

【实验研究】

基于网络药理学和实验验证的丹参-红花药对治疗心肌缺血的作用机制探讨

薛志鹏¹, 杜少兵¹, 周慧慧¹, 李菁¹, 孟伟¹, 白吉庆¹, 王小平^{1, 2*}

1. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046

2. 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 陕西 咸阳 712046

摘要: 目的 通过网络药理学和动物实验探究丹参-红花药对治疗心肌缺血的潜在作用和机制。方法 检索中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)和文献手动补充确定丹参-红花的活性成分及治疗心肌缺血靶点。以“心肌缺血”及“急性心肌缺血”为关键词,在CTD、DisGeNET、GeneCards和OMIM数据库中检索疾病的潜在靶点。利用Venny 2.1.0将筛选得到的有效化学成分靶点与疾病靶点进行交集,确定丹参-红花药对治疗心肌缺血的作用靶点。将交集靶点信息上传至STRING v11.0,构建活性成分-靶点网络及蛋白质相互作用网络(PPI)。通过DAVID数据库对丹参-红花治疗心肌缺血的靶点进行基因本体(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路的富集分析。40只SD雄性大鼠,根据体质量随机分成4组,每组10只,即对照组、模型组、复方丹参滴丸(73 mg·kg⁻¹·d⁻¹)组、丹参-红花(生药量16 g·kg⁻¹·d⁻¹)组。对照组和模型组大鼠每天ig等量0.9%氯化钠溶液,给药组ig相应剂量的药物,每天1次,共7d。于第6天,除对照组外,其余各组给药1h后sc异丙肾上腺素(ISO, 85 mg·kg⁻¹),连续2d造模。HE染色观察各组大鼠心肌组织病理变化;蛋白免疫印迹法检测各组大鼠心肌组织磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)、磷酸化转录激活蛋白3(p-STAT3)、缺氧诱导因子1α(HIF-1α)、血管内皮生长因子A(VEGFA)、血小板衍生生长因子A(PDGFA)和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)蛋白表达水平。结果 网络药理学筛选得到丹参-红花药对治疗心肌缺血的活性成分91个,靶点246个。PPI网络结果显示主要靶点包括STAT3、MAPK1、JUN、RELA、MAPK3、AKT1、SRC、APP、TNF、PIK3CA、CXCL8、KNG1、IL6、VEGFA、MAPK14、HSP90AA1、MAPK8、EGFR、FOS和IL2等。主要靶点相关的通路涉及血管生成(如HIF-1信号通路和VEGF信号通路)、炎症反应(如NF-κB信号通路和TNF信号通路)和细胞凋亡(如细胞凋亡信号通路和p53信号通路)等。动物实验HE染色结果表明,对照组大鼠心肌细胞正常;模型组大鼠心肌纤维肿胀且有断裂,心肌细胞增宽,局部有明显水肿、渗出、炎性细胞浸润;复方丹参滴丸组与模型组大鼠比较,心肌纤维排列略微紊乱且较窄,病理改变程度有所减轻。丹参-红花组大鼠的心肌纤维排列整齐,细胞形态结构完整,心肌纤维肿胀轻,无毛细血管扩张,接近正常心肌形态。蛋白质免疫印迹检测结果表明,与对照组比较,模型组大鼠心肌组织中HIF-1α、VEGFA、PDGFA和bFGF的蛋白表达水平显著升高(P<0.05、0.01),p-mTOR和p-STAT3的蛋白表达水平显著下降(P<0.05、0.01)。与模型组比较,丹参-红花显著上调了p-mTOR、p-STAT3、HIF-1α、VEGFA、PDGFA和bFGF的蛋白表达水平(P<0.05、0.01)。结论 丹参-红花可能通过上调与血管生成密切相关的蛋白水平来促进急性心肌缺血模型大鼠缺血心肌组织的血管生成,从而改善其缺血性损伤。

关键词: 丹参-红花药对; 心肌缺血; 网络药理学; 血管生成; 缺氧诱导因子1信号通路; 血管内皮生长因子信号通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)04-0759-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.04.009

Study on mechanism of *Salvia miltiorrhiza*-*Carthamus tinctorius* in treatment of myocardial ischemia based on network pharmacology and experimental verification

XUE Zhipeng¹, DU Shaobing¹, ZHOU Huihui¹, LI Jing¹, MENG Yi¹, BAI Jiqing¹, WANG Xiaoping^{1,2}

1. College of Pharmacy, Shanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Shanxi Key Laboratory of Chinese Medicine Fundamentals and New Drugs Research, Shanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

Abstract: Objective To explore the potential effect and mechanism of *Salvia miltiorrhiza*-*Carthamus tinctorius* on myocardial ischemia through network pharmacology and animal experiments. **Methods** The pharmacological database and analysis platform

收稿日期: 2022-10-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81974544)

第一作者: 薛志鹏(1996—),男,硕士研究生,研究方向为中草药药效物质基础。E-mail: 861571471@qq.com

*通信作者: 王小平(1976—),女,教授,博士后,研究方向为中草药药效物质基础。E-mail: wangxiaoping323@126.com

(TCMSP) of the traditional Chinese medicine system and the literature were searched and manually supplemented to determine the active components of *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* and the therapeutic target of myocardial ischemia. With "myocardial ischemia" and "acute myocardial ischemia" as the keywords, search the potential targets of diseases in CTD, DisGeNET, GeneCards and OMIM databases. Venny 2.1.0 was used to intersect the screened effective chemical component target with the disease target, and determine the target of *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* for the treatment of myocardial ischemia. Upload the intersection target information to STRING v11.0 to build the active component-target network and protein-protein interaction (PPI) network. The DAVID database was used to enrich and analyze the Gene Ontology (GO) function and the Kyoto gene and genome encyclopedia (KEGG) pathway of the target of *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* in the treatment of myocardial ischemia. Forty SD male rats were randomly divided into four groups according to their body mass, 10 in each group, namely, control group, model group, Compound *Salvia Miltiorrhiza* Dropping Pills ($73 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) group, and *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* ($16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) group. The rats in the control group and model group were given the same amount of 0.9% sodium chloride solution once a day for seven days. On the 6th day, except for the control group, the rats in other groups were administered with isoproterenol (ISO, $85 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) by sc for two days. HE staining was used to observe the pathological changes of myocardial tissue of rats in each group. Detection of p-mTOR, p-STAT3, HIF-1 α , VEGFA, PDGFA and bFGF protein expression level in myocardial tissue of rats in each group by Western blotting. **Results** 91 active components and 246 targets of *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* were screened by network pharmacology. PPI network results show that the main targets include STAT3, MAPK1, JUN, RELA, MAPK3, AKT1, SRC, APP, TNF, PIK3CA, CXCL8, KNG1, IL6, VEGFA, MAPK14, HSP90AA1, MAPK8, EGFR, FOS and IL2. The main target-related pathways involve angiogenesis (such as HIF-1 signal pathway and VEGF signal pathway), inflammatory response (such as NF- κ B signal pathway and TNF signal pathway) and apoptosis (such as apoptosis signal pathway and p53 signal pathway). The results of HE staining in animal experiments showed that the myocardial cells in the control group were normal. In the model group, the myocardial fibers were swollen and the area was broken, the myocardial cells were widened, and there were obvious edema, exudation and inflammatory cell infiltration in the local area. Compared with the model group, the arrangement of myocardial fibers in the Compound Danshen Dropping Pills group was slightly disordered and narrow, and the degree of pathological changes was alleviated. The myocardial fibers of the rats in the *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* group were arranged in order, the cell morphology and structure were complete, the myocardial fibers swelled slightly, and there was no telangiectasia, which was close to the normal myocardial morphology. The result of Western blotting showed that compared with the control group, the protein expression levels of HIF-1 α , VEGFA, PDGFA and bFGF in the myocardial tissue of rats in the model group were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), while the protein expression levels of p-mTOR and p-STAT3 were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$). Compared with the model group, *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* significantly up-regulated the protein expression level of p-mTOR, p-STAT3 and HIF-1 α , VEGFA, PDGFA and bFGF ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* may promote the angiogenesis of ischemic myocardium in rats with acute myocardial ischemia by up-regulating the protein level related to angiogenesis, thus improving the ischemic injury.

Key words: *Salvia miltiorrhiza-Carthus tinctorius*; myocardial ischemia; network pharmacology; angiogenesis; hypoxia inducible factor 1 signal pathway; vascular endothelial growth factor signal pathway

近年来,心血管疾病的发病率越来越高,严重危害人类的健康^[1]。目前在全世界范围内,心肌缺血仍然是心血管疾病患者死亡的主要原因,每年约900余万人死亡^[2]。心肌缺血通常是由于冠状动脉血流与心肌需求的不平衡而导致^[3],其发病机制复杂,Ca²⁺超载、氧化应激、炎症反应、细胞凋亡以及心肌能量代谢等途径是目前较公认的心肌缺血发病机制^[4-5]。目前,用于治疗此类疾病的药物需求量也在增加。

随着中医药的不断发展,关于传统中药治疗心血管病的研究逐渐增多。丹参为治疗心脑血管疾病的常用药,其有效成分主要分为脂溶性和水溶性成分。脂溶性成分主要为丹参酮I、二氢丹参酮I、

隐丹参酮等;水溶性成分主要为丹参素、丹酚酸B、迷迭香酸等,这些有效成分具有显著的心肌保护、抗动脉粥样硬化和抗血栓形成作用^[6]。红花为活血化瘀中药,其有效成分主要为黄色素、总黄酮及多糖,具有多种药理活性,可影响心血管、脑血管和免疫系统^[7]。研究表明,通过优化中药成分,丹参和红花水溶性成分的组合在治疗大鼠心肌缺血方面比丹参或红花单独使用更有效^[8]。然而,丹参-红花药对治疗心肌缺血的机制尚不明确,因此需要从整体水平对其治疗心肌缺血作用机制进行系统研究。

网络药理学是从整体角度研究药物与疾病的关系,突出药物、靶点和疾病相互作用的整体性和系统性^[9]。它已被用于预测中药潜在活性成分、作

用靶点和作用机制^[10]。丹参-红花药对在实验研究和临床实践中治疗心肌缺血的效果很好,但其潜在的靶点和抗心肌缺血的分子机制还有待研究。因此,本研究采用网络药理学方法结合动物实验验证,揭示丹参-红花治疗心肌缺血的潜在靶点和分子机制,为其进一步开发及临床广泛应用提供依据。

1 材料

1.1 药材

丹参购于山东省菏泽市鄄城县,红花购于新疆维吾尔自治区塔城地区裕民县,经陕西中医药大学白吉庆教授鉴定,丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎,红花为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花,经检测均符合《中国药典》2020年版要求。

1.2 主要仪器

DYCZ-40D 转移槽、DYY-7C 电泳仪、WD-9413B 型凝胶成像系统(北京六一仪器厂);DYCZ-24DN 双垂直蛋白电泳仪、NW10LVF 超纯水系统[力康生物科技(香港)控股有限公司];H-2050R 超速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);ELX-800 酶标仪(美国伯滕仪器有限公司);JT-12S 型组织自动脱水机、JB-L5 型石蜡包埋机、JK-6 型生物组织摊烤片机(武汉俊杰电子有限公司);RM2016 型石蜡切片机(德国 Leica 公司);Eclipse Ci-L 型显微镜[尼康仪器(上海)有限公司];HC-3018 型高速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司)。

1.3 药品与试剂

盐酸异丙肾上腺素(ISO,批号:P172260,美国 Sigma 公司);复方丹参滴丸(批号:202012,天津天士力制药股份有限公司);戊巴比妥钠(批号:57-33-0,德国 Merck 公司);无水乙醇(批号:64-17-5,西陇科学股份有限公司);苏木素(批号:517-28-2,北京索莱宝生物科技有限公司);曙红 Y,醇溶(批号:15086-94-9,山东西亚化学科技有限公司);全蛋白提取试剂盒(批号:WLA019)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(批号:WLA004)、一抗二抗去除液(批号:WLA007)、SDS-PAGE 凝胶快速制备试剂盒(批号:WLA013)、Western 洗涤液(批号:WLA025)、SDS-PAGE 电泳液(干粉,批号:WLA026)、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(批号:WLA005)、ECL 发光液(批号:WLA003)、磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)抗体(批号:WL03694)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)抗体(批号:WL02477)、缺氧诱导因子-1 α (HIF-

1 α) 抗体(批号:WL01607)、磷酸化转录激活蛋白 3(p-STAT3)抗体(批号:WLP2412)、转录激活蛋白 3(STAT3)抗体(批号:WL03207)、血管内皮生长因子 A(VEGFA)(批号:WL00009b)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)抗体(批号:WL02664)、血小板衍生生长因子 A(PDGFA)抗体(批号:WL02880)、HRP 标记的羊抗兔 IgG 抗体(批号:WLA023)、 β -actin 抗体(批号:WL01845)均购自沈阳万类生物科技有限公司。

1.4 实验动物

SPF 级 SD 雄性大鼠,体质量 220~250 g,购自成都达硕实验动物有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(川)2020-030。在温度为 24~27 °C,湿度 40%~60% 的环境下饲养,照明适度,食物和水充足。动物实验操作在陕西中医药大学实验动物伦理委员会批准下进行(批准号 SUCMDL-20190309001)。

2 方法

2.1 网络药理学分析

2.1.1 丹参-红花药对活性成分筛选及靶点预测 通过检索中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)和文献手动补充获得丹参-红花药对的有效化学成分及对应的蛋白质靶点,筛选标准:口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$,类药性(DL) ≥ 0.18 ^[11]。使用 Uniport(<https://www.uniprot.org>)蛋白质数据库对筛选得到的对应靶点进行基因名标准化处理。

2.1.2 丹参-红花药对治疗心肌缺血相关靶点筛选 以“心肌缺血”及“急性心肌缺血”为关键词,在 CTD(<http://ctdbase.org/>)、DisGeNET(<https://w-ww.disgenet.org/search>)、GeneCards(<https://www.genecards.org/>)和 OMIM(<https://omim.org/>)数据库中检索疾病的潜在靶点。汇总上述收集到的靶点,去掉重复靶点,得到心肌缺血潜在靶点。利用 Venny 2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/i-ndex.html>)将筛选得到的有效化学成分靶点与疾病靶点进行交集并绘制韦恩图,即为丹参-红花药对治疗心肌缺血的作用靶点。

2.1.3 活性成分-靶点网络及蛋白质相互作用网络(PPI)构建 将交集靶点信息上传至 STRING v11.0(<https://string-db.org>),物种设定为“Homo sapiens”,设定相互作用阈值 > 0.9 ,将生成的数据导入 Cytoscape 3.6.1 软件中构建活性成分-靶点网络及 PPI 网络,并选择度值筛选靶点,进行拓扑分析。

2.1.4 富集分析 通过 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>)对丹参-红花治疗心肌缺血的靶点进行基因本体(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路的富集分析。以 $P < 0.05$ 作为筛选标准,识别具有显著性意义的生物学进程和信号通路。

2.2 动物实验

2.2.1 药液的制备 取丹参900 g、红花300 g,加入8倍量水在室温下浸泡1 h,45 °C浸泡提取3次,每次2 h,滤过,滤液合并减压浓缩至含生药1.6 g·mL⁻¹浓缩液(丹参素、羟基红花黄色素A、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸B的质量分数分别为4.65、17.10、1.82、4.62、55.20 mg·g⁻¹),4 °C冰箱冷藏备用。

2.2.2 实验动物分组与给药 40只SD雄性大鼠,喂养1周后,根据体质量随机分成4组,每组10只,即对照组、模型组、复方丹参滴丸(73 mg·kg⁻¹·d⁻¹)组、丹参-红花(生药量16 g·kg⁻¹·d⁻¹,课题组筛选出的最佳疗效剂量^[12])组。对照组和模型组大鼠每天ig等量0.9%氯化钠溶液,体积10 mL·kg⁻¹,给药组ig相应剂量的药物,每天1次,共7 d。于第6天,除对照组外,其余各组给药1 h后sc ISO(85 mg·kg⁻¹),连续2 d造模。

2.2.3 样本采集 末次注射ISO 12 h后,大鼠ip 2%戊巴比妥钠(40 mg·kg⁻¹)麻醉后进行腹主动脉取血。取心脏用0.9%氯化钠溶液冲洗血渍,一部分浸泡固定在10%中性福尔马林溶液中,用于组织病理学观察;剩余部分-80 °C冻存,用于蛋白免疫印迹检测。

2.2.4 心肌组织病理学观察 取出固定的心肌组

织,自来水冲洗,经梯度乙醇脱水,石蜡包埋,切片,脱蜡,进行HE染色,封片。在显微镜下观察心肌组织病理变化。

2.2.5 蛋白免疫印迹检测 取一定量冻存的各组大鼠心肌组织,液氮研磨,加入裂解液,在4 °C,12 000 rmin⁻¹条件下离心20 min,吸取上清液提取蛋白,采用BCA法测定蛋白质量浓度。以 β -actin作为内参抗体,在胶板的上样孔进行电泳,切下目的蛋白条带胶块转至PVDF膜,加入5%的脱脂奶粉密封2 h,分别加入p-mTOR、mTOR、p-STAT3、STAT3、HIF-1 α 、VEGFA、bFGF、PDGFA抗体,孵育过夜。冲洗PVDF膜3次,加入HRP标记的羊抗兔IgG抗体孵育,根据显影定影试剂盒说明书准备显影液和定影液,扫描胶片,运用凝胶图像处理系统(Gel-Pro-Analyzer软件)分析目标条带的灰度值。

2.3 数据统计与分析

数据分析应用GraphPad Prism 8统计软件,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据通过单因素方差分析及统计比较各组间的差异,两两比较采用Tukey检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学的分析结果

3.1.1 丹参-红花药对活性成分及靶点 通过TCMSP数据库筛选并结合文献补充,得到丹参-红花药对的活性成分91个,其中丹参68个,红花19个,丹参与红花共有成分4个,具体成分信息见表1。通过TCMSP数据库收集及经过Uniprot数据库规范化处理,91个活性成分共识别到886个潜在靶点。

表1 丹参-红花药对的活性成分信息

Table 1 Information of active ingredients of *Salvia miltiorrhiza*-*Carthamus tinctorius*

编号	化学名称	OB/%	DL	来源药材
DS-1	1,2,5,6-四氢丹参酮(1,2,5,6-tetrahydrotanshinone)	38.75	0.36	丹参
DS-2	多孔甾醇(poriferasterol)	43.83	0.76	丹参
DS-3	异欧前胡素(isoimperatorin)	45.46	0.23	丹参
DS-4	柳杉酚(sugiol)	36.11	0.28	丹参
DS-5	脱氢丹参酮II _A (dehydrotanshinone II _A)	43.76	0.40	丹参
DS-6	双没食子酸(digallate)	61.85	0.26	丹参
DS-7	α -阿米林(α -amyrin)	39.51	0.76	丹参
DS-8	5,6-二羟基-7-异丙基-1,1二甲基-2,3-二氢菲-4-酮 (5,6-dihydroxy-7-isopropyl-1,1-dimethyl-2,3-dihydrophenanthren-4-one)	33.77	0.29	丹参
DS-9	2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮(2-isopropyl-8-methylphenanthrene-3,4-dione)	40.86	0.23	丹参
DS-10	3羟基丹参酮II _A (3 α -hydroxytanshinoneII _A)	44.93	0.44	丹参
DS-11	(E)-3-[2-(3,4-二羟基苯基)-7-羟基苯并呋喃-4-基]丙烯酸 [(E)-3-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxy-benzofuran-4-yl]acrylic acid]	48.24	0.31	丹参

续表1

编号	化学名称	OB/%	DL	来源药材
DS-12	4-亚甲基咪唑酮(4-methylenemiltirone)	34.35	0.23	丹参
DS-13	2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-5-(3-羟丙基)-7-甲氧基-3-苯并呋喃甲醛 [2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-3-benzofurancarboxaldehyde]	62.78	0.40	丹参
DS-14	甲酰丹参酮(formyltanshinone)	73.44	0.42	丹参
DS-15	3-β-羟甲基香豆醌(3-beta-hydroxymethylenetanshiquinone)	32.16	0.41	丹参
DS-16	亚甲基丹参酮(methylenetanshinquinone)	37.07	0.36	丹参
DS-17	紫丹参萜醚A(przewalskin A)	37.11	0.65	丹参
DS-18	紫丹参萜醚B(przewalskin B)	110.32	0.44	丹参
DS-19	紫丹参乙素(przewaquinone B)	62.24	0.41	丹参
DS-20	紫丹参素C(przewaquinone C)	55.74	0.40	丹参
DS-21	(6S,7R)-6,7-dihydroxy-1,6-dimethyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-dione	41.31	0.45	丹参
DS-22	紫丹参己素(przewaquinone F)	40.31	0.46	丹参
DS-23	硬尾醇(sclareol)	43.67	0.21	丹参
DS-24	丹参醛(tanshinaldehyde)	52.47	0.45	丹参
DS-25	丹参醇B(danshenol B)	57.95	0.56	丹参
DS-26	丹参醇A(danshenol A)	56.97	0.52	丹参
DS-27	鼠尾草呋萜嵌苯(salvilenone)	30.38	0.38	丹参
DS-28	隐丹参酮(cryptotanshinone)	52.34	0.40	丹参
DS-29	丹参新醌(Dan-Shexinkum D)	38.88	0.55	丹参
DS-30	丹参螺缩酮内酯(danshenspiroketalactone)	50.43	0.31	丹参
DS-31	脱氧基新隐丹参酮(deoxyneocryptotanshinone)	49.40	0.29	丹参
DS-32	二氢丹参内酯(dihydrotanshinlactone)	38.68	0.32	丹参
DS-33	二氢丹参酮I(dihydrotanshinone I)	45.04	0.36	丹参
DS-34	表丹参酮螺缩内酯(epidanshenspiroketalactone)	68.27	0.31	丹参
DS-35	C09092	36.07	0.25	丹参
DS-36	异隐丹参酮(isocryptotanshi-nine)	54.98	0.39	丹参
DS-37	异丹参酮II(isotanshinone II)	49.92	0.40	丹参
DS-38	泪柏醇(manool)	45.04	0.20	丹参
DS-39	microstegiol	39.61	0.28	丹参
DS-40	丹参醌新酮I(miltionone I)	49.68	0.32	丹参
DS-41	丹参醌新酮II(miltionone II)	71.03	0.44	丹参
DS-42	丹参环庚三烯酚酮(miltipolone)	36.56	0.37	丹参
DS-43	丹参新酮(miltirone)	38.76	0.25	丹参
DS-44	丹参新酮II(miltirone II)	44.95	0.24	丹参
DS-45	脱氧基新隐丹参酮(neocryptotanshinone II)	39.46	0.23	丹参
DS-46	新隐丹参酮(neocryptotanshinone)	52.49	0.32	丹参
DS-47	1-methyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[5,6-g]benzofuran-6,10,11-trione	34.72	0.37	丹参
DS-48	原紫草酸(prolithospermic acid)	64.37	0.31	丹参
DS-49	(2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(Z)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)acryloyl]oxy-propionic acid	109.38	0.35	丹参
DS-50	(Z)-3-[2-[(E)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)vinyl]-3,4-dihydroxy-phenyl]acrylic acid	88.54	0.26	丹参
DS-51	丹酚酸G(salvianolic acid G)	45.56	0.61	丹参
DS-52	丹酚酸J(salvianolic acid J)	43.38	0.72	丹参
DS-53	鼠尾草呋萜嵌苯I(salvilenone I)	32.43	0.23	丹参
DS-54	鼠尾草酚酮(salviolone)	31.72	0.24	丹参
DS-55	NSC 122421	34.49	0.28	丹参

续表1

编号	化学名称	OB/%	DL	来源药材
DS-56	(6 <i>S</i>)-6-hydroxy-1-methyl-6-methylol-8,9-dihydro-7 <i>H</i> -naphtho[8,7- <i>g</i>]benzofuran-10,11-quinone	75.39	0.46	丹参
DS-57	丹参二醇B(tanshindiol B)	42.67	0.45	丹参
DS-58	紫丹参酮E(przewaquinone E)	42.85	0.45	丹参
DS-59	丹参酮II _A (tanshinone II _A)	49.89	0.40	丹参
DS-60	(6 <i>S</i>)-6-(hydroxymethyl)-1,6-dimethyl-8,9-dihydro-7 <i>H</i> -naphtho[8,7- <i>g</i>]benzofuran-10,11-dione	65.26	0.45	丹参
DS-61	丹参酮VI(tanshinone VI)	45.64	0.30	丹参
DS-62	3,4-二羟基苯甲醛(protocatechualdehyde)	38.35	0.03	丹参
DS-63	丹酚酸B(salvianolic acid B)	3.01	0.41	丹参
DS-64	丹参素(danshensu)	36.91	0.06	丹参
DS-65	紫草酸(lithospermic acid)	12.00	2.16	丹参
DS-66	丹酚酸A(salvianolic acid A)	10.00	1.62	丹参
DS-67	丹酚酸C(salvianolic acid C)	10.00	1.02	丹参
DS-68	原儿茶酸(protocatechuic acid)	4.00	0.17	丹参
HH-1	4-[(<i>E</i>)-4-(3,5-dimethoxy-4-oxo-1-cyclohexa-2,5-dienylidene)but-2-enylidene]-2,6-dimethoxycyclohexa-2,5-dien-1-one	48.47	0.36	红花
HH-2	木犀草素(lignan)	43.32	0.65	红花
HH-3	羽扇烯基棕榈酸脂(lupeol-palmitate)	33.98	0.32	红花
HH-4	除虫菊II(pyrethrin II)	48.36	0.35	红花
HH-5	6-羟基山柰酚(6-hydroxykaempferol)	62.13	0.27	红花
HH-6	黄芩素(baicalein)	33.52	0.21	红花
HH-7	醌式红花苷(carthamone)	51.03	0.20	红花
HH-8	6-羟基柚皮素(6-hydroxynaringenin)	33.23	0.24	红花
HH-9	栎草亭(quercetagetin)	45.01	0.31	红花
HH-10	7,8-dimethyl-1 <i>H</i> -pyrimido[5,6- <i>g</i>]quinoxaline-2,4-dione	45.75	0.19	红花
HH-11	β-胡萝卜素(beta-carotene)	37.18	0.58	红花
HH-12	β-谷甾醇(beta-sitosterol)	36.91	0.75	红花
HH-13	山柰酚(kaempferol)	41.88	0.24	红花
HH-14	豆甾醇(stigmasterol)	43.83	0.76	红花
HH-15	CLR	37.87	0.68	红花
HH-16	槲皮素(querctetin)	46.43	0.28	红花
HH-17	羟基红花黄色素A(hydroxysafflor-yellow-A)	4.77	0.68	红花
HH-18	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷(nicotiflorin)	3.64	0.73	红花
HH-19	八氢番茄红素(phytoene)	39.56	0.50	红花
DH-1	γ-谷甾醇(poriferast-5-en-3beta-ol)	36.91	0.75	丹参、红花
DH-2	黄芩苷(baicalin)	40.12	0.75	丹参、红花
DH-3	木犀草素(luteolin)	36.16	0.25	丹参、红花
DH-4	咖啡酸(caffeic acid)	4.00	-0.26	丹参、红花

3.1.2 丹参-红花药对治疗心肌缺血靶点的识别
丹参-红花药对治疗心肌缺血的靶点经 GenesCards 数据库、DisGeNet 数据库、CTD 数据库和 NCBI 数据库收集,删除重复靶点后,得到 957 个心肌缺血靶点。与丹参-红花药对活性成分对应的靶点进行交集得到 246 个潜在作用靶点,见图 1。

3.1.3 活性成分-靶点网络 构建丹参-红花活性成分-靶点网络,此网络包含 332 个节点(88 个活性成分节点和 246 个靶标节点)和 1 823 条边,见图 2。在该网络中,节点代表活性成分或心肌缺血的治疗靶点,节点间的连线表示靶点间潜在的关系。该网络显示多个心肌缺血靶点可以被丹参-红花药对中同一个活性成分作用,多个活

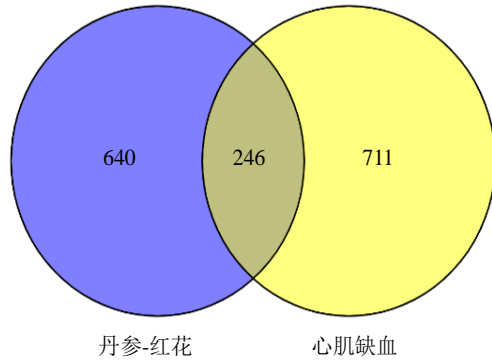


图1 丹参-红花活性成分靶点与心肌缺血靶点韦恩图
Fig. 1 Venn diagram of active ingredient targets of *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* and myocardial ischemic targets

性成分也共享同一个心肌缺血靶点,证明了丹参-红花药对多成分、多靶点作用的特性。

3.1.4 PPI网络 将246个潜在治疗心肌缺血靶点上传至STRING数据库,排除了置信度小于0.9的靶点,构建PPI网络,见图3。对PPI网络进行拓扑分析,见图4,前20个枢纽靶点主要包括STAT3、MAPK1、JUN、RELA、MAPK3、AKT1、SRC、APP、TNF、PIK3CA、CXCL8、KNG1、IL6、VEGFA、MAPK14、HSP90AA1、MAPK8、EGFR、FOS和IL2。从结果可以推断,这些枢纽靶点在网络中具有较强的相互作用,可能是丹参-红花抗心肌缺血的核心靶点。核心靶点的具体拓扑参数见表2。

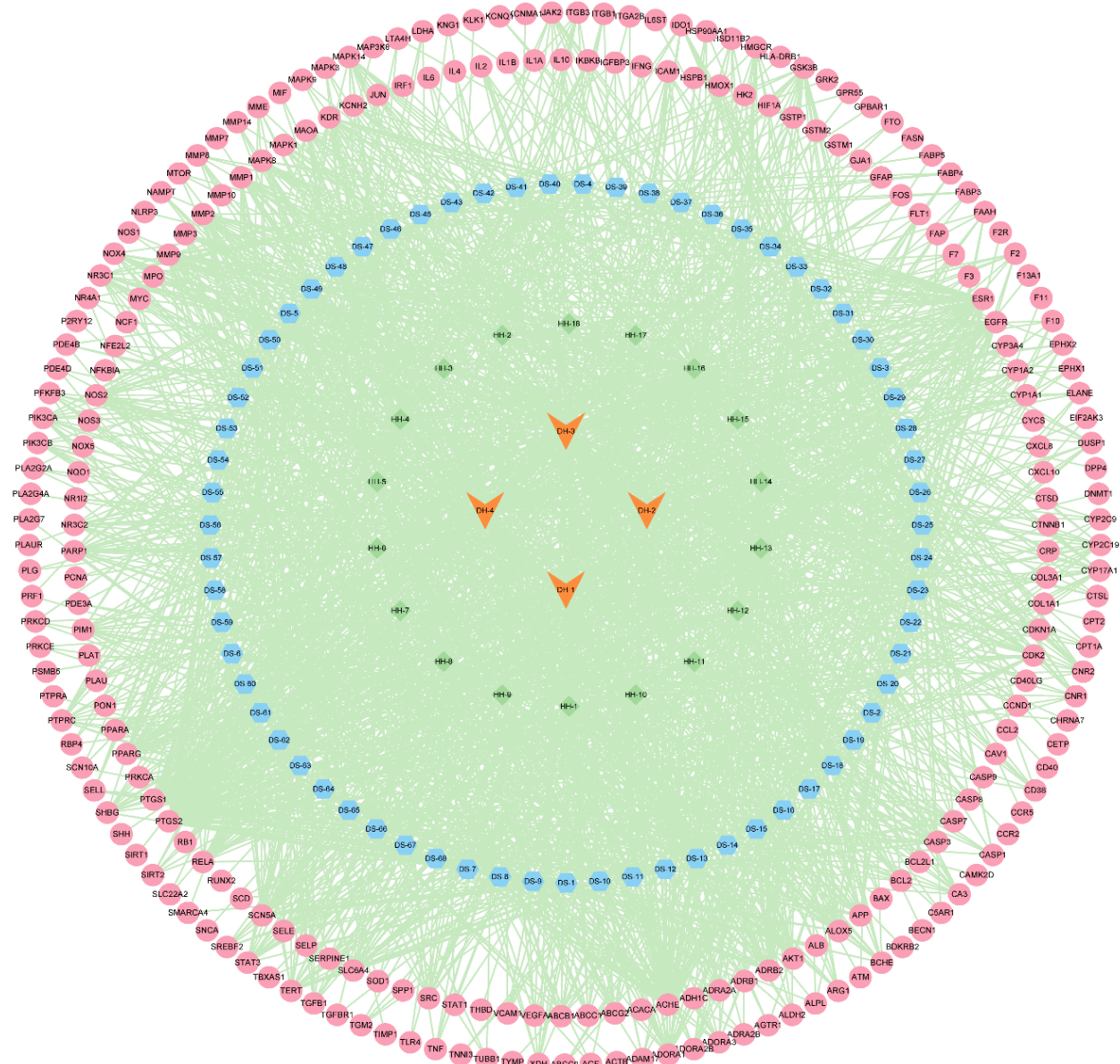


图2 丹参-红花药对治疗心肌缺血的活性成分-靶点网络
Fig. 2 Active ingredient-target network of *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* treatment in myocardial ischemic

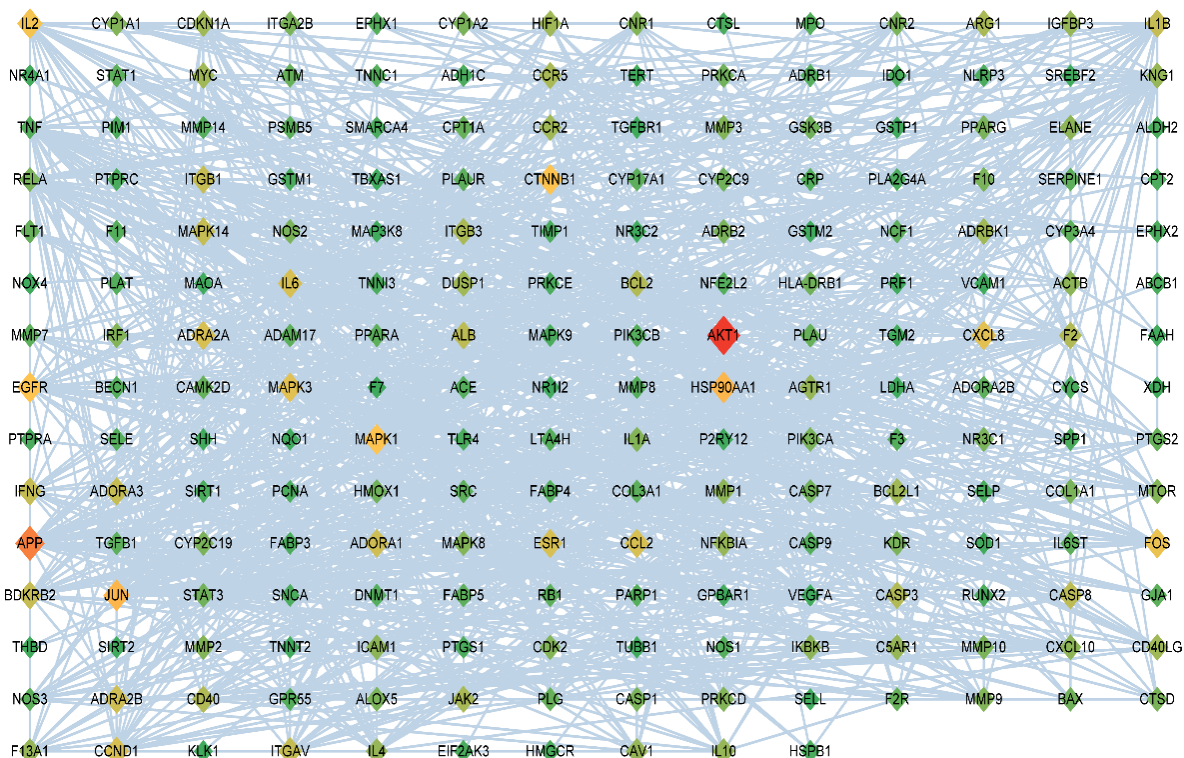


图3 丹参-红花抗心肌缺血靶点的PPI网络

Fig. 3 PPI network of targets of *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* treatment in myocardial ischemic

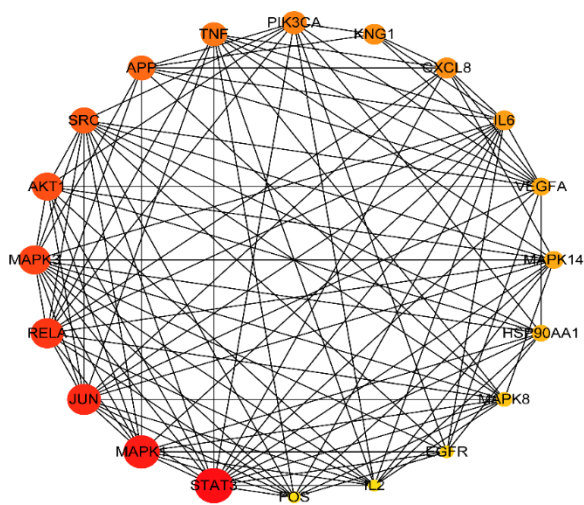


图4 度值排名前20的核心靶点

Fig. 4 Top 20 core targets in terms of degree

表2 排名前20的核心靶点拓扑参数信息

Table 2 Information of topology parameters of top 20 core targets

靶点名称	度值	中介中心性值	紧密中心性值
STAT3	47	0.46	0.86
MAPK1	45	1.66	0.63
JUN	43	2.12	0.58
RELA	42	0.97	0.65
MAPK3	41	0.86	0.61
AKT1	40	0	0.54
SRC	38	0.25	0.58
APP	37	1.41	0.47
TNF	36	0.11	1.00
PIK3CA	35	0.60	0.54
CXCL8	33	2.06	0.48
KNG1	33	0.88	0.48
IL6	32	0.91	0.51
VEGFA	30	0	0
MAPK14	30	0.97	0.55
HSP90AA1	29	0.56	0.48
MAPK8	27	0.25	0.47
EGFR	25	1.10	0.49
FOS	24	0.32	0.50
IL2	24	0.37	0.52

3.1.5 GO和KEGG通路富集分析 GO分析取前20条进行可视化处理,见图5。其中生物过程(BP)涉及对缺氧的反应、对凋亡过程的负调节、对脂多糖的反应及血管生成的正调控等。细胞组分(CC)涉及细胞外空间、细胞表面、细胞质、质膜和细胞外基质等。分子功能(MF)涉及与蛋白质结合、受体结合、酶结合、细胞因子活性、生长因子活性等。由此表明丹参-红花药对通过多个生物过程治疗心肌缺

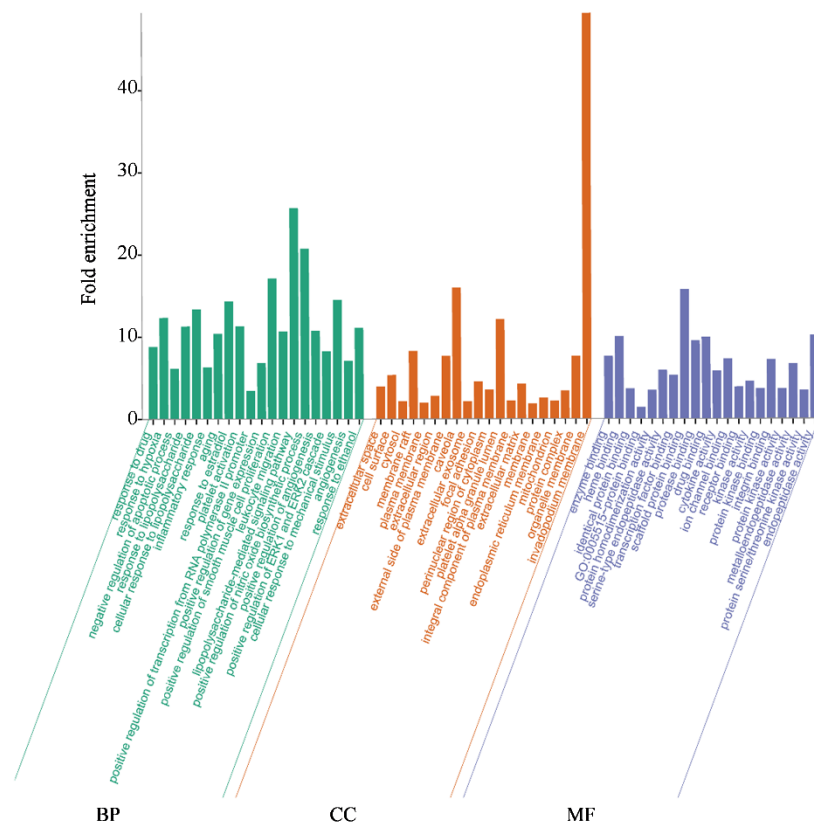


图5 丹参-红花治疗心肌缺血相关靶点的GO功能分析

Fig. 5 GO functional analysis of targets of *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* treatment in myocardial ischemic

血。KEGG分析,挑选出P值排名前20显著的信号通路进行可视化处理,见图6。这些重要的KEGG信号通路主要涉及血管生成(如HIF-1信号通路和VEGF信号通路)、炎症反应(如NF-κB信号通路和TNF信号通路)、细胞凋亡(如细胞凋亡信号通路和p53信号通路)和信号转导(如MAPK信号通路、PI3K-Akt信号通路和Jak-STAT信号通路)。因此,进行动物实验,通过蛋白免疫印迹法检测丹参-红花药对血管生成相关的蛋白表达的影响。

3.2 动物实验验证结果

3.2.1 丹参-红花对急性心肌缺血大鼠心肌病理改变的影响 如图7所示,对照组大鼠心肌细胞正常,心肌细胞横纹清晰,少有炎细胞浸润;模型组大鼠心肌纤维肿胀且有断裂,心肌细胞增宽,细胞浆聚集呈颗粒状或溶解呈空泡状,细胞核增大变圆;局部有明显水肿、渗出、炎性细胞浸润,表明模型建立成功。复方丹参滴丸组与模型组大鼠比较,心肌纤维排列略微紊乱且较窄,而肌纤维排列紧密,病理改变程度有所减轻。丹参-红花组大鼠的心肌纤维排列整齐,细胞形态结构完整,心肌纤维肿胀轻,无毛细血管扩张,细胞核清晰,居中,接近正常心肌形态。

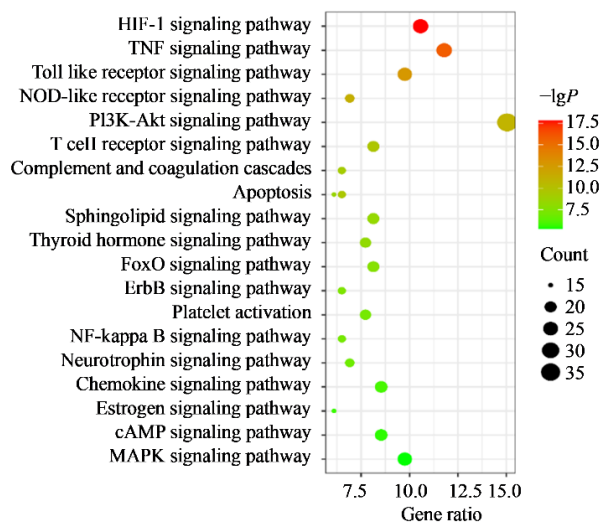


图6 丹参-红花治疗心肌缺血相关靶点的KEGG通路分析

Fig. 6 Analysis of KEGG pathway of targets *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* treatment in myocardial ischemic

3.2.2 丹参-红花对急性心肌缺血大鼠心肌组织中血管生成相关蛋白表达的影响 如图8、9所示,与对照组比较,模型组大鼠心肌组织中HIF-1α、VEGFA、PDGFA和bFGF的蛋白表达水平显著升高($P < 0.05, 0.01$),p-mTOR和p-STAT3的蛋白表达

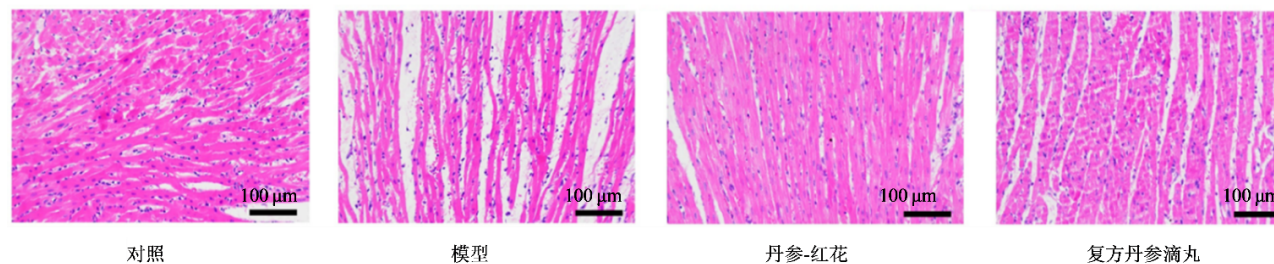


图7 各组大鼠心肌组织病理观察(HE染色, ×200)

Fig. 7 Observation results of myocardial pathology of rats in each group (HE staining, ×200)

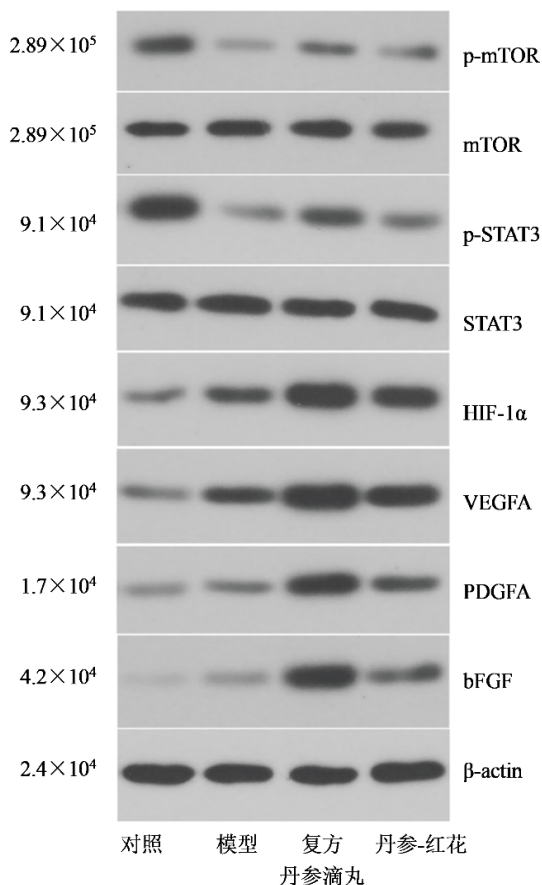


图8 各组大鼠心肌组织中血管生成相关蛋白表达

Fig. 8 Expression of angiogenesis related protein in myocardial tissue of rats in each group

水平显著下降($P < 0.01$)。与模型组比较,丹参-红花显著上调了p-mTOR、p-STAT3、HIF-1 α 、VEGFA、PDGFA和bFGF的蛋白表达水平($P < 0.05, 0.01$)。

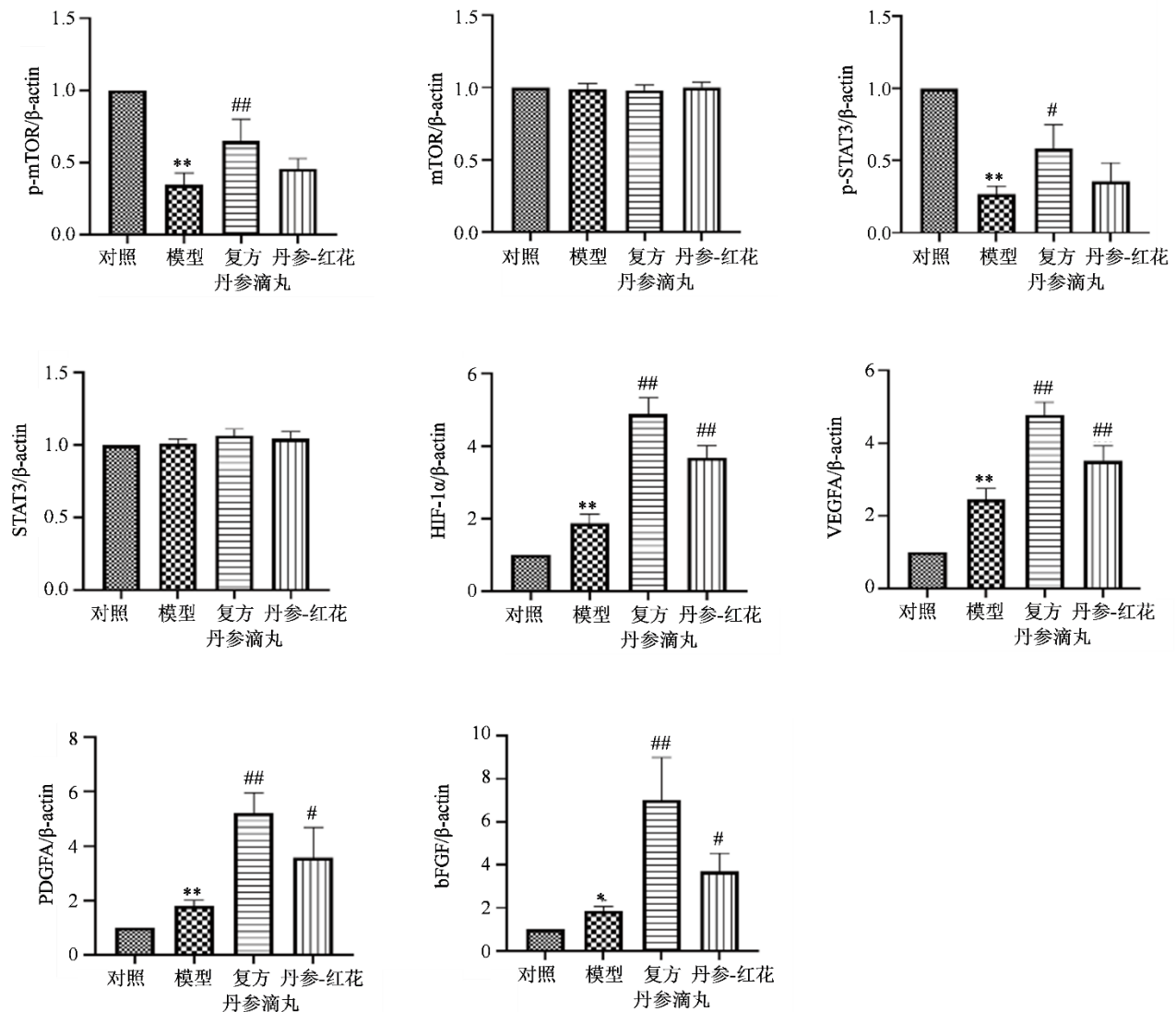
4 讨论

随着社会的发展,人们生活水平的提高,心肌缺血的发病率呈上升趋势,严重影响患者的心理健康及生活质量,因此需要对心肌缺血的治疗进行深入研究^[13-14]。在中医理论中,丹参-红花是常用的活血化瘀相须药对,两者配伍治疗心肌缺血比单独使用丹参或者红花更有效^[15]。因此,有必要确定丹

参-红花治疗心肌缺血的作用机制。

本研究通过网络药理学^[16]构建药物-成分-靶点-疾病互作网络,从整体水平对丹参-红花药对治疗心肌缺血作用机制进行探究。筛选出丹参-红花药对中91个活性成分和246个抗心肌缺血靶点,表明丹参-红花治疗心肌缺血具有多组分、多靶点的特点。通过构建PPI网络,发现丹参-红花治疗心肌缺血可能作用于STAT3、AKT1、IL6和TNF- α 等关键靶点。为探究丹参-红花药对治疗心肌缺血的潜在作用机制,进行了GO功能和KEGG通路富集分析,并通过动物实验,采用蛋白免疫印迹法检测与血管生成相关蛋白在急性心肌缺血模型大鼠心肌组织中的表达水平,验证丹参-红花是否通过调节血管生成的相关蛋白从而发挥治疗心肌缺血作用。血管生成是在已有血管的基础上形成新的血管,由促血管生成因子和抗血管生成因子之间的平衡决定^[17-18]。机体本身有自我调节功能,当发生心肌缺血时会产生血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、血小板衍生生长因子(PDGF)等^[19-20],促进缺血心肌周围的血管生成,增加血液供给。STAT3作为关键靶点,研究表明激活STAT3可上调VEGF的表达和血管生成^[21]。当心肌细胞难以摄取足够的氧气导致缺氧时,mTOR被激活进一步调控HIF-1 α 增多并表达^[22-23],进而上调VEGFA、bFGF和PDGFA的表达,促进血管生成^[24-25]。但机体自我调节相对有限,无法构建很多侧支循环来支持血液供应。如果血管生长因子及相关受体能够在药物的作用下提高表达,新生血管就会加快生成,进而构建有效的侧支循环满足心脏的供血,即治疗性血管生成^[26]。研究表明,治疗性血管生成在各种缺血性病理环境中起着至关重要的作用,包括心肌梗死、缺血/再灌注损伤、脑缺血^[27-30]。因此,治疗性血管生成已成为缺血性心脏病的一种有吸引力的新型治疗策略^[31]。

HE染色结果表明丹参-红花药对可缓解心肌缺



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

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

图9 丹参-红花对急性心肌梗死大鼠心肌组织中血管生成相关蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 9 Effects of *S. miltiorrhiza-C. tinctorius* on expression of angiogenesis related protein in myocardial tissue of rats with acute myocardial ischemia ($\bar{x} \pm s, n=3$)

血大鼠心脏组织病理变化,改善炎细胞浸润。基于网络药理学分析结果,通过蛋白印迹法对血管生成的相关蛋白进行验证,结果显示,与模型组相比,丹参-红花显著地升高 p-mTOR、p-STAT3、HIF-1 α 、VEGFA、PDGFA 和 bFGF 的表达水平,提示丹参-红花可通过上调这些与血管生成相关的蛋白水平来促进急性心肌梗死大鼠缺血心肌组织的血管生成,从而改善其缺血性损伤。

本研究通过网络药理学和动物实验结合,揭示丹参-红花药对治疗心肌缺血的作用机制,为中药治疗心血管疾病提供新的策略和研究思路。由于丹参-红花药对治疗心肌缺血多靶点、多通路的特性,

中药活性成分的复杂性,仍需进一步研究丹参-红花药对治疗心肌缺血的调控机制,为治疗心血管疾病的新药研发提供基础和依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] «中国心血管健康与疾病报告2020»编写组. «中国心血管健康与疾病报告2020»概述[J]. 中国心血管病研究, 2021, 19(7): 582-590.

The Writing Committee of the Report on Cardiovascular Health, China D I. Key points of report on cardiovascular health and diseases in China 2020 [J]. Chin J Cardiovasc

- Res, 2021, 19(7): 582-590.
- [2] Sirajuddin A, Mirmomen S M, Kligerman S J, et al. Ischemic heart disease: Noninvasive imaging techniques and findings [J]. Radiographics, 2021, 41(4): 990-1021.
- [3] Feliciano L, Henning R J. Coronary artery blood flow: Physiologic and pathophysiologic regulation [J]. Clin Cardiol, 1999, 22(12): 775-786.
- [4] Severino P, D'Amato A, Pucci M, et al. Ischemic heart disease pathophysiology paradigms overview: From plaque activation to microvascular dysfunction [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(21): 8118.
- [5] Homayounieh F, Yan P K, Digumarthy S R, et al. Prediction of coronary calcification and stenosis: Role of radiomics from low-dose CT [J]. Acad Radiol, 2021, 28(7): 972-979.
- [6] Li Z M, Xu S W, Liu P Q. *Salvia miltiorrhiza* Burge. (Danshen): A golden herbal medicine in cardiovascular therapeutics [J]. Acta Pharmacol Sin, 2018, 39(5): 802-824.
- [7] Zhang L L, Tian K, Tang Z H, et al. Phytochemistry and pharmacology of *Carthamus tinctorius* L [J]. Am J Chin Med, 2016, 44(2): 197-226.
- [8] Wang Y, Shi Y J, Zou J B, et al. Network pharmacology exploration reveals a common mechanism in the treatment of cardio-cerebrovascular disease with *Salvia miltiorrhiza* Burge. and *Carthamus tinctorius* L [J]. BMC Complement Med Ther, 2020, 20(1): 351.
- [9] 洪菲惠, 陈雨婵, 陈洁欣, 等. 基于网络药理学的逍遥散治疗代谢相关脂肪性肝病作用机制探讨及实验验证 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(12): 2417-2429.
- Hong F H, Chen Y C, Chen J X, et al. Mechanism of Xiaoyaosan on metabolic associated fatty liver disease based on network pharmacology and experiment verification [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(12): 2417-2429.
- [10] Luo T T, Lu Y, Yan S K, et al. Network pharmacology in research of Chinese medicine formula: Methodology, application and prospective [J]. Chin J Integr Med, 2020, 26(1): 72-80.
- [11] 刘虹汝, 李家桂, 袁靓, 等. 基于网络药理学和实验验证探究补阳还五汤治疗糖尿病的分子机制 [J/OL]. 中国医院药学杂志. (2023-01-30) [2023-03-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1204.r.20230130.1651.010.html>.
- Liu H R, Li J G, Yuan L, et al. Exploring the molecular mechanism of Tonic Yang Returning Five Soup in the treatment of diabetes based on network pharmacology and experimental validation [J/OL]. Chin J Hosp Pharm. (2023-01-30) [2023-03-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1204.r.20230130.1651.010.html>.
- [12] 王小平, 薛志鹏, 杜少兵, 等. 基于PI3K/PDK1/Akt信号通路研究丹参-红花药对对寒凝血瘀型心肌缺血大鼠的保护作用及机制 [J]. 中草药, 2022, 53(16): 5085-5092.
- Wang X P, Xue Z P, Du S B, et al. Protective mechanism of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma-Carthami Flos* drug pair on myocardial ischemia rats with cold coagulation and blood stasis syndrome based on PI3K/PDK1/Akt signaling pathway [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(16): 5085-5092.
- [13] 王小平, 周慧慧, 杜少兵, 等. 丹参-红花药对对急性心肌缺血大鼠心肌损伤的保护作用及机制研究 [J]. 华西药学杂志, 2022, 37(3): 253-256.
- Wang X P, Zhou H H, Du S B, et al. Study on the protective effect and mechanism of *Salvia miltiorrhiza-Carthusus tinctorius* pair on myocardial injury in rats with acute myocardial ischemia [J]. West China J Pharm Sci, 2022, 37(3): 253-256.
- [14] Jia J Y, Zang E H, Lv L J, et al. Flavonoids in myocardial ischemia-reperfusion injury: Therapeutic effects and mechanisms [J]. Chin Herb Med, 2021, 13(1): 49-63.
- [15] 白吉庆, 王鹏飞, 王小平, 等. 单向在体肠灌流模型研究"丹参-红花药对"中主要活性成分肠转运特征 [J]. 中药药理与临床, 2020, 36(4): 149-153.
- Bai J Q, Wang P F, Wang X P, et al. Intestinal transit characteristics study of Danshen-Honghua drug pairs through *in vivo* single-pass intestinal perfusion rat model [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2020, 36(4): 149-153.
- [16] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. «网络药理学评价方法指南»解读 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
- Niu M, Zhang S Q, Zhang B, et al. Interpretation of Network Pharmacology Evaluation Method Guidance [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [17] De Spiegelaere W, Casteleyn C, van den Broeck W, et al. Intussusceptive angiogenesis: A biologically relevant form of angiogenesis [J]. J Vasc Res, 2012, 49(5): 390-404.
- [18] Ma Q, Reiter R J, Chen Y D. Role of melatonin in controlling angiogenesis under physiological and pathological conditions [J]. Angiogenesis, 2020, 23(2): 91-104.
- [19] Heeschen C, Dimmeler S, Hamm C W, et al. Prognostic significance of angiogenic growth factor serum levels in patients with acute coronary syndromes [J]. Circulation, 2003, 107(4): 524-530.
- [20] Guo M, Shi J H, Wang P L, et al. Angiogenic growth factors for coronary artery disease: Current status and prospects [J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2018, 23(2): 130-141.
- [21] 祝慧, 刘长梅, 翟淼淳, 等. STAT3信号通路在缺血性心

- 脏病血管再生中的作用研究进展 [J]. 中国现代医药杂志, 2022, 24(6): 95-100.
- Zhu H, Liu C M, Zhai M B, et al. Research progress on the role of STAT3 signaling pathway in vascular regeneration of ischemic heart disease [J]. Mod Med J China, 2022, 24(6): 95-100.
- [22] He W H, James Kang Y. Ischemia-induced copper loss and suppression of angiogenesis in the pathogenesis of myocardial infarction [J]. Cardiovasc Toxicol, 2013, 13(1): 1-8.
- [23] Posadas E M, Limvorasak S, Sharma S, et al. Targeting angiogenesis in renal cell carcinoma [J]. Expert Opin Pharmacother, 2013, 14(16): 2221-2236.
- [24] Meidan, Klipper E, Zalman Y, et al. The role of hypoxia-induced genes in ovarian angiogenesis [J]. Reprod Fertil Dev, 2013, 25(2): 343-350.
- [25] Clara C A, Marie S K, de Almeida J R, et al. Angiogenesis and expression of PDGF-C, VEGF, CD105 and HIF-1 α in human glioblastoma [J]. Neuropathology, 2014, 34(4): 343-352.
- [26] Mitsos S, Katsanos K, Koletsis E, et al. Therapeutic angiogenesis for myocardial ischemia revisited: Basic biological concepts and focus on latest clinical trials [J]. Angiogenesis, 2012, 15(1): 1-22.
- [27] Mu Y, Xu Z H, Zhou X X, et al. 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside attenuates ischemia/reperfusion-induced brain injury in rats by promoting angiogenesis [J]. Planta Med, 2017, 83(8): 676-683.
- [28] Chen H, Ren M H, Li H Y, et al. Neuroprotection of benzoinum in cerebral ischemia model rats *via* the ACE-AngI-VEGF pathway [J]. Life Sci, 2020, 260: 118418.
- [29] Li M Q, Chen H S, Lin J J. Efficient measurement of the percolation threshold for random systems of congruent overlapping ovoids [J]. Powder Technol, 2020, 360: 598-607.
- [30] 姚宇晴, 陈璐, 李德坤, 等. 丹参活性成分及制剂改善脑侧支循环及促进血管生成的药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(1): 216-224.
- Yao Y Q, Chen L, Li D K, et al. Research progress in pharmacological effects of active components and preparations of *Salvia miltiorrhiza* on improving cerebral collateral circulation and promoting angiogenesis [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(1): 216-224.
- [31] Moghiman T, Barghchi B, Esmaceli S A, et al. Therapeutic angiogenesis with exosomal microRNAs: An effectual approach for the treatment of myocardial ischemia [J]. Heart Fail Rev, 2021, 26(1): 205-213.

[责任编辑 刘东博]