

网络药理学和实验验证芪参胶囊治疗慢性稳定型心绞痛的作用机制

程实¹, 原景², 李智², 李德坤¹, 鞠爱春^{2,3}, 万梅绪^{2*}, 叶正良^{4*}

1. 天士力医药集团股份有限公司 天士力研发中心 现代中药开发部 现代中药创制全国重点实验室, 天津 300410

2. 天士力之骄药业有限公司, 天津 300410

3. 天士力医药集团股份有限公司, 天津 300410

4. 天士力大健康产业投资集团有限公司, 天津 300410

摘要: **目的** 利用网络药理学, 汇总和分析芪参胶囊治疗慢性稳定型心绞痛 (SAP) 的作用通路、成分和靶蛋白之间的相互作用, 并在蛋白质水平上进行验证。为后续芪参胶囊活性成分治疗 SAP 的深入药理学机制研究和临床应用提供研究依据。

方法 基于中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 筛选芪参胶囊活性成分作用靶点, 结合 GeneCards 和 OMIM 数据库获取相关靶点, 构建蛋白互作网络筛选核心靶点, 进行基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。建立 SAP 大鼠模型, 给予药物干预 14 d 后, Western blotting 检验大鼠相关通路的蛋白表达。并进行大鼠心功能检测和心脏苏木精-伊红 (HE) 染色验证芪参胶囊药效。**结果** 结果共筛选 49 个成分, 296 个靶点, 进一步筛选得到白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 (TNF)- α 和白蛋白 (ALB) 为治疗 SAP 的主要靶点。GO 和 KEGG 分析结果提示芪参胶囊治疗 SAP 的潜在靶点主要集中在脂质和动脉粥样硬化、凋亡、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K-Akt)、肿瘤坏死因子 (TNF)、缺氧诱导因子-1 (HIF-1) 等信号通路。Western blotting 实验结果显示, 与对照组相比, 模型组的 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 总蛋白表达显著低于对照组 ($P < 0.05$); p-STAT3/STAT3 总蛋白表达显著高于对照组 ($P < 0.05$)。给药后, 芪参胶囊中、高剂量较模型组的 p-PI3K/PI3K 总蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$); 芪参胶囊高剂量组 p-Akt/Akt 总蛋白表达显著升高 ($P < 0.01$); 芪参胶囊高剂量组 p-STAT3/STAT3 总蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$)。**结论** 芪参胶囊可能通过激活 PI3K/Akt 通路发挥心肌保护作用。

关键词: 网络药理学; 芪参胶囊; Western blotting; PI3K/Akt; 慢性稳定型心绞痛

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)03-0851-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.03.011

Network pharmacology and experimental verification of mechanism of action of Qishen Capsules in treatment of chronic stable angina pectoris

CHENG Shi¹, YUAN Jing², LI Zhi², LI Dekun¹, JU Aichun^{2,3}, WAN Meixu², YE Zhengliang⁴

1. National Key Laboratory of Modern Creation of Chinese Medicine, Modern Chinese Medicine Development Department, Tasly R&D Center, Tasly Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300410, China

2. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China

3. Tasly Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300410, China

4. Tasly Health Industry Investment Group Co., Ltd., Tianjin 300410, China

Abstract: Objective To summarize and analyze the interaction among the action pathways, components and target proteins of Qishen Capsules in the treatment of chronic stable angina pectoris (SAP) using network pharmacology, and to verify it at the protein level. To provide research basis for the in-depth pharmacological mechanism study and clinical application of the active ingredients of Qishen Capsules in the treatment of SAP in the future. **Methods** Based on the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology (TCMSP) database, the active ingredient action targets of Qishen Capsules were screened. Combined with the GeneCards and OMIM databases to obtain relevant targets, a protein-protein interaction network was constructed to screen core targets. Gene ontology (GO)

收稿日期: 2025-11-04

作者简介: 程实 (1996—), 女, 博士, 从事中药新药开发研究。E-mail: chengshi21@taslypharma.com

*通信作者: 叶正良, 男, 博士, 研究员, 从事中药新药开发研究。E-mail: yezl@tasly.com

万梅绪, 女, 正高级工程师, 从事中药药理、药物警戒研究。E-mail: wanmx@taslypharma.com

function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were conducted. A SAP rat model was established. After 14 d of drug intervention, Western blotting was used to test the protein expression of related pathways in rats. Rat cardiac function tests and cardiac HE staining were conducted to verify the efficacy of Qishen Capsules. **Result** A total of 49 components and 296 targets were screened. Further screening revealed that interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor (TNF)- α and albumin (ALB) were the main targets for the treatment of SAP. The results of GO and KEGG analyses suggested that the potential targets of Qishen Capsules in the treatment of SAP were mainly concentrated on lipid and signaling pathways such as atherosclerosis, apoptosis, PI3K-Akt, TNF, and HIF-1. The results of Western blotting showed that, compared with the sham group, the total protein expressions of p-PI3K/PI3K and p-Akt/Akt in the model group were significantly lower than those in the sham group ($P < 0.05$); The total protein expression of p-STAT3 /STAT3 was significantly higher than that in the sham group ($P < 0.05$). After administration, the total protein expression of p-PI3K/PI3K in the medium and high doses was significantly increased compared with the model group ($P < 0.05$); The total protein expression of p-Akt/Akt in the high-dose group was significantly increased ($P < 0.01$); The total protein expression of p-STAT3/STAT3 in the high-dose group was significantly decreased ($P < 0.05$). The results showed that the medium and high-dose groups of Qishen Capsules could significantly improve the cardiac function of rats and alleviate myocardial cell lesions, etc. **Conclusion** The results suggest that Qishen Capsules may exert myocardial protective effects by activating the PI3K/Akt pathway. **Key words:** network pharmacology; Qishen Capsules; Western blotting; PI3K/Akt; chronic stable angina pectoris

慢性稳定型心绞痛 (SAP), 是指某种因素引起冠状动脉供血不足, 发生急剧、暂时的心肌缺血缺氧, 引起阵发性、持续时间短暂、休息或硝酸酯制剂后缓解的前胸压榨性疼痛为主要临床表现的综合征, 会引起一系列与缺血或缺氧相关的可逆性心肌氧的供需失衡现象。而冠心病中医一般称为胸痹或心痛。中医病因病机, 冠心病的发生与寒邪内侵、饮食不节、情志失调等因素有关, 主要证候要素组合分为心血瘀阻证、气滞血瘀证、痰浊闭阻证、寒凝心脉证、气虚血瘀证、气阴两虚证、心肾阳虚证^[1]7 个类型。气虚血瘀型临床表现为胸部隐痛或刺痛, 遇劳则发, 休息后可缓解, 伴有心悸、气短、乏力等证状, 舌质淡黯或有瘀点, 脉细涩, 与 SAP 的部分证候相同。为解决增加治疗 SAP 的针对性中成药这一问题, 将临床经验方芪参方进行研发。

芪参方以黄芪为君, 丹参、三七为臣, 川芎为佐, 天然冰片为使, 诸药相伍, 升散相合, 补中有行, 共奏益气活血、祛瘀止痛之功效。方中黄芪, 性甘微温, 补脾胃之气以资化源, 意在气旺则血行, 瘀去则络通。疼痛乃因气虚无以行血, 血脉瘀滞, 不通则痛, 丹参功擅通行血脉, 祛瘀止痛而不伤正; 川芎辛温, 既行气止痛, 又活血散瘀, 为“血中气药”, 是治疗血瘀气滞之要药, 本方中选用川芎挥发油成分, 芳香透达, 走窜之力更甚, 与黄芪合用, 一气一血, 一补一行, 增理气活血之效; 三七散瘀止血, 消肿定痛。天然冰片归心、脾、肺经, 与川芎合用, 辛香走窜, 助药力迅速到达病位所在, 起到行气活血、祛瘀止痛、活血化瘀、开窍醒神的功效。现代药理研究表明, 黄芪能改善心肌的能量代

谢和抑制细胞凋亡, 保护心肌细胞; 丹参不仅能改善微循环, 促进血液流动, 而且能显著降低血液黏度, 抑制血小板聚集和凝血功能, 激活纤溶系统, 对抗血栓形成从而改善血液循环, 起到保护患者血管内皮细胞功能的作用; 川芎能减轻心肌细胞的炎性损伤, 降低梗死面积, 改善冠脉血液循环; 三七能降低梗死面积, 减轻心肌缺血再灌注损伤; 天然冰片能使冠状窦血流量回升, 减慢心率, 降低心肌耗氧量; 另外, 冰片亦可扩大细胞间隙, 通过促进药物的肠胃吸收从而增加血药浓度, 进而起到药效成分的组织分布和靶器官富集的“佐引”功效, 更好地发挥药效。芪参胶囊在芪参方的基础上进行研发, 经过分散体技术和磷脂包合后, 制备为芪参胶囊。本研究基于网络药理学预测芪参胶囊的活性成分与治疗 SAP 的潜在靶点和通路, 在此基础上采用游泳力竭合并结扎左前降冠状动脉的方法构建气虚血瘀型冠心病大鼠模型, 考察芪参胶囊对气虚血瘀型冠心病大鼠的影响及作用机制。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 135 只, 购入时体质量 (200 \pm 20) g, 北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号为 SCXK(京)2021-0011。分笼饲养于天士力控股集团有限公司动物设施屏障系统内, 动物使用许可证 SYXK(津)2022-0004。动物实验严格按照天津天士力集团动物伦理委员会标准执行, 伦理批号: TSL-IACUC-2023-71。

1.2 药品

芪参胶囊为 231205-1 生产批次样品; 芪参益气

滴丸,规格:0.5 g×15 袋,批号 20230101,天士力医药集团股份有限公司;速效救心丸,每粒 40 mg,批号 2105064,天津中新药业集团股份有限公司。

1.3 试剂

PIPA 裂解液,货号 R0010,北京索莱宝科技有限公司; SuperPAGE™ 预制胶,货号 LK301,上海雅酶生物医药科技有限公司; DMEM 高糖培养基,货号 C11995500BT,美国 Gibco 公司; 脱脂奶粉,货号 D8340,北京索莱宝科技有限公司; 转膜液,货号 L00724C,南京金斯瑞生物科技有限公司; 细胞培养皿及培养板,货号 430166,美国 Corning 公司。

1.4 仪器

Trans-Blot Turbo 转膜仪,上海伯乐生命医学产品有限公司; CKX53 荧光显微镜,日本 OLYMPUS 公司; SIM-F140AY65 制冰机,日本三洋公司; ABI7500 荧光定量 PCR 仪,美国 Invitrogen 公司; Qubit®2.0 Fluorometer 荧光定量仪,美国 Thermo Fisher Scientific 公司; CFX96 PCR 仪,美国 Invitrogen 公司; MX-F 固定式漩涡混匀仪,美国赛洛捷克公司。

2 方法

2.1 网络药理学

2.1.1 化学成分获取 在中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>),以丹参、三七、黄芪、冰片、川芎为关键词进行检索,获取各化合物的相关信息^[2]。并以生物利用度 (OB) ≥ 30%,类药性 (DL) ≥ 0.18 作为筛选条件,得到符合条件的成分。

2.1.2 化学成分靶点预测 在 PubChem 网站获取各个成分的 SMILE 号,在“Swiss Target Prediction”数据库中预测化学成分的靶点,筛选 probability 中大于 0 的靶点。将所有成分的靶点整合到一起,删除重复靶点后得到化学成分靶点。整理成分相关基因,并校正基因名称,使蛋白质靶点信息标准化。

2.1.3 疾病相关靶点的获取 以“stable angina pectoris”为关键词通过 Gene Cards 数 (<https://www.genecards.org>) 和 OMIM (<https://www.omim.org>) 数据库进行疾病靶点检索。将 2 个数据库所有靶点整合在 excel 中,剔除重复基因,并经 Uniprot 数据库进行校正,得到疾病靶点基因信息。

2.1.4 药物-疾病靶点预测结果 将药物成分靶点与疾病靶点相互映射,使用 Perl 软件绘制 Venn 图,即获得药物治疗疾病的潜在靶点。

2.1.5 中药调控网络及蛋白质-蛋白质相互作用

(PPI) 网络构建 使用 Cytoscape v 3.9.1 软件构建 SAP 与丹参的交集靶点,对丹参有效成分、核心靶点与疾病之间的关系进行可视化处理,构建“药材-有效成分-靶点-疾病”的网络药理图,便于后续分析^[3-4]。映射药物靶点和疾病靶点,得到药物-疾病的相关靶点。将药物靶点与疾病靶点输入 String 数据库 (<https://cn.string-db.org>),物种设置为“Homo sapiens”获得 PPI 信息,筛选阈值高于 0.4 的置信度 PPI 信息,得到 PPI 网络,确保本研究的可信度,其余参数保持默认设置,结果储存为 TSV 格式,将 TSV 文件导入 Cytoscape Version 3.9.1 中,利用 Cytohub 插件,按照度 (degree) 值筛选排名前 10 的靶点作为核心靶点。

2.1.6 基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析 将药物-疾病交集基因上传至 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/summary.jsp>),基因标识符选择 OFFICIAL_GENE_SYMBOL,物种设置为: Homo Sapiens。利用 DAVID 6.8 GO 基因功能从生物过程 (BP)、细胞成分 (CC)、分子功能 (MF) 3 个方面注释化学成分发挥治疗 SAP 作用的靶蛋白在基因功能中的作用。为阐明化学成分发挥治疗 SAP 作用的靶点在信号通路中的作用,进行 KEGG 通路富集分析。选取 GO 功能中 BP、CC、MF 排名前 10 条,KEGG 通路条目前 30 条通路 ($P < 0.05$) 作为化学成分发挥 SAP 作用的主要基因功能富集过程和信号通路,预测化学成分发挥 SAP 作用机制。

2.2 实验验证

网络药理学 KEGG 通路的富集结果提示,芪参胶囊治疗 SAP 的潜在靶点主要集中在磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B (PI3K-Akt) 等信号通路,选择 PI3K-Akt 信号通路进行验证,检测 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、信号转导因子和转录激活因子 3 (STAT3) 等下游靶点的蛋白水平变化。

2.2.1 气虚血瘀型大鼠模型的建立 参照文献方法^[5-7]制备气虚血瘀型冠心病动物模型。大鼠适应性喂养 1 周后,除 15 只大鼠留作对照组外,其他大鼠均开始模型制备。

在实验第 1~14 天进行力竭游泳,每次以大鼠沉入水中 10 s,头不能露出水面为标准,10 °C,每天 1 次。力竭游泳造模同时每日摄入正常喂养的 1/2 饲料,连续 14 d。于实验的第 15 天,进行结扎冠状动脉左前降支手术。鼠左前胸去毛,顺肋间隙

方向于胸骨左旁第 3~4 肋间切开皮肤,长约 1 cm,切开心包,在左心耳前方用零号医用缝合线结扎血管缝针,记录标准 II 导联心电图。以心电图 ST 段弓背向抬高的改变及左室前壁向外膨胀发绀、搏动减弱为结扎成功标志。术后连续 3 d 用青霉素 80 000 U,以抗感染。造模后大鼠予以保温,降低死亡率;造模过程中大鼠死亡 30 只,实际造模成功大鼠 90 只。

2.2.2 实验分组 根据体质量随机分为 7 组,对照组、模型组、芪参胶囊低、中、高剂量组、芪参益气滴丸组及速效救心丸组,每组 15 只。

2.2.3 给药方式 手术 1 d 后,芪参胶囊低、中、高剂量组分别 ig 给予 0.19、0.38、0.76 g·kg⁻¹,每天 1 次,连续 7 d。芪参益气滴丸组 ig 给予芪参益气滴丸 0.135 g·kg⁻¹,为等效剂量系数折算法换算所得的临床等效剂量^[8]。速效救心丸组 ig 65.65 mg·kg⁻¹,为每次 6 丸,每天 3 次的临床等效剂量。对照组、模型组 ig 予以等体积蒸馏水,每天 1 次,连续 ig 7 d。

2.2.4 组织取材 将大鼠心脏完整取下,用 0.9% 氯化钠溶液清洗干净,擦干水分并称质量,冷冻在 -80 °C 冰箱中待用,各剂量组取 3 只心脏冻存,用于网络药理学验证实验。

2.2.5 Western blotting 检测 PI3K、Akt、STAT3 蛋白的表达 取出冷冻的心脏,按照 1 g : 4 mL 加入 RIPA 裂解液,采取少量多次的方法进行匀浆,至没有明显组织块时进行超声破碎裂解,60 s 破碎 2 次后进行离心。离心机 4 °C、5 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,取上清液。按试剂盒测定匀浆上清液的蛋白浓度。将定量完毕的蛋白上清液与 5× 的 Loading buffer 按照体积比 4 : 1 的比例混合均匀,放置在金属浴中进行蛋白变性,98 °C 煮 10 min,待到降温后放入 -20 °C 中保存。将预制胶安装到电泳装置中,向电泳槽的内槽中加入足量的 1×Tris/MOPS/SDS 电泳缓冲液,浸没点样孔液体与玻璃板平行,将梳子按箭头方向从胶板中平稳地平行推出。涡旋混匀后瞬时离心,将蛋白样本沉降到管底,蛋白 Marker 每孔加入 7 μL,样品每孔加入 20 μL。电泳调整电压为 60 V,至 Marker 条带分开或者目的条带清晰分开后,调整电压为 120 V,60 min。将裁剪好的 PVDF 膜浸泡在甲醇中活化 1 min。将玻璃板内胶小心取出并裁切留下有条带的部位,在托盘内倒入预冷的 1×转膜液(10×转膜液稀释),把胶、转膜海绵、滤纸以及活化好的 PVDF 膜完全浸泡在转膜液中,再按照转膜海绵、滤纸、胶、PVDF 膜、滤纸、转

膜海绵的顺序将它们叠放在一起夹紧,放入电泳架中,提前将电泳槽内的电泳液回收,重新倒入转膜液,200 mA 恒流转膜 2.5 h。转膜结束后,用 5% 脱脂奶粉封闭,没过 PVDF 膜即可,在摇床上封闭 1 h,摇床速度以液体不溢出为宜。封闭结束,回收封闭液,加入一抗抗体(p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、STAT3,稀释比例为 1 : 1 000),4 °C 孵育过夜。次日回收一抗,用 1×TBST 缓冲液漂洗 3 次,每次 10 min,之后加入二抗(抗兔,稀释比例 1 : 3 000),没过 PVDF 膜即可,摇床孵育 1 h。二抗孵育完毕用 1×TBST 缓冲液漂洗 3 次,每次 10 min。加入显影液,在化学发光成像仪中曝光,保存结果图。成像完毕后使用 Image Lab 6.0.1 软件分析条带的灰度值。

2.3 大鼠指标观察

2.3.1 心功能检测 使用小动物超声观察各组大鼠左室舒张末期内径(LVIDd)、左室收缩末期内径(LVIDs)、左室舒张末期前壁厚度(LVAWd)、左室收缩末期前壁厚度(LVAWs)、左室射血分数(LVEF)、短轴缩短率(LVFS)的数值。每只大鼠测量 3 个连续的心动周期,取其平均值。

2.3.2 苏木精-伊红(HE)染色 剖取大鼠心脏组织,剖除非心肌组织,置于 4% 多聚甲醛溶液中固定,脱水透明处理,石蜡包埋并制作 4 μm 左右的厚切片,在 40 °C 的展片池中展开,用载玻片将切片捞出,烘干 1 h,转移到烘箱中 45 °C 烘干 5 h,进行 HE 染色。依次将组织片放入二甲苯、95%、90%、80%、70%、60%、50% 无水乙醇共 6 个梯度乙醇洗脱、水冲洗后苏木精染色,纯水洗后伊红染色,再从 70%、80%、90%、95% 乙醇过渡到二甲苯完成染色,二甲苯透明处理后用中性树脂封片,光学显微镜观察。

2.4 统计方法

各项实验数据采用 GraphPad Prism 9.5 软件进行统计学分析及图形绘制,图表数据采用 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示,组间两两比较采用单因素方差分析,数据分析时首先进行正态性检验,不符合采用秩和检验;计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学

3.1.1 化学成分的获取结果 OB \geq 30% 确保药物口服后有足够比例进入体循环,药物能被有效吸收,从而达到潜在治疗浓度,避免因吸收不足导致

加大剂量或改变给药方式。DL 评估化合物与已知药物在化学特性上的相似程度, 反映其成药潜力。阈值 ≥ 0.18 , 其相对分子质量、脂溶性等特性更接近已上市药物, 化合物更可能具备理想的药动学特性。这 2 个参数分别从化学结构特性和药动学性质出发, 共同优化了药物开发的效率。通过 TCMSP 数据库获得符合条件的成分 407 个, 其中丹参 145 个、

三七 58 个、黄芪 48 个、川芎 134 个、冰片 22 个。成分数量过多不利于后续计算, 因此筛选含量较高的有效成分进行研究, 其中丹参 15 个、三七 8 个、黄芪 10 个、川芎 7 个、冰片 9 个, 共计 49 个成分, 结果见表 1。

3.1.2 成分的靶点筛选 根据表 1 中的 49 个成分, 去重后共有 659 个靶点为化学成分的潜在靶点。

表 1 活性成分筛选结果

Table 1 Results of active ingredient screening

药材	序号	名称	药材	序号	名称
黄芪	1	黄芪皂苷II (astragaloside II)	丹参	1	丹参醇 B (tanshinol B)
	2	环黄芪苷 (cyclocephaloside)		2	丹参酚 A (danshenol A)
	3	黄芪皂苷I (astragaloside I)		3	丹参酚 B (danshenol B)
	4	黄芪甲苷 (astragaloside A)		4	丹参醛 (tanshinaldehyde)
	5	黄芪皂苷III (astragaloside III)		5	丹参素 (danshensu)
	6	乙酰黄芪皂苷 (acetytastragaloside)		6	Tan I (tanshinone I)
	7	大豆皂苷I (soyasaponin I)		7	Tan II _A (tanshinone II _A)
	8	异黄芪皂苷I (isoastragaloside I)		8	丹参新酮 (miltirone)
	9	异黄芪皂苷II (isoflavoneII)		9	丹酚酸 A (salvianolic acid A)
	10	异黄芪皂苷IV (isorhamnetin IV)		10	丹酚酸 B (salvianolic acid B)
川芎	1	阿魏酸 (ferulic acid)		11	二氢丹参酮 (dihydrotanshinone)
	2	苯乙酸甲酯 (methyl phenylacetate)		12	咖啡酸 (caffeic acid)
	3	川芎内酯 (senkyunolide)		13	迷迭香酸 (rosmarinic acid)
	4	丁烯基苯酞 (3-butylidenephthalide)		14	CTS (cryptotanshinone)
	5	藜本内酯 (ligustilide)		15	紫草酸 (lithospermic acid)
	6	洋川芎内酯 H (senkyunolide H)	冰片	1	积雪草酸 (asiatic acid)
	7	香桉烯 (sabinene)		2	β -榄香烯 (β -elemene)
三七	1	人参皂苷 Rb ₁ (ginsenoside Rb ₁)		3	龙脑香醇酮 (dipterocarpol)
	2	人参皂苷 Rb ₃ (ginsenoside Rb ₃)		4	龙脑香内酯 (dryobalanone)
	3	人参皂苷 Rc (ginsenoside Rc)		5	麦珠子酸 (alphitolic acid)
	4	人参皂苷 Re (ginsenoside Re)		6	齐墩果酸 (oleanic acid)
	5	人参皂苷 Rg ₁ (ginsenoside Rg ₁)		7	异龙脑 (<i>DL</i> -isoborneol)
	6	人参皂苷 Rg ₂ (ginsenoside Rg ₂)		8	右旋龙脑 (<i>D</i> -borneol)
	7	三七皂苷 Fc (notoginsenoside Fc)		9	樟脑 (camphor)
	8	三七皂苷 R ₁ (notoginsenoside R ₁)			

3.1.3 疾病相关靶点 选取 Relevance score 大于平均值的靶点纳入, 通过合并 GeneCards、OMIM 数据库, 共得到 2 008 个 SAP 靶点。将药物的作用靶点与 SAP 的靶点基因取交集后, 获得 296 个 SAP 与化学成分交集靶点基因, 为化学成分发挥 SAP 作用的交互靶点基因。见图 1。

3.1.4 药物-成分-靶点预测结果 利用药物-成分-靶点数据, 构建 “network.xlsx” 文件以及 “tape.xlsx” 文件, 将文件导入 Cytoscape 3.9.1 进行作图, 见图 2。

3.1.5 核心靶点及网络相互作用 将所有药物的作用靶点与 SAP 的靶点基因取交集后, 获得 296 个

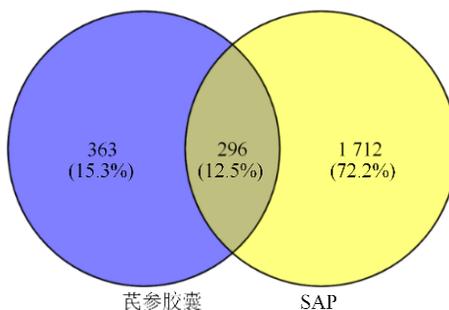


图 1 芪参胶囊主要活性成分靶点和 SAP 靶点的 Venn 图
Fig. 1 Venn diagrams of main active ingredient targets and SAP targets of Qishen Capsules

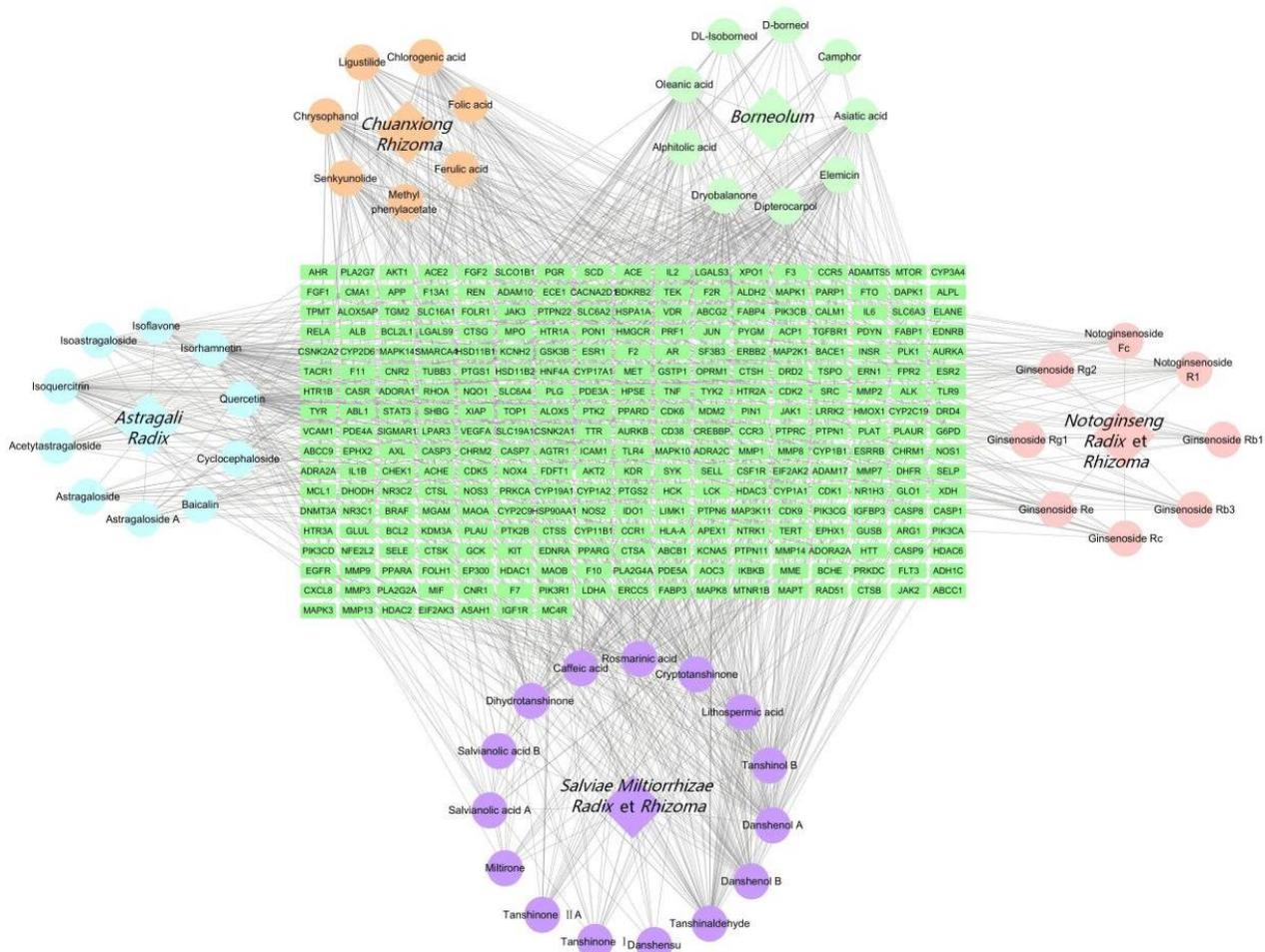


图 2 “芪参胶囊-有效成分-疾病靶点-疾病”的网络图

Fig. 2 Network diagram of “Qishen Capsules-active ingredients-disease targets-diseases”

SAP 与药物的交集靶点基因,为化学成分发挥 SAP 作用的交互靶点基因。将得到的 296 个交集靶点基因导入 String (<https://string-db.org/>) 数据库中进行 PPI 预测,物种设置为“Homo Sapiens”,置信度设置为 0.4。将网络文件保存为 TSV 格式,将 TSV 文件导入 Cytoscape 3.8.2 软件绘制 PPI 网络,见图 3。利用 Cytohub 插件,按照 degree 值筛选排名前 10 的靶点作为核心靶点,分别为 AKT1、TNF、IL-6、ALB、IL-1 β 、STAT3、BCL2、EGFR、CASP3 和 SRC。见图 4。

3.1.6 GO 富集分析 具体通路见图 5,GO 分析提示芪参胶囊主要作用功能集中在“磷酸化过程”“凋亡的调节”“基因表达的正调控”“炎症反应”等 BP,“细胞质膜 plasma membrane”“细胞质 Cytoplasm”“胞液 cytosol”等 CC 和“靶蛋白结合”“ATP 结合”等 MF。

3.1.7 KEGG 通路富集分析 利用 DAVID 数据库

进行通路富集分析,筛选前 30 条通路,根据 P 值绘制气泡图,横轴以富集到通路上的基因数目表示,气泡的大小代表富集到相应通路上的基因数目的多少,颜色的深浅代表显著性,可直观的观察到显著性富集信息。具体通路见图 6,图中提示,芪参胶囊治疗 SAP 的潜在靶点主要集中在脂质和动脉粥样硬化、凋亡、磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B (PI3K-Akt)、肿瘤坏死因子 (TNF)、HIF-1 等信号通路上。

3.2 Western blotting 实验

网络药理学结果提示,药物有效成分可能通过 PI3K/Akt 通路干扰磷酸化过程,发挥治疗作用。因此检测芪参胶囊对 PI3K/Akt 通路的影响。结果如图 7、8 所示,与对照组相比,模型组的 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 总蛋白表达显著低于对照组 ($P < 0.05$); p-STAT3/STAT3 总蛋白表达显著高于对照组 ($P <$

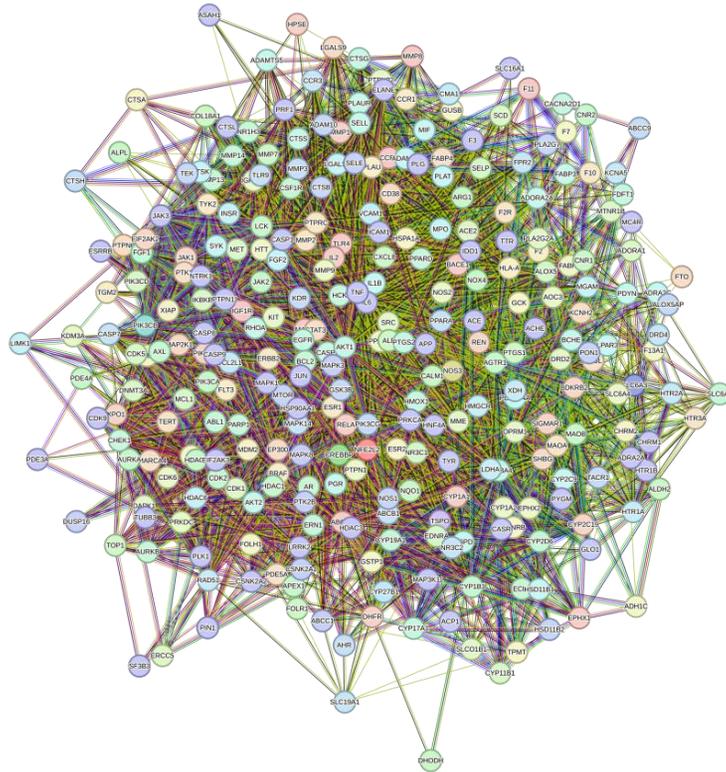


图 3 芪参胶囊治疗 SAP 靶点 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of Qishen Capsules targeting SAP

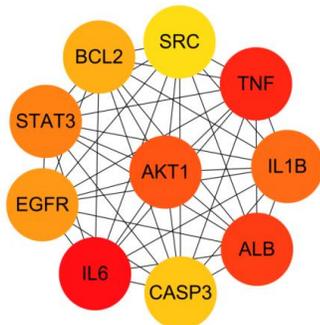


图 4 PPI 网络中排名前 10 的基因的节点数

Fig. 4 Number of nodes of top 10 genes in PPI network

0.05)。给药后,中、高剂量较模型组的 p-PI3K/PI3K 总蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$);高剂量组 p-Akt/Akt 总蛋白表达显著升高 ($P < 0.01$);高剂量组 p-STAT3/STAT3 总蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$)。结果提示,心肌缺血或梗死模型会抑制 PI3K/Akt 通路活性,导致其关键蛋白表达下调。模型组的 Akt 总蛋白表达同步降低,与 PI3K 变化趋势一致。PI3K 活性下降导致其下游效应分子 Akt 的激活受限,总 Akt 蛋白也因通路抑制而减少。STAT3 作为促炎和促凋亡信号分子,其表达可能被上调。芪参胶囊可能通过激活 PI3K/Akt 通路,发挥心肌保护作用。

3.3 大鼠心功能

3.3.1 心脏功能相关指标 心脏相关指标结果见表 2。与对照组相比,模型组大鼠 LVAWs 和 LVAWd 显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001),LVIDs 和 LVIDd 增加 ($P < 0.05$ 、 0.001);与模型组相比,芪参胶囊低、中剂量组可降低 LVIDs ($P < 0.05$);与模型组相比,芪参胶囊高剂量组可增加 LVAWs ($P < 0.05$),显著降低 LVIDs ($P < 0.01$) 和 LVIDd ($P < 0.05$)。

3.3.2 大鼠心功能比较 结果见表 3,与对照组比较,模型组大鼠 LVEF、LVFS 明显降低 ($P < 0.01$ 、 0.001)。与模型组相比,芪参胶囊高剂量组大鼠 LVEF、LVFS 均明显升高 ($P < 0.05$)。

3.4 大鼠心肌组织 HE 染色

结果见图 9,对照组大鼠心肌纤维清晰呈束状,细胞形态规则、排列有序;模型组大鼠心肌纤维出现断裂,细胞数量减少并坏死,炎症细胞浸润;与模型组比较,芪参益气低剂量组心肌细胞病变有所减轻,但仍有心肌纤维断裂;与芪参益气滴丸组和速效救心丸组比较,芪参胶囊中剂量组和高剂量组心肌纤维形态及心肌细胞病变均有所减轻,高剂量组最为显著。

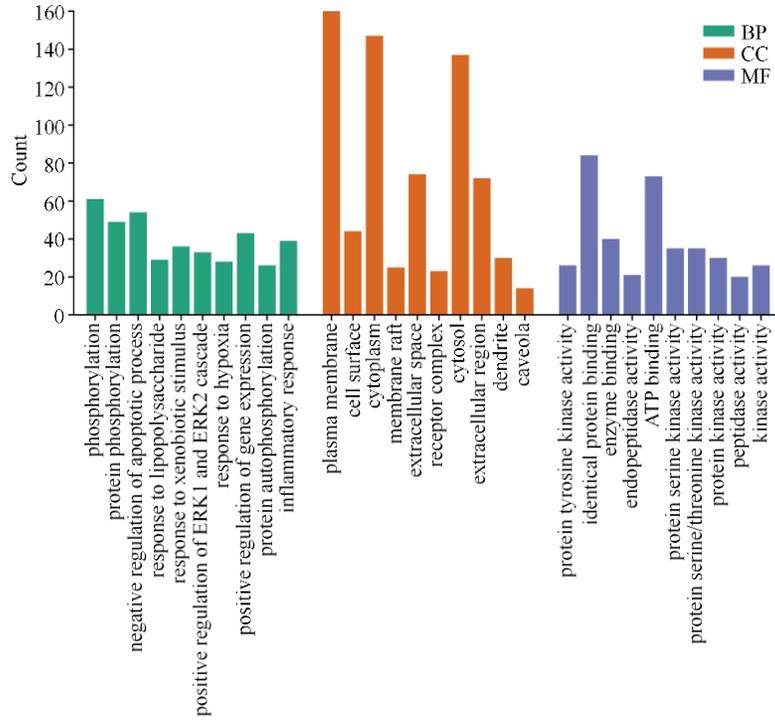


图 5 GO 富集分析

Fig. 5 GO enrichment analysis

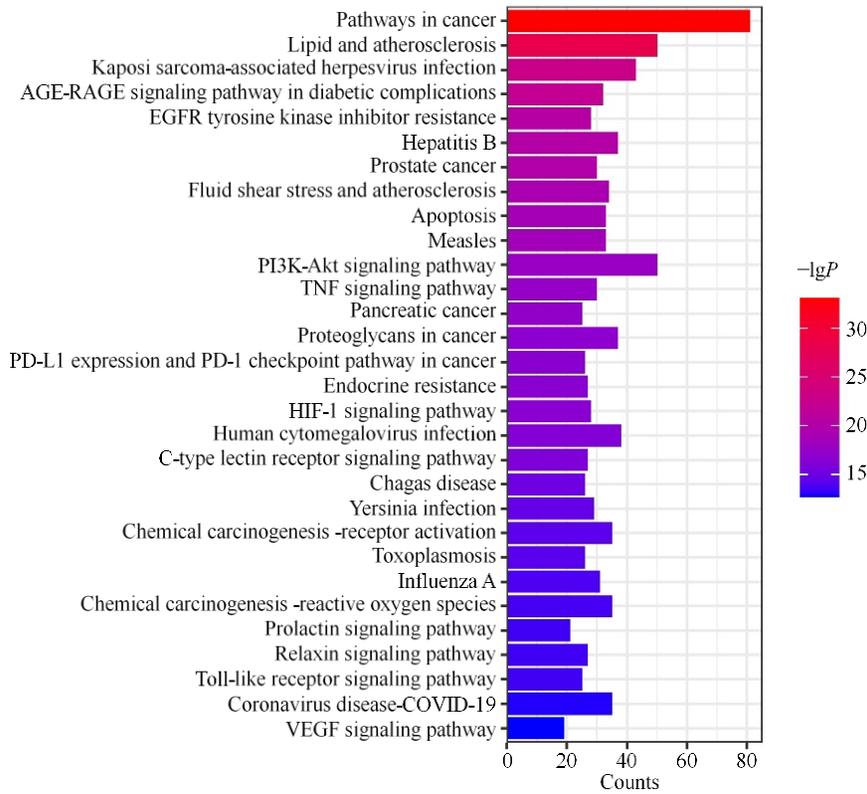


图 6 KEGG 富集分析

Fig. 6 KEGG enrichment analysis

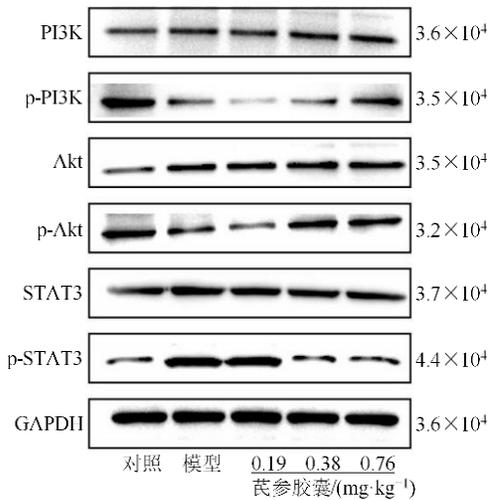
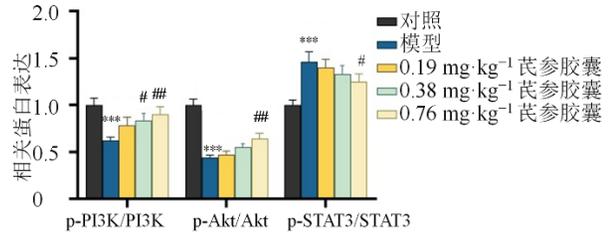


图 7 大鼠心肌组织关键蛋白表达

Fig. 7 Key protein expression in rat myocardial tissue



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。
*** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

图 8 大鼠心肌组织关键蛋白表达 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 8 Expression of key proteins in rat myocardial tissue ($\bar{x} \pm s, n=3$)

4 讨论

在大鼠模型建立过程中,“低温力竭游泳”和“冠状动脉左前降支结扎”结合使用,可以更精准地

表 2 各组大鼠心脏相关指标比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Comparison of cardiac-related indicators in each group of rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	LVAWs/mm	LVAWd/mm	LVIDs/mm	LVIDd/mm
对照		3.37±0.69	2.00±0.10	4.49±0.74	6.53±1.04
模型		2.38±0.54***	1.80±0.22**	5.78±0.44***	7.88±1.57*
芪参胶囊	0.19	2.40±0.34	1.81±0.09	5.04±0.32#	7.02±0.40
	0.38	2.79±0.25	1.88±0.11	4.88±0.67#	6.81±0.43
	0.76	3.00±0.60#	1.92±0.09	4.67±0.71##	6.65±0.66#
芪参益气滴丸	0.135	2.80±0.25	1.88±0.10	4.90±0.21#	6.88±0.65
速效救心丸	0.065 65	2.71±0.21	1.85±0.08	5.00±0.54#	6.82±0.78

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

表 3 各组大鼠心功能比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Comparison of cardiac function among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	LVEF/%	LVFS/%
对照		55.33±4.55	37.10±5.02
模型		42.69±10.42**	26.12±6.08***
芪参胶囊	0.19	43.77±4.68	27.06±4.42
	0.38	48.23±6.11	29.80±5.60
	0.76	52.29±6.76#	33.11±4.19#
芪参益气滴丸	0.135	49.65±4.70	30.12±3.44
速效救心丸	0.065 65	48.98±4.02	30.33±4.09

与对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ 。

** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group.

模拟中医“气虚血瘀”的病理过程,通过运动负荷进一步加剧心脏负担,从而更真实地模拟 SAP 的可预测性和重复性过程。这 2 种方法结合使用,使得

病理模拟更为全面,结扎左前降支造成心肌缺血和梗死,模拟“血瘀”的病理基础。低温力竭游泳能显著消耗体能,导致“劳则伤气”,从而诱发“气虚”状态。两者结合,才能完整复现“气虚”与“血瘀”并存的病证结合特征。同时这 2 种方法结合使用增强了模型稳定性,力竭游泳的加入,能更稳定地诱导出心功能下降、活动减少等表现,减少个体差异,且模型在术后一定时间达到稳定状态,数据更可靠。比单纯手术造模更能反映 SAP 的可预测性和重复性过程。

芪参胶囊治疗 SAP 的潜在靶点主要集中在 PI3K-Akt、TNF、HIF-1 等信号通路上。PI3K 被上游信号激活后,会磷酸化形成 PI3K 的活化形式。随后,该活化形式进一步磷酸化 Akt,使其激活。激活的 Akt 继续磷酸化 TSC2,导致 TSC2 的抑制^[9-12]。TSC2 的抑制解除了其对 mTOR 的抑制作用,从而

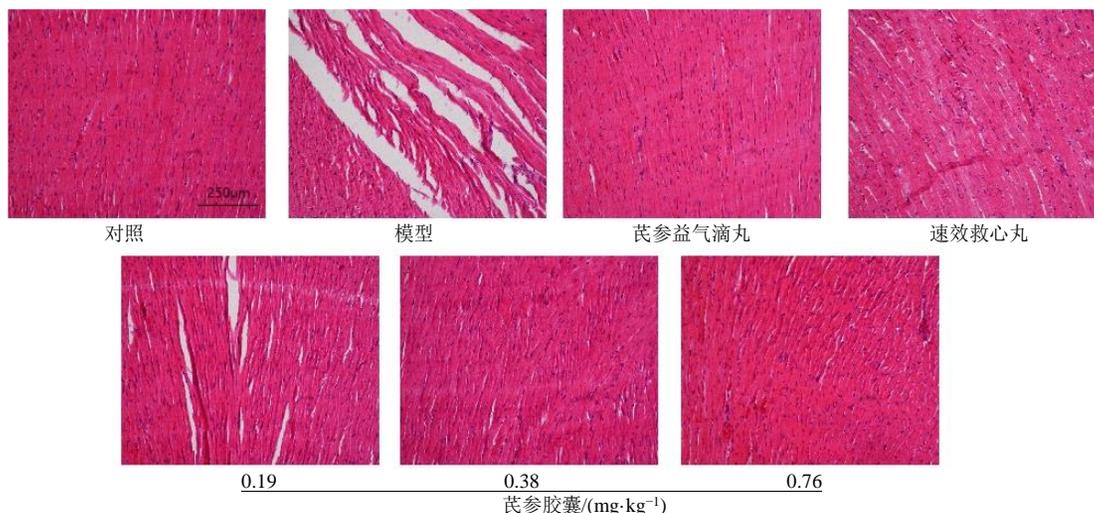


图 9 各组大鼠心肌组织病理学结果比较 (HE, ×200)

Fig. 9 Comparison of myocardial histopathological results among different groups of rats (HE, ×200)

使 mTOR 得以激活。mTOR 在激活后, 通过 2 个不同的复合体 mTORC1 和 mTORC2, 分别调控其下游靶标^[13]。研究表明, Akt 可通过磷酸化下游效应分子解除对 STAT3 的抑制作用。Akt 介导的盐诱导激酶 1 (SIK1) 磷酸化会促进 SIK1 与 14-3-3 蛋白结合并转位至胞质, 进而通过泛素化降解途径解除 SIK1 对 STAT3 的转录抑制, 最终激活 STAT3 发生过程^[14], 通过以上步骤激活 PI3K-Akt 通路, 发挥 SAP 治疗作用。TNF 信号通路是一条核心的细胞信号传导途径, 主要通过 TNF- α 与 TNFR1/TNFR2 受体结合, 调控炎症、细胞存活与凋亡。该通路在免疫应答、炎症调控及细胞命运决定中起关键作用。丹参酮II_A、丹酚酸 B 和三七皂苷类等成分, 可通过作用于 TNF 通路, 抑制 NF- κ B 信号通路的活化, 从而减轻炎症反应, 达到治疗 SAP 的效果。HIF-1 信号通路是细胞感知和适应低氧环境的核心机制, 其核心在于 HIF-1 α 亚基的稳定性受氧浓度严格调控。丹参酮II_A 和三七总皂苷可通过作用于该通路, 以及相关靶基因, 促进新血管形成以改善供氧、调节促红细胞生成素和糖酵解酶, 帮助细胞在缺氧条件下维持能量供应, 达到治疗 SAP 的目的。

通过分析芪参胶囊中的 49 个主要活性成分, 得到 296 个与疾病的交集靶点, 经过进一步筛选得到 IL-6、TNF- α 和 ALB 为治疗 SAP 的主要靶点。富集结果提示芪参胶囊治疗 SAP 的潜在靶点主要集中在脂质和动脉粥样硬化、凋亡、PI3K-Akt、TNF、HIF-1 等信号通路上。验证结果提示芪参胶囊可能

通过激活 PI3K/Akt 通路发挥心肌保护作用。大鼠的心功能观察和 HE 染色结果表明芪参胶囊能显著改善大鼠心功能, 缓解模型大鼠的心肌细胞病变和炎症细胞浸润的现象。以上结果表明, 芪参胶囊治疗 SAP 临床优势显著, 可通过改善心功能、降低炎症和氧化应激损伤, 调节能量代谢等多方面保护心脏。芪参胶囊根据中医理论配伍组方, 临床适应病证明确, 物质基础及作用机理相对清楚及药物质量稳定可控, 适于产业化推广。未来可探究与硝酸酯类等西药联用, 增强疗效, 减少化学药用量及不良反应, 并探究 SAP 患者的长期辅助治疗, 有助于稳定病情, 预防急性事件。其多成分、多靶点的作用模式, 为深入探索中药复方治疗 SAP 的分子机制提供了方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李晓瑞, 翟雪琴, 许红峰. 益气活血类方治疗冠心病气虚血瘀证的研究新进展 [J/OL]. 中医临床研究: 1-10 [2026-02-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5895.R.20240123.0915.002.html>.
Li X R, Zhai X Q, Xu H F. New advances in the treatment of coronary heart disease with Qi deficiency and blood stasis syndrome by Yiqi Huoxue prescription [J/OL]. Clin J Chin Med: 1-10 [2026-02-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5895.R.20240123.0915.002.html>.
- [2] 李博, 耿刚. 黄芪的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中西医结合研究, 2022, 14(4): 262-264.
Li B, Geng G. Research progress on chemical constituents

- and pharmacological effects of *Astragalus membranaceus* [J]. Res Integr Tradit Chin West Med, 2022, 14(4): 262-264.
- [3] 燕子姝, 李东娜, 李小锦, 等. 基于网络医学与等辐射分析探讨“杜仲-干姜”活性成分对神经炎症的协同抑制作用 [J]. 中草药, 2024, 55(15): 5166-5173.
Yan Z S, Li D N, Li X J, et al. Synergistic inhibition of neuroinflammation by active ingredient of *Eucommiae Cortex* and *Zingiberis Rhizoma* based on network medicine and isobolographic analysis [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(15): 5166-5173.
- [4] Cheng F X, Kovács I A, Barabási A L. Network-based prediction of drug combinations [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1197.
- [5] 钟梦媛, 王春洋, 庄铭, 等. 中药临床安全性评价存在的问题与思考 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(12): 3404-3408.
Zhong M Y, Wang C Y, Zhuang M, et al. Problems and thoughts in clinical safety evaluation of traditional Chinese medicine [J]. China J Chin Mater Med, 2023, 48(12): 3404-3408.
- [6] 季海刚, 张琪. 芪参益气滴丸治疗冠心病稳定型心绞痛气虚血瘀证临床观察 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2019, 17(23): 66-69.
Ji H G, Zhang Q. Clinical study of Qishen Yiqi Dropping Pills in the treatment of stable angina pectoris of coronary heart disease with syndrome of *qi* deficiency and blood stasis [J]. Chin Med Mod Distance Educ China, 2019, 17(23): 66-69.
- [7] 王莹威, 姜晖, 王博, 等. 益气降浊汤对冠心病气虚血瘀型模型大鼠 miR-126 及 Rho 激酶表达的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(14): 1483-1486, 1535.
Wang Y W, Jiang H, Wang B, et al. Effect of Yiqi Jiangzhuo Decoction on the expression of miR-126 and Rho kinase in rats with coronary heart disease of type of *Qi* deficiency and blood stasis [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2021, 30(14): 1483-1486, 1535.
- [8] 黄烁, 任建勋, 王少辰, 等. 冠心病气虚血瘀证大鼠模型的建立 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(9): 1699-1705.
Huang S, Ren J X, Wang S C, et al. Establishment of coronary heart disease models of *Qi*-deficiency and blood-stasis syndrome in rats [J]. China J Chin Mater Med, 2016, 41(9): 1699-1705.
- [9] Numaguchi R, Furuhashi M, Matsumoto M, et al. Differential phenotypes in perivascular adipose tissue surrounding the internal thoracic artery and diseased coronary artery [J]. J Am Heart Assoc, 2019, 8(2): e011147.
- [10] Wang Y N, Kuang H Y, Xue J F, et al. LncRNA AB073614 regulates proliferation and metastasis of colorectal cancer cells via the PI3K/Akt signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 93: 1230-1237.
- [11] Hirai K, Furusho H, Hirota K, et al. Activation of hypoxia-inducible factor 1 attenuates periapical inflammation and bone loss [J]. Int J Oral Sci, 2018, 10(2): 12.
- [12] Zerneck A, Weber C. Improving the treatment of atherosclerosis by linking anti-inflammatory and lipid modulating strategies [J]. Heart, 2012, 98(21): 1600-1606.
- [13] Han X Y, Liu X, Zhao X, et al. Dapagliflozin ameliorates sepsis-induced heart injury by inhibiting cardiomyocyte apoptosis and electrical remodeling through the PI3K/Akt pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2023, 955: 175930.
- [14] Sun, Z C, Jiang, Q W, Gao, B, et al. AKT blocks SIK1-mediated repression of STAT3 to promote breast tumorigenesis [J]. Canc Res, 2023, 83(8): 1264-1279.

[责任编辑 齐静雯]