

莫诺昔对 TGF- β 1 诱导内皮向间质转化的影响

时潇丽¹, 丁可², 刘伟¹, 刘瑾¹, 沈杰¹, 刘力^{1*}

(1. 上海中医药大学附属曙光医院药学部, 上海 201203; 2. 上海健康医学院药学院, 上海 201308)

摘要: 目的 探究莫诺昔对转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 诱导内皮向间质转化 (EndMT) 的影响。方法 TGF- β 1 诱导人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 建立 EndMT 模型, 细胞分为对照组、模型组 (10 ng/mL TGF- β 1)、给药组 [10 ng/mL TGF- β 1+莫诺昔 (2.5、5、10 μ mol/L)]; CCK-8 法检测细胞存活率; RT-qPCR 法检测细胞 *Snail1*、*Slug* mRNA 表达; Western blot 法检测间质细胞特异性标志物 Fibronectin、内皮特异性标志物 CD31、Smad2/3 及其磷酸化蛋白表达。结果 1~50 μ mol/L 莫诺昔处理 HUVEC 24、48 h 后对细胞活性无明显影响 ($P>0.05$)。与对照组比较, 模型组细胞 *Snail1*、*Slug* mRNA 表达升高 ($P<0.01$), CD31 蛋白表达降低 ($P<0.05$), Fibronectin、p-Smad2/Smad2、p-Smad3/Smad3 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$); 与模型组比较, 10 μ mol/L 莫诺昔组细胞 *Snail1*、*Slug* mRNA 表达, 以及 Fibronectin、p-Smad2/Smad2、p-Smad3/Smad3 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。结论 莫诺昔可抑制 TGF- β 1 诱导 EndMT 过程, 与调控 Smad2、Smad3 蛋白磷酸化相关。

关键词: 莫诺昔; 内皮向间质转化; Smad2/3

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)05-1698-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.05.040

内皮向间质转化 (endothelial-to-mesenchymal transition, EndMT) 作为一种细胞分化过程, 是心肌纤维化和心脏功能障碍的关键驱动因素之一^[1-2], 心脏内皮细胞在细胞因子、活性物质等刺激因素作用下, 失去其特有的内皮表型特征, 表现为内皮细胞蛋白标志物表达降低, 间质细胞标志蛋白表达升高, 最终转化为具有成纤维细胞特性的细胞^[3]。因此, 研究能干预 EndMT 的天然药物及其活性成分, 将有助于抗心肌纤维化药物的开发^[4]。

山茱萸是山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉, 具有补益肝肾、收涩固脱的功效, 含有环烯醚萜苷类、鞣质类、三萜类、黄酮类等活性成分, 有着抗炎、抗氧化、保护心血管系统等多种药理作用^[5-9]。莫诺昔是山茱萸中的环烯醚萜类成分, 能减轻心肌梗死大鼠心肌组织炎症反应及心肌纤维化^[10], 改善血管紧张素 II (Ang II) 诱导心脏成纤维细胞增殖、迁移和细胞外基质沉积^[11], 但对 EndMT 的干预作用尚无报道。基于此, 本研究以转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 诱导 HUVEC 建立 EndMT 模型, 探究莫诺昔对其干预作用。

1 材料

1.1 细胞 原代人脐静脉内皮细胞 (HUVEC, 货号 DFSC-EC-01) 购于上海中乔新舟生物科技有限公司, 为 5~7 代。

1.2 试剂与药物 莫诺昔对照品 (批号 111998-202205, 中国食品药品检定研究院, 纯度 98.4%)。重组人 TGF- β 1 蛋白 (批号 7754-BH-005, 美国 R&D systems 公司); 内皮细胞培养基 ECM (批号 1001, 美国 ScienCell 公司); 总 RNA 提取试剂 Trizol [货号 B511311, 生工生物工程 (上海) 股份有限公司]; PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 反转录试剂盒 (货号 RR047A, 日本 TaKaRa 公司); SYBR Green Realtime PCR Master Mix 试剂盒 (货号 QPK-201, 日本东洋纺公司); 兔抗 Smad2 抗体、兔抗 Smad3 抗体、兔抗 p-Smad2 抗体、兔抗 p-Smad3 抗体 (货号 5339T、9523T、18338T、9520T, 美国 Cell Signaling Technology 公司); 小鼠抗 Fibronectin 抗体、小鼠抗 CD31 抗体、小鼠抗 GAPDH 抗体 (货号 66042-1-Ig、66065-2-Ig、60004-1-Ig, 武汉三鹰生物技术有限公司); 辣根过氧化物酶标记山羊抗

收稿日期: 2025-07-26

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (82104429); 国家自然科学基金面上项目 (81573648)

作者简介: 时潇丽 (1989—), 女, 硕士, 主管药师, 研究方向为中药药效物质。E-mail: shixiaoli1013@126.com

* 通信作者: 刘力 (1961—), 女, 硕士, 主任药师, 博士生导师, 研究方向为中药学和临床药学。E-mail: liuli2750@163.com

兔 IgG (H+L)、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、CCK-8 试剂盒 (货号 A0208、A0216、P0012S、C0038, 上海碧云天生物技术股份有限公司)。

1.3 仪器 ABI-ViiA7 定量 PCR 仪 (美国 Applied Biosystems 公司); TC-96/G/H (b) C 基因扩增仪 (杭州博日科技股份有限公司); PowerPac HC 高电流电泳仪、TC20 细胞自动计数仪 (美国 Bio-Rad 公司); 4600SF 化学发光图像分析系统 (上海天能生命科学有限公司); Infinite F200PRO 多功能酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); PowerWave XS 微孔板扫描分光光度计 (美国 BioTek 公司); HCP-258 二氧化碳培养箱、HR30-II A2 生物安全柜 (青岛海尔生物医疗股份有限公司); DMI1 倒置生物显微镜 [徕卡显微系统 (上海) 有限公司]。

2 方法

2.1 莫诺昔、TGF-β1 溶液制备 精密称取莫诺昔对照品适量, 加入 DMSO 溶解, 制成 100 mmol/L 母液, DMSO 稀释至所需浓度, 按 0.1% 比例加入培养基。将 TGF-β1 无菌蛋白粉末用无菌水配制的 4 mmol/L 盐酸进行溶解, 再制成 100 ng/μL 溶液, 使用前以 ECM 完全培养基稀释。

2.2 HUVEC 培养 HUVEC 复苏后, 加入含 5% FBS、1% ECGS、1% 双抗的 ECM 培养基, 置于温度 37 °C、相对湿度 95%、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养 2~3 d, 在细胞显微镜下观察, 当细胞融合度达到 90% 左右时胰酶消化, 含 10% FBS 的 DMEM 完全培养基中止, 离心, 按 1:2 比例传代。

2.3 细胞分组与给药 将 HUVEC 培养 24 h 贴壁后加入含 TGF-β1 的细胞培养基, 分别考察不同质量浓度 (0、10、20 ng/mL) TGF-β1、干预时间 (24、48 h) 对 EndMT 模型的影响, 筛选最佳建立条件。实验分为对照组、模型组 (10 ng/mL TGF-β1)、给药组 [10 ng/mL TGF-β1+莫诺昔 (2.5、5、10 μmol/L)], 孵育 48 h, DPBS 清洗 2 次, 收集细胞, 用于 RT-qPCR 实验或 Western blot 实验。

2.4 CCK-8 法检测 HUVEC 存活率 将 HUVEC 密度调整至 1×10⁵/mL, 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μL, 每个浓度设 4 个复孔, 培养 24 h, 分别用不同浓度莫诺昔 (0、1、5、10、20、50 μmol/L) 或 TGF-β1 (0、5、10、20、30 ng/mL) 干预 24、48 h, 将培养基更换为含 10% CCK-8 试剂的细胞培养基, 置于培养箱中孵育 2 h, 取出培养板, 在

450 nm 波长处测定吸光度, 筛选合适的细胞干预浓度。

2.5 RT-qPCR 法检测相关 mRNA 表达 将 HUVEC 密度调整至 2.5×10⁵/mL, 接种于 12 孔板中, 每孔 1 mL, 按“2.3”项下方法分组并给药 48 h 后吸弃培养基, 每孔加入 0.5 mL 预冷 PBS, 清洗 2 次, 再加入 0.5 mL Trizol 试剂充分裂解, 将液体转移至 EP 管中, 采用 Trizol 法提取细胞总 RNA, 检测其浓度和纯度, 以 1 000 ng RNA 为模板, 逆转录为 cDNA, 反应条件为 37 °C 15 min, 85 °C 5 s, 4 °C 5 min, 进行 PCR 扩增, 反应体系 10 μL, 包括 cDNA 1 μL, SYBRGreen Mix 5 μL, 正向、反向引物各 0.4 μL, ddH₂O 3.2 μL, 反应条件为 95 °C 60 s, 95 °C 15 s, 60 °C 60 s, 45 个循环, 以 GAPDH 为内参, 采用 2^{-ΔΔCT} 法计算 mRNA 相对表达量。引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	序列
GAPDH	正向 5'-CACCCACTCTCCACCTTTGAC-3'
	反向 5'-GTCCACCACCTGTGCTGTAG-3'
Snail1	正向 5'-TCGGAAGCCTAACTACAGCGA-3'
	反向 5'-AGATGAGCATTGGCAGCGAG-3'
Slug	正向 5'-CGAACTGGACACATACAGTG-3'
	反向 5'-CTGAGGATCTCTGTTGTGTT-3'

2.6 Western blot 法检测相关蛋白表达 将 HUVEC 密度调整至 2.5×10⁵/mL, 接种于 6 孔板中, 每孔 2 mL, 按“2.3”项下方法分组并给药 48 h 后吸弃培养基, 每孔加入 1 mL 预冷 PBS 清洗 2 次, 再加入 50 μL 裂解液 (RIPA 强裂解液、PMSF、磷酸酶抑制剂比例为 100:1:2), 充分裂解后转移至 EP 管中, 4 °C、12 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 测定蛋白浓度, 将其归一化后加入 5×Loading Buffer, 95 °C 加热 8 min 变性, 制备 8% SDS-PAGE 胶, 每孔上样 20 μg 蛋白, 电泳, 转膜, 封闭, 加入稀释一抗 CD31 (1:40 000)、Fibronectin (1:8 000)、Smad2 (1:1 000)、p-Smad2 (1:1 000)、Smad3 (1:1 000)、p-Smad3 (1:1 000), 4 °C 孵育过夜, TBST 清洗 PVDF 膜, 孵育相应二抗 (1:1 000) 1 h, 洗膜, 配制 ECL 发光液, 对 PVDF 膜进行化学发光显影, 清洗, 孵育内参 GAPDH (1:10 000) 1 h, 洗膜, 孵育二抗 1 h, 显影并采集图像, 采用 ImageJ 软件分析条带灰度值, 计算目的蛋白相对表达量。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处理,

数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 符合正态分布和方差齐性时, 组间比较采用单因素方差分析; 不符合正态分布或方差不齐时, 组间比较采用 Kruskal-Wallis H 分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 不同浓度莫诺昔对 HUVEC 存活率的影响 0、1、5、10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ 莫诺昔干预 HUVEC 24、48 h 后, 均对细胞存活率均无明显影响 ($P > 0.05$), 见图 1。

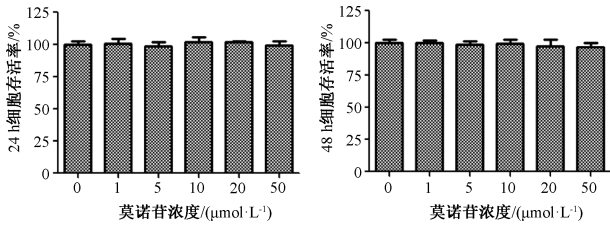
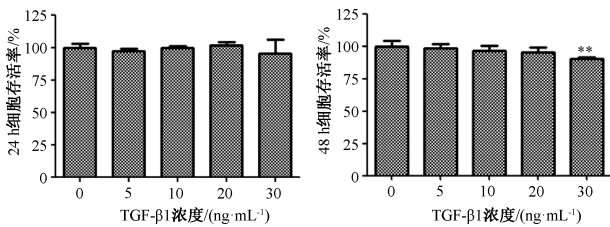


图 1 不同浓度莫诺昔对 HUVEC 存活率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

3.2 不同质量浓度 TGF- β 1 对 HUVEC 存活率的影响 5、10、20、30 ng/mL TGF- β 1 干预 HUVEC 24 h 后, 对细胞存活率无明显影响 ($P > 0.05$); 干预 48 h 后, 30 ng/mL TGF- β 1 能降低 HUVEC 存活率 ($P < 0.01$), 而 5、10、20 ng/mL 无明显影响 ($P > 0.05$), 见图 2。

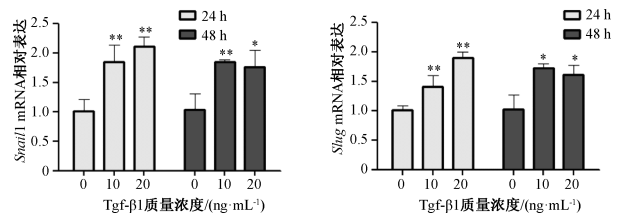


注: 与对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

图 2 不同质量浓度 TGF- β 1 对 HUVEC 存活率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

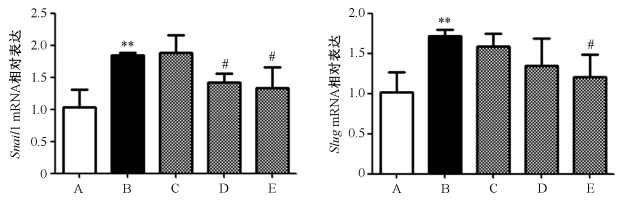
3.3 TGF- β 1 诱导 HUVEC EndMT 模型建立 10、20 ng/mL TGF- β 1 分别干预 HUVEC 24、48 h 后, 细胞 *Snail1*、*Slug* mRNA 表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见图 3。结合文献 [12-14] 报道, 本实验选择 10 ng/mL TGF- β 1 干预 HUVEC 48 h 作为模型诱导条件。

3.4 莫诺昔对 TGF- β 1 诱导 HUVEC *Snail1*、*Slug* mRNA 表达的影响 与对照组比较, 模型组细胞 *Snail1*、*Slug* mRNA 表达升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 莫诺昔 5 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞 *Snail1* mRNA 表达降低 ($P < 0.05$), 莫诺昔 10 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞 *Snail1*、*Slug* mRNA 表达降低 ($P < 0.05$), 见图 4。



注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

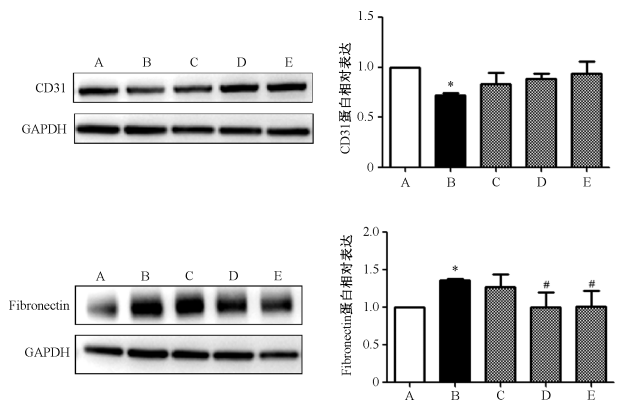
图 3 不同干预时间、质量浓度 TGF- β 1 对 HUVEC *Snail1*、*Slug* mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)



注: A 为对照组, B 为模型组, C~E 分别为莫诺昔 2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ 组。与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$ 。

图 4 各组 HUVEC *Snail1*、*Slug* mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3.5 莫诺昔对 TGF- β 1 诱导 HUVEC CD31、Fibronectin 蛋白表达的影响 与对照组比较, 模型组细胞 CD31 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), Fibronectin 蛋白表达升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 莫诺昔 5、10 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞 Fibronectin 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), CD31 蛋白表达无明显变化 ($P > 0.05$), 见图 5。

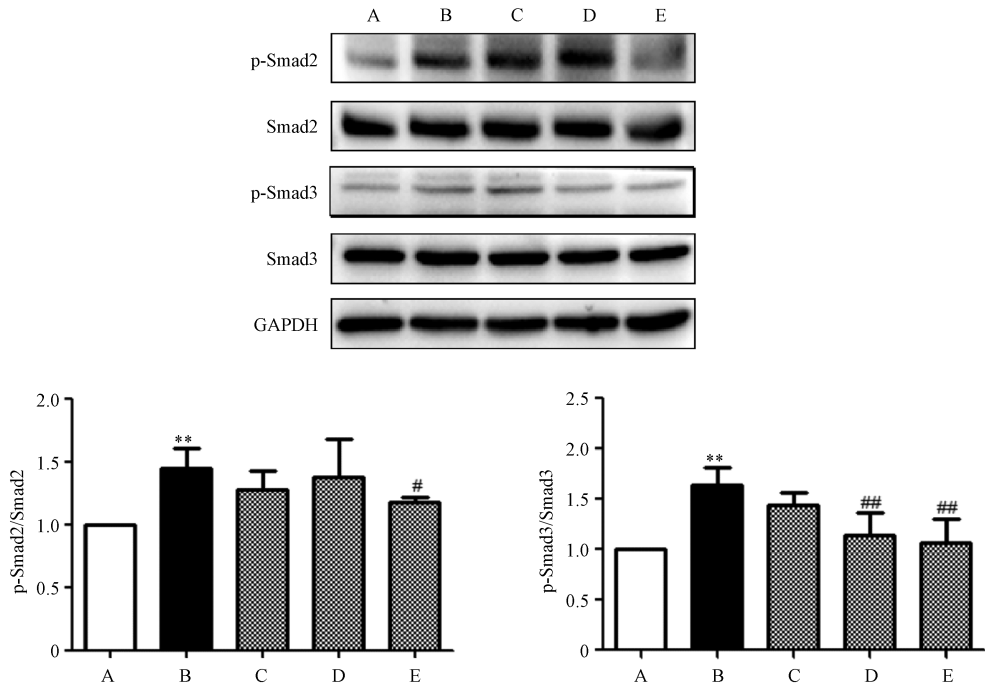


注: A 为对照组, B 为模型组, C~E 分别为莫诺昔 2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ 组。与对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$ 。

图 5 各组 HUVEC CD31、Fibronectin 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3.6 莫诺昔对 TGF- β 1 诱导 HUVEC p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达的影响 与对照组比较, 模型组细胞 p-Smad2/Smad2、p-Smad3/Smad3 蛋白表达升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 莫诺昔 10 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞 p-Smad2/Smad2、p-Smad3/Smad3 蛋白表达降

低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 莫诺昔 5 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞 p-Smad3/Smad3 蛋白表达降低 ($P < 0.01$), 见图 6。



注: A 为对照组, B 为模型组, C~E 分别为莫诺昔 2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ 组。与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 6 各组 HUVEC 对 Smad2/3 及其磷酸化蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

4 讨论

心肌纤维化是引起心室重构的关键原因, 广泛存在于多种心血管疾病中, 如心力衰竭、心肌病、高血压性心脏病等^[1]。尽管一些药物 [如血管紧张素受体-脑啡肽酶抑制剂 (ARNI)、钠-葡萄糖共运输蛋白 2 抑制剂 (SGLT-2i)、螺内酯等] 已在心肌纤维化、心室重塑的治疗中得到应用, 但目前临床上针对心肌纤维化的特异性治疗手段缺乏。内皮细胞是血管内壁的基本组成部分, 也是心脏非心肌细胞中占比最多的细胞类型^[15], 其中 EndMT 是内皮细胞损伤的重要机制之一, 参与心肌纤维化的起始和发展, 故探究能抑制其过度激活来减缓心肌纤维化的活性成分^[12-14, 16]、中药复方^[17-18] 等正成为近年来重点研究方向之一。

目前, TGF- β /Smad 信号通路、PI3K/Akt 信号通路、Notch 信号通路、Wnt 信号通路、Hypoxia 信号通路等具有激活 EndMT 的作用, 其中 TGF- β 1/Smad2/3 信号通路是最经典的通路之一^[19], TGF- β 1 可结合并激活内皮细胞表面 TGF- β 1 受体, 通过磷酸化下游主要效应分子细胞质介体 Smad2 和 Smad3, 从而促进 Snail1、Slug 转录, 并且它是 EndMT 的关键诱导因子, 后者维持和进展与前者

作用浓度、作用时间、细胞培养条件等因素相关。本研究以 *Snail1*、*Slug* mRNA 表达为指标, 考察了不同 TGF- β 1 质量浓度及作用时间对 EndMT 模型建立的影响, 发现 10、20 ng/mL TGF- β 1 均能引起 HUVEC 细胞 *Snail1*、*Slug* mRNA 表达升高, 同时延长 10 ng/mL TGF- β 1 干预时间有升高 *Slug* mRNA 表达的趋势, 而延长 20 ng/mL TGF- β 1 干预时间有降低 *Snail1*、*Slug* mRNA 表达的趋势, 结合相关报道, 最终确定采用 10 ng/mL TGF- β 1 干预 48 h 作为造模条件。

莫诺昔是山茱萸中的环烯醚萜类成分, 具有抗炎、降糖、保护心肾等药理作用^[8], 近年来它对心脏保护作用的药理机制被逐步揭开^[9-11, 20-21]。课题组前期研究显示, 莫诺昔是鹿角方主要入血成分之一, 也是后者抑制 EndMT、发挥抗心肌纤维化作用的药效物质^[22], 但它对 EndMT 的干预机制尚未涉及。本研究发现, 10 $\mu\text{mol/L}$ 莫诺昔能降低 EndMT 转录因子 *Snail1*、*Slug* mRNA 表达及 Fibronectin 蛋白表达, 抑制 Smad2、Smad3 蛋白磷酸化水平, 10 $\mu\text{mol/L}$ 莫诺昔对 EndMT 的调控作用较 5、2.5 $\mu\text{mol/L}$ 下更强, 但不同浓度莫诺昔对 CD31 蛋白表达仅有上调趋势, 提示该成分对

EndMT 过程的调控作用主要表现为间质细胞表型的抑制。

参考文献:

[1] Travers J G, Tharp C A, Rubino M, et al. Therapeutic targets for cardiac fibrosis: from old school to next-gen[J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(5): e148554.

[2] Cheng W J, Li X, Liu D L, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition: role in cardiac fibrosis[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2021, 26(1): 3-11.

[3] Man S, Sanchez Duffhues G, Ten Dijke P, et al. The therapeutic potential of targeting the endothelial-to-mesenchymal transition[J]. *Angiogenesis*, 2019, 22(1): 3-13.

[4] Li X, Li L, Lei W, et al. Traditional Chinese medicine as a therapeutic option for cardiac fibrosis: pharmacology and mechanisms[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 142: 111979.

[5] 陈 倩, 张馨月, 刘俊伶, 等. 山茱萸的现代药理作用及机制研究进展[J]. *环球中医药*, 2025, 18(2): 388-396.

[6] 冯庆梅. 基于网络药理学-分子对接研究山茱萸防治冠心病药效物质及作用机制[J]. *邢台学院学报*, 2025, 40(2): 82-95.

[7] Li M, Zhang J L, Jiang L Y, et al. Neuroprotective effects of mornroniside from *Cornus officinalis* sieb. Et zucc against Parkinson's disease via inhibiting oxidative stress and ferroptosis[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2023, 23(1): 218.

[8] Bhuia M S, Chowdhury R, Ara I, et al. Bioactivities of mornroniside: a comprehensive review of pharmacological properties and molecular mechanisms[J]. *Fitoterapia*, 2024, 175: 105896.

[9] Xu J J, Li R J, Zhang Z H, et al. Loganin inhibits angiotensin II-induced cardiac hypertrophy through the JAK2/STAT3 and NF- κ B signaling pathways[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 678886.

[10] 陈志良, 申朝辉, 李 爽. 莫诺昔对心肌梗死模型大鼠心肌纤维化的改善及作用机制研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2021, 20(6): 584-588.

[11] Zheng H T, Yang L X, Huang H S, et al. Mornroniside improves Ang II-induced cardiac fibroblast proliferation, migration, and

extracellular matrix deposition by blocking p38/JNK signaling pathway through the downregulation of KLF5[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2024, 397(9): 6611-6621.

[12] Jin Y G, Yuan Y, Wu Q Q, et al. Puerarin protects against cardiac fibrosis associated with the inhibition of TGF- β 1/Smad2-mediated endothelial-to-mesenchymal transition[J]. *PPAR Res*, 2017, 2017: 2647129.

[13] Chen X, Chen X L, Shi X X, et al. Curcumin attenuates endothelial cell fibrosis through inhibiting endothelial-interstitial transformation[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2020, 47(7): 1182-1192.

[14] Wilhelmi T, Xu X B, Tan X Y, et al. Serelaxin alleviates cardiac fibrosis through inhibiting endothelial-to-mesenchymal transition via RXFP1[J]. *Theranostics*, 2020, 10(9): 3905-3924.

[15] 邹 璇, 宋小敏, 王 婧. 心脏中的内皮细胞与心力衰竭[J]. *中华心血管病杂志*, 2021, 49(4): 318-323.

[16] Fan M, Yang K, Wang X H, et al. Lactate promotes endothelial-to-mesenchymal transition via Snail1 lactylation after myocardial infarction[J]. *Sci Adv*, 2023, 9(5): eadc9465.

[17] 沈涤非, 吴青青, 邓 伟, 等. 参松养心粉剂对心肌纤维化的改善作用[J]. *医药导报*, 2018, 37(9): 1051-1055.

[18] 马有刚, 康峰光, 徐如林, 等. 复方丹参滴丸减少心肌微血管内皮-间质转化保护缺血-再灌注大鼠的心功能[J]. *中山大学学报 (医学科学版)*, 2021, 42(3): 355-363.

[19] 刘 依, 尹玉洁, 李 真, 等. 内皮间质转分化在器官纤维化中的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(6): 1014-1019.

[20] Zheng S Y, Liu T T, Chen M Q, et al. Mornroniside induces cardiomyocyte cell cycle activity and promotes cardiac repair after myocardial infarction in adult rats[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 14: 1260674.

[21] Ke X P, Yu S C, Situ S B, et al. Mornroniside inhibits Beclin1-dependent autophagic death and Bax-dependent apoptosis in cardiomyocytes through repressing BCL2 phosphorylation[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2023, 59(4): 277-288.

[22] Shi X L, Ma J Y, Liu W, et al. Pharmacokinetics integrated with network pharmacology to investigate the potential mechanism of Lu-Jiao Fang inhibited endothelial-to-mesenchymal transition in pressure overload-induced cardiac fibrosis[J]. *Biomed Chromatogr*, 2025, 39(2): e6075.