

·数字中医药·

本文引用:姚昆鹏,刘起立,石静,蔡子杰,蔡虎志,陈新宇. 基于生物信息学及分子对接研究温阳振衰颗粒治疗慢性心力衰竭的潜在分子机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(9): 1365-1371.

基于生物信息学及分子对接研究温阳振衰颗粒治疗慢性心力衰竭的潜在分子机制

姚昆鹏¹,刘起立¹,石静¹,蔡子杰¹,蔡虎志²,陈新宇^{1,2*}

(1.湖南中医药大学,湖南长沙 410208;2.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙 410007)

[摘要] **目的** 利用生物信息学方法及分子对接技术预测温阳振衰颗粒治疗慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)的活性成分、作用靶点及相关生物学途径。**方法** 利用 TCMSP、BATMAN-TCM 数据库筛选温阳振衰颗粒的活性成分及药物潜在靶点,应用 GeneCards、PharmGkb、TTD、DrugBank 平台检索 CHF 的疾病靶点,采用 Cytoscape 3.7.0 软件构建“成分-靶点”网络图,运行 STRING 平台进行靶蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)分析,运用 R 语言数据包进行基因本体功能富集(gene ontology, GO)与京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomics, KEGG)富集分析,预测其作用机制,最后运用 AutoDockVina 和 PyMol 软件对温阳振衰颗粒中的关键活性成分与 PPI 中的核心蛋白进行分子对接验证。**结果** 共筛选温阳振衰颗粒有效成分 145 种,涉及靶标 238 个。“药物-成分-靶点”图中筛选出关键活性化合物 204 个,其干预的 PPI 网络主要涉及 PTSG2、ESR1、CALM3 等核心蛋白,GO 及 KEGG 富集分析结果显示温阳振衰颗粒干预慢性心力衰竭主要涉及氧化应激反应、Ca²⁺稳态调节、细胞内能量转运等多种生物学途径以及 MAPK 信号通路、p53 信号通路、PI3K-Akt 信号通路等相关通路。分子对接验证提示槲皮素与核心靶蛋白 JUN 结合情况最佳,JUN 是温阳振衰颗粒中关键化学成分结合活性最优的靶蛋白。**结论** 温阳振衰颗粒中槲皮素、豆甾醇、山柰酚等多种关键有效成分可能作用于 JUN、MAPK3、STAT3 等多种核心靶蛋白,发挥干预 CHF 的药理作用。

[关键词] 温阳振衰颗粒;慢性心力衰竭;生物信息学;分子对接;分子机制

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.09.010

Mechanism of Wenyang Zhenshuai Granule in Treatment of Chronic Heart Failure Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

YAO Kunpeng¹, LIU Qili¹, SHI Jing¹, CAI Zijie¹, CAI Huzhi², CHEN Xinyu^{1,2*}

(1.Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

[Abstract] **Objective** Bioinformatics method and molecular docking technology were used to predict the active components, targets and related biological pathways of Wenyang Zhenshuai Granule in the treatment of chronic heart failure (CHF). **Methods** TCMSP and BATMAN-TCM database were used to screen the active components and potential drug targets of Wenyang Zhenshuai Granule. GeneCards, PharmGkb, TTD and DrugBank platforms were used to search the disease targets

[收稿日期] 2021-05-17

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81704061,81173213);湖南省科学技术厅重点领域研发计划(2019SK2321);湖南省科技人才托举工程项目(2020TJ-N01);湖南省发改委创新引导专项(湘发改投资 2019-412 号);湖南省中医药管理局心病“四时调阳”重点研究室建设专项;湖南省中医学“双一流”学科建设项目。

[作者简介] 姚昆鹏,男,在读硕士研究生,主要从事中医药防治心血管疾病工作。

[通信作者] * 陈新宇,男,教授,主任医师,博士研究生导师,E-mail:chenxinyuchen@163.com。

of CHF. Cytoscape 3.7.0 software was used to construct the "component-target" network diagram. STRING platform was used to analyze the protein-protein interaction (PPI). R language data package was used to enrich gene ontology (GO) function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) to predict its mechanism. AutoDockVina and PyMol software were used to verify the molecular docking of key active components in Wenyang Zhenshuai Granule and core proteins in PPI.

Results A total of 145 effective components of Wenyang Zhenshuai Granule were screened, involving 238 targets. A total of 204 key active compounds were screened out from the "drug-component-target" diagram. The PPI network intervened mainly involves core proteins such as PTSG2, ESR1 and CALM3. GO and KEGG enrichment analysis results showed that the intervention of Wenyang Zhenshuai Granule on CHF mainly involved multiple biological pathways such as oxidative stress response, Ca^{2+} homeostasis regulation, intracellular energy transfer, and MAPK signaling pathway, P53 signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway. Molecular docking verification showed that quercetin had the best binding with the core target protein JUN, and JUN was the target protein with the best binding activity for the key chemical components in Wenyang Zhenshuai Granule.

Conclusion Quercetin, stigmasterol, kaempferol and other key active ingredients in Wenyang Zhenshuai Granule may act on JUN, MAPK3, STAT3 and other core target proteins, and play a pharmacological role in the intervention of CHF.

[**Keywords**] Wenyang Zhenshuai Granule; chronic heart failure; bioinformatics; molecular docking; molecular mechanism

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是各种心脏结构或功能性疾病导致心室充盈和(或)射血功能受损而引起的一组综合征^[1]。据中国心血管健康与疾病报告编写组推算,截至 2021 年,我国 35~74 岁成年人中约有 890 万心衰患者,且心衰的患病率有逐年上升的趋势^[2]。由于慢性心力衰竭的患病率与死亡率较高,业已成为严重危害人民健康的一类心血管疾病。目前 CHF 的治疗以药物治疗(如利尿剂、ACEI/ARB 类药物、 β 受体阻滞剂等)及手术治疗(如主动脉内球囊反搏术、心脏移植术、起搏器植入术等)为主要手段,药物治疗仍是 CHF 治疗的重点和难点^[3]。中医药具有疗效高、副作用低的特点,在 CHF 的治疗中具有广阔前景^[4]。

温阳振衰颗粒是由湖南中医药大学第一附属医院陈新宇教授研制的院内制剂。前期研究^[5-6]表明,温阳振衰颗粒可明显缓解患者症状,改善 CHF 患者的心功能。生物信息学是利用系统生物学与计算机技术进行研究的新方法。其具备从庞大、复杂的生物信息数据中挖掘出有价值的医学信息的特点,对于新药研发、揭示复杂的生物学过程和病理状态具有一定的意义^[7]。本文利用生物信息学方法及分子对接技术,探讨温阳振衰颗粒治疗 CHF 的作用机制,为后续的药理学及基础研究提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 有效成分筛选及作用靶标预测

温阳振衰颗粒为湖南中医药大学第一附属医院

院内制剂,由 7 味中药组成:制附子、干姜、茯苓、红参、麦冬、五味子、甘草。利用中药系统药理学平台 TCMSp 数据库(<https://tcmspw.com/tcmsp.php>)检索上述 6 味中药的有效成分及相应靶点,以口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 作为筛选条件;BATMAN-TCM 在线分析平台(<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/>),设定预测候选目标(包括已知目标)得分不小于每个成分得分分界的 20%,Adjust P-value 设为 0.05,获取麦冬的活性成分和相应潜在靶点。使用 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)获取靶点官方基因名。

1.2 疾病靶点的收集

使用“chronic heart failure”作为关键词,检索 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、OMIM(<https://omim.org/>)、PharmGkb(<https://www.pharmgkb.org/>)、TTD(<http://db.idrblab.net/ttd/>)、DrugBank(<https://go.drugbank.com/>)疾病数据库,获取 CHF 的疾病靶点。将在 GeneCards 中获得的疾病靶点按照相关性评分(relevance score) ≥ 1 进行过滤。

1.3 药物-疾病核心作用基因筛选

为明确温阳振衰颗粒主要活性成分的预测靶点与 CHF 疾病靶点的相互作用,通过 Perl 软件,将温阳振衰颗粒的预测靶点与 CHF 的相关靶点取交集,获取药物-疾病关键作用基因,得到药物靶点与疾病差异基因的交集。将药物靶点-疾病交集汇总成文件导入 Cytoscape 3.8.0 软件,运用其 Network Analyzer 功能,构建药物-成分-靶点图。

1.4 靶蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建与拓扑分析

将获得的交集靶基因导入 STRING 平台(<https://string-db.org/>),物种设定为“Homo sapiens”, combined score(最低互动得分)设置为 0.9,并去除游离节点,得到蛋白互作网络图。由此得到温阳振衰颗粒对治疗 CHF 中排名前列的核心作用基因。利用 Cytoscape 3.8.0 软件,下载 CytoNCA,进一步根据其网络中心度进行拓扑分析。

1.5 基因本体功能富集(gene ontology, GO)与京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomics, KEGG)富集分析

利用 R 语言 DOSE、clusterProfiler、enrichplot、pathview 等相关程序包对交集基因进行基因本体功能富集与京都基因与基因组百科全书富集分析,GO 功能富集分析描述了基因产物可能形式的分子功能,参与的生物过程和所处的细胞环境。KEGG 通路富集分析是指通过将已知的基因组注释信息进行分类,得出最显著的生物学过程。由此可以预测温阳振衰颗粒活性成分治疗 CHF 的潜在作用机制。选择显著富集的生物学过程(biological process, BP)、细胞成分(cell component, CC)、分子功能(molecular function, MF)前 10 项绘制柱状图;选择显著富集的前 30 条通路绘制气泡图。

1.6 分子对接

选择药物-成分-靶点中排名前 3 的活性化合物作为小分子配体:槲皮素(quercetin)、豆甾醇(stigmasterol)、山柰酚(kaempferol)。与 PPI 网络拓扑分析后所获取的 19 个关键靶点的前 3 个靶点蛋白,即 JUN、MAPK3、STAT3 进行分子对接。在 PubChem CID 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载有效成分的 2D 结构的 SDF 文件,利用 PDB 数据库(<http://www1.rcsb.org/>)下载核心基因相关蛋白的 2D 结构,运用 PyMOL 软件移除靶蛋白中的配体和非蛋白分子(如水分子),再保存为 pdb 格式文件。再使用 AutoDock Tools1.5.6 软件将晶体结构进行加氢处理,并且对蛋白质进行电荷计算,所有配体和受体文件均保存为 pdb 格式。使用 Autodock Vina 软件进行分子对接,并计算最低结合能,使用 PyMol 软件生成分子对接模型图。

2 结果

2.1 有效成分筛选及作用靶标预测

在 TCMSP 数据库中以 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$ 为

条件进行温阳振衰颗粒的有效成分筛选,共检索到化合物 145 种,其中附子 21 种、干姜 5 种、茯苓 15 种、红参 4 种、五味子 8 种、甘草 92 种。使用 BATMAN-TCM 在线分析平台进行补充,获取麦冬化合物 18 种。利用 Uniprot 数据库对有效成分对应的靶点进行标准化转换,选择“Reviewed”“Human”,下载标准靶点名。通过匹配并删除重复值,最终获得靶点 238 个。

2.2 疾病靶点的收集

检索 GeneCards、PharmGkb、TTD、DrugBank 疾病数据库,最终得到 CHF 靶点个数分别为 10 151、290、16、13、13 个,筛选并去除重复值后得到靶点 10 186 个。药物靶点与疾病靶点交集为 204 个。见图 1。

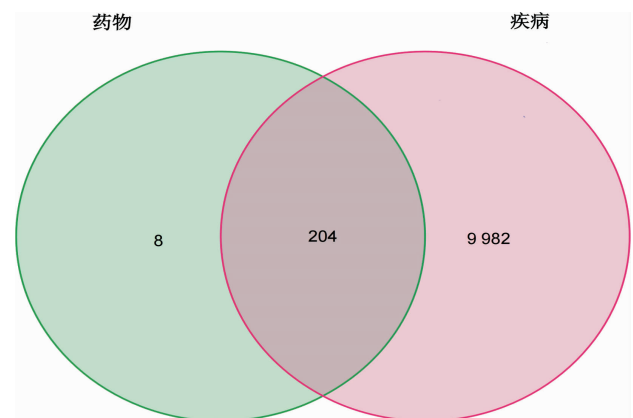


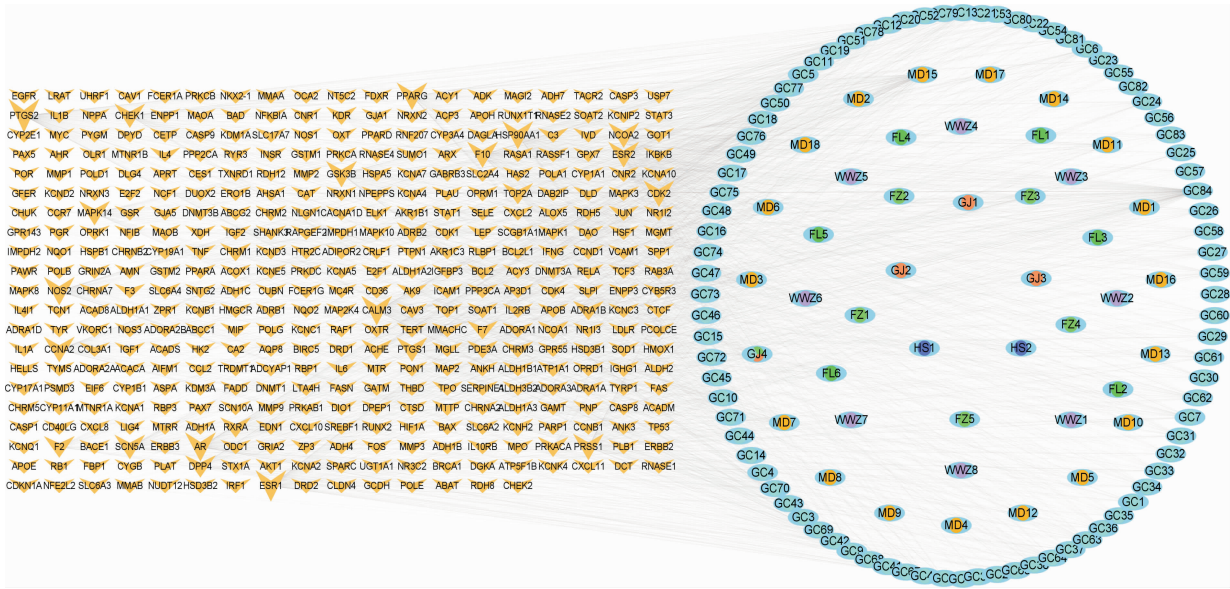
图 1 药物靶点和疾病靶点分布图

2.3 筛选药物-疾病核心作用基因

将温阳振衰颗粒的预测靶点与 CHF 的相关靶点取交集,再导入 Cytoscape 3.8.0 软件,运用其内置的 Network Analyzer 功能,构建“药物-成分-靶点”网络图。根据连接度(degree)调节网络中节点(靶基因)的面积大小、颜色深浅和排序;最低互动得分的大小则通过连线的粗细表示,最终得到“药物-成分-靶点”网络图(图 2)。图中共计 522 个节点,2 005 条边。由图 2 可知,甘草、麦冬的有效成分中对应最多的相关靶基因,有效成分槲皮素、豆甾醇、山柰酚分别与 130、97、54 个靶点相关。其中,PTSG2 (92 个)是有效成分对应靶点数量最多的基因,其次是 ESR1 (80 个)和 CALM3 (71 个)。

2.4 PPI 网络构建与拓扑分析

将筛选的温阳振衰颗粒与 CHF 的 204 个共同靶点提交至 STRING 平台,物种先定位“Homo sapiens”,再将最低互动得分设置为 0.9,去除游离节点后,最终得到温阳振衰颗粒干预 CHF 的 PPI 网络。将 STRING 数据库生成的文件通过 Cytoscape 3.8.0



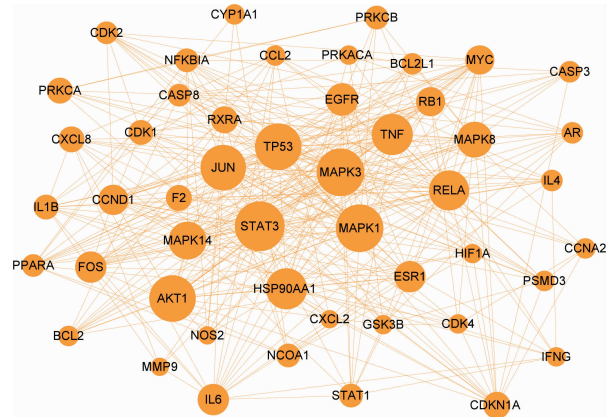
注:左侧黄色代表作用靶点;右侧圆圈代表药物有效成分,蓝色代表甘草有效成分,红色代表干姜有效成分,紫蓝色代表红参有效成分,橙色代表麦冬有效成分,紫色代表五味子有效成分,深绿色代表茯苓有效成分,浅绿色代表附子有效成分

图 2 温阳振衰颗粒干预 CHF 的药物-成分-靶点图

可视化(图 3)。该网络中涉及 174 个节点,801 条边。通过 Cytoscape 3.8.0 的 CytoNCA 进行拓扑分析,选择相关指标:介度中心性 (betweenness centrality, BC)、接近中心性(closeness centrality, CC)、借助度中心性 (degree centrality, DC)、特征向量中心性 (eigenvector centrality, EC)、局部边连通性(local average connectivity, LAC)和网络中心性(network centrality, NC),对基因相关指标进行筛选,选择大于所有指标中位数的基因进行后续分析,经过 2 次筛选,最终获得核心基因 19 个,按照 DC 进行排序,前 10 位的核心基因分别是 JUN、MAPK3、STAT3、MAPK1、FOS、MAPK1、MYC、AKT1、ESR1。见图 4。

2.5 GO 与 KEGG 富集分析

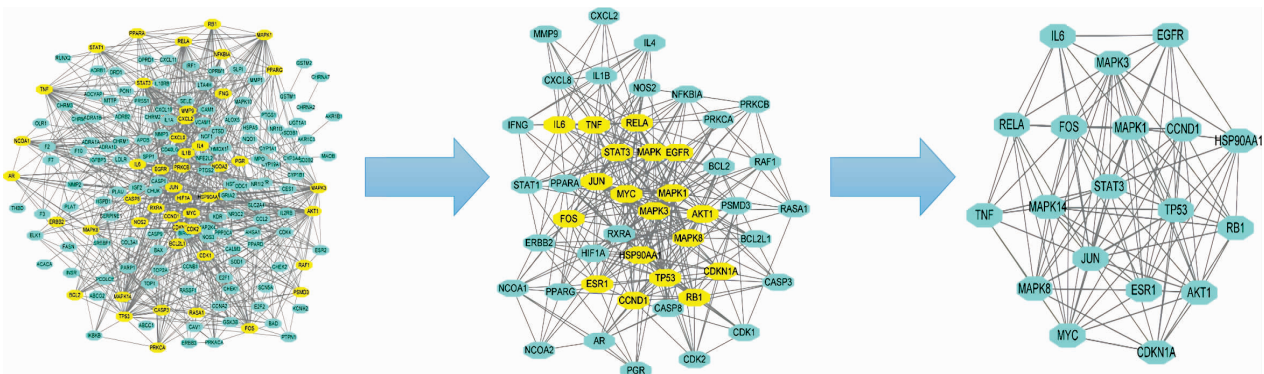
利用 R 语言 Dose、ClusterProfiler、enrichplot、pathview、ggplot2 等相关程序,将温阳振衰颗粒 204 个潜在靶点进行基因富集分析,得到 GO 富集条目



注:节点表示靶基因,边表示靶基因间的相互作用关系

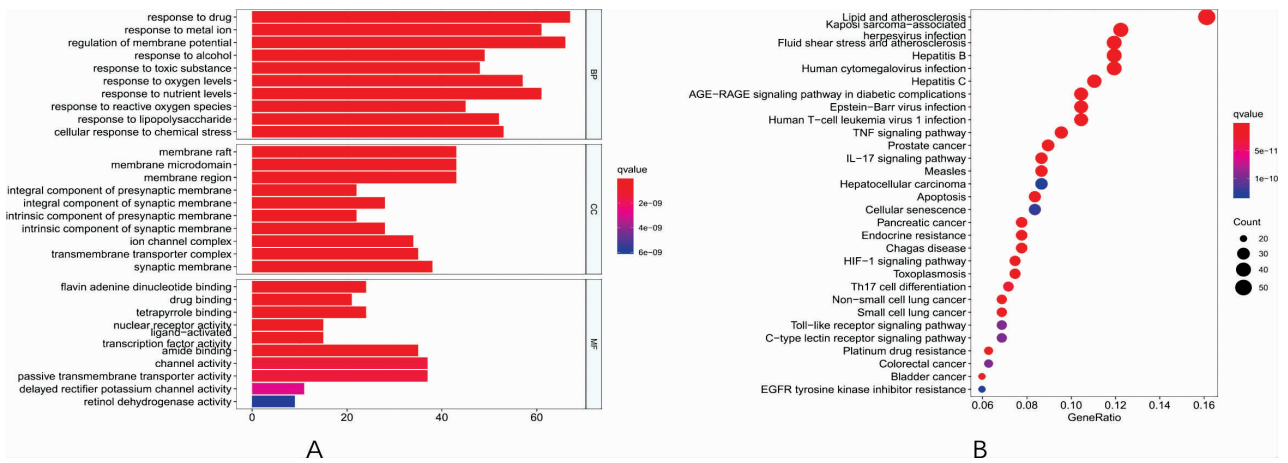
图 3 温阳振衰颗粒治疗 CHF 主要靶点的 PPI 网络图

2 777 个,其中包括 2 445 个生物过程、94 种细胞成分和 238 种分子功能。KEGG 通路共计 183 条。各选取 BP、CC、MF 排名前 10 的 GO 条目绘制柱状图,取 KEGG 前 30 的条目绘制气泡图(图 5)。通过查阅



注:黄色代表符合筛选条件的基因,绿色代表筛选后得到的基因

图 4 交集基因拓扑分析



注：A 为 GO 富集分析；B 为 KEGG 富集分析
 图 5 温阳振衰颗粒主要潜在靶点的富集分析

文献,剔除与慢性心衰完全无关的条目,在 GO 富集中发现氧化应激反应、Ca²⁺稳态调节、细胞内能量转运、急慢性炎症反应、线粒体膜通透性调节、儿茶酚胺释放、心肌细胞表型改变等生物过程均在温阳振衰颗粒治疗 CHF 中发挥重要作用。KEGG 富集分析显示,与 CHF 相关的通路主要有 MAPK 信号通路、p53 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、NF-κB 信号通路、cAMP 信号通路、mTOR 信号通路等。见图 6。

2.6 分子对接

选取“药物-成分-靶点”网络中与靶点互动关

系最为密切的前 3 个主要活性化合物作为小分子配体:槲皮素、豆甾醇、山柰酚。与 PPI 网络拓扑分析后所获取的 19 个关键靶点的前 3 个靶点蛋白,即 JUN、MAPK3、STAT3 进行分子对接。使用 Autodock Vina 软件进行分子对接,并计算各个蛋白与小分子配体的最低结合能。

使用 PyMol 软件进行可视化分子对接模式图,结果显示,各化合物与蛋白对接的结合能均小于 -7.0 kcal·mol⁻¹,说明各化合物与蛋白能结合较紧密。与 JUN 和 MAPK3 亲和力最高的均为槲皮素,

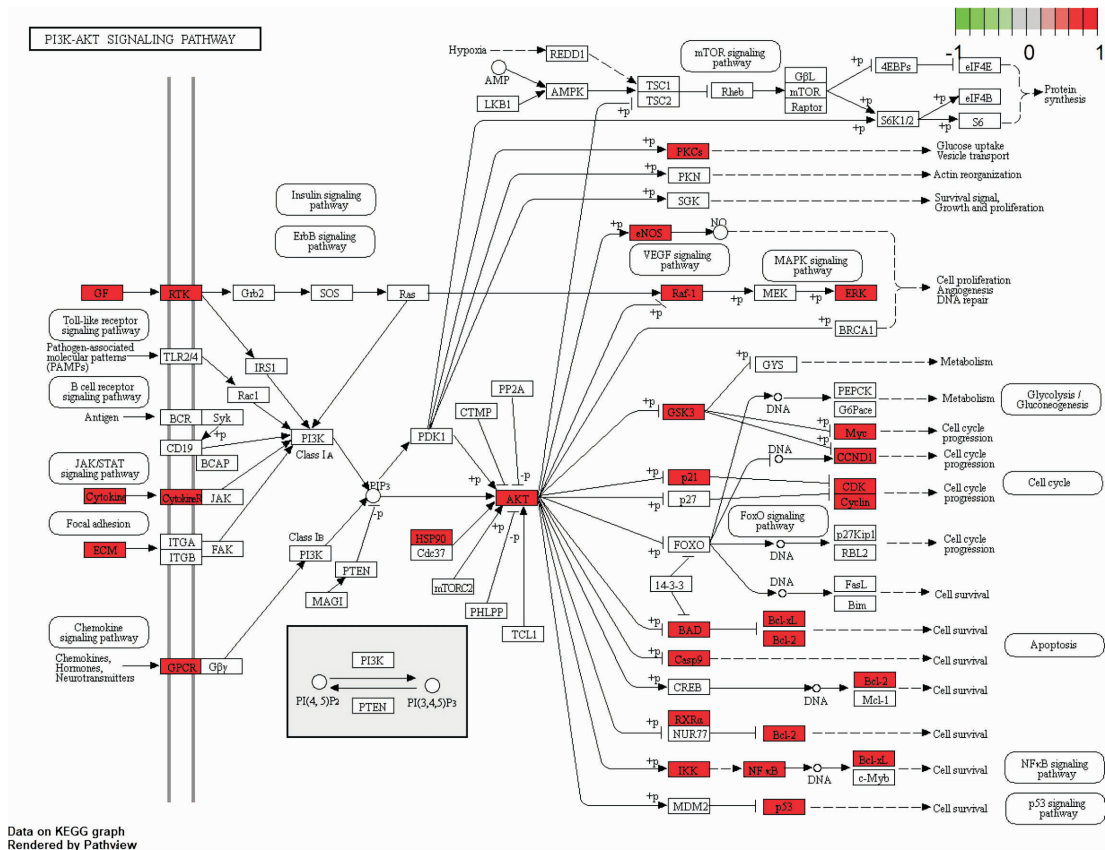


图 6 PI3K-Akt 信号通路与潜在靶点/通路调控网络图

与 STAT3 亲和力最高的为山柰酚和槲皮素。见表 1 和图 7。

表 1 主要有效成分与靶蛋白结合能

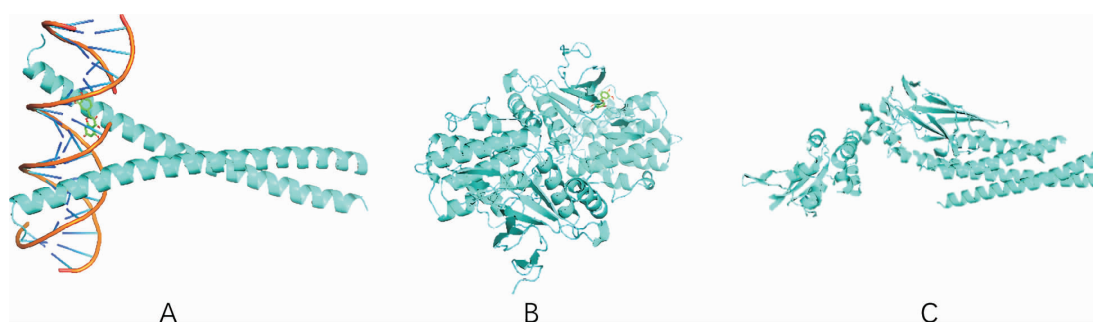
活性成分	CAS 编号	最低结合能/(kcal·mol ⁻¹)		
		JUN	MAPK3	STAT3
槲皮素 quercetin	117-39-5	-9.3	-9.0	-7.4
豆甾醇 stigmasterol	83-48-7	-7.6	-7.3	-7.2
山柰酚 kaempferol	520-18-3	-9.0	-8.6	-7.4

3 讨论

CHF 并非中医传统病名,中医根据 CHF 的发病症状,将其归结为“心水”“水肿”“胸痹”“心悸”等病名^[8]。中医学认为,CHF 的病性多属本虚标实,本虚为阳气亏虚为主,标实则以水饮、痰浊、血瘀为主^[9]。对于 CHF 的治疗,中医学多以温阳利水法、益气健脾法、益气活血法、益气养阴法、清热解毒法拟方遣药^[10]。温阳振衰颗粒为湖南中医药大学第一附属医院陈新宇教授研发的中药成方制剂,药物为制附子、干姜、茯苓、红参、麦冬、五味子、甘草,秉承温阳利水、益气养阴之法,由仲景名方参附汤合生脉散化裁而来。经临床研究^[5-6]表明,温阳振衰颗粒可显著减轻患者临床症状,提高 CHF 患者生活质量,对于 CHF 之阳虚水泛证具有显著作用。方中附子温通阳,暖命门,温坎水,破阴凝,为君药。现代药理学研究表明,附子保护心肌的作用可能是通过调节心肌细胞能量代谢及钙稳态来实现的^[11]。红参性微温、味甘,为人参蒸制后干燥者,具有大补元气、复脉固脱之功,扶阳先益气,取“无形之气急当速固”之意。红参中所含人参皂苷成分激活脂肪细胞系中 STAT3/PPAR γ /CEBPa 信号通路,在体外发挥促进能量代谢的功效^[12]。干姜与附子合用,回阳立效,具有显著的抗心衰作用,其机制可能与升高心肌组织 cAMP/PKA 含量有关^[13]。茯苓健脾渗湿,补后天脾土,其与干姜配伍,则土得火生,中焦阳气得以上济胸阳。研究^[14]

表明,茯苓具有对抗大鼠心肌损伤的作用,其机制与激活 MAPK 信号通路,调节下游 ERK1/2、JNK、p38 蛋白水平相关。麦冬养阴生津,配伍五味子,一滋一敛,敛阴而固阳,仿“生脉散”而立,恰合景岳之“阳得阴助则生化无穷”。药理研究^[15]表明,麦冬可下调 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 等多种炎症蛋白,降低慢性心衰大鼠的炎症刺激及氧化应激水平。五味子素具有促进心肌组织的恢复的功效,减轻脂多糖诱导的心肌细胞损伤,其机制是通过下调 Smad3,从而调节下游的 JNK 及 NF- κ B 蛋白,促进心肌细胞的修复^[16]。结合课题组前期研究,秉承于“阳主阴从”理论化裁的温阳振衰颗粒,其作用可能是通过介导 MAPK、p53、PI3K-Akt、NF- κ B、cAMP 等多条信号通路,调节下游 JUN、MAPK3、STAT3、MAPK1、FOS、MAPK1 及 IL-6 等多种蛋白,从而减轻炎症刺激,降低心肌氧耗,改善能量代谢,进一步抑制心肌细胞凋亡,延缓心室重塑。

温阳振衰颗粒是湖南中医药大学第一附属医院院内制剂,其疗效与安全性已得到实践证明,然而其具体作用机制并不完全明晰。本研究采用生物信息学分析及分子对接技术,对温阳振衰颗粒干预 CHF 进行分子层面的探讨。在 CHF 的病理生理学过程中,心肌细胞凋亡、心脏结构改变、心肌能量代谢障碍、心肌兴奋-收缩耦联障碍等被认为是主要的病理机制^[17-18],目前对于 CHF 的研究主要集中于细胞表型改变、能量代谢障碍等方面。结合相关文献文献,笔者发现,本研究所得出的关键靶点、通路与 CHF 的发生发展有密切联系。实验表明,在 CHF 大鼠模型中,通过激活 TGF- β 信号通路,上调 TGF- β 1/Smad2/3 信号转导,c-JUN 的表达随之增加,进一步诱导了 LOX 的表达,从而加剧大鼠心肌纤维化^[19]。炎症刺激、氧化应激等作用,使得心肌细胞的自噬水平增高,并通过代偿维持其细胞活力。然而,过度自噬引起心肌细胞数量的绝对不足,加重心肌细胞的



注:A为 JUN 与槲皮素结合模式图;B为 MAPK3 与槲皮素结合模式图;C为 STAT3 与山柰酚结合模式图

图 7 温阳振衰颗粒主要化合物与关键靶点分子对接模式图

病理性代偿,最终加速 CHF 的病程^[20]。在慢性心衰大鼠模型中对 ERK1/2 含量进行检测,发现 ERK1/2 水平与体内炎症水平及心肌细胞的自噬程度呈正相关,这提示 ERK1/2 可能与 CHF 的进程呈正相关^[21]。进一步研究^[22]表明,肾素-血管紧张素-醛固酮(renin angiotensin aldosterone system, RAAS)系统的激活与 MAPK 信号通路的激活呈正相关。接受手术干预后,MAPK 通路受到抑制,NF- κ B p65/IL-1 β /TNF- α 蛋白表达降低,提示 MAPK/NF- κ B/PI3K-Akt 信号通路共同参与 RAAS 系统的激活,介导 CHF 的神经-体液调节^[23]。此外,一项对大鼠心肌纤维化的研究^[24]发现,当 PI3K-Akt 通路激活时,mTOR 的磷酸化水平相应增高,心肌纤维化加剧,心脏进一步功能受损。而当 PI3K-Akt 抑制剂干预时,mTOR 磷酸化水平随之降低,心肌纤维化水平得到逆转。

综上所述,温阳振衰颗粒主要成分及关键靶点可能通过激活/抑制 MAPK、P53、PI3K-Akt、NF- κ B、cAMP、mTOR 等信号通路,调节下游 JUN、MAPK3、STAT3、MAPK1、FOS、MAPK1、MYC、AKT1、ESR1、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、Bax、Bcl-2、Caspase 3 等蛋白表达,从而发挥抗 RAAS 激活、抗心肌细胞凋亡与自噬、抗心肌纤维化等作用,最终达到干预 CHF 的病理过程,以期温阳振衰颗粒的进一步实验及临床研究提供理论基础。此外,本研究具有一定局限性,如本研究中涉及的成分与靶点可能局限于目前研究的热点,数据库收录数量尚为不足,且涉及的相关机制本身还有待进一步进行研究验证。

参考文献

- [1] BLOOM M W, GREENBERG B, JAARSMA T, et al. Heart failure with reduced ejection fraction[J]. *Nature Reviews Disease Primers*, 2017, 3(1): 1-19.
- [2] 中国心血管健康与疾病报告编写组.中国心血管健康与疾病报告 2020 概要[J].*中国循环杂志*,2021,36(6):521-545.
- [3] 陈佳斌,秦佳枫,赵 钢.慢性心力衰竭的中西医发病机制及其治疗进展[J].*中西医结合心脑血管病杂志*,2019,17(3):378-380.
- [4] TANG W H W, HUANG Y M. Cardioprotective modulation in heart failure[J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2013, 62(12): 1073-1074.
- [5] 陈新宇,陆 虎,蔡虎志,等.温阳振衰颗粒对慢性心力衰竭患者临床疗效及血清 MMP-2、MMP-9 的影响[J].*湖南中医杂志*,2015,31(4):1-4.
- [6] 尹玲珑,陈新宇,蔡虎志,等.温阳振衰颗粒对慢性心力衰竭阳虚水泛证患者临床疗效及血管内皮功能的影响[J].*湖南中医药大学学报*,2014,34(4):20-23.
- [7] 杨玉先,张 帆,崔庆华,等.生物信息学在动脉粥样硬化中的应用进展[J].*中国动脉硬化杂志*,2020,28(3):185-192.
- [8] 罗良涛,付帮泽,郭淑贞,等.中医古籍中的“心衰”及其与心力衰竭的关系[J].*中医杂志*,2014,55(6):532-534.
- [9] 卢健棋,李苏依,卢俊桑,等.中医药治疗慢性心力衰竭的研究进展[J].*中华中医药学刊*,2020,38(12):145-148.
- [10] 朱 敏,李思宁.中医药治疗慢性心力衰竭的研究进展[J].*中成药*, 2018,40(8):1804-1807.
- [11] 蒲科婷,王志琪,李耀伟,等.基于心肌细胞能量代谢及钙稳态探讨附子作用机制[J].*湖南中医药大学学报*,2020,40(10):1293-1297.
- [12] YESMIN SIMU S, AHN S, CASTRO-ACEITUNO V, et al. Ginsenoside Rg5: Rk1 exerts an anti-obesity effect on 3T3-L1 cell line by the downregulation of PPAR γ and CEBP α [J]. *Iranian Journal of Biotechnology*, 2017, 15(4): 252-259.
- [13] 梁 涛,耿 姗,周玲玲,等.附子及附子干姜配伍对心衰大鼠血流动力学和 cAMP-PKA 信号转导通路的影响[J].*中国老年学杂志*,2015,35(19):5392-5394.
- [14] 刘 锴,黄 芳,韩林涛,等.茯苓-桂枝药对在 MAPK 信号通路下对急性心肌缺血大鼠的作用[J].*时珍国医国药*,2015,26(6):1299-1302.
- [15] WU Z W, ZHAO X K, MIYAMOTO A, et al. Effects of steroidal saponins extract from *Ophiopogon japonicus* root ameliorates doxorubicin-induced chronic heart failure by inhibiting oxidative stress and inflammatory response[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2019, 57(1): 176-183.
- [16] ZHANG X H, ZHAO Y Y, BAI D, et al. Schizandrin protects H9c2 cells against lipopolysaccharide-induced injury by downregulating Smad3[J]. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2019, 33(5): e22301.
- [17] 韩额尔德木图,马月宏,王海燕,等.慢性心衰的病理生理及发病机制研究进展[J].*中西医结合心脑血管病杂志*,2016,14(12):1349-1352.
- [18] 国家卫生纪委合理用药专家委员会,中国药师协会.心力衰竭合理用药指南(第 2 版)[J].*中国医学前沿杂志(电子版)*,2019,11(7): 1-78.
- [19] LU M, QIN Q Z, YAO J G, et al. Induction of LOX by TGF- β 1/Smad/AP-1 signaling aggravates rat myocardial fibrosis and heart failure[J]. *IUBMB Life*, 2019, 71(11): 1729-1739.
- [20] 张东霞,刘凤岐,张瑞英.自噬与心力衰竭的治疗[J].*心血管病学进展*,2017,38(6):696-699.
- [21] 柴松波,王振涛,张淑娟,等.心衰康抑制慢性心衰大鼠心肌自噬及 MAPK/ERK1/2 信号通路[J].*中国病理生理杂志*,2019,35(6): 981-987.
- [22] ALANAZI A Z, CLARK M A. Angiotensin III induces p38 Mitogen-activated protein kinase leading to proliferation of vascular smooth muscle cells[J]. *Pharmacological Reports*, 2020, 72(1): 246-253.
- [23] WEI S G, YU Y, WEISS R M, et al. Endoplasmic Reticulum stress increases brain MAPK signaling, inflammation and renin-angiotensin system activity and sympathetic nerve activity in heart failure[J]. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 2016, 311(4): H871-H880.
- [24] YANG W B, WU Z J, YANG K, et al. BMI1 promotes cardiac fibrosis in ischemia-induced heart failure via the PTEN-PI3K/Akt-mTOR signaling pathway[J]. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 2019, 316(1): H61-H69.