

丹酚酸 A 对急性心肌缺血大鼠尿酸代谢的影响

李茜, 何华, 刘瑶, 王世俊, 王海东, 柳晓泉*

(中国药科大学药物代谢动力学研究中心, 南京 210009)

摘要 通过结扎大鼠冠状动脉左前降支建立急性心肌缺血大鼠模型, 考察丹酚酸 A 对急性心肌缺血大鼠尿酸代谢的影响。大鼠随机分为 3 组, 分别为假手术组、结扎组及丹酚酸 A 组(5 mg/kg)。测定血浆及心肌组织中尿酸含量, 同时测定血浆黄嘌呤氧化酶活性, 心肌组织中高能磷酸化合物及嘌呤化合物含量, 以及心肌组织缺血率。结果表明, 急性心肌缺血发生后, 心肌组织中 ATP 耗竭, 心肌组织缺血率增加, 细胞坏死嘌呤化合物释出进入循环系统, 心肌组织中嘌呤化合物减少。血浆中尿酸底物及黄嘌呤氧化酶活性增加, 共同造成血浆尿酸水平升高。丹酚酸 A 可增加高能磷酸化合物及嘌呤化合物含量, 减小心肌缺血率, 减少细胞坏死, 同时抑制血浆中黄嘌呤氧化酶活性, 从两个方面减少血浆中尿酸生成。提示丹酚酸 A 可通过调节尿酸的生成发挥心血管保护作用。

关键词 丹酚酸 A; 尿酸; 急性心肌缺血; 黄嘌呤氧化酶

中图分类号 R969.1 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2014)03-0335-06

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20140315

Effect of salvianolic acid A on uric acid metabolism in acute myocardial infarction rats

LI Xi, HE Hua, LIU Yao, WANG Shijun, WANG Haidong, LIU Xiaoquan*

Center of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract The aim of this study was to investigate the effect of salvianolic acid A (SalA) on uric acid metabolism in acute myocardial infarction (AMI) rats. Rats were randomly divided into Sham, AMI and SalA groups. The AMI model underwent coronary artery ligation and the survival AMI rats received a single intravenous dose of 5 mg/kg of SalA and normal saline. The uric acid plasma and myocardial concentrations, myocardial adenine nucleotides (AMP, ADP and ATP), inosine, xanthine, hypoxanthine were determined by HPLC and plasma xanthine oxidase activity was measured spectrophotometrically using commercial diagnostic kits. Myocardial infarct rate was measured by TTC dying method. After AMI, myocardial ATP depleted, the infarct rate increased and purine compounds released from necrotic cells, resulting in the increased uric acid substrate in plasma. Furthermore, the xanthine oxidase activity in plasma was increased, so the elevated substrate and increased xanthine oxidase activity resulted in elevated plasma uric acid levels. SalA increased high-energy phosphate compounds and inosine levels, reduced myocardial infarct rate, so less purine compound released to plasma. SalA also inhibited xanthine oxidase activity in plasma. Therefore, plasma uric acid was declined. The results suggested that SalA could exhibit cardiovascular protective effects by regulating of uric acid synthesis in AMI rats.

Key words Salvianolic acid A; uric acid; acute myocardial infarction; xanthine oxidase

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81273588)

急性心肌梗死主要由于动脉粥样硬化发生后血管壁上的斑块破裂脱落, 导致冠状动脉闭塞, 心肌组织供血供氧不足, 最终引起急性心肌梗死^[1]。近年来, 数以百万计的患者死于急性心肌梗死, 急

性心肌梗死已成为威胁人类生命的严重心血管疾病之一。

尿酸是人体内嘌呤代谢的最终产物,主要通过ATP降解为AMP,AMP再通过腺苷→次黄嘌呤核苷→次黄嘌呤→黄嘌呤→尿酸途径生成^[2-3],黄嘌呤氧化酶是尿酸的直接生成酶。尿酸大部分在肝脏产生,2/3经肾排泄,1/3经肠道排出体外^[4]。当男性体内血尿酸水平大于等于7.0 mg/dL,女性体内血尿酸水平大于等于6.0 mg/dL时,即被称为高尿酸血症。高尿酸血症最初于痛风患者中发现,之后发现在多种心血管疾病(如充血性心力衰竭、心肌梗死、胰岛素抵抗、原发性高血压)中,均伴随血尿酸水平的升高,而尿酸水平升高将进一步促进氧化应激,炎症反应,血管平滑肌细胞增殖,内皮功能障碍等。目前,高尿酸水平被认为是一个潜在的危险因子,并被认为是多种心血管疾病的预测因子^[5-8]。

丹酚酸A(SaA)是丹参主要的水溶性活性成分,具有广泛的药理活性,如抗氧化、抗血小板聚集、抗感染、抗细胞增殖等^[9-12]。已有文献报道,丹参水溶性成分能增加大鼠离体心脏缺血再灌注心肌中高能磷酸化合物的含量,增加心肌能量储备,起到心肌保护的作用^[13-15]。而高能磷酸化合物最终代谢生成尿酸。另一方面,有文献报道多酚类化合物能通过抑制黄嘌呤氧化酶活性而减少尿酸生成^[16-17]。因此,本文通过采用结扎大鼠冠状动脉左前降支建立急性心肌缺血大鼠模型,给予5 mg/kg 丹酚酸A后,考察心肌组织及血浆中给药前后尿酸的底物、合成酶及尿酸的变化,旨在探讨丹酚酸A通过对尿酸代谢影响而发挥心血管保护的作用。

1 材料

1.1 药品与试剂

丹酚酸A标准品(江西青峰药业有限公司);尿酸标准品、次黄嘌呤标准品、黄嘌呤标准品、次黄嘌呤核苷标准品、黄嘌呤氧化酶、2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC,美国Sigma公司);腺苷-5'-三磷酸二钠盐,腺苷-5'-二磷酸二钠盐,核苷酸5'-一磷酸腺苷钠盐(上海晶纯生化科技股份有限公司);甲醇,乙腈(色谱纯,美国Merck公司);其余试剂均为市售分析纯;试验用水为超纯水。

1.2 仪器

HPLC系统(含SPD-M20APDA检测器,CBM-20A系统控制器,LC-20AD泵,SIL-20AC自动进样器,CTO-20A柱温箱,日本岛津公司);TSQ Quantum Access液质联用仪(美国Thermo公司);VersaMax Microplate Readers酶标仪(美国Molecular Devices公司);5430R高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司);Milli-Q A10超纯水器(美国Millipore公司);HX-300S呼吸机(成都泰盟科技有限公司);PB-10 pH计(德国赛多利斯公司)。

1.3 动物

健康成年清洁级雄性SD大鼠70只,体重200~250 g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,合格证号:SCXK(沪)2008-0016。

2 方法

2.1 动物模型的制备及分组

雄性SD大鼠,适应性饲养1周,自由饮食饮水,体重增至230~250 g时进行实验,随机平均分为3组:假手术组(Sham组,开胸不结扎,生理盐水,iv);结扎组(AMI组,左冠状动脉结扎后给予生理盐水,iv);丹酚酸A组(SaA组,左冠状动脉结扎后给予5 mg/kg 丹酚酸A,iv)。通过结扎冠状动脉左前降支建立急性心肌缺血大鼠模型^[18]。

大鼠腹腔注射10%水合氯醛(0.3 g/kg)麻醉后,仰卧固定于手术台上,插入气管并连接呼吸机辅助其呼吸。于大鼠左胸第4、5肋之间开胸,暴露心脏,在距冠状动脉左前降支根部2 mm处穿线结扎(Sham组穿线不结扎),迅速将心脏放回原位,丝线缝合创口。以心电图II导联ST段抬高作为模型建立成功的标志。

手术后存活的大鼠分别于5,15,30,60,120,180,240,360 min眼底取血于肝素化试管中,4 000 r/min离心10 min取上清液,分装成3份,25 μ L用于尿酸测定,25 μ L用于黄嘌呤氧化酶测定,样品置于-70 $^{\circ}$ C条件下冻存待分析。Sham组于6 h脱颈椎法处死大鼠,AMI组分别于3,6 h各处死11只大鼠,SaA组于3,6 h各处死11只大鼠。大鼠处死后各组及各时间点6只立即取心脏组织,剪去右心室和心房后以生理盐水冲洗后置于液氮中保存直到用于样品分析测定,余下5只剪去右心室和心房后以生理盐水洗净,于-20 $^{\circ}$ C保存至测定

心肌组织缺血率。

2.2 心肌组织缺血率测定

取出心脏组织后立刻将心脏组织横向切为约 1 mm 厚的薄片,将所有切片置于 2% TTC(溶于 pH 7.4 的 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液中)中于 37 ℃ 温孵 25 min 后,取出切片,用 3.5% 的甲醛固定 12 h。取出固定后的心脏切片,称重,然后将切片置于两片载玻片中间,并用生理盐水充满载玻片之间的空间。用高分辨率的数码相机对心脏切片的两面进行拍照后,用 Matlab 编写的程序对缺血区进行计算,用心脏切片两面所得到的缺血面积的平均值乘以切片的重量,最后将所有的缺血心肌组织的重量除以心肌组织总的重量即为心肌组织缺血率。

2.3 心肌组织中 ATP、ADP、AMP、尿酸含量的测定

心肌组织中 ATP、ADP、AMP、尿酸的含量测定方法按文献[19]进行。心肌组织 0.2 g 于冰盘上剪碎后加入 4% 冰冷的高氯酸 0.6 mL,在冰浴条件下应用电动匀浆器进行匀浆,样品置于冰水浴中,每匀浆 10 s 后间隔 30 s 再次匀浆以防止组织中样品降解。匀浆液在 4 ℃ 条件下 15 000 r/min 离心 10 min 后取上清液 100 μ L,加入 3 mol/L 氢氧化钾溶液 20 μ L,混匀并再次离心后取上清液 20 μ L 进样。

色谱条件: C₁₈ ODS 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m),流动相为 A(50 mmol/L KH₂PO₄/K₂HPO₄ 和 10 mmol/L 四丁基溴化铵, pH 6.8)-B(乙腈)(96:4),流速为 1.0 mL/min,柱温 35 ℃,检测波长:254 nm(ATP、ADP、AMP),293 nm(尿酸)。

2.4 心肌组织中次黄嘌呤、黄嘌呤、次黄嘌呤核苷含量的测定

心肌组织中次黄嘌呤、黄嘌呤、次黄嘌呤核苷的含量测定方法按文献[20]进行。心肌组织 0.2 g 于冰盘上剪碎后加入冰冷的 0.9% 生理盐水 0.8 mL,在冰浴条件下应用电动匀浆器进行匀浆,样品置于冰水浴中,每匀浆 10 s 后间隔 30 s 再次匀浆以防止组织中样品降解。匀浆液在 4 ℃ 条件下 3 000 r/min 离心 10 min 后取上清液 50 μ L,加入超纯水 50 μ L 及冰冷的 8% 高氯酸 50 μ L,在 4 ℃ 条件下 15 000 r/min 离心 10 min 后取上清液。上清液加入 3 mol/L 氢氧化钾溶液 20 μ L,混匀并

再次离心后取上清液 20 μ L 进样。

色谱条件:色谱柱、柱温同“2.3”项,流动相为 A(60 mmol/L KH₂PO₄/K₂HPO₄)-B(乙腈)(96:4);流速为 1.0 mL/min,;检测波长:254 nm。

2.5 血浆中尿酸水平的测定

大鼠血浆中尿酸含量的测定方法参照文献略加改进^[21]。血浆 25 μ L 加入超纯水 50 μ L,涡旋 5 s 后加入冰冷的 8% 高氯酸 50 μ L 振荡 3 min 后,于 4 ℃ 15 000 r/min 离心 10 min,取上清液,加入 3 mol/L NaOH 10 μ L 中和,混匀后于 4 ℃ 15 000 r/min 离心 10 min。取上清液 20 μ L 进样。

色谱柱、柱温同“2.3”项,检测波长 293 nm,流动相 A(50 mmol/L KH₂PO₄/K₂HPO₄, pH 6.0)-B(乙腈)(96:4),流速 0.8 mL/min。

2.6 血浆中黄嘌呤氧化酶活性的测定

按照黄嘌呤氧化酶测定试剂盒的要求进行样品处理,最后于 530 nm 波长扫描进行定量^[22]。

2.7 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计学采用 *t* 检验。

3 结 果

3.1 丹酚酸 A 对心肌组织缺血率的影响

如图 1 所示,大鼠冠脉结扎后,AMI-6 h 组与 AMI-3 h 组比较,心肌缺血率显著增加($P < 0.05$)。给予 5 mg/kg SalA 后,3 h 时,心肌缺血率没有明显改善,而 6 h 时,与 AMI-6 h 比较,SalA 能显著减小心肌缺血率($P < 0.05$)。

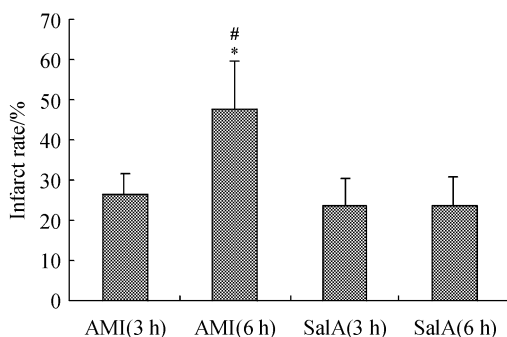


Figure 1 Myocardial infarct rate of rat hearts in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

AMI: acute myocardial infarction; SalA: salvianolic acid A

* $P < 0.05$ vs AMI (3 h) group; # $P < 0.05$ vs SalA (6 h) group

3.2 丹酚酸 A 对心肌组织腺苷酸含量的影响

如表 1 所示,总腺苷(TAN)为 AMP、ADP、ATP 的总和,以反映心肌能量合成的总体情况。大鼠冠

脉结扎后,心肌组织中 ATP 逐渐被耗竭,6 h 时降低为原来的 2/3 ($P < 0.05$),ADP 与 AMP 也在 3 h 及 6 h 时显著降低 ($P < 0.01$)。TAN 显著性减低 ($P < 0.01$),表明心肌缺血后心肌组织中提供能量的能力大大减弱。

给予 5 mg/kg SalA 后,3 h 组与 AMI 组比较,

心肌组织 AMP、ADP、ATP 含量均无显著性差异,TAN 也无显著变化。SalA-6 h 组与 AMI 组比较,ATP 含量无显著性差异,但 ADP、AMP 含量显著增加 ($P < 0.01$),同时 TAN 含量也显著增加 ($P < 0.05$)。

Table 1 Concentration of adenine nucleotides and total adenine nucleotides (TAN) in myocardial tissue in each group($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Group	t/h	AMP/(nmol/g)	ADP/(nmol/g)	ATP/(nmol/g)	TAN/(nmol/g)
Sham		3 905.61 ± 1 018.19	490.38 ± 135.64	92.32 ± 15.09	4315.02 ± 1 206.07
AMI	3	846.99 ± 231.55 **	272.26 ± 27.55 **	75.02 ± 2.72 *	1 194.27 ± 254.36 **
AMI	6	287.49 ± 157.88 **	190.65 ± 56.64 **	68.75 ± 4.25 *	546.88 ± 210.65 **
SalA	3	1 093.96 ± 398.00	310.52 ± 44.06	72.13 ± 9.21	1 438.72 ± 477.66
SalA	6	1 600.98 ± 755.93 ##	315.25 ± 68.76 ##	72.76 ± 14.10	1709.76 ± 506.95 #

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs sham group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs model group at the same time point

3.3 丹酚酸 A 对心肌组织嘌呤含量的影响

如表 2 所示,AMI 组大鼠结扎后 3 h 及 6 h 时,与 Sham 组比较,次黄嘌呤核苷及次黄嘌呤含量显著下降 ($P < 0.05$),黄嘌呤在 3 h 时,没有显著变化,在 6 h 时显著降低 ($P < 0.05$),尿酸含量在 3 h 及 6 h 皆显著增加 ($P < 0.05$)。

给予 5 mg/kg SalA 后,与 AMI 组比较,3 h 组,心肌组织中次黄嘌呤核苷与黄嘌呤显著升高 ($P < 0.05$),次黄嘌呤与尿酸无显著变化。6 h 组,嘌呤中间产物含量显著升高 ($P < 0.05$),而尿酸显著降低 ($P < 0.05$)。

Table 2 Concentration of purine compounds in myocardial tissue in each group($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Group	t/h	INO/($\mu\text{mol/g}$)	HYP/($\mu\text{mol/g}$)	XAN/($\mu\text{mol/g}$)	UA/(nmol/g)
Sham		3.75 ± 0.33	1.47 ± 0.16	0.44 ± 0.04	10.88 ± 2.23
AMI	3	0.92 ± 0.40 **	0.88 ± 0.45 *	0.31 ± 0.11	15.45 ± 3.72 *
AMI	6	0.45 ± 0.21 **	0.56 ± 0.16 **	0.26 ± 0.04 **	29.46 ± 8.24 **
SalA	3	1.81 ± 0.78 ##	1.12 ± 0.28	0.36 ± 0.10 #	15.27 ± 3.45
SalA	6	3.08 ± 0.83 ##	1.36 ± 0.39 #	0.39 ± 0.16 #	13.82 ± 5.80 #

INO: inosine; HYP: hypoxanthine; XAN: xanthine; UA: uric acid

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs sham group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs model group at the same time point

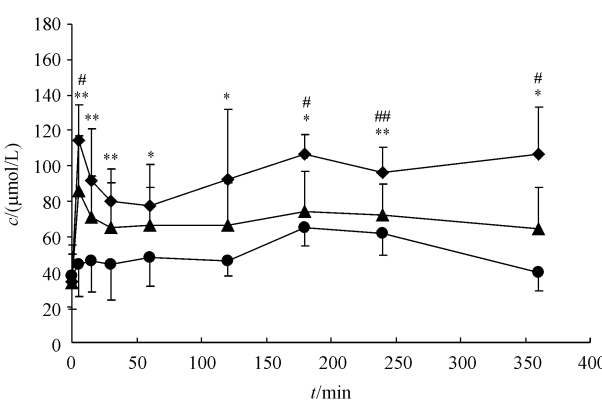
3.4 丹酚酸 A 对血浆尿酸含量的影响

AMI 组、SalA 组及假手术组血浆尿酸浓度-时间曲线如图 2。大鼠冠脉结扎诱导急性心肌缺血后血浆尿酸水平显著升高并于 5 min 达到峰值,之后迅速下降,于 1 h 后再缓慢升高,并维持在较高水平。5 mg/kg SalA 显著抑制急性心肌缺血引起的尿酸水平升高,峰值显著低于 AMI 组,并且于 3 h 至 6 h 尿酸保持一定水平不再升高。

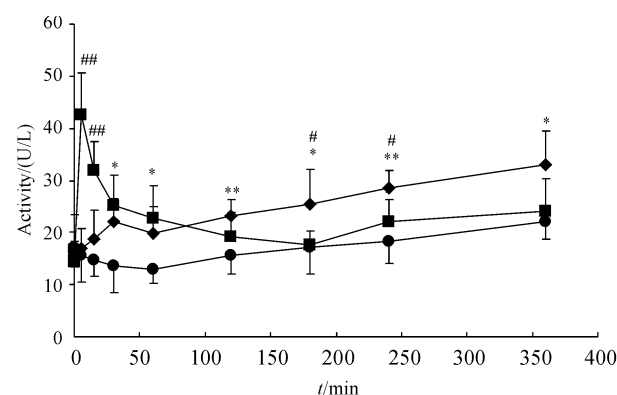
3.5 丹酚酸 A 对血浆黄嘌呤氧化酶活性的影响

AMI 组、SalA 组及假手术组血浆黄嘌呤氧化酶活性-时间曲线如图 3。急性心肌缺血后,黄嘌呤氧化酶活性在 6 h 内缓慢从 16.2 U/L 上升至 30.7 U/L,并于与 Sham 组存在显著性差异。给予 SalA 后,虽然黄嘌呤氧化酶活性在 5 min 内迅速增加,但之后缓慢下降至正常水平,并于 3 h 至 4 h 显

著低于结扎组。



—◆—AMI group; —▲—SalA group; —●—Sham group
Figure 2 Time profile of plasma uric acid concentrations in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs sham group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs SalA group



—◆—AMI group; —■—SalA group; —●—Sham group
Figure 3 Time profile of plasma xanthine oxidase activity in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)
 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs sham group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs SalA group

4 讨 论

尿酸是人体内嘌呤代谢的最终产物,在生成尿酸的过程中,同时生成大量的超氧阴离子自由基,造成细胞氧化性损伤。在心血管疾病中,尿酸水平升高的主要原因包括饮食或病理状态下尿酸底物增加,尿酸生成酶黄嘌呤氧化酶含量增加或活性升高,尿酸排泄减少等。而在急性心肌缺血中,心肌细胞供血供氧不足,ATP合成减少,心肌细胞内ATP、GTP耗竭,AMP蓄积,尿酸底物大量增加;同时,缺氧导致黄嘌呤还原氧化酶由还原态不可逆的转变成为氧化态,并且活性增强,两者共同导致循环系统内尿酸水平升高。尿酸的促氧化作用会加剧氧化应激反应,同时介导炎症反应,进而造成内皮功能障碍。因此,本研究从尿酸的底物与生成酶黄嘌呤氧化酶两方面考察丹酚酸 A 对急性心肌缺血状态下尿酸代谢的影响。

本实验中发现冠脉结扎后,心肌组织中 ADP、AMP 及 TAN 的含量显著降低,表明心肌组织能量代谢异常。同时次黄嘌呤核苷参与核苷酸补救合成途径,结扎后大鼠心肌组织次黄嘌呤核苷显著下降,表明急性心肌缺血状态下核苷酸补救合成途径可能被抑制。心肌供能异常导致心肌组织缺血率增加,心肌细胞坏死,细胞膜通透性改变,细胞内物质释放进入循环系统,因此心肌细胞中次黄嘌呤核、次黄嘌呤、黄嘌呤的含量显著下降。本研究并未考察血浆中嘌呤代谢物水平,但已有研究表明,心肌缺血后,循环中嘌呤化合物大量增

加^[23-24]。尿酸底物增加,并且血浆中黄嘌呤氧化酶活性升高,因此心肌缺血后,在二者的共同作用下,血浆中尿酸水平显著增高。

文献报道^[14-15],丹参注射液对离体灌流大鼠心脏中高能磷酸化合物含量有升高作用,本文得出结论与上述研究相符。SalA 可促进大鼠心脏中 ATP 生成,TAN 显著升高,也能显著增加次黄嘌呤核苷含量,提示 SalA 可能通过增加核苷酸补救合成途径改善心肌能量供应。并且 SalA 能有效减小心肌组织缺血率,减少心肌细胞坏死,细胞释放入血的物质减少,因此心肌组织中嘌呤化合物含量增加。循环中尿酸底物减少,同时 SalA 能抑制血浆中黄嘌呤氧化酶活性,因此 SalA 从尿酸的底物与合成酶两方面降低血浆尿酸水平。本实验中,SalA 结构中的邻二酚结构能与黄嘌呤氧化酶活性位点发生羟化反应或静电引力,从而抑制血浆中黄嘌呤氧化酶活性^[25]。其他黄嘌呤氧化酶抑制剂,如别嘌呤醇、非布司他能有效抑制黄嘌呤氧化酶活性,从而降低尿酸水平^[26]。而黄嘌呤氧化酶活性于 5 min 时突然增加,可能是由于给予高浓度 SalA 后,SalA 发生自氧化形成半醌或醌类结构,反而会激动黄嘌呤氧化酶活性^[27]。

另外,本研究中冠脉结扎后,虽然细胞坏死,细胞通透性改变,大量物质释放入血,但心肌组织中尿酸生成仍然增加,一部分进入血液循环,余下尿酸水平仍高于假手术组。

肌酐水平可以体现小分子化合物如尿酸在肾中的排泄,根据本实验室之前研究^[28],在心肌梗死急性期,血浆肌酐水平并未发生明显的变化,表明肾功能在急性冠脉结扎后未受到影响,尿酸的排泄对血浆中尿酸水平影响不大。

综上,丹酚酸 A 通过优化能量代谢,减小心肌组织缺血率,减少心肌细胞坏死,从而减少血浆中尿酸底物,同时抑制血浆黄嘌呤氧化酶活性,从两个方面降低急性心肌缺血后尿酸的生成,直接间接抑制氧化应激的发生,发挥其心血管保护作用。

参 考 文 献

- [1] Chan D, Ng LL. Biomarkers in acute myocardial infarction[J]. *BMC Med*, 2010, 8(1): 34.
- [2] Kanbay M, Segal M, Afsar B, et al. The role of uric acid in the pathogenesis of human cardiovascular disease[J]. *Heart*, 2013, 99(11): 759 - 766.

- [3] Lee BE, Toledo AH, Anaya-Prado R, *et al.* Allopurinol, xanthine oxidase, and cardiac ischemia[J]. *J Invest Med*, 2009, **57**(8): 902–909.
- [4] de Oliveira EP, Burini RC. High plasma uric acid concentration: causes and consequences[J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2012, **4**(1):12.
- [5] Lazaros G, Tsiachris D, Aznaouridis K, *et al.* Uric acid in-hospital changes predict mortality in patients with acute myocardial infarction[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2013, **23**(12):1 202–1 209.
- [6] Sedaghat S, Hoorn EJ, van Rooij FJ, *et al.* Serum uric acid and chronic kidney disease: the role of hypertension[J]. *PLoS One*, 2013, **8**(11):e76827.
- [7] Xu Y, Zhu J, Gao L, *et al.* Hyperuricemia as an independent predictor of vascular complications and mortality in type 2 diabetes patients: a meta-analysis[J]. *PLoS one*, 2013, **8**(10):e78206.
- [8] Levantesi G, Marfisi RM, Franzosi MG, *et al.* Uric acid: a cardiovascular risk factor in patients with recent myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol*, 2013, **167**(1):262–269.
- [9] Fan H, Fu F, Yang M, *et al.* Antiplatelet and antithrombotic activities of salvianolic acid A[J]. *Thromb Res*, 2010, **126**(1):e17–e22.
- [10] Wang S, Tian S, Yang F, *et al.* Cardioprotective effect of salvianolic acid A on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, **615**(1):125–132.
- [11] Sun L, Zhao R, Zhang L, *et al.* Salvianolic acid A inhibits PDGF-BB induced vascular smooth muscle cell migration and proliferation while does not constrain endothelial cell proliferation and nitric oxide biosynthesis[J]. *Molecules*, 2012, **17**(3):3 333–3 347.
- [12] Yang L, Li D, Zhang Y, *et al.* Salvianolic acid A inhibits angiotensin II-induced proliferation of human umbilical vein endothelial cells by attenuating the production of ROS[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2011, **33**(1):41–48.
- [13] Zhang L, Chang BB, Chao WW, *et al.* Effect of danshensu on myocardial energy metabolism in isolated ischemia reperfusion rat hearts[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2010, **41**(3):278–282.
- [14] Huang LH, Chen YC, Cheng Y, *et al.* Effect of content variation of water-soluble components on myocardial energy metabolism in isolated ischemia-reperfusion rat hearts[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2011, **42**(4):348–353.
- [15] Ma C, Huo SF, Cao YG, *et al.* Regulation of Danshen injection on cardiac energy metabolism in rats[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2009, **40**(2):147–151.
- [16] Carrasco-Pozo C, Gotteland M, Speisky H. Apple peel polyphenol extract protects against indomethacin-induced damage in Caco-2 cells by preventing mitochondrial complex I inhibition[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, **59**(21):11 501–11 508.
- [17] Bagul PK, Middela H, Matapally S, *et al.* Attenuation of insulin resistance, metabolic syndrome and hepatic oxidative stress by resveratrol in fructose-fed rats[J]. *Pharmacol Res*, 2012, **66**(3):260–268.
- [18] Chen YC, Cao WW, Cao Y, *et al.* Using neural networks to determine the contribution of danshensu to its multiple cardiovascular activities in acute myocardial infarction rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, **138**(1):126–134.
- [19] Volonté M, Yuln G, Quiroga P, *et al.* Development of an HPLC method for determination of metabolic compounds in myocardial tissue[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2004, **35**(3):647–653.
- [20] Akula KK, Kaur M, Bishnoi M, *et al.* Development and validation of an RP-HPLC method for the estimation of adenosine and related purines in brain tissues of rats[J]. *J Sep Sci*, 2008, **31**(18):3 139–3 147.
- [21] Coolen EJ, Arts IC, Swennen EL, *et al.* Simultaneous determination of adenosine triphosphate and its metabolites in human whole blood by RP-HPLC and UV-detection[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2008, **864**(1/2):43–51.
- [22] Wang J, Jiang Z, Ji J, *et al.* Evaluation of hepatotoxicity and cholestasis in rats treated with EtOH extract of *Fructus Psoraleae* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, **144**(1):73–81.
- [23] Al-Shamiri SA, Hasan NA, Frankul WM, *et al.* Purines and oxypurines in myocardial ischemia[J]. *Saudi Med J*, 2009, **30**(2):257–266.
- [24] Lewis GD, Wei R, Liu E, *et al.* Metabolite profiling of blood from individuals undergoing planned myocardial infarction reveals early markers of myocardial injury[J]. *J Clin Invest*, 2008, **118**(10):3 503–3 512.
- [25] Ponce A, Blanco S, Molina A, *et al.* Study of the action of flavonoids on xanthine-oxidase by molecular topology[J]. *J Chem Inf Comput Sci*, 2000, **40**(4):1 039–1 045.
- [26] Sezai A, Soma M, Nakata K, *et al.* Comparison of febuxostat and allopurinol for hyperuricemia in cardiac surgery patients (NUFLASH Trial)[J]. *Circ J*, 2013, **77**(8):2 043–2 049.
- [27] Halliwell B. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and *in vivo* studies[J]? *Arch Biochem Biophys*, 2008, **476**(2):107–112.
- [28] He H, Wang S, Li X, *et al.* A novel metabolic balance model for describing the metabolic disruption of and interactions between cardiovascular-related markers during acute myocardial infarction[J]. *Metabolism*, 2013, **62**(10):1 357–1 366.