

# 基于网络药理与分子对接的芪苈山萸心衰方减轻心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌细胞损伤的潜在药效物质研究

沈小兰<sup>1,2\*</sup>, 郭哲<sup>3</sup>, 郭响<sup>2</sup>, 蔡三金<sup>2</sup>, 许强<sup>4</sup>, 冯知涛<sup>2#</sup>

<sup>1</sup>三峡大学第一临床医学院, 宜昌三峡中心人民医院, 湖北 宜昌

<sup>2</sup>三峡大学, 健康医学院, 湖北 宜昌

<sup>3</sup>山东中医药大学, 中医学院, 山东 济南

<sup>4</sup>宜昌市中医医院, 心病科, 湖北 宜昌

收稿日期: 2023年11月1日; 录用日期: 2024年1月19日; 发布日期: 2024年1月31日

## 摘要

目的: 探讨芪苈山萸心衰方治疗心梗后心衰的潜在物质基础。方法: 选取SD大鼠, 随机分为五组。造模并连续灌胃4周后取心脏组织进行TTC染色和透射电镜观察心肌梗死体积和心肌细胞损伤程度。依据各类数据库查找药物活性成分及靶标, 并预测疾病靶点。构建药物-成分-靶点-疾病关系网络、GO和KEGG富集分析, 并进行分子对接。结果: 模型组梗死体积较假手术组显著增加( $P < 0.01$ ), 线粒体数量减少, 线粒体嵴断裂, 肌原纤维结构模糊不清; 低、高剂量组较模型组心肌梗死体积均显著减少( $P < 0.01$ ), 线粒体和肌原纤维结构基本正常。筛选活性成分159个, 核心靶点82个; GO富集分析条目588个, KEGG富集分析得信号通路37条; 分子对接提示豆甾醇与靶蛋白结合较好。结论: 芪苈山萸心衰方中化合物可能通过与关键靶蛋白结合, 调节相关信号通路, 减轻心肌细胞损伤, 发挥治疗作用。

## 关键词

芪苈山萸心衰方, 心梗后心衰, 网络药理学, 分子对接

## Exploring Active Compounds of Qilishanyu Heart Failure Prescription Alleviates Myocardial Cell Injury of Heart Failure after Myocardial Infarction Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

\*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 沈小兰, 郭哲, 郭响, 蔡三金, 许强, 冯知涛. 基于网络药理与分子对接的芪苈山萸心衰方减轻心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌细胞损伤的潜在药效物质研究[J]. 中医学, 2024, 13(1): 219-231. DOI: 10.12677/tcm.2024.131035

Xiaolan Shen<sup>1,2\*</sup>, Zhe Guo<sup>3</sup>, Xiang Guo<sup>2</sup>, Sanjin Cai<sup>2</sup>, Qiang Xu<sup>4</sup>, Zhitao Feng<sup>2#</sup>

<sup>1</sup>The First College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University, Yichang Central People's Hospital, Yichang Hubei

<sup>2</sup>College of Medicine and Health Sciences, China Three Gorges University, Yichang Hubei

<sup>3</sup>College of Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan Shandong

<sup>4</sup>Department of Cardiology, Yichang Chinese Medicine Hospital, Yichang Hubei

Received: Nov. 1<sup>st</sup>, 2023; accepted: Jan. 19<sup>th</sup>, 2024; published: Jan. 31<sup>st</sup>, 2024

## Abstract

**Objective:** To explore the effective chemical constituents of Qilishanyu Heart Failure Prescription for treatment of Heart Failure. **Methods:** SD rats were randomly divided into 5 groups, with 12 rats in each group. After modeling and continuous intragastric administration for 4 weeks, the heart tissues were taken for TTC staining and transmission electron microscopy to observe the volume of cardiac infarction and the extent of myocardial cell damage and the degree of myocardial cell damage was observed by transmission electron microscopy. Active ingredients of drug and the corresponding targets were screened, while the targets of disease n were predicted according to a variety of databases. A network of drug-component-target-disease, GO and KEGG pathway enrichment analysis as well as molecular docking was conducted. **Results:** Compared with the sham group, the model group was observed with significantly increased myocardial infarction volume ( $P < 0.01$ ), decreased of heart mitochondria, fractured of the mitochondrial cristae, and the blurred of cardiac myofibrils structure. Compared with model group, myocardial infarction volume of Qilishanyu Heart Failure Prescription formula was significantly reduced in both low and high dose groups ( $P < 0.01$ ), and the mitochondrial and cardiac myofibrils structures were basically normal. A total of 159 components were screened, with 82 core targets. GO function enrichment analysis revealed 488 items. KEGG pathway enrichment screened 37 signaling pathways. The results of molecular docking showed that stigmasterol had a certain degree of affinity with proteins. **Conclusion:** The active ingredients in Qilishanyu Heart Failure Prescription may combine with core targets to regulate signaling pathways and reduce myocardial cell damage, which played a significant role in the treatment of Heart Failure.

## Keywords

Qilishanyu Heart Failure Prescription, Heart Failure after Myocardial Infarction, Pharmacological Network, Molecular Docking

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

心力衰竭(Heart Failure, HF)是由于心脏结构及功能异常导致心脏充盈及射血功能障碍所引发的复杂临床综合征[1] [2] [3]。目前约有 600 万成年人患有心力衰竭, 死亡率居高不下[4]。心肌梗塞会破坏心肌组织, 从而导致心力衰竭[5] [6] [7]。近年来研究发现中药复方芪蒺山萸心衰方具有利尿和抑制神经内分泌过度激活的作用, 能够改善血流动力学, 减少心室重构, 缓解心力衰竭和改善预后[8]。现阶段芪蒺山萸心衰方在临

床上用于治疗充血性心力衰竭, 先前有研究通过临床收集 102 例慢性心力衰竭患者, 并与西药治疗组进行对照, 结果发现使用芪苈山萸心衰方的患者心功能得到明显改善, 总体有效率达到 80.4%, 在临床上取得了较好的疗效[9] [10] [11]。但其相关作用靶点和具体药效物质及作用机制并不明确。因此, 本研究的目的是寻找药物成分与靶点之间的关联性, 尝试探究芪苈山萸心衰方治疗心梗后心衰的药效物质及作用机制。

## 2. 材料

### 2.1. 实验动物

清洁级 SD 雄性大鼠 60 只, 体质量( $180 \pm 20$ ) g, 购自三峡大学实验动物中心, 实验动物生产许可证号: SYXK(鄂) 2017-0061。

### 2.2. 药物试剂

芪苈山萸心衰方(由黄芪 30 g, 葶苈子 15 g, 山茱萸 20 g, 北五加皮 10 g, 大枣 20 g, 龙牡各 15 g, 丹参 20 g 组成, 药材购自宜昌市中医院药房); 地高辛(上海上药信谊药厂有限公司, 100 片/瓶, 0.25 mg/片, 批号: 020170909)。2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)试剂购自美国 Sigma 公司; 10%水合氯醛购自国药集团化学试剂有限公司。

## 3. 方法

### 3.1. 动物实验

#### 3.1.1. 分组及给药

60 只大鼠随机分为假手术、模型、芪苈山萸心衰方低(30 g/kg)、高剂量(60 g/kg)及地高辛组( $9.0 \times 10^{-5}$  g/kg)每组各 12 只, 适应性喂养 5 d 后进行预处理。

#### 3.1.2. 心梗后心衰模型的制备

参照周的方法[12], 应用线栓法制备心肌梗死后心力衰竭模型。术后第二天给各组大鼠进行灌胃给予相应的药物, 假手术组和模型组灌胃给予等量的生理盐水, 灌胃体积为 10 ml/kg。每天一次, 连续灌胃四周。

#### 3.1.3. TTC 染色确定心肌梗死体积

用 PBS 冲洗心肌残余的血液, 吸取组织表面残余的水分, 置于 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱存放 20 min, 从心尖部至结扎部位下方制作连续切片, 将切片放置  $37^{\circ}\text{C}$  烘箱, 0.2%的 TTC 溶液避光孵育 30 min, 后置于 4%多聚甲醛溶液中固定 24 h, 随后取出拍照。采用 Image-pro plus 6.0 图像分析软件计算大鼠的心肌梗死体积, 计算梗死组织百分比(心肌梗死组织百分比 = 梗死区体积/心脏体积)。

#### 3.1.4. 透射电镜检验细胞器损伤程度

PBS 冲洗的心脏组织置于 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱存放 20 min, 于梗死区域附近取一块体积约为  $1\text{ mm}^3$  的心肌组织块, 放置于 2.5%戊二醛溶液保存以固定。用 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液冲洗脑组织块 3 次后置于 1%锇酸固定液中, 在  $4^{\circ}\text{C}$  条件下固定 1 h。然后将组织块在梯度乙醇溶液中脱水并包埋在环氧树脂中, 并在 $-80^{\circ}\text{C}$  下聚合保存。用超薄切片机将组织块制作成 60~70 nm 厚的超薄切片, 然后用 3%柠檬酸铅染色, 随后使用透射电子显微镜观察 HF 大鼠心脏细胞器损伤程度。

### 3.2. 网络药理学

#### 3.2.1. 药物成分及靶点的收集

本研究采用中药系统药理学分析平台 TCMSP (<http://tcmospw.com/tcmosp.php>)和 BATMAN-TCM 平台

(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)收集和筛选活性成分及对应的靶标蛋白,在 Uniprot 数据库(<http://www.Uniprot.org/>)查询靶标蛋白的基因名称,物种限制为“human”,并将靶标蛋白统一转换为基因名称保存。

### 3.2.2. 疾病靶点的筛选

在 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)和 OMIM 数据库(<https://omim.org/>)以关键词“Heart Failure”进行检索,收集 HF 相关靶蛋白。将药物预测靶点与疾病靶点的唯一值上传至生物信息学与进化基因组学网页工具(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)分析获得共有靶点。

### 3.2.3. 蛋白互作网络构建与分析

将共有靶点与疾病相关性得分取前 100 个靶点上传至 STRIN (<https://string-db.org/>)在线分析平台,物种限制为“Homo sapiens”,获得蛋白互作网络图,将数据信息保存为“TSV”文件并导入到 Cytoscape 3.7.2 软件构建药物-成分-靶点-疾病网络,利用 Network Analysis 插件进行分析。

### 3.2.4. GO 及 KEGG 富集分析

将筛选得到的作用靶点导入到 DAVID (<https://david.ncicrf.gov/home.jsp>)数据库,物种限定为“Homo sapiens”,输入靶基因名称,并设定阈值  $P < 0.05$ ,进行 GO 和 KEGG 富集分析,并进行可视化处理。

## 3.3. 分子对接

从 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库中下载排名前 10 化合物的 2D 结构,从 RSCB PDB (<http://www.rcsb.org>)数据库下载排名前三的关键靶蛋白的 3D 结构。以关键靶蛋白 PTGS1、CHRM1、CHRM3 作为受体,以排名前 10 的化合物作为配体,利用 AutoDock Tools 1.5.6 进行分子对接。从各化合物对接结果的结合构象中,选取结合能较低且构象较好的对接结果。目前对于活性分子的靶点筛选尚无统一标准,研究报道结合能小于 0 说明配体与受体可以自发结合,小于-5 说明配体与受体可以较好结合,因此这里选取结合能  $\leq 0$  kJ/mol 的成分作为筛选依据[13][14][15]。

## 3.4. 统计学分析

所有实验数据均采用 SPSS 19.0 统计软件处理,以均数 $\pm$ 标准误( $\bar{x} \pm s$ )表示,各组数值比较采用单因素方差分析(ANOVA),多组均数间的比较采用 LSD 法(方差齐性时)或 Dunnett's T3 法(方差不齐时),以  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 4. 结果

### 4.1. 动物实验

#### 4.1.1. 心脏组织梗死体积

TTC 染色结果如图 1 所示,白色部分为心肌梗死区域,非白色部分为非梗死区域。统计结果如表 1 所示,与假手术组比较,模型组大鼠心肌梗死体积显著增加( $P < 0.01$ )。与模型组比较,低、高剂量组心肌梗死体积均显著减少( $P < 0.05, 0.01$ )。

#### 4.1.2. 心脏细胞器损伤程度

电镜结果如图 2 所示,正常组(A)线粒体完整;模型组(B)较正常组线粒体稀疏且数量明显减少,部分心肌细胞线粒体破裂且体积变小,线粒体嵴完全断裂,结构模糊不清;低剂量组(C)较模型组线粒体数量减少,肌原纤维结构比较完整,粗细均一,线粒体嵴部分断裂;高剂量组(D)较低剂量组线粒体结构比较正常,部分见线粒体减少;地高辛组(E)较药物组部分线粒体团聚,部分松散,伴有部分线粒体嵴断裂。



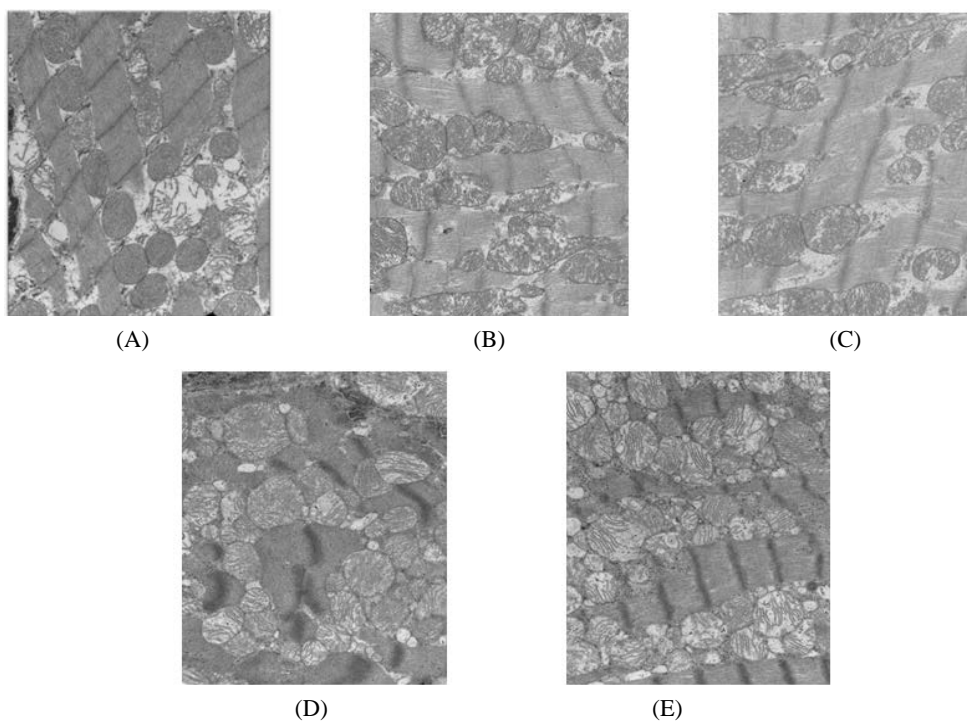
**Figure 1.** TTC staining results in each group rats with Heart Failure after Myocardial Infarction

**图 1.** 心梗后心衰各组大鼠心脏组织 TTC 染色结果

**Table 1.** Myocardial infarction volume in each group

**表 1.** 各组大鼠心肌梗死体积

组别	剂量/(g·kg)	梗死体积/%
假手术组	0	0
模型	0	33.24
芪芩山莢心衰方	30	17.15
	60	8.08
地高辛	$9.0 \times 10^{-5}$	12.77



**Figure 2.** Transmission electron microscopy of organelle damage (20,000×)

**图 2.** 心脏细胞器损伤程度的透射电镜图(20,000×)

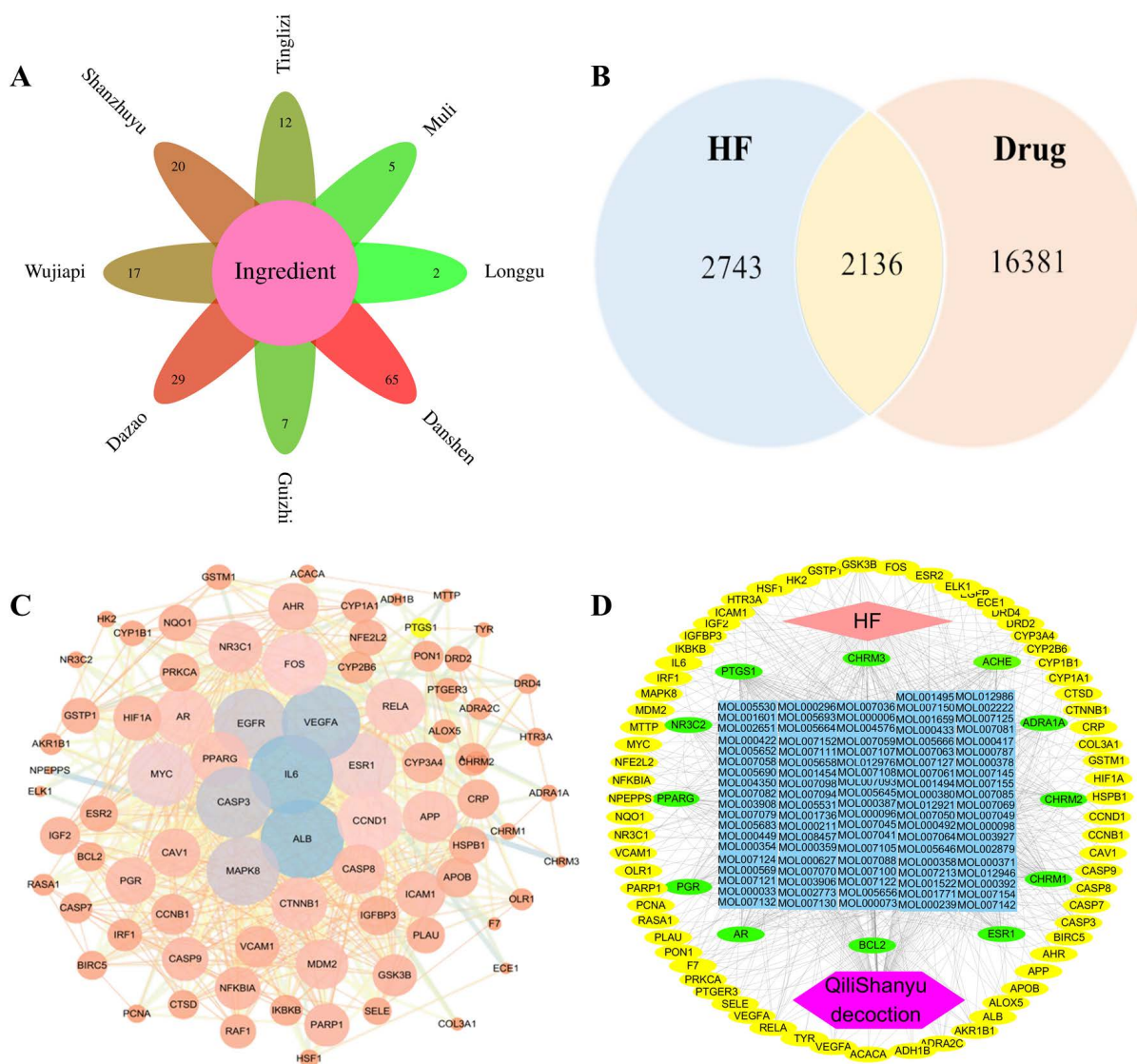
## 4.2. 网络药理学

### 4.2.1. 药物成分、靶点及疾病靶点的筛选

利用 TCMSF 及 BATMAN 数据库筛选活性成分得到黄芪 20 个、葶苈子 12 个、山茱萸 20 个、北五加皮 17 个、大枣 29 个、桂枝 7 个、丹参 65 个、煅龙骨 2 个、煅牡蛎 5 个，筛除重复项后得到 159 个化合物，图 3A；预测靶标共 33,788 个，整合删除重复项得到 16,381 个预测靶点。在 GeneCards 和 OMIM 数据库中筛选得到 2743 个疾病靶点，将药物预测靶点与疾病靶点取交集得到 2136 个交集靶点，图 3B。芪苈山萸心衰方中部分活性成分(OB 前 30 位的化合物)信息见表 2。

### 4.2.2. 蛋白互作网络的构建

将共有靶点按相关性得分取前 100 上传至 STRING 在线分析平台，获得蛋白互作网络图，并将数据信息保存为“TSV”文件。将“TSV”文件导入到 Cytoscape 3.7.2 软件进行可视化处理，共得到 100 个节



**Figure 3.** Acquisition of drug ingredients and targets of Qilishanyu Heart Failure Prescription for the treatment of heart failure

**图 3.** 芪苈山萸心衰方治疗心力衰竭的药物成分及靶点获取

**Table 2.** Information of part of active ingredients from Qilishanyu Heart Failure Prescription  
**表 2.** 芪苈山萸心衰方部分活性成分信息

编号	化学成分	OB/%	DL
MOL012940	Spiradine A(绣线菊定 A)	113.52	0.61
MOL007064	Przewalskin b (紫丹参萜醚 b)	110.32	0.44
MOL000398	Isoflavanone (异黄酮)	109.99	0.3
MOL007132	(2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(Z)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)acryloyl]oxy-propionic acid (丹酚酸 A: (2R)-3-(3,4-二羟基苯基)-2-[(E)-3-[2-[(E)-2-(3,4-二羟基苯基)乙烯基]-3,4-二羟基苯基]丙-2-烯酰]氧丙酸)	109.38	0.35
MOL005690	Periplocymarin_qt (杠柳次甙)	104.15	0.74
MOL003908	Cynotoxin (细胞毒素)	99.94	0.78
MOL012992	Mauritine D (滇刺枣碱 D)	89.13	0.45
MOL007140	(Z)-3-[2-[(E)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)vinyl]-3,4-dihydroxy-phenyl]acrylic acid((Z) 3 - [2 - [2 - (3 4-二羟基苯) (E)乙烯基]3,4-dihydroxy-phenyl)丙烯酸)	88.54	0.26
MOL008647	Moupinamide (穆坪马兜铃酰胺)	86.71	0.26
MOL005656	Glycozolidal (山小橘灵醛)	78.07	0.20
MOL007150	(6S)-6-hydroxy-1-methyl-6-methylol-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-quinone((6S)-6-羟-1-甲基-6-羟甲基-8,9-二氢-7H-苯并[8,7-g]香豆酮-10,11-醌)	75.39	0.46
MOL000378	7-O-methylisomucronulatol(7-O-methylisomucronulatol(7-O-甲基异丙醇胺)	74.69	0.3
MOL008034	21302-79-4	73.52	0.77
MOL007058	Formyltanshinone (丹参酮)	73.44	0.42
MOL007120	miltionone II (丹参醌新酮 II)	71.03	0.44
MOL003905	K-STROPHANTHOSIDE (K-毒毛旋花子甙)	70.65	0.22
MOL005531	Telocinobufagin (远华蟾毒精)	69.99	0.79
MOL000392	Formononetin (芒柄花黄素)	69.67	0.21
MOL000433	FA (脂肪酸)	68.96	0.71
MOL005552	Gemin D (路边青鞣质 D)	68.83	0.56
MOL007105	Epidanshenspiroketalactone (表丹参螺缩酮内脂)	68.27	0.31
MOL000438	(3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol((3R)-3-(二羟基-3',4'-二甲氧基异黄烷)苯并二氢吡喃-7-ol)	67.67	0.26
MOL003410	Ziziphin_qt (大枣皂苷)	66.95	0.62
MOL003907	Erysimoside (葡萄糖糖芥苷)	65.45	0.23
MOL007155	(6S)-6-(hydroxymethyl)-1,6-dimethyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-dione((6S)-6-(羟甲基)-1,6-二甲基-8,9-双氢-7H-萘酚[8,7-g]香豆酮-10,11-二酮)	65.26	0.45
MOL007130	Prolithospermic acid (原紫草酸)	64.37	0.31
MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol((6aR,11aR)-9,10-二甲氧基-6a,11a-双氢-6H-呋喃酚[3,2-c]苯并吡喃-3-ol)	64.26	0.42
MOL005675	Periplocoside E_qt (杠柳毒苷 E)	63.94	0.24

续表

MOL007050	2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-3-benzofuran carboxaldehyde(2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-5-(3-羟丙基)-7-甲氧基-3-香豆酮)	62.78	0.40
MOL007068	Przewaquinone B (紫丹参乙素 B)	62.24	0.41

点, 1483 条边, 图 3C。借助 Cytoscape 3.7.2 软件中的“Network Analysis”插件进行拓扑分析, 其中网络中关键性的参数是度值, 在网络中节点的度值越大, 则说明该节点在网络中的作用越强, 度值越大, 则气泡越大, 可能是关键成分或靶点[16]。

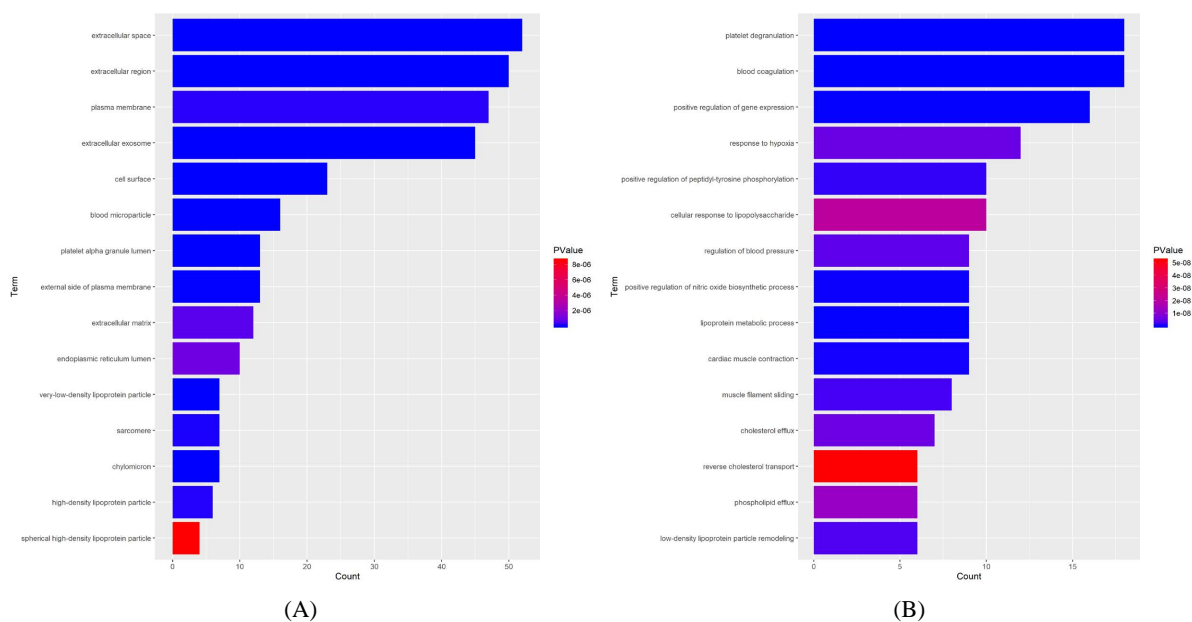
#### 4.2.3. 药物 - 成分 - 靶点 - 疾病网络构建与分析

运用 Cytoscape 3.7.2 软件构建药物 - 成分 - 靶点 - 疾病关系网络, 图 3D。该网络中共有 181 个节点, 901 条边。该网络分析结果显示, 平均每个活性成分与 8.5 个靶点相互作用, 平均每个靶点与 3 个活性成分相互作用。以节点度值的平均数作为筛选标准, 筛选出大于等于平均度值的化合物和核心靶点, 共得到 20 个核心化合物和 82 个核心靶点。其中排名前 5 的化合物分别为槲皮素、 $\beta$ -谷甾醇、山柰酚、异鼠李素及木犀草素, 分别与 163、61、49、23、21 个靶点相互作用; 排名前 3 的靶点为山羊前列腺素内过氧化物合酶 1 (Prostaglandin Endoperoxide Synthase 1, PTGS1)、毒蕈碱型胆碱受体 M1 (Cholinergic Receptor, Muscarinic 1, CHRM1)、毒蕈碱型胆碱受体 M3 (Cholinergic Receptor, Muscarinic 3, CHRM3), 分别能与 61、48、42 个活性化合物相互作用。

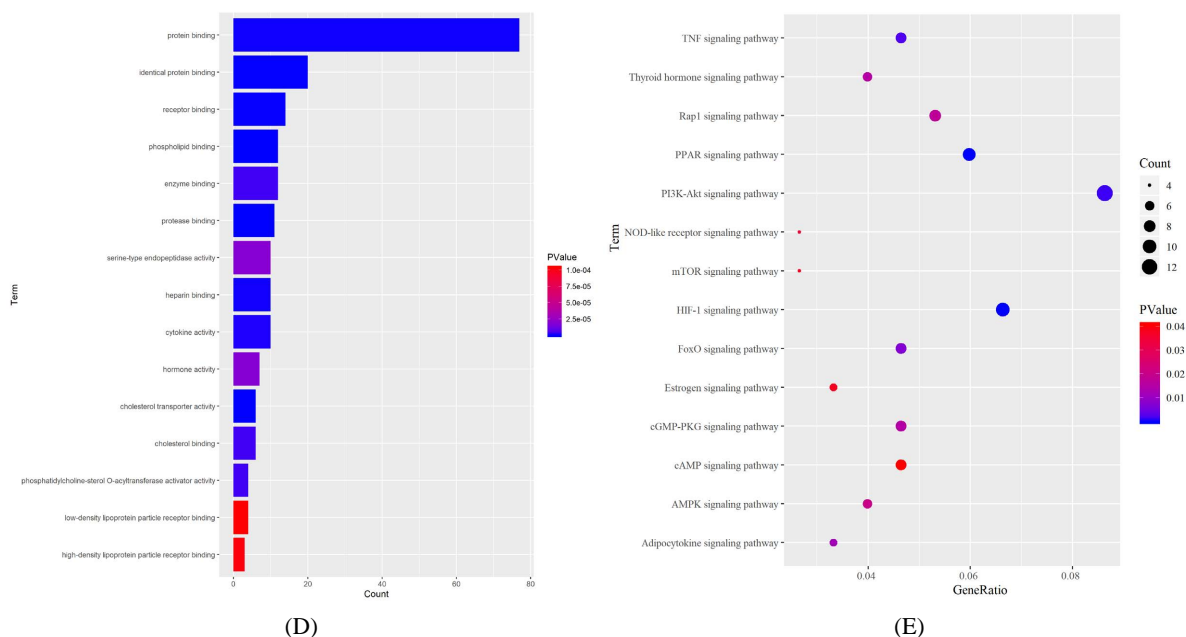
#### 4.2.4. GO 和 KEGG 富集分析

将药物 - 成分 - 靶点 - 疾病网络中涉及的 82 个核心靶点导入到 DAVID 数据库进行 GO 功能富集分析, 得到 GO 条目 588 个( $P < 0.01$ )。其中生物过程(GOBP)条目 452 个, 细胞成分(GOCC)条目 59 个, 分子功能(GOMF)条目 77 个, 图 4。结果显示芪苈山莼心衰方治疗心梗后心衰主要与胆固醇逆向转运、磷脂流出、细胞对脂多糖的反应等过程密切相关。

KEGG 通路富集筛选得到 37 条信号通路( $P < 0.05$ ), 选取前 15 个通路绘制气泡图并对其进行通路分析, 见图 4。可见参与的主要通路有磷脂酰肌醇 3-激酶 - 丝氨酸苏氨酸蛋白激酶(PI3K-Akt)信号通路、低氧诱导因子-1 (HIF-1)信号通路和 激活受体(PPAR)信号通路等生物信号通路, 此外, 所有通路均涉及 IL6。

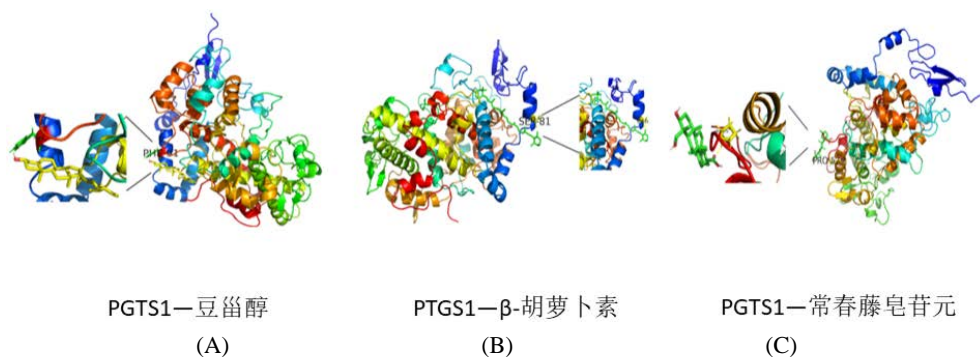






**Figure 4.** Gene ontology molecular function (A), Gene Ontology Cellular Constituent (B), Gene Ontology Biological Process (C) and KEGG pathway enrichment analysis (D)

**图 4.** 分子功能(A)、细胞成分(B)、生物过程(C)和 KEGG 通路富集分析(D)



**Figure 5.** Molecular docking of stigmasterol (A), beta-carotene (B) and hederagenin (C) with PTGS1

**图 5.** 豆甾醇(A)、 $\beta$ -胡萝卜素(B)、常春藤皂苷元(C)与 PTGS1 的分子对接

**Table 3.** Binding energy of key compounds with core target proteins

**表 3.** 核心化合物与关键靶蛋白的结合能

化合物	MOL ID	CAS 号	化学式	相对分子质量	结合能/(kJ·mol <sup>-1</sup> )		
					PGTS1	CHRM1	CHRM3
槲皮素	MOL000098	73123-10-1, 74893-81-5, 117-39-5	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	302.23	-3.12	-3.21	-2.54
$\beta$ -谷甾醇	MOL000358	64997-52-0	C <sub>30</sub> H <sub>52</sub> O	414.3862	-4.42	-4.21	-4.83
山柰酚	MOL000422	520-18-3	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	428.7	-3.67	-3.44	-2.89
异鼠李素	MOL000354	480-19-3	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	316.26	-4.52	-2.95	-2.37
木犀草素	MOL000006	491-70-3	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	286.23	-3.65	-3.73	-2.42
豆甾醇	MOL000449	68555-08-8	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	412.69	-5.42	-4.73	-4.06

续表

常春藤皂苷元	MOL000296	465-99-6	C30H48O4	472.7	-4.98	-4.26	-3.85
7-O-甲基-异微凸剑叶莎醇	MOL000378	137217-83-5	C18H20O5	316.354	-3.82	-3.7	-3.29
$\beta$ -胡萝卜素	MOL002773	7235-40-7	C40H56	536.87	-4.83	-4.15	-3.40
紫丹参萜 A	MOL007063	119400-87-2	C23H30O6	402.5	-4.07	-4.69	-2.74

### 4.3. 分子对接

一般认为配体与受体相互作用的亲和力越强,所需能量越少,发生作用的可能性越大。将芪蒡山萸心衰方在“药物-成分-靶点-疾病”网络中的节点度值排名前10位的活性化合物与排名前3的靶蛋白分别进行分子对接,结果见表3。结果显示这10个化合物与3个靶蛋白之间的结合能均低于0 kJ/mol,表明其核心化合物与这3个靶蛋白均可以自发结合。其中,豆甾醇与PTGS1结合活性最好(结合能-5.42 kJ/mol)。结合活性前三位结果见图5。

## 5. 讨论

现代医学认为心肌梗死发生之后会引发一系列炎症反应,从而诱发心室重构,降低心功能状态,心肌细胞凋亡,病情恶化,引发心力衰竭,影响预后[17][18][19]。传统医学将心力衰竭归于“胸痹”“水肿”“痰饮”等范畴,其病机多为阳虚水泛、络淤水停,宜采取“温阳、利水”等的治法[20][21]。芪蒡山萸心衰方具有益气温阳、通络等功效,能够促进血液循环,增强心肌收缩力,降低心肌梗死的风险[22]。但是此前尚没有文献报道其关键靶点及信号通路,因此,本研究主要是基于网络药理学及分子对接并通过动物实验验证探讨芪蒡山萸心衰方治疗心梗后心衰的潜在物质基础及作用机制。

动物实验TTC染色结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠心肌梗死体积显著增加( $P < 0.01$ )。与模型组比较,低、高剂量组心肌梗死体积均显著减少( $P < 0.05, 0.01$ )。电镜结果显示芪蒡山萸心衰方可以改善受损的线粒体和肌原纤维结构,减轻心肌梗死后心力衰竭大鼠的心肌细胞器损伤。先前Nobutoshi Matsumura等通过动物实验发现抑制心脏毒性的代谢产物可以改善心肌梗死引起的心力衰竭,研究报道大约有40%的心力衰竭与心肌梗死相关[23]。在本研究中我们结合动物实验同样发现芪蒡山萸心衰方对心肌梗死可能有较好的治疗作用,缓解由心肌梗死诱导的心室重构,从而达到改善心功能、治疗心衰的作用。

网络药理学结果显示,芪蒡山萸心衰方中筛选的活性成分共有159个,16,381个潜在靶点,通过Cytoscape 3.7.2软件中的“Network Analysis”插件进行拓扑分析并依据度值确定了20个核心化合物和82个核心靶点,体现了中药具有多成分、多靶点的治疗特点。根据药物-成分-靶点-疾病网络,显示排名前5的化合物分别为槲皮素、 $\beta$ -谷甾醇、山柰酚、异鼠李素及木犀草素,提示对改善心功能、治疗心衰具有积极作用。将评分较高10种化学成分分别与排名前三的靶蛋白PTGS1、CHRM1及CHRM3进行分子对接,结果显示可以自由结合,且豆甾醇和PTGS1结合较好,综合对三种核心靶蛋白的结合能力,表明芪蒡山萸心衰方中豆甾醇、 $\beta$ -谷甾醇、 $\beta$ -胡萝卜素、常春藤皂苷元及紫丹参萜A可能为潜在的治疗心梗后心衰的活性成分,进一步证实了网络药理学的成分筛选结果。

根据药物-成分-靶点-疾病网络结果,芪蒡山萸心衰方治疗心梗后心衰主要有细胞因子(IL-6),前列腺素G/H合酶(PGGS1和PGGS2),毒蕈碱胆碱受体(CHRM1, CHRM3)等82个核心靶基因,对这82个关键靶基因进行GO分析,发现可参与血小板脱颗粒、凝血功能等生物学过程。先前研究表明凝血酶刺激血小板可诱导血管内皮细胞生长因子(VEGF)的时间依赖性释放,调节炎症反应,可缓解心肌再灌注损伤。

伤,起到保护心肌细胞的作用[24] [25] [26]。KEGG 结果显示 PI3K-Akt、HIF-1、PPAR 通路与 HF 相关,其中靶点富集数目较多的通路是 PI3K-Akt 信号通路。研究涉及的通路大多涉及 IL-6 基因,IL-6 是一种调节急性期反应、炎症和造血等许多过程的细胞因子,心衰发生后激活免疫系统,此时 IL-6 通过趋化炎症细胞聚集导致持续的炎症生物反应,进而损伤心肌细胞[27] [28]。先前已有研究表明 PI3K-Akt 是心肌肥厚过程中的一个重要的信号通路,由生理肥大引起的 Akt 的短期激活可能具有心脏保护作用,但可导致轻度心脏增大,Akt 的长期激活加速了病理性心肌肥厚和纤维化,最终导致心力衰竭[29] [30] [31]。HIF-1 可能在慢性疾病如心力衰竭、神经退行性疾病或癌症中起到重要作用,HIF-1 在缺氧过程中是关键性的调节因子,介导细胞凋亡,导致心肌细胞缺血再灌注损伤后死亡[32]。PPAR 信号通路调控的关键酶参与心肌细胞的脂质代谢和糖代谢,通过调节和优化能量代谢,在调节心血管效应方面发挥重要作用[33] [34]。以上结果提示芪苈山萸心衰方可能通过阻断心肌纤维化、对抗心肌梗死后血管炎症、细胞凋亡及调节能量代谢等方面治疗心梗后心衰。

分子对接结果显示,芪苈山萸心衰方中的核心化合物与关键靶蛋白 PGTS1、CHRM1、CHRM3 结合能均小于 0 kJ/mol,表明芪苈山萸心衰方中的核心活性化合物与这 3 个靶蛋白可以自发结合。其中,豆甾醇与 PGTS1 结合活性较好(结合能为-5.42 kJ/mol)。先前研究发现 PTGS1 为槲皮素、木犀草素、异鼠李素等活性成分的潜在作用靶点,可以缓解心肌梗死后心肌间质和血管周围纤维化,并且可以减少心肌梗死面积,减轻左心室心肌细胞肥大,对保护心血管系统就具有积极意义[35] [36]。CHRM1 和 CHRM3 是活性成分常春藤皂苷元的潜在作用靶点,在对抗炎症反应和保护心血管系统方面有重要作用,但其具体作用机制尚未详细报道[21] [37]。通过分子对接研究结果可以推测,芪苈山萸心衰方中核心化合物可能通过与核心靶蛋白结合降低炎症反应诱发心室重构的可能性,对抗细胞凋亡,调节心输出量,从而缓解心肌梗塞诱发的心力衰竭,但其具体机制有待于进一步研究。

## 6. 结论

综上所述,本研究应用网络药理学方法和分子对接技术并结合动物实验对芪苈山萸心衰方治疗心梗后心衰的药物活性成分、作用靶点及信号通路进行了分析研究,表明芪苈山萸心衰方治疗心梗后心衰是通过多成分、多靶点、多通路的协同作用来发挥疗效的,对临床用药具有指导意义。

## 基金项目

基于 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路探讨附子理中汤对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用及其对肿瘤微环境的影响(ZY2023M038 面上项目);主持三峡大学医学院创新创业重点项目(No.202108)一项。

## 参考文献

- [1] Savarese, G., Becher, P.M., Lund, L.H., *et al.* (2023) Global Burden of Heart Failure: A Comprehensive and Updated Review of Epidemiology. *Cardiovascular Research*, **118**, 3272-3287. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvac013>
- [2] Obokata, M., Reddy, Y. and Borlaug, B.A. (2020) Diastolic Dysfunction and Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Understanding Mechanisms by Using Noninvasive Methods. *JACC: Cardiovascular Imaging*, **13**, 245-257. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2018.12.034>
- [3] Henning, R.J. (2020) Diagnosis and Treatment of Heart Failure with Preserved Left Ventricular Ejection Fraction. *World Journal of Cardiology*, **12**, 7-25. <https://doi.org/10.4330/wjc.v12.i1.7>
- [4] Chen, J. and Aronowitz, P. (2022) Congestive Heart Failure. *Medical Clinics of North America*, **106**, 447-458. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2021.12.002>
- [5] Asano, R., Abshire, M., Dennison-Himmelfarb, C. and Davidson, P.M. (2019) Barriers and Facilitators to a 'Good Death' in Heart Failure: An Integrative Review. *Collegian*, **26**, 651-665. <https://doi.org/10.1016/j.colegn.2019.09.010>
- [6] Vainio, L.E., Szabó, Z., Lin, R., *et al.* (2019) Connective Tissue Growth Factor Inhibition Enhances Cardiac Repair

- and Limits Fibrosis after Myocardial Infarction. *JACC: Basic to Translational Science*, **4**, 83-94. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2018.10.007>
- [7] Ishii, M., Kaikita, K., Sato, K., *et al.* (2017) Cardioprotective Effects of LCZ696 (Sacubitril/Valsartan) after Experimental Acute Myocardial Infarction. *JACC: Basic to Translational Science*, **2**, 655-668. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2017.08.001>
- [8] 高彩, 金连珍, 文磊, 等. 芪苈强心胶囊治疗射血分数保留慢性心力衰竭的临床研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(17): 2621-2623.
- [9] Sun, Y.L., Ruan, X.F., Li, Y.P., *et al.* (2019) Comparative Analysis of Clinical Effects according to Syndrome Differentiation of Qili Qiangxin Capsules on Ischemic Heart Failure: Meta-Analysis. *China Journal of Chinese Materia Medica*, **44**, 4975-4984.
- [10] Han, A.B., Zhang, J., Zhao, M.J., *et al.* (2016) Effects of Qili Qiangxin Capsule on Lung Structural Remodeling in Heart Failure Rats after Myocardial Infarction and Its Mechanism. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine*, **36**, 1329-1334.
- [11] 刘育英, 张继红. 芪苈山萸心衰方治疗慢性心力衰竭 102 例[J]. 中医杂志, 2008(7): 630.
- [12] 周晓慧, 牛成伟, 曹凯, 等. 丹皮酚通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路下调高脂血清诱导的人脐静脉内皮细胞黏附分子的表达[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(2): 249-253.
- [13] 苏真真, 张新庄, 柯志鹏, 等. 银翘解毒软胶囊治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的网络药理学研究[J]. 中草药, 2020, 51(9): 2354-2360.
- [14] 杨璐, 崔换天, 刘相国, 等. 基于网络药理学的小柴胡汤治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)发热的可行性探讨[J]. 中草药, 2020, 51(7): 1761-1775.
- [15] 秦健峰, 郝二伟, 梁跃辉, 等. 基于文献挖掘与分子对接技术的瑶药“十八钻”抗新型冠状病毒活性成分筛选[J]. 中草药, 2020, 51(8): 2024-2034.
- [16] 郭盛, 武文星, 谢红, 等. 基于网络药理学与分子对接技术的补肺活血胶囊用于新型冠状病毒肺炎(COVID-19)恢复期治疗的分子机制研究[J]. 中草药, 2020, 51(9): 2307-2316.
- [17] 刘侃玲, 张瑶. 达格列净早期使用对老年急性心肌梗死后心力衰竭患者急性期心功能及炎症因子的影响[J]. 中国临床研究, 2023, 36(10): 1518-1523.
- [18] 高风, 郭丽君, 马晓昌. 心肌梗死后心力衰竭动物模型的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2023, 21(16): 2984-2988.
- [19] Miura, T., Araki, M., Onoue, T., *et al.* (2020) Transient Marked Myocardial Thickening after Reperfused Myocardial Infarction Causing Refractory Heart Failure. *CASE*, **4**, 106-108. <https://doi.org/10.1016/j.case.2019.09.007>
- [20] 侯江红, 吴秀娟, 王一锦, 等. 芪苈强心胶囊联合硝酸甘油治疗急性左心衰竭的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2019, 34(11): 3244-3249.
- [21] Wei, J.M., Zhu, J.P., Zhang, T.Y., *et al.* (2019) Application of Network Pharmacology to Explore the Mechanism of Yi Xin Tai Formula in Treating Heart Failure. *Digital Chinese Medicine*, **2**, 237-256. <https://doi.org/10.1016/j.dcm.2020.01.005>
- [22] Hou, T.T., Liu, G.Z., Zang, Y.X., *et al.* (2019) Qiliqiangxin Attenuates Atrial Structural Remodeling in Prolonged Pacing-Induced Atrial Fibrillation in Rabbits. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **392**, 585-592. <https://doi.org/10.1007/s00210-018-01611-0>
- [23] Matsumura, N., Takahara, S., Maayah, Z.H., *et al.* (2018) Resveratrol Improves Cardiac Function and Exercise Performance in MI-Induced Heart Failure through the Inhibition of Cardiotoxic HETE Metabolites. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **125**, 162-173. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2018.10.023>
- [24] Koehne, P., Willam, C., Strauss, E., *et al.* (2000) Lack of Hypoxic Stimulation of VEGF Secretion from Neutrophils and Platelets. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, **279**, H817-H824. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.2000.279.2.H817>
- [25] Mallick, R. and Ylä-Herttua, S. (2022) Therapeutic Potential of VEGF-B in Coronary Heart Disease and Heart Failure: Dream or Vision? *Cells*, **11**, 3045-3060. <https://doi.org/10.3390/cells11244134>
- [26] Mauler, M., Herr, N., Schoenichen, C., *et al.* (2019) Platelet Serotonin Aggravates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury via Neutrophil Degranulation. *Circulation*, **139**, 918-931. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.033942>
- [27] Murphy, S.P., Kakkur, R., McCarthy, C.P., *et al.* (2020) Inflammation in Heart Failure: JACC State-of-the-Art Review. *Journal of the American College of Cardiology*, **75**, 1324-1340. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.01.014>

- [28] Boulogne, M., Sadoune, M., Launay, J., *et al.* (2017) Inflammation versus Mechanical Stretch Biomarkers over Time in Acutely Decompensated Heart Failure with Reduced Ejection Fraction. *International Journal of Cardiology*, **226**, 53-59. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.10.038>
- [29] Li, X., Zhang, Z. and Wang, H. (2017) Fusaric Acid (FA) Protects Heart Failure Induced by Isoproterenol (ISP) in Mice through Fibrosis Prevention via TGF- $\beta$ 1/SMADs and PI3K/AKT Signaling Pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **93**, 130-145. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.06.002>
- [30] Ghafouri-Fard, S., Khanbabapour, S.A., Hussien, B.M., *et al.* (2022) Interplay between PI3K/AKT Pathway and Heart Disorders. *Molecular Biology Reports*, **49**, 9767-9781. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07468-0>
- [31] Qin, W., Cao, L. and Massey, I.Y. (2021) Role of PI3K/Akt Signaling Pathway in Cardiac Fibrosis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **476**, 4045-4059. <https://doi.org/10.1007/s11010-021-04219-w>
- [32] Moulin, S., Thomas, A., Arnaud, C., *et al.* (2020) Cooperation between Hypoxia-Inducible Factor 1 $\alpha$  and Activating Transcription Factor 4 in Sleep Apnea-Mediated Myocardial Injury. *Canadian Journal of Cardiology*, **36**, 936-940. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.04.002>
- [33] Sato, T. and Takeda, N. (2023) The Roles of HIF-1 $\alpha$  Signaling in Cardiovascular Diseases. *Journal of Cardiology*, **81**, 202-208. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2022.09.002>
- [34] Shao, M., Guo, D., Lu, W., *et al.* (2020) Identification of the Active Compounds and Drug Targets of Chinese Medicine in Heart Failure Based on the PPARs-RXR $\alpha$  Pathway. *Journal of Ethnopharmacology*, **257**, Article ID: 112859. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112859>
- [35] Wang, D., Tian, L., Shi, C., *et al.* (2020) Network Pharmacology-Based Prediction of the Active Ingredients and Mechanism of Shen Gui Capsule for Application to Coronary Heart Disease. *Computers in Biology and Medicine*, **122**, Article ID: 103825. <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2020.103825>
- [36] Wang, J., Zhang, Y., Liu, Y., *et al.* (2020) Uncovering the Protective Mechanism of Huoxue Anxin Recipe against Coronary Heart Disease by Network Analysis and Experimental Validation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **121**, Article ID: 109655. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109655>
- [37] Zhang, S.Y., Li, L., Zhang, N., *et al.* (2020) Systematic Pharmacological Strategies to Explore the Regulatory Mechanism of Ma Xing Shi Gan Decoction on COVID-19. *Digital Chinese Medicine*, **3**, 96-115. <https://doi.org/10.1016/j.dcm.2020.06.004>