿，适用于兼中阳不足、痰饮内停者。方 2 为益气、活血、滋阴、利水等药

物，根据患者情况辨证选择。方 4 为桃红四物汤加减，以祛瘀为核心，辅以养血、益气、行气等，适用于血瘀较重的患者。综合以上结果可以看出，HFPEF 治则以益气活血为主，辅以温阳利水。

HFPEF 发病机制复杂，可能与左室舒张功能不全、血管硬化、内皮功能不全、容量超负荷、微循环障碍、脂肪和糖代谢异常等有关；若上升到分子细胞层面，则可能与氧化应激、心肌肥大、心肌纤维化、线粒体和代谢缺陷、炎症反应等有关^[15-16]。化学药大多数作用靶点较为局限，这也可能是目前化学药治疗效果不明显的原因，而中药治疗疾病通过多成分、多靶点，可能是治疗该病的潜在优势所在。网络药理学研究发现黄芪和丹参中槲皮素、木犀草素、山柰酚、丹参酮II_A 和隐丹参酮等成分通过作用于蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT1)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)、信号传导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 等 117 个靶点治疗 HFPEF。实验研究表明槲皮素可通过调节 AKT1、MAPK 等途径发挥心肌细胞抗氧化应激和改善心衰的病理变化的作用^[17-18]。木犀草素通过调节 STAT3 和 STAT6 影响巨噬细胞极化以抑制炎症^[19]。丹参酮II_A 可通过调控磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K) /Akt/Janus 激酶 2 (Janus kinase, JAK2) /STAT3 等途径产生抗氧化应激、改善内皮功能、抗心室重构等心

肌保护作用^[20]。隐丹参酮可通过 Akt-糖原合成酶激酶 3β (glycose synthase kinase 3β, GSK-3β) 和一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) /蛋白偶联受体激酶 2(G-protein coupled receptor kinase 2, GRK2) 途径改善氧化应激和细胞凋亡^[21-22]。GO 和 KEGG 富集分析显示主要与氧化应激、糖脂代谢、动脉粥样硬化等相关。实验研究证实, 黄芪和丹参中的主要活性成分有良好的抗氧化应激、抗动脉粥样硬化和调整糖脂代谢的作用^[23-24]。分子细胞层面研究显示槲皮素可通过 MAPK 途径减轻氧化应激对心肌细胞的损伤^[18]。山柰酚和木犀草素可通过调节核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid2-related factor 2, Nrf2) 抗氧化应激, 山柰酚还可调节 Akt/GSK-3β 通路调节糖脂代谢^[25-26]。丹参酮IIA 可抑制核因子-κB (nuclear factor-κB, NF-κB) 信号通路和 MAPK 信号通路, 产生抗动脉粥样硬化的作 用; 还可通过调节 Nrf2 通路、Kelch 样 ECH 关联蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 活性和还原型辅酶 II (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 氧化酶活性产生抗 氧化应激作用^[27-28]。表明本研究结果与实验研究结 果较为一致。分子对接显示, 关键成分和核心靶点可稳定结合, 肯定了网络药理学的结果。氧化应激、炎 症、内皮功能不全、心室重构、糖脂代谢异常和粥 样硬化等是 HFPEF 的核心发病机制, 表明核心 中药可有效针对 HFPEF 病机^[15-16]。

本研究亦存在不足, 数据挖掘未对所纳入文献 进行质量评价, 因此可能混杂有质量较低的文献。 网络药理学采用 TCMSP 和 Genecards 等数据库进 行分析, 中药的活性成分以及 HFPEF 靶点极多, 很 多活性成分和靶点未被发现, 公共数据库虽然丰富, 但可能仅是一部分, 且未进行动物实验验证。因此 得出的核心中药作用机制有一定局限性和预测性, 仍可能存在潜在的、未经明确的治疗机制。

4 结论

HFPEF 为本虚标实之证, 核心病机为“虚”“瘀” “水”, 尤以虚和瘀最为关键, 益气活血为基本治法, 黄芪配伍丹参为该病治疗的核心用药; 黄芪和丹参 中的槲皮素、木犀草素、山柰酚、丹参酮IIA 等有效 成分通过作用于 AKT1、MAPK、STAT3、磷酸化原癌 基因 (Jun proto-oncogene, JUN)、雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1) 等靶点, 产生调节氧化 应激、糖脂代谢、动脉粥样硬化等作用。该结论可

为 HFPEF 的临床用药及进一步的研究提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] McDonagh T A, Metra M, Adamo M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure [J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(36): 3599-3726.
- [2] Dunlay S M, Roger V L, Redfield M M. Epidemiology of heart failure with preserved ejection fraction [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14(10): 591-602.
- [3] Lam C S P, Voors A A, de Boer R A, et al. Heart failure with preserved ejection fraction: From mechanisms to therapies [J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(30): 2780-2792.
- [4] Mei J, Xu H, Xu F Q, et al. Oral Chinese herbal medicine for heart failure with preserved ejection fraction: A Meta-analysis [J]. *Chin J Integr Med*, 2019, 25(10): 770-777.
- [5] 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]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(2): 133-141.
- [6] 董敬, 彭小芸, 付西, 等. 基于数据挖掘和网络药理学 的中医药治疗肺结节用药规律及作用机制分析 [J]. 中草药, 2022, 53(20): 6544-6557.
- [7] 汤少梁, 贡悦, 冯雨莉, 等. 《伤寒论》治疫方用药规律 分析及核心药对治疗 COVID-19 的作用机制研究 [J]. 中草药, 2023, 54(1): 192-209.
- [8] Li S, Zhang B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: Theory, methodology and application [J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(2): 110-120.
- [9] Li S, Zhang B, Jiang D, et al. Herb network construction and co-module analysis for uncovering the combination rule of traditional Chinese herbal formulae [J]. *BMC Bioinformatics*, 2010, 11(Suppl 11): S6.
- [10] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 1-6.
- [11] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组, 中国医师 协会心力衰竭专业委员会, 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 2018 [J]. 中华 心血管病杂志, 2018, 46(10): 760-789.
- [12] 陈晶晶. 中药治疗射血分数保留性心力衰竭的 meta 分 析和作用机制研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2021.
- [13] 黄钰婷, 张恺, 王笑, 等. 中医药在射血分数保留型心 力衰竭防治研究中的思考 [J]. 中国科学: 生命科学, 2022, 52(6): 840-848.
- [14] Wang M X, Shan Y W, Wu C J, et al. Efficacy and safety of Qishen Yiqi Dripping Pill for heart failure with preserved ejection fraction: A systematic review and meta-analysis [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 626375.
- [15] Omote K, Verbrugge F H, Borlaug B A. Heart failure with preserved ejection fraction: Mechanisms and treatment

- strategies [J]. *Annu Rev Med*, 2022, 73: 321-337.
- [16] Mishra S, Kass D A. Cellular and molecular pathobiology of heart failure with preserved ejection fraction [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(6): 400-423.
- [17] 谭鑫, 鲜维, 陈永峰, 等. 槲皮素治疗心力衰竭的分子机制: 基于网络药理学与分子对接方法 [J]. 南方医科大学学报, 2021, 41(8): 1198-1206.
- [18] 何依津, 张鹏志, 田海月, 等. 槲皮素通过MAPK/ERK1/2信号途径对H9C2细胞抗缺氧损伤的作用 [J]. 第三军医大学学报, 2021, 43(20): 2220-2225.
- [19] Wang S X, Cao M, Xu S H, et al. Luteolin alters macrophage polarization to inhibit inflammation [J]. *Inflammation*, 2020, 43(1): 95-108.
- [20] 高彦宇, 沈芳玲, 李永鑫, 等. 丹参酮IIA对细胞保护作用的研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2021, 48(6): 249-252.
- [21] Wang X P, Sun Q B, Jiang Q Q, et al. Cryptotanshinone ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity by targeting Akt-GSK-3 β -mPTP pathway *in vitro* [J]. *Molecules*, 2021, 26(5): 1460.
- [22] 许佳慧. 隐丹参酮与丹参酚酸类化合物的心肌保护作用及对eNOS/GRK2的调节作用 [D]. 郑州: 郑州大学, 2019.
- [23] 冯科冉, 李伟霞, 王晓艳, 等. 丹参化学成分、药理作用及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(2): 609-618.
- [24] 马艳春, 胡建辉, 吴文轩, 等. 黄芪化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药学报, 2022, 50(4): 92-95.
- [25] Zhang L, Guo Z X, Wang Y, et al. The protective effect of kaempferol on heart via the regulation of Nrf2, NF- κ B, and PI3K/Akt/GSK-3 β signaling pathways in isoproterenol-induced heart failure in diabetic rats [J]. *Drug Dev Res*, 2019, 80(3): 294-309.
- [26] Li L, Luo W, Qian Y Y, et al. Luteolin protects against diabetic cardiomyopathy by inhibiting NF- κ B-mediated inflammation and activating the Nrf2-mediated antioxidant responses [J]. *Phytomedicine*, 2019, 59: 152774.
- [27] Yan S H, Zhao N W, Geng Z R, et al. Modulations of Keap1-Nrf2 signaling axis by TIIA ameliorated the oxidative stress-induced myocardial apoptosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 115: 191-201.
- [28] Tan X, Li J, Wang X, et al. Tanshinone II A protects against cardiac hypertrophy via inhibiting calcineurin/NFATc3 pathway [J]. *Int J Biol Sci*, 2011, 7(3): 383-389.

[责任编辑 潘明佳]