

基于网络药理学和分子对接方法探讨保元汤治疗扩张型心肌病的作用机制

黄庞宁¹, 杨慧芳¹, 刘素丽², 陈秋岑², 周小雄¹, 罗川晋¹, 袁天慧¹, 吴辉¹ (1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学第一临床学院, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 利用网络药理学方法探讨保元汤治疗扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)的作用机制。**方法** 应用中药系统药理学分析平台(TCSMP)及中药分子作用机制的生物信息学分析工具(BATMAN-TCM)、Pubchem、SwissTargetPrediction、Uniprot 等数据库筛选保元汤活性成分及其作用靶点, 基于人类基因数据库(GeneCards)、在线《人类孟德尔遗传》数据库(OMIM)获取扩张型心肌病相关靶点, 二者相互映射获得药物与疾病共同靶点。利用 Cytoscape 软件构建“保元汤成分-靶点”“保元汤-成分-DCM-靶点”网络图。采用 String、Cytoscape 软件构建蛋白相互作用(PPI)网络及筛选关键基因(Hub 基因)。通过 R 软件进行基因本体(GO)聚类分析及京都基因与基因百科全书(KEGG)通路富集分析。使用 PDB、PubChem 数据库, PyMOL、ChemBio3D 及 AutoDock vina 软件进行分子对接。**结果** 共筛选出保元汤活性成分 120 个, 保元汤治疗扩张型心肌病潜在靶点 91 个, 富集分析显示 102 条 GO 条目, 152 条 KEGG 通路。主要活性成分包括五味子酯乙、花生四烯酸、脱氧三尖杉酯碱、槲皮素、原花青素 B1 等; 关键靶点有丝裂原活化蛋白激酶 3(MAPK3)、血管内皮生长因子 α (VEGFA)、丝裂原活化蛋白激酶 1(MAPK1)、表皮生长因子(EGFR)、肿瘤蛋白 P53(TP53)、胱天蛋白酶 3(CASP3)、肿瘤坏死因子(TNF)等; 主要涉及 MAPK 信号通路、cGMP-PKG 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、癌症中的蛋白聚糖等通路。分子对接初步验证了保元汤主要活性化合物与核心靶点有较高的结合活性, 与临床治疗 DCM 的药物相当。**结论** 保元汤可能通过保护心肌线粒体、调节心肌能量代谢、调控心肌细胞凋亡及自噬、抑制心肌纤维化等机制, 发挥治疗扩张型心肌病的作用。

关键词: 保元汤; 扩张型心肌病; 网络药理学; 分子对接; 作用机制

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)08-1129-10

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.08.010

Mechanisms of Baoyuan Decoction in The Treatment of Dilated Cardiomyopathy Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

HUANG Pangning¹, YANG Huifang¹, LIU Suli², CHEN Qiucen², ZHOU Xiaoxiong¹, LUO Chuanjin¹, YUAN Tianhui¹, WU Hui¹ (1. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. The First Clinical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To explore the mechanism of Baoyuan Decoction for treatment of dilated cardiomyopathy(DCM) based on network pharmacology and molecular docking. **Methods** The components and targets of Baoyuan Decoction were collected through TCSMP, BATMAN-TCM, Pubchem, SwissTargetPrediction, Uniprot database and literature retrieval. The related targets of dilated cardiomyopathy were obtained based on GeneCards and OMIM database, and

收稿日期: 2021-02-03

作者简介: 黄庞宁, 男, 硕士, 研究方向: 中医药防治心血管疾病。Email: 1220042469@qq.com。通信作者: 吴辉, 男, 博士, 教授, 研究方向: 中医药防治心血管疾病。Email: wuhui026@163.com; 袁天慧, 女, 博士, 副主任医师, 研究方向: 中医药防治心血管疾病。Email: katharinehui@163.com。

基金项目: 国家中医临床研究基地建设项目(国中医药科技函[2018]131 号); 国家自然科学基金项目(81704036)。

the common targets of drugs and disease were obtained. Cytoscape software was used to construct the network graphs of “*Baoyuan* Decoction components–targets” and “*Baoyuan* Decoction–components–disease–targets”. The String database and Cytoscape software were used to construct PPI network and screen hub genes. GO function and KEGG pathway enrichment were analyzed by R software. PDB, PubChem database, PyMoL, ChemBio3D and AutoDock Vina software were used for molecular docking. **Results** A total of 120 active components and 91 potential targets for treatment of DCM with *Baoyuan* Decoction were collected. Enrichment analysis showed 102 GO entries and 152 KEGG pathways. The main active components include Schisandrin B, arachidonic acid, deoxyharringtonine, quercetin, procyanidin B1, etc. The key targets include MAPK3, VEGFA, MAPK1, EGFR, TP53, CASP3, TNF, and so on. KEGG enrichment involves the MAPK signaling pathway, cGMP–PKG signaling pathway, PI3K–Akt signaling pathway and proteoglycans in cancer, etc. Molecular docking results preliminarily verified that the main active components of *Baoyuan* Decoction had high affinity with core targets, which were similar to DCM recommended drugs. **Conclusion** *Baoyuan* Decoction may exert a role in the treatment of DCM by protecting myocardial mitochondria, regulating myocardial energy metabolism, regulating myocardial cell apoptosis and autophagy, and inhibiting myocardial fibrosis.

Keywords: *Baoyuan* Decoction; dilated cardiomyopathy; network pharmacology; molecular docking; mechanisms

扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)是一种以左心室或双心室心腔扩大、心肌收缩功能下降为主要特征的心肌疾病,是多种心脏损伤的“最终共同途径”,也是导致心力衰竭最常见的心肌病^[1],其临床表现以进展性心力衰竭、心律失常、血栓栓塞甚至猝死为基本特征。我国现有流行病学研究^[2-3]表明,我国 DCM 患病率为 10 万分之 19,52 个月病死率高达 42.24%,预后极差。DCM 的治疗主要针对心力衰竭及心律失常,现有的抑制神经内分泌治疗在一定程度上可降低 DCM 患者死亡率,但无法从根本上逆转 DCM 病程、改善心功能^[4-6]。

根据 DCM 的临床表现及病程演变,可归属为中医“喘证”“心悸”“水肿”“心水证”“心衰”等范畴,其病机特点为本虚标实,本虚包括气、血、阴、阳亏虚,而气虚是该病最早期表现,也是该病最根本病机^[7-9]。由此可见,DCM 的中医治疗,补气乃第一要义。保元汤由黄芪、人参、肉桂及甘草组成,功能益气补虚,且心肺脾肾并补,是补气名方。保元汤类方药可改善 DCM 患者心功能、提高患者生活质量^[10],但其机制尚未得到充分阐述。因此,本研究采用网络药理学和分子对接技术探索保元汤治疗 DCM 的物质基础及作用机制,为 DCM 的治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 保元汤活性成分筛选、靶点预测及“成分–靶点”网络的构建

借助中药系统药理学分析平台(TCMSP,

<http://tcmispw.com/tcmisp.php>)检索保元汤中各单味药的所有化学成分,根据口服生物利用度(OB) > 30%及类药性(DL) > 0.18 条件筛选保元汤的活性成分。对 TCMSP 数据库未收录的肉桂,通过中药分子作用机制的生物信息学分析工具(BATMAN-TCM, <http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/index.php>)进行检索,以综合评分 ≥ 20 、 $P < 0.5$ 为条件进行初步筛选,得到相应的活性成分后在 TCMSP 中以 OB > 30%及 DL > 0.18 为条件进一步筛选。此外,结合文献检索补充保元汤组方药材中的有效活性成分。利用 Pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载每一个活性成分的 2D 结构(sdf 格式),并将其上传至 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>),选择物种为“Homo sapiens”,预测化合物的靶蛋白。对于 Pubchem 数据库中未收录的化合物,通过 TCMSP 数据库获取活性成分对应的靶蛋白。将所有预测的靶蛋白映射到 Uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org/>),以校正为通用的靶基因名。利用 Cytoscape 3.8.2 软件构建“保元汤成分–靶点”网络图。

1.2 DCM 疾病靶点的获取及保元汤治疗 DCM 潜在

靶点的预测 基于 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)、在线《人类孟德尔遗传》数据库(OMIM, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>),以“dilated cardiomyopathy”为检索词获取 DCM 的作用靶点。通过微信网站(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)

获取药物与疾病的共同靶点,即保元汤治疗 DCM 潜在作用靶点。

1.3 “保元汤-成分-DCM-靶点”网络的构建 利用 Cytoscape 3.8.2 软件中“NetworkAnalyzer”工具对保元汤活性成分和治疗 DCM 的潜在靶点进行拓扑分析,筛选出保元汤治疗 DCM 的关键活性成分及靶点,并构建“保元汤-成分-DCM-靶点”网络图。

1.4 蛋白相互作用(PPI)网络构建及关键基因(Hub 基因)筛选 将“1.2”项下获得的共同靶点导入 String 数据库(<https://string-db.org/>),选择物种为“Homo sapiens”,设置 Medium confidence>0.4,分析蛋白相互作用关系,以 tsv 格式保存结果。将结果导入 Cytoscape 3.8.2 软件,构建 PPI 网络,通过“NetworkAnalyzer”工具对交集靶点进行拓扑分析,计算所有节点的 Degree 值的中位数,选择 Degree 大于 2 倍中位数的节点,提取 Hithubs 网络,根据接近中心性(Closeness Centrality)、介数(Betweenness Centrality)、Degree 值筛选 Hub 基因。

1.5 GO 功能及 KEGG 通路富集分析 通过 R 4.0.3 软件安装“RSQLite”及“BiocManager”包,将共同靶基因转换为 entrezID 格式,并保存为 id.txt 文件。利用 R 4.0.3 软件,分别安装来源于 BiocManager 的“DOSE”“clusterProfiler”“pathview”包,以及“colorspace”“stringi”包^[11],再对共同靶基因进行基因本体(GO)分析及京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析并作可视化展示。

1.6 分子对接 以 Hithubs 网络中度值排名前 7 位的 Hub 靶基因作为受体蛋白,从 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)中下载其 3D 结构(pdb 格式),运用 PyMOL 1.7.2.1 软件对受体蛋白进行去水、加氢、删除磷酸根、移除原始配体等操作,保存新受体蛋白及原始配体。以筛选出来的保元汤主要活性化合物及临床有效治疗 DCM 的药物为小分子配体,从 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载配体的 2D 结构(sdf 格式),用 ChemBio3D Ultra 14.0 打开,优化力学结构,另存为 mol2 格式文件。利用 AutoDockTools 1.5.6 将配体及受体转换为 pdbqt 格式,寻找每一个受体蛋白的活性口袋,运行 AutoDock vina 1.1.2 进行分子对接^[12],最后通过 PyMOL 进行结果分析及可视化。通过 R 语言中 pheatmap 包 pheatmap 函数构建配体与受体结合能的热图。

2 结果

2.1 保元汤活性成分及靶点筛选 通过 TCMSPP 平台、BATMAN-TCM 数据库检索,除去没有相应靶点及重复项后,共筛选到保元汤活性成分 120 个,其中黄芪 17 个,肉桂 1 个,人参 19 个,甘草 90 个。kaempferol(山柰酚, MOL000422, B1)是黄芪、人参、甘草共有的成分;isorhamnetin(异鼠李素, MOL000354, A5)、Jaranol(华良姜素, MOL000239, A4)、quercetin(槲皮素, MOL000098, A3)、Calycosin(毛蕊异黄酮, MOL000417, A2)、formononetin(刺芒柄花素, MOL000392, A1)5 个活性成分是黄芪、甘草共有的。通过 SwissTargetPrediction、TCMSPP、Uniprot 数据库筛选后得到 892 个靶基因,见表 1。利用 Cytoscape 3.8.2 软件构建“保元汤成分-靶点”网络,见图 1。

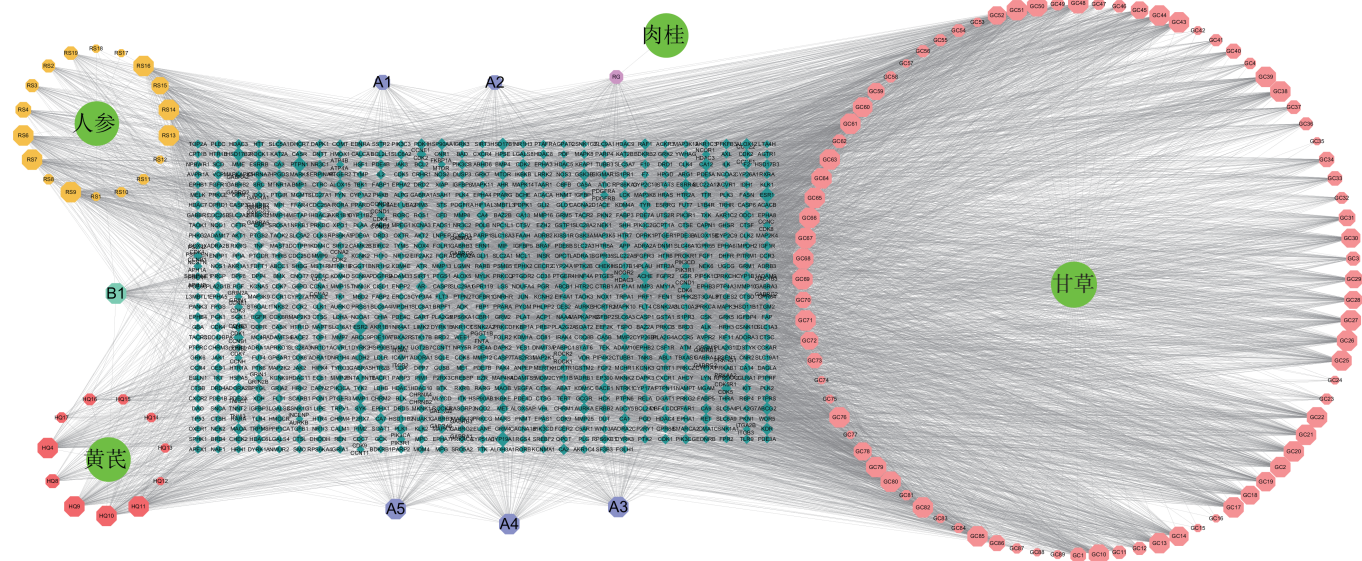
2.2 疾病靶基因及交集靶基因的获取 通过 GeneCards、OMIM 数据库检索,合并去重后共获得 960 个靶基因,通过微生信网站将其与保元汤靶基因进行映射,获得 91 个共同基因,见图 2。

2.3 “保元汤-成分-DCM-靶点”网络的构建及可视化分析 运用 Cytoscape 3.8.2 构建“保元汤-成分-DCM-靶点”网络,见图 3。图中包含 206 个节点(Node),1 133 条边(Edge),边表示节点之间的相互作用关系,这充分体现了中药多成分、多靶点的作用特点。一个节点的度值(degree)表示网络中与该节点直接相互作用的节点的数目。一个节点的介数(Betweenness Centrality)表示经过该节点的最短路径的数量占网络中所有最短路径的比例,反应了该节点在网络中进行信息传输的重要性。化合物的度值越高,介数越大,它在网络中的重要性就越大,说明这些化合物在保元汤治疗 DCM 中发挥相当重要的作用。根据拓扑分析结果,五味子酯乙、花生四烯酸、脱氧三尖杉酯碱、格里西轮、异黄烷酮、槲皮素、原花青素 B1 等是保元汤治疗 DCM 的核心化合物,见表 2。

表 1 保元汤“中药-活性成分-潜在靶点”信息

Table 1 Information of “Chinese medicine-active component-potential target” for Baoyuan Decoction

中药	活性成分/个	潜在靶点/个
黄芪	17	398
肉桂	1	46
人参	19	530
甘草	90	764
筛选后合计	120	892



注：深绿色圆形代表中药；正八边形代表化合物；青色菱形代表靶点

图1 保元汤成分-靶点网络

Figure 1 “Component-target Network” of Baoyuan Decoction

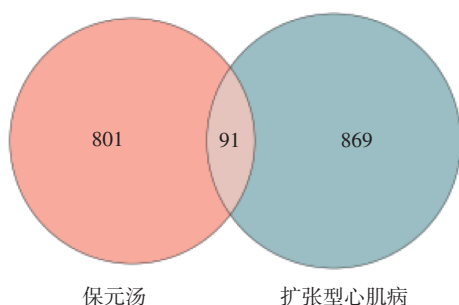
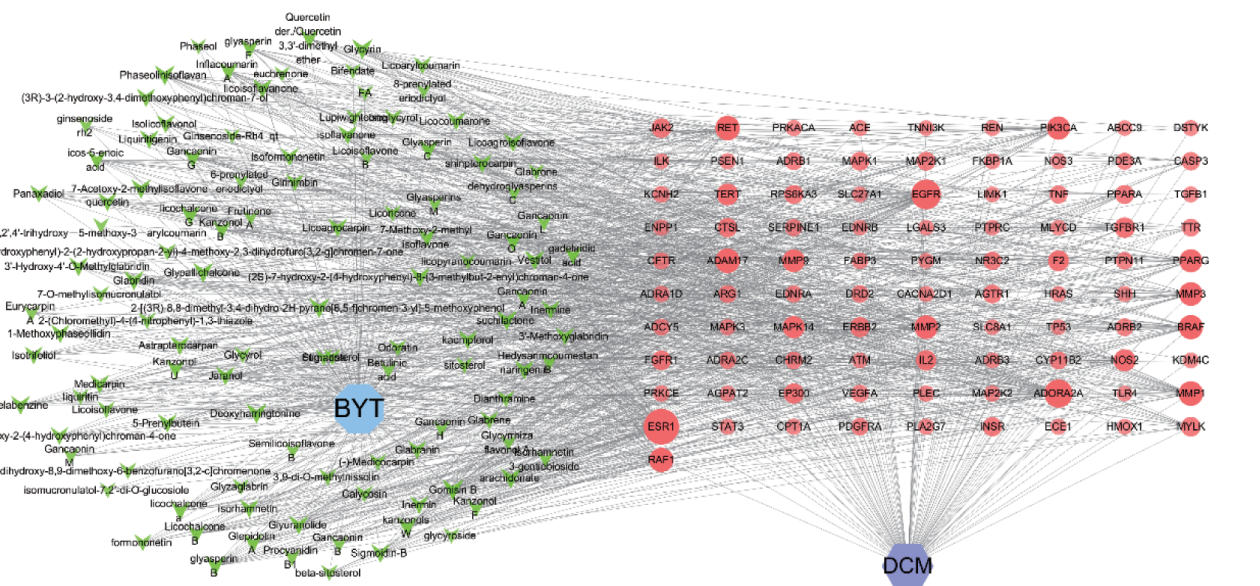


图2 药物与疾病共同靶点韦恩图

Figure 2 Venn diagram of common target drug and disease

2.4 PPI 网络及 Hub 基因筛选 通过 String 数据库及 Cytoscape 3.8.2 软件，构建保元汤与 DCM 共同靶点的 PPI 网络(见图 4)及 Hithubs 网络(见图 5)。PPI 网络中有 89 个节点(去掉 2 个游离靶点)、883 条边，中位自由度值为 16，黄色中心节点为度值大于 2 倍中位数的靶点，绿色中心节点为度值排名前 7 位的靶点。节点的大小与度值大小呈正相关，一个节点的度值越大，其在网络中就发挥着越多的生物功能。Hithubs 网络中自由度值前 7 位的靶点为：丝裂



注：紫色正六边形代表扩张型心肌病(DCM)；蓝色正六边形代表保元汤；红色圆形代表交集靶点；绿色 V 形代表活性成分

图3 保元汤-成分-DCM-靶点网络

Figure 3 Network diagram of “Baoyuan Decoction-compound-DCM-target”

表 2 保元汤治疗扩张型心肌病的核心化合物

Table 2 The core compounds of *Baoyuan* Decoction in the treatment of DCM

编号	名称	度值	介数	来源
MOL005357	五味子酯乙(Gomisin B)	20	0.013 743 48	人参
MOL005320	花生四烯酸(arachidonate)	18	0.010 670 83	人参
MOL005317	脱氧三尖杉酯碱(Deoxyharringtonine)	17	0.011 634 89	人参
MOL004879	格里西轮(Glycerin)	17	0.008 184 86	甘草
MOL000398	异黄酮(isoflavanone)	12	0.006 246 11	黄芪
MOL000098	槲皮素(queretin)	12	0.002 629 87	黄芪
MOL000004	原花青素 B1(Procyanidin B1)	8	0.001 581 29	肉桂

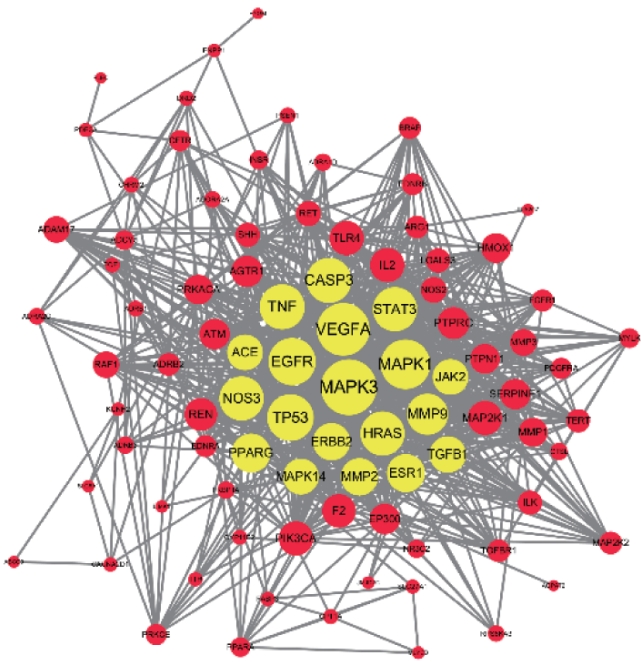


图 4 保元汤治疗扩张型心肌病的靶点 PPI 网络
Figure 4 The target PPI network of *Baoyuan* Decoction in the treatment of DCM

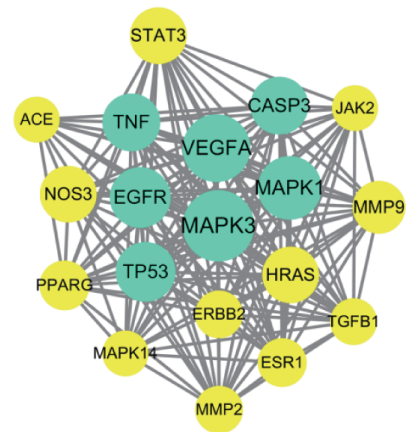


图 5 保元汤治疗扩张型心肌病的靶点 Hithubs 网络
Figure 5 The target hithubs network of *Baoyuan* Decoction in the treatment of DCM

原活化蛋白激酶 3(MAPK3, 度值 59)、血管内皮生长因子 α (VEGFA, 度值 55)、丝裂原活化蛋白激酶 1(MAPK1, 度值 51)、表皮生长因子(EGFR, 度值 48)、肿瘤蛋白 P53(TP53, 度值 47)、胱天蛋白酶 3(CASP3, 度值 45)、肿瘤坏死因子(TNF, 度值 45), 基于此, 预测上述靶点是保元汤治疗 DCM 的 Hub 靶基因。

2.5 GO 及 KEGG 富集分析 通过对 91 个共同靶点进行 GO 及 KEGG 富集分析, 筛选出 102 个 GO 条目, 152 条 KEGG 通路。根据 *P* 值及 GeneRatio 值大小筛选出排名前 20 位的 GO 功能(见图 6)及 KEGG 通路(见表 3)。图 6 中, 纵坐标表示 GO 功能条目, 横坐标表示富集在 GO 条目上的基因数占共同靶点的比例。

由表 3 可知, 交集靶点主要富集在癌症中的蛋白聚糖、MAPK 信号通路、松弛素信号通路、cGMP-PKG 信号通路、钙信号通路、乙型肝炎、cAMP 信号通路、癌症中的 MicroRNA、PI3K-Akt 信号通路、内分泌抵抗等通路。由图 6 可知, 涉及的生物功能主要包括蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性、内肽酶活性、蛋白质酪氨酸激酶活性、磷酸酶结合、细胞因子受体结合、G 蛋白偶联受体结合、信号受体激活物的活性、蛋白 C 末端结合、蛋白质丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性等生物过程。

利用 R 4.0.3 软件中的 pathview 包绘制保元汤治疗 DCM 的通路图。图 7 为 MAPK 信号通路, 涉及 22 个保元汤治疗 DCM 的靶点, 其中有 17 个 Hithubs 网络中的核心靶点, 说明保元汤治疗 DNC 的核心靶点散在分布于这条通路中。

表 3 保元汤治疗扩张型心肌病关键靶点参与的通路富集信息
Table 3 Pathway enrichment information involving key targets in treatment of DCM with *Baoyuan* Decoction

KEGG 编号	KEGG 通路	基因数/个	<i>P</i> 值 (adjust)
hsa05205	在癌症中的蛋白聚糖(Proteoglycans in cancer)	26	1.04e-19
hsa04010	MAPK 信号通路(MAPK signaling pathway)	22	1.95e-12
hsa04926	松弛素信号通路(Relaxin signaling pathway)	20	9.97e-17
hsa04022	cGMP-PKG 信号通路(cGMP-PKG signaling pathway)	20	6.53e-15
hsa04020	钙信号通路(Calcium signaling pathway)	20	3.28e-12
hsa05161	乙型肝炎(Hepatitis B)	19	4.59e-14
hsa04024	cAMP 信号通路(cAMP signaling pathway)	19	4.76e-12
hsa05206	癌症中的 MicroRNA(MicroRNAs in cancer)	19	1.22e-09
hsa04151	PI3K-Akt 信号通路(PI3K-Akt signaling pathway)	19	9.33e-09
hsa01522	内分泌抵抗(Endocrine resistance)	17	3.84e-15

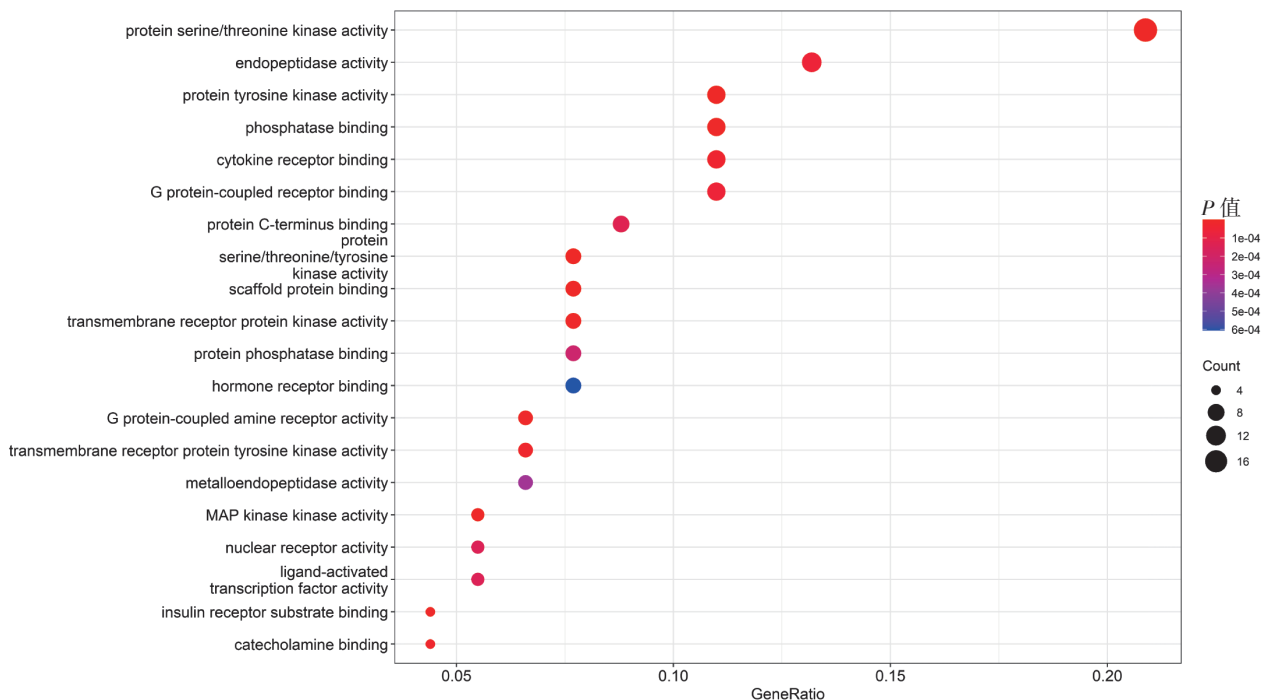


图6 GO 功能富集分析气泡图(前 20 位)

Figure 6 Dot plot of GO function enrichment analysis(Top 20)

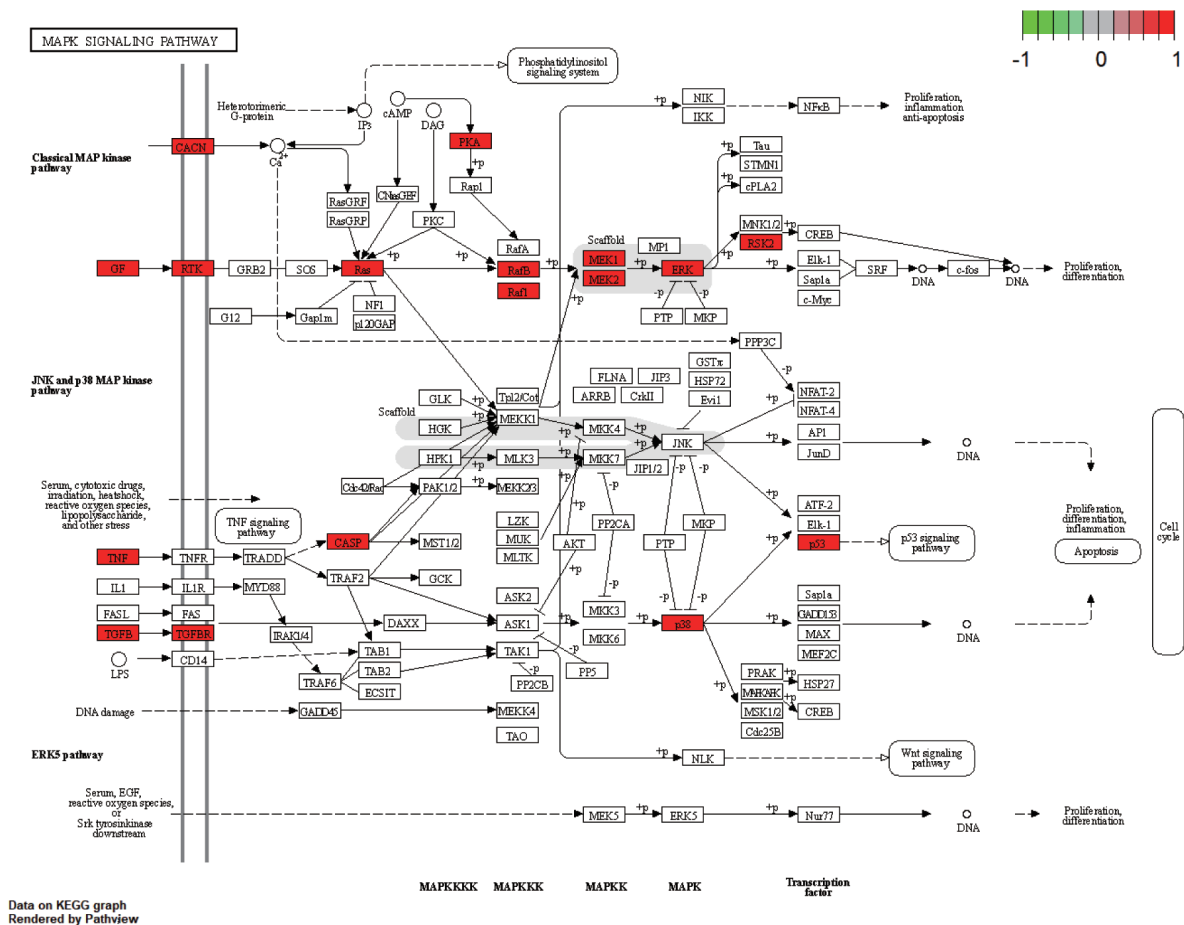


图7 保元汤治疗扩张型心肌病的 MAPK 信号通路图

Figure 7 MAPK signaling pathway Pathway diagram of *Baoyuan* Decoction in treating DCM

2.6 分子对接 一般认为配体与受体结合的构象稳定时能量越低，结合作用越大^[13]，多数研究以结合能 $\leq -5.0\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (约为 $-1.2\text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)为筛选标准^[14]，当结合能 $\leq -7.0\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (约为 $-1.7\text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)时结合作用更大^[15]。为进一步研究保元汤主要活性成分与核心靶点的结合活性，将“2.4”中的核心靶点分别与表 2 中的活性化合物及临床治疗 DCM 常用药物进行分子对接，结果见表 4、图 8。结果显示，临床治疗 DCM 的常用药物中厄贝沙坦与 MAPK3 (PDB ID: 4QTB)、VEGFA (PDB ID: 4KZN)、EGFR (PDB ID: 5YU9)、TP53 (PDB ID: 6UPT)、CASP3 (PDB ID: 3KJF)、TNF (PDB ID: 5UUI)的亲合力最高，缬沙坦

与 MAPK1(PDB ID: 2Y9Q)的亲合力最高。保元汤核心化合物与 MAPK3、VEGFA、MAPK1、EGFR、TP53、CASP3、TNF 的结合能均远小于 $-5.0\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ，说明保元汤活性化合物与核心靶点的亲和力普遍较高。其中原花青素 B1 与 VEGFA、CASP3、TNF 的结合能高于厄贝沙坦，分别为 -5.4 、 -8.4 、 $-5.3\text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。格里西轮 (Glycyrin)、槲皮素 (quercetin)、异黄烷酮 (isoflavanone)与所有核心靶点均具有较高的结合能，与厄贝沙坦、沙库巴曲、缬沙坦等临床有效治疗 DCM 的药物的结合能相似。分别选择与 7 个核心靶点蛋白结合能最低的药效成分绘制对接模式图，见图 9。结果验证了网络药理学结果的可靠性。

表 4 保元汤核心化合物与临床有效药物与核心靶点的结合能

名称	CAS 号	结合能/($\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)						
		MAPK3	VEGFA	MAPK1	EGFR	TP53	CASP3	TNF
贝那普利 (Benazepril)	86541-75-5	-8.6	-4.1	-8.3	-8.1	-7.1	-7.1	-4.2
沙库巴曲 (Sacubitril)	149709-62-6	-9.1	-4.6	-8.6	-7.6	-6.8	-6.6	-4.5
厄贝沙坦 (Irbesartan)	138402-11-6	-9.3	-4.9	-8.9	-9.0	-8.5	-7.4	-5.1
培哚普利 (Perindoprilat)	95153-31-4	-6.5	-4.0	-7.0	-6.4	-5.8	-5.9	-4.3
缬沙坦 (Valsartan)	137862-53-4	-9.0	-4.7	-9.2	-7.4	-6.7	-6.9	-4.3
五味子酯乙 (Gomisin B)	58546-55-7	-5.8	-3.7	-1.3	-5.3	-6.6	-6.8	-4.9
花生四烯酸 (arachidonate)	506-32-1	-7.2	-3.7	-6.5	-6.7	-6.2	-5.7	-3.8
格里西轮 (Glycyrin)	66056-18-6	-9.2	-4.8	-8.8	-8.6	-6.9	-7.3	-4.9
去氧哈林通 (Deoxyharringtonine)	36804-95-2	-8.1	-4.4	-7.3	-7.3	-6.9	-6.6	-4.4
槲皮素 (quercetin)	117-39-5	-9.2	-4.6	-8.7	-8.9	-6.9	-7.2	-4.9
异黄烷酮 (isoflavanone)	4737-27-3	-8.9	-4.7	-8.2	-8.4	-7.3	-7.3	-4.4
原花青素 B1 (Procyanidin B1)	20315-25-7	-5.8	-5.4	-6.6	-4.0	-6.6	-8.4	-5.3

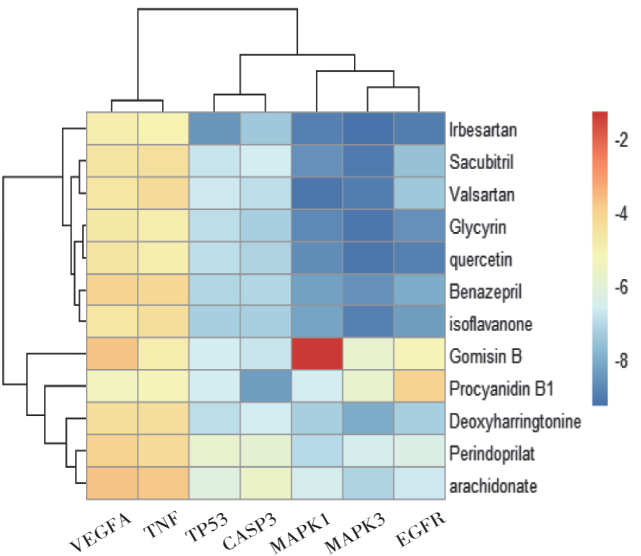


图 8 结合能分子对接热图($\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)
Figure 8 Molecular docking heat map of binding energy

3 讨论

扩张型心肌病(DCM)的主要病理生理特征包括能量代谢异常、心肌肥大、细胞凋亡及心肌纤维化等^[16-22]，由于心肌细胞减少、间质增生、心肌纤维化，使心肌收缩力减弱，最终发展为心力衰竭^[23]。心肌纤维化累及传导系统可并发各种心律失常。因此，调节心肌能量代谢、抑制心肌过度纤维化、调控心肌凋亡及自噬是治疗 DCM 的要点^[24-26]。

本研究结果显示，保元汤治疗 DCM 的主要活性物质包括：五味子酯乙、花生四烯酸、脱氧三尖杉酯碱、格里西轮、异黄烷酮、槲皮素、原花青素 B1 等。已有研究也表明，五味子酯乙具有保护心肌线粒体^[27]及抗心肌纤维化^[28-29]等作用；槲皮素可调控体内 NAD^+ 的平衡，改善心肌能量代谢^[30]，也可通过抑制 ROS 介导的 $\text{p38}\alpha/\text{MAPK}$ 或 $\text{TGF}\beta 1/\text{Smad3}$ 信号通路，抑制心肌成纤维细胞增殖，从而延缓心肌纤维

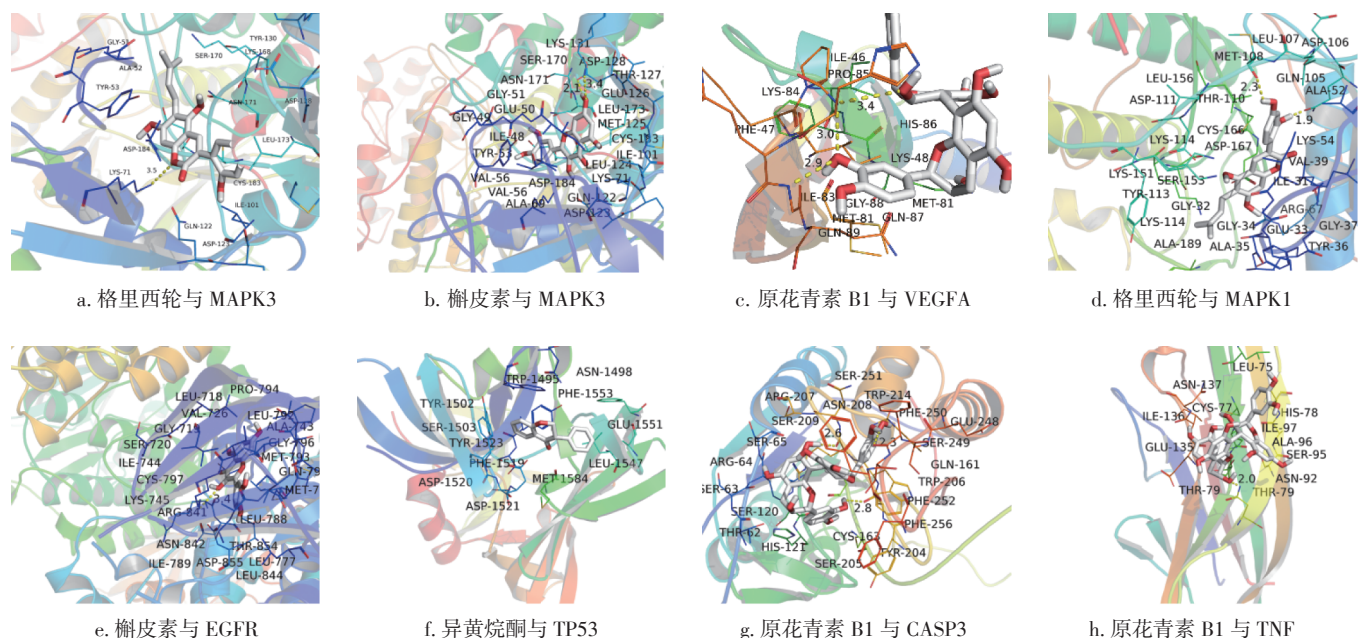


图9 药效成分与核心靶点对接模式图

Figure 9 Docking mode diagram of pharmacodynamic components and targets

化^[31-32]；花生四烯酸代谢产物可改善心肌线粒体功能、抑制心室重构^[33-34]；原花青素 B1 具有抗炎作用，是治疗心肌炎所致 DCM 的潜在活性物质^[35]。PPI 网络结果显示，保元汤治疗 DCM 的主要靶点为 MAPK3、MAPK1、VEGFA、EGFR、TP53、CASP3、TNF 等。分子对接结果显示，保元汤主要活性成分与上述核心靶点均具有较高的结合能，其结合能力与现有治疗 DCM 的西药相似。

KEGG 富集分析结果显示，保元汤治疗 DCM 是多通路、多机制的结果。在现有研究中，MAPKs、PI3K-Akt、cGMP-PKG 等通路 with DCM 的发病密切相关。MAPKs 信号通路广泛存在于动物体内，通过 ERK、JNK、p38MAPK 及 ERK5/BMK1 等途径^[36]介导一系列病理生理过程^[37]。近年来，诸多研究显示，MAPKs 通路在心肌能量代谢、凋亡、自噬、纤维化等过程中发挥关键作用。Tao 及 Hu 等^[38-40]研究发现，ERK1/2 通路的激活可促进成纤维细胞的增殖，心肌间质胶原浓度升高，加速心肌纤维化；相反，抑制 ERK1/2 则可显著抑制成纤维细胞增殖，延缓心肌纤维化。Hou 等^[41]研究发现多西环素可通过抑制心肌细胞 p38 MAPK 通路，进而改善心肌自噬。另外，p38 MAPK 通路在心肌凋亡中也发挥着重要作用，由缺血、氧化应激等介导的 ROS/p38α 通路激活，促进心肌细胞凋亡，相反，PI3K/p38β 通路可抑制 ROS 生成，抑制心肌凋亡^[42]。PI3K-Akt 通路是具

有心脏保护作用的重要通路。既往研究^[43]表明，PI3K-Akt 通路可通过诸多途径发挥抗心肌凋亡的作用，如抑制促凋亡分子 BAD 活性，使 Bcl-2 释放增多而产生抗凋亡作用，Akt 磷酸化叉头转录因子，使 FKHRL1 无法进入细胞核启动凋亡基因^[44]。PI3K-Akt 通路在抑制心肌细胞自噬、调节心肌能量代谢方面也发挥重要作用^[45-46]。cGMP-PKG 信号通路的激活，上调抗凋亡蛋白 bcl-2 的表达、抑制线粒体通透性转换孔(mPTP)开放，从而发挥抗心肌凋亡的作用^[47]。cGMP-PKG 信号通路可能是抑制心室重构的重要通路^[48-49]。癌症中的蛋白聚糖通路及癌症中的 MicroRNA 提示保元汤可运用于癌症治疗，是中医学异病同治的体现。

综上所述，保元汤通过不同活性物质的协同作用，可从保护心肌线粒体、调节心肌能量代谢、调控心肌细胞凋亡及自噬、抑制心肌纤维化等方面发挥治疗 DCM 的作用。本研究提示的保元汤治疗 DCM 的相关活性物质、靶点以及信号通路，部分已被基础实验证实，说明该研究方法的准确性及实用性，而未被证实的靶点及通路可作为理论基础，为进一步揭示其分子机制的研究提供方向。

参考文献：

- [1] DOUGLAS L, MANN, MICHAEL R, et al. Mechanisms and models in heart failure: the biomechanical model and beyond[J]. Circulation,

- 2005, 111: 2837
- [2] 王志民, 邹玉宝, 宋雷, 等. 超声心动图检查调查8080例成人肥厚型心肌病患病率[J]. 中华心血管病杂志, 2004, 32(12): 39-43.
- [3] LIU X Y, YU H Y, PEI J H, et al. Clinical characteristics and long-term prognosis in patients with chronic heart failure and reduced ejection fraction in China[J]. Heart Lung Circ, 2014, 23: 818-26.
- [4] 张炜, 党爱民, 樊晓寒, 等. 扩张型心肌病心脏性猝死患者临床特征分析[J]. 中华心律失常学杂志, 2016, 20(3): 207-211.
- [5] SHAH R M, DHAVALKUMAR P, JANOS M, et al. Cardiac-resynchronization therapy in patients with systolic heart failure and QRS interval ≤ 130 ms: insights from a meta-analysis[J]. Europace, 2015, 2: 267-273.
- [6] FLORÉ V, BARTUNEK J, GOETHALS M, et al. Electrical remodeling reflected by QRS and T vector changes following cardiac resynchronization therapy is related to survival in heart failure patients with left bundle branch block[J]. Journal of Electrocardiology, 2015, 48(4): 578-585.
- [7] 陆曙, 沈丽娟, 任春, 等. 扩张型心肌病患者中医证素与抗心肌抗体的相关性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(18): 152-156.
- [8] 陈磊, 王振涛. 王振涛教授治疗扩张型心肌病临床经验[J]. 中医临床研究, 2012, 4(10): 86-87.
- [9] 侯德健, 郭子光. 郭子光辨治扩张型心肌病经验[J]. 湖北中医杂志, 2008, 30(3): 21-22.
- [10] 张焕鑫, 张宏考, 肖俊会, 等. 生脉保元汤治疗扩张型心肌病的临床研究[J]. 临床心血管病杂志, 2012, 28(2): 26-28.
- [11] YU G, WANG L G, HAN Y, et al. ClusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters[J]. Omics: A Journal of Integrative Biology, 2012, 16(5): 284-287.
- [12] OLEG T, OLSON A J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading[J]. J Comput Chem, 2010, 31(2): 455-461.
- [13] 赵晨, 夏春光, 于敏, 等. 分子对接软件在药物设计中的应用[J]. 中国抗生素杂志, 2015, 40(3): 234-240.
- [14] 罗玉婷, 林龙飞, 刘宇灵, 等. 基于网络药理学及分子对接技术探讨半夏泻心汤治疗结肠癌潜在分子机制[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(23): 5753-5761.
- [15] 陈纪烨, 张永健, 姜萍, 等. 基于网络药理学的五苓散治疗慢性心力衰竭的机制研究[J]. 中草药, 2020, 51(20): 5220-5227.
- [16] ZHANG F, LIN X, YU L, et al. Low-dose radiation prevents type 1 diabetes-induced cardiomyopathy via activation of AKT mediated anti-apoptotic and anti-oxidant effects[J]. Journal of Cellular & Molecular Medicine, 2016, 20(7): 1352-1366.
- [17] YU H, ZHEN J, YANG Y, et al. Ginsenoside Rg1 ameliorates diabetic cardiomyopathy by inhibiting endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in a streptozotocin-induced diabetes rat model[J]. Journal of Cellular & Molecular Medicine, 2016, 20(4): 623-631.
- [18] METZGER M, HIGUCHI M L, MOREIRA L F, et al. Relevance of apoptosis and cell proliferation for survival of patients with dilated cardiomyopathy undergoing partial left ventriculectomy[J]. Eur J Clin Invest, 2002, 32: 394-399.
- [19] ZHANG M, TAVORA F, HUEBNER T, et al. Allograft pathology in patients transplanted for idiopathic dilated cardiomyopathy[J]. Am J Surg Pathol, 2012, 36(3): 389-395.
- [20] 黄镇奎. 扩张型心肌病的病理形态特征及其临床意义[J]. 中国医药指南, 2011, 9(9): 55-56.
- [21] SCHULZE K, BECKER B F, SCHULTHEISS H P. Antibodies to the ADP/ATP carrier, an autoantigen in myocarditis and dilated cardiomyopathy, penetrate into myocardial cells and disturb energy metabolism in vivo[J]. Circulation Research, 1989, 64(2): 179-192.
- [22] NARULA J, HAIDER N, VIRMANI R, et al. Apoptosis in myocytes in end-stage heart failure[J]. New England Journal of Medicine, 1996, 335(16): 1182-1189.
- [23] WEINTRAUB R G, SEMSARIAN C, MACDONALD P. Dilated cardiomyopathy[J]. The Lancet, 2017, 390: 400-414.
- [24] MERLO M, CAIFFA T, GOBBO M, et al. Reverse remodeling in Dilated Cardiomyopathy: Insights and future perspectives[J]. IJC Heart & Vasculture, 2018, 18: 52-57.
- [25] METZGER M, HIGUCHI M L, MOREIRA L F, et al. Relevance of apoptosis and cell proliferation for survival of patients with dilated cardiomyopathy undergoing partial left ventriculectomy[J]. European Journal of Clinical Investigation, 2002, 32(6): 394-399.
- [26] GHOSH J, DAS J, MANNA P, et al. Taurine prevents arsenic-induced cardiac oxidative stress and apoptotic damage: Role of NF- κ B, p38 and JNK MAPK pathway[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2009, 240(1): 73-87.
- [27] 武卫党, 张丹凤, 郭纪文, 等. 五味子乙素对心肌缺血再灌注心肌细胞及线粒体损伤的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(12): 1875-1879.
- [28] 陈彭生, 刘佳, 孟浩宇, 等. 五味子乙素对急性心肌梗死小鼠心肌结构和心功能的影响[J]. 中华心血管病杂志, 2017, 45(11): 963-970.
- [29] AI F, GUO Q H, YU B, et al. Schisandrin B attenuates pressure overload-induced cardiac remodeling in mice by inhibiting the MAPK signaling pathway[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2019, 18(6): 4645-4652.
- [30] ESCANDE C, NIN V, PRICE N L, et al. Flavonoid apigenin is an inhibitor of the NAD⁺ ase CD38: implications for cellular NAD⁺ metabolism, protein acetylation, and treatment of metabolic syndrome[J]. Diabetes, 2013, 62(4): 1084-1093.
- [31] 焦美, 钟涵宇, 陈克研, 等. 槲皮素通过TGF β 1/Smad3信号通路改善慢性心衰大鼠心肌纤维化[J]. 解剖科学进展, 2020, 26(4): 391-395.
- [32] 李敏. 槲皮素及其糖苷衍生物芦丁对心肌纤维化的抑制作用及机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2014.
- [33] WANG Y X, LU L Q, WANG X Y, et al. Protective effects of 11, 12-epoxyeicosatrienoic acid preconditioning and postconditioning on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats[J]. Sheng Li Xue Bao, 2008, 60: 23-8.

- [34] MERABET N, BELLIE J, GLEVAREC E, et al. Soluble epoxide hydrolase inhibition improves myocardial perfusion and function in experimental heart failure[J]. *Journal of Molecular & Cellular Cardiology*, 2012, 52(3): 660–666.
- [35] 李玉玲, 张璇, 邢静, 等. 原花青素B1对脂多糖介导的炎症反应的抑制作用及其机制探讨[J]. *中华危重症医学杂志(电子版)*, 2015, 8(5): 273–278.
- [36] 陈建勇, 王聪, 王娟, 等. MAPK信号通路研究进展[J]. *中国医药科学*, 2011, 1(8): 32–34.
- [37] LIANG Y J, YANG W X. Kinesins in MAPK cascade: how kinesin motors are involved in the MAPK pathway[J]. *Gene*, 2018, 684: 1–9.
- [38] TAO H, YANG J J, CHEN Z W, et al. DNMT3A silencing RASSF1A promotes cardiac fibrosis through upregulation of ERK1/2 [J]. *Toxicology*, 2014, 323: 42–50.
- [39] HU Y, ZHANG L, WU X, et al. Bisphenol A, an environmental estrogen-like toxic chemical, induces cardiac fibrosis by activating the ERK1/2 pathway[J]. *Toxicology Letters*, 2016, 250/251: 1–9.
- [40] HU J, WANG X, WEI S M, et al. Activin A stimulates the proliferation and differentiation of cardiac fibroblasts via the ERK1/2 and p38– MAPK pathways[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2016, 789: 319–327.
- [41] HOU L J, XIE M Y, YE W C, et al. Doxycycline ameliorates autophagy by inhibiting p38 MAPK in cardiac myocytes[J]. *Int J Cardiol*, 2020, 328: 178.
- [42] KIM J K, PEDRAM A, RAZANDI M, et al. Estrogen prevents cardiomyocyte apoptosis through inhibition of reactive oxygen species and differential regulation of p38 kinase isoforms[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(10): 6760.
- [43] SAKAMAKI J I, DAITOKU H, UENO K, et al. Arginine methylation of BCL-2 antagonist of cell death(BAD) counteracts its phosphorylation and inactivation by Akt[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(15): 6085–6090.
- [44] GARDINO A K, YAFFE M B. 14– 3– 3 proteins as signaling integration points for cell cycle control and apoptosis[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2011, 22(7): 688–695.
- [45] HOU X, HU Z, XU H, et al. Advanced glycation endproducts trigger autophagy in cardiomyocyte Via RAGE/PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *Cardiovascular Diabetology*, 2014, 13(1): 78.
- [46] POLESSKAYA O, WONG C, LEBRON L, et al. MLK3 regulates fMLP– stimulated neutrophil motility[J]. *Molecular Immunology*, 2014, 58(2): 214–222.
- [47] WU B, JIANG H, LIN R, et al. Pretreatment with B–type natriuretic peptide protects the heart from ischemia– reperfusion injury by inhibiting myocardial apoptosis[J]. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 2009, 219(2): 107.
- [48] CHEN J, WANG D, WANG F, et al. Exendin– 4 inhibits structural remodeling and improves Ca²⁺ homeostasis in rats with heart failure via the GLP–1 receptor through the eNOS/cGMP/PKG pathway [J]. *Peptides*, 2017, 90: 69.
- [49] QIN L H, ZANG M X, XU Y, et al. Chlorogenic acid alleviates hyperglycemia– induced cardiac fibrosis through activation of the NO/cGMP/PKG pathway in cardiac fibroblasts[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2020, 65(2): 2000810.

(编辑: 梁进权)