·论　著·

基于网络药理和生物信息学探讨麻黄附子细辛汤治疗三度房室传导阻滞的作用机制Δ

吴文俊[1,2*]，张赤道[1,2]，李　雪[1,2]，卫靖靖[1,2]，王新陆[1]，朱明军[1#]（1.河南中医药大学第一附属医院心脏中心，郑州　450000；2.河南中医药大学第一临床医学院，郑州　450000）

中图分类号　R932；R96　　文献标志码　A　　文章编号　1672-2124(2024)10-1183-07
DOI　10.14009/j.issn.1672-2124.2024.10.006

摘　要　目的：基于网络药理及生物信息学探讨麻黄附子细辛汤治疗三度房室传导阻滞的潜在作用机制。方法：运用中药系统药理学数据库与分析平台获得麻黄附子细辛汤中潜在活性成分及作用靶点；借助 GeneCards、人类孟德尔遗传综合数据库和 DisGeNET 数据库获取三度房室传导阻滞的相关性靶点；借助韦恩图获取麻黄附子细辛汤与三度房室传导阻滞的交集靶点信息，导入 Cytoscape 建立药物-成分-靶点-通路-疾病网络。将 STRING 平台和 Cytoscape 结合构建蛋白质-蛋白质相互作用网络并筛选出关键靶点，并通过 Metascape 平台进行基因本体（GO）功能富集分析和京都基因与基因组百科全书（KEGG）通路富集分析。利用 AutodockTools 和 Pymol 等软件对关键靶点与核心成分进行分子对接并将其可视化。结果：得到有效成分 51 个，对应靶点 240 个，与三度房室传导阻滞疾病靶点映射后共获得 94 个交集靶点；GO 功能富集分析涉及 1 742 条，KEGG 通路富集分析得到 175 条，主要影响有细胞迁移的正向调节、细胞对脂质的反应、细胞对有机环化合物的反应等生物过程，涉及糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物（AGE）-AGE 受体信号通路、癌症通路、流体切应力与动脉粥样硬化、磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B（Akt）和缺氧诱导因子-1 等通路；分子对接方法将前 5 种有效成分与核心靶点蛋白进行对接，显示木犀草素、柚皮素和 β-谷甾醇等化合物与基质金属蛋白酶-9、白细胞介素 1β、血管内皮生长因子 A、表皮生长因子和 Akt1 等核心靶点结合较好，结论：麻黄附子细辛汤可以通过多成分-多靶点-多通路发挥协同治疗三度房室传导阻滞的作用。

关键词　麻黄附子细辛汤；三度房室传导阻滞；网络药理；生物信息；信号通路

Mechanism of Mahuang Fuzi Xixin Decoction in the Treatment of Grade Ⅲ Atrioventricular Block Based on Network Pharmacology and Bioinformatics[Δ]

WU Wenjun[1,2], ZHANG Chidao[1,2], LI Xue[1,2], WEI Jingjing[1,2], WANG Xinlu[1], ZHU Mingjun[1]（1. Dept. of Cardiovascular Disease, the First Affiliated Hospital of Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China; 2. The First Clinical Medical College, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE: To probe into the potential mechanism of Mahuang Fuzi Xixin decoction in the treatment of grade Ⅲ atrioventricular block based on network pharmacology and bioinformatics. METHODS: Potential active components and action targets of Mahuang Fuzi Xixin decoction were obtained by Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform database. Correlation targets of grade Ⅲ atrioventricular block were obtained by GeneCards, On-Line Mendelian Inheritance in Man (OMIM) and DisGeNET databases. Intersection target information of Mahuang Fuzi Xixin decoction and grade Ⅲ atrioventricular block was obtained by Wayne diagram. Drug-component-target-pathway-disease network was established by constructing Cytoscape. STRING and Cytoscape were used to construct protein-protein interaction network and screen out key targets. Gene Ontology (GO) function enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed by using Metascape platform. The key targets and core components were docked and visualized by AutodocTools and Pymol software. RESULTS: Totally 51 active components and 240 corresponding targets were obtained, and 94 intersection targets were obtained after mapping with grade Ⅲ atrioventricular block disease targets. GO functional enrichment analysis involved 1 742 items, and 175 items were obtained by KEGG pathway enrichment analysis, which mainly affected biological processes such as positive regulation of cell migration, cell response to lipids

Δ 基金项目：国家自然科学基金重点项目（No. 82030120）；国家中医药管理局中医药传承与创新“百千万”人才工程（岐黄工程）岐黄学者（No. 国中医药人教函〔2021〕203 号）

* 硕士研究生。研究方向：中西医防治心血管疾病。E-mail：wwjun0601@163.com
# 通信作者：主任医师，博士，教授，博士生导师。研究方向：中西医防治心血管疾病的临床和基础研究。E-mail：zhumingjun317@163.com

and cell response to organic cyclic compounds, and including advanced glycosylation end product (AGE)-AGE receptor (AGE-RAGE) signaling pathway, cancer pathway, fluid shear stress and atherosclerosis, phosphatidylinositol 3 kinase/serine threonine protein kinase (PI3K/Akt), hypoxia-inducible factor (HIF)-1 pathway in diabetic complications. Molecular docking method docked the first five active components with core target proteins, which showed that luteolin, naringenin and β-sitosterol had good binding with core target genes such as matrix metalloproteinase 9, interleukin 1β, vascular endothelial growth factor A, epidermal growth factor and Akt1. CONCLUSIONS: Mahuang Fuzi Xixin decoction can play a synergistic role in the treatment of grade Ⅲ atrioventricular block through multicomponent-multitarget-multipathway.

KEYWORDS Mahuang Fuzi Xixin decoction; Grade Ⅲ atrioventricular block; Network pharmacology; Bioinformation; Signal pathway

三度房室传导阻滞(Third degree Atrioventricular Block,Ⅲ°AVB)是由于房室结传导连接窦房结和心室的心脏导电通路失常[1],造成心房全部冲动不能传导至心室,是临床常见的一种缓慢性心律失常。临床表现为全身疲劳、胸痛、呼吸短促和晕厥前兆。虽然Ⅲ°AVB相对罕见,但随着人们生活压力增大、作息方式紊乱和饮食不洁,该病的患病率在不断上升,尤其在患有高血压和糖尿病的人群中有着显著趋向性[2]。目前药物治疗疗效甚微,置入心脏起搏器是治疗Ⅲ°AVB的确定性治疗方法,但只能减缓症状,且具有加速心脏结构和功能恶化的副作用[3]。

Ⅲ°AVB属于“心悸”“胸痹”“眩晕”和“迟脉证”的中医学范畴,证属本虚标实,本虚以阳虚为主,标实以血瘀,痰盛为主,治疗宜益气温阳通络[4]。麻黄附子细辛汤始载于《伤寒论》少阴病篇,由麻黄、附子和细辛3味药组成,具有温阳解表散寒之功[5]。研究表明,麻黄附子细辛汤具有抑制迷走神经和兴奋交感神经、影响心肌细胞离子通道、抗氧自由基、改善心肌血流及能量代谢和调节心肌细胞信号通路等作用[6],临床上可用于Ⅲ°AVB、病态窦房结综合征等疾病的治疗[7-8]。目前麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB的研究缺乏充分的循证医学证据且作用机制尚不明确,本研究基于网络药理学及分子对接方法,探究其有效成分,潜在靶点的关联性与可能存在的作用机制,以期为后来的临床研究和用药提供参考。

1 资料与方法

1.1 麻黄附子细辛汤药物主要活性成分筛选及靶点收集

运用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)筛选麻黄附子细辛汤中3味中药(麻黄、附子和细辛)的有效活性成分和对应靶点,设置条件为口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18。利用Uniprot数据库将靶点名称进行统一标准化处理,用于随后的数据分析。

1.2 Ⅲ°AVB靶点筛选与韦恩图的绘制

以“Third degree Atrioventricular Block”“Complete Atrioventricular Block”为关键词在DisGeNET数据库、GeneCards数据库和人类孟德尔遗传综合数据库(OMIM)数据库中进行检索并筛选Ⅲ°AVB靶点,最终将3个数据库检索结果予以合并、删除重复靶点后得到Ⅲ°AVB相关靶点。将所得Ⅲ°AVB靶点与麻黄附子细辛汤的靶点输入Venny 2.1在线工具,绘制交集靶点韦恩图,提取交集靶点即为麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB的潜在靶点。

1.3 活性成分-靶点网络构建与关键活性成分分析

利用Cytoscape软件绘制活性成分-靶点可视化网络图,再通过Networkanalyzer网络分析功能进行网络拓扑相关性分析,根据其度值(Degree)大小,筛选出麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB前5个关键活性成分。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建

将交集靶点导入STRING数据库,种族选择Homosapiens,将置信度设置为0.4,去除游离靶点,获得制表符分隔值格式的PPI关系,保存结果。将结果导入Cytoscape软件绘制PPI网络。使用NetworkAnalyzer插件进行拓扑学分析,根据Degree值排序,以节点连接度的2倍中位数为卡值,筛选出核心靶点。

1.5 基因本体(GO)功能富集分析与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

运用Metascape平台导入麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB靶点,设置条件为$P<0.01$,进行GO功能富集和KEGG通路富集,将所得结果按P值降序排列,然后绘制GO功能条形图和KEGG通路气泡图。

1.6 药物-成分-靶点-通路-疾病网络构建

将KEGG分析获得的通路、麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB的重要靶点以及与重要靶点有对接的主要活性成分等数据导入Cytoscape软件中,构建药物-成分-靶点-通路-疾病网络。

1.7 分子对接方法

在TCMSP上查找到核心化合物的ID,将ID输入到PubChem数据库中并下载核心化合物的2Dstructure的sdf文件,通过OpenBabel软件将sdf格式转化为mol2格式。将关键靶点导入PDB数据库,通过放射度(R值)筛选得到最佳的靶点蛋白,保存蛋白结构为pdb文件,运用Pymol软件对蛋白质先进行去水、去配体操作,再经Autodock软件加氢、计算电荷等后保存成pdbqt格式。做完分子前期处理后,将处理后的化合物成分与目标蛋白在AutodockTools软件中进行分子对接,将对接数据导入Pymol软件进行可视化分析。以分子对接结合能评估麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB中关键活性成分与核心靶点的结合关系。结合能越小,受体与配体间亲和力越高,<0 kJ/mol表示两者之间可自由结合;<-20.92 kJ/mol表明两者之间结合活性较好;<-29.29 kJ/mol表明两者之间结合活性强烈[9-10]。

2 结果

2.1 麻黄附子细辛汤活性成分和靶点筛选

利用TCMSP数据库,共检索到符合筛选条件的麻黄附

子细辛汤活性成分 52 个(含重复),麻黄 23 个,附子 21 个,细辛 8 个,删除重复靶点后得到 51 个活性成分,对应 240 个作用靶点。列举 OB 值各前 5 位的活性成分见表 1。

表 1　麻黄附子细辛汤中的部分活性成分

MOL ID	化合物名称	OB/%	DL	来源
MOL010788	无色天竺葵素(leucopelargonidin)	57.97	0.24	麻黄
MOL000492	(+)-儿茶素[(+)-catechin]	54.83	0.24	麻黄
MOL004328	柚皮素(naringenin)	59.29	0.21	麻黄
MOL004576	紫杉醇(taxifolin)	57.84	0.27	麻黄
MOL005190	圣草酚(eriodictyol)	71.79	0.24	麻黄
MOL002388	飞燕草素_qt(delphin_qt)	57.76	0.28	附子
MOL002395	去氧穿心莲内酯(deoxyandrographolide)	56.3	0.31	附子
MOL002398	水黄皮素(karanjin)	69.56	0.34	附子
MOL002419	(R)-去甲乌头碱[(R)-norcoclaurine]	82.54	0.21	附子
MOL002421	乌头碱(ignavine)	84.08	0.25	附子
MOL012140	4,9-二甲氧基-1-乙烯基-$b-咔啉(4,9-dimethoxy-1-vinyl-$b-carboline)	65.3	0.19	细辛
MOL001460	隐品碱(cryptopin)	78.74	0.72	细辛
MOL001558	芝麻素(sesamin)	56.55	0.83	细辛
MOL002501	[(1S)-3-[(E)-but-2-烯基]-2-甲基-4-氧代-1-环戊-2-烯基](1R,3R)-3-[(E)-3-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙-1-烯基]-2,2-二甲基环丙烷-1-羧酸盐{[(1S)-3-[(E)-but-2-enyl]-2-methyl-4-oxo-1-cyclopent-2-enyl](1R,3R)-3-[(E)-3-methoxy-2-methyl-3-oxoprop-1-enyl]-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate}	62.52	0.31	细辛
MOL002962	(3S)-7-羟基-3-(2,3,4-三甲氧基苯基)苯并二氢吡喃-4-酮[(3S)-7-hydroxy-3-(2,3,4-trimethoxyphenyl)chroman-4-one]	48.23	0.33	细辛

2.2　Ⅲ°AVB 靶点筛选与韦恩图的绘制

通过 DisGeNET、GeneCards 和 OMIM 数据库分别得到 403、2 040 和 88 个疾病靶点。将 3 个数据库检索结果合并并删除重复所得 2 379 个疾病靶点,药物靶点与疾病靶点进行交集,得到 94 个的潜在作用靶点。

2.3　活性成分-靶点网络构建与关键活性成分分析

针对麻黄附子细辛汤治疗中的 94 个潜在作用靶点,采用 Cytoscape 软件构建活性成分-靶点网络,见图 1。运用该软件中的 Networkanalyzer 功能进行网络拓扑分析,根据 degree 值得到麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB 的 degree 值排序居前 5 位的关键活性成分是槲皮素(quercetin,Degree 值=67)、木犀草素(luteolin,Degree 值=25)、山柰酚(kaempferol,Degree 值=23)、柚皮素(naringenin,Degree 值=14)和 β-谷甾醇(beta-sitosterol,Degree 值=10)。

2.4　PPI 网络构建

利用 STRING 数据库与 Cytoscape 构建麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB 靶点的多样化 PPI 网络,见图 2。从图中可见 93 个节点,1 340 条边,PPI 次数越多,圆点越大,颜色也越深,也表示该靶点在治疗Ⅲ°AVB 的过程中发挥着越关键的作用。利用柱状图展示前 10 个核心靶点,见表 2、图 3。由此可见,Akt1、TNF、IL-6、VEGFA、EGF、TP53、IL-1β、MMP-9、EGFR 和 PPARG 靶点在治疗Ⅲ°AVB 起到关键作用。

2.5　麻黄附子细辛汤作用于Ⅲ°AVB 富集分析

运用 Metascape 平台对交集靶点进行 GO 功能及 KEGG 通路富集分析。GO 富集条目共 1 742 个,具体包括生物过程(BP)1 545 个、细胞组分(CC)83 个和分子功能(MF)114 个。

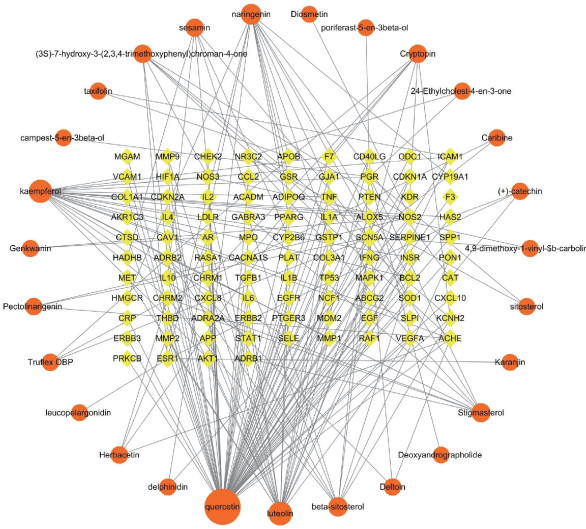


图 1　活性成分-靶点网络图

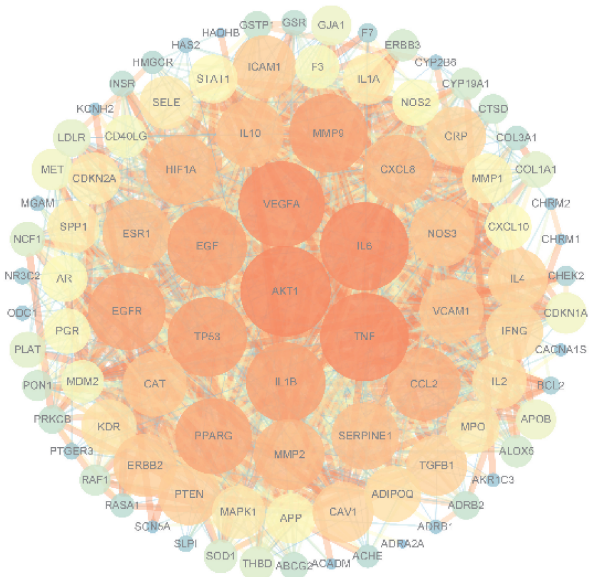


图 2　麻黄附子细辛汤作用与Ⅲ°AVB 共同靶点的 PPI 网络及核心靶蛋白

表 2　核心靶蛋白信息

序号	靶点名	蛋白名	中文名称	Degree 值
1	Akt1	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	蛋白激酶 B	70
2	TNF	tumor necrosis factor	肿瘤坏死因子	68
3	IL-6	interleukin-6	白细胞介素 6	68
4	VEGFA	vascular endothelial growth factor A	血管内皮生长因子 A	66
5	EGF	pro-epidermal growth factor	内皮生长因子	60
6	TP53	cellular tumor antigen p53	细胞肿瘤抗原 p53	60
7	IL-1β	interleukin-1 beta	白细胞介素 1β	60
8	MMP-9	matrix metalloproteinase-9	基质金属蛋白酶-9	59
9	EGFR	epidermal growth factor receptor	内皮生长因子受体	58
10	PPARG	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	过氧化物酶体增殖物激活受体 γ	57

2.5.1　麻黄附子细辛汤潜在作用 GO 功能富集分析:将 GO 数据按 P 值升序排列,用柱状图分别展示 BP、CC 和 MF 的前

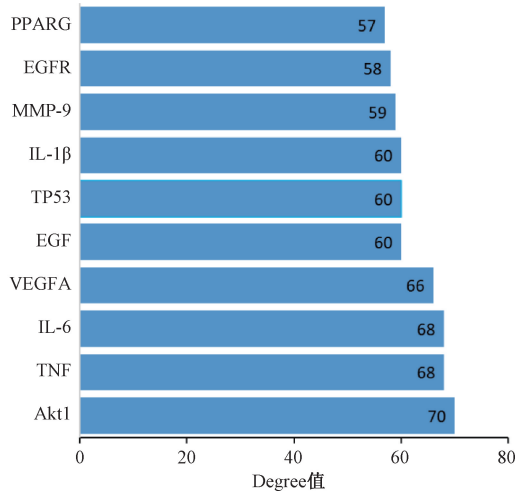


图 3　麻黄附子细辛汤作用核心靶点柱状图

10 个主要富集结果，见图 4。其中 *X* 轴为 GO 名称，*Y* 轴表示富集度，由图可知靶点关联的生物过程主要有细胞迁移的正向调节、细胞对脂质的反应、蛋白质磷酸化的正向调节、细胞对有机环化合物的反应、对内毒素的反应和对激酶活性的调节等生物过程（BP）；膜筏、细胞外基质、分泌颗粒管腔和胞质小泡腔等细胞组分（CC）；细胞因子活性、信号受体激活剂活性、细胞因子受体结合、蛋白酶结合、生长因子受体结合和氧化还原酶活性等分子功能（MF）。

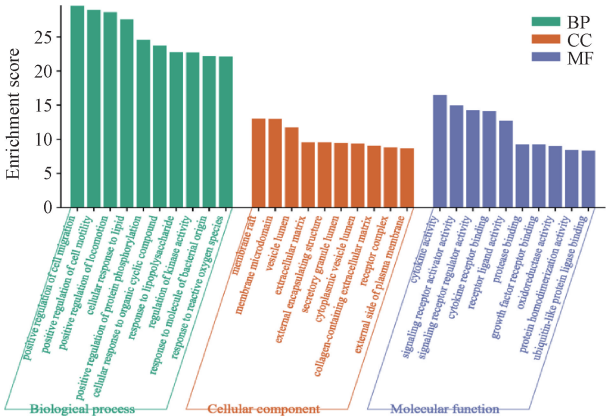


图 4　麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB 的交集靶点 GO 功能富集分析

2.5.2　麻黄附子细辛汤潜在作用 KEGG 通路富集分析：KEGG 富集分析得到 175 条通路，根据 *P* 值大小筛选出前 20 条制作 KEGG 功能富集分析气泡图，见图 5。图中靶点富集度（*X* 轴）、通路名称（*Y* 轴）、颜色（*P* 值）、气泡大小与基因数正相关，可知交集靶点主要调控糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物（AGE）-AGE 受体（RAGE）信号通路、癌症通路、流体切应力与动脉粥样硬化、脂质与动脉粥样硬化、磷脂酰肌醇 3 激酶（PI3K）-Akt 信号通路和缺氧诱导因子（HIF）-1 信号通路等。

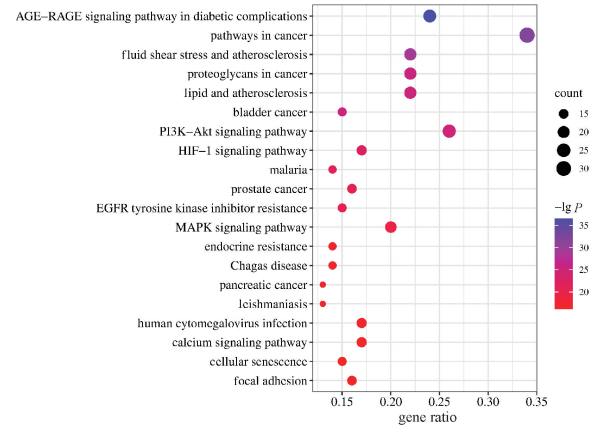


图 5　交集靶点 KEGG 富集气泡图

2.6　麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB 的药物-成分-靶点-通路-疾病网络

为了深入探讨药物与疾病的关联性，将中药、活性成分、麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB 的 94 个重要靶点和富集程度显著的前 20 条信号通路导入 Cytoscape 软件构建药物-成分-靶点-通路-疾病网络，见图 6。该网络有 146 个结点，632 条边，由图可知 1 个化合物对应多个靶点，多个靶点对应 1 个化合物，1 个靶点对应多条通路，表明麻黄附子细辛汤通过多靶点多途径发挥治疗Ⅲ°AVB 的作用。

2.7　分子对接结果

选取关键活性成分（槲皮素、木犀草素、山柰酚、柚皮素和 *β*-谷甾醇）和 PPI 网络中 Degree 值前 10 位的核心靶点（Akt1、TNF、IL-6、VEGFA、EGF、TP53、IL-1β、MMP-9、EGFR 和 PPARG）进行分子对接，利用 AutoDock 软件进行分子对接计算，对接结果见图 7。亲和力前 6 位分子对接可视化见图 8。结果显示，木犀草素与 EGF、IL-1β 和 MMP-9，山柰酚与 EGF、MMP-9，柚皮素与 Akt1、IL-1β 和 MMP-9，*β*-谷甾醇与 Akt1、VEGFA、EGF、TP53 和 EGFR 之间结合能均<−20.92 kJ/mol，

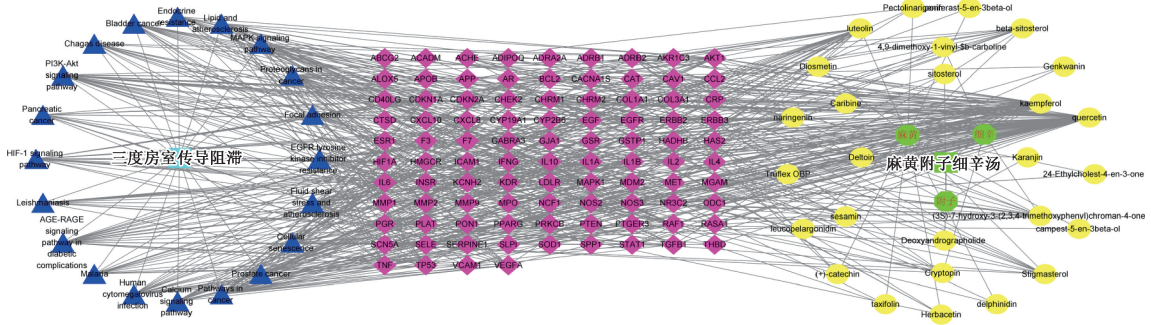


图 6　麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB 的药物-成分-靶点-通路-疾病网络

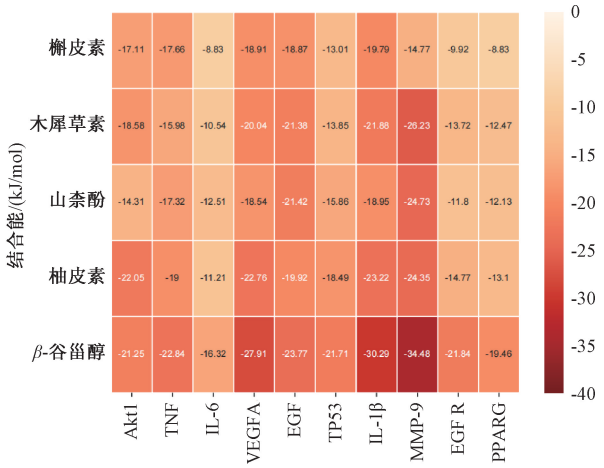
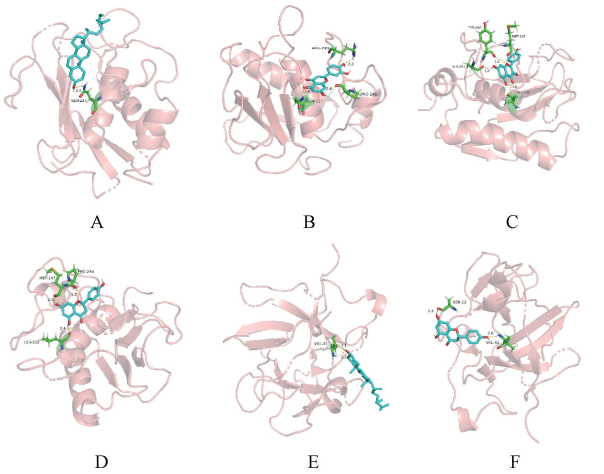


图 7　分子对接结合能热图



A. MMP-9 与β-谷甾醇；B. MMP-9 与木犀草素；C. MMP-9 与山柰酚；D. MMP-9 与柚皮素；E. IL-1β 与β-谷甾醇；F. IL-1β 与柚皮素。

图 8　部分分子对接模式图

呈现较好结合活性。β-谷甾醇与 IL-1β、MMP-9 之间结合能均<-29.29 kJ/mol，呈现强烈的结合活性。这些活性成分与关键靶点可能在麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB 过程中发挥主要治疗作用。

3　讨论

3.1　麻黄附子细辛汤组分分析

Ⅲ°AVB 多由心脏供血不足或心肌炎症反应引起，导致心脏传导系统出现异常，从而出现脉搏缓慢、胸闷、气短和乏力等症状。中医将该疾病归属于迟脉症，为“心悸”的一种。心主血脉，心阳鼓动有力则心跳和血运正常；肾阳为阳气之根，肾阳旺盛，则心阳得以温煦，鼓动充沛。反之，心阳不足，推动无力，则心率缓慢；进而血行滞缓，瘀滞心中，可见胸闷、气短；水谷精微滋养不足，则见乏力，故阳虚鼓动无力，变病百生。因此Ⅲ°AVB 根本病机在于心肾阳虚。肾阳亏虚，心阳不得上温，导致心阳衰弱，鼓动乏力，血流滞缓，痰血内阻，阻于心路，以致本病。麻黄附子细辛汤是伤寒经方，内含 3 味中药成分，首载于《神农本草经》。方中炙麻黄具有畅通血脉，温散寒邪，鼓舞阳气之功；制附子温肾助阳，力宏效捷，走窜十二经脉，既行气分，又入血分，既能通阳，又可温阳；细辛散寒，通利血脉；三药合用温通心阳，振奋元阳。故应用麻黄附子细辛汤以温补心肾、养心益气、通阳复脉来治疗Ⅲ°AVB。

麻黄，味辛、微苦、温，归肺、膀胱经，功擅发汗解表、宣肺平喘、利尿消肿。麻黄中的麻黄碱有类似肾上腺素的交感神经兴奋作用，使心跳反应加快，增加心率；角鲨烯促进窦房结的血液供应，保护窦房结起搏功能[11-12]。附子，味辛、甘、大热，归心、肾、脾经，长于回阳救逆、补火助阳、散寒止痛。附子中去甲乌药碱可以加快窦房结起搏细胞舒张期自动去极化进程，增快心率，具有抗心律失常作用[13]。细辛，味辛、温，归心、肺、肾经，善于通窍、解表散寒、祛风止痛和温肺化饮。细辛中芝麻脂素防治与心血管疾病有关的内皮功能障碍，细辛脂素和多糖可提高心脏谷胱甘肽过氧化物酶及一氧化氮合酶的活性，抑制自由基反应，减轻氧化应激造成的心肌细胞损伤，保护窦房结功能[14-15]。

3.2　关键活性成分分析

麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB 的主要活性成分可能为槲皮素、木犀草素、山柰酚、柚皮素和β-谷甾醇。槲皮素可以抑制促纤维化因子的释放和抑制活性氧（ROS）介导的丝裂原激活的蛋白激酶（MAPK）信号通路[16]，产生抗心肌细胞纤维化的作用；同时研究表明槲皮素也有抗心律失常和调节氧化紊乱等作用[17]，从而保护心肌细胞结构和功能正常，改善心肌房室传导通路结构异常，起到治疗Ⅲ°AVB 的作用。研究结果表明，使用槲皮素后，传导障碍的频率显著降低，传导障碍减少 41.7%[18]。木犀草素可以有效抑制活化的巨噬细胞系中脂多糖诱导的 TNF-α 和 IL-6 的产生激活 PI3K-Akt 途径，从而可能抑制细胞凋亡，能够减少缺血再灌注过程中心律失常、心肌结构损害的发生[19]。山柰酚保护窦房结免受血管紧张素Ⅱ（AngⅡ）诱导半胱天冬酶-3 激活的窦房结细胞凋亡的侵害，减少了窦房结细胞的钙调蛋白激酶Ⅱ氧化和死亡[20]，预防心脏窦房结功能障碍，在治疗Ⅲ°AVB 的过程中发挥重要价值。柚皮素属于二氢黄酮类化合物，具有抗炎、抗菌、抗氧化和抗癌等生物学效能，抑制Ⅰ型胶原蛋白、Ⅲ型胶原蛋白和肌动蛋白 α2 等促纤维化基因的蛋白表达，揭示了柚皮素治疗心脏纤维化的潜力和潜在的抗心律失常作用[21]。β-谷甾醇能够参与多种细胞信号通路，包括细胞周期、细胞凋亡、增殖、存活和侵袭等，还具有抗炎、抗癌、抗氧化和心脏保护等作用，其提供的心脏保护可能是由心脏中线粒体谷胱甘肽氧化还原循环的上调介导的[22]。

3.3　关键靶点结果分析

根据网络药理分析及分子对接验证，发现 MMP-9、IL-1β、VEGFA、EGF 和 Akt1 等靶点可能是麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB 关键靶点。MMP-9 诱导的细胞外基质重塑影响连接蛋白 40、43 和 45 的表达，这导致与心肌细胞连接的心脏间隙连接蛋白的变化并导致房室细胞间传导紊乱。Rosenberger 等[23]研究发现，心脏 MMP-9 表达增加与连接蛋白 40、43 和 45 表达降低一致。心房肌细胞中连接蛋白 43 的缺失导致连接蛋白 40 的减少和心肌细胞中传播速度的降低，连接蛋白 40、43 和 45 的重新定位可能是房室传导延迟的 1 个促成因素。包括 IL-1β 在内的促炎细胞因子水平显著增加，通过炎症反应途径导致

Ⅲ°AVB。介导的炎症级联反应的最终结果是细胞膜损伤、水肿和细胞死亡,心肌成纤维细胞 IL-1β 表达的主要部位心肌纤维化[24],窦房结功能受损。VEGFA 是多肽蛋白之一,也是 VEGF 家族中最成熟的因子,在炎症环境下,VEGFA 将由心肌分泌,随着其水平升高炎症活动持续,进而导致心肌变形、收缩和恢复受损[25],还可增强血管通透性以加速炎症,诱导类似于 IL-1β 的炎症基因表达模式,还诱导 MMP-9,潜在机制可能是激活 β-Kartin 和核因子 κB[26]。EGF 诱导的 EGFR 激活对于心脏发育过程以及病理过程中心脏肥大的发展至关重要,*EGF* 基因在发育中的小鼠平滑肌或内皮细胞系中的表达缺失会导致心脏畸形和心脏肥大,从而影响房室传导系统,参与Ⅲ°AVB 的发生发展[27]。Akt1 为 Akt(Akt1、Akt2 和 Akt3)3 种亚型之一,Akt1 是心脏中占主导地位的 Akt 亚型,可调节包括细胞增殖、代谢、生长和血管生成等过程。慢性 Akt1 激活(6 周)会诱发广泛的心脏肥大,严重的收缩功能障碍,以及大量的间质纤维化[28],这些心肌损害都会在Ⅲ°AVB 发挥作用。

3.4 通路与生物进程分析

GO 与 KEGG 分析可知,麻黄附子细辛汤对体内多种信号通路都具有调控作用。麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB 主要通过参与调节涉及糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、细胞内钙离子信号通路、MAPK 通路、PI3K-Akt 通路和 HIF-1 通路等发挥调控作用。HIF-1 通路途径对低氧条件有反应,在组织缺氧缺血时表达水平升高,通过增加供氧能力或低氧耐受性维持细胞内环境的稳定。此外 HIF-1 介导 VEGF 并上调 YAP1 影响人心肌细胞增殖,激活血管生成[29],HIF-1α 作为 HIF-1 的亚调节单位,可保护心脏成纤维细胞免于凋亡,可通过 HIF-1α/B 细胞淋巴瘤 2 和腺病毒(E1B19-kDa)相互作用蛋白 3 信号通路诱导心肌线粒体自噬,从而促进心肌缺血后心肌细胞存活。然而长时间的自噬可能会促进心肌细胞死亡,这势必导致房室传导通路系统受损,在Ⅲ°AVB 发展中发挥重要价值[30]。MAPK 通路有 4 种主要分支途径,即 p38MAPK、细胞外调节蛋白激酶(ERK)、应激活化蛋白激酶(JNK)与 ERK5。其中,p38MAPK 可导致心肌细胞收缩功能障碍和凋亡[31]。有动物实验研究发现,在Ⅲ°AVB 下,血清中 AngⅡ含量升高[32],而 AngⅡ可促进 ROS 的释放,氧化激活 CaMKⅡ,进而诱导 p38MAPK 的活化,引起心肌细胞凋亡,抑制钙调素依赖性蛋白激酶Ⅱ(CaMKⅡ)-p38MAPK 轴激活能有效抑制心肌细胞凋亡[33],保护窦房结细胞功能正常,对延缓Ⅲ°AVB 发展有重要意义。CaMKⅡ是细胞内钙离子信号通路中的重要感受器,参与调节多种细胞功能,如细胞形态、迁移、兴奋-收缩偶联和凋亡等。在房室传导阻滞狗模型中存在已知的 CaMKⅡ表达增加和持续磷酸化,从而导致内环境钙稳态失调,过度激活的 CaMKⅡ可调控 ROS 生成、炎症反应等机制介导心律失常病理过程[34],加重Ⅲ°AVB。PI3K-Akt 通路在许多细胞功能中起关键作用,包括细胞存活、凋亡、心脏细胞的生长和收缩。PI3K-Akt 通路在心脏纤维化中起着至关重要的作用,心脏成纤维细胞致病过程中心肌细胞的改变,胶原蛋白Ⅰ/Ⅲ的异常比例以及细胞外基质不成比例的合成和沉积受该途径的影响。这个过程是许多心脏疾病(如缺血性心脏病、心力衰竭等)中发生的共同病理改变[35]。同样Ⅲ°AVB 的发生发展也可能会受 PI3K-Akt 通路调控所影响。

综上所述,麻黄附子细辛汤集温散、温通、温补于一体,接续阴阳,运行气血,对Ⅲ°AVB 的治疗和预后有明显的疗效。本研究将中医思维和现代药理学方法相结合,对麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB 的潜在活性成分、作用靶点及相关通路等进行初步探讨及验证筛选。结果表明,槲皮素、木犀草素、山柰酚、柚皮素和 β-谷甾醇等潜在活性成分可能通过糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、癌症通路、流体切应力与动脉粥样硬化、脂质与动脉粥样硬化、PI3K-Akt 信号通路和 HIF-1 等信号通路作用于 MMP-9、IL-1β、VEGFA、EGF 和 Akt1 等核心靶点,共同发挥抗炎、抗氧化应激、调控细胞凋亡,保护窦房结功能等作用,为深入研究麻黄附子细辛汤治疗Ⅲ°AVB 的活性成分及机制提供了一定的科学基础及理论依据。

参考文献

[1] KNABBEN V, CHHABRA L, SLANE M. Third-degree atrioventricular block[M]//StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.

[2] SHAN R Q, NING Y, MA Y, et al. Prevalence and risk factors of atrioventricular block among 15 million Chinese health examination participants in 2018: a nation-wide cross-sectional study[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2021, 21(1): 289.

[3] LIU N N, ZHENG M, LI S J, et al. Genetic mechanisms contribute to the development of heart failure in patients with atrioventricular block and right ventricular apical pacing[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 10676.

[4] 罗文宽, 卢健棋, 唐梅玲, 等. 益气温阳通络法治疗心脏射频消融术后三度房室传导阻滞 1 例[J]. 中医杂志, 2023, 64(19): 2049-2052.

[5] 高鹏辉, 梁文华. 麻黄附子细辛汤临床应用研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2022, 20(17): 206, 后插 1, 封 3.

[6] 蔡峤. 麻黄附子细辛汤治疗缓慢性心律失常临床疗效的 Meta 分析[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2020.

[7] 朱安娜. 基于网络药理学探究麻黄附子细辛汤治疗病态窦房结综合征的显效成分和作用机制[D]. 保定: 河北大学, 2021.

[8] 李慧, 聂静晓, 刘菊. 加味麻黄附子细辛汤治疗高龄老年Ⅲ度房室传导阻滞 1 例[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(2): 351-352.

[9] 赖思佳, 王达洋, 李天力, 等. 基于分子对接和网络药理学的五指毛桃-贯叶金丝桃治疗微血管性心绞痛的机制研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(24): 6474-6483.

[10] 张潇文, 刘爱民, 赵晶晶, 等. 采用网络药理学和分子对接技术研究麻黄连翘赤小豆汤治疗湿疹的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(4): 894-901.

[11] 卓小玉, 陈晶, 田明, 等. 麻黄的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2021, 38(2): 80-83.

[12] GAD M Z, AZAB S S, KHATTAB A R, et al. Over a century since ephedrine discovery: an updated revisit to its pharmacological aspects, functionality and toxicity in comparison to its herbal

extracts[J]. Food Funct, 2021, 12(20): 9563-9582.
[13] ZHOU G H, TANG L Y, ZHOU X D, et al. A review on phytochemistry and pharmacological activities of the processed lateral root of *Aconitum carmichaelii* Debeaux[J]. J Ethnopharmacol, 2015, 160: 173-193.
[14] 吴昊, 温晓茵, 颜鹏, 等. 细辛的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(4): 186-195.
[15] PHAM T H, JIN S W, LEE G H, et al. Sesamin induces endothelial nitric oxide synthase activation via transient receptor potential vanilloid type 1[J]. J Agric Food Chem, 2020, 68(11): 3474-3484.
[16] 许火龙, 聂磊, 李春玉, 等. 槲皮素抗纤维化机制的研究进展[J]. 微量元素与健康研究, 2021, 38(3): 70-73.
[17] 陈永锋, 谭鑫, 康品方, 等. 槲皮素在心血管疾病方向研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2021, 42(10): 888-892.
[18] ZHOU Y T, SUO W D, ZHANG X A, et al. Roles and mechanisms of quercetin on cardiac arrhythmia: a review[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 153: 113447.
[19] 王清岑, 殷新, 周罗慧, 等. 木犀草素心血管保护作用研究进展[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(11): 57-60.
[20] REN J, LU Y F, QIAN Y H, et al. Recent progress regarding kaempferol for the treatment of various diseases[J]. Exp Ther Med, 2019, 18(4): 2759-2776.
[21] DU Y F, MA J, FAN Y, et al. Naringenin: a promising therapeutic agent against organ fibrosis[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021: 1210675.
[22] 陈元堃, 曾奥, 罗振辉, 等. β-谷甾醇药理作用研究进展[J]. 广东药科大学学报, 2021, 37(1): 148-153.
[23] ROSENBERGER D, GARGOUM R, TYAGI N, et al. Homocysteine enriched diet leads to prolonged QT interval and reduced left ventricular performance in telemetric monitored mice[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2011, 21(7): 492-498.
[24] VAN HOUT G P J, BOSCH L. The inflammasomes in cardiovascular disease[J]. Exp Suppl, 2018, 108: 9-40.
[25] BRAILE M, MARCELLA S, CRISTINZIANO L, et al. VEGF-A in cardiomyocytes and heart diseases[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(15): 5294.
[26] ZHOU Y, ZHU X P, CUI H M, et al. The role of the VEGF family in coronary heart disease[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 738325.
[27] ZHENG X H, LIU L X, LIU J, et al. Fibulin7 mediated pathological cardiac remodeling through EGFR binding and EGFR-dependent FAK/AKT signaling activation[J]. Adv Sci (Weinh), 2023, 10(24): e2207631.
[28] 聂连桂. 气体信号分子 SO_2 通过 PI3K/AKT1 信号通路上调自噬改善甲亢大鼠心肌纤维化[D]. 衡阳: 南华大学, 2020.
[29] KNUTSON A K, WILLIAMS A L, BOISVERT W A, et al. HIF in the heart: development, metabolism, ischemia, and atherosclerosis[J]. J Clin Invest, 2021, 131(17): e137557.
[30] ZHENG J, CHEN P E, ZHONG J F, et al. HIF-1α in myocardial ischemia-reperfusion injury (review)[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(5): 352.
[31] 王晓琳, 张倩, 田鑫, 等. 基于 p38-MAPK 通路探讨真武汤对心力衰竭心肌细胞结构重构-电重构的影响[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(4): 130-137, 后插 32-后插 34.
[32] 张丽利. 三度房室传导阻滞犬血清肾素、血管紧张素-Ⅱ、醛固酮及心脏结构功能的变化[D]. 太原: 山西医科大学, 2012.
[33] 平兰芝, 黄小楼, 胡天俊, 等. CaMKⅡ在心血管疾病中的研究[J]. 医学信息, 2022, 35(10): 59-61, 77.
[34] 武丹, 于浩棋, 祝德秋. 钙离子/钙调蛋白依赖性蛋白激酶Ⅱ在心血管疾病中的作用进展[J]. 中南药学, 2020, 18(6): 1021-1026.
[35] GHAFOURI-FARD S, KHANBABAPOUR SASI A, HUSSEN B M, et al. Interplay between PI3K/AKT pathway and heart disorders[J]. Mol Biol Rep, 2022, 49(10): 9767-9781.

(收稿日期:2023-11-03 修回日期:2024-04-25)

(上接第 1182 页)

[7] 唐凤英. 南昌市部分人群中炎症性肠病的流行病学调查分析[J]. 中国医药导报, 2008, 5(30): 116-117.
[8] ZHAI H H, LIU A Q, HUANG W Y, et al. Increasing rate of inflammatory bowel disease: a 12-year retrospective study in Ningxia, China[J]. BMC Gastroenterol, 2016, 16: 2.
[9] 中国中西医结合学会. 溃疡性结肠炎中西医结合诊疗专家共识[J]. 中国中西医结合杂志, 2023, 43(1): 5-11.
[10] 魏玮, 唐艳萍. 消化系统西医难治病种中西医结合诊疗方略[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 319-332.
[11] 中华中医药学会脾胃病分会, 沈洪, 唐志鹏, 等. 消化系统常见病溃疡性结肠炎中医诊疗指南(基层医生版)[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(9): 4155-4160.
[12] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组, 中国炎症性肠病诊疗质量控制评估中心. 中国溃疡性结肠炎诊治指南(2023年·西安)[J]. 中华炎性肠病杂志)中英文), 2024, 8(1): 33-58.
[13] 沈洪, 朱磊, 胡乃中, 等. 虎地肠溶胶囊联合美沙拉秦肠溶片治疗活动期溃疡性结肠炎多中心、随机对照、双盲双模拟的临床研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(11): 1326-1331.
[14] 周怡, 郭龙, 贺静, 等. 虎地肠溶胶囊治疗轻中度溃疡性结肠炎的疗效分析[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(102): 159.
[15] 孙瑞秋. 探讨虎地肠溶胶囊联合美沙拉嗪肠溶片治疗溃疡性结肠炎的临床疗效[J]. 智慧健康, 2020, 6(30): 183-184.
[16] 林崖, 杨维忠, 王秋雁, 等. 虎地肠溶胶囊联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2019, 34(9): 2778-2781.
[17] 卫生部. 药品不良反应报告和监测管理办法(卫生部令第 81 号)[EB/OL]. (2011-05-04)[2024-04-16]. http://www.nhc.gov.cn/wjw/bmgz/201105/b442a66fc52b4793a57160002ac2a1a9.shtml.
[18] 谢雁鸣, 廖星, 姜俊杰, 等. 中成药上市后安全性医院集中监测技术规范[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(14): 2896-2901.

(收稿日期:2024-04-16 修回日期:2024-05-24)