

基于网络药理学及实验验证探讨参麦注射液治疗慢性心力衰竭的作用

叶嘉豪, 钟森杰, 王菲, 李琳*, 胡志希*
(湖南中医药大学, 湖南长沙 410208)

摘要: **目的** 基于网络药理学及实验验证探讨参麦注射液治疗慢性心力衰竭的作用机制。**方法** 利用 BATMAN-TCM 数据库收集参麦注射液有效成分及治疗靶点, GeneCards、OMIM 数据库收集慢性心力衰竭疾病靶点, 利用 Cytoscape 3.7.2 软件绘制“参麦注射液-有效成分-靶点”网络图, 运用 STRING 平台构建“蛋白质-蛋白质”相互作用网络 (PPI), 并利用 Autodock Vina 软件进行分子对接。通过高盐饮食喂养 Dahl 盐敏感大鼠, 构建慢性心衰大鼠模型, 并给予参麦注射液进行干预, 给药后, 通过 HE 染色和 Masson 染色检测大鼠心肌组织病理变化, 利用 ELISA、Western blot 和 RT-qPCR 技术对相关靶点进行验证。**结果** 筛选出 49 个“药物-疾病”共同作用靶点, PPI 显示核心靶点包括 AKT1、CAT、ESR1、APOE、IGF1、IL1B 等, 分子对接显示结合能绝对值最高组为 ESR1-鸟苷。动物实验结果显示, 参麦注射液能有效降低慢性心力衰竭大鼠血清 NT-ProBNP、CAT 水平 ($P<0.05$, $P<0.01$), 升高 AKT1 和 ER 水平 ($P<0.05$), 降低心肌组织 ANP、TGF- β 1、 β -MHC mRNA 表达 ($P<0.05$, $P<0.01$) 和 ANF、TGF β 1 蛋白表达 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 参麦注射液通过减少氧化应激损伤、抑制心室重构、调节细胞凋亡和增殖等, 发挥改善心功能, 延缓慢性心衰发展的作用。

关键词: 参麦注射液; 慢性心力衰竭; 网络药理学; 分子对接; 动物实验

中图分类号: R285.5; R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)05-1693-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.05.047

慢性心力衰竭 (简称慢性心衰) 是各种心血管疾病的终末阶段, 主要由于各种心脏结构或功能异常, 导致供血不足, 心肌的收缩能力下降, 心排量不足, 或同时伴有肺循环和体循环障碍的临床综合征^[1]。慢性心衰具有高发病率、高死亡率和预后差的特点, 严重影响患者的生活质量。中医治疗慢性心衰过程中积累了丰富的经验, 目前临床上主要运用参麦注射液治疗慢性心衰, 参麦注射液是由红参、麦冬的提取液所组成。研究显示, 麦冬的主要成分为麦冬多糖、麦冬皂苷类、麦冬异黄酮类, 具有调节血糖、抗氧化、调节心肌细胞凋亡和线粒体自噬等作用^[2]。课题组前期通过“以方测证”研究, 发现参麦注射液能有效改善 Dahl 盐敏感性高血压心力衰竭模型大鼠的心功能及肾功能, 效果优于参附注射液组^[3]。虽然目前对参麦注射液治疗慢性心衰的研究较多, 但缺乏分子层面的探讨。

网络药理学通过整合系统生物学、计算机生物学等方法, 可以从多角度、多层次, 系统地探究中药复方与疾病的关联^[4]。因此, 本研究利用网络药理学深入研究参麦注

射液治疗慢性心衰的潜在靶点及作用机制, 并通过动物实验进行验证, 为临床合理用药提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 网络药理学研究

1.1.1 参麦注射液有效成分及靶点筛选 运用 BATMAN-TCM 数据库^[5] (<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/>) 筛选参麦注射液的有效成分及靶点, 检索关键词为红参、麦冬, 筛选条件为相关度 Score>20, $P<0.05$ 。

1.1.2 慢性心衰相关靶点预测 以“Chronic Heart Failure”为关键词检索 OMIM 数据库 (<https://omim.org>) 和 GeneCards 数据库^[6] (<http://www.genecards.org>), 合并后去除重复靶点, 最终获得慢性心衰基因靶点。

1.1.3 构建“参麦注射液-有效成分-靶点”网络 将参麦注射液和慢性心衰疾病靶点通过 PERL 软件进行筛选, 得到“参麦注射液-慢性心衰”交集靶点, 并利用 VENNY 图 (<https://bioinfopg.cnb.csic.es/tools/venny>) 进行可视化。采用 Cytoscape3.7.2 软件^[7] 构建“参麦注射液-有效成

收稿日期: 2023-10-27

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82274412); 广东省重点领域研发项目 (2020B1111100001); 湖南省自然科学基金面上项目 (2020JJ4062); 湖南中医药大学校级研究生创新课题项目 (2023CX01)

作者简介: 叶嘉豪 (1996—), 男, 博士生, 研究方向为心血管疾病证本质与诊治规律。Tel: 18718308841, E-mail: 1062940906@qq.com

* **通信作者:** 李琳 (1986—), 女, 博士, 讲师, 研究方向为心血管疾病证本质与诊治规律。Tel: 15092772758, E-mail: lilin@hnuem.edu.cn

胡志希 (1962—), 男, 博士, 教授, 研究方向为心血管疾病证本质与诊治规律。Tel: 13574812411, E-mail: 515800272@qq.com

分靶点”，并根据 Degree 值大小筛选药物核心靶点。

1.1.4 构建“蛋白质-蛋白质”相互作用网络 将“参麦注射液-慢性心衰”得到的靶点导入 String 数据库^[8] (<https://www.string-db.org/>)，限定物种为“*Homo sapiens*”，并设置最低阈值为“medium confidence (0.400)”，得到“蛋白质-蛋白质”相互作用网络图 (protein-protein interaction, PPI)。最后利用 Cytoscape 3.7.2 对 PPI 结果进行视觉优化处理。

1.2 分子对接 将“参麦注射液-有效成分-靶点”网络图中的核心化合物，通过 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 得到其 sdf 文件，用 OpenBabel 软件将 sdf 文件转化为 mol2 格式；通过 PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/>) 获取核心蛋白的结构，利用 Pymol 软件去除其配体和水分子；随后将蛋白结构及化合物分子运用 Autodock Vina 软件^[9] 进行分子对接，并利用 Pymol 软件将结果进行可视化分析。结合能值 < -5 kcal/mol 说明配体和受体具有一定结合能力^[10]，结合能值 < -7 kcal/mol 说明两者之间有较强结合能力，结合能值 < -9 kcal/mol 说明两者之间具有很强结合能力。

1.3 动物实验

1.3.1 动物 6 周龄 Dahl 盐敏感性大鼠，体质量 (220 ± 10) g，雄性，共 18 只，购自北京维通利华实验动物有限公司 [合格证号 11400700134072，实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2016-0006]，饲养于湖南中医药大学动物实验中心 SPF 级实验室内。实验设计和实施依据《湖南实验动物条例》和国家卫生研究院动物伦理使用指南 (伦理号 LL20190902402)。

1.3.2 药物与试剂 参麦注射液 (杭州正大青春宝药业公司，批号 1402225)；AKT1、CAT 和 ER ELISA 试剂盒 (上海江莱生物科技有限公司，批号 JL51388、JL21028、JL12007)；ANF、TGF- β 1 一抗 (英国 Abcam 公司，批号 ab225844、ab92486)；GAPDH 一抗和 HRP goat anti-rabbit IgG 二抗 (美国 Proteintech 公司，批号 10494-1-AP、SA00001-2)；mRNA 逆转录试剂盒、miRNA 逆转录试剂盒 (北京康为世纪生物科技有限公司，批号 CW2569、CW2141)。

1.3.3 仪器 SonoScape-S2N 型彩超仪 (深圳开立生物医疗科技股份有限公司)；PW-812 型全自动酶标洗板机、MB-530 型多功能酶标分析仪 (深圳市汇松科技发展有限公司)；DYCZ-24DN 型电泳槽、DYY-2C 型转膜仪、DYCP-31DN 型水平琼脂糖电泳槽 (北京六一生物科技有限公司)；SPL0960 型荧光定量 RCP 仪、PIKOREAL96 型荧光 PCR 板 (美国 Thermo 公司)。

1.3.4 造模及分组 参考文献 [11-12] 的方法建立高血压心衰大鼠模型，大鼠先给予低盐饮食 (0.3% NaCl) 适应性喂养至 7 周龄。随后将 18 只大鼠按随机数字表法分为对照组、模型组和参麦注射液组，每组 6 只，对照组继续给予低盐饮食，其余大鼠给予高盐饮食 (8.0% NaCl)，饲

养 20 周。造模成功后，参麦注射液组大鼠每次腹腔注射 6.0 mL/kg 参麦注射液，模型组和对照组注射等量灭菌注射用水，每天 1 次，给药 15 d，给药结束后，处死动物并取材。

1.3.5 样本收集 大鼠麻醉后腹主动脉采血，血液 4 $^{\circ}$ C、3 500 r/min 离心 10 min，取上清液；脱位处死大鼠，采集心脏组织样本，保存至 -80 $^{\circ}$ C 冰箱。

1.3.6 检测指标

1.3.6.1 HE 染色 利用 4% 多聚甲醛固定心肌组织，常规石蜡包埋并切成厚度为 3 μ m 的切片，随后将切片脱蜡至水，苏木素染色 3~5 min，盐酸水溶液分化后采用氨水返蓝，梯度乙醇脱水后放入伊红染液中染色 5 min，随后进行脱水封片，最后采用数字切片扫描仪采集图像并观察组织炎症、变性、坏死情况。

1.3.6.2 Masson 染色 将心肌组织石蜡切片脱蜡至水后，利用重铬酸钾进行染色，60 $^{\circ}$ C 染色 30 min，铁苏木素染色 3 min，水洗后，在丽春红酸性品红溶液中浸染 5~10 min，再放入磷钼酸水溶液浸染 1~3 min，随后放入苯胺蓝染液中 3~6 min，再采用 1% 冰乙酸分化，最后透明封片后进行图像采集，分析胶原容积分数 (collagenvolume fraction, CVF)。

1.3.6.3 RT-qPCR 检测 取 100 mg 心肌组织，利用 TRIzol 法提取心肌组织总 RNA，测定 RNA 浓度，然后以心肌组织的 mRNA 为模板，反转录为 cDNA，条件为 50 $^{\circ}$ C 50 min，85 $^{\circ}$ C 5 min。随后进行短暂离心，并将样本置于冰上冷却。从 NCBI 得到目的基因序列，并利用 primer5 软件设计引物，序列见表 1。定量 PCR 扩增程序环境设置为 95 $^{\circ}$ C 10 min；95 $^{\circ}$ C 15 s，60 $^{\circ}$ C 30 s，40 个循环，每个样本重复 3 次， $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因相对表达。

表 1 引物序列

基因	序列 (5'→3')	长度/bp
ANP	正向 GGATTTCAAGAACCTGCTAGACCAC	95
	反向 CTTTCATCGGTCTGCTCGCTCA	
TGF- β 1	正向 ACTACGCCAAAGAAGTCACC	125
	反向 CACTGCTTCCCGAATGTCT	
β -MHC	正向 GCAAGAAGGACCAGACCCCA	102
	反向 CATTCCGAAGTCTTGGCAT	
GAPDH	正向 ACAGCAACAGGGTGGTGGAC	252
	反向 TTTGAGGGTGCAGCGAACTT	

1.3.6.4 Western blot 检测 将 100 mg 心肌组织放置于冰上研磨，研磨成匀浆后，加入 RIPA 细胞裂解液 1 mL 裂解 30 min，取上清液，得到上样蛋白。随后进行上样、电泳、转膜，转膜结束后用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h，洗膜 3 次后，加稀释好的一抗 TGF- β 1 (1 : 500)、ANF (1 : 1 000)、GAPDH (1 : 5 000) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜，二抗室温孵育 2 h，洗膜 3 次后，加入 ECL 发光液显影条带，利用 Image J 软件测量蛋白表达量。

1.3.6.5 ELISA 检测 按照相应 ELISA 试剂盒说明书检测大鼠血清 NT-ProBNP 和心肌组织 AKT1、CAT、ER 水平。

1.4 统计学分析 通过 SPSS 24.0 软件进行处理,数据以($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 表明差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 网络药理学结果

表 2 参麦注射液有效成分信息

中药	有效成分	编号	中药	有效成分	编号
麦冬	ophiopogonone B	S1	麦冬	stigmasterol	S15
麦冬	ophiopogonin A	S2	麦冬	ophiopogon B	S16
麦冬	uridine	S3	麦冬	ophiopogon A	S17
麦冬	6-aldehydo-isoophiopogonone B	S4	麦冬	orchinol	S18
麦冬	ophiopogonanone A	S5	红参	ginsenoside Rb2	S19
麦冬	methyl ophiopogonanone B	S6	红参	ginsenoside Rf	S20
麦冬	guanosine	S7	红参	ginsenoside Rb1	S21
麦冬	ophiopogonin C	S8	红参	ginsenoside Rg1	S22
麦冬	methyl ophiopogonanone A	S9	红参	ginsenoside Re	S23
麦冬	ophiopogonanone C	S10	红参	ginsenoside Rd	S24
麦冬	ophiopogonanone E	S11	红参	ginsenoside Rh2	S25
麦冬	<i>N</i> -trans-feruloyltyramine	S12	红参	ginsenoside Rc	S26
麦冬	ophiopogonin D	S13	红参	beta-elemene	S27
麦冬	ophiopogonin B	S14			

2.1.2 慢性心衰相关靶点筛选及构建“参麦注射液-慢性心衰”交集靶点 从 GeneCards 筛选得到靶点 1 108 个,OMIM 筛选得到 473 个,删除重复靶点后,最终得到疾病靶点基因共 1 524 个。利用 PERL 软件筛选,得到 49 个“参麦注射液-慢性心衰”交集靶点,并通过 VENNY 图进行结果可视化,见图 1。

2.1.3 “参麦注射液-有效成分-靶点”网络及核心有效成分筛选 Degree 值排名前五的分别为豆甾醇、 β -榄香烯、尿苷、鸟苷、甲基麦冬素 B,以上可能为参麦注射液治疗慢性心衰的核心有效成分,有效成分见表 3,“参麦注射液-有效成分-靶点”网络图见图 2。

2.1.1 参麦注射液有效成分筛选及靶点预测 筛选得到 27 个活性成分,其中麦冬 18 个,红参 9 个,各中药有效成分详见表 2。得到麦冬 305 个靶点,红参 106 个靶点,删除重复靶点后,最终得到 243 个非重复靶点。

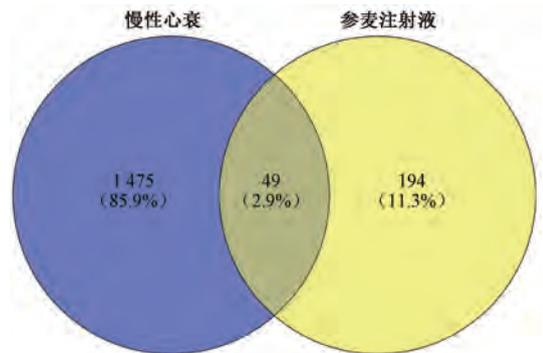


图 1 “参麦注射液-慢性心衰” Venny 图交集靶点

表 3 参麦注射液治疗慢性心衰核心有效成分表

中药	序号	有效成分	Degree	BetweennessCentrality
麦冬	S15	豆甾醇(stigmasterol)	22	0.548 122 69
红参	S27	β -榄香烯(beta-elemene)	19	0.072 712 85
麦冬	S3	尿苷(uridine)	10	0.254 891 59
麦冬	S7	鸟苷(guanosine)	10	0.254 891 59
麦冬	S6	甲基麦冬素 B(methyl ophiopogonanone B)	9	0.103 384 45

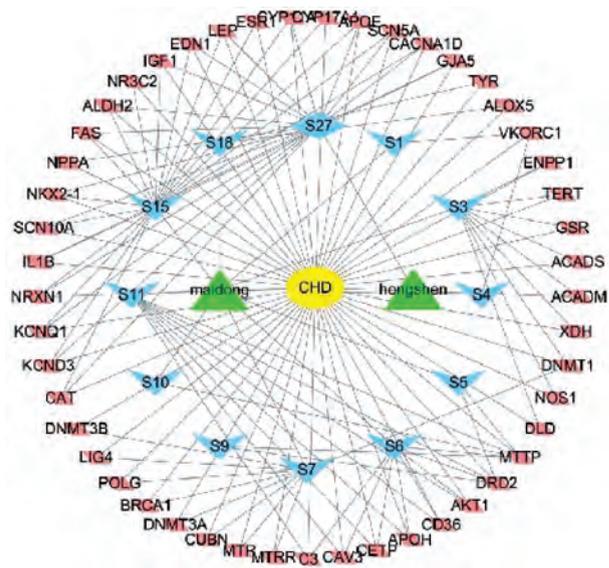
2.1.4 构建“蛋白质-蛋白质”相互作用网络图 PPI 结果显示,共涉及 49 个节点(number of nodes)、140 条边(number of edges),平均节点度(average node degree)为 5.71,平均局部聚类系数(avg. local clustering coefficient)为 0.527, PPI 图见图 3。采用 R X64 4.0.4 描绘前 30 个靶基因的柱状图,并对柱状图进行可视化,见图 4, Degree 排名前 6 位的为 AKT1、CAT、ESR1、APOE、IGF1、IL1B。

2.1.5 分子对接 分子对接结果提示,大部分对接结合能 <-5 kcal/mol,说明大部分化合物与靶点之间具有一定的结合力,其中 ESR1-鸟苷的结合力最高(-8.5 kcal/mol),

其次为 ESR1-麦冬二氢高异黄酮 B (-8.3 kcal/mol)、AKT1-豆甾醇 (-8.1 kcal/mol)、CAT-麦冬二氢高异黄酮 B (-7.8 kcal/mol) 和 ESR1-豆甾醇 (-7.4 kcal/mol),说明其为主要化合物及靶点。化合物与靶点蛋白分子对接结果见表 4,分子对接图见图 5。

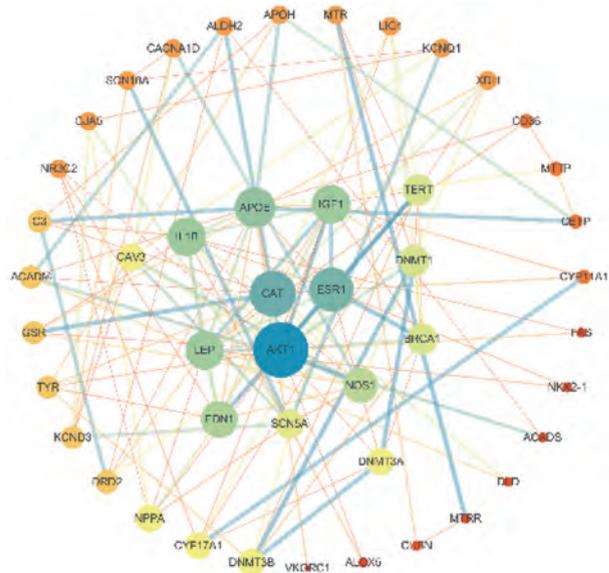
2.2 实验验证结果

2.2.1 参麦注射液对心衰大鼠 NT-ProBNP 水平的影响 如图 6 所示,与对照组比较,模型组大鼠血清 NT-ProBNP 水平升高 ($P<0.01$);与模型组比较,参麦注射液组大鼠血清 NT-ProBNP 水平降低 ($P<0.01$),说明参麦注射液能有



注：黄色椭圆代表疾病（慢性心衰），绿色三角形代表中药（麦冬、红参），蓝色倒三角形代表有效成分，红色四边形代表相关靶点。

图2 “参麦注射液-有效成分-靶点”网络图



注：Degree 值越高，圆圈颜色越蓝，面积越大；Degree 值越低，圆圈颜色越红，面积越小；Combined score 值越高，两点之间连线越粗，连线颜色越蓝；Combined score 值越低，两点之间连线越细，连线颜色越红。

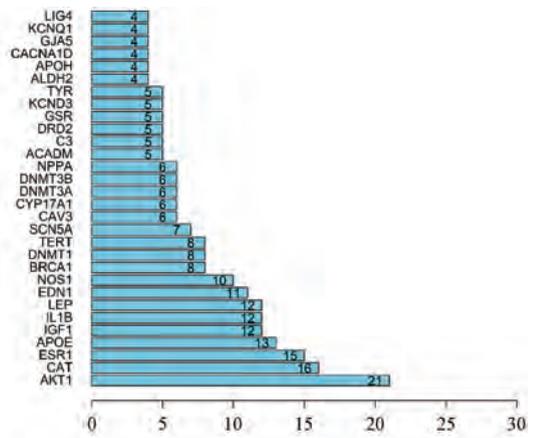
图3 参麦注射液与慢性心衰交集靶点的 PPI 网络图

效改善心衰程度。

2.2.2 参麦注射液对心衰大鼠心肌组织病理形态的影响

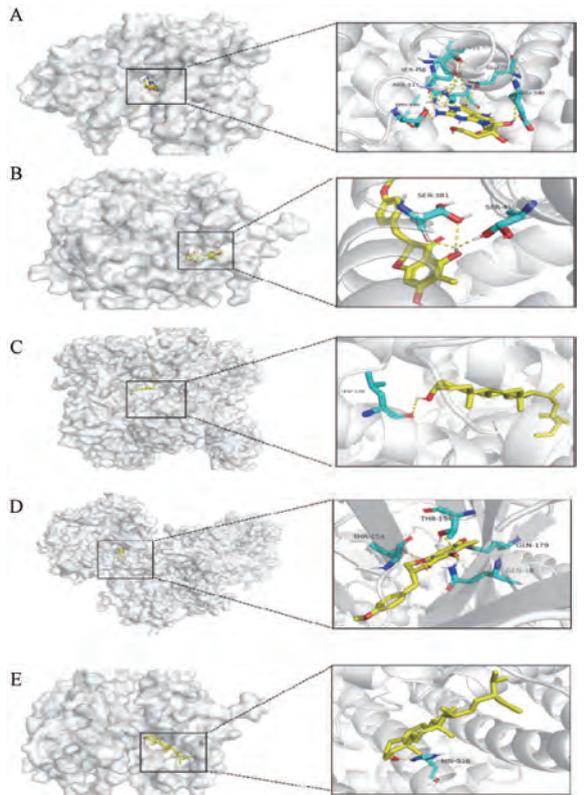
2.2.2.1 HE 染色 如图 7 所示，对照组大鼠心肌组织细胞核分布居中，核仁清晰，形态完整，细胞间隙较小，心肌纤维排列整齐；模型组大鼠心肌组织整体结构异常，见一定程度炎症细胞浸润；参麦注射液组大鼠心肌纤维排列较不规则，可见少量心肌纤维大小形态不一。

2.2.2.2 Masson 染色 如图 8~9 所示，对照组大鼠心肌纤维排列整齐，横纹较清楚，极少量胶原纤维沉积；模型组



注：横坐标代表 Degree 值，纵坐标代表基因名称。

图4 Degree 值前 30 位的核心靶点图



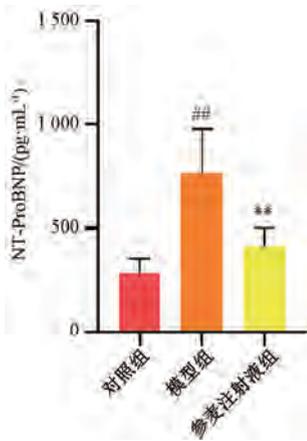
注：A 为 ESR1-鸟苷，B 为 ESR1-麦冬二氢高异黄酮 B，C 为 AKT1-豆甾醇，D 为 CAT-麦冬二氢高异黄酮 B，E 为 ESR1-豆甾醇。

图5 分子对接图

表4 有效成分与靶点蛋白结合能 (kcal/mol)

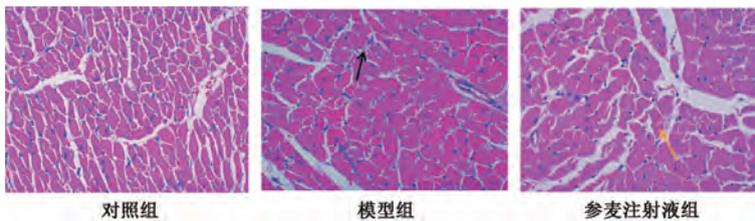
靶点	榄香烯	鸟苷	麦冬二氢高异黄酮 B	豆甾醇	尿苷
AKT1	-6.0	-7.3	-4.6	-8.1	-6.4
CAT	-5.7	-6.4	-7.8	-6.8	-6.3
ESR1	-6.9	-8.5	-8.3	-7.4	-7.2
APOE	-4.2	-4.0	-4.6	-5.5	-3.8
IGF1	-5.4	-5.1	-7.0	-5.9	-5.5
IL1B	-4.5	-6.0	-6.6	-6.2	-5.4

维排列整齐，横纹较清楚，极少量胶原纤维沉积；模型组



注：与对照组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P < 0.01$ 。

图6 各组大鼠 NT-proBNP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)



注：黑色箭头指示部分心肌纤维结构疏松，可见部分心肌纤维溶解空泡变性；紫色箭头指示部分心肌纤维细胞核中移；橙色箭头指示少量心肌纤维大小形态不一。

图7 各组大鼠心肌组织 HE 染色 ($\times 400$)

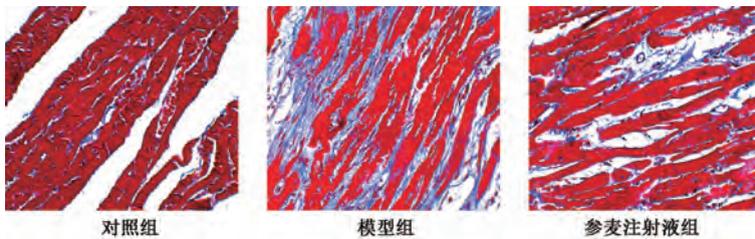
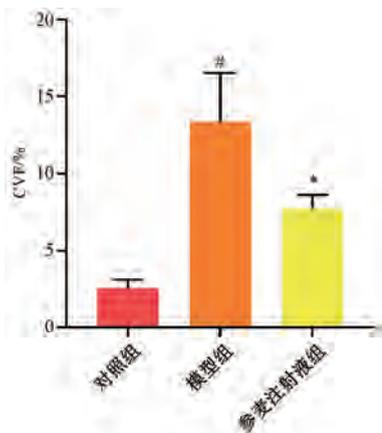


图8 各组大鼠心肌组织 Masson 染色 ($\times 400$)



注：与对照组比较，[#] $P < 0.05$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ 。

图9 各组大鼠心肌组织 CVF 值比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

2.2.5 参麦注射液对心衰大鼠心肌组织 ANF、TGF- $\beta 1$ 蛋白表达的影响 如图 12、表 5 所示，与对照组比较，模型

大鼠心肌纤维排列紊乱，间质可见纤维化改变，可见严重胶原沉积，CVF 值升高 ($P < 0.05$)；参麦注射液组大鼠心肌纤维排列局部紊乱，可观察到少量胶原沉积，CVF 值低于模型组 ($P < 0.05$)。

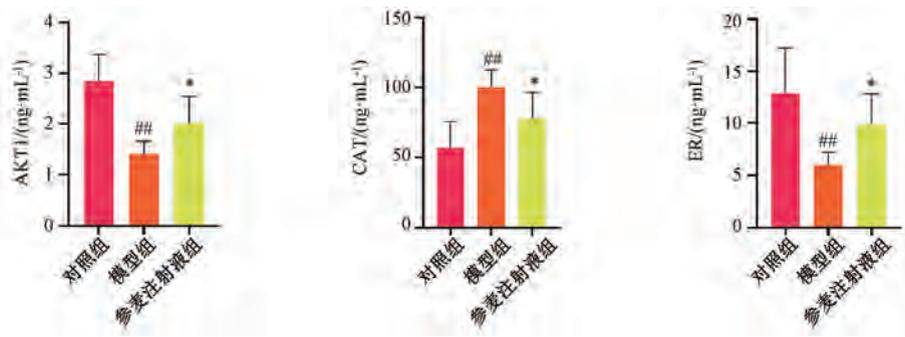
2.2.3 参麦注射液对心衰大鼠心肌组织 AKT1、CAT、ER 水平的影响 如图 10 所示，与对照组比较，模型组大鼠血清 AKT1、ER 水平降低 ($P < 0.01$)，CAT 水平升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，参麦注射液组大鼠血清 CAT 水平降低 ($P < 0.05$)，而 AKT1、ER 水平升高 ($P < 0.05$)。

2.2.4 参麦注射液对心衰大鼠心肌组织 ANP、 β -MHC、TGF- $\beta 1$ mRNA 表达的影响 如图 11 所示，与对照组比较，模型组大鼠心肌组织 ANP、 β -MHC、TGF- $\beta 1$ mRNA 表达均升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，参麦注射液组大鼠心肌组织 ANP、 β -MHC、TGF- $\beta 1$ mRNA 表达均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

组大鼠心肌组织 ANF、TGF- $\beta 1$ 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，参麦注射液组大鼠心肌组织 ANF、TGF- $\beta 1$ 蛋白表达均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

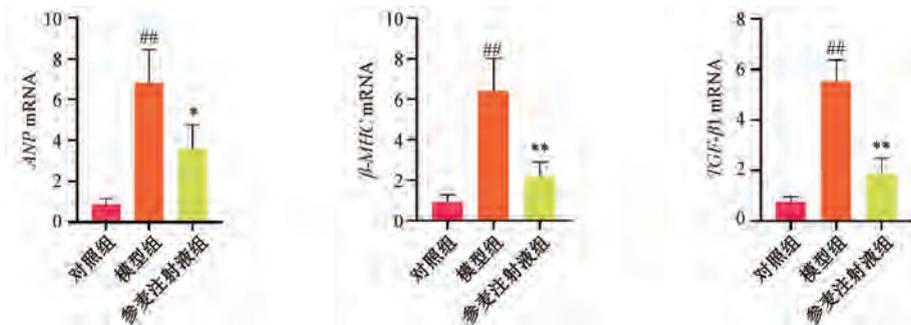
3 讨论

本研究通过网络药理学分析发现，参麦注射液治疗慢性心衰的核心靶点为 AKT1、CAT、ESR1、IL-1 β 、NOS1 等。AKT1 能激活内皮细胞一氧化氮合酶 (eNOS)，促进细胞存活^[13]，在血管平滑肌细胞 (VSMCs) 中 AKT1 主要通过抑制 FOXO3 α 和 GSK3 β 来防止凋亡^[14]。过氧化氢酶 (CAT) 是一类抗氧化物质^[15]，其作为氧化应激状态的指标之一^[16]，能够预测患者的心肌病理变化，临床上常作为慢性心衰临床观察研究的指标。一氧化氮和活性氧的平衡维持着机体的氧化应激状态^[17]，NO 由一氧化氮合酶 (NOS) 催化产生，可以通过激活蛋白激酶 C 和线粒体 ATP 敏感性钾离子通道，改善线粒体功能，抑制线粒体释放凋亡因子，在调控细胞凋亡的过程中起到了关键作用。雌激



注：与对照组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ 。

图 10 各组大鼠 AKT1、CAT 和 ER 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



注：与对照组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ 。

图 11 各组大鼠 ANP、 β -MHC、TGF- β 1 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

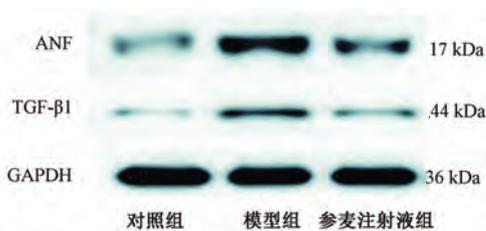


图 12 各组大鼠心肌组织 ANF、TGF- β 1 蛋白条带图

表 5 各组大鼠心肌组织 ANF、TGF- β 1 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	ANF	TGF- β 1
对照组	4.97 \pm 0.97	4.68 \pm 2.40
模型组	57.03 \pm 20.04 ^{##}	40.19 \pm 8.22 ^{##}
参麦注射液组	30.52 \pm 13.24 [*]	17.28 \pm 7.74 ^{**}

注：与对照组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ 。

素是一种类固醇激素，通过与细胞内的雌激素受体 (ER) 特异性结合，通过雌激素应答元件 (EREs) 调节基因转录，发挥生物学效应。雌激素受体分为雌激素受体 α (ESR1) 和雌激素受体 β (ESR2) 2 种亚型。目前研究发现，雌激素与雌激素受体结合后，能促进内皮细胞的合成、分泌 NO、阻断钙离子通道、增加血管中前列腺素合成、抑制血管平滑肌细胞对肾上腺素 α 的反应等，起到保护心血管的作用^[18-19]。Liu 等^[20]发现 17 β -estradiol 和 ESR1 能通过抑制 TNF- α 的表达，发挥抗心肌细胞凋亡的作用。

本研究动物实验结果显示，参麦注射液能有效降低大鼠 NT-proBNP 水平。血清 NT-proBNP 是 B 型脑钠肽经过分裂后，得到的 N 端片段，由于其半衰期较长，体外活性稳定，因此临床上常用于评估心衰的程度及预后情况，BNP 水平与心衰严重程度呈正相关^[21-22]。ELISA 结果表明参麦注射液通过抗氧化、调节细胞凋亡、增殖等方面起到保护心血管、改善心功能的作用。ANP 是一种多肽类激素，当肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS) 被激活时，心肌细胞会合成大量 ANP，发挥扩张心血管、利尿、抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS) 的作用^[23]。 β -MHC 可降低心肌短轴缩短率及心肌收缩力，引起心室重构的发生和发展^[24]。ANF 主要由心肌细胞合成及释放，实验证明 ANF 水平与心衰严重程度呈正相关^[25]。TGF- β 1/Smads 信号通路是参与心肌纤维化的重要通路，刺激 TGF- β 1 能诱导 Smad3 活化，进而促进成纤维细胞增殖和胶原合成，导致心肌纤维化^[26]。本实验结果表明，参麦注射液能有效降低 ANP、 β -MHC、TGF- β 1 mRNA 表达和 ANF、TGF β 1 蛋白表达，抑制心室重构，延缓心衰发展进程。

综上所述，本研究基于网络药理学方法构建“参麦注射液-有效成分-靶点”网络、PPI 网络预测参麦注射液的核心有效成分及作用靶点，并通过动物实验验证初步揭示了参麦注射液是通过“多维度-多靶点-多通路”治疗慢性心衰，阐释参麦注射液治疗慢性心衰的活性成分、靶点及作用机制，以期为临床用药提供参考依据。

参考文献:

- [1] Li Y, Wu H, Zhang B, *et al.* Efficacy and safety of Linggui Zhugan decoction in the treatment of chronic heart failure with Yang deficiency: A protocol for systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(20): e26012.
- [2] 金彩彩, 张晓伟. 抗心衰天然药物及活性化合物研究进展[J]. *药科学报*, 2020, 55(6): 1147-1156.
- [3] 李欣春, 梁 昊, 胡志希, 等. 高血压心衰大鼠证候本质及药物干预研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2018, 38(8): 853-857.
- [4] 刘志华, 孙晓波. 网络药理学: 中医药现代化的新机遇[J]. *药科学报*, 2012, 47(6): 696-703.
- [5] Liu Z, Guo F, Wang Y, *et al.* BATMAN-TCM: a Bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21146.
- [6] Safran M, Dalah I, Alexander J, *et al.* GeneCards Version 3: the human gene integrator [J]. *Database (Oxford)*, 2010, 2010: baq020.
- [7] Otasek D, Morris J H, Bouças J, *et al.* Cytoscape Automation: empowering workflow-based network analysis[J]. *Genome Biol*, 2019, 20(1): 185.
- [8] Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, *et al.* STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life[J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43: D447-D452.
- [9] Trott O, Olson A J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading[J]. *Comput Chem*, 2010, 31(2): 455-461.
- [10] Gaillard T. Evaluation of AutoDock and AutoDock Vina on the CASF-2013 Benchmark[J]. *Chem Inf Model*, 2018, 58(8): 1697-1706.
- [11] 李欣春, 梁 昊, 胡志希, 等. 高血压心衰大鼠证候本质及药物干预研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2018, 38(8): 853-857.
- [12] Klotz S, Hay I, Zhang G, *et al.* Development of heart failure in chronic hypertensive Dahl rats: focus on heart failure with preserved ejection fraction [J]. *Hypertension*, 2006, 47(5): 901-911.
- [13] Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, *et al.* Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation[J]. *Nature*, 1999, 399(6736): 601-605.
- [14] Allard D, Figg N, Bennett M R, *et al.* Akt regulates the survival of vascular smooth muscle cells *via* inhibition of FoxO3a and GSK3[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(28): 19739-19747.
- [15] 张志刚, 芮素芳, 赵新芳, 等. 滋阴助阳抗衰汤联合西药治疗阳虚水泛型慢性心力衰竭疗效及对患者氧化应激、生活质量的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(16): 164-170.
- [16] 许洪彬, 綦向军, 方彩珊, 等. 基于网络药理学探讨真武汤治疗慢性心力衰竭的作用机制[J]. *中国现代应用药学*, 2020, 37(15): 1801-1811.
- [17] He F, Xu B, Chen C. Methylophipogonanone A suppresses ischemia/reperfusion-induced myocardial apoptosis in mice *via* activating PI3K/Akt/eNOS signaling pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(6): 763-771.
- [18] Yu C P, Ho J Y, Huang Y T, *et al.* Estrogen inhibits renal cell carcinoma cell progression through estrogen receptor- β activation [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56667.
- [19] Pamidimukkala J, Xue B, Newton L G, *et al.* Estrogen receptor- α mediates estrogen facilitation of baroreflex heart rate responses in conscious mice[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 288(3): H1063-H1070.
- [20] Liu C J, Lo J F, Kuo C H, *et al.* Akt mediates 17 β -estradiol and/or estrogen receptor- α inhibition of LPS-induced tumor necrosis factor- α expression and myocardial cell apoptosis by suppressing the JNK1/2-NF κ B pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(9B): 3655-3667.
- [21] Pieske B, Tschöpe C, de Boer R A, *et al.* How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: the HFA-PEFF diagnostic algorithm; a consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. *Eur J Heart Fail*, 2020, 22(3): 391-412.
- [22] Khan M S, Kristensen S L, Vaduganathan M, *et al.* Natriuretic peptide plasma concentrations and risk of cardiovascular versus non-cardiovascular events in heart failure with reduced ejection fraction: Insights from the PARADIGM-HF and ATMOSPHERE trials[J]. *Am Heart J*, 2021, 237: 45-53.
- [23] 礼 海, 刘晓蕾, 王 懿, 等. 参草通脉方对慢性心力衰竭大鼠心肌 ANP、Ang II 及肾组织 cAMP、PKA 及 PKC 含量的影响[J]. *中国医药导报*, 2021, 18(34): 35-38.
- [24] 王 臻, 李洁白, 董 昕, 等. 补阳还五汤对舒张性心衰大鼠心肌 α -MHC、 β -MHC、Drp1 mRNA 及线粒体超微结构的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2018, 41(12): 1002-1006.
- [25] 闫杰松, 李志勇, 郭宏毅, 等. 不同剂量阿托伐他汀对冠心病患者心功能、血脂及血清 TNF- α 、ANF 水平的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(8): 1563-1566.
- [26] 赵 地, 赵 添, 赵 卓, 等. 生脉散对心衰大鼠心肌重塑及 TGF- β 1/Smad3 信号通路的影响[J]. *中国中医急症*, 2021, 30(12): 2099-2103.