

基于网络药理学和分子对接探讨桂枝茯苓丸治疗慢性心力衰竭的作用机制

郭 阳¹, 赵凤林², 王淑美^{1*}

¹重庆医科大学中医药学院, 重庆

²重庆中医药学院附属垫江医院, 重庆

收稿日期: 2024年9月27日; 录用日期: 2024年11月1日; 发布日期: 2024年11月14日

摘 要

目的: 运用网络药理学和分子对接技术探究桂枝茯苓丸治疗慢性心力衰竭的作用机制。方法: 通过TCMSP数据库筛选桂枝茯苓丸的活性成分及靶点; 使用GeneCards、OMIM、PharmGKB、TTD及DrugBank数据库获取慢性心力衰竭相关靶点; 采用Cytoscape3.8.0软件绘制“药物-疾病-成分-靶点”网络; 通过STRING数据库构建蛋白互作网络关系, 并使用Cytoscape及R软件筛选核心靶点; 利用R软件进行GO和KEGG富集分析; 运用AutoDock Vina软件进行分子对接。结果: 桂枝茯苓丸治疗慢性心力衰竭的核心化学成分为槲皮素、山柰酚、黄芩素等; 核心靶点为AKT1、TP53、MYC、MAPK1等; 主要通路为脂质和动脉粥样硬化、流体剪切应力和动脉粥样硬化、AGE-RAGE、IL-17、TNF、HIF-1、NF- κ B信号通路等; 分子对接显示核心活性成分与核心靶点之间结合稳定。结论: 桂枝茯苓丸通过多成分、多靶点、多通路治疗慢性心力衰竭。

关键词

慢性心力衰竭, 桂枝茯苓丸, 网络药理学, 分子对接

Based on Network Pharmacology and Molecular Docking, the Mechanism of Action of Guizhi Fuling Pill in the Treatment of Chronic Heart Failure Being Explored

Yang Guo¹, Fenglin Zhao², Shumei Wang^{1*}

¹College of Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing

²Dianjiang Hospital, Chongqing University of Chinese Medicine, Chongqing

Received: Sep. 27th, 2024; accepted: Nov. 1st, 2024; published: Nov. 14th, 2024

文章引用: 郭阳, 赵凤林, 王淑美. 基于网络药理学和分子对接探讨桂枝茯苓丸治疗慢性心力衰竭的作用机制[J]. 中医学, 2024, 13(11): 2939-2949. DOI: 10.12677/tcm.2024.1311435

Abstract

Objective: To explore the mechanism of action of Guizhi Fuling Pill in the treatment of chronic heart failure by using network pharmacology and molecular docking technology. **Methods:** The active ingredients and targets of Guizhi Fuling Pill were screened through the TCMSP database. GeneCards, OMIM, PharmGKB, TTD and DrugBank databases were used to obtain targets related to chronic heart failure. Cytoscape 3.8.0 software was used to draw the “drug-disease-component-target” network. The protein-protein interaction network was constructed through the STRING database, and the core targets were screened by Cytoscape and R software. R software was used for GO and KEGG enrichment analysis; molecular docking was performed using AutoDock Vina software. **Results:** The core chemical components of Guizhi Fuling Pill in the treatment of chronic heart failure were quercetin, kaempferol, baicalein, etc. The core targets are AKT1, TP53, MYC, MAPK1, etc.; the main pathways are lipid and atherosclerosis, fluid shear stress and atherosclerosis, AGE-RAGE, IL-17, TNF, HIF-1, NF- κ B signaling pathway, etc. Molecular docking shows stable binding between the core active ingredient and the core target. **Conclusion:** Guizhi Fuling Pill is used to treat chronic heart failure through multi-component, multi-target and multi-pathway.

Keywords

Chronic Heart Failure, Guizhi Fuling Pill, Network Pharmacology, 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)简称心衰,是由于心脏的结构和(或)功能异常改变,影响心室的收缩和(或)舒张功能,以呼吸困难、乏力和肢体水肿为主要症状的临床综合征[1],是各种心血管疾病进展至终末期的表现。多数新发心力衰竭会发展为慢性心力衰竭(Chronic Heart Failure, CHF),经过治疗后症状可能会稳定数月甚至数年,即便在症状稳定的慢性阶段,患者仍面临显著的临床恶化和死亡风险[2]。心衰已成为全球性公共卫生问题,据统计发达国家心衰患病率为1.0%~2.0% [3]。目前我国心衰患病人数890万人,心血管病现患人数3.3亿[4]。肾素-血管紧张素系统抑制剂/血管紧张素II受体拮抗剂、 β 受体阻滞剂、醛固酮受体拮抗剂、钠-葡萄糖协同转运蛋白2抑制剂作为CHF药物治疗的“新四联”[5],然而,这些药物联合治疗的总体疗效仍不尽如人意,亟需探索更多有效且安全的治疗策略和新药。

CHF属于中医“心衰”范畴,其基本病机是本虚标实,气血阴阳虚衰为本,水饮、瘀血为标[6]。心主血脉,如环无端,心气、心阳亏虚鼓动无力则血行不畅,血脉瘀滞,故在CHF发生发展过程中,血瘀贯穿始终[7]。桂枝茯苓丸由桂枝、茯苓、牡丹皮、赤芍、桃仁五味药组成,为治疗瘀血证经方。临床上桂枝茯苓丸治疗CHF取得显著的疗效。现代研究表明,桂枝茯苓丸可以抑制NF- κ B及MMP-2转录及蛋白表达,改善心肌微血管异常改变[8]。有研究发现,桂枝茯苓丸通过降低TGF- β 和Ang II的表达,从而减轻慢性心衰大鼠的心肌损伤[9]。关于桂枝茯苓丸治疗心血管疾病的作用机制研究较少,故本研究旨在通过网络药理学和分子对接技术,筛选桂枝茯苓丸治疗CHF的有效活性成分及其作用靶点,构建活性成分-靶点-疾病网络,预测核心靶点和信号通路,探讨桂枝茯苓丸治疗CHF过程中的作用机制。

2. 材料与方法

2.1. 桂枝茯苓丸活性成分与靶点

在中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TSCMSP)以“桂枝”“茯苓”“牡丹皮”“赤芍”“桃仁”为关键词进行检索。以 OB (Oral Bioavailability) $\geq 30\%$, DL (Drug Like) ≥ 0.18 为筛选标准, 得到药物的有效成分及其相关靶点。在 uniprot 数据库(<http://www.uniprot.org>)获得标准化基因名。

2.2. 慢性心力衰竭疾病靶点与“疾病-药物”交集基因

在 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<https://omim.org/>)、PharmGKB (<https://www.pharmgkb.org/>)、TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>)、DrugBank (<http://go.drugbank.com/>)数据库检索“chronic heart failure”, GeneCards 数据库设置 relevance score ≥ 1.0 。运用 R4.0.2 软件剔除重复数据并整合疾病靶点, 再利用 R 软件获取药物-疾病交集基因并绘制 Venn 图。

2.3. 构建“药物-成分-靶点”网络关系图

将药物活性成分、药物与疾病交集基因导入 Cytoscape3.8.0 软件, 构建桂枝茯苓丸治疗 CHF 的“药物-成分-靶点”网络。

2.4. 构建蛋白互作网络及筛选核心基因

通过 STRING (<https://cn.string-db.org/>)导入药物与疾病交集基因, Score 设置为 0.9, 隐藏游离节点, 构建 PPI 网络。将 PPI 网络导入 Cytoscape3.8.0 软件利用 CytoNVA 插件及 R 软件筛选核心靶点。

2.5. GO 功能和 KEGG 通路富集分析

将药物与疾病交集基因的 symbol 转换为基因 ID, 并使用 R 软件对 GO 功能、KEGG 通路和涉及的相关信号通路进行可视化分析。

2.6. 分子对接

在 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载药物有效成分的 2D 结构; 在 uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org/>)以及 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)获得核心靶点 3D 结构, 将核心靶点导入 Pymol 软件进行去除水分子和小分子配体的修饰。利用 AutoDock Vina 完成分子对接, 运用 Pymol 进行可视化处理。

3. 结果

3.1. 桂枝茯苓丸活性成分与靶点

经过检索, 获得桂枝茯苓丸的活性成分共 85 个, 其中桂枝 7 个, 茯苓 15 个, 牡丹皮 11 个, 赤芍 29 个, 桃仁 23 个。并筛选出 638 个有效成分对应靶点, 其中桂枝 74 个, 茯苓 30 个, 牡丹皮 237 个, 赤芍 158 个, 桃仁 139 个。

3.2. 慢性心力衰竭疾病靶点与“疾病-药物”交集靶点

通过 GeneCards、OMIM、PharmGKB、TTD、DrugBank 数据库检索, 分别得到 11,892 个、331 个、16 个、15 个、13 个慢性心力衰竭相关基因, 去重整合得到 11,918 个疾病靶点。通过 R 软件获得 188 个

药物有效成分与疾病交集靶点(图 1)。

3.3. 构建“药物 - 成分 - 靶点”网络

使用 Cytoscape 软件绘制“药物 - 疾病 - 成分 - 靶点”网络关系图(图 2)。该网络共有 230 个节点，422 条边。右边矩形代表药物和疾病的交集基因，左边圆圈代表药物成分，其中绿色代表桂枝、蓝色代表茯苓、红色代表牡丹皮、紫色代表赤芍、黄色代表桃仁。结果显示，该方主要成分为槲皮素、山柰酚、黄芩素、豆甾醇、 β -谷甾醇等。

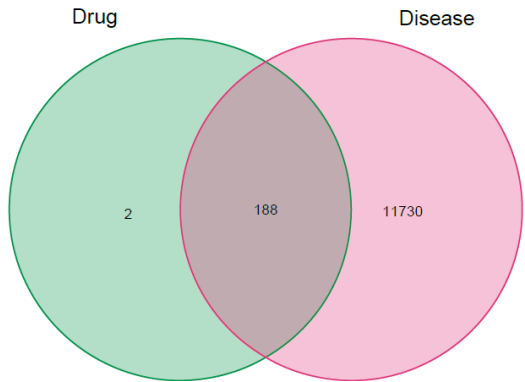


Figure 1. Targets at the intersection of drugs and diseases
图 1. 药物与疾病交集靶点

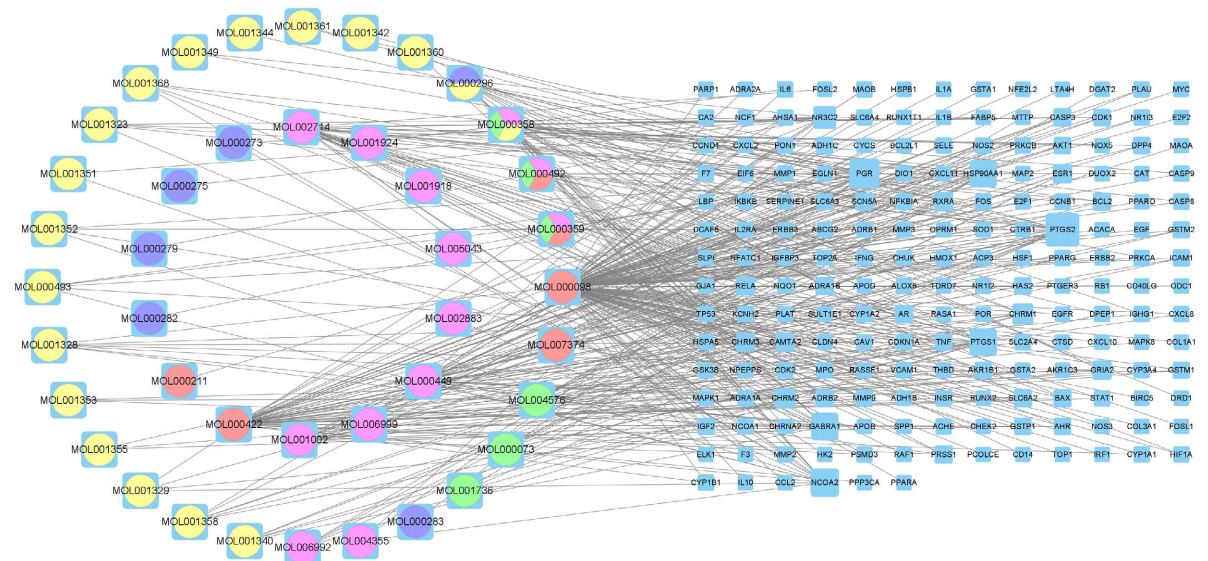
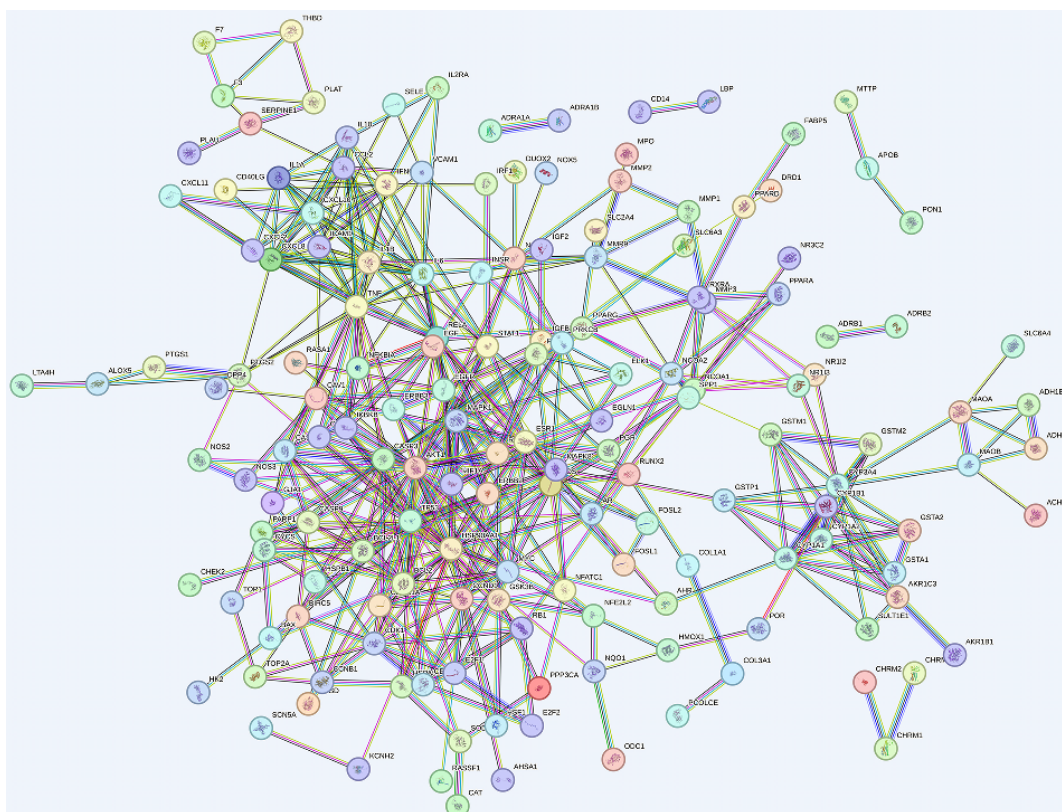


Figure 2. Drugs-components-targets diagram
图 2. 药物 - 成分 - 靶点图

3.4. 构建蛋白互作网络及筛选核心靶点

构建 PPI 的网络关系图(图 3)共有 159 个节点，964 条边，平均节点度为 12.13。利用 CytoNCA 对核心基因进行筛选，在 R 软件中选择 Betweenness、Closeness、Degree、Eigenvector、Information、LAC 中位值作为筛选标准，从而确定核心基因，见图 4。两轮筛选后获得 10 个核心基因，其中度值最高的四个基因分别是 AKT1、TP53、MYC、MAPK1。



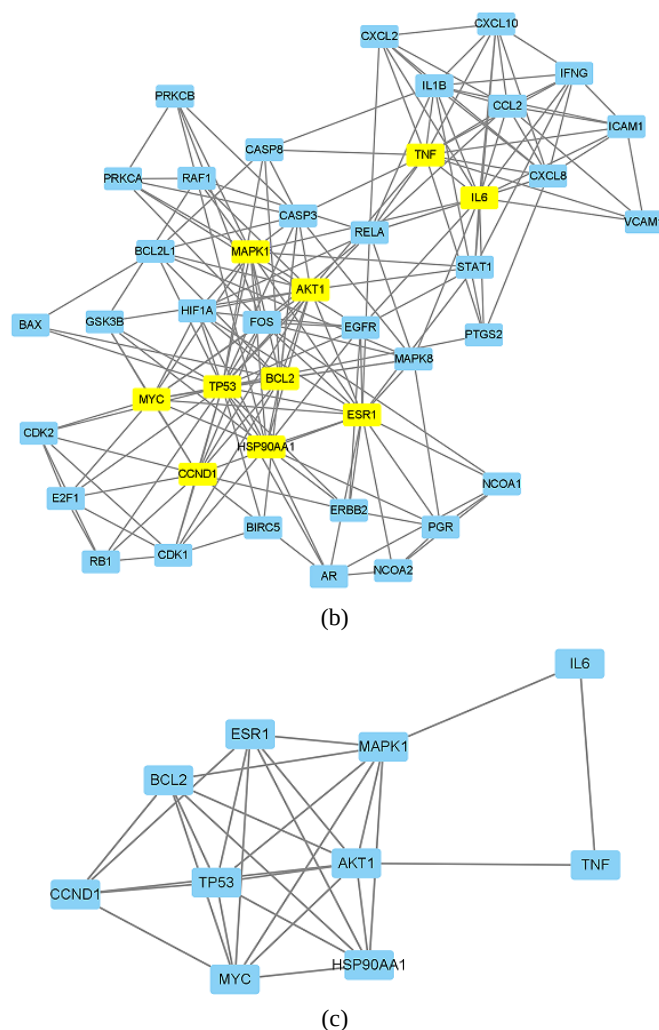


Figure 4. Core genes
图 4. 核心基因

3.5. 生物功能富集分析

GO 富集分析共筛选出 2450 个条目。其中包括生物过程(BP)条目共 2169 条, 主要与脂多糖反应(Response to Lipopolysaccharide)、活性氧反应(Response to Reactive Oxygen Species)、氧化应激反应(Response to Oxidative Stress)等相关; 细胞组分(CC)条目共 70 条, 主要与脂筏(Membrane Raft)、膜微区(Membrane Microdomain)、神经元细胞体(Neuronal Cell Body)等相关; 分子功能(MF)条目共 211 条, 主要与 DNA 结合转录因子结合(DNA-Binding Transcription Factor Binding)、RNA 聚合酶II特异性 DNA 结合转录因子结合(RNA Polymerase II-Specific DNA-Binding Transcription Factor Binding)、类泛素蛋白连接酶结合(Ubiquitin-Like Protein Ligase Binding)等相关。见图 5。

KEGG 富集分析涉及 181 条通路, 其中信号通路集中靶点居前 30 主要富集在脂质和动脉粥样硬化(Lipid and Atherosclerosis)、流体剪切应力和动脉粥样硬化(Fluid Shear Stress and Atherosclerosis)、AGE-RAGE、IL-17、TNF、HIF-1、NF- κ B 等通路。详见图 6。每条通路富集多个基因, 体现桂枝茯苓丸治疗 CHF 多靶点、多通路的特点。

根据 KEGG 富集分析结果选择 HIF-1 信号通路进行可视化分析。见图 7。



Figure 5. Gene Ontology
图 5. GO 富集分析

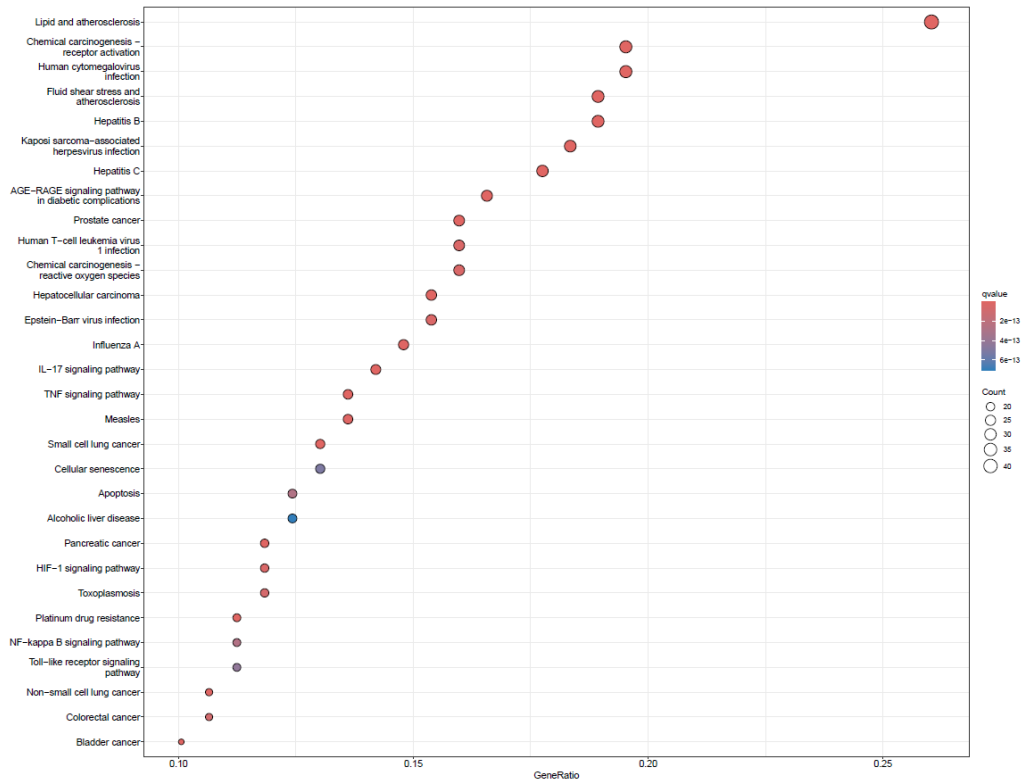


Figure 6. Kyoto encyclopedia of genes and genomes
图 6. KEGG 富集分析

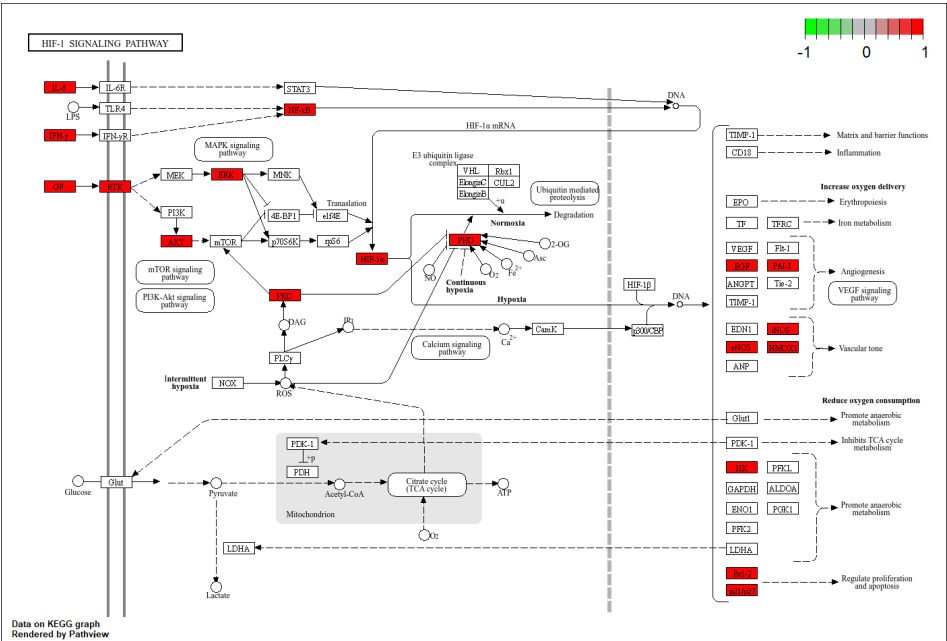


Figure 7. HIF-1 signaling pathway diagram
图 7. HIF-1 信号通路图

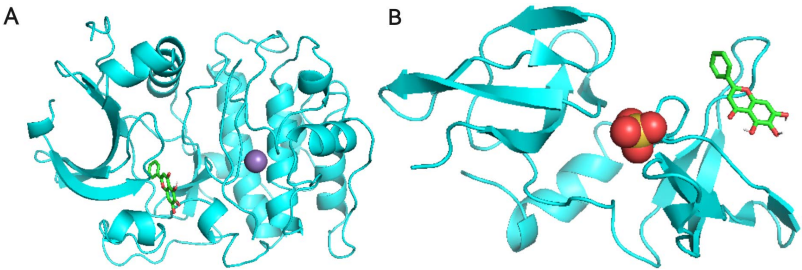
3.6. 分子对接

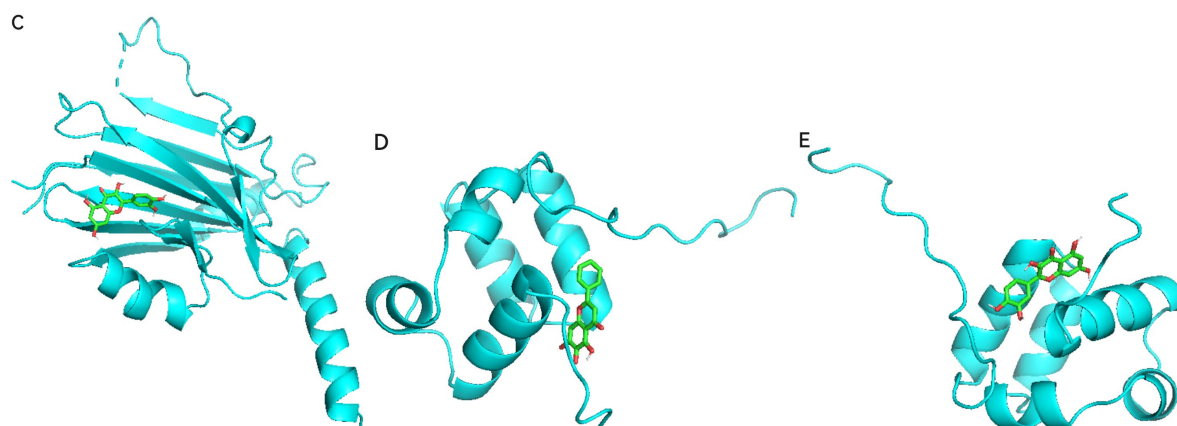
将核心成分槲皮素、山柰酚、黄芩素与核心靶点 AKT1、TP53、MYC、MAPK1 进行分子对接。受体与配体间自由能<-5 kcal/mol 表明两者结合稳定[10]，自由能越低则结合越稳定。结果表明，靶点蛋白与药物活性成分之间自由能均<-5 kcal/mol (见表 1)，其中与 AKT1 自由能最低的化合物为黄芩素(-9.55 kcal/mol)，与 TP53 自由能最低的化合物为黄芩素(-7.5 kcal/mol)，与 MYC 自由能最低的化合物为槲皮素(-8.6 kcal/mol)，与 MAPK1 自由能最低的化合物为槲皮素(-7.0 kcal/mol)、黄芩素(-7.0 kcal/mol)。通过 Pymol 软件对 AKT1 与黄芩素、TP53 与黄芩素、MYC 与槲皮素、MAPK1 与槲皮素及黄芩素进行分子对接可视化处理，详见图 8。说明靶点蛋白与药物活性成分之间具有良好的结合能力。

Table 1. Receptor binding energies of ligands and core target proteins of the active ingredients of Guizhi Fuling Pill (unit: kcal/mol)

表 1. 桂枝茯苓丸有效成分配体与核心靶点蛋白受体的结合能(单位: kcal/mol)

化合物	AKT1	TP53	MYC	MAPK1
槲皮素	-9.3	-7.3	-8.6	-7.0
山柰酚	-9.3	-7.2	-8.2	-6.9
黄芩素	-9.5	-7.5	-8.1	-7.0





A: AKT1 与黄芩素; B: TP53 与黄芩素; C: MYC 与槲皮素; D: MAPK1 与黄芩素; E: MAPK1 与槲皮素。

Figure 8. Molecular docking

图 8. 分子对接

4. 讨论

CHF 是各种心脏疾病的终末期阶段,其病因可分为两大类,即原发性心肌损害和心脏负荷过重[11]。中医认为心衰以“虚”“瘀”“水”为患,《素问·五藏生成篇》言:“诸血者,皆属于心。”桂枝茯苓丸出自《金匮要略》,为活血化瘀的经典方剂。桂枝茯苓丸的五味药均归心经,可治疗心脉瘀阻之症,其中桂枝辛温,通经散寒,化瘀通络;芍药酸凉,调和营血,养血化瘀;牡丹皮苦凉,清热凉血,化瘀泄热;桃仁苦温,通泄活血,化瘀散瘀;茯苓甘淡,利水渗湿,宁心定悸。诸药共奏活血化瘀之功。

本研究构建的“药物-疾病-成分-靶点”网络关系显示,槲皮素、山柰酚、黄芩素是桂枝茯苓丸治疗 CHF 的核心活性成分。槲皮素具有保护心血管的显著作用,在氧化应激条件下可促进一氧化氮的抗氧化作用、增强内皮非依赖性血管扩张、抑制粘附分子及其他炎症标志物的表达[12]。山柰酚是一种黄酮类化合物,具有抗炎和抗氧化活性[13]。有研究表明,山柰酚通过抑制 NF- κ B/MAPK 的激活减轻心脏成纤维细胞中 Ang II 诱导的炎症以及通过激活 AMPK/Nrf2 途径减轻心脏成纤维细胞中 Ang II 诱导的氧化应激[14]。黄芩素是黄芩根茎的天然黄酮类提取物,可预防左室心肌重塑[15]。现代药理研究结果表明,黄芩素能调节 JAK-STAT1/4 信号通路,在体内外均显著抑制 CD4⁺T 细胞分化为 Th1 细胞及 IFN- γ 的分泌,进而导致心脏组织中 TNF- α 和 IFN- γ 水平显著下降,并降低心肌细胞的凋亡率[16]。以上多项研究支持本研究分析结果,表明槲皮素、山柰酚、黄芩素可作为桂枝茯苓丸治疗 CHF 的核心活性成分。

本研究通过构建 PPI 蛋白互作网络筛选出桂枝茯苓丸治疗 CHF 排名居前 4 的核心靶点为 AKT1、TP53、MYC、MAPK1。AKT 又被称为蛋白激酶 B,作为一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可调节心肌细胞增生、心肌血管生成、葡萄糖代谢及细胞凋亡[17]。在哺乳动物中,存在三种蛋白激酶 B 亚型,分别是 AKT1、AKT2 和 AKT3。研究表明,在心脏组织中,AKT1 的激活能够抑制细胞凋亡,因此被认为对 HF 具有潜在的益处[18]。TP53 是一种肿瘤抑制基因,它能在应激条件下对细胞凋亡进行调控[19]。研究表明,TP53 诱导的糖酵解和细胞凋亡调节因子在心脏代谢和细胞命运的调控中发挥着重要作用[20]。Myc 是一个高度多功能的转录因子,属于原癌基因家族,能够调节支持正常细胞的复制、分化、代谢以及凋亡过程的多个转录程序[21]。有研究发现,Myc 驱动的转录通过上调阳性转录延伸因子的水平,重新激活成熟心肌细胞,进而引发显著的增殖反应,促进人心肌细胞的再生,为心肌病的治疗提供新途径[22]。MAPK 是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可将细胞外信号转导至细胞内并诱导细胞生物反应,MAPK1 属于 MAPK 家族[23]。MAPK1 能够通过 PI3K/AKT 信号通路上调 MALAT1 的表达来增加心肌细胞的增殖[24]。桂枝茯苓丸通过以上核心

靶点参与细胞的增值、分化及凋亡,减少对心肌细胞的损伤,从多个途径干预 CHF。

GO 富集分析发现桂枝茯苓丸治疗 CHF 的作用机制可能涉及脂多糖反应、活性氧反应、氧化应激反应、脂筏、膜微区、转录因子、蛋白连接酶结合等。KEGG 富集分析主要富集在 AGE-RAGE、IL-17、TNF、HIF-1、NF- κ B 等信号通路。晚期糖基化终末产物(AGE)参与调节糖尿病中高血糖的影响,AGE 最重要的受体是晚期糖基化终末产物(RAGE)受体[25]。RAGE 与 AGE 结合后,会触发细胞内活性氧的生成,进而激活 MAPK 和 NF- κ B 信号通路,最终诱导多种炎症和促纤维化因子的产生,推动动脉粥样硬化的进展[26]。IL-17 主要由辅助性 T 细胞 17 (Th17)产生,一种促炎细胞因子[27]。IL-17 可通过 p38 MAPK、MAPK1、NF- κ B、C/EBP β 激活促进成纤维细胞释放细胞炎症因子,在心肌重塑中发挥着关键作用[28]。TNF (也称为 TNF- α)是一种内毒素诱导的糖蛋白,为炎症反应的关键调节因子[29]。TNF- α 代表两种 TNF- α 受体(TNFR)的配体,即 TNFR1 和 TNFR2。TNF- α 主要通过长期或过度激活 TNFR1 来引发心肌细胞肥大和凋亡,而 TNFR2 则通过抑制致病性 TNFR1 下游通路的激活来发挥对心脏的保护作用[30]。HIF-1 是一种 DNA 结合蛋白,在缺氧信号传导和转录调控过程发挥关键作用[31]。在缺氧条件下,HIF 可以通过调节其下游靶标和心血管系统中的相关信号通路来启动对低氧可用性的适应过程并介导保护性反应[32]。本研究表明,桂枝茯苓丸治疗 CHF 主要是通过抑制心肌细胞凋亡、减少炎症反应、参与转录及氧化应激反应等途径。

综上所述,本研究采用网络药理学和分子对接技术对桂枝茯苓丸治疗 CHF 过程中所涉及的核心成分、作用靶点进行了初步阐述。发现桂枝茯苓丸中槲皮素、山柰酚、黄芩素等活性成分可作用于 AKT1、TP53、MYC、MAPK1 等靶点,调控 AGE-RAGE、IL-17、TNF、HIF-1、NF- κ B 等信号通路治疗 CHF。但也存在一定局限性,缺少动物、细胞、分子等多层次、多维度的实验验证。因此,未来还需进一步的实验研究及临床应用,为桂枝茯苓丸治疗 CHF 的机制研究提供更可靠的证据。

参考文献

- [1] McDonagh, T.A., Metra, M., Adamo, M., Gardner, R.S., Baumbach, A., Böhm, M., *et al.* (2021) 2021 ESC Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure. *European Heart Journal*, **42**, 3599-3726. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab368>
- [2] Greene, S.J., Bauersachs, J., Bruggs, J.J., Ezekowitz, J.A., Lam, C.S.P., Lund, L.H., *et al.* (2023) Worsening Heart Failure: Nomenclature, Epidemiology, and Future Directions: JACC Review Topic of the Week. *Journal of the American College of Cardiology*, **81**, 413-424. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2022.11.023>
- [3] 中华医学会心血管病学分会, 中国医师协会心血管内科医师分会, 中国医师协会心力衰竭专业委员会, 等. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2024[J]. 中华心血管病杂志, 2024, 52(3): 235-275.
- [4] 《中国心血管健康与疾病报告 2021》概述[J]. 中国心血管病研究, 2022, 20(7): 577-596.
- [5] Heidenreich, P.A., Bozkurt, B., Aguilar, D., *et al.* (2022) 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Journal of the American College of Cardiology*, **79**, e263-e421.
- [6] 慢性心力衰竭中医诊疗指南(2022 年) [J]. 中医杂志, 2023, 64(7): 743-756.
- [7] 吴勉华, 石岩, 主编. 中医内科学 新世纪[M]. 第 5 版. 北京: 中国中医药出版社, 2021.
- [8] 裴强, 吴阳, 马钢, 等. 桂枝茯苓胶囊干预大鼠心脏微小血管重塑的机制研究[J]. 河南医学研究, 2019, 28(7): 1153-1157.
- [9] 刘晓帅, 王果, 汪林, 等. 桂枝茯苓丸抗大鼠慢性心衰的实验研究[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2017, 43(4): 378-385.
- [10] Li, B., Rui, J., Ding, X. and Yang, X. (2019) Exploring the Multicomponent Synergy Mechanism of Banxia Xiexin Decoction on Irritable Bowel Syndrome by a Systems Pharmacology Strategy. *Journal of Ethnopharmacology*, **233**, 158-168. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.12.033>
- [11] 葛均波, 徐永健, 王辰, 主编. 内科学[M]. 第 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2022.
- [12] Patel, R.V., Mistry, B.M., Shinde, S.K., Syed, R., Singh, V. and Shin, H. (2018) Therapeutic Potential of Quercetin as a Cardiovascular Agent. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **155**, 889-904.

- <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.06.053>
- [13] Maneesai, P., Potue, P., Khamsekaew, J., Sangartit, W., Rattanakankochai, S., Poasakate, A., *et al.* (2023) Kaempferol Protects against Cardiovascular Abnormalities Induced by Nitric Oxide Deficiency in Rats by Suppressing the TNF- α Pathway. *European Journal of Pharmacology*, **960**, Article ID: 176112. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2023.176112>
 - [14] Du, Y., Han, J., Zhang, H., Xu, J., Jiang, L. and Ge, W. (2019) Kaempferol Prevents against Ang II-Induced Cardiac Remodeling through Attenuating Ang II-Induced Inflammation and Oxidative Stress. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **74**, 326-335. <https://doi.org/10.1097/fjc.0000000000000713>
 - [15] Sulistyowati, E., Hsu, J., Lee, S., Huang, S., Sihotang, W.Y., Wu, B., *et al.* (2022) Potential Actions of Baicalein for Preventing Vascular Calcification of Smooth Muscle Cells *in Vitro* and *in Vivo*. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article No. 5673. <https://doi.org/10.3390/ijms23105673>
 - [16] Wang, T., Wang, S., Jia, X., Li, C., Ma, X., Tong, H., *et al.* (2024) Baicalein Alleviates Cardiomyocyte Death in EAM Mice by Inhibiting the JAK-STAT1/4 Signalling Pathway. *Phytomedicine*, **128**, Article ID: 155558. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.155558>
 - [17] Chaanine, A.H. and Hajjar, R.J. (2011) AKT Signalling in the Failing Heart. *European Journal of Heart Failure*, **13**, 825-829. <https://doi.org/10.1093/eurjhf/hfr080>
 - [18] Kapustian, L., Kroupskaya, I., Rozhko, O., Bobyk, V., Ryabenko, D. and Sidorik, L. (2014) Akt1 Expression and Activity at Different Stages in Experimental Heart Failure. *Pathophysiology*, **21**, 147-151. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2013.11.005>
 - [19] Aubrey, B.J., Kelly, G.L., Janic, A., Herold, M.J. and Strasser, A. (2017) How Does P53 Induce Apoptosis and How Does This Relate to P53-Mediated Tumour Suppression? *Cell Death & Differentiation*, **25**, 104-113. <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.169>
 - [20] Okawa, Y., Hoshino, A., Ariyoshi, M., Kaimoto, S., Tateishi, S., Ono, K., *et al.* (2019) Ablation of Cardiac TIGAR Preserves Myocardial Energetics and Cardiac Function in the Pressure Overload Heart Failure Model. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, **316**, H1366-H1377. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00395.2018>
 - [21] Duffy, M.J., O'Grady, S., Tang, M. and Crown, J. (2021) MYC as a Target for Cancer Treatment. *Cancer Treatment Reviews*, **94**, Article ID: 102154. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2021.102154>
 - [22] Bywater, M.J., Burkhart, D.L., Straube, J., Sabò, A., Pendino, V., Hudson, J.E., *et al.* (2020) Reactivation of Myc Transcription in the Mouse Heart Unlocks Its Proliferative Capacity. *Nature Communications*, **11**, Article No. 1827. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15552-x>
 - [23] Zhang, H., Ji, N., Gong, X., Ni, S. and Wang, Y. (2020) NEAT1/miR-140-3p/MAPK1 Mediates the Viability and Survival of Coronary Endothelial Cells and Affects Coronary Atherosclerotic Heart Disease. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, **52**, 967-974. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmaa087>
 - [24] Zhao, J., Li, L. and Peng, L. (2015) MAPK1 Up-Regulates the Expression of MALAT1 to Promote the Proliferation of Cardiomyocytes through PI3K/AKT Signaling Pathway. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, **8**, 15947-15953.
 - [25] Barlovic, D., Thomas, M. and Jandeleit-Dahm, K. (2010) Cardiovascular Disease: What's All the AGE/RAGE about? *Cardiovascular & Hematological Disorders-Drug Targets*, **10**, 7-15. <https://doi.org/10.2174/187152910790780050>
 - [26] Fukami, K., Yamagishi, S. and Okuda, S. (2014) Role of Ages-Rage System in Cardiovascular Disease. *Current Pharmaceutical Design*, **20**, 2395-2402. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990475>
 - [27] Xu, S. and Cao, X. (2010) Interleukin-17 and Its Expanding Biological Functions. *Cellular & Molecular Immunology*, **7**, 164-174. <https://doi.org/10.1038/cmi.2010.21>
 - [28] Chang, S., Hsiao, Y., Tsai, Y., Lin, S., Liu, S., Lin, Y., *et al.* (2018) Interleukin-17 Enhances Cardiac Ventricular Remodeling via Activating MAPK Pathway in Ischemic Heart Failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **122**, 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2018.08.005>
 - [29] Bradley, J. (2007) TNF-Mediated Inflammatory Disease. *The Journal of Pathology*, **214**, 149-160. <https://doi.org/10.1002/path.2287>
 - [30] Rolski, F. and Błyszczuk, P. (2020) Complexity of TNF- α Signaling in Heart Disease. *Journal of Clinical Medicine*, **9**, Article No. 3267. <https://doi.org/10.3390/jcm9103267>
 - [31] Wang, G.L. and Semenza, G.L. (1995) Purification and Characterization of Hypoxia-Inducible Factor 1. *Journal of Biological Chemistry*, **270**, 1230-1237. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.3.1230>
 - [32] Yu, B., Wang, X., Song, Y., Xie, G., Jiao, S., Shi, L., *et al.* (2022) The Role of Hypoxia-Inducible Factors in Cardiovascular Diseases. *Pharmacology & Therapeutics*, **238**, Article ID: 108186. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2022.108186>