

DOI:10.16720/j.cnki.tcyj.2022.064

基于网络药理学探讨人参治疗房颤的作用机制

阚晨静^{1,2},高磊^{1,2},陈昕^{1,2},徐盛松^{1,2,3},石开虎^{1,2*}(1.南京中医药大学附属中西医结合医院心胸外科,江苏南京210028;2.江苏省中医药研究院,江苏南京210028;
3.安徽医科大学第二附属医院心胸外科,安徽合肥230601)

摘要: 基于网络药理学探讨人参治疗心房颤动(房颤, atrial fibrillation, AF)的分子机制。通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)和Uniprot数据库以及中药分子机制生物信息学工具(BATMAN-TCM)获取人参的作用靶点;通过DrugBank、OMIM、DisGenet、TTD及GeneCards数据库获取房颤的相关靶点;运用String 11.0数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,并利用Cytoscape 3.7.1软件构建“药物-疾病-靶蛋白”相互作用网络并筛选核心靶点;通过DAVID数据库对人参作用于AF的靶点进行基因本体(GO)分析及京都基因与基因组数据库(KEGG)通路富集分析。结果显示,筛选得到人参靶点507个,房颤靶点2176个;取交集得到人参与房颤相关靶点190个,核心靶点15个,KEGG富集信号通路129个。人参可通过cGMP-PKG信号通路、cAMP信号通路、TNF信号通路和心肌细胞肾上腺素信号转导等调控离子通道、抑制炎症、调控细胞凋亡、抑制心肌纤维化与心脏重塑以及调节自主神经方面发挥治疗房颤的作用。

关键词: 人参;心房颤动;网络药理学;分子机制

中图分类号:R285

文献标识码:A

文章编号:1001-4721(2022)03-0032-11

Exploration Mechanism of *Panax ginseng* C. A. Mey. in the Treatment of Atrial Fibrillation Based on Network Pharmacology

KAN Chen-jing^{1,2}, GAO Lei^{1,2}, CHEN Xin^{1,2}, XU Sheng-song^{1,2,3}, SHI Kai-hu^{1,2*}

(1. Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China; 2. Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China; 3. The Second Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, China)

Abstract: To explore the mechanism of *Panax ginseng* C. A. Mey. in the treatment of atrial fibrillation (AF) by the network pharmacology. The active components and the corresponding targets were collected through TCMSP with Uniprot database and BATMAN-TCM. The related targets of AF were screened through five disease target databases, including DrugBank, OMIM, DisGenet, TTD and GeneCards database. The STRING 11.0 database was used for protein-protein interaction (PPI) network; The Cytoscape 3.7.1 was used to construct the network of “drug-disease-target”. Finally, the gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analysis of key targets were carried out by using the DAVID database. Results showed a total of 190 common targets and 15 key targets related were obtained, including AKT1, TNF, MAPK8, PRKACA, JUN, IL1B, CASP3, etc. Finally, there were 129 KEGG pathways obtained. *Panax ginseng* C. A. Mey. might play a role in treating Atrial Fibrillation by regulating ion channels, suppressing inflammation, regulating apoptosis, inhibiting myocardial fibrosis and cardiac remodeling, and regulating autonomic nerves through Cgmp-pkg signaling pathway, cAMP signaling pathway, TNF signaling pathway, Adrenergic signaling in cardiomyocytes and other signaling pathways.

Key words: *Panax ginseng* C.A. Mey.; atrial fibrillation; network pharmacology; molecular mechanism

收稿日期:2021-12-17

基金项目:江苏省自然科学基金面上项目(BK20191503);江苏省研究生科研创新计划(KYCX211719);江苏省研究生科研创新计划(KYCX201482);江苏省中医药研究院青年科学项目(QNKXYJ202109)

作者简介:阚晨静(1995-),女,江苏省南京市人,在读硕士研究生,从事中西医结合治疗心胸外科疾病研究。

*通讯作者:石开虎(1963-),男,安徽省合肥市人,教授,博士研究生导师,从事中西医结合治疗心胸外科疾病的研究工作。

房颤,是临床中最为常见的心律失常,其发病率随年龄的增长而增长。随着人口老龄化及其危险因素趋势的上升,心房颤动的发病率预计在未来会大幅增长^[1]。房颤临床表现为心悸、眩晕、胸部不适及气短等症状,根据《中西医结合内科学》可将其归为“心悸”范畴^[2],而根据中国中医药学会中医诊断专业委员会的规定,此病在中医学上归属于“心动悸”范畴。心悸、心动悸的名称最早是在汉代张仲景《伤寒杂病论》中提出^[3],其病因是由诸种原因使心脏气机紊乱,心动异常,临床表现为以阵发心悸、胸闷、气短。

人为五加科植物人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)的干燥根、根茎。人参的药用历史有上千年,其抗心律失常的药理作用显著,且毒副作用少,临床应用广泛^[4]。目前主要用于临床治疗房颤的中药方剂中,炙甘草汤、生脉散中均含有人参^[5],生脉散更是以人为君药,而在国家中医药管理局发布的《房颤的分级诊疗技术方案》中推荐的安神定志丸也是以人为君药,此外临床运用治疗房颤的中成药参松养心胶囊、生脉注射液等的主要成分也含有人参,可见人参在房颤的治疗中起到重要作用,但人参治疗房颤的具体作用机制尚不明确。

本研究基于网络药理学,从多向药理学进一步拓展分析人参对房颤的治疗作用靶点以及重要的信号通路,阐明人参在房颤中的作用机制,为后续临床以及基础研究提供一定的思路和依据。

1 资料与方法

1.1 人参的主要成分及靶点预测

登录中药系统药理学数据库(TCMSP, <http://tcmsp.com/tcmsp.php>)^[6],以人参为关键词进行检索,获得人参所有的化学成分,包括化学成分的名字(molecule name)、生物利用度(OB)和类药性(DL)等信息。结合文献研究,将 OB≥30%、DL≥0.18 作为条件,筛选人参的潜在有效成分,并检索所有成分的靶点,利用 Uniprot 数据库(<http://www.uniprot.org/>)^[7]将人参的有效靶点与人类相关基因相对应,获得人参潜在靶点;使用 BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)^[8]平台来预测人参的成分及其潜在作用靶标。将两个数据库所得结果进行整合筛选,得到人参的潜在作用靶点。

1.2 房颤疾病靶点预测

通过在 DrugBank (<https://go.drugbank.com>)^[9]、OMIM (<https://omim.org/>)^[10]、DisGenet (<https://www.disgenet.org/>)^[11]、TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>)^[12] 和 Ge-

neCards (<https://www.genecards.org/>)^[13] 数据库中进行疾病靶点的检索,均以“Atrial Fibrillation”为关键词查找筛选与房颤相关的基因。

1.3 药物成分-疾病靶点网络构建与分析

将人参的靶点和房颤靶点导入在线作图软件 Hiplot (<https://hiplot.com.cn>) 绘制比例韦恩图,取得的交集靶点,即为人参治疗房颤的潜在靶点。筛选整合交集靶点及对应人参成分,将结果导入 Cytoscape 3.7.1,得到人参成分-房颤靶点网络。

1.4 潜在靶点蛋白互作(PPI)网络构建

将药物-疾病交集靶点导入 STRING (<https://www.string-db.org/>)^[14] 数据库进行蛋白质相互作用(PPI)分析,得到人参作用于房颤的蛋白互作网络。

1.5 核心靶点筛选及其PPI网络构建

将所得 PPI 信息导入 Cytoscape 3.7.1,根据连接度(degree)、节点介度(Betweenness Centrality)、连接紧密度(Closeness Centrality)以及平均最短路径(Average Shortest Path Length)筛选出核心靶点,再进行可视化,得到人参作用于房颤的核心靶点蛋白互作网络。

1.6 GO功能分析和KEGG通路富集分析

将药物-疾病交集基因导入 DAVID 6.8 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>)^[15],设置 Select Identifier 为“OFFICIAL_GENE_SYMBOL”、List Type 为“GeneList”进行 GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析,从生物功能及信号通路角度分析人参房颤的作用机制。

2 结果

2.1 人参的潜在作用靶点

通过 TCMSP 数据库收集到人参 195 个化学成分,以 OB≥30%、DL≥0.18 为条件,筛选人参的潜在有效成分 22 个,通过 Uniprot 数据库找到人类相关靶点 107 个,含靶基因的有效成分 17 个。

在 BATMAN-TCM 数据库中输入人参的完整拼音,以 $P < 0.05$, Scorecutoff > 40 为筛选条件进行检索,结果显示,人参的主要化学成分共 293 个,其中 155 个化学成分具有潜在靶点,106 个成分具有 Score cutoff > 39 的靶点。通过 BATMAN-TCM 数据库得到各成分对应的靶点基因,将所得靶点导入 EXCEL 并进行排除重复、合并统计,得到人参所含化学成分涵盖靶点基因共 439 个。

将 TCMSP 和 BATMAN-TCM 两个数据库收集到的靶点取并集,共收集到人参的靶基因共计 507 个,含靶基因化学成分 111 个。

2.2 药物成分—疾病靶点网络构建与分析

通过DrugBank、OMIM、DisGenet、TTD 和 GeneCards 这 5 个数据库检索, 共获取房颤靶标基因 2 176 个; 通过韦恩图(图 1)分析发现, 药物人参与疾病房颤共有 190 个交集基因, 药物—疾病的基因映射率为 37.5%, 表明人参防治房颤存在确切作用靶点, 对房颤的防治作用具有一定特异性。进一步手动筛选人参干预房颤靶点对应的成分, 得到人参干预房颤的有效成分共 94 个, 见表 1。将结果导入Cytoscape 3.7.1, 以 190 个靶基因对应蛋白作为人参治疗房颤的靶点, 建立人参成分—疾病靶点网络图。将靶基因设置为蓝色, 人参

成分设置为黄色, 得到药物成分—疾病网络图, 见图 2。

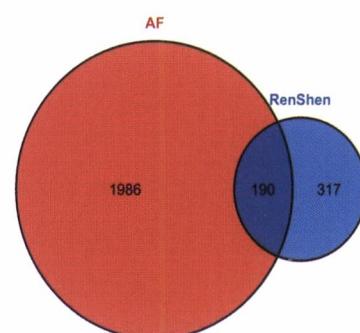


图 1 人参—房颤交集靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of ginseng atrial fibrillation intersection target

表 1 含房颤靶基因的人参化学成分

Table 1 Ginseng chemical constituents containing atrial fibrillation target genes

序号	Number	化学成分	Chemical Composition	序号	Number	化学成分	Chemical Composition
1		16-Oxoseratenediol		48		Gamma-Sitosterol	
2		1-Heptadecanol		49		Ginsenol	
3		1-Tetradecanol		50		Ginsenoside F1	
4		20(R)-Ginsenoside Rg3		51		Ginsenoside La	
5		20(S)-Protopanaxadiol		52		Ginsenoside Rb1	
6		20-Hexadecanoylengenol		53		Ginsenoside Rb2	
7		2-Heptadecanone		54		Ginsenoside Rc	
8		3,5-Dimethyl-4-Methoxybenzoic Acid		55		Ginsenoside Rd	
9		Adenine		56		Ginsenoside Re	
10		Adenosine		57		Ginsenoside Rg1	
11		Adenosine Triphosphate		58		Ginsenoside Rg3	
12		alexandrin_qt		59		Ginsenoside Rh2	
13		Alpha-Cadinol		60		Ginsenoside-La	
14		Alpha-Farnesene		61		Ginsenoside-Rh1	
15		Alpha-Guriunene		62		Ginsenoside-Rh4_qt	
16		Aposcopolamine		63		Girinimbina	
17		Aposiopalamine		64		Guanosine	
18		arachidonate		65		Hexadecanoic Acid	
19		Araloside A		66		Humulene	
20		Argininyl-Fructosyl-Glucose		67		Inermin	
21		Beta-Bisabolene		68		kaempferol	
22		Beta-Elemene		69		Malonylginsenoside Rc	
23		Beta-Humulene		70		Malonylginsenoside Rd	
24		Beta-Santalol		71		Maltose	
25		Beta-Selinene		72		Malvic Acid	
26		beta-sitosterol		73		Mannose	
27		Bicyclogermacrene		74		Menthyl Acetate	
28		Biotin		75		Methyl Palmitate	
29		Calarene		76		N-Octane	
30		Campesterol		77		Notoginsenoside R1	
31		Chikusetsusaponin Iii		78		Notoginsenoside R2	
32		Chikusetsusaponin Iv		79		Notoginsenoside R4	
33		Choline		80		Octanal	
34		Citronellal		81		Palmitoleic Acid	
35		Dauricine		82		Panaxadiol	
36		Delta-Elemene		83		Putrescine	
37		Delta-Guaiene		84		Stigmasterol	
38		Deoxyharringtonine		85		suchilactone	
39		Dianthramine		86		Sucrose	
40		Dibutyl Oxalate		87		Tauremisin	
41		Dibutyl Phthalate		88		Tetradecane	
42		Diop		89		Trans-Caryophyllene	
43		Elemicin		90		Tridecanoic Acid	
44		Epsilon-Cadinene		91		Uridine	
45		Frutinone A		92		Vitamin B12	
46		Fumarine		93		Widdrol	
47		Gamma-Selinene		94		Xylose	

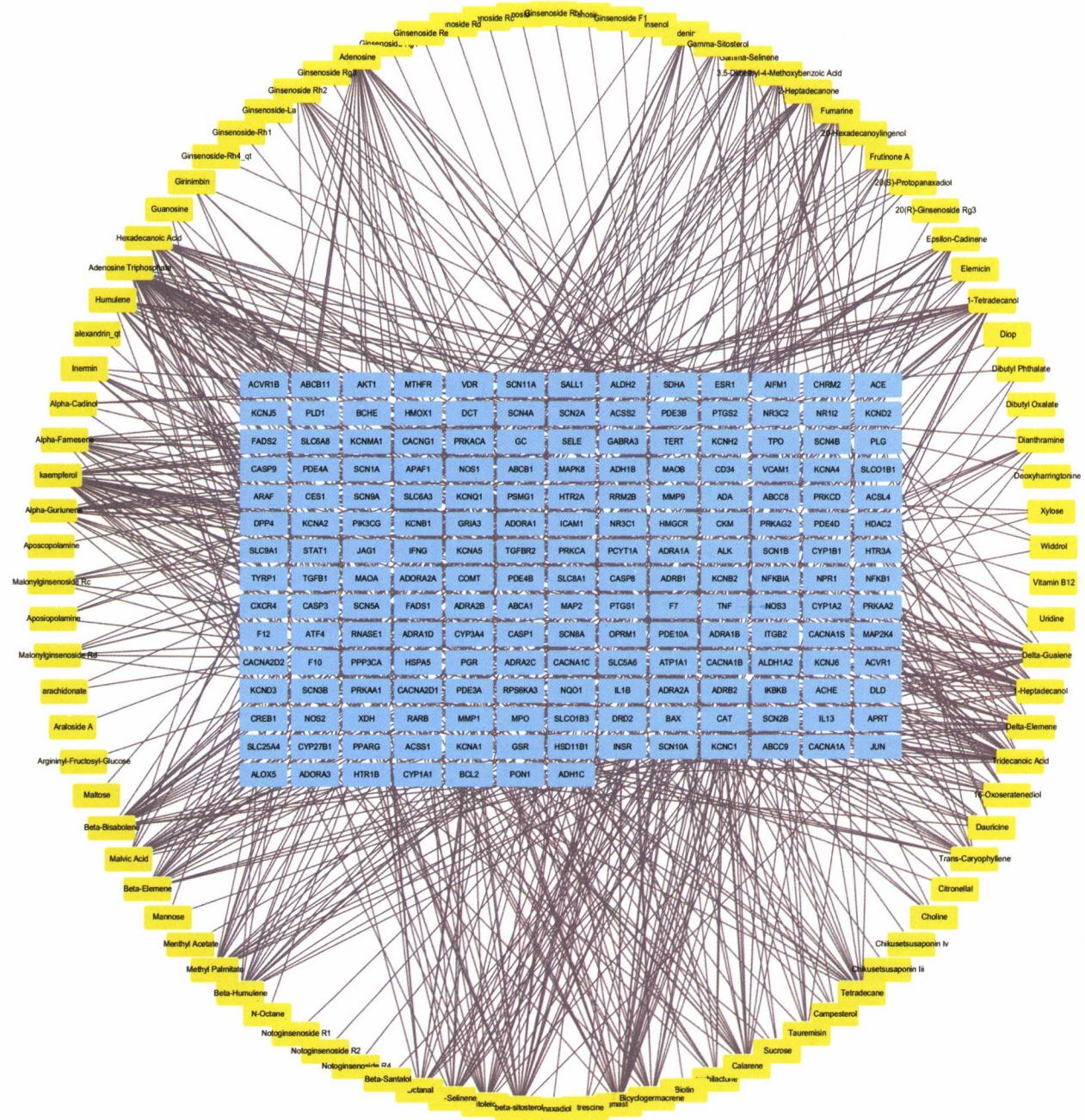


图 2 药物成分-疾病靶点网络图

Fig. 2 Drug component–disease target network diagram

2.3 潜在靶蛋白相互作用网络构建

将药物-疾病交集基因编码蛋白导入 STRING 数据库, 设置物种为“Homo sapiens”, 最低相互作用评分为高置信度“highconfidence(0.700)”, 不显示网络中的单一节点, 其余参数保持默认, 获取蛋白互作关系, 得到药物-疾病交集作用靶蛋白互作网络图(图 3), 图中节点表示蛋白, 连线表示蛋白之间的关联, 人参-房颤交集作用蛋白共涉及 190 个节点, 629 条连线。

2.4 核心靶点筛选及其PPI网络构建

将所得 PPI 信息导入 Cytoscape 3.7.1, 筛选出连

接度(degree)值大于2倍数均值($Degree > 14.7$)的靶点,再根据节点介度(Betweenness Centrality, BC)和连接紧密度(Closeness Centrality, CC)大于均值($BC > 0.02$, $CC > 0.329$);平均最短路径(Average Shortest Path Length, ASPL)小于均值($ASPL < 3.352$)筛选得到15个核心靶点,包括AKT1、TNF、MAPK8、PRKACA、JUN、IL1B和CASP3等,提取核心网络,如图4。图中橙色圆圈表示核心靶点,其半径越大表示该靶点的degree值越大。

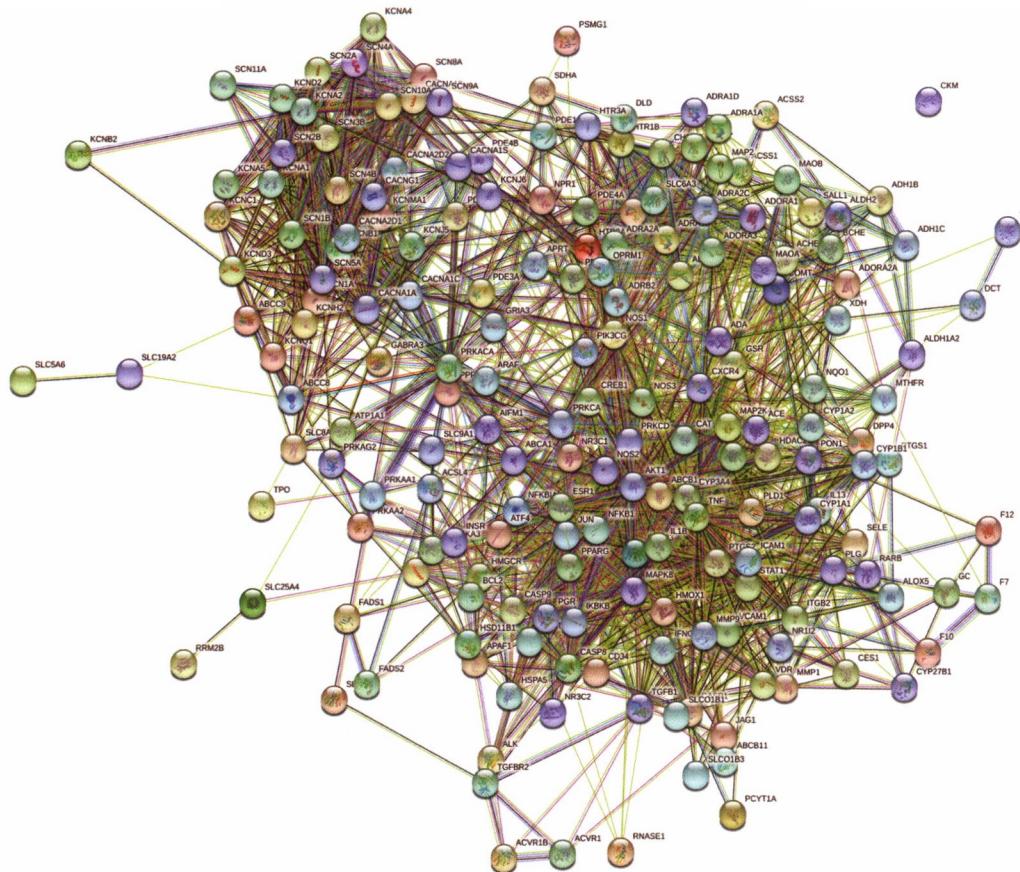


图3 人参治疗房颤潜在作用靶点 PPI 网络图

Fig. 3 PPI network diagram of potential targets of ginseng in the treatment of atrial fibrillation

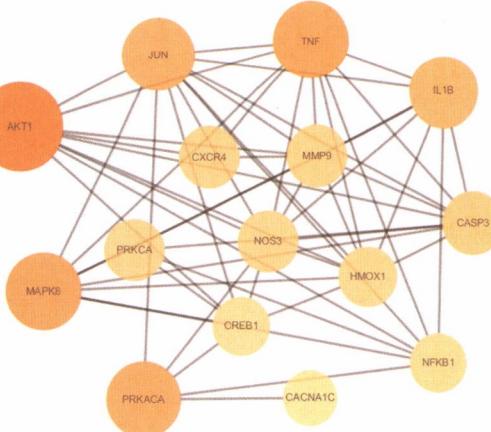
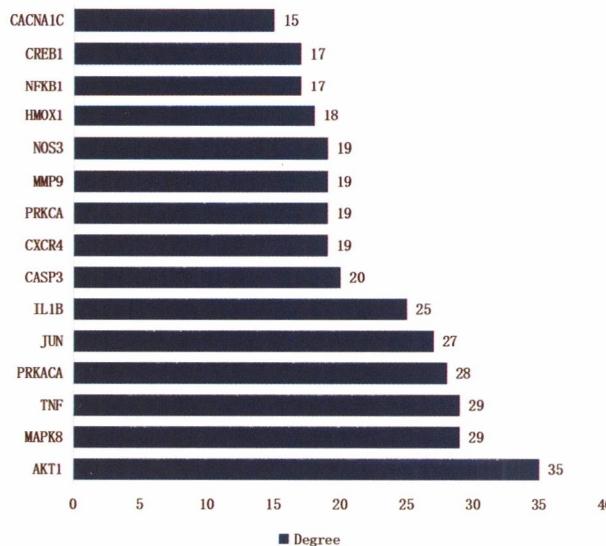


图4 人参治疗房颤核心靶点及 PPI 网络

Fig. 4 Core targets and PPI network of ginseng in the treatment of atrial fibrillation

2.5 GO功能分析结果

对药物-疾病交集基因进行GO功能分析,以 $P < 0.05$ 为基准筛选,共获得681个功能富集,根据P值选取前10的信息进行可视化。药物-疾病交集基因GO功能分析提示,人参活性成分主要通过对药物的

反应、调节离子跨膜转运、动作电位时膜去极化、突触后膜电位的调节、对缺氧的反应、衰老、钠离子跨膜转运、通过心脏传导调节心率、神经元动作电位和对脂多糖的反应等参与生物过程(Biological Processes)(图5)。

在分子功能(Molecular Functions)方面(图6),主

要涉及电压门控钠通道活性、酶结合、延迟整流钾通道活动、离子通道结合、药物结合、氧化还原酶活性、血红素结合、电压门控钾离子通道活性、黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)结合和支架蛋白结合等。

在细胞组成(Cellular Components)方面(图7),主要和电压门控钠通道复合物、质膜、电压门控钾通道复合物、质膜的组成部分、质膜穴样内陷、横小管、电压门控钙通道复合物、肌膜炎、细胞膜膜筏和闰盘等相关。

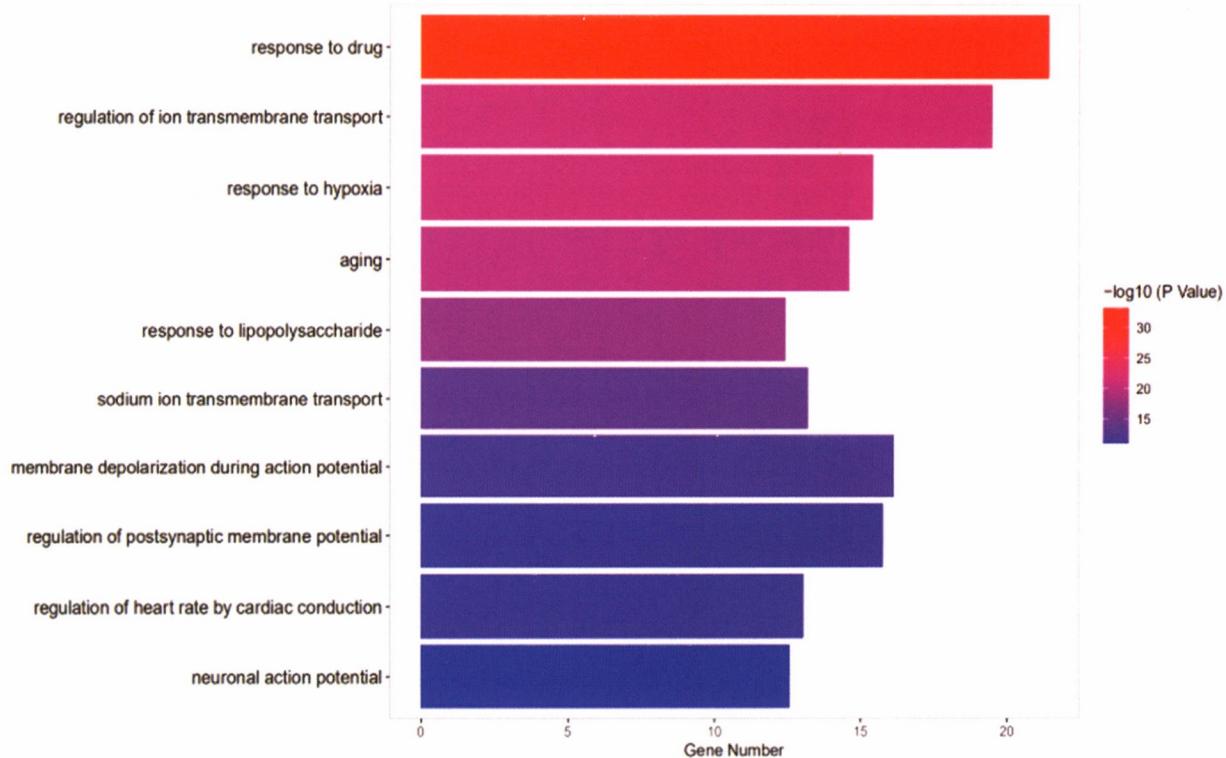


图5 人参治疗房颤的生物过程富集分析

Fig. 5 Biological Processes enrichment analysis of ginseng in the treatment of atrial fibrillation

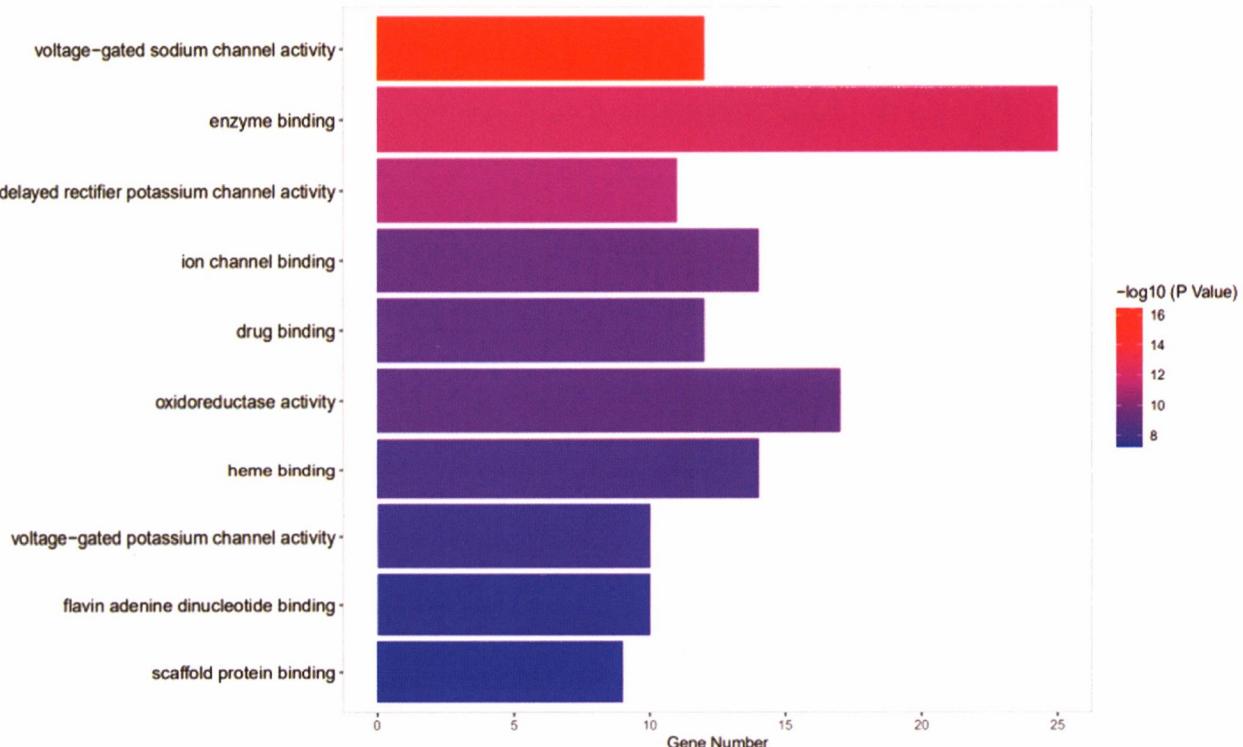


图6 人参治疗房颤分子功能富集分析

Fig. 6 Molecular Functions enrichment analysis of ginseng in the treatment of atrial fibrillation

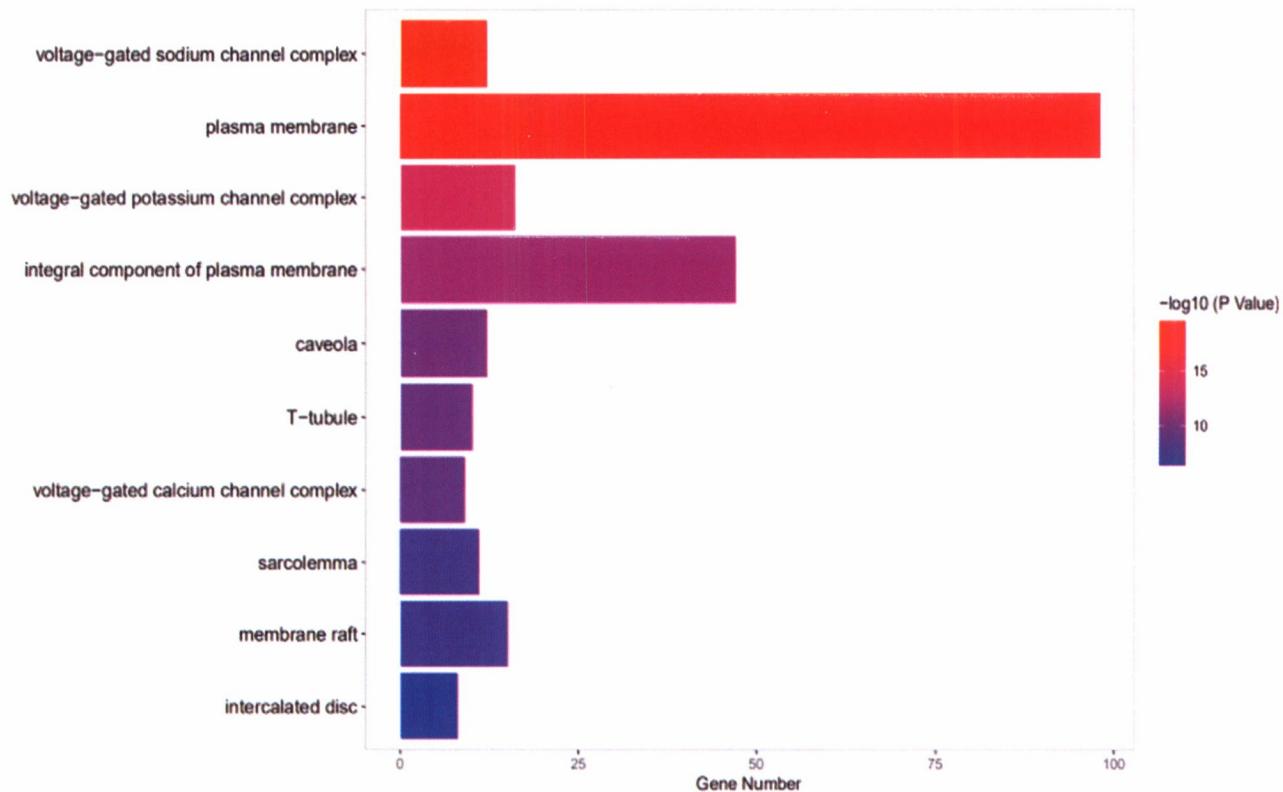


图 7 人参治疗房颤细胞组成富集分析

Fig. 7 Cellular Components enrichment analysis of ginseng in the treatment of atrial fibrillation

2.6 KEGG富集通路分析

KEGG 通路富集分析中以 $P < 0.05$ 为基准筛选, 190 个交集靶点基因显著富集在 129 条通路上。选取其中最有意义的 20 条通路(表 2)作可视化处理, 见图 8。由表 2 可知, 富集排名前 20 的通路是 cGMP-PKG 信号通路、cAMP 信号通路、TNF 信号通路、心肌

细胞肾上腺素信号转导、血清素能突触、乙型肝炎、多巴胺能突触、细胞凋亡、查加斯病、吗啡成瘾、肾素分泌、结核、钙信号通路、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、MAPK 信号通路、胰岛素抵抗、弓形虫病、胆碱能突触、破骨细胞分化和催产素信号通路, 提示人参通过作用以上多条通路发挥治疗房颤的作用。

表 2 人参治疗房颤潜在靶点 KEGG 分析(排名前 20)

Table 2 KEGG analysis of potential targets of ginseng in the treatment of atrial fibrillation (top 20)

编号 ID	名称 Term	数量(个) Quantity	P 值 P Value
hsa04022	cGMP-PKG signaling pathway	25	1.82E-13
hsa04024	cAMP signaling pathway	27	5.53E-13
hsa04668	TNF signaling pathway	20	4.15E-12
hsa04261	Adrenergic signaling in cardiomyocytes	22	6.45E-12
hsa04726	Serotonergic synapse	29	7.72E-11
hsa05161	Hepatitis B	21	1.34E-10
hsa04728	Dopaminergic synapse	19	8.69E-10
hsa04210	Apoptosis	13	1.62E-08
hsa05142	Chagas disease (American trypanosomiasis)	16	1.68E-08
hsa05032	Morphine addiction	15	2.21E-08
hsa04924	Renin secretion	13	2.36E-08
hsa05152	Tuberculosis	20	2.86E-08
hsa04020	Calcium signaling pathway	20	3.43E-08
hsa04932	Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	18	7.97E-08
hsa04010	MAPK signaling pathway	23	1.02E-07
hsa04931	Insulin resistance	15	2.04E-07
hsa05145	Toxoplasmosis	15	2.58E-07
hsa04725	Cholinergic synapse	15	2.89E-07
hsa04380	Osteoclast differentiation	16	3.87E-07
hsa04921	Oxytocin signaling pathway	17	4.16E-07

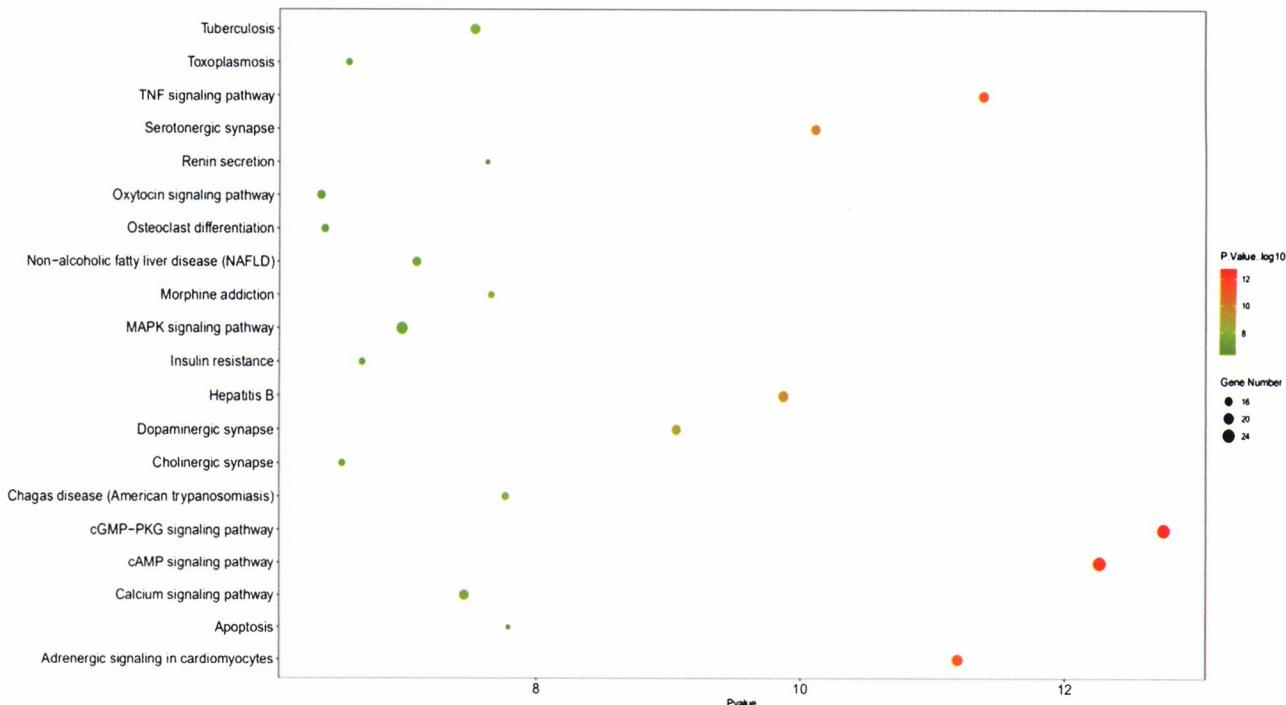


图8 人参治疗房颤KEGG通路富集分析

Fig. 8 KEGG pathway enrichment analysis of ginseng in the treatment of atrial fibrillation

3 讨论

房颤是临床中最为常见的心律失常,其机制主要分为电生理机制和病理生理学机制,病理生理学机制主要涵盖电重构、收缩性重构、结构重构、炎症、神经内分泌和自主神经系统等方面的学说。人参作为中国传统中药,主要功效为大补元气、复脉固脱、补脾益肺、生津和安神等。现代研究发现,人参抗心律失常的作用显著,毒副作用少,临床应用广泛^[4]。韩志龙等^[16]研究发现人参皂苷Rg₁可通过抑制TNF- α 、IL-1 β 等改善大鼠心肌缺血再灌注损伤后的心律失常。人参皂苷Re、Rg₂、Rb₁和Rd可阻滞L型钙离子通道电流,达到抑制心律失常的作用^[17-20]。人参皂苷Re、Rb₁可增加Cx40、Cx43的表达,抑制心房缝隙链接的重塑^[21,22]。

本研究发现,人参治疗AF主要涉及15个核心靶点,488个生理过程,65种分子功能,125个细胞组成以及128条信号转导通路。结果显示,人参治疗房颤的主要作用可能与其调控离子通道、抑制炎症、调控细胞凋亡和抑制心肌纤维化与心脏重塑和调节自主神经系统有关。

3.1 调控离子通道

房颤的发病机制与心肌细胞内的离子稳态与离子通道改变有关^[23]。本研究发现,人参通过靶向PRKACA(环磷酸腺苷依赖性蛋白激酶A, cAMP-dependent PKA的编码基因),并且参与调控cGMP-PKG信号通

路、cAMP信号通路、肾素分泌和心肌细胞肾上腺素信号转导通路等干预心肌细胞内的离子通道和离子电流。cGMP为细胞内第二信使,在心肌细胞中,可通过调控蛋白激酶G(PKG)信号减少Ca²⁺释放,减轻钙超载^[24]。cGMP与cAMP之间交叉调节,控制心肌细胞内的Ca²⁺流。研究表明,cAMP激活PKA,可调控L型钙通道开放,增加Ca²⁺内流^[25],还能通过RYR2磷酸化进而调节钙离子通道^[26],参与房颤。肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin-angiotensinaldosterone system, RAAS)的激活对于房颤的发生发展有重要作用。RAAS的激活可增加心房肌中的L型钙通道的密度^[27],改变离子通道。人参可能通过靶向上述蛋白,参与上述信号通路,来维持心肌细胞内的Ca²⁺、K⁺稳态和离子通道,从而对房颤产生有益作用。

3.2 抑制炎症

在房颤的发生和维持过程中,炎症密切参与了其病理生理过程^[28]。研究表明,房颤与TNF- α 、IL-1 β 等炎症因子有一定相关性,可诱导胶原过表达,影响胶原代谢,进而发生心肌纤维化,促进心脏的结构重构^[29,30],并且在房颤患者的心肌组织中高表达^[31,32]。IL-1 β 还能通过激活基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)调节金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitor of metal protease, TIMPs)的活性,上调心肌中血管紧张素II受体AT1来促进心脏结构重构,导致房颤^[33,34]。

作为炎症启动因子的 TNF- α 和 IL-1 β ,还能够刺激 C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)的合成,继而通过破坏心房肌细胞膜结构和炎症细胞浸润等途径导致房颤^[35]。另外,TNF- α 可调节心房细胞内钙释放、心房神经丛,从而升高房颤触发几率,降低房颤阈值^[36,37]。IL-1 β 可激活右前心房神经丛,从而诱导房颤的发生^[38]。可见,人参可以通过抑制炎症,推测其通过抑制IL-1 β 、TNF 信号通路和产生抗炎作用来影响房颤。

3.3 调控细胞凋亡

发生房颤时,心脏组织中的细胞凋亡增加^[39],细胞凋亡与房颤密切相关^[40]。心肌细胞发生凋亡时,有效心肌细胞减少,心肌限制纤维化增多,造成心脏的收缩功能降低和纤维化成分的增加,从而促进心脏的结构重构,参与房颤的心脏结构和功能的改变^[41]。研究表明在风湿性心脏病合并永久房颤患者的右心房组织中细胞凋亡及其关键酶Caspase-3 表达增加,提示Caspase-3 在房颤发病中起重要作用^[42]。人参可能通过靶向Caspase-3 和凋亡信号通路来调控心肌细胞的凋亡,从而发挥其抗房颤的功能。

3.4 抑制心肌纤维化与心脏重塑

心脏的结构重构包括组织结构变化和细胞水平的结构变化。组织结构的变化可直接影响传导,主要包括心肌肥厚、心肌纤维化和脂肪浸润等。纤维化引起细胞外基质(ECM)代谢失调,胶原表达增多,造成心肌细胞之间的传导延迟,使房颤更易维持^[43]。缝隙连接是心肌细胞之间的主要连接方式,可维持正常的电偶联,相关蛋白为连接蛋白(Connexin, Cx)43 和 Cx40。心肌纤维化会造成缝隙连接的重构,进而发生房颤^[44]。产生 ECM 的细胞为心肌成纤维细胞,通过调节 MMPs 及其抑制剂TIMPs的平衡来促进心肌纤维化^[45]。AKT1 是蛋白激酶 B,即 AKT 基因家族成员之一,为 PI3K 的下游关键靶点,参与细胞活力和增殖的控制,抑制细胞凋亡和促进细胞周期进展,与心血管疾病密切相关^[46]。周琳^[47]研究发现房颤患者心肌组织中的 AKT、Gsk3 β 较窦律组表达更高,提示 AKT 参与了瓣膜病房颤的发生。AKT 的磷酸化可升高 Cx43 的表达,降低恶性心律失常的发生率^[48]; MAPK8 编码的 JNK1 为丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)家族成员之一,又称为 c-JUN N 端激酶,可使 JUN 编码的 c-Jun 磷酸化。研究表明, JNK 可通过增强 c-Jun 与 Cx43 启动子的结合,来减少 Cx43 的表达,从而发生房颤^[49];研究表明,MAPK通路调控心肌

成纤维细胞的增殖和迁移,影响胶原表达,靶向MAPK 通路可减轻大鼠房颤^[50];作为炎症因子的 IL-1 β 也可以通过激活 MMPs,调节 TIMPs 的活性,上调心肌中血管紧张素 II 受体AT1 来促进心脏结构重构,导致房颤^[34,35]。因此,人参可通过靶向 AKT1、MAPK8、IL1B 以及 MAPK 通路抑制心肌纤维化与心脏重塑,从而抵抗房颤。

3.5 调节自主神经

长期的快速心房刺激可使心房肾上腺素能神经纤维密度增加,产生交感神经重构,影响心房的电生理活动^[51]。因此,人参可能通过心肌细胞肾上腺素信号转导重构交感神经从而干预房颤。

综上所述,人参可能通过作用AKT1、TNF、MAPK8、PRKACA、JUN、IL1B 和 CASP3 等相关靶点调节cGMP-PKG 信号通路、cAMP 信号通路、TNF 信号通路、心肌细胞肾上腺素信号转导、细胞凋亡、肾素分泌、钙信号通路及 MAPK 信号通路等多条 AF 相关通路,通过调控多种离子通道、抑制炎症与细胞凋亡、抑制心肌纤维化与心脏重塑以及调节自主神经等多个方面以发挥治疗 AF 的作用。本研究基于网络药理学探讨人参治疗 AF 的作用机制,体现了中药多成分、多靶点及多通路的特点,可为进一步开展细胞和动物等试验提供理论依据。

参 考 文 献

- [1] KIRCHHOF P, BENUSSI S, KOTECHA D, et al. 2016 ESC guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS[J]. Rev Esp Cardiol (Engl Ed), 2017, 70(1): 50.
- [2] 蔡光先,赵玉庸. 中西医结合内科学[M]. 北京:中国中医药出版社,2005: 158.
- [3] 王茹,王培利,王承龙. 房颤的中医研究进展[J]. 辽宁中医杂志,2020,47(6):213-216.
- [4] 曹莹,李劭恒,袁硕,等. 人参抗心律失常作用机制的研究进展[J]. 中草药,2021,52(10):3157-3166.
- [5] 毛慧芳,朱翠玲. 中医药治疗房颤的研究进展[J]. 中国民间疗法,2020,28(2):103-106.
- [6] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform, 2014, 6: 13.
- [7] UNIPROT C. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge[J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(1): D506-515.
- [8] LIU Z, GUO F, WANG Y, et al. BATMAN-TCM: A bioin-

- formatics analysis tool for molecular mechANism of Traditional Chinese Medicine[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21146.
- [9] 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(1): D1074-1082.
- [10] AMBERGER J, BOCCHINI C, HAMOSH A. A new face and new challenges for online mendelian inheritance in man (OMIM(R))[J]. *Hum Mutat*, 2011, 32(5): 564-567.
- [11] PINERO J, RAMIREZ-ANGUITA J M, SAUCH-PITARCH J, et al. The DisGeNET knowledge platform for disease genomics: 2019 update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(1): D845-855.
- [12] WANG Y, ZHANG S, LI F, et al. Therapeutic target database 2020: enriched resource for facilitating research and early development of targeted therapeutics[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(1): D1031-1041.
- [13] RAPPAPORT N, TWIK M, PLASCHKES I, et al. MalaCards: an amalgamated human disease compendium with diverse clinical and genetic annotation and structured search[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(1): D877-887.
- [14] SZKLARCZYK D, GABLE A L, LYON D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(1): D607-613.
- [15] DENNIS G J R, SHERMAN B T, HOSACK D A, et al. DAVID: Database for annotation, visualization, and integrated discovery[J]. *Genome Biol*, 2003, 4(5): 3.
- [16] 韩志龙,王静,王连友,等. 基于 PPAR- γ 探讨人参皂苷 Rg1 对大鼠心肌缺血再灌注后心律失常的调节作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(7): 587-592+598.
- [17] 陈彩霞,张宏艳. 人参皂甙 Re 对异丙肾上腺素致家兔室性心律失常的保护作用[J]. 中国当代儿科杂志, 2009, 11(5): 384-388.
- [18] 裴娟慧,张银辉,陈敬洲,等. 人参皂苷 Rb1 对大鼠心室肌细胞 L型钙电流和瞬时外向钾电流的调控作用[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2011, 11(4): 230-234.
- [19] GOU D, PEI X, WANG J, et al. Antiarrhythmic effects of ginsenoside Rg2 on calcium chloride-induced arrhythmias without oral toxicity[J]. *J Ginseng Res*, 2020, 44(5): 717-724.
- [20] LU C, SUN Z, WANG L. Inhibition of L-type Ca(2+) current by ginsenoside Rd in rat ventricular myocytes[J]. *J Ginseng Res*, 2015, 39(2): 169-177.
- [21] 孔宏亮,李占全,苗志林,等. 人参皂甙 Rb1 对心力衰竭大鼠心肌缝隙连接蛋白 43 的影响[J]. 天津医药, 2013, 41(7): 675-678.
- [22] ZHANG B, CUI X, JIN H H, et al. Ginsenoside Re prevents angiotensin II-induced gap-junction remodeling by activation of PPARgamma in isolated beating rat atria[J]. *Life Sci*, 2017, 190: 36-45.
- [23] 董丽君,许国军,周贤惠,等. 心房肌钙转运调控蛋白的表达改变与增龄及心房颤动关系的实验研究[J]. 临床心血管病杂志, 2015, 31(3): 241-244.
- [24] SCHLOSSMANN J, DESCH M. IRAG and novel PKG targeting in the cardiovascular system[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301(3): H672-682.
- [25] HANTASH B M, THOMAS A P, REEVES J P. Regulation of the cardiac L-type calcium channel in L6 cells by arginine-vasopressin[J]. *Biochem J*, 2006, 400(3): 411-419.
- [26] 杨珍,刘宇宁,余薇,等.RNA结合基序蛋白 20 在心肌病中作用的研究进展[J].中国药理学通报, 2019, 35(11): 1505-1508.
- [27] 曹凡,高艳香,王勇. 肾素-血管紧张素-醛固酮系统在心房颤动患者心房重构中的研究进展[J]. 心血管病学进展, 2018, 39(4): 528-531.
- [28] ZACHARIA E, PAPAGEORGIOU N, IOANNOU A, et al. Inflammatory Biomarkers in Atrial Fibrillation[J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(5): 837-854.
- [29] YU T, ZHU W, GU B, et al. Simvastatin attenuates sympathetic hyperinnervation to prevent atrial fibrillation during the postmyocardial infarction remodeling process[J]. *J Appl Physiol* (1985), 2012, 113(12): 1937-1944.
- [30] 吴卫,柯丹,许春萱,等. I 型胶原和白细胞介素-1 β 在心房颤动患者心房中的表达[J]. 中华内科杂志, 2006(10): 807-810.
- [31] 王长华,胡大一,汤楚中,等. 慢性心房颤动患者右心耳 IL-1 β 、IL-6 和肿瘤坏死因子- α 基因表达的研究[J]. 首都医科大学学报, 2005(2): 111-115.
- [32] 戴艳枝,王晓华,刘秋玲,等. 白细胞介素-1 β 、白细胞介素-8 及肿瘤坏死因子- α 与房颤伴凝血功能异常的相关性[J]. 中国当代医药, 2019, 26(23): 4-7.
- [33] SIWIK D A, CHANG D L, COLUCCI W S. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha decrease collagen synthesis and increase matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts in vitro[J]. *Circ Res*, 2000, 86(12): 1259-1265.
- [34] GURANT Z D, COWLING R T, VARKI N, et al. IL-1beta and TNF-alpha upregulate angiotensin II type 1 (AT1) receptors on cardiac fibroblasts and are associated with increased AT1 density in the post-MI heart[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2005, 38(3): 505-515.
- [35] DERNELLIS J, PANARETOU M. C-reactive protein and paroxysmal atrial fibrillation: evidence of the implication of an inflammatory process in paroxysmal atrial fibrillation[J]. *Acta Cardiol*, 2001, 56(6): 375-380.
- [36] 左嵩,李林凌,蒋乐,等. 肿瘤坏死因子 α 对小鼠心房细胞内钙释放的急性调节作用[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2019, 33(3): 236-239.
- [37] 王猛,王振亚,邓洁琳,等. 肿瘤坏死因子 α 对心房神经丛功能和房颤阈值的影响[J]. 中国心血管杂志, 2018, 23(5): 405-408.
- [38] 张倩倩,王梦龙,孟冠南,等. 白细胞介素-1 β 对心房神经节丛功能及神经活性的影响[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2018, 32(6): 570-572.

- [39] AIME-SEMPE C, FOLLIGUET T, RUCKER-MARTIN C, et al. Myocardial cell death in fibrillating and dilated human right atria[J]. J Am Coll Cardiol, 1999, 34(5): 1577-1586.
- [40] BRUNDEL B J, AUSMA J, VAN GELDER I C, et al. Activation of proteolysis by calpains and structural changes in human paroxysmal and persistent atrial fibrillation[J]. Cardiovasc Res, 2002, 54(2): 380-389.
- [41] 柯丹, 许春萱, 张建成, 等. 心房颤动患者心房组织中明胶酶的基因表达及活性变化 [J]. 中华心血管病杂志, 2005 (2): 37-42.
- [42] 陈运清, 王琳, 苏晞, 等. 风湿性心房颤动患者 calpain-I /calpastatin 和 caspase-3 与细胞凋亡的关系及其作用 [J]. 中华心血管病杂志, 2006(4): 303-307.
- [43] VERHEULE S, TUYLS E, VAN HUNNIK A, et al. Fibrillary conduction in the atrial free walls of goats in persistent and permanent atrial fibrillation[J]. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2010, 3(6): 590-599.
- [44] SEVERS N J, BRUCE A F, DUPONT E, et al. Remodelling of gap junctions and connexin expression in diseased myocardium[J]. Cardiovasc Res, 2008, 80(1): 9-19.
- [45] BERK B C, FUJIWARA K, LEHOUX S. ECM remodeling in hypertension heart disease[J]. J Clin Invest, 2007, 117(3): 568-575.
- [46] 李赛赛, 李平, 康楠, 等. PI3K/Akt 信号通路与心血管疾病关系的研究进展 [J]. 北京医学, 2021, 43(1): 66-69+72.
- [47] 周琳. Akt/Gsk3β 在瓣膜病房颤患者心房肌表达的变化及意义 [D]. 济南: 山东大学, 2020.
- [48] 苏枫. PI3K/Akt 信号介导缺血预适应在心肌梗死猪中抗心律失常及心功能修复作用 [D]. 济南: 山东大学, 2015.
- [49] YAN J, THOMSON J K, ZHAO W, et al. The stress kinase JNK regulates gap junction Cx43 gene expression and promotes atrial fibrillation in the aged heart[J]. J Mol Cell Cardiol, 2018, 114: 105-115.
- [50] 徐庆梅, 莫辰, 朱飞宇, 等. 二十二碳六烯酸介导 MAPK 途径抗房颤的作用及机制研究 [J]. 蚌埠医学院学报, 2021, 46 (1): 1-5.
- [51] SAYGILI E, SCHAUERTE P, KUPPERS F, et al. Electrical stimulation of sympathetic neurons induces autocrine/paracrine effects of NGF mediated by TrkA[J]. J Mol Cell Cardiol, 2010, 49(1): 79-87.

(上接第31页)

3 讨论

3.1 选择制粒方法

常见的制片方法有湿法制粒、干法制粒和直接压片等, 其中湿法制粒法操作简单、成本低、载药量大, 可广泛用于小试和工厂大规模加工^[8]。近几年来, 粉末直接压片技术因为操作简单、产品崩解快及成品质量稳定等优点发展迅速, 目前较多的制药企业倾向于采用粉末直接压片技术^[9]。但因中药提取物吸湿性强、流动性差等特点, 需要大量辅料校正其缺点, 且直压辅料需特殊工艺制备, 价格昂贵, 国外产品优于国内, 购买不易。辅料过多容易阻碍吸收, 影响药物疗效, 每日服用量过大, 故本实验采用湿法制粒。

3.2 评价指标的选择

本实验采用成型率、脆碎度和崩解时间等指标来评价成品。颗粒的成型率保证颗粒的成品率, 是制剂评价的重要指标。流动性会对制片过程产生重要影响, 流动性的好坏会影响压片过程中模具的填充, 会影响片剂的重量差异。吸湿性是影响中药制剂型品质和稳定性重要的指标之一, 因中药提取物易吸湿, 使颗粒潮解、变形, 进而影响药物质量。脆碎度和硬度是影响片剂运输途中的重要因素, 如硬度小, 脆碎度大, 会使片剂在

运输和储存时破碎。

本实验采用星点设计-效应面法优选降血脂片的成型工艺, 优选最优处方并进行验证, 结果良好, 进一步证实该方法可用于工业生产。

参 考 文 献

- 吴嘉朔, 常晓燕, 李壮壮, 等. 泽泻汤降脂及抗炎作用分子机制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(2): 224-232.
- 王利思. 姜黄对高血脂症大鼠降脂效应的研究 [J]. 心血管外科杂志(电子版), 2019, 8(4): 113.
- 许鹏飞, 孙学斌, 黄尹琦, 等. 决明子降脂有效成分的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(1): 150-153.
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部 [M]. 2020 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 315-316.
- 赵立杰, 王优杰, 冯怡, 等. 中药原料吸湿行为研究 [J]. 中国新药杂志, 2018, 27(3): 361-368.
- HASSAN E E, PARISH R C, GALLO J M. Optimized formulation of magnetic chitosan microspheres containing the anticancer agent, oxantrazole[J]. Pharmaceutical Research, 1992, 9(3): 390-397.
- 曹兰, 王英利, 詹先成, 等. 饱和溶液法和粉末吸湿法测定临界相对湿度的研究 [J]. 华西药学杂志, 2010, 25(1): 103-105.
- 岳国超, 严霞, 赵映波, 等. 湿法制粒工艺参数对颗粒成型性的影响 [J]. 中南药学, 2015, 13(6): 587-590.
- 李金枝, 冯金瑞, 何恬, 等. 粉末直接压片技术及其辅料的应用与研究现状 [J]. 中国新药杂志, 2015, 24(21): 2467-2470+2498.