

· 基础研究 ·

基于网络药理学探讨甘松干预
心律失常的作用机制[△]

邓雅文, 陈恒文, 武庆娟, 李军*

中国中医科学院 广安门医院 心血管科, 北京 100053

[摘要] **目的:** 借助网络药理学方法预测并筛选甘松干预心律失常的重要成分及其作用靶点, 探讨甘松对心律失常可能的干预机制。**方法:** 从 BATMAN-TCM、ETCM、TCMSP 数据库获取甘松化学成分, 取交集成分作为甘松重要成分; 采用 BATMAN-TCM 对甘松重要成分进行靶点预测。检索 TTD 和 GeneCards 数据库中心律失常疾病相关靶点, 将甘松重要成分对应的预测靶点映射到疾病靶点中, 利用 STRING 进行蛋白相互作用 (PPI) 分析, 采用 Cytoscape 软件构建重要成分-预测靶点网络, 借助 FunRich 软件进行基因富集分析, 采用 KEGG 数据库进行通路分析。**结果:** 获得甘松 108 个成分, 其中重要成分 9 个, 预测靶点 198 个, 甘松治疗心律失常疾病靶点 4 个, 拓展关键靶点蛋白 14 个。涉及通路包括过氧化酶、心肌细胞肾素能信号、FoxO 信号通路、cGMP-PKG 信号通路、Rap1 信号通路、cAMP 信号通路等。**结论:** 对甘松的重要成分和关键作用靶蛋白进行了初步筛选和生物信息学验证, 其准确性仍待后续实验验证。

[关键词] 甘松; 心律失常; 网络药理学; 信号通路

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2020)09-1485-09

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20190921005

**Mechanism of *Nardostachys jatamansi* in Intervention of Cardiac
Arrhythmia Based on Network Pharmacology**

DENG Ya-wen, CHEN Heng-wen, WU Qing-Juan, LI Jun*

Department of Cardiology, Guang'anmen Hospital, China Academy of
Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

[Abstract] **Objective:** To predict and screen the core components and targets of *Nardostachys jatamansi* in the intervention on cardiac arrhythmia by means of network pharmacology, and to explore the possible mechanism of *N. jatamansi* in the treatment of cardiac arrhythmia. **Methods:** The chemical ingredients of *N. jatamansi* were obtained from three databases, included BATMAN-TCM, ETCM and TCMSP, and the common components were taken as the core ingredients. By searching the disease targets of cardiac arrhythmia in TTD and Genecards database, mapping the predicted targets of the core components to the disease targets, via STRING to carry out PPI analysis, by performing Cytoscape software to build the core component and predicted target network, by working FunRich software to get gene enrichment analysis, and through KEGG database to finish path analysis. **Results:** There were 108 components in total, 9 core ingredients, 198 predicted targets, 4 targets and 14 key targets in the treatment of cardiac arrhythmia. These pathways may be related to peroxylase, cardiac renin energy signal, FoxO signal, cGMP-PKG signal, Rap1 signal, cAMP signal. **Conclusion:** The core ingredients and key target proteins of *N. jatamansi* have been screened and verified by bioinformatics methods in this study, and its accuracy still needs to be further verified.

[Keywords] *Nardostachys jatamansi* DC.; cardiac arrhythmia; network pharmacology; signal pathway

[△] **[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81973836); 国家中医临床研究基地业务建设第二批科研专项(JDZX2015249); 中国中医科学院基本科研业务自主选题项目(ZZ0808009)

* **[通信作者]** 李军, 教授, 主任医师, 博士生导师, 研究方向: 中西医结合防治心血管疾病; E-mail: doctorli1031@163.com

心律失常(cardiac arrhythmia)是心血管疾病中重要的一组疾病,多因心脏活动的起源和(或)传导障碍导致心脏搏动的频率和(或)节律异常而诱发,主要表现为心悸、气短、头晕乏力等症状,还可引起冠状动脉、脑动脉和肾动脉供血不足^[1]。据统计,全球发生心源性猝死的人数超过700万,约占总死亡人数的25%^[2]。在我国,心律失常的患者已超过2千万^[3],严重影响了患者的生活质量。目前心律失常的西医治疗仍以药物治疗为主,体外电复律和电除颤及射频消融术等非药物疗法的不断发展给患者带来更多治疗选择,同时也带来了药物不良反应和术后并发症等诸多问题;而传统的中医药注重“整体观”和“辨证施治”,具有不良反应较小,患者依从性相对较高等特点,对心律失常的患者的疗效越来越受到重视,特别是以甘松为主的抗心律失常的中药及其复方(参松养心胶囊和稳心颗粒等)在临床上广泛使用,取得了较为满意的临床效果。

甘松为败酱科植物甘松和匙叶甘松 *Nardostachys jatamansi* DC. 的干燥根茎及根,主产于我国四川、云南和西藏等地。其味辛、甘,性温,归脾、胃经;具有理气止痛、开郁醒脾、外用祛湿消肿等作用。现代药理研究表明,甘松有抗癫痫、抗惊厥、抗抑郁、抗疟、抑菌、抗炎、抗心律失常、抗氧化、抗焦虑、改善血糖代谢等作用^[4]。甘松主要成分包括萜类、黄酮类及酚类等^[5]。一般认为当归素(angelicin)、甘松新酮(nardosinone)、甘松香酮A(kanshone A)和甘松香酮B(kanshone B)、甘松新酮二醇等为其主要有效活性成分^[6-8]。

网络药理学是基于系统生物学学科基础,结合现有的药理学基础,对生物系统进行网络分析,选取特定信号节点进行多靶点药物分子设计的一门新学科^[9-10]。网络药理学不仅能揭示更复杂的药理学规律,更是从整体的角度对药物与疾病间的奥秘进行了探索。从系统性、整体性的方法学特点来说,网络药理学与中医药“整体观念”“辨证论治”的哲学思想不谋而合。本研究借助网络药理学方法,预测并筛选甘松干预心律失常的重要成分及其作用靶点,探讨甘松对心律失常可能的干预机制。

1 材料与方法

1.1 数据库及软件

BATMAN-TCM 数据库^[11](<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)、ETCM 数据库^[12](<http://www.nrc.ac.cn:9090/ETCM/>)、TCMSP 数据库^[13](<http://tcmssp.com/>)收集甘松化学成分;TTD 数据库(<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>)、GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)收集心律失常疾病相关靶点;重要成分对应靶点用BATMAN-TCM 数据库进行预测;Venny 在线网络获得成分交集及靶点交集;STRING version 11.0 数据库构建作用靶点与相关蛋白质互作网络分析;FunRich version 3.13 软件进行甘松基因靶点富集网络数据分析;靶点通路富集注释网络用KEGG 在线平台分析并绘制。利用Cytoscape version 3.7.2 软件构建成分靶点可视化网络。

1.2 甘松的化学成分收集及重要成分筛选

通过BATMAN-TCM 数据库、ETCM 数据库和TCMSP 数据库,基于不同的计算机算法对中药“甘松”进行检索,收集甘松化学成分,将结果进行汇总。将筛选得到3个数据库共有的甘松化学成分作为其重要化学成分。

1.3 甘松化学成分靶点筛选

借助BATMAN-TCM 数据库,基于产物相似、靶点相近、交叉验证的工作原理对甘松重要成分的靶点进行预测。

1.4 心律失常疾病相关靶点及甘松治疗心律失常疾病作用靶点筛选

在TTD 数据库、GeneCards 数据库中通过检索关键词“cardiac arrhythmia”获得心律失常疾病相关靶点;靶点名称均选择UniprotKB 提供的基因简称;将甘松重要成分所对应的预测靶点与心律失常疾病相关靶点进行映射,借助在线韦恩图直观读取并分析得到甘松治疗心律失常的作用靶点。

1.5 甘松治疗心律失常的重要成分-预测靶点可视化网络构建

将甘松重要化学成分名称与其对应的预测靶点通过Microsoft Excel 表格进行数据编排,分别导入基于JAVA 8.0 环境工作变量的Cytoscape version 3.7.2 计算机可视化软件中,构建甘松重要成分-预测靶点网络。

1.6 蛋白互作(PPI)网络构建

将基于公共数据库及网站获取的甘松治疗心律失常的作用靶点上传到STRING 蛋白质数据库“Multiple proteins”的功能框,选择人种为“Homo sapiens”后获取PPI 网络。如因靶点太少没有产生相关连接蛋白,可通过一次或几次的扩展获取关联蛋白。

1.7 GO 富集注释分析及 KEGG 通路分析

运用 FunRich version 3.1.3 软件工具^[14]，对关键靶点进行 GO 富集注释。该软件可以加载 Gene Ontology 数据库，建立甘松的关键靶点 datasets 后，选择 Gene Ontology Functional Term 3 组内容(生物学过程、细胞组分或分子功能)任一组，从中选择合适的图表。将甘松治疗心律失常的人源关键靶点导入 KEGG 数据库进行可能的靶点通路富集情况检索，并绘制甘松治疗心律失常的作用机制通路图。

2 结果

2.1 甘松化学成分

采用 BATMAN-TCM 数据库检索“GAN SONG”，靶点参数设置为“Score cutoff = 20”，获得 63 个化合物，其中 24 个无结构信息，故予以排除，得到 39 个甘松化学成分。经 ETCM 数据库检索“甘松”，获得 38 个成分。通过 TCMSPP 数据库中搜索“甘松”获得 57 个化学成分。除去重复成分，共得到 108 个甘松化学成分，见图 1。

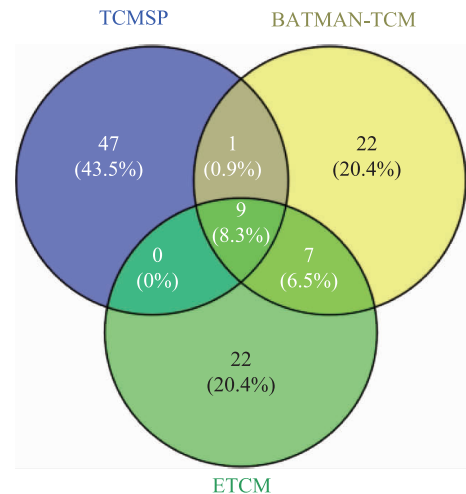


图 1 不同数据库获取甘松化学成分的韦恩图

2.2 甘松重要成分及对应靶点

从 TCMSPP、ETCM、BATMAN-TCM 数据库中得到 9 个共有成分，作为甘松的重要成分，见表 1。采用 BATMAN-TCM 数据库对 9 个重要成分所对应的靶点进行了预测，设置参数 *P*-value 为 0.05 (默认值)，经去重后得到预测靶点 198 个，见表 1。

表 1 甘松重要成分信息

核心成分	预测靶点	Pubchem CID	OB/%	DL	CAS
青木香酮 (debilone)	AR/NR3C1/ATP1A1/NOTCH2/SRD5A1	N/A	20.69	0.15	26808-51-5
甘松二酯 (nardostachin)	0	196 699	15.26	0.33	114687-82-0
马兜铃烯 (aristolene)	KCND1/KCNA3/PRKAB1/ADH1A/KCNA10/GAMT/KCNC3/KCNA1/KCNA2/TPO/CAT/KCNB1/ADH1B/DLG4/KCNC2/KCNC1/ADH1C/KCNB2/KCNA5/RNASE1/KCND2/ALDH2/KCNA4/KCNA7/KCNA6/KCND3/GUCY1B3/GATM/KCNK4/TYD/KCNQ1/ESR1/PGR/FBP1/DGKI/ADH7/NFIB/CYGB/NRXN3/LRRC4B/AQP8/ARX/IGF1/SHANK3/ACY3/ASPA/NRXN1/EDN1/OXT/MAGI2/APOE/SOX15/CNTNAP4/RNASE4/RAB3A/MC4R/IL1B/GRIN2A/SLC17A7/CYP11A1/SCN5A/SCN10A/SPARC/SORCS3/RNASE8/KCNIP2/GPX7/CRLF1/FADD/SNTG2/SCGB1A1/OXTR/ALDH1B1/LEP/NLGN1/CACNA1D/RAPGEF2/DARS/ANK3/KCNE5/PPARD/NKX21/MIP/RYR3/ZPR1/ALDH3B1/NPPA/STX1A/PAXBPI/PAX7/ALDH3B2/RNASE2/NRXN2/ADORA1/ADH4/GJA5/FAS/DAB2IP/CYP2E1/ACY1	N/A	54.17	0.17	6831-16-9/ 17334-55-3
甘松奥醇 (nardol)	ESR1/PGR/WNT4/TFAP2C/TNFSF11	N/A	22.85	0.09	N/A
山芹醇 (oroselol)	0	160 600	55.23	0.18	1891-25-4
1, 2, 9, 10-四去氢马兜铃烷 (1, 2, 9, 10-tetrahydroaristolane)	GAMT/KCNC3/KCNA1/KCNA2/TPO/CAT/KCNB1/ADH1B/DLG4/KCNC2/KCNC1/ADH1C/KCNB2/KCNA5/RNASE1/KCND2/ALDH2/KCNA4/KCNA7/KCNA6/KCND3/GUCY1B3/GATM/KCNK4/TYD/KCNQ1/RDH11/RBP3/RET-SAT/RDH13/DHRS3/RDH5/ALDH1A3/RDH12/DHRS4/RBP1/ALDH1A1/RLBP1/RDH14/RDH8/LRAT/ALDH1A2/FBP1/DGKI/ADH7/NFIB/CYGB/NRXN3/LRRC4B/AQP8/ARX/IGF1/SHANK3/ACY3/ASPA/NRXN1/EDN1/OXT/MAGI2/APOE/SOX15/CNTNAP4/RNASE4/RAB3A/MC4R/IL1B/GRIN2A/SLC17A7/CYP11A1/SCN5A/SCN10A/SPARC/SORCS3/RNASE8/KCNIP2/GPX7/CRLF1/FADD/SNTG2/SCGB1A1/OXTR/ALDH1B1/LEP/NLGN1/CACNA1D/RAPGEF2/DARS/ANK3/KCNE5/PPARD/NKX2-1/MIP/RYR3/ZPR1/ALDH3B1/NPPA/STX1A/PAXBPI/PAX7/ALDH3B2/RNASE2/NRXN2/ADORA1/ADH4/GJA5/FAS/DAB2IP/CYP2E1/ACY1	N/A	20.09	0.11	N/A
甘松新酮 (nardosinone)	AR/NR3C1/ANXA1	N/A	66.34	0.17	23720-80-1

续表 1

核心成分	预测靶点	Pubchem CID	OB/%	DL	CAS
白菖烯 (calarene)	KCND1/KCNA3/PRKAB1/ADH1A/KCNA10/GAMT/KCNC3/KCNA1/KCNA2/TPO/CAT/KCNB1/ADH1B/DLG4/KCNC2/KCNC1/ADH1C/KCNB2/KCNA5/RNASE1/KCND2/ALDH2/KCNA4/KCNA7/KCNA6/KCND3/GUCY1B3/GATM/KCNK4/IYD/KCNQ1/CYP17A1/ESR1/PGR/OPRK1/NR3C2/FBP1/DGKI/ADH7/NFIB/CYGB/NRXN3/LR-RC4B/AQP8/ARX/IGF1/SHANK3/ACY3/ASPA/NRXN1/EDN1/OXT/MAGI2/APOE/SOX15/CNTNAP4/RNASE4/RAB3A/MC4R/IL1B/GRIN2A/SLC17A7/CYP11A1/SCN5A/SCN10A/SPARC/SORCS3/RNASE8/KCNIP2/GPX7/CRLF1/FADD/SNTG2/SCGB1A1/OXTR/ALDH1B1/LEP/NLGN1/CACNA1D/RAPGEF2/DARS/ANK3/KCNE5/PP-ARD/NKX2-1/MIP/RYR3/ZPR1/ALDH3B1/NPPA/STX1A/PAXBP1/PAX7/ALDH3B2/RNASE2/NRXN2/ADORA1/ADH4/GJA5/FAS/DAB2IP/CYP2E1/ACY1	15 560 279	52. 16	0. 11	17334-55-3
白芷素 (angelicin)	SOAT1/ANPEP/NPC1LI/ESR1/PGR/ABCC2/AKT1/ACVR1/ASNA1/ADRBK2/ACSS2/ACVRL1/ADCY1/NT5C2/AMHR2/TNK2/ASNS/ABL2/ADRBK1/PRKAA1/ABCC9/ACSS1/ABLI/AFG3L2/CDK15/ASS1/ACVR1B/ACSL1/ABCA1/NAE1/APAF1/ABCC8/ALK/ABCB11/ABCB1/ABCG1/ARAF/SLC25A4/VDR/CYP27B1/GC/SNW1/AR/NR3C1/AKT3/SLC25A5/SLC25A6/AKT2/NFKB1/AKR1C3/CYP24A1/GPBAR1/SNAI2/MED1/SNAI1/CYP3A4/CALB1/FGF23/GFI1/LANCL2/WNT4/TCF3/BAX/KL/CYP2R1/PML/B4GALT1/SI00G/CYP27A1/KANK2/IRX5/RXRA/NR1H4/TRIM24	10 658	19. 60	0. 1	39310-13-9/ 523-50-2

2.3 心律失常疾病相关靶点及甘松作用靶点

以“cardiac arrhythmia”为关键词分别在 Genecards 和 TTD 数据库检索心律失常相关疾病靶点。获得 GeneCards 数据库中心律失常疾病相关靶点 13 个，TTD 数据库中心律失常疾病相关靶点 8 个，除去重复疾病相关靶点，心律失常疾病相关靶点共 19 个。将甘松预测靶点与心律失常疾病靶点进行映射，取交集，得到甘松治疗心律失常作用靶点 4 个，分别为 ADORA1、KCNQ1、KL、CAT，见图 2。

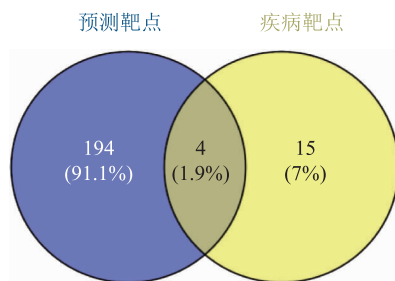


图 2 甘松预测靶点与疾病靶点共有作用靶点韦恩图

2.4 甘松治疗心律失常重要成分-预测靶点可视化网络

在 Cytoscape version 3. 7. 2 软件中导入甘松重要成分和预测靶点数据表，生成甘松治疗心律失常的重要成分-预测靶点可视化网络，见图 3。根据疾病靶点-共同靶点-预测靶点数据信息，构建相关靶点网络，见图 4。

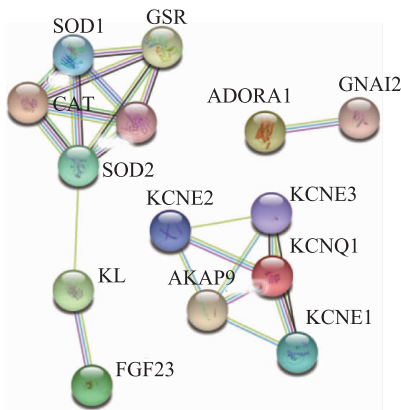
2.5 PPI 网络分析

上传甘松的 4 个作用靶点到 STRING 在线蛋白质数据库(<http://string-db.org/>)中，发现作用靶点较少，无法生成相关蛋白质之间连接，需要扩展靶点。通过 2 次扩展后，得到除 4 个作用靶点之外的 10 个关联靶蛋白，分别是 GSR、SOD1、SOD2、SOD3、GNAI2、KCNE3、KCNE2、KCNE1、AKAP9、FGF23。因此，共 14 个靶蛋白作为关键靶蛋白，见图 5。

2.6 GO 富集分析

通过 PPI 分析扩展得到的 14 个关键靶蛋白，加载到 FunRich 软件中 Gene Ontology 数据库进行 GO Term 富集分析。其中，生物学过程条目 (biological process) 160 条，分子功能 (molecular function) 条目 26 条，细胞组分 (cellular component) 条目 26 条。在生物学过程方面中，根据 $P < 0.001$ 选择显著性富集条目有：心室肌细胞膜复极的调节 (regulation of ventricular cardiac muscle cell membrane repolarization)、膜复极参与动作电位的调节 (membrane repolarization during ventricular cardiac muscle cell action potential)、心肌收缩的调节 (regulation of cardiac muscle contraction)、心室心肌细胞动作电位的膜复极 (GO: 0098915)、钾离子跨膜外输 (GO: 0097623) 等，见图 6。

在分子功能方面中，根据 $P < 0.001$ 筛选最显著富集的条目有 5 条，包括电压门控钾通道活性与



注：节点代表靶蛋白；边代表功能相关性；蓝色线条代表共存证据；紫色线条代表有实验证据；黄色线条代表文本挖掘；黑色线条代表共表达的数据。

图 5 甘松治疗心律失常作用 PPI 网络

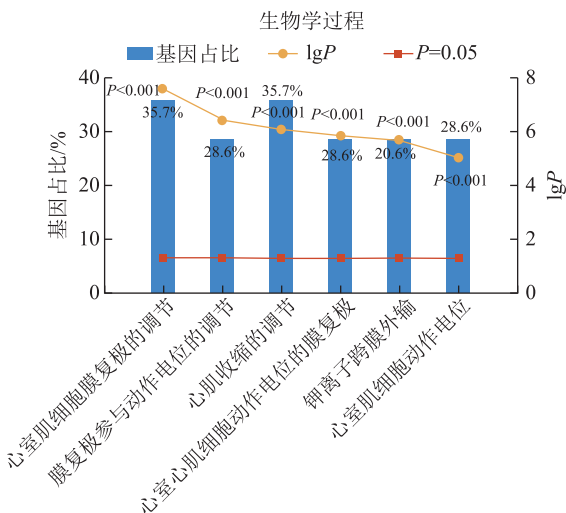


图 6 甘松治疗心律失常的生物学过程富集分析

心室肌细胞动作电位复极化 (GO: 1902282)、超氧化物歧化酶活性 (superoxide dismutase activity)、延迟整流钾通道活性 (delayed rectifier potassium channel activity)、钾通道调节活动 (potassium channel regulator activity) 和离子通道结合 (ion channel binding)，见图 7。在细胞组分方面，以 $P < 0.001$ 筛选显著性条目只有电压门控钾通道复合体 (voltage-gated potassium channel complex) 条目，见图 8。

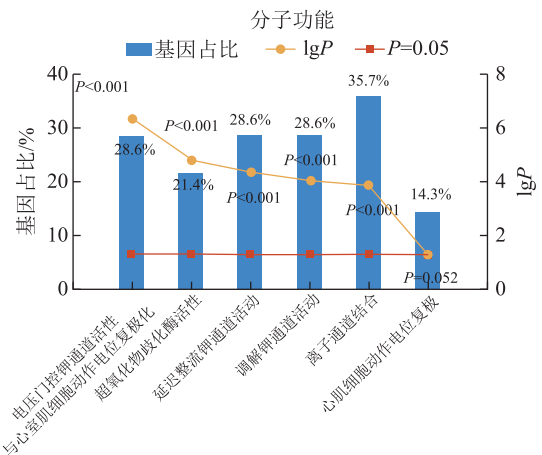


图 7 甘松治疗心律失常的分子功能富集分析

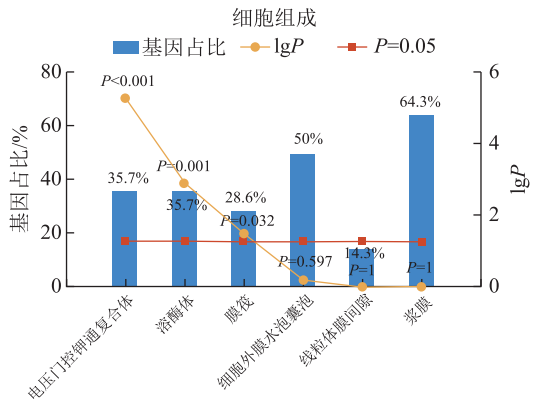


图 8 甘松治疗心律失常的细胞组分富集分析

2.7 甘松治疗心律失常的关键靶蛋白 KEGG 通路分析

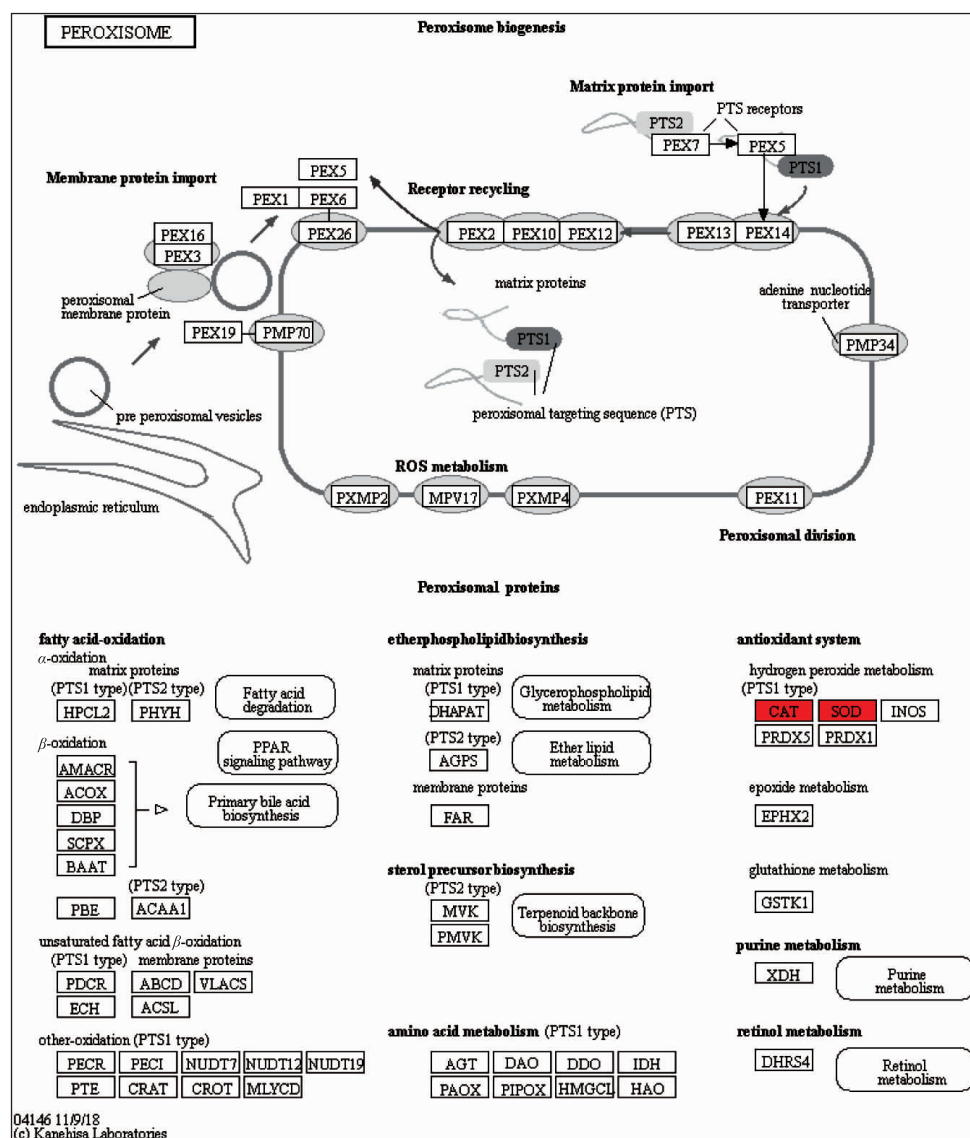
依据靶点富集在通路的个数和错误发现率 (false discovery rate, FDR) 确定甘松治疗心律失常可能的 KEGG 通路有 17 条，主要涉及过氧化酶 (peroxisome)、长寿相关通路 (longevity regulating pathway)、心肌细胞肾素能信号 (adrenergic signaling in cardiomyocytes)、FoxO 信号通路 (FoxO signaling pathway)、cGMP-PKG 信号通路 (cGMP-PKG signaling pathway)、Rap1 信号通路 (Rap1 signaling pathway)、cAMP 信号通路 (cAMP signaling pathway) 等 (见表 2)。选择其中过氧化酶、心肌细胞肾素能信号通路进行绘制，见图 9 ~ 10。

表 2 甘松治疗心律失常的关键靶点 KEGG 分析 (17 条)

编号	通路名称	靶点数目	FDR	靶蛋白名称
hsa04146	过氧化酶 (peroxisome)	3	0.000 73	CAT/SOD1/SOD2
hsa04211	长寿相关通路 (longevity regulating pathway)	3	0.000 73	CAT/KL/SOD2
hsa04213	多种长寿相关通路 (longevity regulating pathway-multiple species)	3	0.000 73	CAT/SOD1/SOD2
hsa04971	胃酸分泌 (gastric acid secretion)	3	0.000 73	GNAI2/KCNE2/KCNQ1
hsa04261	心肌细胞肾素能信号 (adrenergic signaling in cardiomyocytes)	3	0.001 60	GNAI2/KCNE1/KCNQ1

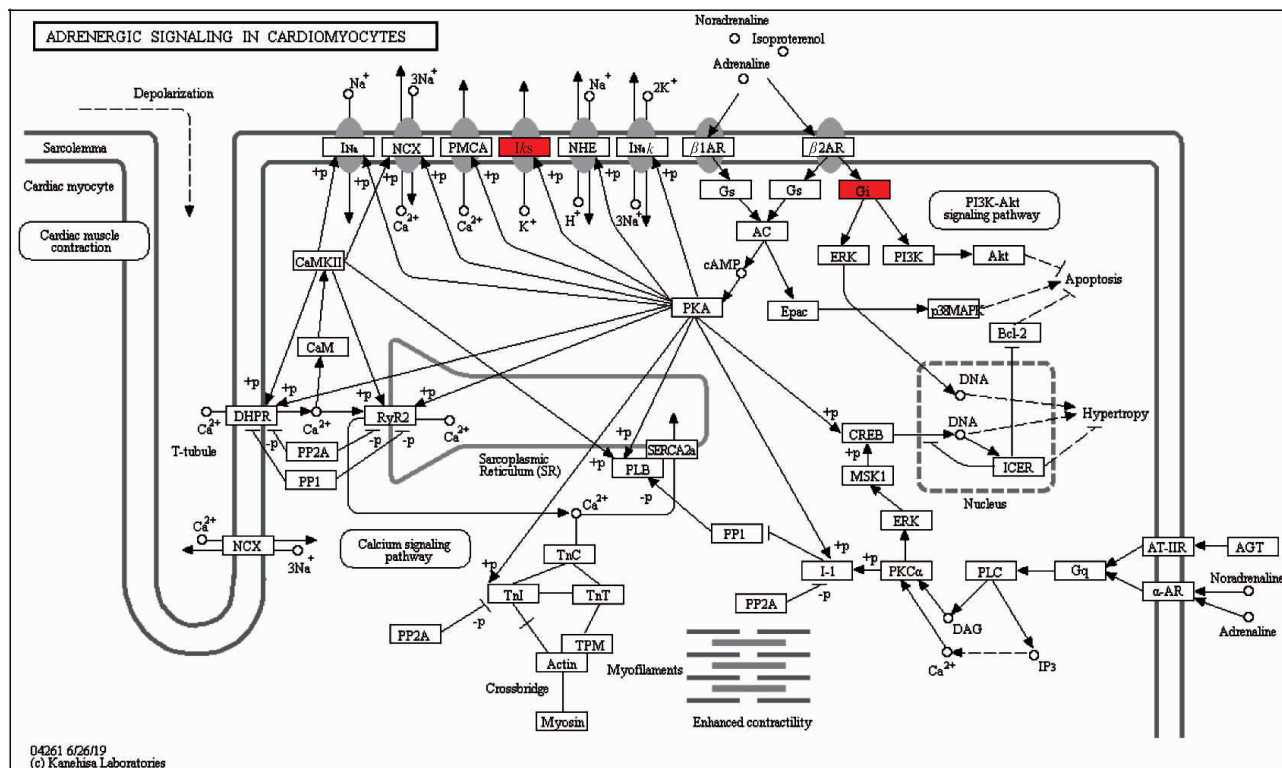
续表 2

编号	通路名称	靶点数目	FDR	靶蛋白名称
hsa04923	调节脂肪细胞中的脂肪分解 (regulation of lipolysis in adipocytes)	2	0.006 40	ADORA1/GNAI2
hsa05014	肌萎缩性侧索硬化 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS)	2	0.006 40	CAT/SOD1
hsa04924	肾素分泌 (renin secretion)	2	0.007 50	ADORA1/GNAI2
hsa04974	蛋白消化与吸收 (protein digestion and absorption)	2	0.013 20	KCNE3/KCNQ1
hsa05032	吗啡成瘾 (morphine addiction)	2	0.013 20	ADORA1/GNAI2
hsa04071	鞘脂信号通路 (sphingolipid signaling pathway)	2	0.016 20	ADORA1/GNAI2
hsa04725	胆碱能突触 (cholinergic synapse)	2	0.016 20	GNAI2/KCNQ1
hsa04068	FoxO 信号通路 (FoxO signaling pathway)	2	0.018 60	CAT/SOD2
hsa04022	cGMP-PKG 信号通路 (cGMP-PKG signaling pathway)	2	0.025 70	ADORA1/GNAI2
hsa04015	Rap1 信号通路 (Rap1 signaling pathway)	2	0.034 30	FGF23/GNAI2
hsa04024	cAMP 信号通路 (cAMP signaling pathway)	2	0.034 30	ADORA1/GNAI2
hsa05016	亨廷顿疾病 (Huntington's disease)	2	0.034 30	SOD1/SOD2



注：白色节点代表信号通路蛋白；红色代表甘松的关键靶点蛋白。

图9 甘松治疗心律失常的主要通路——过氧化酶



注：白色节点代表通路蛋白；红色代表甘松的关键作用靶蛋白；实线箭头代表直接关系；虚线箭头代表间接关系。

图 10 甘松治疗心律失常的主要通路——心肌细胞肾素能信号通路

3 讨论

甘松始载于唐代《本草拾遗》，从 1963 年正式收入《中华人民共和国药典》，具有芳香开窍、行气解郁的功效。据《本草纲目》记载，甘松“甘，温，无毒，主治恶气、卒心腹痛满、下气”，说明甘松能解久病之郁滞，能入心经，具有安心、养血和定悸的功效。甘松药性温而不燥，味甘，具有开郁醒脾、理气止痛之功，还能调节脾胃升降之机，具有补而不滞的功效。现代药理研究显示，甘松具有抗焦虑、抗心律失常、抗抑郁、抗氧化、改善心肌缺血、调节血压、改善血糖代谢及减少消化性溃疡面积等诸多功效。临床应用中，甘松常被用于治疗心血管疾病和消化系统疾病。市场上常见的稳心颗粒、参松养心胶囊，其中的主要组分就包含甘松。目前从甘松中分离提取的化合物按化学结构可大致分为萜类、黄酮类、香豆素和木脂素类、挥发油、糖类、无机元素及其他类^[14]，其中以萜类化合物含量较高，具有较好的药用价值。根据《中华人民共和国药典》2015 年版^[4]对甘松的记载，甘松新酮是甘松干燥品的最具代表性成分。甘松化学成分复杂，目前其抗心律失常的作用机制尚不清楚。因此，通过网络药理学技术初步研究甘松抗心

律失常的作用机制具有重要意义。

本研究采用网络药理学方法检索甘松的化学成分,并对核心交集成分进行靶点预测,将作用靶点经蛋白互作扩展后得到的关键靶蛋白进行 GO 分析和 KEGG 通路分析,并对甘松抗心律失常的靶点机制进行网络构建与分析。本研究检索得到甘松的 9 个重要成分,对重要成分的对应靶点进行预测,去除成分中相同的靶点后得到 198 个预测靶点。将预测靶点映射心律失常疾病靶点,得到甘松抗心律失常的作用靶点是 ADORA1、KCNQ1、KL 和 CAT。对甘松抗心律失常作用靶点进行 PPI 分析,通过扩展靶点共得到 14 个关键靶点蛋白,并进行 GO-Term 富集分析。甘松抗心律失常作用在生物学过程方面,与心室肌细胞膜复极的调节、心室肌细胞动作电位中的膜复极、延迟整流钾通道活性、钾离子跨膜外输显著相关;分子功能方面与电压门控钾通道活性与心室肌细胞动作电位复极的关系、超氧化物歧化酶活性、延迟整流钾通道活性、钾通道调节活性功能显著相关;细胞组分方面与电压门控钾通道复合体显著相关。通过 KEGG 分析得到甘松预测靶点的 17 条通路,涉及了过氧化酶、长寿通路、心肌细胞的肾上腺素信号通路、调节脂肪细胞的脂解作用信

号通路、胃酸分泌、Foxo 信号通路、cGMP-PKG 信号通路、Rap1 信号通路、cAMP 信号通路等。

基因表型及基因突变在遗传性心律失常疾病中具有十分重要的意义。已知研究显示, ADORA1 又名腺苷 A1 受体, 是 G-蛋白偶联受体。A1 受体激活抑制腺苷环化酶, 降低细胞内 cAMP 的浓度, 诱导钾离子通道的开放, 从而间接降低钙离子进入细胞的渗透能力。腺苷能减慢窦性心律, 尤其是房室传导, 有减慢心率的作用(A1 作用), 可用于治疗室上性心动过速。其作用是诱导钾离子通道的开放, 允许钾离子流出, 从而增加细胞极化, 并能降低缺血再灌注后造成的心肌损伤。由 KCNQ1 蛋白组成的通道主要存在于内耳和心肌中。在心脏组织中, 这些通道在每次心跳后都参与心肌充电, 使其保持有规律的节奏。KCNQ1 基因突变与长 QT 综合征关系密切, 有研究^[15]发现 KCNQ1 基因突变易导致轻度 I 通道功能障碍, 携带 KCNQ1 基因突变的患者发生严重心律失常和猝死的风险较一般人高。基于此, 甘松的靶点预测对相关新药开发有一定的参考价值。目前仅有文献报道甘松抗心律失常可能与环磷酸腺苷(cAMP)有关, 但其他通路还待进一步发现和实验确证。cAMP 是一种环状核苷酸, 可以使蛋白激酶 A(PKA)激活, 使 cAMP 底物蛋白磷酸化, 从而加速对钙的摄取和转运。该信号通路作为重要的细胞内转导通路, 是通过腺苷酸环化酶活性的变化来调节靶细胞内第二信使 cAMP 的水平, 进而影响细胞代谢行为等下游事件^[16-17]。简鹏等^[18]通过对大鼠腹腔内注射甘松主要活性成分甘松新酮, 选用激光共聚焦显微镜测量心肌细胞钙离子变化, 用凝胶成像法检测 cAMP 及 PKA 的变化, 发现甘松新酮能明显抑制心肌细胞钙离子超载, 促进心功能恢复, 预测甘松新酮可能是通过影响 cAMP-PKA 细胞信号转导通路来起作用的。

综上, 本研究预测的靶点与已知文献报道的甘松治疗心律失常的作用基本吻合, 体现了靶点预测的准确性, 同时揭示了甘松多成分、多靶点、多途径作用的特点。目前有关甘松作用靶点、抗心律失常机制层面的研究报道较少, 还需后续更多实验的验证。通过网络药理学分析可为今后深入研究甘松干预心律失常的分子机制提供一定的参考。

参考文献

[1] 陈灏珠. 实用心脏病学[M]. 上海:上海科学技术出版

社,2016:413-417.

- [2] ISBISTER J, SEMSARIAN C. Sudden cardiac death: An update[J]. Intern Med J,2019,49:826-833.
- [3] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志,2019,34(3):209-220.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:86.
- [5] 南笑珂,张鲁,罗琳,等. 中药甘松化学成分与药理作用的研究进展[J]. 中国现代中药,2018,20(10):1312-1318.
- [6] 周海燕. 浅析甘松在心系疾病治疗中的应用[J]. 山东医学高等专科学校学报,2018,40(1):76-78.
- [7] 李丽,王英锋. 甘松有效成分的研究[J]. 首都师范大学学报:自然科学版,2010,31(6):31-34.
- [8] 冯海生,张宇霞,王文义,等. 不同来源和不同生长发育时期甘松成分的动态变化[J]. 中药材,2015,38(11):2266-2268.
- [9] HOPKINS A L. Network pharmacology[J]. Nat Biotechnol, 2007,25(10):1110-1111.
- [10] HOPKINS A L. Network pharmacology: The next paradigm in drug discovery [J]. Nat Chem Biol, 2008, 4(11): 682-690.
- [11] LIU Z Y, GUO F F, WANG Y, et al. BATMAN-TCM: A bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine [J]. Sci Rep, 2016, 6(1): 21146-21146.
- [12] XU H Y, ZHANG Y Q, LIU Z M, et al. ETCM: An encyclopaedia of traditional Chinese medicine[J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(D1): D976-D982.
- [13] 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(1): 13.
- [14] PATHAN M, KEERTHIKUMAR S, ANG C S, et al. FunRich: An open access standalone functional enrichment and interaction network analysis tool [J]. Proteomics, 2015, 15(15): 2597-2601.
- [15] DE ZIO R, GERBINO A, FORLEO C, et al. Functional study of a KCNH2 mutant: Novel insights on the pathogenesis of the LQT2 syndrome[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(9): 6331-6342.
- [16] SASSONECORSI P. The cyclic AMP pathway [J]. CSH Perspect Biol, 2012, 4(12): a011148.
- [17] VINOD P K, SENGUPTA N, BHAT P J, et al. Integration of global signaling pathways, cAMP-PKA, MAPK and TOR in the regulation of FLO11[J]. PLoS ONE, 2008, 3(2): e1663.
- [18] 简鹏,李庆海,范立华. 甘松新酮对快速性心律失常大鼠心肌细胞抑制作用的实验研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(22): 2240-2242.

(收稿日期: 2019-09-21 编辑: 田苗)