

基于生物信息学和动物实验探讨冠心通络方对心肌梗死后心力衰竭的作用

范雅雯¹, 吴紫妍², 邓炜姨², 谢天¹, 王晓聪¹, 门九章³, 王进美⁴, 邹国辉⁵, 张天奉^{5*}

[1. 广州中医药大学深圳医院(福田)研究院, 广东深圳 518000; 2. 广州中医药大学第六临床医学院, 广东深圳 518000; 3. 山西中医药大学, 山西太原 030024; 4. 深圳市药品检验研究院, 广东深圳 518000; 5. 广州中医药大学深圳医院(福田), 广东深圳 518000]

摘要: **目的** 基于生物信息学与动物实验探讨冠心通络方对心肌梗死后心力衰竭(post-MI HF)的作用靶点和相关代谢通路。**方法** 采用UHPLC-QE-MS分析冠心通络方化学成分,结合GEO数据库与网络药理学筛选潜在活性成分及靶点,进行分子对接并可视化。通过结扎冠状动脉左前降支建立post-MI HF大鼠模型,分为假手术组、模型组、冠心通络方低、中、高剂量组(4.46、8.91、17.82 g/kg),给药6周后,心脏超声评估心功能;HE和Masson染色观察心肌病理改变;ELISA法检测血清NT-proBNP、cTnI、HIF-1 α 、VEGF水平;免疫组化法检测心肌梗死边缘区CD₃₁表达;RT-qPCR法及Western blot法分别检测HIF-1 α 、VEGF、TGF- β 1、Collagen I、Collagen III、 α -SMA mRNA及蛋白表达。血清代谢组学分析差异代谢物,进行KEGG通路富集,构建“代谢物-反应-酶-基因”网络,进行代谢组学与网络药理学联合分析。**结果** 筛选获得冠心通络方14种潜在活性成分及230个作用靶点,KEGG富集涉及PI3K-Akt、MAPK、TNF、钙信号、IL-17、HIF-1等信号通路。分子对接证实潜在活性成分与关键靶点(HIF-1 α 、VEGF)具有强结合活性。动物实验显示,冠心通络方呈剂量依赖性改善心功能,减轻心肌损伤,升高LVEF、LVFS、微血管数及密度($P < 0.05$, $P < 0.01$),降低LVIDs、LVIDd、NT-proBNP、cTnI、HIF-1 α 、VEGF水平及HIF-1 α 、VEGF、TGF- β 1、Collagen I、Collagen III、 α -SMA mRNA及蛋白表达($P < 0.05$, $P < 0.01$)。代谢组学发现冠心通络方显著回调18种血清差异代谢物,联合分析揭示其通过核黄素代谢、嘧啶代谢、类固醇激素生物合成及酪氨酸代谢途径发挥作用。**结论** 冠心通络方通过多靶点、多通路改善post-MI HF,其机制与抑制HIF-1 α /VEGF信号通路及调控关键代谢途径有关。**关键词:** 冠心通络方;心肌梗死后心力衰竭;超高效液相色谱-质谱;网络药理学;代谢组学;分子对接;HIF-1 α /VEGF信号通路

中图分类号: R285.5; R966

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)04-1367-12

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.04.043

心力衰竭(HF)是以心脏结构或功能障碍导致泵血功能减退为特征的临床综合征,是多种心血管疾病的终末阶段,其高患病率、住院率及致死率造成重大公共卫生负担^[1-2]。心肌梗死(MI)是HF的首要病因,流行病学显示MI后30 d至7年内, HF发生率高达13.1%~37.5%^[3]。现代医学以“新四联”为基础的规范化药物治疗虽能改善心肌梗死后心力衰竭(post-MI HF)的预后,但需长期足量维持,且存在介入治疗后再狭窄、微血管

功能障碍、血流重建不完全等局限^[4],亟需探索更有效的干预策略。

中医药基于“整体观念”与“辨证施治”原则,可通过多组分协同调控多靶点,治疗post-MI HF优势明显^[5]。冠心通络方由门九章教授创制(国家首批中医学术流派-山西门氏杂病流派),融黄芪桂枝五物汤与血府逐瘀汤之精华,具有“调和营卫、益气化滞”之效。作为课题组治疗post-MI HF的临床协定方,前期临床试验(伦理号

收稿日期: 2025-10-11

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(82260911);广东省中医药局面上项目(20241271);深圳市科技项目(JCYJ20240813160629039);深圳市福田区卫生科研项目(FTWS024、FTWS058);广州中医药大学校院联合科技创新基金(GZYFT2024G16)

作者简介: 范雅雯(1992—),女,博士,研究方向为中医药防治心血管疾病。E-mail: fanyawen1992@126.com.

*通信作者: 张天奉(1968—),男,博士,主任中医师,博士生导师,研究方向为中医药防治心血管疾病。E-mail: tianfeng_zhang8977@163.com

GZYL (KY)-2025-002) 证实其可显著改善患者症状及生活质量,但其活性物质基础与代谢调控机制尚未明晰。因此,本研究通过UHPLC-QE-MS解析冠心通络方的成分,联合GEO数据库、网络药理学及分子对接预测其干预post-MI HF的靶标,并进行体内验证,再结合代谢组学分析下游代谢谱变化,系统阐明冠心通络方的药理特性及整体调控机制,为临床应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 动物 60只雄性SD大鼠,体质量190~220 g,购自广东省医学实验动物中心[实验动物生产许可证号SCXK(粤)2022-0002],饲养于深圳市荣湾生物科技有限公司实验动物中心SPF级屏障环境[实验动物使用许可证号SYXK(粤)2022-0292],自由摄食饮水,环境温度(22±2)℃,相对湿度67%,12 h/12 h昼夜循环。实验遵循实验动物伦理委员会标准、国家《关于善待动物的指导性意见》及ARRIVE指南2.0,并经广州中医药大学深圳医院(福田)伦理委员会批准通过(批准号IACUC-24-0105)。

1.2 试剂与药物 冠心通络方包括黄芪30 g,人参15 g,桂枝、丹参、赤芍、(生)枳实、红花及生姜各9 g,购于广州中医药大学深圳医院(福田)门诊中药房,由药学部主管中药师廖昔威鉴定合格。上述药材浸泡2 h后,水煎煮2次,过滤,合并滤液,减压浓缩至生药质量浓度为1 g/mL的中药原液,完全冷却后置于灭菌玻璃药瓶,4℃储存备用。组织固定液、苏木素-伊红(HE)染色试剂盒、Masson染色试剂盒、DAB显色试剂盒、CD₃₁一抗、BCA蛋白定量检测试剂盒、HRP标记山羊抗兔二抗(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号G1101、G1005、G1006、G1212、GB11063-2、G2026、GB23303);NT-proBNP、cTnI、HIF-1 α 、VEGF ELISA试剂盒(江苏酶免实业有限公司,货号MM-0329R1、MM-0426R2、MM-0390R1、MM-0807R2);VEGF、HIF-1 α 、TGF- β 1、 α -SMA、Collagen I、Collagen III一抗(美国Affinity Biosciences公司,货号AF5131、AF1009、AF1027、AF1032、AF7001、AF5457)。

1.3 仪器 MyLab X7 VET台式动物专用彩超(上海玉研科学仪器有限公司);ML31-M光学显微镜(广州市明美光电技术有限公司);AE02-ALC-V8S小动物呼吸机[东方化玻(北京)科技有限公司];CFX Connect荧光定量PCR仪(美国Bio-

Rad公司);DVE-4垂直电泳仪、BVT-4转膜仪、SPW-DM电泳电源(武汉赛维尔生物科技有限公司);Q ExactiveTM HF/Q ExactiveTM HF-X质谱仪、Vanquish UHPLC色谱仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)。

1.4 冠心通络方化学成分分析

1.4.1 供试品溶液制备 200 μ L中药样品加入600 μ L甲醇(1:3),超声处理30 min,4℃12 000 r/min离心10 min,取100 μ L上清液进样分析。

1.4.2 色谱条件 ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(2.1 mm \times 100 mm,1.8 μ m);流动相0.1%甲酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~1 min,2%B;1~14 min,30%B;14~28 min,100%B;28~30 min,2%B);体积流量0.3 mL/min;柱温40℃;进样量6 μ L。

1.4.3 质谱条件 电喷雾离子源(ESI);正负离子扫描;喷雾电压3.5~3.7 kV;毛细管加热温度320℃;脱溶剂温度300℃;鞘气压力30 psi(1 psi=6.895 kPa);辅助气压力10 psi;扫描范围m/z 100~1 500;分辨率70 000。

1.4.4 质谱数据分析 质谱数据经Progenesis QI 3.0软件预处理(峰提取/去卷积),由TCMSP数据库及自建理论库进行多维验证,综合判定化合物结构。

1.5 网络药理学分析

1.5.1 冠心通络方活性成分及其作用靶点筛选 基于TCMSP数据库(<https://tcmospw.com/tcmosp.php>)获取冠心通络方8味中药成分,与UHPLC-QE-MS结果交叉匹配后取交集,按口服生物利用度(OB) \geq 30%且药物相似度(DL) \geq 0.18筛选活性成分;通过PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)获取其SMILES结构,经SwissTargetPrediction数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)预测靶点(Probability>0),合并去重后由UniProt数据库(<https://www.uniprot.org/>)统一转化标准基因名。

1.5.2 GEO芯片数据挖掘 基于GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)GSE59867数据集(Affymetrix HuGene 1.0 ST芯片),分析111例ST段抬高型MI患者4个时间节点(入院、出院、出院后1个月、出院后6个月)及46例对照组的PBMCs mRNA。对比急性期(入院、出院、出院后1个月)、稳定期(出院后6个

月)及对照组样本,并依据NT-proBNP及LVEF将患者分为HF组与非HF组。基于Perl 5.40.2软件将GPL5175平台探针ID转换为Gene Symbol;运用R 4.5.1软件的limma包筛选差异表达基因(DEG),筛选条件为 $P < 0.05$ 且 $|\log_2FC| > 0$,并通过ggplot2绘制火山图。

1.5.3 冠心病治疗 post-MI HF 的潜在作用靶点筛选 基于GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)、OMIM数据库(<https://omim.org/>)、TCMID数据库(<https://bidd.group/TCMID/index.html>),以“myocardial infarction”和“heart failure”为关键词并行检索疾病靶点,经UniProt数据库标准化后整合去重,获得MI与HF共有靶点,合并前述生信结果得到post-MI HF疾病靶点集。通过Venn图取交集,筛选出冠心病治疗post-MI HF的核心潜在靶点。

1.5.4 蛋白质互作(PPI)网络构建及核心靶点筛选 将潜在靶点导入STRING数据库(<https://string-db.org/>),设置置信度阈值 ≥ 0.7 ,构建人源PPI网络,导入Cytoscape 3.10.2软件中进行拓扑分析,筛选度中心性(DC) $> 2 \times$ 中位数的节点作为核心靶点并进行可视化。

1.5.5 GO功能及KEGG通路富集分析 基于Metascape数据库(<https://metascape.org/>)对核心靶点进行GO功能及KEGG富集分析($P < 0.05$),可视化最显著的前10个GO条目(含BP/MF/CC)及前20条KEGG通路。

1.5.6 “药物-成分-靶点-通路”网络构建 整合核心靶点、活性成分及KEGG通路数据,基于Cytoscape软件构建“成分-靶点-通路”多维异质网络并行拓扑分析。

1.6 分子对接 获取核心药物成分结构与靶点蛋白结构,经PyMol 3.0.3软件预处理及AutoDock Tools 1.5.6软件优化,由PyRx软件执行分子对接(受体-配体结合能计算),Discovery Studio 2020软件可视化。

1.7 动物实验验证

1.7.1 post-MI HF大鼠模型构建、分组及给药 大鼠腹腔注射1.5%戊巴比妥钠(50 mg/kg)进行麻醉,气管插管连接呼吸机(80 bpm, I:E=1:2, VT=8 mL/kg),经左胸第三肋间开胸,用5-0缝合线结扎冠状动脉左前降支,结扎后心室前壁区域心肌瞬间变白伴随心跳减弱;连接心电图机验证ST段显著抬高至背侧弓形后,用4-0缝合线关胸,假

手术组仅穿线不结扎。术后3 d内肌注青霉素 1×10^5 U/d抗感染。造模后经超声心动图筛选心室射血分数(LVEF)较基线下降 $> 15\%$ 的HF大鼠,随机分为模型组和冠心痛络方低、中、高剂量组(4.46、8.91、17.82 g/kg)(按体表面积折算动物等效剂量),同时假手术组和模型组灌胃给予等量生理盐水,持续6周后取材。

1.7.2 心功能检测 实验末期各组随机抽取5只大鼠,异氟烷麻醉,获取M型超声图,记录LVEF、左心室短轴缩短率(LVFS)、左心室收缩末期内径(LVIDs)、左心室舒张末期内径(LVIDd)。

1.7.3 样本收集 (1)血液,各组大鼠禁食12 h后麻醉,腹主动脉采血6~10 mL,室温静置30 min,3 500 r/min离心15 min,取血清备检;(2)组织,取血后暴露大鼠胸腔,剪开右心耳,预冷PBS灌注腹主动脉后取心脏,沿水平面分切心脏,上半部分冷冻保存,下半部分经4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,在梗死区切片,厚度4 μm 。

1.7.4 血清生化检测 ELISA法检测NT-proBNP、cTnI、HIF-1 α 和VEGF水平,采用酶标仪在450 nm波长处测定吸光度。

1.7.5 心肌组织形态学观察 石蜡切片经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化后,进行HE及Masson染色,中性树脂胶封片镜检,Image J软件分析胶原容积分数(CVF)。

1.7.6 心梗边缘区CD₃₁的表达 石蜡切片常规脱蜡水化,抗原修复,3% H₂O₂孵育25 min后,PBS漂洗3次,3% BSA室温封闭30 min,加一抗(1:500)4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,PBS漂洗3次,加二抗(1:200)室温孵育50 min,PBS漂洗3次,DAB显色,苏木素复染及分化返蓝,脱水,透明,封片。CD₃₁免疫组化染色切片按Weidner法评估微血管密度(MVD):在100倍视野下选定5个微血管最密集区,然后在400倍高倍视野(HPF)下计数棕黄色单个内皮细胞或细胞簇(计为1个微血管),排除管腔直径 $> 20 \mu\text{m}$ 或肌层 ≥ 3 层的血管,每张切片取5个热点视野,MVD=微血管数(MVC)/HPF。

1.7.7 RT-qPCR法检测心肌组织HIF-1 α 、VEGF、TGF- β 1、 α -SMA、Collagen I/III mRNA表达 取100 mg心肌组织液氮研磨,TRIzol裂解、氯仿分层后离心,取上清,冰上静置30 min离心后弃上清,提取总RNA,逆转录成cDNA后进行PCR反应。反应程序为95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s;95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s,60 $^{\circ}\text{C}$

30 s, 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因相对表达量 (以 GAPDH 为内参), 引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

基因	正向序列(5'→3')	反向序列(5'→3')
HIF-1 α	TTCTCCAAGCCCTCCGAGTGTG	GCGGTGGCAGTGACAGTGATG
VEGF	CACGACAGAAGGGGAGCAGAAAAG	GGCACACAGGACGGCTTGAAG
Collagen I	AGAGGCATAAAGGGTCATCCTG	AGACCCGTTAGTCCATCTTTGC
Collagen III	CTGGTTTCTTCTCACCTGCTT	CATATTTGACATGGTTCTGGCTTC
TGF- β 1	TGCTTCAGCTCCACAGAGAA	TGGTTGTAGAGGGCAAGGAC
α -SMA	TGGCCACTGCTGCTTCTCTTCTT	GGGGCCAGCTTCCTCATACTCCT
GAPDH	CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG	GGTGGAAGAAATGGGAGTTGCT

1.7.8 Western blot 法检测心肌组织 HIF-1 α 、VEGF、TGF- β 1、 α -SMA、Collagen I/III 蛋白表达 取大鼠心肌组织, 裂解、匀浆、离心后提取总蛋白, BCA 法定量, SDS-PAGE 电泳后转 NC 膜, 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h, 加入一抗 (1 : 1 000) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 二抗 (1 : 10 000) 室温孵育 1 h, ECL 发光液显影, 以 GAPDH 为内参, 通过 Image J 软件分析靶蛋白条带灰度值, 蛋白相对表达量 = 靶蛋白灰度/内参灰度。

1.8 血清代谢组学分析

1.8.1 血清样本预处理 取 100 μ L 血清置于 EP 管中, 加入 400 μ L 80% 甲醇, 涡旋震荡后冰浴静置 5 min, 4 $^{\circ}$ C、15 000 r/min 离心 20 min。取适量上清, 加质谱级水稀释至甲醇体积分数为 53%, 4 $^{\circ}$ C、15 000 r/min 再次离心 20 min 后收集上清, 待 LC-MS 分析。从每个血清样本中取等体积混匀, 作为质量控制 (QC) 样本。取 53% 甲醇水溶液作为空白样本, 处理过程与血清样本相同。

1.8.2 色谱条件 Hypersil Gold column C₁₈ 色谱柱 (100 mm \times 2.1 mm, 1.9 μ m); 流动相 0.1% 甲酸 (A) - 甲醇 (B); 梯度洗脱 (0~1.5 min, 2% B; 1.5~3 min, 85% B; 3~10 min, 100% B; 10~12 min, 2% B); 体积流量 0.2 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}$ C。

1.8.3 质谱条件 电喷雾离子源 (ESI); 正负离子扫描; 喷雾电压 3 500 V; 离子传输管温度 320 $^{\circ}$ C; 辅助气加热器温度 350 $^{\circ}$ C; 鞘气压力 35 psi (1 psi = 6.895 kPa); 辅助气体积流量 10 L/min; 扫描范围 m/z 100~1 500。

1.8.4 数据预处理和分析 代谢组数据导入 Compound Discoverer 3.3 软件处理, 对检测到的代谢物特征峰进行提取、校正及峰面积定量。整合目标离子, 基于分子离子峰及碎片离子信息预测分子式, 与 mzCloud 数据库 (<https://www.mzcloud.org/>)、mzVault 数据库 (<https://www.mzvault.org/>) 及 Masslist 数据库 (<https://webbook.nist.gov/chemistry/ri/>) 比对鉴定, 使用空白样本扣除背景离子干扰, 原始定量结果经标准化处理获得相对峰面积, 剔除 QC 样本中相对标准偏差 >30% 的化合物, 最终获得代谢物的鉴定结果及其相对定量数据。多元统计分析采用 metaX Pipeliner 软件, 转换数据后执行主成分分析 (PCA) 与正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA), 并提取各代谢物的变量重要性投影 (VIP), 单变量分析采用 t 检验, 评估组间代谢物差异性并计算差异倍数 (FC), 筛选条件为 VIP>1, $P<0.05$, 且 $FC\geq 2$ 或 $FC\leq 0.5$, 鉴定得到的代谢物使用 KEGG、HMDB 数据库 (<https://hmdb.ca/metabolites>) 及 LIPIDMaps 数据库 (<http://www.lipidmaps.org/>) 注释, 代谢通路富集通过 MetaboAnalyst 6.0 平台进行。

1.9 代谢组学与网络药理学整合分析 利用 Cytoscape 软件中的 MetScape 插件, 导入血清代谢组学中筛选出的差异代谢物和网络药理学的关键作用靶点, 构建“代谢物-反应-酶-基因”网络并进行可视化。

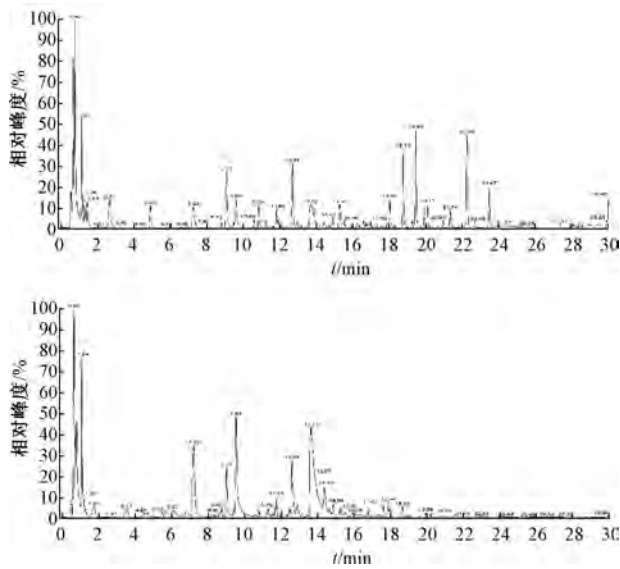
1.10 统计学分析 通过 SPSS 30.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 符合正态分布且方差齐时, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 S-N-K 检验; 方差不齐时采用 Welch 检验, 组间两两比较 Dunnett's T3 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 冠心通路方成分鉴定 从冠心通路方中共鉴定出 170 种成分, 含黄酮类、异黄酮类、肉桂酸、嘌呤核苷、孕烯醇酮脂类和羧酸类等, 其中 111 种来源明确, 正、负离子模式下总离子流图见图 1。

2.2 网络药理学分析

2.2.1 冠心通路方活性成分及其潜在的作用靶点 基于 TCMS 数据库, 从冠心通路方中共鉴定



注：上图为正离子模式；下图为负离子模式。

图1 冠心病方UHPLC-QE-MS总离子流图

表2 冠心病方活性成分的特征信息

序号	MOL ID	化合物	分子式	加合物	实测值 m/z	误差 ($\times 10^{-6}$)	保留时间/ min	OB/%	DL	来源
1	MOL00002	鞣花酸	$C_{14}H_6O_8$	$[M-H]^-$	301.00	1.25	10.66	43.06	0.43	赤芍
2	MOL001921	芍药新苷	$C_{23}H_{26}O_{10}$	$[M+FA-H]^-$	507.15	1.17	13.58	49.12	0.80	赤芍
3	MOL001924	芍药苷	$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M+FA-H]^-$	525.16	0.70	9.64	53.87	0.79	赤芍/(生)枳实
4	MOL000492	儿茶素	$C_{15}H_{14}O_6$	$[M-H]^-$	289.07	1.84	6.69	54.83	0.24	赤芍/桂枝/人参
5	MOL007004	芍药内酯苷	$C_{23}H_{28}O_{11}$	$[M+H]^+$	481.17	-1.63	9.13	48.70	0.33	赤芍/(生)枳实
6	MOL000392	芒柄花素	$C_{16}H_{12}O_4$	$[M-H]^-$	267.07	0.66	17.96	69.67	0.21	黄芪
7	MOL000417	毛蕊异黄酮	$C_{16}H_{12}O_5$	$[M-H]^-$	283.06	1.08	15.31	47.75	0.24	黄芪
8	MOL002754	山柰酚	$C_{15}H_{10}O_6$	$[M+H]^+$	287.05	-2.13	16.91	62.13	0.27	黄芪/红花/赤芍/人参
9	MOL005401	人参皂苷 Rg5	$C_{42}H_{70}O_{12}$	$[M+FA-H]^-$	811.49	3.58	22.03	39.56	0.79	人参
10	MOL013277	异橙黄酮	$C_{20}H_{20}O_7$	$[M+H]^+$	373.13	-2.45	18.12	51.15	0.44	赤芍/(生)枳实
11	MOL001798	新橙皮苷	$C_{28}H_{34}O_{15}$	$[M+H]^+$	611.20	-2.36	12.73	71.16	0.27	(生)枳实/桂枝/赤芍
12	MOL004328	柚皮素	$C_{15}H_{12}O_5$	$[M+H]^+$	273.08	-2.73	16.36	59.29	0.21	(生)枳实/红花/赤芍
13	MOL005828	川陈皮素	$C_{21}H_{22}O_8$	$[M+H]^+$	403.14	-2.37	19.47	61.66	0.51	(生)枳实/赤芍
14	MOL005849	香蜂草苷	$C_{28}H_{34}O_{14}$	$[M+H]^+$	595.20	-1.42	15.35	38.55	0.23	(生)枳实/赤芍
15	MOL007125	新隐丹参酮	$C_{19}H_{22}O_4$	$[M+H]^+$	315.16	-2.73	21.38	52.48	0.32	丹参
16	MOL007151	丹参二醇 B	$C_{18}H_{16}O_5$	$[M+H]^+$	313.11	-2.62	16.29	42.66	0.45	丹参
17	MOL007152	紫丹参素 E	$C_{18}H_{16}O_5$	$[M+H-H_2O]^+$	295.10	-2.16	18.81	42.85	0.45	丹参
18	MOL007154	丹参酮 II _A	$C_{19}H_{18}O_3$	$[M+H]^+$	295.13	-1.69	23.47	49.88	0.39	丹参/赤芍

2.2.4 冠心病方治疗 post-MI HF 的 PPI 网络及关键靶点 230 个交集靶点经 STRING 数据库构建 PPI 网络，见图 3C。利用 Cytoscape 软件进行网络拓扑结构分析和可视化，节点面积/颜色映射 Degree 值，筛选 Degree 值前 28 的核心靶点，含 HIF-1 α 与 VEGF 等关键靶标，见图 3D。

2.2.5 核心靶点的 GO 功能及 KEGG 通路富集分析 GO 分析获得 2 898 个 BP、152 个 CC、260 个 MF 条目，前 10 条可视化图见图 3E。KEGG 通路富集分析共获得 205 条通路，显著富集于 PI3K-Akt、MAPK、TNF、钙信号、IL-17、HIF-1 等 post-MI HF 相关通路，排名前 20 位的通路可视化图见图 3F。

出 211 种化学成分，来源于赤芍 29 种，丹参 59 种，桂枝 42 种，红花 22 种，黄芪 20 种，人参 22 种，生姜 5 种，枳实 22 种，经 UniProt 数据库标准化并去重后获得 284 个作用靶点，与 UHPLC-QE-MS 分析结果取交集后，按 $OB \geq 30\%$ 及 $DL \geq 0.18$ 的条件筛选出 18 种活性成分，见表 2。

2.2.2 post-MI HF 患者样本 GEO 数据库差异基因分析 GSE59867 数据集分析鉴定出 306 个 post-MI HF 差异表达基因，含上调基因 92 个、下调基因 214 个，见图 2。

2.2.3 冠心病方治疗 post-MI HF 的核心靶点 数据库中分别检索出 6 761 个 MI 靶点和 17 209 个 HF 靶点，经过 Venn 分析取交集获得 5 314 个疾病靶点，见图 3A。疾病、GEO、药物三者靶点取交集，Venn 分析得到 230 个核心靶点，见图 3B。

2.2.6 “药物-成分-靶点-通路”网络 将筛选出的药物化合物、核心靶点和关键通路导入 Cytoscape 软件，构建“药物-成分-靶点-通路”多维网络，见图 3G~3I。结果表明，冠心病方可通过鞣花酸、芍药苷、儿茶素、芒柄花素、柚皮素、川陈皮素、香蜂草苷、新隐丹参酮、丹参酮 II_A、新橙皮苷、异橙黄酮、毛蕊异黄酮、丹参二醇 B、紫丹参素 E 共 14 种核心活性成分，多靶点调控 HIF-1 α /VEGF 信号通路，从而干预 post-MI HF。

2.3 分子对接 冠心病方关键活性成分与 HIF-1 α /VEGF 的结合自由能均 < -5 kcal/mol，证实强结合活性，见表 3。部分活性成分（如芒柄花素、柚

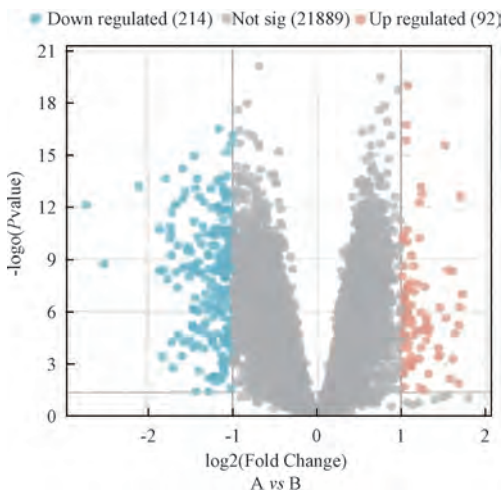


图2 差异基因火山图

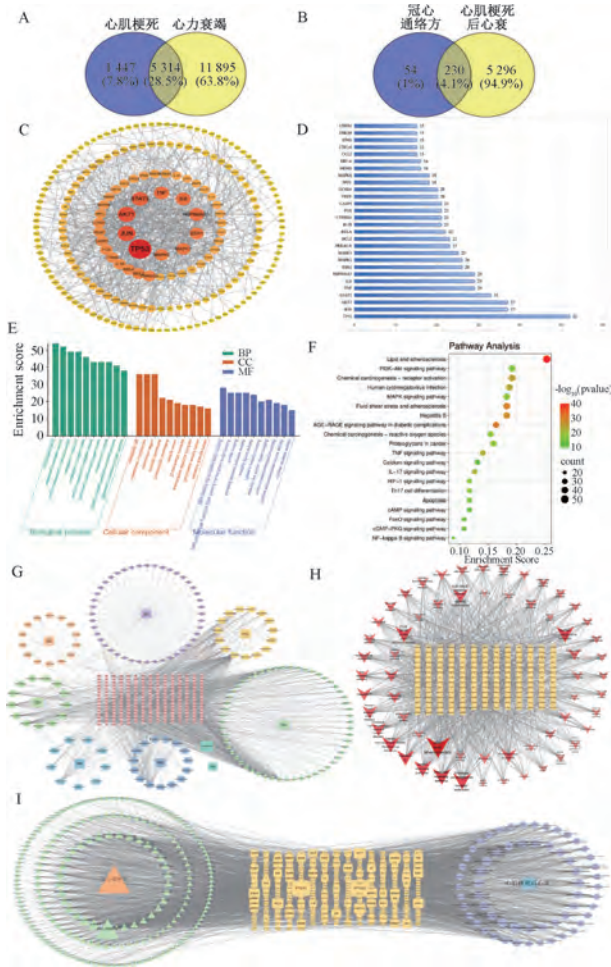


图3 网络药理学分析

表3 关键活性成分与关键靶点的结合自由能 (kcal/mol)

活性成分	结合自由能		活性成分	结合自由能	
	HIF-1 α	VEGF		HIF-1 α	VEGF
柚皮素	-7.2	-6.5	鞣花酸	-8.4	-6.9
香蜂草苷	-9.2	-7.2	儿茶素	-7.4	-7.0
川陈皮素	-6.9	-5.6	毛蕊异黄酮	-6.8	-6.5
芒柄花素	-6.8	-6.7	紫丹参素 E	-7.9	-6.1
芍药苷	-7.6	-7.1	新橙皮苷	-8.5	-6.9
丹参二醇 B	-8.4	-7.2	异橙黄酮	-7.0	-6.1
丹参酮 II _A	-8.7	-7.0	新隐丹参酮	-7.4	-5.9

皮素及丹参酮 II_A) 与靶点的结合模式可视化图见图 4。

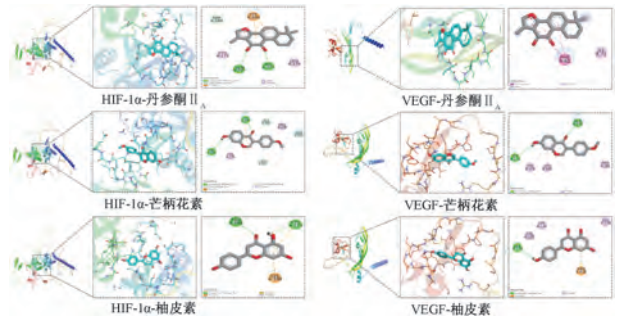


图4 分子对接模型

2.4 动物实验

2.4.1 冠心痛络方对 post-MI HF 大鼠心功能的影响 与假手术组比较, 模型组 LVEF、LVFS 降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), LVIDs、LVIDd 升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 各给药组 LVEF、LVFS 升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), LVIDs、LVIDd 降低 ($P < 0.05$), 见表 4。

2.4.2 冠心痛络方对 post-MI HF 大鼠血清 NT-proBNP、cTnI、HIF-1 α 和 VEGF 水平的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠血清 NT-proBNP、cTnI、HIF-1 α 和 VEGF 水平升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠血清 NT-proBNP、cTnI、HIF-1 α 和 VEGF 水平均呈剂量依赖性降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见表 5。

2.4.3 冠心痛络方对 post-MI HF 大鼠心肌组织病理形态的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠心肌组织呈现明显的纤维化、炎性浸润及细胞排列紊乱, 间质沉积大量胶原纤维, CVF 升高 ($P < 0.01$);

表4 各组大鼠心功能比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

组别	LVEF/%	LVFS/%	LVIDd/mm	LVIDs/mm
假手术组	82.40 \pm 3.05	45.80 \pm 3.27	5.30 \pm 0.25	3.44 \pm 0.24
模型组	54.80 \pm 0.84**	26.40 \pm 1.34*	7.92 \pm 0.35*	5.88 \pm 0.30*
冠心痛络方低剂量组	64.20 \pm 3.27 Δ	30.80 \pm 2.39 Δ	7.32 \pm 0.29 Δ	4.76 \pm 0.27 Δ
冠心痛络方中剂量组	69.40 \pm 1.14 $\Delta\Delta$	34.80 \pm 1.64 Δ	6.68 \pm 0.32 Δ	4.28 \pm 0.29 Δ
冠心痛络方高剂量组	75.40 \pm 1.67 $\Delta\Delta$	39.40 \pm 1.67 Δ	6.06 \pm 0.11 Δ	3.92 \pm 0.18 Δ

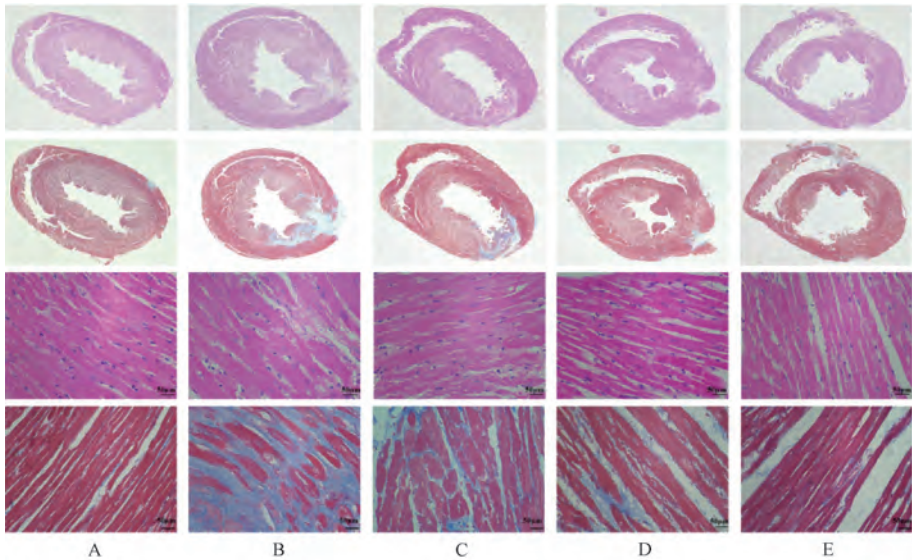
注: 与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

表5 各组大鼠血清 NT-proBNP、cTnI、HIF-1 α 和 VEGF 水平比较 ($\bar{x}\pm s, n=7$)

组别	NT-proBNP/(pg·mL ⁻¹)	cTnI/(ng·L ⁻¹)	HIF-1 α /(ng·L ⁻¹)	VEGF/(pg·mL ⁻¹)
假手术组	38.21±0.25	163.35±2.24	84.23±1.75	167.52±3.40
模型组	54.59±1.02**	207.81±2.93*	109.80±1.30*	208.65±3.29**
冠心通络方低剂量组	46.82±0.75 $\Delta\Delta$	194.69±2.92 Δ	103.54±1.78 Δ	197.18±2.30 $\Delta\Delta$
冠心通络方中剂量组	42.85±0.48 $\Delta\Delta$	188.73±11.97 Δ	98.40±1.33 Δ	187.21±1.89 $\Delta\Delta$
冠心通络方高剂量组	41.91±0.79 $\Delta\Delta$	176.60±2.69 Δ	93.09±1.27 Δ	182.00±0.68 $\Delta\Delta$

注：与假手术组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P<0.05$ ， $\Delta\Delta P<0.01$ 。

与模型组比较，各给药组大鼠心肌组织纤维化、炎症程度与间质胶原纤维沉积水平均呈剂量依赖性减轻，CVF降低 ($P<0.01$)，见图5、表6。



注：A为假手术组，B为模型组，C~E分别为冠心通络方低、中、高剂量组。

图5 各组大鼠心肌组织病理形态 (HE, Masson, $\times 400$)

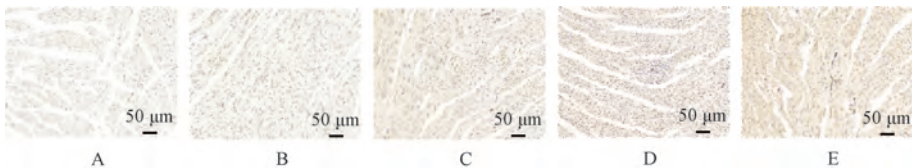
表6 各组大鼠心肌组织胶原纤维沉积情况比较 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	CVF/%
假手术组	2.14±0.90
模型组	27.1±2.56**
冠心通络方低剂量组	16.4±0.73 $\Delta\Delta$
冠心通络方中剂量组	11.94±1.59 $\Delta\Delta$
冠心通络方高剂量组	6.9±1.41 $\Delta\Delta$

注：与假手术组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较， $\Delta\Delta P<0.01$ 。

2.4.4 冠心通络方对 post-MI HF 大鼠心肌微血管的影响 与假手术组比较，模型组大鼠微血管数及密度均明显增加 ($P<0.01$)；与模型组比较，各给药组大鼠微血管数及密度均呈剂量依赖性增加 ($P<0.05, P<0.01$)，见图6、表7。

2.4.5 冠心通络方对 post-MI HF 大鼠 HIF-1 α 、VEGF、TGF- β 1、 α -SMA、Collagen I/III 蛋白表达的影响 与假手术组比较，模型组大鼠心肌组织



注：A为假手术组，B为模型组，C~E分别为冠心通络方低、中、高剂量组。

图6 各组大鼠心肌组织 CD₃₁ 的表达 (IHC, $\times 200$)

HIF-1 α 、VEGF、TGF- β 1、 α -SMA、Collagen I/III 蛋白表达升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，冠心通络方各给药组 HIF-1 α 、VEGF、TGF- β 1、 α -SMA (除低剂量组外)、Collagen I/III 蛋白表达呈剂量依

赖性降低 ($P<0.05$)，见图7、表8。

2.4.6 冠心通络方对 post-MI HF 大鼠 HIF-1 α 、VEGF、TGF- β 1、 α -SMA、Collagen I/III mRNA 表达的影响 与假手术组比较，模型组大鼠心肌组织中

表 7 各组大鼠心肌微血管数量比较 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	MVC/条	MVD/(条/视野)
假手术组	425.6±60.6	1.1±0.2
模型组	593.4±52.2**	1.5±0.1**
冠心通络方低剂量组	666.0±95.6 [△]	1.7±0.2 [△]
冠心通络方中剂量组	739.7±89.3 ^{△△}	1.8±0.2 ^{△△}
冠心通络方高剂量组	842.8±108.3 ^{△△}	2.1±0.3 ^{△△}

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$ 。

表 8 各组大鼠 HIF-1 α 、VEGF、TGF- β 1、 α -SMA、Collagen I/III 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	HIF-1 α / GAPDH	VEGF/ GAPDH	TGF- β 1/ GAPDH	α -SMA/ GAPDH	Collagen I/ GAPDH	Collagen III/ GAPDH
假手术组	0.05±0.01	0.07±0.01	0.03±0.02	0.05±0.02	0.07±0.02	0.07±0.01
模型组	0.52±0.09*	0.58±0.03*	0.64±0.04*	0.56±0.06*	0.58±0.05*	0.61±0.03*
冠心通络方低剂量组	0.31±0.04 [△]	0.31±0.02 [△]	0.32±0.01 [△]	0.33±0.02	0.40±0.03 [△]	0.35±0.03 [△]
冠心通络方中剂量组	0.16±0.01 [△]	0.27±0.02 [△]	0.21±0.01 [△]	0.23±0.01 [△]	0.24±0.03 [△]	0.22±0.03 [△]
冠心通络方高剂量组	0.10±0.02 [△]	0.14±0.02 [△]	0.07±0.02 [△]	0.14±0.01 [△]	0.12±0.02 [△]	0.11±0.01 [△]

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[△] $P<0.05$ 。

HIF-1 α 、VEGF、TGF- β 1、 α -SMA、Collagen I/III mRNA 表达升高 ($P<0.05, P<0.01$); 与模型组比较,各给药组大鼠心肌组织 HIF-1 α 、VEGF、

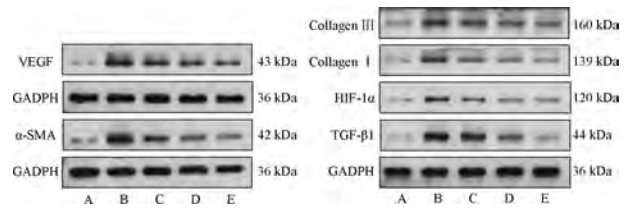
表 9 各组大鼠 HIF-1 α 、VEGF、TGF- β 1、 α -SMA、Collagen I/III mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	HIF-1 α	VEGF	TGF- β 1	α -SMA	Collagen I	Collagen III
假手术组	0.67±0.28	0.74±0.23	0.86±0.14	0.83±0.15	1.12±0.19	1.30±0.40
模型组	3.37±0.26**	3.96±0.31*	2.20±0.08*	1.42±0.09*	5.30±0.30*	4.17±0.09**
冠心通络方低剂量组	2.05±0.87 ^{△△}	2.74±0.40 [△]	1.89±0.04 [△]	1.05±0.04 [△]	3.32±0.22 [△]	3.45±0.09 ^{△△}
冠心通络方中剂量组	1.45±0.13 [△]	1.58±0.20 [△]	1.67±0.07 [△]	0.96±0.03 [△]	2.50±0.08 [△]	2.57±0.14 ^{△△}
冠心通络方高剂量组	1.12±0.46 ^{△△}	1.06±0.05 [△]	1.44±0.04 [△]	0.87±0.02 [△]	2.23±0.11 [△]	2.27±0.07 ^{△△}

注:与假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$ 。

2.5 代谢组学分析

2.5.1 有效性性与可靠性验证 基于代谢物相对定量结果, QC 样本间的 Pearson 相关系数 R^2 在正、负离子模式均 >0.99 , 表明检测稳定且数据重现性良好, 见图 8A; PCA 分析显示, 在正、负离子模式下, 模型组 vs 假手术组、冠心通络方低、中、高剂量组 vs 模型组间均呈现显著分离趋势, 见图 8B; OPLS-DA 分析进一步确认上述分组间代谢谱完全分离, 组内样本高度聚集, 提示 HF 模型成功诱导代谢紊乱且冠心通络方可显著回调。经置换检验验证, 模型组 vs 假手术组 $R^2 = 0.995, Q^2 = 0.962$ (正离子模式), $R^2 = 0.991, Q^2 = 0.891$ (负离子模式); 冠心通络方低剂量组 vs 模型组 $R^2 = 0.945, Q^2 = 0.463$ (正离子模式), $R^2 = 0.972, Q^2 = 0.609$ (负离子模式); 冠心通络方中剂量组 vs



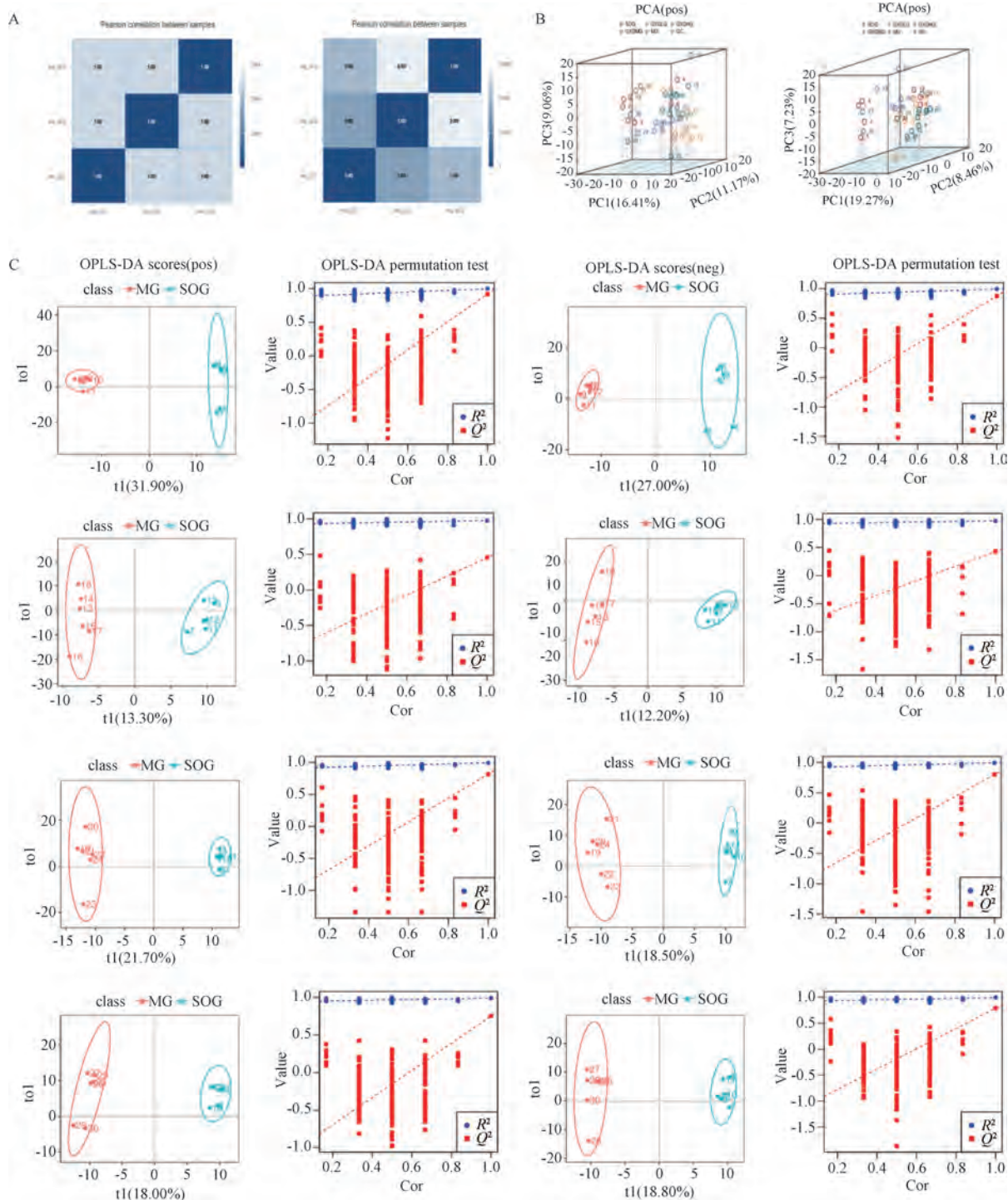
注: A 为假手术组, B 为模型组, C~E 分别为冠心通络方低、中、高剂量组。

图 7 各组大鼠心肌组织 HIF-1 α 、VEGF、TGF- β 1、 α -SMA、Collagen I/III 蛋白条带图

TGF- β 1、 α -SMA、Collagen I/III mRNA 表达呈剂量依赖性降低 ($P<0.05, P<0.01$), 见表 9。

模型组 $R^2 = 0.981, Q^2 = 0.806$ (正离子模式), $R^2 = 0.990, Q^2 = 0.823$ (负离子模式); 冠心通络方高剂量组 vs 模型组 $R^2 = 0.979, Q^2 = 0.827$ (正离子模式), $R^2 = 0.991, Q^2 = 0.857$ (负离子模式); 4 组比较均满足 R^2 值 $>Q^2$ 值, 且 Q^2 回归线与 Y 轴的截距均 <0 , 可排除过拟合风险, 确认了模型的有效性和适用性, 见图 8C。

2.5.2 差异代谢物的筛选和代谢通路分析 基于 OPLS-DA 模型的 VIP 值及独立样本 t 检验筛选差异代谢物。为增强统计效力, 将冠心通络方 3 个剂量组进行合并。结果显示, 模型组 vs 假手术组获得 48 个差异代谢物, 冠心通络方组 vs 模型组获得 59 个差异代谢物, 两者取交集后共有 18 种差异代谢物, 见表 10。这 18 种代谢物经 MetaboAnalyst 分析 (筛选标准为 $-\lg P>0.1$ 且 impact value >0.01), 显



注：A 为 QC 样本相关性分析，B 为 PCA 分析 3D 图，C 为 OPLS-DA 评分与置换检验。SOG 为假手术组，MG 为模型组，GXDLG、GXDMG、GXDHG 分别为冠心络方低、中、高剂量组。

图 8 代谢组学有效性和可靠性的模型分析 (n=6)

著富集通路包括核黄素代谢、苯丙氨酸代谢、嘧啶代谢、酪氨酸代谢和类固醇激素生物合成，提示上述代谢通路可能是冠心络方改善 post-MI HF 大鼠心功能的关键调控途径，见表 11。

2.6 血清代谢组学与网络药理学整合分析 血清代谢组学与网络药理学的 KEGG 通路整合分析揭

示 4 条共同调控通路，分别为核黄素代谢、嘧啶代谢、类固醇激素生物合成及酪氨酸代谢，基于上述通路构建“代谢物-反应-酶-基因”交互网络，见图 9。

3 讨论

《难经集注》云“心者，营卫之本”。营卫之

表 10 大鼠血清差异代谢物

代谢物	HMDB ID	模型组 vs 假手术组				冠心通络方组 vs 模型组			
		FC	P	VIP	趋势	FC	P	VIP	趋势
维吉尼霉素	HMDB0030520	0.053	0	1.539	↓	14.084	0.0045	1.761	↑
(S)-2-羟基-4-甲基戊酸	HMDB0000746	0.235	0.0001	1.654	↓	3.732	0.0035	1.689	↑
雌三醇	HMDB0000153	5.573	0.0006	1.282	↑	0.210	0.0007	1.258	↓
章鱼碱	HMDB0255912	0.149	0.0008	1.370	↓	5.509	0.0065	1.379	↑
谷氨酸-谷氨酰胺	HMDB0028817	2.266	0.0104	1.252	↑	0.389	0.0066	1.618	↓
10-硝基油酸酯	HMDB0005049	2.341	0.0439	1.403	↑	0.382	0.0258	1.321	↓
己酰甘氨酸	HMDB0000701	3.420	0.0001	1.839	↑	0.396	0.0014	1.620	↓
核黄素	HMDB0000244	0.188	0.0005	1.398	↓	2.108	0.0314	1.602	↑
环己酮葡萄糖苷	HMDB0040614	0.031	0.0010	1.487	↓	3.697	0.0355	1.086	↑
黄曲霉毒素 G2	HMDB0030475	0.202	0.0020	1.483	↓	2.660	0.0164	1.661	↑
乙酰氨基葡萄糖苷酸	HMDB0010316	0.155	0.0028	1.343	↓	5.687	0.0034	1.031	↑
胞苷二磷酸	HMDB0001546	0.220	0.0040	1.555	↓	2.390	0.0045	1.005	↑
3-苯基丙烯酸	HMDB0000930	0.186	0.0072	1.918	↓	2.613	0.0420	1.972	↑
皮质醇	HMDB0000063	1.855	0.0114	1.164	↑	0.449	0.0032	1.441	↓
谷氨酸二聚体	HMDB0028818	4.009	0.0117	1.948	↑	0.443	0.0068	1.214	↓
L-肾上腺素	HMDB0000068	2.103	0.0168	1.325	↑	0.224	0.0029	1.378	↓
水杨酸	HMDB0001895	0.323	0.0199	1.879	↓	2.068	0.0330	1.164	↑
苯乙醛	HMDB0006236	0.197	0.0390	1.197	↓	2.723	0.0124	1.801	↑

注：↑表示升高，↓表示降低。

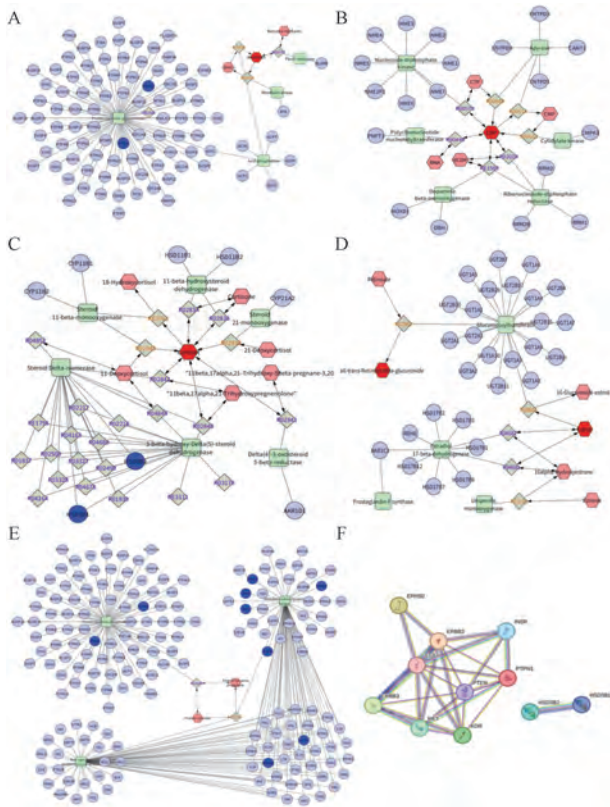
表 11 差异代谢物的代谢通路分析结果及参数

代谢通路	Match status	-log(P)	Holm P	FDR	Impact value
核黄素代谢	1	1.8238	1.0	1.0	0.5000
苯丙氨酸代谢	1	1.5255	1.0	1.0	0.1429
类固醇激素生物合成	2	1.4161	1.0	1.0	0.0326
嘧啶代谢	1	0.8586	1.0	1.0	0.0172
酪氨酸代谢	1	0.8285	1.0	1.0	0.0117

气源于脾胃化生的水谷精微，营者资心阴且“入于脉也，循脉上下，贯五脏，络六腑”；卫者煦心阳且“行于脉外，温分肉，肥腠理，司开阖”，说明营卫与心及血脉关系密切^[6]。《难经·十四难》曰：“损其心者，调其营卫”，提示营卫不和是 HF 的始因并指明其辨治方向。营卫不和致心气亏虚，血行无力则致瘀；气虚日久及阳，温运失常亦致瘀。若兼邪气阻滞，营卫气机失调，津血输布障碍，则生水饮痰浊^[7]，上述病理产物互结，共同促进 HF 进展。门教授认为心气虚（虚气）是 HF 之本，痰浊水饮（留滞）为其标，基于“大病以胃”理论创制冠心通络方^[8]，以“调和营卫、益气化滞”为治则，方中黄芪、人参合桂枝，益卫温阳以助气行血；赤芍、丹参加红花，和营祛瘀以

畅气机；生姜、枳实配伍桂枝，理气祛痰浊以疏枢纽；黄芪利水、桂枝解肌，共奏“提壶揭盖”之效，使水湿从汗尿而解。本研究采用 UHPLC-QE-MS 技术分析冠心通络方化学成分，结合 GEO 数据库与网络药理学筛选出 14 种潜在活性成分，分子对接结果表明活性成分均与 HIF-1 α 、VEGF 有较好的结合活性。现代药理学研究证实，核心成分芒柄花素、柚皮素、丹参酮 II_A 等可通过抗氧化、抗炎、抗纤维化、舒张血管等多重机制保护心脏^[9-11]。

post-MI HF 的进展涉及微血管生成障碍与病理性纤维化的恶性循环，微血管障碍始于缺血/缺氧诱导的内皮损伤，HIF-1 α 是氧稳态的核心调节因子，在 MI 初期可结合 VEGF 提高血氧供应、促进



注：A~E 分别为核黄素代谢、嘧啶代谢、类固醇激素生物合成（皮质醇代谢）、类固醇激素生物合成（雌三醇代谢）、酪氨酸代谢的“代谢物-反应-酶-基因”网络，F 为蛋白质-蛋白质相互作用网络。

图9 代谢组学和网络药理学整合分析

内皮增殖迁移及血管新生，减轻缺血损伤而发挥保护作用^[12-14]。随着病程向慢性 HF 进展，HIF-1 α /VEGF 信号通路持续激活产生负面效应，HIF-1 α 过表达会诱发血管异常生成，破坏缺血区氧供平衡^[15-16]；VEGF 过表达则导致血管通透性异常增高，加剧炎症与氧化应激^[17]，两者共同损害微血管重塑及心肌修复能力^[18]。纤维化是 post-MI HF 另一核心病理特征，研究表明，HIF-1 α 与纤维化关键因子 TGF- β 1 存在协同作用，HIF-1 α 上调 TGF- β 1 的表达，后者驱动 α -SMA⁺ 肌成纤维细胞分化及 I/III 型胶原蛋白过度沉积^[19-20]；而 TGF- β 1 亦可上调 VEGF 的表达，参与纤维化伴随的血管重塑^[21]。微血管密度标志物 CD₃₁ 在 MI 早期代偿性升高，但在 HF 后期因缺氧及 TGF- β 1 诱导的内皮损伤而降低^[22-24]。因此，靶向抑制 HIF-1 α /VEGF 信号轴并调控 TGF- β 1 及其下游效应分子是改善血管功能和减轻纤维化的关键策略。本研究表明，冠心通路方可有效抑制心肌中 HIF-1 α 、VEGF、TGF- β 1、 α -SMA 及 I/III 型胶原蛋白的表达，增加微血

管密度，改善心功能。

此外，本研究通过血清代谢组学检测发现冠心通路方可回调 18 种与疾病相关的差异代谢物。整合网络药理学，经 MetaboAnalyst 与 Metscape 联合分析后确定 4 条关键代谢通路。研究表明，核黄素代谢可增强抗氧化防御，与其介导的表观遗传修饰协同缓解缺氧性心肌损伤^[25-26]；嘧啶代谢上调有助于修复氧化应激诱导的 DNA 断裂并维持核苷酸合成以增强细胞生存能力^[27]；酪氨酸代谢紊乱与氧化应激及炎症形成恶性循环^[28]，且与心功能恶化正相关^[29]；类固醇激素生物合成失调可激活肾素-血管紧张素系统，导致水钠潴留与纤维化，加速心室重构^[30]。

综上所述，本研究整合生物信息学与动物实验，揭示冠心通路方通过多靶点、多通路改善 post-MI HF，其机制与抑制 HIF-1 α /VEGF 信号通路及调控关键代谢途径有关。但本研究尚未考察冠心通路方不同干预周期对改善作用的影响，微观分子机制及多组分协同效应有待深入验证，后续拟通过设计时序性干预方案，结合基因敲除动物模型及体外实验，深入探索该方的多靶点调控网络，拓展其病证结合应用价值。

利益冲突： 本文不存在任何利益冲突。

参考文献：

- [1] 中国老年医学学会心电与心功能分会，中国心衰中心联盟专家委员会，中华医学会《中华全科医师杂志》辑委员会. 心力衰竭早期筛查与一级预防中国专家共识（2024年）[J]. 中华全科医师杂志，2024，23(1)：7-18.
- [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 2021 概要[J]. 心脑血管病防治，2022，22(4)：20-36；40.
- [3] 中国医师协会心血管内科医师分会，中国心血管健康联盟，心肌梗死后心力衰竭防治专家共识工作组. 2020 心肌梗死后心力衰竭防治专家共识[J]. 中国循环杂志，2020，35(12)：1166-1180.
- [4] 葛均波，霍勇，杨杰孚，等. 慢性心力衰竭“新四联”药物治疗临床决策路径专家共识[J]. 中国循环杂志，2022，37(8)：769-781.
- [5] 钟燕，王振兴. 中医药治疗心肌梗死后心力衰竭的研究进展[J]. 基层中医药，2024，3(2)：119-124.
- [6] 王今，刘福明. 基于“损其心者，调其营卫”理论探讨慢性心力衰竭的辨治思路[J]. 江苏中医药，2023，55(11)：10-13.
- [7] 施敏，魏佳明，袁惠，等. 基于“虚气留滞”理论探讨心肌细胞自噬在慢性心力衰竭中的调控机制[J]. 中国中医药信息杂志，2023，30(12)：6-10.

- [8] 宁 飞, 宁 琪, 韩雅妮, 等. 门氏“大病以胃”思想初探[J]. 中医药临床杂志, 2018, 30(7): 1194-1196.
- [9] 李姗姗, 伍桂贤, 刘玉玲, 等. 芒柄花素药理作用及机制的研究进展[J]. 中国现代中药, 2024, 26(9): 1608-1617.
- [10] 伍 行, 麻 琳, 朱元玉, 等. 柚皮素在心血管疾病预防中的研究进展[J]. 河南医学高等专科学校学报, 2024, 36(5): 688-692.
- [11] 郭宁宁, 苏力德, 斯日古冷, 等. 丹参酮对细胞信号通路调控作用的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(4): 665-678.
- [12] Packer M. Mutual antagonism of hypoxia-inducible factor isoforms in cardiac, vascular, and renal disorders[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2020, 5(9): 961-968.
- [13] Sato T, Takeda N. The roles of HIF-1 α signaling in cardiovascular diseases[J]. *J Cardiol*, 2023, 81 (2): 202-208.
- [14] Zhou Y, Zhu X P, Cui H M, *et al.* The role of the VEGF family in coronary heart disease[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 738325.
- [15] Wan J, Xu F, Yin C L, *et al.* Predictive value of HIF-1 α for left ventricular remodeling following an anterior ST-segment elevation myocardial infarction[J]. *Am J Med Sci*, 2025, 369(4): 479-484.
- [16] Dong J W, Xu M J, Zhang W Y, *et al.* Effects of sevoflurane pretreatment on myocardial ischemia-reperfusion injury through the Akt/hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF-1 α)/vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling pathway[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 3100-3107.
- [17] Wang R, Zhang Z Y, Xu Z C, *et al.* Gastrin mediates cardioprotection through angiogenesis after myocardial infarction by activating the HIF-1 α /VEGF signalling pathway[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 15836.
- [18] Lai X X, Zhang N, Chen L Y, *et al.* Latifolin protects against myocardial infarction by alleviating myocardial inflammatory via the HIF-1 α /NF- κ B/IL-6 pathway[J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1): 1156-1166.
- [19] Wang F, Zhao Y, Fan K, *et al.* Apigenin suppresses TGF- β 1-induced cardiac fibroblast differentiation and collagen synthesis through the downregulation of HIF-1 α expression by miR-122-5p [J]. *Phytomedicine*, 2021, 83: 153481.
- [20] Lei R, Li J, Liu F, *et al.* HIF-1 α promotes the keloid development through the activation of TGF- β /Smad and TLR4/MyD88/NF- κ B pathways[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18 (23): 3239-3250.
- [21] Ivanova M M, Dao J, Slayeh O A, *et al.* Circulated TGF- β 1 and VEGF-A as biomarkers for fabry disease-associated cardiomyopathy[J]. *Cells*, 2023, 12(16): 2102.
- [22] Nagaraju C K, Robinson E L, Abdesselem M, *et al.* Myofibroblast phenotype and reversibility of fibrosis in patients with end-stage heart failure[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(18): 2267-2282.
- [23] Liu M R, López de Juan Abad B, Cheng K. Cardiac fibrosis: myofibroblast-mediated pathological regulation and drug delivery strategies[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 173: 504-519.
- [24] Wang G Y, Cruz A S, Youker K, *et al.* Role of endothelial and mesenchymal cell transitions in heart failure and recovery thereafter[J]. *Front Genet*, 2021, 11: 609262.
- [25] Xu Q P, Cao Y H, Zhong X Y, *et al.* Riboflavin protects against heart failure via SCAD-dependent DJ-1-Keap1-Nrf2 signalling pathway[J]. *Br J Pharmacol*, 2023, 180 (23): 3024-3044.
- [26] Wang P, Fan F, Li X, *et al.* Riboflavin attenuates myocardial injury via LSD1-mediated crosstalk between phospholipid metabolism and histone methylation in mice with experimental myocardial infarction[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 115: 115-129.
- [27] Shen Y, Kim I M, Weintraub N L, *et al.* Identification of the metabolic state of surviving cardiomyocytes in the human infarcted heart by spatial single-cell transcriptomics[J]. *Cardiol Plus*, 2023, 8(1): 18-26.
- [28] Wang Y M, Li X, Qi M, *et al.* Pharmacological effects and mechanisms of YiYiFuZi Powder in chronic heart disease revealed by metabolomics and network pharmacology[J]. *Front Mol Biosci*, 2023, 10: 1203208.
- [29] Lv J L, Pan C, Cai Y P, *et al.* Plasma metabolomics reveals the shared and distinct metabolic disturbances associated with cardiovascular events in coronary artery disease[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 5729.
- [30] Smith S, Ascione R. Targeting neuro-immune systems to achieve cardiac tissue repair following myocardial infarction: a review of therapeutic approaches from *in-vivo* preclinical to clinical studies[J]. *Pharmacol Ther*, 2023, 245: 108397.