

• 药理与临床 •

基于网络药理学的四妙勇安汤在血管新生中的作用机制研究

谢盈彧¹, 刘璐¹, 李渊芳¹, 徐士欣², 张军平^{2*}, 张晓因¹

1. 天津中医药大学, 天津 300073

2. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300112

摘要: **目的** 采用网络药理学方法探讨四妙勇安汤的疗效物质基础和“异病同治”模式下对血管新生方面的作用机制。**方法** 依托中药系统药理学分析平台(TCMSP)检索四妙勇安汤全方 4 味中药相关的所有化学成分、作用靶点, 进而构建化合物-靶点网络图; 通过 OMIM 数据库、TTD 数据库以及 PharmGkb 数据库筛选血管新生相关的靶点, 进而构建疾病靶点相互作用网络图; 筛选药物靶点和疾病靶点相互作用图的核心靶点, 利用 ClueGO 对核心靶点进行 GO 分析, 利用 DAVID 和 KEGG 数据库对核心靶点进行相关通路富集。**结果** 选择口服利用度(OB)≥30%, 类药性(DL)≥0.18 作为化合物分子的筛选条件, 筛选出四妙勇安汤中的 120 个活性成分和 155 个相应蛋白靶点; 通过度、介度中心度、接近中心度等网络拓扑特征评价筛选出与四妙勇安汤在血管新生方面作用的核心靶点 197 个, GO 分析共包含 942 条富集结果, 其中生物过程 685 条, 分子功能 164 条, 细胞组成 93 条。利用 KEGG 数据库对相关通路富集, 筛选出 20 条通路在血管新生方面具有作用。**结论** 通过网络药理学验证了四妙勇安汤多成分、多靶点、整体调节的作用特点, 预测了四妙勇安汤在血管新生中的主要作用机制, 为其活性成分研究和实验研究提供理论依据。

关键词: 网络药理学; 四妙勇安汤; 血管新生; 作用机制; 靶点**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)18-4319-12**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.18.016

An exploration on mechanism of Simiao Yongan Decoction in angiogenesis based on network pharmacology treatment

XIE Ying-yu¹, LIU Lu¹, LI Yuan-fang¹, XU Shi-xin², ZHANG Jun-ping², ZHANG Xiao-nan¹

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300073, China

2. First Teaching Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300112, China

Abstract: Objective Network pharmacology method was adopted in this study to explore the active compounds and mechanism of Simiao Yongan Decoction for angiogenesis. **Methods** Chemical components and targets related to the four traditional Chinese medicine (TCM) herbs were searched through the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). Compound-target network were constructed to explore the mechanism of Simiao Yongan Decoction. Through OMIM database, TTD database, and PharmGkb database, the targets of angiogenesis were selected, and then the network diagram of disease-target interaction was constructed; The nuclear target of drug target and disease target interaction diagram was screened, ClueGO was used to carry out GO analysis of the nuclear target, and KEGG database was used to carry on the related pathway enrichment of the nuclear target. **Results** Selecting the oral bioavailability (OB) ≥ 30% and drug likeness (DL) ≥ 0.18 as filter condition, 120 active ingredients and 155 corresponding protein targets were screened from Simiao Yongan Decoction. Through the evaluation of network topological characteristics, such as degree, medium degree, and proximity to the center, 197 targets were selected to serve as the nuclear target in atherosclerosis. A total of 942 gene ontology (GO) entries were screened out, including 685 biological process entries, 164 molecular function entries, and 93 cellular component entries. The KEGG database was used for the enrichment of the selected targets, and 20 pathways were screened which had effect on angiogenesis. **Conclusion** This study revealed the main

收稿日期: 2018-03-26**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(81473634); 第二批国家“万人计划”百千万工程领军人才项目; 天津市高校“学科领军人才培养计划”项目**作者简介:** 谢盈彧(1990—), 女, 博士生, 研究方向为中医药治疗心血管疾病。Tel: 13820057551 E-mail: xieyingyunn@163.com***通信作者:** 张军平, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 主要从事中西医结合治疗心脑血管病基础及临床研究工作。

Tel: (022)27432016 E-mail: tjzhtcm@163.com

active compounds and possible mechanism of Simiao Yongan Decoction for treatment of angiogenesis and verified the characteristics of multi-components, multi-targets, and integral regulation for Simiao Yongan Decoction, predicting the main possible mechanism for the treatment of angiogenesis, which provided theoretical basis for the study of active ingredients and experimental research.

Key words: network pharmacology; Simiao Yongan Decoction; angiogenesis; mechanism; target

四妙勇安汤由金银花、玄参、当归、甘草 4 味药组成,首载于华佗《神医秘传》,清朝医家鲍相璈将此方命名为“四妙勇安汤”,收载于《验方新编》中,并称其医治脱疽“连续 10 剂,永无后患”。方中金银花清热解毒,为君药;玄参泻火解毒,为臣药;当归养血活血、去瘀生新,为佐药;甘草调解诸药,为使药。四药相伍,具有清养结合、毒瘀并驱的功效。现代临床中的四妙勇安汤应用广泛,可用于治疗周围血管、内分泌、心脑血管、皮肤、风湿免疫、妇科、呼吸、肿瘤等各科疾病,对糖尿病及其慢性并发症、痛风及痛风性关节炎、动脉粥样硬化、冠心病、心律失常、病毒性心肌炎、脑梗死、慢性皮肤溃疡、系统性红斑狼疮、宫颈上皮内瘤变、血栓闭塞性脉管炎、动脉硬化性闭塞症、下肢深静脉血栓等疾病,均有确切的治疗效果,应用范围广、临床疗效显著^[1]。

四妙勇安汤化学成分复杂,已有药理研究证实四妙勇安汤在不同疾病中分别具有调节血管新生、抗炎^[2]、稳定斑块和调脂^[3]、保护血管^[4]、改善血液流变学^[5]、抗凝、抑制血栓形成、促纤溶^[6]等作用。但四妙勇安汤在多个疾病中都表现出对不同区域血管新生的调节作用,这可能是四妙勇安汤在糖尿病并发症、动脉粥样硬化、冠心病、脑梗死、动脉硬化性闭塞症等多个疾病中都存在的病理生理过程,是其“异病同治”的基础,但其对血管新生的潜在机制仍不清晰。

网络药理学作为中药研究的学科前沿,融合了系统生物学和多向药理学的思想,从整体的角度探索药物与疾病的关联性,强调从药物、靶点与疾病间相互作用的整体性和系统性出发,反映及阐释中药的多成分-多靶点作用关系,其研究策略的整体性、系统性特点与中医学从整体观念、辨证论治的角度去诊治疾病的理论不谋而合^[7]。本研究采用网络药理学方法,对四妙勇安汤多成分、多靶点与血管新生的复杂网状关系进行研究,旨在为揭示四妙勇安汤作用机制的科学内涵提供参考。

1 方法

1.1 四妙勇安汤所含化学成分的收集与处理

本研究采用中药系统药理学分析平台(TCMSP,

<http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>),以金银花、玄参、当归、甘草为关键词,检索四妙勇安汤中 4 味中药的全部化学成分。

1.2 活性化合物筛选

本研究以化合物口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18 作为活性化合物的筛选条件,筛选出 TCMSP 中具有较高活性的化合物。

1.3 化合物-靶点网络的构建

通过 TCMSP 平台寻找与候选化合物相关的潜在靶点,将候选化合物与其潜在的靶点蛋白上传至 Cytoscape 3.2.1 软件(<http://www.cytoscape.org/>)生成体现药物-靶点相互作用的网络图,以探究四妙勇安汤的药理学作用机制。

1.4 疾病靶点的确定

通过 OMIM 数据库(<http://omim.org/>)、TTD 数据库(<http://systemsdock.unit.oist.jp/iddp/home/index>)以及 PharmGkb 数据库(<http://geneticassociationdb.nih.gov/>),共搜集到与血管新生相关靶点 337 个。

1.5 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建

为了说明靶点蛋白在系统水平上的作用,利用 Cytoscape 3.2.1 软件(<http://www.cytoscape.org/>)中 Bisogenet 插件,分别构建成分靶点 PPI 和疾病靶点 PPI,对二者进行拓扑分析并筛选核心靶点。

1.6 基因本体(GO)功能富集分析

为了说明中药化合物的靶点蛋白在基因功能中的作用,本研究利用 Cytoscape 3.2.1 软件对 PPI 网络中筛选出的核心靶点蛋白进行 GO 功能富集分析。

1.7 基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

采用 Davidv 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)对 PPI 网络中的蛋白进行 KEGG 通路富集分析,说明中药化合物的靶点蛋白在信号通路中的作用,得到四妙勇安汤在血管新生中的主要作用通路,通过 Omicshare 软件(<http://www.omicshare.com/tools/index.php/>)对富集分析结果进行可视化处理。

2 结果

2.1 活性化合物的筛选

通过 TCMSP 共收集到四妙勇安汤中化合物 688 个,其中包括来自金银花 236 个,来自玄参 47

个, 来自当归 125 个, 来自甘草 280 个。以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 为筛选条件, 化合物分子中有 126 个符合条件, 经去重共得到 120 个化合物, 并将其作为候选化合物 (表 1)。

表 1 四妙勇安汤中 120 个候选化合物基本信息

Table 1 Basic information of 120 candidate compounds of Simiao Yongan Decoction

TCMSP 编号	化合物名称	OB/%	DL	度	归属药材
M000098	quercetin	46.433	0.275	168	甘草
M000211	mairin	55.377	0.776	4	甘草
M000239	jaranol	50.829	0.292	20	甘草
M000354	isorhamnetin	49.604	0.306	33	甘草
M000359	sitosterol	36.914	0.751	12	甘草
M000392	formononetin	69.674	0.212	34	甘草
M000417	calycosin	47.752	0.243	23	甘草
M000422	kaempferol	41.882	0.241	106	甘草
M000497	licochalcone a	40.790	0.286	29	甘草
M000500	vestitol	74.655	0.210	31	甘草
M001484	inermine	75.183	0.538	30	甘草
M001792	DFV	32.763	0.183	23	甘草
M002311	glycyrol	90.776	0.668	12	甘草
M002565	medicarpin	49.220	0.335	40	甘草
M003656	lupiwighteone	51.636	0.367	21	甘草
M003896	7-methoxy-2-methyl isoflavone	42.565	0.199	44	甘草
M004328	naringenin	59.294	0.211	31	甘草
M004805	(2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl) phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyrano [2,3-f] chromen-4-one	31.787	0.724	16	甘草
M004806	euchrenone	30.287	0.574	14	甘草
M004808	glyasperin B	65.224	0.439	22	甘草
M004810	glyasperin F	75.837	0.535	21	甘草
M004811	glyasperin C	45.564	0.399	24	甘草
M004814	isotrifoliol	31.945	0.424	15	甘草
M004815	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl) prop-2-en-1-one	39.617	0.351	22	甘草
M004820	kanzonols W	50.480	0.517	23	甘草
M004824	(2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro	60.250	0.634	21	甘草
M004827	semilicoisoflavone B	48.778	0.547	19	甘草
M004828	glepidotin A	44.722	0.347	27	甘草
M004829	glepidotin B	64.463	0.345	27	甘草
M004833	phaseolinisoflavan	32.008	0.445	24	甘草
M004835	glypallichalcone	61.597	0.190	29	甘草
M004838	8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol	58.437	0.381	16	甘草
M004841	licochalcone B	76.757	0.193	22	甘草
M004848	licochalcone G	49.255	0.323	19	甘草
M004849	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin	59.622	0.429	23	甘草
M004855	licoricone	63.579	0.471	15	甘草
M004856	gancaonin A	51.075	0.404	20	甘草
M004857	gancaonin B	48.794	0.449	22	甘草
M004860	licorice glycoside E	32.887	0.272	0	甘草
M004863	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone	66.371	0.413	16	甘草
M004864	5,7-dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone	30.489	0.410	20	甘草
M004866	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl) chromone	44.152	0.415	19	甘草

续表 1

TCMSP 编号	化合物名称	OB/%	DL	度	归属药材
M004879	glycyrin	52.607	0.475	16	甘草
M004882	licocoumarone	33.211	0.357	11	甘草
M004883	licoisoflavone	41.610	0.416	18	甘草
M004884	licoisoflavone B	38.929	0.547	17	甘草
M004885	licoisoflavanone	52.466	0.545	22	甘草
M004891	shinpterocarpin	80.295	0.727	34	甘草
M004898	(<i>E</i>)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl) phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl) prop-2-en-1-one	46.268	0.306	17	甘草
M004903	liquiritin	65.690	0.739	13	甘草
M004904	licopyranocoumarin	80.360	0.654	16	甘草
M004905	3,22-dihydroxy-11-oxo-delta (12)-oleanene-27-alpha-methoxycarbonyl-29-oic acid	34.319	0.547	0	甘草
M004907	glyzaglabrin	61.069	0.353	20	甘草
M004908	glabridin	53.245	0.470	28	甘草
M004910	glabranin	52.896	0.312	22	甘草
M004911	glabrene	46.267	0.439	22	甘草
M004912	glabrone	52.512	0.496	21	甘草
M004913	1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano [3,2-c]chromenone	48.142	0.428	11	甘草
M004914	1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano [3,2-c]chromenone	62.901	0.528	12	甘草
M004915	eurycarpin A	43.277	0.374	18	甘草
M004917	glycyroside	37.250	0.792	0	甘草
M004924	(-)-medicocarpin	40.994	0.951	7	甘草
M004935	sigmoidin-B	34.881	0.415	17	甘草
M004941	(2 <i>R</i>)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	71.123	0.183	25	甘草
M004945	(2 <i>S</i>)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chroman-4-one	36.565	0.323	23	甘草
M004948	isoglycyrol	44.699	0.838	9	甘草
M004949	isolicoflavanol	45.170	0.419	16	甘草
M004957	HMO	38.366	0.210	28	甘草
M004959	1-methoxyphaseollidin	69.981	0.637	29	甘草
M004961	quercetin der	46.449	0.334	19	甘草
M004966	3'-hydroxy-4'- <i>O</i> -methylglabridin	43.715	0.574	29	甘草
M004974	3'-methoxyglabridin	46.161	0.574	30	甘草
M004978	2-[(3 <i>R</i>)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrano [6,5- <i>f</i>] chromen-3-yl]-5-methoxyphenol	36.214	0.521	33	甘草
M004980	inflatocoumarin A	39.710	0.326	22	甘草
M004985	icos-5-enoic acid	30.703	0.197	5	甘草
M004988	kanzonol F	32.468	0.894	7	甘草
M004989	6-prenylated eriodictyol	39.223	0.413	19	甘草
M004990	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-arylcoumarin	83.714	0.271	18	甘草
M004991	7-acetoxy-2-methylisoflavone	38.923	0.262	29	甘草
M004993	8-prenylated eriodictyol	53.795	0.403	19	甘草
M004996	gadelaideic acid	30.703	0.197	5	甘草
M005000	gancaonin G	60.435	0.394	20	甘草
M005001	gancaonin H	50.103	0.784	12	甘草
M005003	licoagrocarpin	58.814	0.585	30	甘草
M005007	glyasperins M	72.671	0.593	29	甘草
M005008	glycyrrhiza flavonol A	41.275	0.595	17	甘草
M005012	licoagroisoflavone	57.282	0.487	18	甘草
M005013	18 α -hydroxyglycyrrhetic acid	41.161	0.710	2	甘草
M005016	odoratin	49.948	0.305	21	甘草
M005017	phaseol	78.766	0.579	17	甘草
M005018	xambioona	54.849	0.874	10	甘草
M005020	dehydroglyasperins C	53.823	0.370	20	甘草
M000358	beta-sitosterol	36.914	0.751	147	当归

续表 1

TCMSP 编号	化合物名称	OB/%	DL	度	归属药材
M000449	stigmasterol	43.830	0.757	86	当归
M001925	paeoniflorin_qt	68.176	0.395	0	玄参
M002222	sugiol	36.114	0.276	25	玄参
M007657	scropolioside A_qt	38.627	0.765	0	玄参
M007658	14-deoxy-12(R)-sulfoandrographolide	62.570	0.421	4	玄参
M007659	scropolioside D	36.617	0.403	0	玄参
M007660	scropolioside D_qt	33.169	0.824	0	玄参
M007662	harpagoside_qt	122.866	0.320	10	玄参
M000006	luteolin	36.162	0.245	41	金银花
M001494	mandenol	41.996	0.193	8	金银花
M001495	ethyl linolenate	46.101	0.197	7	金银花
M002707	phytofluene	43.182	0.503	0	金银花
M002773	beta-carotene	37.184	0.584	13	金银花
M002914	eriodictiol	41.350	0.244	21	金银花
M003006	(-)-(3R,8S,9R,9aS,10aS)-9-ethenyl-8-(beta-D-glucopyranosyloxy)-2,3,9,9a,10,10a-hexahydro-5-oxo-5H,8H-pyrano [4,3-d] oxazolo [3,2-a] pyridine-3-carboxylic	87.472	0.233	6	金银花
M003014	secologanic dibutylacetal_qt	53.646	0.285	4	金银花
M003036	ZINC03978781	43.830	0.756	6	金银花
M003044	chryseriol	35.851	0.274	20	金银花
M003059	kryptoxanthin	47.248	0.569	0	金银花
M003062	4,5'-Retro-.beta.,.beta.-Carotene-3,3'-dione, 4',5'-didehydro-	31.225	0.551	0	金银花
M003095	5-hydroxy-7-methoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl) chromone	51.957	0.407	28	金银花
M003101	7-epi-vogeloside	46.134	0.579	0	金银花
M003108	caeruloside C	55.637	0.729	0	金银花
M003111	centaurosides qt	55.790	0.504	10	金银花
M003117	ioniceracetalides B_qt	61.186	0.193	5	金银花
M003124	XYLOSTOSIDINE	43.172	0.637	0	金银花
M003128	dinethylsecologanoside	48.462	0.478	3	金银花

2.2 四妙勇安汤化合物-靶点相互作用网络

利用 Cytoscape3.2.1 软件将 120 个化合物与靶点构建化合物-靶点网络。化合物-靶点网络总共包括 262 个节点 (107 个化合物节点和 155 个靶点节点) 和 2 504 条边。其中橘黄色节点代表金银花化合物, 粉色节点代表玄参化合物, 黄色节点代表当归化合物, 绿色节点代表甘草化合物, 蓝色节点代表化合物对应的潜在靶点, 每条边则表示化合物分子与靶点之间的相互作用关系 (图 1)。120 个化合物中有 13 个化合物在数据库中未找到相关靶点, 未参与网络构建。在网络中, 一个节点的度 (degree) 表示网络中和节点相连路线的条数。该网络中, 每个化合物的平均靶点数目为 23.4 个, 每个靶点平均与 16.2 个化合物相互作用。在化合物方面, 有 57 个化合物的作用靶点 ≥ 20 个, 其中靶点 ≥ 40 个的化合物有 7 个。度排名前 3 位的是: M000098 槲皮素、M000358 β -谷甾醇、M000422 山柰酚。在 155 个潜在靶点中, 有 100 个靶点与 3 个及以上化合物分子连接, 说明

大多数蛋白质都与其他蛋白享有共同的配体。在靶点中, 度值最高的前 3 位是雌激素受体 (ESR1)、雄激素受体 (AR) 和前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2), 前两者有 104 个相互作用的配体, PTGS2 的度是 98。这体现了四妙勇安汤多成分与多靶点之间共同作用的机制, 符合中药复方的特点。

2.3 PPI 网络的构建与分析

利用 Cytoscape 3.2.1 软件中 Bisogenet 插件, 分别构建化合物潜在靶点 PPI (6 807 个节点, 154 053 条边) 和血管新生靶点 PPI (824 个节点, 4 173 条边)。将两个 PPI 网络相交得到 1 个由 397 个节点、3 718 条边组成的网络图 (图 2)。运用 Bisogenet 插件对网络中所有点的拓扑参数 (度、介度中心度和接近中心度) 进行分析, 选择靶点中每个靶点的度拓扑参数值大于中位数, 即度 ≥ 12 作为筛选核心靶点的条件, 得到 197 个节点、2 611 条边组成的四妙勇安汤与血管新生靶点网络图 (图 2)。四妙勇安汤 PPI 网络中涉及的 197 个核心靶点见表 2。

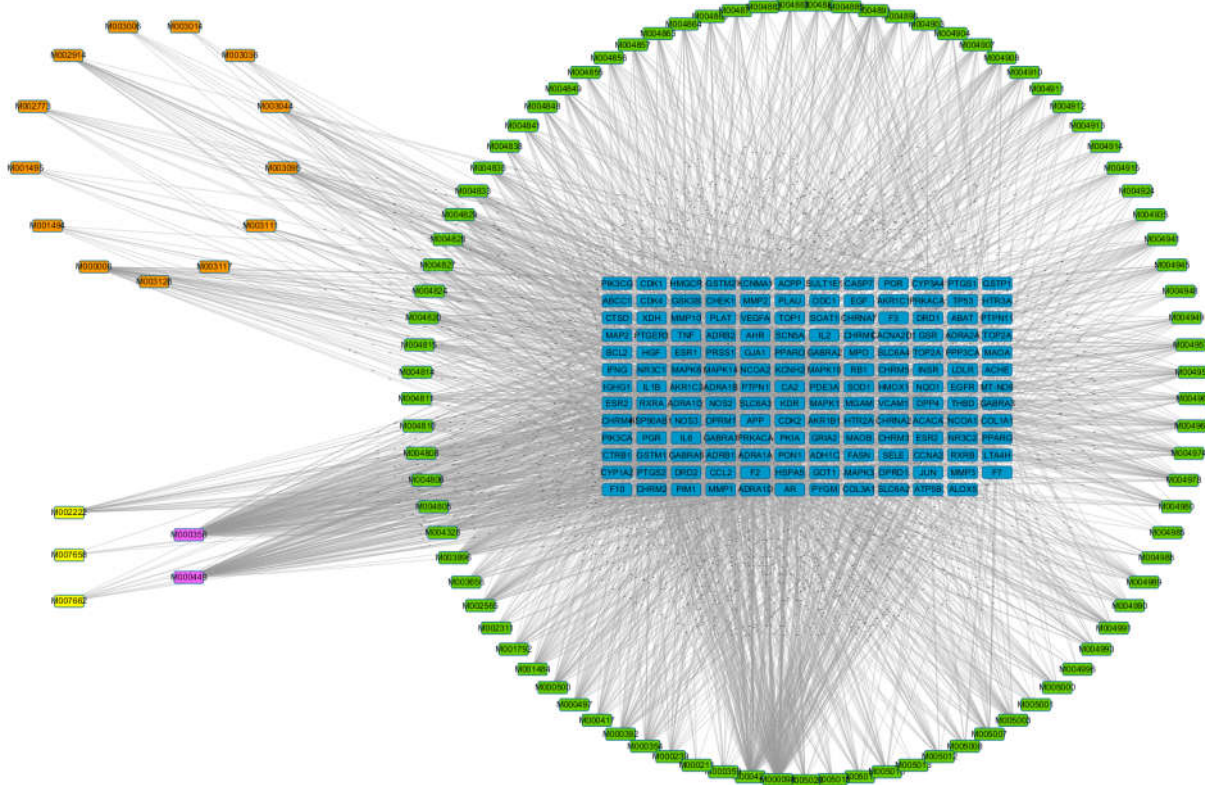


图 1 化合物-靶点相互作用网络

Fig. 1 Compound-target network of Simiao Yongan Decoction

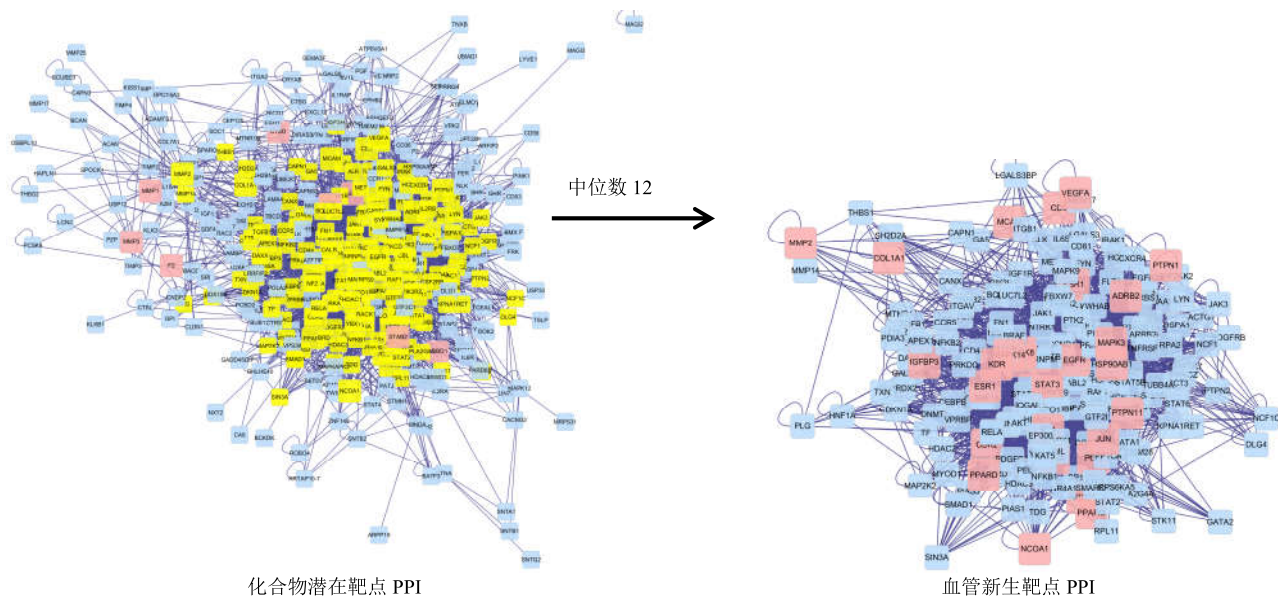


图 2 网络拓扑分析

Fig. 2 Network topology analysis

2.4 GO 功能富集分析

利用 DAVID 平台对四妙勇安汤 PPI 网络中涉及的 197 个核心靶点进行 GO 功能富集分析。根据错误发现率 (false discovery rate, FDR) < 0.05, 进

一步确定了 192 个 GO 条目 (表 3 根据 FDR 列出前 20 个), 其中生物过程相关的条目 120 个, 主要涉及 RNA 调控、细胞凋亡负调控、蛋白质磷酸化和自磷酸化、MAPK 级联反应、细胞迁移和增殖调控

表 2 拓扑分析 197 个核心靶点信息

Table 2 Information for 197 nuclear targets of topological analysis

基因	度	介度中心度	接近中心度	基因	度	介度中心度	接近中心度
CALR	19	0.003	0.496	PML	41	0.005	0.538
EGFR	82	0.043	0.628	PLG	9	0.001	0.446
DNMT1	21	0.001	0.505	PLA2G4A	13	0.000	0.484
BRAF	19	0.001	0.478	RET	15	0.000	0.505
AR	62	0.016	0.587	MAP2K1	29	0.003	0.517
APEX1	15	0.000	0.491	MAP2K2	16	0.000	0.467
BRCA1	52	0.012	0.566	MAPK8	34	0.003	0.531
MAPK14	36	0.007	0.534	MAPK9	13	0.000	0.490
EP300	66	0.021	0.592	RAC1	22	0.003	0.521
CSF2RB	18	0.001	0.506	PIK3R2	25	0.002	0.530
CDK9	19	0.001	0.500	PIK3R1	53	0.014	0.573
CDK2	47	0.011	0.549	RELA	50	0.011	0.554
CD81	18	0.003	0.469	RB1	39	0.004	0.536
CREBBP	53	0.010	0.563	RAF1	37	0.005	0.540
CEBPB	27	0.001	0.514	PRKDC	38	0.006	0.543
CDKN1A	22	0.001	0.512	MAPK1	58	0.017	0.578
CD9	8	0.000	0.404	PRKCZ	29	0.002	0.531
CD44	19	0.003	0.520	PRKCD	36	0.005	0.543
ACTG1	19	0.001	0.488	PGR	21	0.001	0.514
ACTB	40	0.013	0.552	NTRK1	72	0.033	0.607
ALK	12	0.000	0.497	MAPK3	41	0.007	0.546
AKT1	53	0.017	0.573	PPARG	34	0.003	0.536
ADRB2	17	0.004	0.503	PPARD	15	0.000	0.496
BCL3	19	0.001	0.501	YBX1	23	0.002	0.508
CCND1	21	0.001	0.508	PRKCA	31	0.008	0.533
COL1A1	12	0.001	0.428	PPP1CA	28	0.002	0.528
CCR5	13	0.000	0.467	MTNR1A	13	0.001	0.433
ABL2	18	0.000	0.508	PDGFRA	16	0.000	0.500
ABL1	37	0.004	0.547	PDGFRB	28	0.002	0.524
ATF3	17	0.000	0.499	NFKB2	19	0.001	0.505
ARRB2	30	0.006	0.531	NFKB1	44	0.008	0.547
KIAA1549	21	0.002	0.484	NF2	17	0.002	0.479
CAND1	30	0.005	0.519	MMP14	5	0.000	0.391
FBXW7	25	0.004	0.497	MMP2	14	0.002	0.443
NCF1C	18	0.001	0.469	MSH2	15	0.001	0.495
NCF1	18	0.001	0.469	HNRNPM	16	0.001	0.505
LUC7L2	9	0.000	0.473	MYOD1	18	0.000	0.503
SIN3A	18	0.001	0.506	SMAD1	17	0.001	0.494
PELP1	17	0.001	0.509	LYN	33	0.006	0.543
SIRT1	31	0.003	0.527	MET	26	0.002	0.519
BRD4	10	0.000	0.483	MCAM	5	0.000	0.385
KDM1A	23	0.001	0.505	JUN	44	0.005	0.547
KHDRBS1	27	0.004	0.523	JAK2	39	0.005	0.541
COPS5	38	0.008	0.543	JAK1	40	0.006	0.547
TRIM28	34	0.004	0.536	ITGB1	28	0.009	0.489
PIAS3	10	0.000	0.472	JAK3	20	0.002	0.482
RACK1	37	0.008	0.543	IL6ST	13	0.000	0.478
KAT5	27	0.001	0.517	IL2RB	15	0.000	0.490
TUBB4A	15	0.002	0.479	ITGAV	16	0.004	0.503
VPRBP	12	0.000	0.451	ITGA5	9	0.001	0.438

续表 2

基因	度	介度中心度	接近中心度	基因	度	介度中心度	接近中心度
HGS	17	0.003	0.484	IRAK1	17	0.000	0.506
RPS6KA5	19	0.001	0.512	IGFBP3	18	0.004	0.484
YWHAZ	54	0.018	0.573	IGF1R	29	0.002	0.536
YWHAB	28	0.004	0.516	HSPA4	35	0.005	0.538
HDAC3	45	0.006	0.546	LGALS3BP	15	0.002	0.472
KSR1	18	0.001	0.475	LGALS3	17	0.002	0.485
YWHAE	28	0.004	0.519	HSP90AB1	62	0.020	0.589
XPO1	42	0.010	0.551	HSP90AA1	77	0.041	0.618
SH2D2A	13	0.000	0.489	HSPA1L	17	0.003	0.497
PIK3R3	21	0.001	0.508	KPNB1	23	0.003	0.505
VEGFA	10	0.001	0.438	KPNA1	14	0.000	0.504
PIAS1	19	0.001	0.497	LCK	33	0.003	0.533
CCT3	19	0.003	0.514	KDR	16	0.001	0.468
IQGAP1	27	0.004	0.527	HRAS	21	0.002	0.501
TXN	16	0.002	0.508	TMEM17	9	0.001	0.432
CXCR4	14	0.000	0.478	KIT	29	0.004	0.482
TRAF6	44	0.011	0.557	GATA2	11	0.000	0.483
NCOA1	25	0.001	0.508	NR4A1	25	0.002	0.512
THBS1	9	0.001	0.398	GNB2	14	0.001	0.499
TNFRSF1A	30	0.003	0.523	HDAC1	56	0.012	0.566
HNF1A	12	0.000	0.491	HDAC2	35	0.004	0.525
MAP3K7	20	0.001	0.512	HCK	24	0.001	0.520
SYK	35	0.004	0.533	GATA1	13	0.000	0.488
TF	9	0.001	0.431	FYN	43	0.010	0.554
PRDX2	11	0.000	0.489	HIF1A	34	0.003	0.540
TDG	13	0.000	0.467	FHL2	18	0.001	0.503
STAT6	18	0.001	0.490	FGR	16	0.000	0.506
SMARCA4	34	0.003	0.533	GTF2I	21	0.001	0.509
TGFB1	11	0.001	0.439	PDIA3	10	0.000	0.503
STK11	14	0.001	0.460	NR3C1	42	0.006	0.555
AURKA	20	0.002	0.492	MTOR	21	0.001	0.513
STAT5B	26	0.002	0.514	PTK2B	25	0.003	0.520
STAT5A	38	0.006	0.546	EZH2	28	0.002	0.514
RPS9	14	0.001	0.503	FGFR1	14	0.001	0.500
STAT2	17	0.001	0.503	FGFR2	15	0.002	0.497
SH3BP2	13	0.001	0.490	FES	16	0.000	0.501
SP1	45	0.006	0.551	DLG4	10	0.000	0.423
STAT1	62	0.021	0.589	GADD45A	14	0.001	0.480
STAT3	133	0.148	0.748	FN1	44	0.019	0.549
SRC	73	0.026	0.609	FLT1	13	0.001	0.477
RPA2	20	0.002	0.517	ESR1	75	0.028	0.611
PTPN11	38	0.004	0.544	ERBB2	40	0.009	0.554
RPL11	15	0.001	0.500	CBL	50	0.012	0.570
RXRA	25	0.002	0.508	DAXX	16	0.001	0.484
PTK2	37	0.005	0.546	CANX	15	0.002	0.479
EIF2AK2	15	0.000	0.504	CAPN1	10	0.001	0.491
PTPN2	13	0.001	0.494	RUNX2	16	0.000	0.485
PTPN1	23	0.002	0.524	CAV1	38	0.011	0.549
PTMA	11	0.000	0.484				

表 3 PPI 网络中的 GO 条目 (FDR<0.05 的前 20 个)
Table 3 GO entries in PPI network (Top 20 of FDR < 0.05)

类别	GO 编号	名称	基因数/个	FDR
分子功能	0005515	protein binding	189	7.92×10^{-45}
分子功能	0004713	protein tyrosine kinase activity	33	1.37×10^{-30}
分子功能	0019899	enzyme binding	43	8.16×10^{-29}
细胞组成	0005654	nucleoplasm	99	9.61×10^{-28}
生物过程	0045944	positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	63	1.97×10^{-26}
细胞组成	0005634	nucleus	129	1.23×10^{-22}
生物过程	0043066	negative regulation of apoptotic process	42	6.87×10^{-22}
细胞组成	0005829	cytosol	99	1.18×10^{-21}
生物过程	0046777	protein autophosphorylation	29	3.97×10^{-21}
分子功能	0008134	transcription factor binding	34	7.85×10^{-21}
分子功能	0004672	protein kinase activity	34	1.32×10^{-17}
细胞组成	0005925	focal adhesion	34	2.49×10^{-17}
分子功能	0005524	ATP binding	63	3.80×10^{-17}
生物过程	0000165	MAPK cascade	30	3.95×10^{-17}
分子功能	0004715	non-membrane spanning protein tyrosine kinase activity	17	4.40×10^{-17}
生物过程	0006468	protein phosphorylation	37	6.33×10^{-17}
细胞组成	0005737	cytoplasm	117	1.15×10^{-16}
生物过程	0030335	positive regulation of cell migration	26	1.28×10^{-16}
分子功能	0019903	protein phosphatase binding	18	3.98×10^{-16}
生物过程	0008284	positive regulation of cell proliferation	36	1.10×10^{-15}

过程等方面;分子功能相关的条目 50 个,主要涉及各类蛋白结合、酶类结合、ATP 结合、受体活化等方面;细胞组成相关的条目 22 个,主要涉及细胞组分、细胞质膜、蛋白复合物、外泌体等方面。

2.5 KEGG 通路富集分析

利用 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 对筛选出的核心靶点蛋白进行 KEGG 通路富集分析,对四妙勇安汤 PPI 网络中涉及的 197 个蛋白在信号通路中的作用进行了通路富集分析,分析了 88.3%,得到 119 条信号通路。以 P 值 < 0.01 , $FDR < 0.05$ 进行筛选,其中前 20 条通路包括癌症通路、癌症蛋白多糖通路、PI3K-Akt 信号通路、前列腺癌通路、乙型肝炎通路、黏附斑激酶信号通路、ErbB 信号通路、EB 病毒感染通路、慢性骨髓性白血病通路、胰腺癌通路、甲状腺激素信号通路、prolactin 信号通路、central carbon metabolism in cancer、acute myeloid leukemia、viral carcinogenesis、osteoclast differentiation、chemokine signaling pathway、influenza A、neurotrophin signaling pathway、Ras 信号通路。表明四妙勇安汤的有效成分可能通过作

用于这些信号通路来达到调控血管新生治疗疾病目的。运用 Omicshare (<http://www.omicshare.com/tools/index.php/>) 对富集分析结果进行可视化处理,结果见图 3。

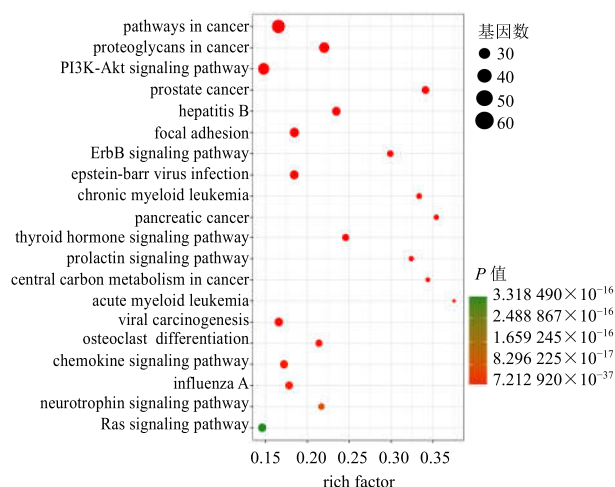


图 3 KEGG 机制分析

Fig. 3 KEGG mechanism analysis

3 讨论

网络药理学是通过分析大数据来进行药物研究的新模式。将网络药理学与传统的中医药有机结合,其整体性、系统性、动态性的特点与中医整体观念、辨证论治的理论相一致^[8-10]。有关网络药理学方法用于中药尤其是复方中药作用机制的研究成为目前药理学研究的一个热点^[11-12]。根据中医“异病同治”的思想,四妙勇安汤具有清养结合,毒瘀并祛之功效,是“解毒活血”法的代表方剂^[13],在临床中可治疗多种疾病。本研究借助网络药理学手段,初步挖掘、分析四妙勇安汤的血管新生调节作用机制,为四妙勇安汤多成分、多靶点、多途径的治疗机制提供参考。

本研究系统分析了四妙勇安汤 4 味中药(金银花、玄参、当归、甘草)的有效成分,构建化合物-靶点网络,分析化合物与靶点的相互作用关系。其中化合物-靶点网络中的关键药物是槲皮素、 β -谷甾醇、山柰酚等。槲皮素是金银花、甘草中的有效成分, β -谷甾醇是金银花、玄参、当归中的有效成分,山柰酚是金银花、甘草中的有效成分。根据研究显示,槲皮素具有较好抑制细胞增殖,调控血管新生的作用,能够抑制体外培养的人脐静脉血管内皮细胞(EVC304)生长^[14];抗肿瘤,抑制 Eca109 细胞的迁移、侵袭及血管新生^[15],下调 VEGF^[16];还有减少毛细血管脆性、扩张冠状动脉、增加冠脉血流量等作用。 β -谷甾醇的抑制血管新生研究还仅集中在肿瘤领域, β -谷甾醇通过调节 VEGF 的表达,对 H22 荷瘤小鼠具有一定的抑瘤作用^[17],还能调节人肺癌 A549 细胞增殖及凋亡^[18]。山柰酚是一种有抗炎、抗氧化作用的黄酮类化合物;其抗肿瘤作用明显,高摄入山柰酚会降低晚期大肠腺瘤的复发,体外实验表明山柰酚对小鼠黑色素瘤细胞 B16 具有增殖抑制作用^[19];还能通过抑制铜离子诱导低密度脂蛋白氧化,成为氧化低密度脂蛋白(ox-LDL),能降低单核巨噬细胞表面 CD 36 蛋白的表达,阻止该细胞对 ox-LDL 的摄取,有效预防动脉粥样硬化。除此之外,化合靶点图中的多个化合物都有干预血管生成的作用。金银花和玄参中共有的有效成分木犀草素(M000006),在体内可以抑制 VEGF 诱导的兔角膜血管生成;抑制鼠异种移植肿瘤模型的细胞生长和血管形成^[20],能通过下调星形胶质细胞上调基因-1 和基质金属蛋白酶-2 的表达,有效抑制乳腺癌 MCF-7 细胞增殖和抑制血管新生^[21]。当归有

效成分阿魏酸(M000389)促血管新生作用明显^[22],能上调 ECV304 中 VEGF mRNA 的表达,促进细胞增殖^[23],阿魏酸对人微血管内皮细胞活力也有明显的抑制作用^[24]。

在化合物-靶点网络中,ESR1 和 AR 有着最多的相互作用配体,PTGS2 次之。目前,关于四妙勇安汤通过对雌雄激素受体的影响和对 PTGS 的调控影响前列腺素类物质合成报道较少,因此对本研究的结果仍需进一步深入研究。PTGS 又叫环氧化酶(COX),是花生四烯酸合成前列腺素类物质的关键性限速酶,存在 2 种同工酶:结构型 PTGS1 和诱导型 PTGS2。PTGS2 参与疼痛、炎症反应、肿瘤新生、动脉粥样硬化、冠心病等多种信号转导。有报道指出,COX-2 参与了动脉粥样硬化病变的炎症过程^[25-26]。炎症时释放的细胞因子可大量诱导和表达 COX-2,引起炎症反应的放大和增强,同时 COX-2 mRNA 和蛋白显著升高,提示两者相关。Moulton 等^[27]报道,COX-2 可诱导 VEGF 合成,促进新生血管形成,促使粥样斑块病变及扩大。前期研究显示,四妙勇安汤可以干预动脉粥样硬化^[3,28-30],调控血管新生^[13,31],但其对于 COX 调控,有待进一步验证。

对四妙勇安汤的靶点进行 PPI 映射并构建网络,对网络分析后发现了多个与多种复杂疾病紧密相关的关键靶点,如 STAT3、EGFR、ESR1、SRC、NTRK1、AR、STAT1、MAPK1、HDAC1、AKT1、PIK3R1 等。为了说明作用靶点在基因功能和信号通路中的作用,本研究进行了 GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析。发现四妙勇安汤主要能够调节 RNA 调控、蛋白质磷酸化和自磷酸化、MAPK 级联反应、细胞增殖、迁移、凋亡调控过程等方面功能。大多数的基因富集到了与癌症有直接关系的通路上,包括癌症通路、癌症蛋白多糖通路、前列腺癌通路、胰腺癌通路等;另一大部分主要调控信号通路,包括 PI3K-Akt 信号通路、ErbB 信号通路、Ras 信号通路等。已有研究显示,四妙勇安汤能通过降低 p38MAPK、VEGF 表达,抑制斑块内血管新生,稳定兔动脉粥样硬化斑块^[31];可以抑制 MEK1/2、Erk1/2 表达,调节 HIF-1 α -Apelin/APJ 信号通路,抑制滋养血管新生,稳定 Apo E^{-/-}小鼠 AS 易损斑块^[32];能够上调 p-Akt、下调 p38MAPK 蛋白表达,改善糖尿病下肢缺血血运重建过程^[32];通过上调 Wnt1、 β -catenin、下调 GSK-3 的表达,促进血管新生,促进糖尿病溃疡的愈合^[33]。另外,根

据分析结果推断四妙勇安汤中的活性成分可能通过作用于与癌症直接相关的通路,从而对多种癌症起到治疗作用。目前已有诸多临床报道^[34-36]表明,临床应用四妙勇安汤治疗癌症能改善患者的生活质量,改善中医症状,减轻化疗引起的毒副反应,提高疾病控制率,但机制研究仍存在很大不足,借此分析希望能进一步深入研究。

血管新生在眼科疾病、心血管疾病、糖尿病、IgA 肾病、炎症性皮肤病等多种疾患的发生和发展中起着不良作用,在肿瘤的发展和转移中更是具有决定性促进作用^[37]。病理性血管新生是疾病易损状态的基础,而治疗性血管新生是改善缺血性疾病的有效治疗方法。以心血管疾病为例,血管新生的调节作用在不同疾病是不一样的。在动脉粥样硬化中,血管新生能引起斑块增生、血管平滑肌细胞增殖等作用,促使疾病加重。斑块内出血是动脉粥样硬化性疾病的急性风险事件,通常由斑块底部或边缘新生的不成熟血管破裂所引起,抑制血管新生可预防动脉粥样硬化斑块破裂,从根本上阻止稳定斑块发展为易损斑块,从而阻止斑块内出血及其并发症的发生^[2,31,38]。但对冠心病,血管新生却能增加缺血区血管,从而改善症状,治疗性血管新生在缓解症状和改善预后中占有重要地位^[39]。四妙勇安汤能够改善心肌梗死患者心脏舒张功能,通过上调 VEGF 的表达,促进梗死心肌血管新生,防止心室重构^[40];还能促进缺血区新生血管成熟化,促进冠脉侧枝循环的建立,能够改善缺血心肌微循环,有效保护缺血区心肌,从而达到治疗的目的^[41]。因此,随着研究的不断深入,治疗性血管新生有望成为当前治疗冠心病的新途径。所以应用药物抑制或促进血管新生,已成为上述疾病治疗的一种新途径。

综上所述,本研究应用网络药理学方法,初步探究了四妙勇安汤多成分、多靶点、多通路的复杂机制过程,对进一步理解药物-靶点相互作用机制提供了重要信息,为后续从四妙勇安汤中提取有效药物成分治疗血管新生提供了依据,也对未来论证中医药基础理论的科学性提供了参考。

参考文献

[1] 尤寅骏,张建忠. 四妙勇安汤临床应用的研究进展 [J]. 浙江中医药大学学报, 2013, 37(7): 942-944.
[2] 王光宁,李伟东,蔡宝昌. 四妙勇安汤不同提取部位抗炎作用的研究 [J]. 广东药学院学报, 2009, 25(4): 389-391.

[3] 彭立,许颖智,张光银,等. 四妙勇安汤稳定动脉粥样硬化斑块的机制研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2011, 13(2): 287-292.
[4] 刘真,魏运湘,于慧卿,等. 四妙勇安汤对缺氧人脐静脉内皮细胞的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(5): 31-33.
[5] 王文英,戴莲仪,简小兵. 四妙勇安汤对糖尿病周围神经病变患者血液流变学的影响 [J]. 实用中医内科杂志, 2006, 20(3): 302-303.
[6] 杜志刚,赵宝玲,伊红丽. 加味四妙勇安汤影响慢性脑供血不足患者血栓前状态因子的临床研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2008, 10(6): 41-44.
[7] 张彦琼,李梢. 网络药理学与中医药现代研究的若干进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(6): 883-892.
[8] 李泮霖,苏薇薇. 网络药理学在中药研究中的最新应用进展 [J]. 中草药, 2016, 47(16): 2938-2942.
[9] 蔡甜甜,潘华峰,王奇,等. 中药复方在病证基础上的网络药理学研究 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(11): 4746-4748.
[10] Liu C X, Liu R, Fan H R, et al. Network pharmacology bridges traditional application and modern development of traditional Chinese medicine [J]. Chin Herb Med, 2015, 7(1): 3-17.
[11] 董亚楠,韩彦琪,王磊,等. 基于网络药理学的六经头痛片治疗偏头痛的作用机制探讨 [J]. 中草药, 2017, 48(20): 4174-4180.
[12] 张潇,高耀,向欢,等. 基于网络药理学的交泰丸治疗抑郁症作用机制研究 [J]. 中草药, 2017, 48(8): 1584-1590.
[13] 李萌,张军平,朱科,等. 四妙勇安汤调控滋养血管网重建稳定 ApoE (-/-)小鼠动脉粥样硬化易损斑块的实验研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2017, 19(12): 1989-1997.
[14] 付莹. 槲皮素对丝裂霉素抑制血管内皮细胞生长作用的影响 [A] // 中国药理学会第十次全国学术会议专刊 [C]. 天津: 中国药理学会, 2009.
[15] 李彩丽,廖应英,成丹,等. 槲皮素对食管癌 Eca109 细胞迁移侵袭及血管生成的影响 [J]. 国际消化病杂志, 2017, 37(2): 104-108.
[16] 韦艳,陆艳玲,王荣荣,等. 槲皮素对缺氧人肝癌细胞 HepG2 增殖及 HIF-1 α 、VEGF 的影响 [J]. 武警医学, 2018(2): 134-137.
[17] 林明珠,赵岩,蔡恩博,等. β -谷甾醇对 H22 荷瘤小鼠体内抗肿瘤作用 [J]. 中国公共卫生, 2017, 33(12): 1797-1800.
[18] 周玲,玉徐彩,王乐琴,等. β -谷甾醇对人肺癌 A549 细胞增殖及凋亡的影响 [J]. 国际检验医学杂志, 2016,

- 37(7): 865-867.
- [19] 周 瑶, 唐 毅, 杜标炎. 山柰酚对小鼠黑色素瘤细胞 B16 的增殖抑制作用研究 [J]. 临床合理用药杂志, 2018, 11(3): 86-87.
- [20] Bagli E, Stefanidou M, Morbidelli L, *et al.* Luteolin inhibits vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis; inhibition of endothelial cell survival and proliferation by targeting phosphatidylinositol 3'-kinase activity [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(21): 7936-7946.
- [21] 姜 英, 谢鲲鹏, 霍洪楠, 等. 木犀草素下调 AEG-1 和 MMP-2 的表达对血管生成和乳腺癌细胞侵袭性的抑制作用 [J]. 生理学报, 2013, 65(5): 513-518.
- [22] 董海燕, 杨建刚, 肖志强, 等. 4 种中药和 3 个方剂促血管新生作用及有效组分的研究 [J]. 中药材, 2013, 36(8): 1297-1300.
- [23] 王 筠, 袁 卓, 张军平, 等. 阿魏酸对人脐静脉血管内皮细胞 ECV304 的增殖作用 [J]. 中医药学报, 2007, 35(3): 4-6.
- [24] 周 英, 李 敏, 杨付梅, 等. 绿原酸、咖啡酸、阿魏酸对微血管内皮细胞的损伤作用 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(10): 1474-1475.
- [25] 张 丽, 张 涛, 朴金花, 等. 大鼠动脉粥样硬化 COX-2 mRNA 表达及白藜芦醇干预的实验研究 [J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(9): 1086-1087.
- [26] 邓 平. 环氧合酶 2 在动脉粥样硬化炎症中的意义和他汀类药物的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2004, 12(2): 241-242.
- [27] Moulton K S, Olsen B R, Sonn S, *et al.* Loss of collagen XVIII enhances neovascularization and vascular permeability in atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2004, 110(10): 1330-1336.
- [28] 许颖智, 张军平, 李 明, 等. 四妙勇安汤对动脉粥样硬化易损斑块内细胞外基质的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(4): 822-824.
- [29] 张军平, 许颖智, 李 明, 等. 四妙勇安汤对动脉粥样硬化模型兔氧化应激及炎症反应的影响 [J]. 中医杂志, 2010, 51(1): 72-74.
- [30] 张军平, 李 明, 李良军, 等. 四妙勇安汤调控核因子- κ B 活性及抑制相关炎症因子的实验研究 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(3): 372-376.
- [31] 许颖智, 张军平, 李 明, 等. 四妙勇安汤对实验性动脉粥样硬化易损斑块内血管新生的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2012, 18(2): 161-163.
- [32] 张 超. 四妙勇安汤对糖尿病大鼠肢体缺血的治疗作用及对 Akt、p38MAPK 通路的影响 [D]. 北京: 首都医科大学, 2013.
- [33] 赵亚男, 刘 明, 张 玥, 等. 四妙勇安汤对糖尿病溃疡大鼠 Wnt/ β -catenin 信号通路表达的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(1): 79-85.
- [34] 卢 伟, 沈政洁, 程海波. 四妙勇安汤加减在恶性肿瘤中的应用举隅 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(4): 1601-1603.
- [35] 黄箫娜, 吴政龙. 四妙勇安汤加味治疗乳腺癌术后上肢水肿 30 例 [J]. 河南中医, 2014, 34(12): 2398-2399.
- [36] 黄 丽, 项敏泓, 李青松, 等. 四妙勇安汤治疗宫颈癌术后下肢水肿临床经验 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2018, 16(1): 84-86.
- [37] 张梦泽, 李国坤, 赵欣童, 等. 血管新生的分子机制与相关疾病 [J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(9): 1718-1722.
- [38] 李 萌, 张军平, 朱 科, 等. 新生滋养血管在动脉粥样硬化形成中的作用及临床意义 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(1): 91-98.
- [39] 张少言, 林赞霄, 陈 浩, 等. 血管新生与冠心病治疗性血管生成 [J]. 心血管病学进展, 2014, 35(1): 55-59.
- [40] 朱安军. 四妙勇安汤对急性心肌梗死后心功能影响及临床疗效分析 [J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(19): 2128-2130.
- [41] 谢连娣, 陈立新, 吴圣贤, 等. 四妙勇安汤治疗冠心病的临床和基础研究概述 [J]. 环球中医药, 2012, 5(8): 629-633.