

基于网络靶点驱动的丹参关键活性成分群改善血瘀证的作用机制研究

刘 悅^{1,2}, 刘晓倩², 化晓凯³, 高 燕¹, 杨龙飞¹, 王 莹², 韩利文^{4*}, 赵渤年^{1*}

1. 山东中医药大学药物研究院, 山东 济南 250355

2. 山东中医药大学附属医院 药学部, 山东 济南 250014

3. 山东中医药大学第二附属医院 药学部, 山东 济南 250001

4. 山东第一医科大学药学院(药物研究所), 山东 济南 250117

摘要: 目的 利用网络靶点驱动的策略结合动物实验验证探讨丹参关键活性成分群改善血瘀证的作用机制。方法 采用网络药理学技术整合蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路数据库, 预测课题组前期筛选的丹参关键活性成分群改善血瘀证的潜在作用靶点, 并通过分子对接技术进行药物分子-靶点相互作用分析; 建立盐酸肾上腺素诱导的大鼠急性血瘀证模型, 采用ELISA试剂盒检测大鼠血清炎症因子[肿瘤坏死因子(TNF- α)、白细胞介素(IL)-6]及心肌酶[肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶A(LDHA)]水平, 利用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)和Western blotting对网络预测的丹参关键活性成分群相关的信号通路进行验证。结果 网络靶点预测发现丹参关键活性成分群可能通过作用于SRC、STAT3、TP53、TNF、EGFR、MMP9、BCL2、MYC等核心靶点发挥作用; 与对照组相比, 模型组Caspase-3蛋白水平明显升高, Bcl-2、p-Akt和p-PI3K蛋白水平明显降低($P<0.05$); 与模型组相比, 治疗组Caspase-3蛋白水平明显降低, Bcl-2、p-Akt和p-PI3K蛋白水平明显升高($P<0.05$)。结果表明丹参关键活性成分群可激活PI3K/AKT信号通路, 下调Caspase-3蛋白水平并上调Bcl-2蛋白水平来抗心肌细胞凋亡发挥改善血瘀证的功效。结论 丹参关键活性成分群改善血瘀证与激活PI3K/Akt信号通路有关, 为丹参的现代药物制剂研发提供实验依据。

关键词: 丹参关键活性成分群; 血瘀证; 网络靶点; PI3K/Akt信号通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)12-3570-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.12.014

Study on mechanism of key active component groups of *Salvia miltiorrhiza* in improving blood stasis syndrome driven by network targets

LIU Yue^{1,2}, LIU Xiaoqian², HUA Xiaokai³, GAO Yan¹, YANG Longfei¹, WANG Ying², HAN Liwen⁴, ZHAO Bonian¹

1. Institute of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China

3. Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250001, China

4. School of Pharmacy, Shandong First Medical University (Institute of Pharmaceutical Research), Jinan 250117, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of the key active component groups of *Salvia miltiorrhiza* in improving blood stasis syndrome by using a network target-driven strategy combined with animal verification experiments. **Methods** Network pharmacology was employed to integrate protein-protein interaction (PPI) networks and KEGG pathway databases to predict potential targets of the previously screened key active component groups of *S. miltiorrhiza* in improving blood stasis syndrome. Molecular docking technology was used for the analysis of the interaction between drug molecules and targets. A rat model of acute blood stasis syndrome induced by adrenaline hydrochloride was established. ELISA kits were used to detect the levels of serum inflammatory factors (TNF- α , IL-6) and myocardial enzymes (CK-MB, LDHA) in rats. qRT-PCR and Western blotting were utilized to verify the

收稿日期: 2025-07-19

基金项目: 山东中医药学会临床药学科研专项基金项目(SDACM202204); 山东省医药卫生科技项目(202413010355); 国家中医药管理局监测统计中心中医药监测统计研究课题(2025JCTJC165)

作者简介: 刘 悅, 女, 主管药师, 研究方向为中药质量综合评价及中药临床药学。E-mail: liuyue05050@163.com

*通信作者: 韩利文, 男, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药质量控制。E-mail: hanliwen08@126.com

赵渤年, 男, 研究员, 博士生导师。E-mail: bonianzh@163.com

predicted signaling pathways related to the key active component groups of *S. miltiorrhiza*. **Results** Network target prediction revealed that “the key active component groups” of *S. miltiorrhiza* might exert their effects by acting on the core targets such as SRC, STAT3, TP53, TNF, EGFR, MMP9, BCL2, and MYC. Compared with the control group, the protein level of Caspase-3 in the model group was significantly increased, while the protein levels of Bcl-2, p-Akt, p-PI3K and PI3K were significantly decreased ($P < 0.05$); Compared with the model group, the protein level of Caspase-3 in the treatment group was significantly decreased, and the protein levels of Bcl-2, p-Akt and p-PI3K were significantly increased ($P < 0.05$). These results indicated that the key active component group of *S. miltiorrhiza* could activate the PI3K/AKT signaling pathway, downregulate the protein level of Caspase-3 and upregulate the protein level of Bcl-2 to inhibit cardiomyocyte apoptosis, thereby improving blood stasis syndrome. **Conclusion** This study indicates that the improvement of blood stasis syndrome by the key active component groups of *S. miltiorrhiza* is related to the activation of the PI3K/Akt signaling pathway, providing experimental evidence for the development of modern drug formulations of *S. miltiorrhiza*.

Key words: key active component groups of *Salvia miltiorrhiza*; blood stasis syndrome; network targets; PI3K/Akt signaling pathway

丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 作为一种常用的活血化瘀中药, 在传统中医临床实践中已有数千年的应用历史。《神农本草经》将其列为上品, 记载其“主心腹邪气, 肠鸣幽幽如走水, 寒热积聚; 破症除瘕, 止烦满, 益气”, 高度概括了丹参在治疗气血瘀滞相关病症方面的显著功效。随着中医药现代化研究的不断深入, 对丹参活血化瘀功效的探索已从传统的经验认知逐步拓展至多学科交叉融合的微观机制研究^[1]。现代研究表明, 丹参改善血瘀证与其中的酚酸类及丹参酮类成分有关^[2-4]。研究显示丹参酮II_A能够抑制血小板聚集, 调节血液流变学特性, 改善血液的高凝状态^[5], 丹酚酸B能有效改善家兔血液流变性^[6]等。然而, 既往的研究都集中在单独或少数几种成分的活性研究, 具有确定剂量比例的关键活性成分群如何整体发挥改善血瘀证的功效尚未完全明确。

网络药理学是一种融合信息科学、生物信息学和系统生物学等多学科知识的技术手段, 它通过构建药物分子与潜在靶点之间的网络作用关系, 系统地揭示药物多靶点、多途径的作用机制^[7-8]。这种网络靶点驱动策略不仅为理解药物的整体效应提供了全新研究框架, 更成为解析多成分药物复杂作用机制的有力工具。

本课题组前期通过谱效分析筛选出丹参中7种与活血化瘀功效相关的关键活性成分包括丹酚酸类(紫草酸、迷迭香酸、丹酚酸B、原儿茶醛)和丹参酮类(丹参酮II_A、隐丹参酮、丹参酮II_B), 认为是丹参改善血瘀证的关键活性组分群, 但是其整体的作用机制尚不清楚。本研究旨在借助网络驱动策略结合动物实验探讨丹参关键活性组分群改善血瘀证的作用机制, 为丹参的现代药物制剂研发提供实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

隐丹参酮(批号110852-201807, 质量分数99.0%)、丹参酮II_A(批号110766-202022, 质量分数98.9%)和丹酚酸B(批号111562-201716, 质量分数94.1%)由中国食品药品检定研究院提供; 原儿茶醛(批号TO1013FB14, 质量分数99.3%)、迷迭香酸(批号Y16A9K67403, 质量分数99.7%)和紫草酸(批号Y04J10H75487, 质量分数99.9%)由上海源叶生物科技有限公司提供; 丹参酮II_B(批号17397-93-2, 质量分数98.0%)由成都普思生物科技股份有限公司提供; 无水乙醇(分析纯, 批号20221012, 国药集团化学试剂有限公司), 盐酸肾上腺素注射液(批号10160602, 每支1mL)购买自上海禾丰制药有限公司; 二甲基亚砜(DMSO, 批号39075)由上海Sangon生物科技公司提供。

BCA蛋白检测试剂盒(货号P0012)由百奥泰生物技术(上海)有限公司提供。TBS、PMSF(100 mmol·L⁻¹)、5×加载缓冲液和RIPA裂解缓冲液由武汉博斯特生物技术有限公司提供; 蛋白质标记(货号26616)购自Thermo Fisher Scientific公司。ECL化学发光试剂盒(货号G2014)和SDS-PAGE凝胶试剂盒(货号G2003)由武汉赛威生物技术有限公司提供; 超纯RNA纯化试剂盒(货号CW0581M)和TRIzon试剂(货号CW0580S)由康维世纪生物技术有限公司提供; YBR Green Pro Taq HS Premixed qPCR Kit(货号AG11701)由杭州艾克瑞生物技术有限公司提供; 大鼠肌酸激酶MB同工酶(CK-MB)ELISA试剂盒(货号F3500-B)、大鼠乳酸脱氢酶A(LDHA)ELISA试剂盒(货号F8505-B)、大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)ELISA试剂盒(货号F3056-B)和大鼠白细胞介素-6(IL-6)ELISA试剂盒(货号F3066-

B)由上海凡科实业有限公司提供;磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K,货号67071-1-Ig,1:1000)、蛋白激酶B(Akt,货号60203-2-Ig,1:5000)、p-Akt(货号66444-1-Ig,1:2000)、BCL-2(货号68103-1-Ig,1:5000)、Caspase-3(货号66470-2-Ig,1:1000)抗体购自Proteintech Group, Inc. P-PI3K抗体(货号AF3242,1:500)购自Affinity Biosciences公司。

1.2 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠, 6~8 周龄, 体质量(200±10)g, 18 只, 实验动物使用许可证 SYXK2021-0003。饲养环境温度 20~26 °C, 湿度 40%~70%, 光照 12 h 明暗交替。饲料为大、小鼠维持饲料, 由江苏省协同医药生物工程有限责任公司提供, 给料方法为自由摄取。饮水为纯化水, 方式自由摄取。动物实验方案经易生源基因科技有限公司动物伦理委员会批准(方案号 YSY-DWLL-2024746)。

1.3 仪器

Multiskan sky 酶标检测仪、Multiskan sky 超微量分光光度计由 Thermo Fisher 公司提供; 0004219-11 台式高速冷冻型离心机由德国 Hettich 科学仪器有限公司提供; SMART-N 纯水仪由力康集团提供; Paper Trimmer (Mini-6kc) 由 Deli Group Co. Ltd. 提供; D1008E 微型离心机由杭州米欧仪器有限公司提供; MV-100 涡旋混匀仪由武汉赛维尔生物科技有限公司提供; DYY-6C 电泳仪、WD-9405F 脱色摇床由北京六一仪器厂提供; SZB-20 制冰机由常熟市菱科电器有限公司提供; Tanon5200 全自动化学发光成像系统由上海天能科技有限公司提供; alphaEaseFC 灰度分析软件由 Alpha Innotech 提供; Adobe PhotoShop 图像分析软件由 Adobe 提供; KZ-III-F 高速低温组织研磨仪由 Servicebio 提供; CFX connect 荧光定量 PCR 仪由伯乐生命医学产品(上海)有限公司提供; SW-CJ-1FD 超净工作台由苏州净化设备有限公司提供; 3120000348 移液枪由 Eppendorf Research® plus 提供; 20-1000 TIP 头由山东巴罗克生物科技股份有限公司提供; JB-P5 包埋机由武汉俊杰电子有限公司提供; Leica RM 2016 病理切片机由徕卡显微系统(上海)有限公司提供; RAC-030 全自动凝血分析仪, 深圳市雷杜生命科技股份有限公司。

2 方法

2.1 网络靶点预测分析

2.1.1 获取丹参关键活性组分群及血瘀证的潜在

靶点 本研究选用多源数据库进行靶点预测与筛选, 以确保数据的全面性与可靠性。中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)数据库是中医药系统药理学领域的权威资源, 兼具化合物、药动学与靶点信息。将紫草酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、原儿茶醛、丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹参酮 II_B的英文名称输入 TCMSP (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>) 平台获取所选化合物的分子编号(Molecule ID)、分子名称(Molecule name)、药动学参数以及对应靶标数据, 并通过 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>) 对靶标进行规范化统一。选用 Swiss Target Prediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 进行靶点补充, 构建丹参活血化瘀功效关键活性组分群靶点信息数据库。

分别在 Gene Cards (<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<https://www.omim.org/>) 以及 TTD (<https://ngdc.cncb.ac.cn/>) 数据库中, 以“Blood stasis syndrome”作为检索关键词, 进行血瘀证靶点的查找。Gene Cards 数据库的数据导出后首先以相关分数(Relevance score)大于中位数为条件进行筛选, 相关分数越高表明靶点与疾病的相关性越强, 剔除相关性较弱的靶点, 并与另外 2 个数据库检索到的疾病靶点整合汇总去重, 即得到疾病相关靶点, 这样有效整合了不同来源和类型的数据, 减少了单一数据库的偏倚, 为后续网络药理学分析奠定了坚实基础。

2.1.2 构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络与筛选核心靶点 将丹参关键活性组分群靶点和血瘀证相关靶点整合并导入 Venn 2.1.0 平台 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) 进行图谱分析, 得到交集靶点, 这些靶点将被视为丹参关键活性组分群活血化瘀功效的潜在靶点。将这些潜在靶点上传至 STRING (<https://string-db.org/>) 数据库, 种属选定为“Homo sapiens”, 置信度设置为最高标准, 即 ≥ 0.900 , 同时选择隐藏游离蛋白, 其余参数维持默认设定, 即得到丹参关键活性组分群活血化瘀功效的潜在靶点的 PPI 网络图, 将数据以 tsv 格式下载导入 Cytoscape 3.7.0 软件对 PPI 网络进行可视化拓扑结构分析, 筛选核心靶点。

2.1.3 基因本体(GO)注释及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 将交叉基因导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>), 进行 GO 和 KEGG 富集分析。利用微生信平台绘制 GO 直方图和 KEGG 气泡图, 进行可视化分析。

2.1.4 核心靶点的分子对接模拟验证 将7种关键活性组分群与度(degree)值排名前5的核心靶点,采用薛定谔软件,进行分子对接模拟验证,并利用Pymol软件对对接结果进行三维可视化处理。

2.2 动物实验

2.2.1 丹参关键活性成分群溶液的配制 本课题组前期研究结果显示综合药效指标最好的1批丹参中7种关键活性成分的质量配比为原儿茶醛:迷迭香酸:紫草酸:丹酚酸B:丹参酮II_B:隐丹参酮:丹参酮II_A=4:38:4:14:25:268:1。按照以上配比精密称取各化合物适量混合后溶解于2.0 mL 10% DMSO中,制备成质量浓度为1 mg·mL⁻¹的丹参关键活性成分群溶液。

2.2.2 大鼠急性血瘀证模型的构建及分组给药 本研究主要参考《常用大鼠血瘀证模型的比较研究》^[9]进行血瘀证模型的构建,该文献报道肾上腺素构建的血瘀证模型,大鼠血液呈高黏、高浓、高凝状态,对血小板聚集及相关凝血参数的影响也较为显著,适用性较强,常用于各类活血化瘀药物的研究。以0.8 mL·kg⁻¹的剂量对大鼠实施sc盐酸肾上腺素注射液,该注射过程分2次完成,2次注射之间间隔4 h;在首次sc盐酸肾上腺素注射液2 h后,将大鼠浸入冰水中,持续时间设定为5 min;待完成第2次sc盐酸肾上腺素注射液后,大鼠的血瘀证模型即构建完成^[9]。

适应性饲养1周后将18只大鼠随机分为对照组(不做任何处理)、模型组、丹参关键活性成分群组,每组6只。模型组:造模后第2天开始连续7 d定时定量每天ig 10% DMSO(20 mg·kg⁻¹, 4 mL)1次;丹参关键活性组分群组:造模后第2天开始ig丹参关键活性组分群溶液(20 mg·kg⁻¹, 4 mL, 6倍人体等效剂量),连续7 d。

2.2.3 血清标本的采集 对3组大鼠实施禁食不禁水12 h处理后,用3%戊巴比妥钠(30 mg·kg⁻¹),ip麻醉。打开大鼠腹腔,经腹主动脉采集血液。部分血液收集至含有枸橼酸钠抗凝剂的真空采血管内,血液与抗凝剂按9:1的比例混合,采集后轻轻颠倒采血管,使血液与抗凝剂充分混匀,进行凝血4项[凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(FIB)含量]的检查。其余血液标本室温下静置1~2 h,之后放入离心机在4 °C条件下,按照3 000 r·min⁻¹的速率离心10 min,将离心后的上层血清使用移液枪吸出,并置

于新EP管中,做好标记,放入-80 °C冰箱储存备用。

2.2.4 心脏标本提取 将对照组、模型组、丹参关键活性组分群组大鼠麻醉取血后,扩胸器撑开胸腔暴露心脏,无菌镊钝性分离周边组织后,剪断大血管,将心脏迅速取出分小块,放入冻存管中并编号,迅速投入液氮罐中冷冻,然后转移至-80 °C冰箱保存备用。

2.2.5 苏木精-伊红(HE)染色 取“2.2.4”项下对照组、模型组及关键活性组分群组心脏组织,用梯度乙醇脱水,加二甲苯透明。随后组织块依次在3缸60 °C石蜡中浸蜡,包埋后切成4 μm厚切片。切片脱蜡,依次放入二甲苯I、II、III各20 min,再经无水乙醇I、II各5 min,95%、90%、80%、70%乙醇各5 min,最后蒸馏水浸洗5 min。脱蜡切片用Mayer氏苏木素染液染色5 min,自来水洗返蓝;接着用1%水溶性伊红染液染色5 min,自来水洗30 s。随后,切片经70%、80%、90%、95%乙醇,无水乙醇I、II,二甲苯I、II各脱水透明2 min,在通风橱中风干。风干后用中性树胶封片,镜检评估心脏组织病理学损伤,并用ImageJ软件分析染色结果。

2.2.6 血清生化指标的检测 采用双抗体夹心法测定对照组、模型组及关键活性组分群组血清中LDHA、CK-MB、TNF-α以及IL-6的水平。具体操作严格依照试剂说明书,依次历经标准品稀释、加样、温育、配液、洗涤、加酶、温育、洗涤、显色、终止、测定11个步骤。完成上述操作后,运用酶标仪在450 nm波长下测量吸光度(A值),并借助标准曲线,最终计算出大鼠血清中LDHA、CK-MB、TNF-α及IL-6的浓度。

2.2.7 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)分析 用TRIzol试剂提取对照组、模型组及关键活性组分群组心脏组织RNA,反转录反应液由5×Evo M-MLV RT Master Mix、总RNA和无RNase水组成,反应条件为:37 °C 15 min, 85 °C 5 s, 4 °C终止。反转录后得到cDNA,使用SYBR® Green Premix Pro Taq HS qPCR Kit(AG11701)进行qPCR扩增,反应程序:95 °C预变性30 s; 95 °C变性5 s、60 °C退火30 s,共40个循环;最后进行解离曲线分析。采用2^{-ΔΔCt}法计算目标基因的相对mRNA表达水平。见表1。

2.2.8 Western blotting 用含有5 mmol·L⁻¹EDTA和2 mmol·L⁻¹ PMSF的裂解缓冲液匀浆对照组、模型组及关键活性组分群组心脏组织,然后在10 000 r·min⁻¹转速下离心5 min,分离出总蛋

表 1 mRNA 引物序列
Table 1 Primer sequences for mRNA

基因	F (5'→3')	R (5'→3')
<i>Caspase-3</i>	GGAGCTTGGAACCGCGAAGAA	ACACAAGCCCATTTCAGGGT
<i>Bcl-2</i>	GTGTGGAGAGCGTCAACAG	CTTCAGAGACAGCCAGGAGA
<i>AKT1</i>	ATGAGAAGAAGCTGAGCCAC	ACACACTCCATGCTGTCATCTT
<i>PI3K</i>	GTGGACACCCAAGCTGACTG	AAGCAAATCCCTTCACCCAA
<i>GADPH</i>	CAAGTTCAACGGCACAGTCAG	ACATACTCAGCACCAGCATCAC

白。用 BCA 试剂盒测定蛋白质浓度, 蛋白提取物与 5×上样缓冲液按 4:1 的比例混合, 制备蛋白上样溶液, 在 100 °C 下煮沸 15 min 使其变性。蛋白溶液上样至 10% SDS-PAGE 凝胶上, 电泳完成后转移至 PVDF 膜上。随后, 用相应的一抗溶液在 4 °C 孵育, PVDF 膜过夜后用二抗溶液孵育。使用 ECL 发光液 A 和 B 进行条带曝光, 并使用 ImageJ 软件分析目标条带的光密度。

2.3 统计分析

运用 GraphPad Prism 8.0.1 统计软件进行数据分析及绘制柱状图, 使用单因素 ANOVA 分析; 数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

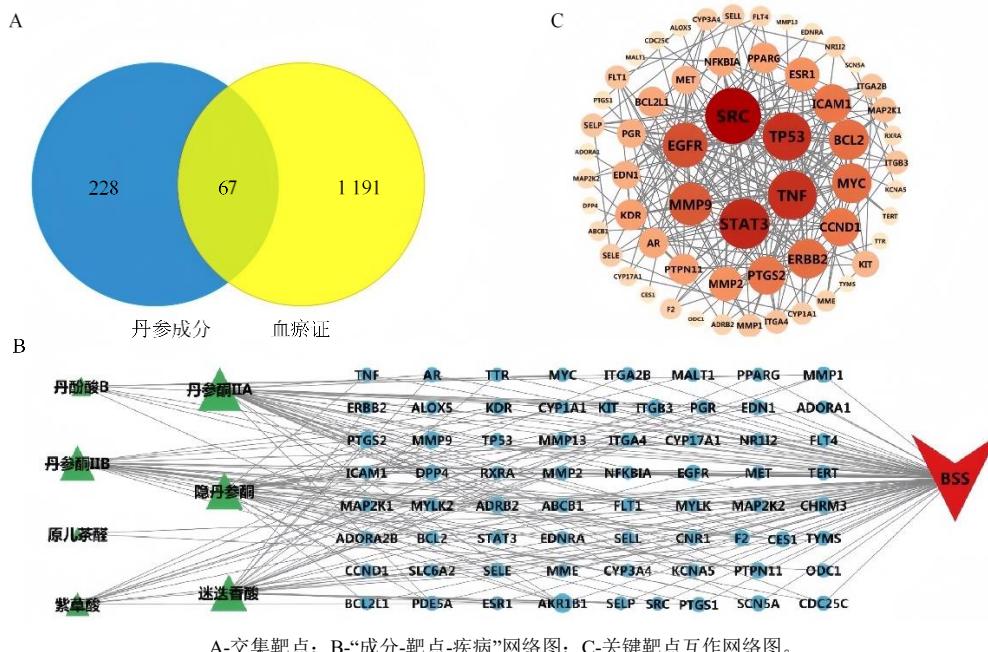
3 结果

3.1 丹参关键活性组分群改善血瘀证的潜在网络靶点分析

丹参关键活性组分群经 TCMSP 和 SwissTargetPrediction 数据库共同检索, 共获得 295

个靶点。通过 Genecard、OMIM、TTD 数据库检索整合后共获得血瘀证相关靶点 1 258 个, 将 295 个成分靶点与 1 258 个血瘀证靶点导入 Venny2.1.0 进行作图分析, 得到交集靶点 67 个 (图 1-A), 即为丹参关键活性组分改善血瘀证的潜在作用靶点。

将丹参关键活性组分、交集靶点和血瘀证靶点信息导入 Cytoscape 3.7.0 软件, 绘制“成分-靶点-疾病”网络图 (图 1-B), 共获得 75 个节点 (包括 67 个靶点、1 种疾病和 7 种活性成分), 181 条边, 其中蓝色代表交集靶点, 绿色代表活性成分, 红色代表血瘀证, 运用“Network analysiser”工具拓扑分析后, 设置形状大小随 degree 值而变化。7 种化合物按 degree 值排序为丹参酮 II A > 隐丹参酮 > 迷迭香酸 > 丹参酮 II B > 紫草酸 > 丹酚酸 B > 原儿茶醛, degree 值较高的节点通常被认为具有更重要的生物学功能或在网络中发挥更关键的作用, 意味着该化合物有潜力通过多种途径对疾病产生影响。



A-交集靶点; B-“成分-靶点-疾病”网络图; C-关键靶点互作网络图。

A-intersection targets; B-“component-target-disease” network diagram; C-key targets interaction network diagram.

图 1 网络药理学可视化分析结果
Fig. 1 Visual analysis results of network pharmacology

将67个潜在作用靶点导入STRING数据库,构建PPI网络,将其数据处理后导入Cytoscape3.7.0软件,网络拓扑分析显示59个节点,238条边(图1-C)。节点代表蛋白,连线体现蛋白功能相关性,节点颜色越深、尺寸越大,其degree值越高。按照degree值排名,排名前10的靶点为原癌基因酪氨酸蛋白激酶Src(SRC)、信号转导与转录激活因子3(STAT3)、肿瘤蛋白p53(TP53)、TNF、表皮生长因子受体(EGFR)、基质金属蛋白酶9(MMP9)、B细胞淋巴瘤2蛋白(BCL2)、原癌基因c-Myc(MYC)、受体酪氨酸蛋白激酶erbB-2(ERBB2)和前列腺素内过氧化物合酶2(PTGS2)。

3.2 基于网络靶点的丹参关键活性组分群缓解血瘀证主要信号通路预测分析

GO功能分析共得到 $P<0.05$ 的264个富集结果,依据每条目的基因数目进行降序排列,按照 $P<0.05$ 的标准,分别取每类条目的前10条,数据整合后通过微生信平台绘制富集柱状图,见图2-A。其中生物过程(BP)141项,主要涉及信号转导、RNA聚合酶II启动子对转录的正向调控、染色质重塑等。细胞组分(CC)35项,主要涉及质膜、细胞质、细胞溶胶等。分子功能(MF)88项,主要涉及蛋白结合、相同的蛋白结合、金属离子结合等。这些过程共同反映了血瘀状态下细胞应激、炎症反应与基因表达调控的紊乱,表明血瘀证的发生与细胞膜结构、胞内物质运输、代谢场所的功能异常、蛋白质互作和

离子结合等密切相关。

根据KEGG富集结果,得到了107条信号通路,主要涉及磷脂酰肌醇-3-激酶-蛋白激酶B(PI3K-Akt)信号通路、癌症中的蛋白聚糖、脂质和动脉粥样硬化通路等。根据计数(每条通路的基因数),选出前10条信号通路绘制气泡图,见图2-B。PI3K-Akt信号通路在图中纵坐标最上方,说明它和丹参治疗血瘀证的关联性最强,丹参可能通过调节该通路中关键分子(如Akt、PI3K亚型等)改善血瘀状态下的血管功能与细胞代谢。Proteoglycans in cancer信号通路排在第2位,Proteoglycans(蛋白聚糖)在心血管系统中参与细胞外基质重塑、炎症响应与血管通透性调控,丹参或通过干预蛋白聚糖合成/降解通路,调节血管外基质环境与炎症因子释放以改善血行。以上通路从分子层面揭示了血瘀证的多通路、多靶点调控特点,为阐释血瘀证的现代生物学内涵及丹参关键活性组分群的干预机制提供了重要依据。

3.3 分子对接实验结果

丹参关键活性组分与排名前5的核心靶点(SRC、STAT3、TP53、TNF、EGFR)进行对接,解析关键活性组分群能否通过以上关键靶点发挥活血化瘀的功效。根据不同成分与各靶点的对接得分和MMGBSA结合自由能(表2和图3),7种成分与5种靶点之间均呈现出一定的结合能力。一般配体与受体结合能越低,代表对接的构象越稳定。

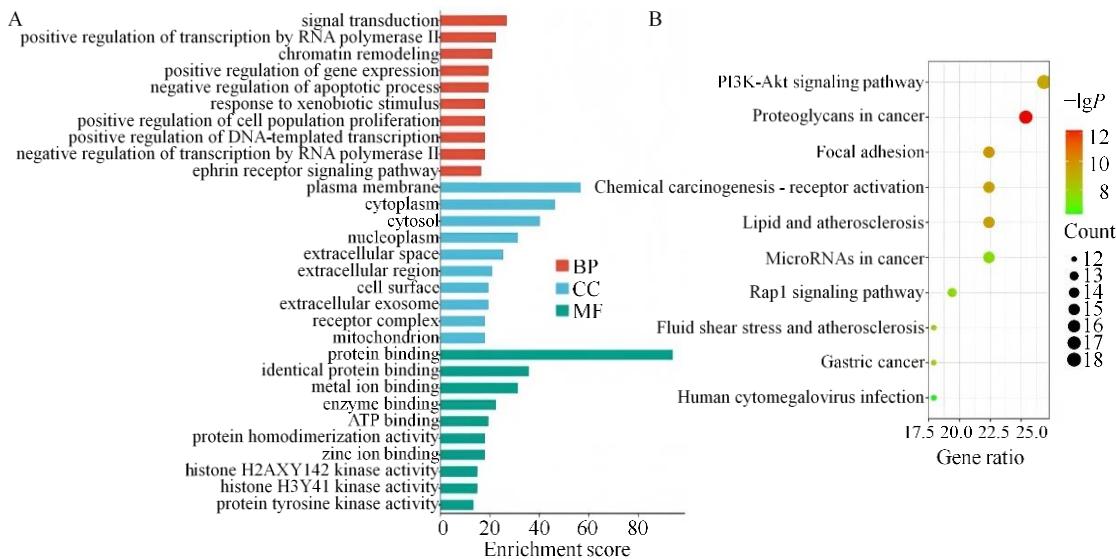


图2 GO富集(A)和KEGG通路富集(B)分析图
Fig. 2 GO enrichment (A) and KEGG pathway enrichment (B) analysis

3.4 丹参关键活性组分群可以显著改善血瘀证大鼠的凝血 4 项指标

由图 4 可知, 与对照组对比, 盐酸肾上腺素诱导的大鼠急性血瘀证模型 PT、TT、APTT 显著缩短 ($P<0.05$), FIB 含量显著升高 ($P<0.05$), 大鼠血液呈现高凝状态, 内、外源性凝血途径活性增强, 纤维蛋白原含量增加, 符合血瘀证血液流变学特征, 表明大鼠急性血瘀证模型构建成功。丹参关键

活性组分群干预后, 对急性血瘀证大鼠模型凝血 4 项指标均有改善作用, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

3.5 丹参关键活性组分群减轻血瘀证大鼠心脏组织的病理损伤

如图 5 所示, 在 HE 染色下, 对照组的心壁和心腔无明显异常, 心肌纤维颜色均匀, 细胞分界清晰, 间质无异常, 并且没有观察到明显的坏死或炎

表 2 关键活性组分群与核心靶点对接得分及 MMGBSA 结合自由能

Table 2 Docking scores and MMGBSA binding free energy between key active component groups and core targets

成分	SRC		STAT3		TP53		TNF		EGFR	
	对接得分	结合能/ (kJ·mol ⁻¹)								
丹参酮 II _A	-25.60	-180.09	-17.85	-137.81	-27.65	-170.07	-26.19	-175.39	-25.10	-172.80
隐丹参酮	-22.21	-158.34	-15.00	-104.83	-21.03	-145.06	-26.69	-178.37	-25.73	-165.63
迷迭香酸	-29.04	-155.28	-24.43	-132.86	-29.96	-208.70	-20.95	-127.54	-27.70	-191.23
丹参酮 II _B	-27.53	-197.31	-19.82	-159.76	-26.61	-176.44	-27.32	-194.00	-32.26	-180.04
紫草酸	-26.19	-123.73	-21.03	-131.11	-18.73	-145.43	-24.60	-164.88	-29.83	-113.38
丹酚酸 B	-24.01	-73.03	-15.46	-121.64	-12.65	-187.46	-17.14	-67.54	-25.94	-91.93
原儿茶醛	-21.83	-0.34	-12.86	-23.38	-19.82	-19.11	-17.93	-48.19	-13.41	-20.45

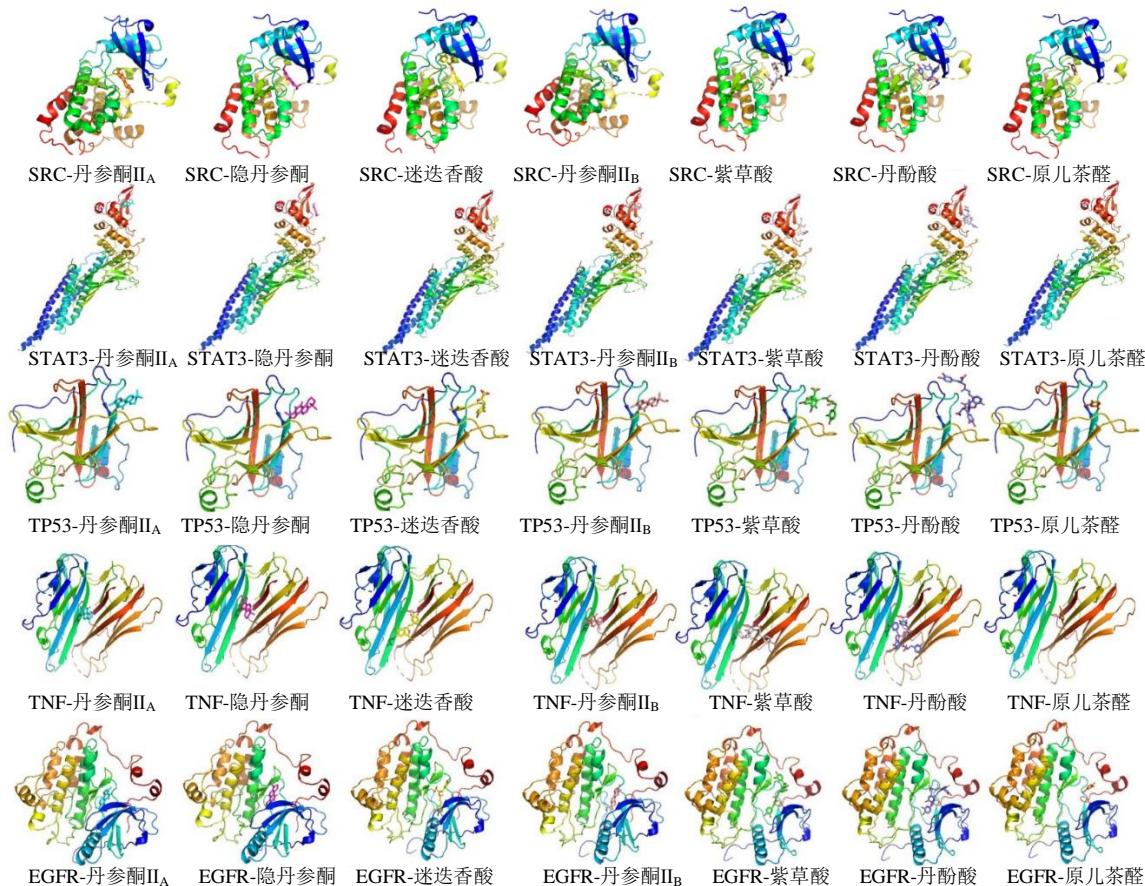


图 3 化合物与蛋白质的对接结合图

Fig. 3 Docking binding profiles of compounds and proteins

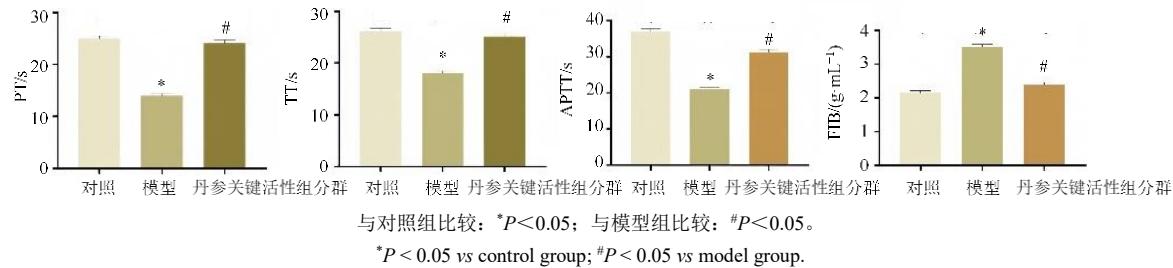
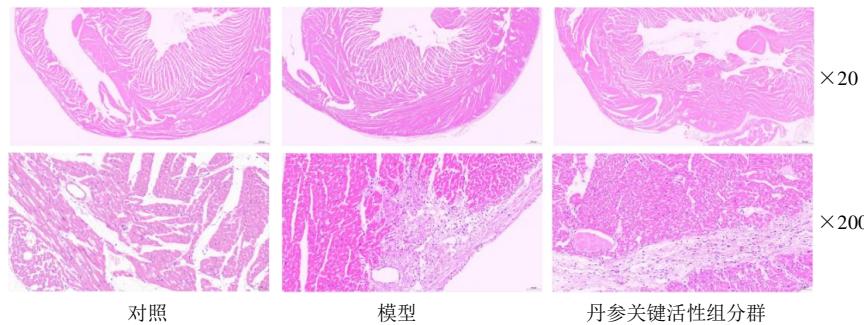
图4 丹参关键活性组分群干预后急性血瘀证大鼠凝血指标($\bar{x} \pm s, n=6$)Fig. 4 Improvements in four coagulation indices in rats with acute blood stasis syndrome after intervention with *S. miltiorrhiza* key active component groups ($\bar{x} \pm s, n=6$)

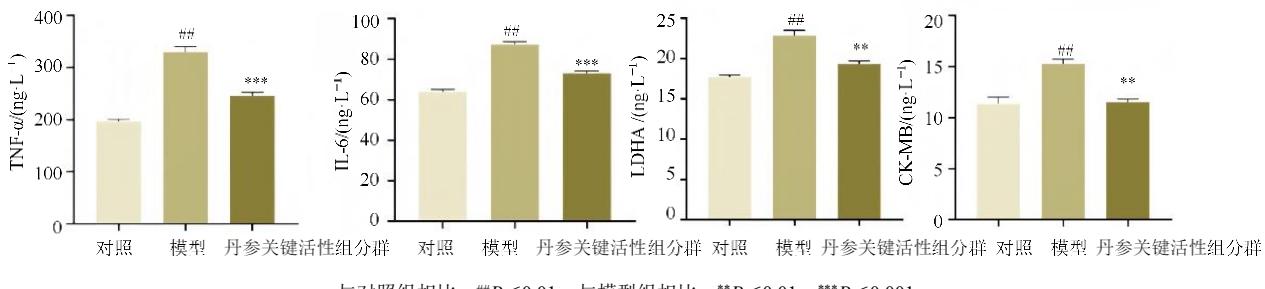
图5 HE染色观察各组大鼠心肌组织病理改变

Fig. 5 HE staining of pathological changes in myocardial tissue across groups

症细胞浸润；在模型组中，大面积心外膜可见结缔组织增生，伴有更多的淋巴细胞浸润，心肌细胞排列不规则，可见心肌细胞坏死；丹参关键活性组分群干预后，血瘀证大鼠的淋巴细胞炎症浸润和心肌细胞坏死减少，心肌纤维得到修复。

3.6 丹参关键活性组分群对血瘀证大鼠血清生化因子的改善作用

如图6所示，与对照组相比，模型组血清中 TNF- α 、IL-6、CK-MB 和 LDHA 水平显著升高 ($P<0.01$)。与模型组相比，丹参关键活性成分组血清中 TNF- α 、IL-6、CK-MB 和 LDHA 水平明显下降 ($P<0.01$ 、 0.001)。

图6 血清中 TNF- α 、IL-6、CK-MB 和 LDHA 的水平($\bar{x} \pm s, n=6$)Fig. 6 Levels of TNF- α , IL-6, CK-MB, and LDHA in serum ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.7 丹参关键活性组分群通过干预 PI3K/Akt 信号通路改善血瘀证

本研究采用 qRT-PCR 检测对照组、模型组和丹参关键活性组分群组心脏组织中 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白的 mRNA 表达，结果如图7所示。与对照组相比，模型组 PI3K、Akt 和 Bcl-2 的相对 mRNA 表达水平明显降低 ($P<0.05$)，Caspase-3 的相对 mRNA 表达水平明显升高 ($P<0.05$)。与模型组相比，丹参关键活性组分群 PI3K、Akt 和 Bcl-2 的相对 mRNA 表达水平明显升高 ($P<0.001$)，Caspase-3 的相对 mRNA 表达水平明显降低 ($P<0.001$)，Caspase-3 基因表达受到负调控，可能会导致体内 Caspase-3 蛋白水平下降。

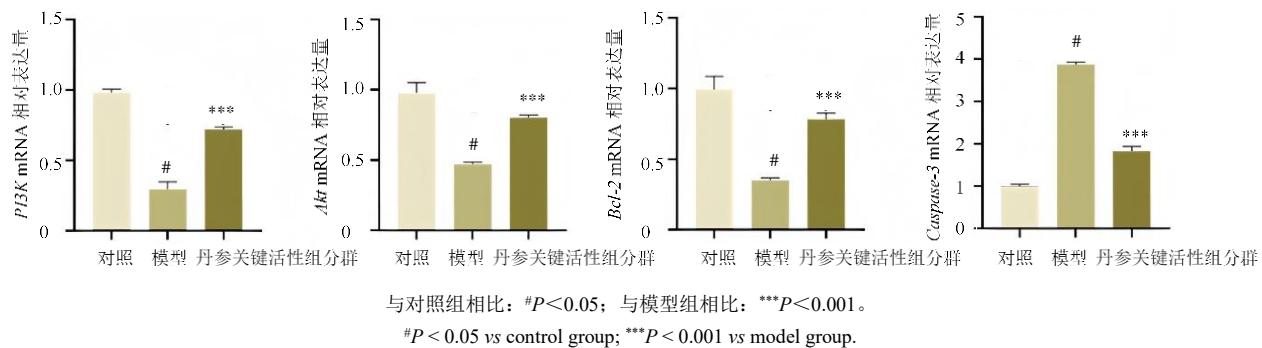


图 7 *Akt*、*PI3K*、*Bcl-2* 和 *Caspase-3* 蛋白的 mRNA 表达水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Fig. 7 mRNA expression levels of *Akt*, *PI3K*, *Bcl-2*, and *Caspase-3* ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

3.8 丹参关键活性组分群在蛋白表达层次干预 PI3K/Akt 信号通路改善血瘀证

通过 Western blotting 检测对照组、模型组和丹参关键活性组分群组大鼠心脏组织中 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、Bcl-2 和 Caspase-3 的表达水平, 结果如图 8 和图 9 所示。与对照组相比, 模型组 Caspase-3 蛋白水平明显升高, Bcl-2、p-Akt、p-PI3K 和 PI3K 蛋白水平明显降低 ($P < 0.05$), 而 Akt 蛋白水平无差异 ($P > 0.05$)。与模型组相比, 治疗组 Caspase-3 蛋白水平明显降低, Bcl-2、p-Akt 和 p-PI3K 蛋白水平明显升高 ($P < 0.05$), 而 Akt 和 PI3K 蛋白水平无明显差异 ($P > 0.05$)。这些结果表明, 丹参关键活性组分群可通过下调 Caspase-3 蛋白水平, 上调 Bcl-2、p-Akt 和 p-PI3K 蛋白水平来调节 PI3K/Akt 信号通路, 这可

能是丹参关键活性组分群通过抑制心肌细胞凋亡发挥活血化瘀功效改善血瘀证的作用机制。

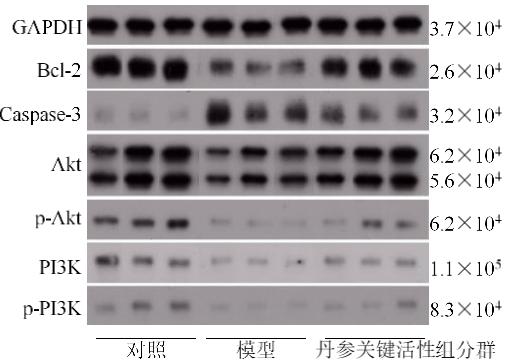


图 8 *Bcl-2*、*Caspase-3*、*Akt*、*p-Akt*、*PI3K* 和 *p-PI3K* 的蛋白条带图
Fig. 8 Protein band images of *Bcl-2*, *Caspase-3*, *Akt*, *p-Akt*, *PI3K*, and *p-PI3K*

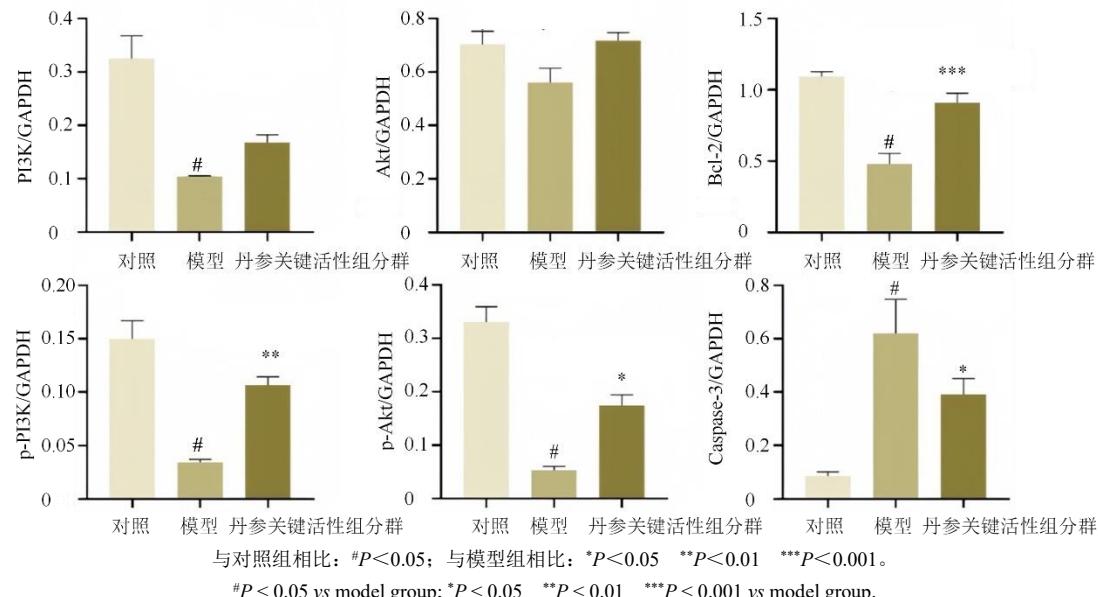


图 9 大鼠心肌组织中 *Akt*、*p-Akt*、*PI3K*、*p-PI3K*、*Bcl-2* 和 *Caspase-3* 蛋白的表达情况 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Fig. 9 Expression levels of *Akt*, *p-Akt*, *PI3K*, *p-PI3K*, *Bcl-2*, and *Caspase-3* in rat myocardial tissue ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

4 讨论

等效成分群是传统中药现代开发的重要理论创新,认为中药中针对特定病证发挥药效的并非所有成分,而是天然存在着一组特征明确的活性成分群,该成分群具有明确的组成和含量比例,能协同作用于关键靶标和通路,实现与原中药等效的药效作用^[10]。关键活性成分群属于等效成分群理论范畴,其核心在于通过科学方法筛选出能够代表原药材整体药效的最优成分组合。本研究首次证实丹参的7种关键活性成分群(丹参酮II_A、隐丹参酮、迷迭香酸、丹参酮II_B、紫草酸、丹酚酸B、原儿茶醛)能够有效改善血瘀证,并且明确相互之间的定量关系,为后续的现代药物制剂开发奠定了基础。

网络靶点预测分析发现丹参关键活性组分群治疗血瘀证的潜在作用靶点包括SRC、STAT3、TP53、TNF、EGFR等。SRC激酶是一种非受体酪氨酸激酶,参与细胞的多种生理过程,如细胞增殖、迁移和黏附等^[11]。已有研究表明,抑制SRC激酶活性能够改善血管内皮功能障碍,减少血栓形成的风险^[12]。周迎晨等^[13]研究证明丹参的活性成分可以通过靶点ERK和SRC等抑制血小板聚集从而治疗血瘀证。STAT3在细胞因子信号传导中扮演着关键角色,持续激活的STAT3与炎症反应、血管生成异常等密切相关^[14]。丹参中的活性成分隐丹参酮可作用于STAT3靶点,与抗炎作用有关^[15]。苗兰^[16]研究发现STAT3靶点可能在血瘀证的发生发展中发挥调控作用。TP53作为重要的肿瘤抑制基因,除了在肿瘤发生发展中的关键作用外,在血管生理和病理过程中作用也有涉及^[17]。刘孜^[18]研究发现三七血伤宁胶囊活性成分可作用于TNF和TP53等核心靶点,调控PI3K-Akt、AGE-RAGE、MAPK等信号通路,从而发挥治疗血瘀证的作用。TNF是一种具有广泛生物学活性的细胞因子,在炎症反应中起核心调节作用^[19]。高水平的TNF会引发血管内皮细胞损伤、血小板活化和聚集等一系列与血瘀相关的病理变化^[20-21]。丹参活性成分对TNF靶点的调控,可能是其抑制炎症介导的血瘀形成发挥活血化瘀功效的重要途径。赵新新^[22]运用网络药理学方法系统解析了其针对血瘀证治疗的50个潜在作用靶点,最终锁定与血瘀证病理机制高度关联的7个核心靶点为TNF、EGFR、TP53等,并明确这些靶点在血瘀证发生发展中的关键调控作用。在血管系统中,EGFR的异常激活可能导致血管平滑肌细胞增殖异常,影响血

管的正常结构和功能^[23],进而引发血液动力学改变和血瘀症状。

在血瘀证大鼠模型中,血液及心脏组织会出现一系列显著变化,如TNF- α 、IL-6等促炎因子水平显著升高^[24],引发全身性炎症反应,进一步损伤血管内皮细胞,促使血小板聚集,加重血瘀状态。血瘀状态还会导致心脏血液灌注不良,心肌细胞缺血缺氧,出现细胞损伤、线粒体形态改变等,长期可致心肌纤维化,影响心脏正常结构与功能^[25]。刘瑞等^[26]研究发现血清CK-MB水平与患者心肌缺血程度、病情严重程度呈正相关。李朝辉等^[27]研究发现患者存在心肌微循环障碍时,心肌氧供及血供均不足,CK-MB被释放入血,导致其水平升高。LDHA作为糖酵解的关键酶,在心肌细胞氧供不足时其活性和表达也会相应改变,与心肌损伤程度密切相关^[28]。本研究发现急性血瘀证大鼠模型中血清TNF- α 、IL-6、CK-MB、LDHA水平升高,提示血瘀证大鼠体内炎症因子失衡及心肌组织受到了一定的损伤。丹参关键活性组分群干预后,血清TNF- α 、IL-6、CK-MB、LDHA水平明显降低($P<0.05$),说明丹参关键活性组分群能通过降低心肌酶及促炎症细胞因子水平,改善血瘀证大鼠的心脏状态。

现代研究表明丹参及其制剂、单体成分可通过精准调控PI3K/Akt、MAPK、JAK/STAT等多条信号通路,发挥抗炎、抗氧化、抗血栓和抑制凋亡等药理作用,从而有效体现其活血化瘀功效^[29-30]。Zheng等^[31]报道丹酚酸B能够通过调控NF- κ B/JNK/p38 MAPK信号通路,抑制组织因子表达,进而延长凝血时间并抑制血小板聚集,最终发挥降低血栓形成风险的作用。任亮等^[32]报道丹参酮II_A可能通过抑制JAK2/STAT3通路活化及NF- κ B核转位,减轻炎症反应和细胞凋亡,从而减轻慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜结构和功能损伤。PI3K/Akt信号通路可通过增强线粒体膜的通透性来防止细胞凋亡,目前对PI3K/Akt信号通路保护机制研究较多的下游靶点主要包括Bcl-2蛋白家族、Caspase家族、糖原合成酶激酶3 β 和一氧化氮合酶^[33]。Bcl-2家族是PI3K/Akt信号通路的重要靶点,在细胞凋亡的进程中处于关键地位。作为主要的凋亡抑制蛋白,Bcl-2凭借对线粒体膜完整性的调控来参与凋亡信号的调节工作,其作用效果体现为抑制心肌细胞凋亡,维持心肌细胞的存活^[34]。Caspase-3是cysteine-aspartic acid protease家族的成员,作为一种关键的

细胞内蛋白酶，在细胞凋亡的执行阶段发挥着核心作用^[35]。Caspase-3 活化后可降解 Bcl-2，同时裂解 DNA 损伤修复相关酶，使与细胞结构、细胞周期等相关的关键蛋白失活，从而使细胞凋亡^[36]。急性血瘀证大鼠心肌细胞在缺血、缺氧等损伤条件下，可能激活 Caspase-3 从而启动内源性和外源性凋亡途径，导致心肌细胞凋亡，进而影响心脏功能^[37]。本研究中相对于对照组，模型组 Caspase-3 蛋白水平显著升高，Bcl-2、p-Akt、p-PI3K、PI3K 蛋白水平显著降低；相对于模型组，丹参关键活性成分群 Caspase-3 蛋白水平显著降低，Bcl-2、p-Akt、p-PI3K 蛋白水平显著升高。以上结果表明，丹参关键活性组分群可以激活 PI3K/Akt 信号通路，下调 Caspase-3 蛋白水平并上调 Bcl-2 蛋白水平来抗心肌细胞凋亡，发挥活血化瘀功效改善血瘀证的作用。

综上，本研究利用网络靶点预测的策略，结合整体动物实验，证实丹参中 7 种成分以特定剂量组成的关键活性组分群改善血瘀证的功效与激活 PI3K/Akt 信号通路，下调 Caspase-3 蛋白水平并上调 Bcl-2 蛋白水平来抗心肌细胞凋亡有关。本研究的结果有助于揭示丹参治疗血瘀证的科学内涵，也为丹参现代药物制剂的研发提供科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张越凡. 基于代谢组学—网络药理学研究三七—丹参药对活血化瘀的作用机制 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2022.
- [2] Zhang Y F. The mechanism research of *Notoginseng Radix et Rhizoma-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* on promoting blood circulation and removing blood stasis based on metabolomics-network pharmacology [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2022.
- [3] Wei B Y, Sun C T, Wan H T, et al. Bioactive components and molecular mechanisms of *Salvia miltiorrhiza* Bunge in promoting blood circulation to remove blood stasis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 317: 116697.
- [4] 戚雯杰, 黄明斌, 苏舒, 等. 丹参酮 II_A 防治脓毒症肺损伤的药理作用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2025, 40(7): 1868-1872.
- [5] Qi W J, Huang M B, Su S, et al. Research progress on pharmacological effects of tanshinone II_A in prevention and treatment of sepsis induced lung injury [J]. *Drug Clin*, 2025, 40(7): 1868-1872.
- [6] 廖江龙, 范子祥, 孟秋月, 等. 丹参活性成分抗肿瘤分子机制研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(18): 6402-6415.
- [7] Liao J L, Fan Z X, Meng Q Y, et al. Research progress on antitumor molecular mechanism of active ingredient in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(18): 6402-6415.
- [8] 霍苏, 崔鹤蓉, 田学浩, 等. 丹参抑制血小板聚集成分的构效关系及协同作用 [J]. 西北药学杂志, 2021, 36(1): 95-100.
- [9] Huo S, Cui H R, Tian X H, et al. Structure-activity relationship and synergistic effect of components in *Salvia miltiorrhiza* on platelet aggregation [J]. *Northwest Pharm J*, 2021, 36(1): 95-100.
- [10] 孙莉莎, 吴航宇, 徐江平, 等. 丹酚酸 B 对家兔血液流变性的影响 [J]. 微循环学杂志, 2003, 13(1): 19-20, 4-1.
- [11] Sun L S, Wu H Y, Xu J P, et al. Effect of savianolic acid B on hemorheological properties in rabbits [J]. *Chin J Microcirc*, 2003, 13(1): 19-20, 4-1.
- [12] 刘艳, 唐凯临, 吕爱平, 等. 中药网络药理学实验设计与实践 [J]. 实验室科学, 2025, 28(1): 63-66.
- [13] Liu Y, Tang K L, Lü A P, et al. Design and practice of network pharmacology experiment of traditional Chinese medicine [J]. *Lab Sci*, 2025, 28(1): 63-66.
- [14] 宋程程, 王志斌, 苏斌, 等. 常用大鼠血瘀证模型的比较研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(2): 94-98.
- [15] Song C C, Wang Z B, Su B, et al. Study on commonly used rat model of blood stasis syndrome [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med*, 2014, 37(2): 94-98.
- [16] 杨华, 齐炼文, 李会军, 等. 以“等效成分群”为标示量的中药质量控制体系的构建 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(3): 510-513.
- [17] Yang H, Qi L W, Li H J, et al. “Bioactive equivalent combinatorial components” as defined labeled amount of active constituents for quality control of traditional Chinese medicines [J]. *Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol*, 2014, 16(3): 510-513.
- [18] 廖韵诺, 赵凯丽, 郭宏伟. 中药网络药理学的研究应用与挑战 [J]. 中草药, 2024, 55(12): 4204-4213.
- [19] Liao Y N, Zhao K L, Guo H W. Application and challenges of network pharmacology research in traditional Chinese medicine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(12): 4204-4213.
- [20] 曾琴, 聂敏海. Src 激酶在肿瘤侵袭和转移中的作用研究进展 [J]. 新乡医学院学报, 2021, 38(3): 293-295, 300.
- [21] Zeng Q, Nie M H. Research progress on the role of Src kinase in tumor invasion and metastasis [J]. *J Xinxiang Med Univ*, 2021, 38(3): 293-295, 300.
- [22] Mao J H, Zhu K K, Long Z B, et al. Targeting the RT loop

- of src SH3 in platelets prevents thrombosis without compromising hemostasis [J]. *Adv Sci*, 2022, 9(7): 2103228.
- [13] 周迎晨, 封彦飞, 田诗旸, 等. 基于网络药理学和分子对接探究丹参治疗血瘀证的分子机制 [J]. *动物医学进展*, 2025, 46(8): 51-57.
- Zhou Y C, Feng Y F, Tian S Y, et al. Exploring the molecular mechanism of *Salvia miltiorrhiza* in the treatment of blood stasis based on network pharmacology and molecular docking [J]. *Prog Vet Med*, 2025, 46(8): 51-57.
- [14] Qi Q R, Yang Z M. Regulation and function of signal transducer and activator of transcription 3 [J]. *World J Biol Chem*, 2014, 5(2): 231-239.
- [15] 刘航. 隐丹参酮衍生物的设计, 合成及其对STAT3转录活性的影响 [D]. 福州: 福建中医药大学, 2021.
- Liu H. Design and synthesis of cryptotanshinone derivatives and their effects on the transcriptional activity of STAT3 [D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- [16] 苗兰. 血瘀证模型的相关蛋白质组学研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2008.
- Miao L. Proteomic profiles in animal models with syndrome of blood stasis [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2008.
- [17] Phadwal K, Tang Q Y, Luijten I, et al. p53 regulates mitochondrial dynamics in vascular smooth muscle cell calcification [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1643.
- [18] 刘孜. 基于代谢组学和网络药理学的三七血伤宁胶囊治疗血瘀证的作用机制研究 [D]. 承德: 承德医学院, 2024.
- Liu Z. A network pharmacology and metabolomics-based approach to reveal the mechanism of Sanqi Xueshangning Capsules in treating blood stasis syndrome [D]. Chengde: Chengde Medical University, 2024.
- [19] Chu W M. Tumor necrosis factor[J]. *Cancer Lett*, 2013, 328(2): 222-225.
- [20] Renesto P, Chignard M. Tumor necrosis factor-alpha enhances platelet activation via cathepsin G released from neutrophils [J]. *J Immunol*, 1991, 146(7): 2305-2309.
- [21] Zhang H R, Park Y, Wu J X, et al. Role of TNF- α in vascular dysfunction [J]. *Clin Sci*, 2009, 116(3): 219-230.
- [22] 赵新新. 代谢组学研究丹参配方颗粒、标准汤剂抗热毒血瘀证的药效等效性 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2023.
- Zhao X X. Comparative study on the efficacy and mechanism of Danshen formula granules and standard decoction in treating heat toxin and blood stasis syndrome by metabolomics [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2023.
- [23] 冯梅, 滕文浩, 姜雯雯, 等. 表皮生长因子受体在肾血管性高血压大鼠心血管重构中的作用 [J]. *中国药理学通报*, 2016, 32(5): 625-631.
- Feng M, Teng W H, Jiang W W, et al. Epidermal growth factor receptor involvement in cardiovascular remodeling in renovascular hypertensive rats [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2016, 32(5): 625-631.
- [24] 张世田, 黄小珊, 庞路路, 等. 壮通饮对大鼠心肌缺血血瘀证血清炎症因子表达的影响 [J]. *右江民族医学院学报*, 2017, 39(4): 251-255.
- Zhang S T, Huang X S, Pang L L, et al. Effects of Zhuangtongyin (Chinese medicine) on expressions of serum inflammatory factors in rats with myocardial ischemia and blood stasis syndrome [J]. *J Youjiang Med Univ Natl*, 2017, 39(4): 251-255.
- [25] 于子璇, 张书萌, 张梦雪, 等. 养心通脉方对心肌梗死血瘀证模型大鼠心肌能量代谢的影响 [J]. *中医杂志*, 2023, 64(12): 1255-1262.
- Yu Z X, Zhang S M, Zhang M X, et al. Effects of Yangxin Tongmai Formula on myocardial energy metabolism in myocardial infarction model rats with blood stasis syndrome [J]. *J Tradit Chin Med*, 2023, 64(12): 1255-1262.
- [26] 刘瑞, 马峥, 王京京. 血清 hs-cTnI、CK-MB、NT-proBNP 水平与冠心病患者心肌缺血程度、病情严重程度的相关性 [J]. *中国民康医学*, 2024, 36(11): 112-114, 125.
- Liu R, Ma Z, Wang J J. Correlations among serum hs-cTnI, CK-MB, NT-proBNP levels and myocardial ischemia and severity of patients with coronary heart disease [J]. *Med J Chin People Health*, 2024, 36(11): 112-114, 125.
- [27] 李朝辉, 梁燕媚, 胡雅, 等. 脓毒症心肌缺血患者IMA、CK-MB、cTnT 水平的变化及临床意义[J]. *海南医学*, 2021, 32(13): 1659-1661.
- Li C H, Liang Y M, Hu Y, et al. Changes and clinical significance of ischemia modified albumin, CK-MB, and cTnT in sepsis patients with myocardial ischemia and the diagnostic value of ischemia modified albumin [J]. *Hainan Med J*, 2021, 32(13): 1659-1661.
- [28] Wu Y L, Lu C X, Pan N N, et al. Serum lactate dehydrogenase activities as systems biomarkers for 48 types of human diseases [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 12997.
- [29] 张东涛, 黄伟哲, 陈喜珊. 丹参水提物通过调节 PI3K/Akt 信号通路来抑制急性心肌缺氧缺血的伤害 [J]. *中国实用医药*, 2015, 10(13): 282-284.
- Zhang D T, Huang W Z, Chen X S. *Salvia miltiorrhiza* aqueous extract in suppression of damage from acute

- myocardial hypoxia and ischemia through regulation of PI3K/Akt signal pathway [J]. China Pract Med, 2015, 10(13): 282-284.
- [30] 陈璐, 聂永伟, 张燕欣, 等. 丹参单体化合物及丹参类制剂对心脑血管系统信号通路影响的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(11): 2333-2342.
- Chen L, Nie Y W, Zhang Y X, et al. Research progress on signaling pathway effect of cardiovascular and cerebrovascular system of *Salvia miltiorrhiza* monomer and its preparations [J]. Drug Eval Res, 2021, 44(11): 2333-2342.
- [31] Zheng X J, Liu H M, Ma M Q, et al. Anti-thrombotic activity of phenolic acids obtained from *Salvia miltiorrhiza* f. alba in TNF- α -stimulated endothelial cells via the NF- κ B/JNK/p38 MAPK signaling pathway [J]. Arch Pharm Res, 2021, 44(4): 427-438.
- [32] 任亮, 王丽斌, 张敏. 丹参酮II_A通过抑制 JAK2/STAT3 通路减轻慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜损伤的机制研究 [J]. 天津中医药, 2024, 41(7): 914-921.
- Ren L, Wang L B, Zhang M. Study on the mechanism of tanshinone II_A alleviates gastric mucosal injury in rats with chronic atrophic gastritis by inhibiting JAK2/STAT3 pathway [J]. Tianjin J Tradit Chin, 2024, 41(7): 914-921.
- [33] 郁迪, 莫绪明. PI3K/Akt 和 MAPK 信号通路在缺血性脑损伤中的保护作用 [J]. 医学综述, 2015, 21(2): 210-213.
- Yu D, Mo X M. Study on the protection effects of PI3K/Akt and MAPK signal pathways in ischemic brain injury [J]. Med Recapitul, 2015, 21(2): 210-213.
- [34] 韩军, 宣佳利, 胡浩然, 等. 金丝桃苷预处理减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤作用与 PI3K/Akt 信号通路的关系 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(1): 118-123.
- Han J, Xuan J L, Hu H R, et al. Protective effect against myocardial ischemia reperfusion injuries induced by hyperoside preconditioning and its relationship with PI3K/Akt signaling pathway in rats [J]. China J Chin Mater Med, 2015, 40(1): 118-123.
- [35] 刘瑞杰, 钟静, 蒋顺琬. 基于细胞凋亡 Caspase-3 探讨清热益气化瘀中药硬膏对家兔急性软组织损伤的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2025, 42(3): 709-717.
- Liu R J, Zhong J, Jiang S W. Exploration on the effect of Qingre Yiqi Huayu Chinese Medicine Plaster on acute soft tissue injury in rabbits from the perspective of apoptosis Caspase-3 [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2025, 42(3): 709-717.
- [36] Beroske L, Van den Wyngaert T, Stroobants S, et al. Molecular imaging of apoptosis: The case of caspase-3 radiotracers [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(8): 3948.
- [37] 周丽华, 黄志民, 林靖, 等. Caspase-8 和 Caspase-3 在大鼠急性心肌损伤中的作用及药物预处理对其影响 [J]. 内蒙古医学院学报, 2009, 31(6): 528-532.
- Zhou L H, Huang Z M, Lin J, et al. The role of Caspase-8 and Caspase-3 on the myocardial injury induced by isoprenaline and the effect of bFGF on Caspase-8 and Caspase-3 [J]. Acta Acad Med Neimongol, 2009, 31(6): 528-532.

[责任编辑 齐静雯]