

基于UPLC-Q-TOF-MS/MS及网络药理学探讨复方芪地化瘀汤对糖尿病心肌病小鼠心肌纤维化的影响

艳梅^{1,2}, 张世昭^{1,3}, 梁朋朋^{1,3}, 王雅乐⁴, 刘佳敏^{1,3}, 黄海¹, 李桂云¹, 吴红彦^{1,2,3*}

(1. 上海中医药大学深圳医院, 广东深圳 518004; 2. 江西中医药大学, 江西南昌 330004; 3. 上海中医药大学, 上海 201203; 4. 深圳市龙岗区第二人民医院, 广东深圳 518000)

摘要: 目的 基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS) 结合网络药理学及药效学实验验证复方芪地化瘀汤对糖尿病心肌病 (DCM) 小鼠心肌纤维化的改善作用。方法 采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术对复方芪地化瘀汤煎液的化学成分进行表征。应用网络药理学构建“活性成分-交集靶点-通路”网络, 对关键成分与核心靶点进行分子对接。验证实验将 C57BL/6 小鼠随机分为空白组、模型组、达格列净组 (1.43 mg/kg) 和复方芪地化瘀汤低、中、高剂量组 (7.785、15.57、31.14 g/kg), 每组 6 只, 除空白组外, 其余各组均给予高脂饲料联合腹腔注射链脲佐菌素 (STZ) 诱导小鼠 DCM 模型, 各给药组灌胃相应剂量药物, 每天 1 次, 连续 8 周, 监测小鼠体质量和血糖水平。给药结束后, 超声心动图检测心功能; ELISA 法检测血清脂质水平和 Ox-LDL、MCP-1、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、CRP 水平; HE 染色和 Masson 染色观察心肌组织病理学改变; Western blot 法检测心肌组织 TP53、Src、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、Hsp90aa1、MAPK1 蛋白表达; RT-qPCR 法检测心肌组织 TP53、Src、PI3K、Akt、Hsp90aa1、MAPK1 mRNA 表达。结果 复方芪地化瘀汤中鉴定出 159 种成分, 网络药理学分析表明, 复方芪地化瘀汤治疗 DCM 的核心靶点为 TP53、Src、Akt1、Hsp90aa1、MAPK1, 且主要富集于癌症通路、代谢途径、PI3K/Akt、肿瘤中的蛋白聚糖、MAPK 等多条信号通路。天师酸、亚油酸、锦葵酸、甘草素和木兰花碱为其治疗 DCM 的关键活性成分。动物实验结果表明, 复方芪地化瘀汤各剂量组能降低 DCM 小鼠体质量、血糖、血脂水平 ($P<0.01$); 改善心功能及心脏组织病理变化; 降低 Ox-LDL、MCP-1、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、CRP 水平 ($P<0.01$)。复方芪地化瘀汤中、高剂量组能升高心脏组织 Src、PI3K、Akt、MAPK1、Hsp90aa1 mRNA 表达 ($P<0.05$, $P<0.01$), Src、Hsp90aa1 蛋白表达; 降低 TP53 mRNA 及蛋白表达 ($P<0.01$)。结论 复方芪地化瘀汤中天师酸、亚油酸、锦葵酸、甘草素和木兰花碱 5 种关键活性成分可能通过调控 Src/PI3K/Akt 信号通路改善 DCM 小鼠的心肌纤维化。

关键词: 复方芪地化瘀汤; 糖尿病心肌病; 心肌纤维化; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS); 网络药理学; Src/PI3K/Akt 信号通路

中图分类号: R285.5; R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)11-3818-11

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.11.044

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 是以血糖升高为特点的代谢性疾病, 发病率与死亡率逐年上升, 预计 2045 年将达到 7.84 亿^[1-2]。DM 可引发心血管、肾脏、神经和视网膜疾病等并发症^[3-5]。糖尿病心肌病 (diabetic cardiomyopathy, DCM) 主要表现为心肌结构及心室功能异常^[6]。目前的治疗以控糖为主, 但不足以降低致死率, 因此防治 DCM 成为全球医学界的一大挑战^[7]。

中医在治疗慢性病方面有独特优势, DCM 归属于“消渴”并发“胸痹”“心痛”等范畴^[8]。病机为气阴两虚、痰瘀阻络^[9]。复方芪地化瘀汤为上海中医药大学深圳医院研制治疗 DM 及其并发症的院内制剂 (广东省药监局院内

制剂备案, 粤药制备字 Z20240043000), 具有“益气养阴、化瘀通络”之功效, 适用于气阴亏虚及痰瘀阻络证。该方由黄芪、生地黄等 12 味药组成, 随症加减。方中生地善清热养阴, 生津润燥; 黄芪升阳益气, 助脾气上升, 复其散精达肺之职, 两者共用为君。臣以黄精、山药滋肾润肺, 补脾益气; 淫羊藿辛甘温补肾阳; 太子参益阳气以助其气化。佐以苍术健脾燥湿; 复取黄连苦降之效, 顺脾胃升降之生理特性; 鬼箭羽、丹参活血散瘀。复方芪地化瘀汤在 DCM 治疗上显示出良好的效果, 但其有效成分及作用机制仍待进一步研究。

本研究运用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 解析复方芪地化瘀汤

收稿日期: 2025-01-27

基金项目: 江西省 2023 年度研究生创新专项资金项目 (YC2023-B227); 广东省名中医传承工作室建设项目 (粤中医办函 [2020] 1 号); 深圳市“医疗卫生三名工程”项目 (SZZYSM202201007); 2023 年罗湖区软科学研究计划项目 (LX202302102)

作者简介: 艳梅 (1997—), 女 (蒙古族), 博士生, 从事中医学研究。E-mail: Yanmei1997777@163.com

*通信作者: 吴红彦 (1963—), 男, 教授, 博士生导师, 从事中医内科学研究。E-mail: wu.hy@163.com

的化学成分，并结合网络药理学与动物实验，探究其治疗DCM的有效成分、作用靶点及机制，旨在为临床应用及后续研究提供依据。

1 材料

1.1 实验动物 60只SPF级健康雄性C57BL/6小鼠，6~8周龄，体质量(20 ± 1.5)g，购自珠海百试通生物科技有限公司[实验动物生产许可证号SCXK(粤)2020-0051]，饲养于深圳市人民医院SPF级实验动物中心，室温20~26℃，相对湿度40%~70%，12h/12h昼夜循环(光照时间为7:00~19:00)，自由进食水，定期更换垫料、饲料及饮用水，适应性饲养1周。实验操作遵循实验动物管理与保护准则，经深圳市人民医院实验动物管理与使用委员会审核批准(批准号AUP-230725-HH-572-01)。

1.2 药物 复方芪地化瘀汤由黄芪、生地黄、酒黄精、山药、淫羊藿、太子参、苍术、黄连片、鬼箭羽、丹参等12味药组成，饮片均购自上海中医药大学深圳医院中药房，符合2020年版《中国药典》规定标准。达格列净片(国药准字H20234463，10mg/片)购自阿斯利康药业(中国)有限公司。

1.3 试剂 链脲菌素(STZ)、戊巴比妥钠(美国Sigma-Aldrich公司，货号S0130、69020100)；TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、Ox-LDL、CRP、MCP-1酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(武汉华美生物工程有限公司，货号CSB-E04741m、CSB-E04639m、CSB-E08054m、CSB-E07933m、CSB-E07923m、CSB-E07430m)；苏木素、伊红、RIPA裂解液、蛋白酶抑制剂混合液(100×PIC)、BCA蛋白定量试剂盒、ECL Plus超敏发光液、Masson染色试剂盒、羊抗小鼠IgG(H+L)二抗、羊抗兔IgG(H+L)二抗(长沙艾碧维生物科技有限公司，货号AWI0001a、AWI0029a、AWB0136、AWH0645、AWB0104、AWB0005、AWI0253a、AWS0001、AWS0002)；mRNA逆转录试剂盒、miRNA逆转录试剂盒、UltraSYBR Mixture、DM2000 Plus DNA Marker(北京康为世纪生物科技有限公司，货号CW2569、CW2141、CW2601、CW0632)；TRIzol试剂(美国Thermo Fisher Scientific公司，货号15596026)；Akt、p-Akt、PI3K、MAPK1、GAPDH抗体(美国Proteintech公司，货号60203-2-Ig、66444-1-Ig、20584-1-AP、51068-1-AP、10494-1-AP)；p-PI3K抗体(北京博奥森生物技术有限公司，货号bs-6417R)；Src、Hsp90aa1、TP53抗体(英国Abcam公司，货号ab109381、ab303516、ab26)。

1.4 仪器 SCIEX Exion LC联合X500B Q-TOF mass spectrometer液质联用仪(上海爱博才思分析仪器贸易有限公司)；AUW220D型电子天平(日本岛津公司)；vevoR2100超声波检查仪(加拿大VisualSonics公司)；显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司)；荧光定量RCP仪、荧光PCR板(美国Thermo Fisher Scientific公司)；化学发光成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 UPLC-Q-TOF-MS/MS技术分析复方芪地化瘀汤化学成分

2.1.1 药物制备 将“1.2”项下黄芪、生地黄等12味药加入8倍纯水中浸泡30min，武火煮沸后，文火再煎煮40min。随后药渣中加6倍纯水，继续煮沸40min，再次滤出药液，合并2次药液，加热浓缩至生药量2.0g/mL，4℃保存备用。

2.1.2 色谱条件 ACQUITY UPLCBEH C₁₈色谱柱(150mm×4.6mm, 1.7μm)；流动相0.1%甲酸(A)-乙腈(B)，梯度洗脱(0~10min, 10%~30% B；10~20min, 30%~40% B；20~25min, 40%~50% B；25~35min, 50%~45% B)；体积流量0.8mL/min；柱温25℃；进样量3μL。

2.1.3 质谱条件 电喷雾离子源(ESI)，正、负离子扫描，质量重心模式(centroid mode)；扫描范围m/z 100~1500；雾化器(N₂)体积流量50L/h；脱溶气体(N₂)体积流量600L/h；脱溶剂气温度300℃；源温度120℃；毛细管电压3.0kV；试样锥电压30V；萃取锥电压40V。

2.1.4 成分检测 取“2.1.1”项下复方芪地化瘀汤供试品溶液，在“2.1.2”“2.1.3”项条件下进样检测，采用AB Library View1.3.1软件对供试品溶液数据进行分析，借助PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)、Chemspider数据库(<https://www.chemspider.com>)、天然产物数据库(GNPS, <http://gnps.ucsd.edu>)并查阅相关文献，设置质量偏差绝对值10ppm以内，初步选出匹配度高的化合物。利用AB SCIEX OS Q 1.6软件对数据库匹配所得的化合物进行峰提取定性分析，结合相关文献及PubChem数据库提供的碎片离子信息及裂解规律进行鉴定分析，并通过比对制剂与各单味药材中总离子流图下各峰的保留时间、二级碎片离子信息，将化合物的来源进行药材归属。

2.2 网络药理学预测复方芪地化瘀汤治疗DCM的相关机制

2.2.1 复方芪地化瘀汤治疗DCM的潜在靶点预测 借助SwissTargetPrediction数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch>)对UPLC-Q-TOF-MS/MS分析的化学成分进行靶点预测。采用OMIM(<https://www.omim.org>)、GeneCards(<https://www.genecards.org>)数据库，以“diabetic cardiomyopathy”为关键词，筛选疾病靶点。将得到的药物成分靶点和疾病靶点名称通过Uniport数据库(<https://www.uniprot.org>)使其标准化为基因名。

2.2.2 共同靶点的筛选及蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络分析构建 通过Draw Venn Diagram工具(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)分析复方芪地化瘀汤与DCM的靶点交集，并筛选对应成分。随后，将交集靶点导入STRING数据库(<https://www.string-db.org/>)，设定置信度>0.9，剔除游离靶点，构建PPI网络。

2.2.3 关键靶点及核心成分筛选 利用 Cytoscape 3.10.3 软件导入互作信息, 构建 PPI 网络并进行拓扑学分析。以连接度 (Degree) 2 倍中位数筛选关键节点 (Hubs node), 并计算连接度 (Degree)、介度 (Betweenness) 和紧密度 (Closeness), 选取三者均高于中位数的节点作为关键靶点。

2.2.4 基因本体 (GO) 分析和京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 分析 利用 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/summary.jsp>) 对 DCM 与复方芪地化瘀汤的交集靶点进行 GO 及 KEGG 分析, 通过微生信在线数据分析平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 实现可视化。

2.2.5 “交集成分-交集靶点-通路”相互作用网络构建 利用 Cytoscape 3.10.3 软件构建“交集成分-交集靶点-通路”网络, 筛选出前 20 条 KEGG 富集通路并进行拓扑分析, 根据 Degree 的大小, 最终确定 5 种核心成分。

2.3 分子对接 从 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org>) 和 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) 下载核心靶点的蛋白晶体结构及核心成分的 3D 结构, 导入 CB-Dock2 (https://cadd.labshare.cn/cb-do_ck2/php/index.php) 进行分析, 并利用 PyMOL 2.4.0 软件进行可视化。

2.4 动物实验验证

2.4.1 造模、分组与给药 随机选取 10 只小鼠作为空白组, 其余 50 只作为造模组。空白组饲喂普通饲料, 造模组以高脂饲料喂养。4 周后, 造模组禁食不禁水约 12 h, 腹腔注射 100 mg/kg STZ (100 g/L 溶于柠檬酸缓冲液), 空白组注射等体积柠檬酸缓冲液^[10]。以连续 2 次随机血糖值>16.7 mmol/L 作为 DM 小鼠造模成功的标准。高脂饲料继续喂养 12 周, 建立 DCM 模型。DCM 模型小鼠随机分为模型组、达格列净组 (1.43 mg/kg) 和复方芪地化瘀汤低、中、高剂量组 (7.785、15.57、31.14 g/kg), 给药剂量依据 70 kg 成人临床用量折算, 中剂量组为临床等效剂量。各给药组按相应剂量灌胃给药, 空白组和模型组灌胃等体积生理盐水, 每天 1 次, 持续 8 周。

2.4.2 标本采集与保存 末次给药后第 2 天, 小鼠腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 (60 mg/kg) 进行麻醉, 摘眼球取血, 取心脏, 用 4 °C 生理盐水清洗。部分心脏组织固定于多聚甲醛中, 剩余部分用液氮速冻后存于 -80 °C 冰箱中用于分子生物学检测。

2.4.3 一般情况观察及血糖、体质量监测 动态观察各组小鼠活动状态、毛发情况及体质量、血糖水平。

2.4.4 心功能检测 小鼠腹腔注射戊巴比妥钠进行麻醉后仰卧位固定, 脱毛处理后, 使用超高频超声检查仪进行心脏形态和功能检测。主要检测指标有左心室舒张末期内径 (left ventricular enddiastolic diameter, LVEDD)、左心室收缩末期内径 (left ventricular end-systolic diameter, LVEDS)、左心室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF) 和左心室短轴缩短分数 (left ventricular shortener fraction, LVFS)。

2.4.5 ELISA 法检测血清脂质水平及炎症因子水平 全血标本于室温放置 2 h, 4 °C、1 000×g 离心 15 min, 取上清液, 按 ELISA 说明书操作, 于酶标仪 450 nm 波长处检测吸光度 (A), 依据标准曲线计算血清甘油三酯 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、氧化修饰低密度脂蛋白 (oxidized low-density lipoprotein, Ox-LDL)、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、白细胞介素 (interleukin, IL)-1β、IL-6、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor alpha, TNF-α)、C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 水平。

2.4.6 HE 染色观察心脏组织病理形态 取于 4% 多聚甲醛固定的心脏组织, 脱水, 石蜡包埋, 切片 (4 μm), 苏木素-伊红 (HE) 染色, 梯度脱水后二甲苯通透, 中性树脂胶封片, 于显微镜下观察心肌形态。

2.4.7 Masson 染色观察心脏组织纤维化程度 取心脏组织切片, 采用 Weigert 铁苏木素染色, 经酸性乙醇分化、水洗、丽春红品红染色、磷钼酸浸染、苯胺蓝染色、乙醇脱水、二甲苯透明及中性树胶封片, 于显微镜下观察心脏组织纤维化程度。

2.4.8 Western blot 法检测小鼠心脏组织相关蛋白表达 取于 -80 °C 保存的心脏组织 25 mg, 用 PBS 清洗, 加入 300 μL RIPA 裂解液匀浆, 冰上静置 10 min, 4 °C、12 000 r/min 离心 15 min, 取上清。采用 BCA 法测定蛋白浓度, 调整浓度一致后, 蛋白样本 100 °C 水浴加热 5 min 使变性。经制胶、上样、电泳、转膜后, 5% 脱脂奶粉溶液封闭 2 h, 加入 Akt、MAPK1、Src、p-Akt、PI3K、p-PI3K、Hsp90aa1、TP53、GAPDH 抗体, 4 °C 孵育过夜。次日洗膜后加入二抗, 室温孵育 90 min, 洗膜后滴加 ECL 发光液曝光, 通过 Image J 软件分析条带灰度值。

2.4.9 RT-qPCR 法检测小鼠心脏相关基因 mRNA 表达 精确称取于 -80 °C 保存的心脏组织 0.02 g, TRIzol 法提取总 RNA, 微量分光光度计定量, 使用 Superscript III 试剂盒进行逆转录, 然后进行 PCR 扩增, 反应程序为 95 °C 预变性 10 min; 95 °C 变性 15 s, 60 °C 退火延伸 30 s, 循环 40 次。以 GAPDH 为内参, 采用 2^{-ΔΔCT} 法计算各目的基因 mRNA 相对表达量。引物由北京擎科生物科技股份有限公司合成, 序列见表 1。

2.5 统计学分析 通过 SPSS 27.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 满足正态性和方差齐性时, 组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD 或 Dunnett's T3 检验。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 复方芪地化瘀汤成分鉴定 共鉴定出 159 种成分, 包括苯丙素、黄酮、生物碱、皂苷、环烯醚萜等。总离子流见图 1。

表1 引物序列

基因	引物序列	长度/bp
P53	正向 5'-TCCTCCCCAGCATCTTATCCG-3'	164
	反向 5'-CCATGCAGGAGCTATTACACA-3'	
Src	正向 5'-ACTGCCTCTGTATCCGACT-3'	90
	反向 5'-TGTAGAACCGCCGCTGTCCA-3'	
PI3K	正向 5'-GTCCTCCTGGAGAACCTGG-3'	152
	反向 5'-TGAGGCGTTCTGGATTGC-3'	
Akt1	正向 5'-CGCCTGCCCTCTACAACCAG-3'	175
	反向 5'-GCATGATCTCCTTGGCATCCTC-3'	
Hsp90aa1	正向 5'-TGGAACGTCCTCGAAAGCAT-3'	96
	反向 5'-ATCCCTTCAGCTGTTGCACAC-3'	
MAPK1	正向 5'-GGTTGTTCCCAAATGCTGACT-3'	84
	反向 5'-CAACTTCAACTCTCTTGAGGG-3'	
GAPDH	正向 5'-GCGACTTCAACAGCAACTCCC-3'	122
	反向 5'-CACCTGTTGCTGTAGCCGTA-3'	

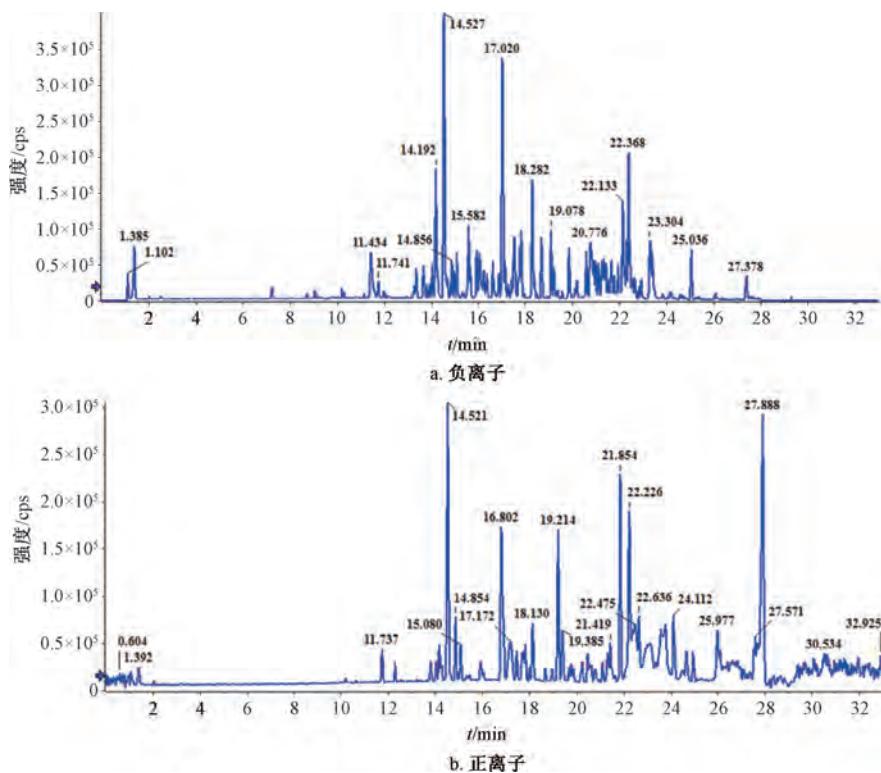


图1 复方芪地化瘀汤正、负离子总离子流图

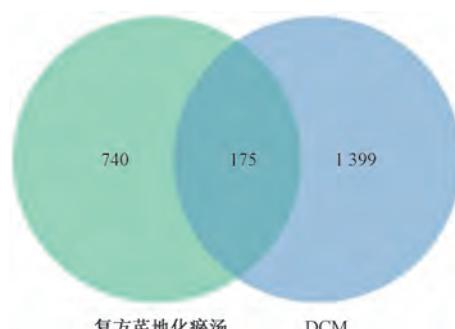


图2 复方芪地化瘀汤活性成分与DCM交集靶点

胞质膜、核、细胞质等；分子功能主要富集于蛋白质结合、

3.2 网络药理学分析

3.2.1 复方芪地化瘀汤治疗DCM的潜在靶点收集 复方芪地化瘀汤鉴定得到的成分经数据库筛选得靶点915个，DCM相关靶点1574个。微生信（<https://www.bioinformatics.com.cn/>）在线作图网站绘制韦恩图分析显示，该方治疗DCM靶点175个，见图2。

3.2.2 PPI网络构建及关键靶点、核心成分筛选 拓扑分析筛选出20个关键靶点，如TP53、Src、Akt1、Hsp90aa1、MAPK、PI3KCA、EGFR等，在蛋白互作网络中频率较高，可能是复方芪地化瘀汤治疗DCM的潜在靶点，见图3。

3.2.3 复方芪地化瘀汤治疗DCM的GO功能注释和KEGG通路富集分析 复方芪地化瘀汤治疗DCM的GO富集分析显示，生物过程中主要富集到凋亡过程负调控、信号转导、RNA聚合酶II启动子转录的正调控等；细胞组分富集到细

相同蛋白质结合和ATP结合等，见图4A。KEGG通路富集分析表明，175个交集靶点主要富集于癌症、代谢、PI3K/Akt、蛋白聚糖、MAPK等信号通路，见图4B。

3.2.4 “交集成分-交集靶点-通路”相互作用网络构建拓扑分析筛选出5种核心成分为天师酸、亚油酸、锦葵酸、甘草素和木兰花碱。“交集成分-交集靶点-通路”相互作用网络结果显示，复方芪地化瘀汤的作用机制可能作用于整个生物网络系统，通过癌症通路、代谢途径、PI3K/Akt、蛋白聚糖、MAPK等关键通路，调节细胞生长繁殖和凋亡、抗氧化和抗炎，达到治疗DCM的效果，见图5。

3.3 分子对接 将拓扑分析5个核心靶点TP53、Src、Akt1、Hsp90aa1、MAPK1与“交集成分-交集靶点-通路”

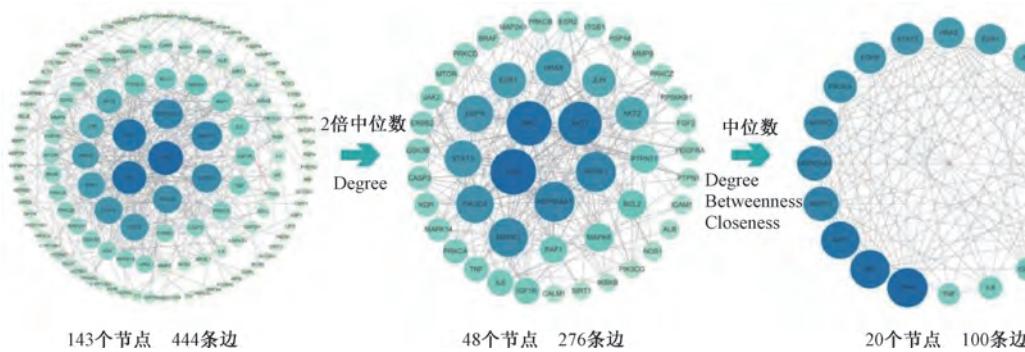


图3 复方芪地化瘀汤治疗 DCM 的核心靶点筛选

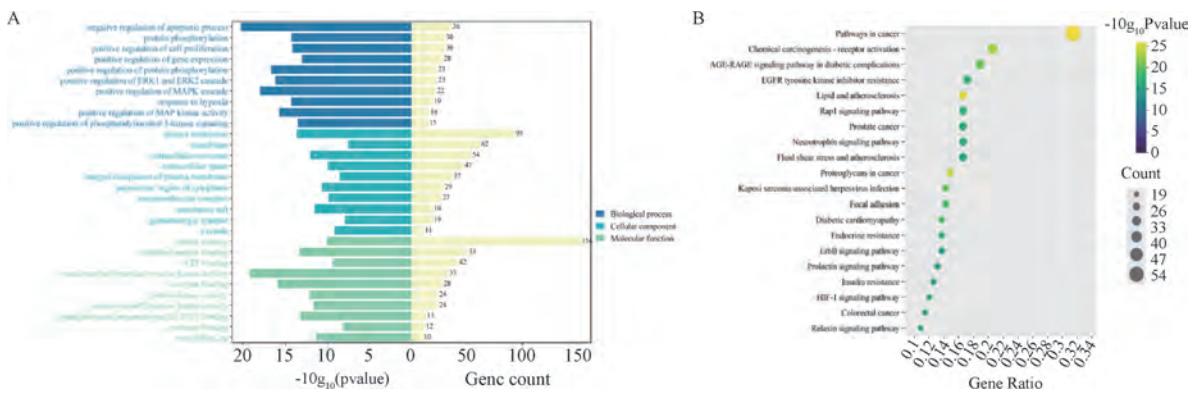


图4 复方芪地化瘀汤治疗 DCM 靶点的 GO 和 KEGG 富集分析

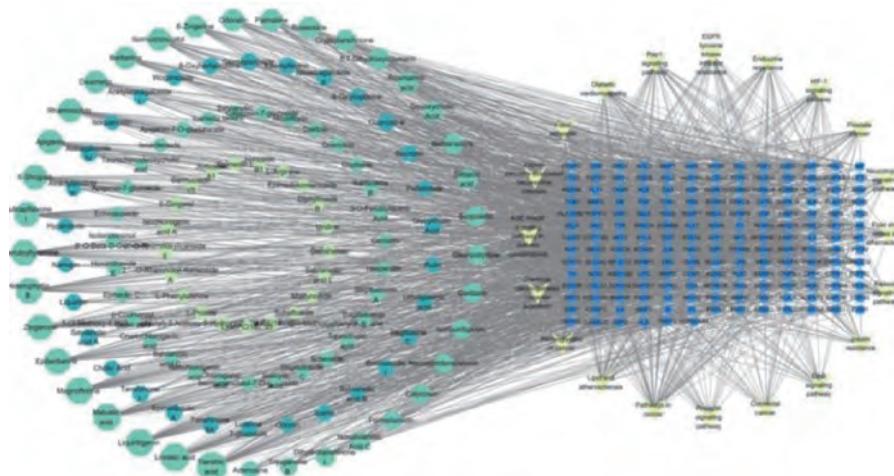


图5 “活性成分-交集靶点-通路” 网络

网络中 Degree 排名前 5 的核心成分天师酸、亚油酸、锦葵酸、甘草素和木兰花碱进行 25 次对接。当结合能 $< 0 \text{ kcal/mol}$ 时, 表示受体与配体可自发结合; 结合能 $< -5 \text{ kcal/mol}$ 说明结合优异; $< -7 \text{ kcal/mol}$ 则为强结合。结合能越低, 活性越强, 结合活性最强的 5 种成分靶点结果用 PyMOL 2.4 软件可视化, 结果见表 2、图 6。

3.4 动物实验验证

3.4.1 小鼠一般情况 空白组小鼠精神状态良好, 毛发光泽, 动作敏捷, 进食水正常, 体质量持续稳定增加, 大小便正常。模型组小鼠呈多饮多食多尿, 体质量下降, 精神

表2 分子对接结果

化合物	结合能/(kcal·mol ⁻¹)				
	TP53	Src	Akt1	Hsp90aa1	MAPK1
天师酸	-5.1	-6.4	-4.9	-5.9	-5.7
亚油酸	-4.4	-5.9	-4.4	-5.7	-5.1
锦葵酸	-4.8	-6.0	-4.2	-6.1	-5.1
甘草素	-7.3	-8.0	-6.2	-7.5	-6.9
木兰花碱	-5.9	-7.6	-6.1	-7.7	-7.1

状态差, 毛发枯燥。给药 8 周后, 与模型组比较, 复方芪地化瘀汤各剂量组和达格列净组小鼠以上症状均有一定程

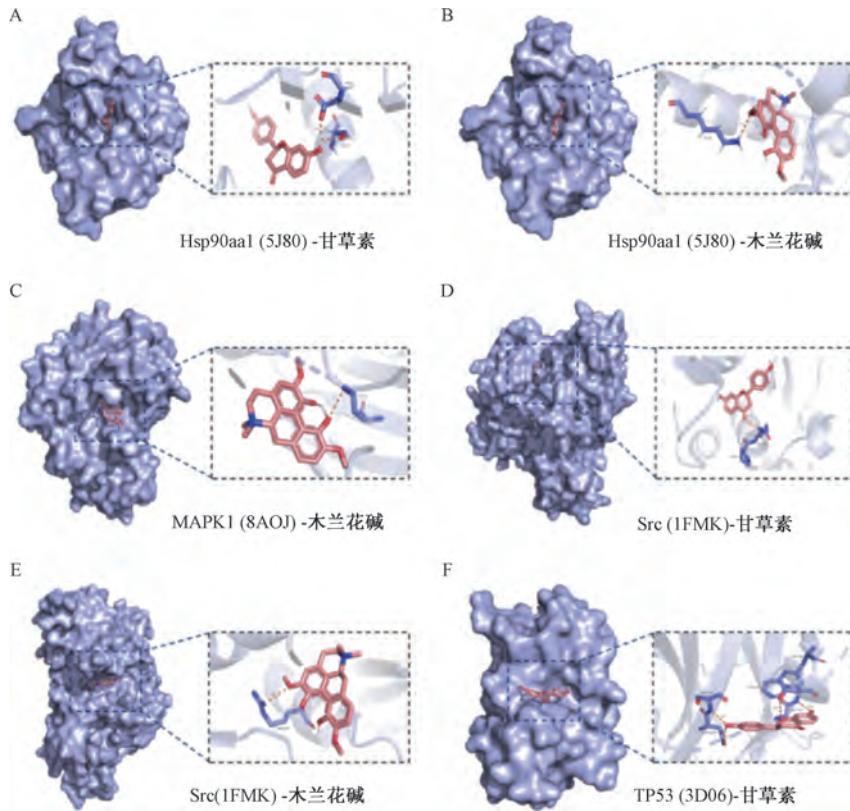


图6 复方芪地化瘀汤治疗DCM的关键成分与核心靶点分子对接

度好转，尤其是高剂量组毛发光泽及精神状态改善显著，对刺激反抗剧烈。实验过程模型组及复方芪地化瘀汤低剂量组各死亡3只，达格列净组死亡1只（可能为疾病进程原因或注射STZ导致）。

3.4.2 复方芪地化瘀汤对DCM小鼠体质量和血糖变化的影响

各组小鼠初始体质量无显著差异（ $P>0.05$ ）。在实验

期间，空白组小鼠体质量随时间增加而增长。第16周（给药0周），与空白组比较，模型组和各给药组小鼠体质量增加（ $P<0.05$, $P<0.01$ ）；与模型组比较，复方芪地化瘀汤各剂量组和达格列净组小鼠体质量无明显变化（ $P>0.05$ ）。第24周（给药8周），与模型组比较，复方芪地化瘀汤各剂量组和达格列净组小鼠体质量均降低（ $P<0.01$ ），见表3。

表3 复方芪地化瘀汤对小鼠体质量的影响（ $\bar{x}\pm s$, n=6）

组别	体质量/g			
	0周	16周(给药0周)	20周(给药4周)	24周(给药8周)
空白组	23.82±0.63	29.53±1.68	31.55±1.95	33.50±2.18
模型组	24.26±0.84	32.42±1.83*	29.30±1.71	27.17±1.64**
复方芪地化瘀汤低剂量组	24.19±0.94	31.92±1.20*	32.97±1.40##	34.12±1.18##
复方芪地化瘀汤中剂量组	24.46±0.94	31.77±0.99*	34.10±1.14##	36.27±1.00##
复方芪地化瘀汤高剂量组	24.44±1.05	32.62±1.80**	35.50±1.88##	37.85±1.75##
达格列净组	23.72±0.89	32.95±1.16**	31.42±1.58	30.47±0.89##

注：与空白组比较，* $P<0.05$, ** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

各组小鼠初始血糖无显著差异（ $P>0.05$ ）。第16周（给药0周），与空白组比较，模型组和各给药组小鼠随机血糖升高（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，复方芪地化瘀汤各剂量组和达格列净组小鼠随机血糖无显著差异（ $P>0.05$ ）。第24周（给药8周），与模型组比较，复方芪地化瘀汤各剂量组和达格列净组小鼠随机血糖降低（ $P<0.05$, $P<0.01$ ），见表4。

3.4.3 复方芪地化瘀汤对DCM小鼠心功能的影响

与空白组比较，模型组小鼠LVEDD、LVEDS升高（ $P<0.01$ ），LVEF、LVFS降低（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，复方芪地化

瘀汤各剂量组和达格列净组小鼠LVEDS降低（ $P<0.01$ ），LVEF、LVFS升高（ $P<0.05$, $P<0.01$ ），复方芪地化瘀汤中、高剂量组和达格列净组小鼠LVEDD降低（ $P<0.05$, $P<0.01$ ），见表5、图7。

3.4.4 复方芪地化瘀汤对DCM小鼠血清脂质水平的影响

与空白组比较，模型组小鼠血清TG、TC、LDL-C水平升高（ $P<0.01$ ），HDL-C水平降低（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，复方芪地化瘀汤各剂量组和达格列净组小鼠血清TG、TC、LDL-C水平降低（ $P<0.01$ ），HDL-C水平升高（ $P<0.01$ ），见表6。

表4 复方芪地化瘀汤对小鼠随机血糖的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=6)

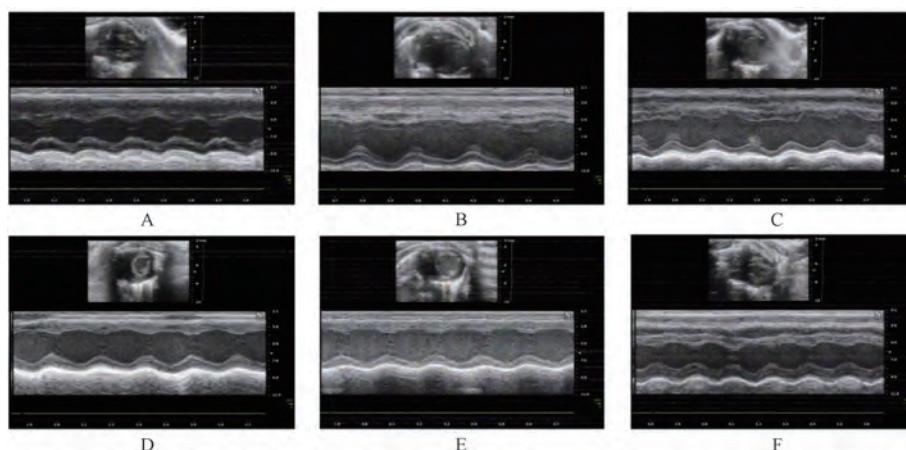
组别	血糖/(mmol·L ⁻¹)			
	0周	16周(给药0周)	20周(给药4周)	24周(给药8周)
空白组	6.18±1.04	5.75±1.28	5.88±1.00	6.17±0.90
模型组	5.73±1.43	18.28±1.24 **	17.85±2.62 **	19.13±2.83 **
复方芪地化瘀汤低剂量组	6.58±0.75	17.75±2.45 **	15.72±2.37	14.28±2.30 #
复方芪地化瘀汤中剂量组	5.92±1.09	16.52±1.39 **	14.93±2.21	13.43±1.96 ##
复方芪地化瘀汤高剂量组	6.35±0.58	16.73±1.21 **	14.58±1.10	12.47±1.30 ##
达格列净组	6.43±0.99	17.47±2.54 **	14.30±2.54	11.18±1.17 ##

注: 与空白组比较, ** P<0.01; 与模型组比较, #P<0.05, ##P<0.01。

表5 各组小鼠心功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	LVEDD/mm	LVEDS/mm	LVEF/%	LVFS/%
空白组	3.19±0.17	2.03±0.16	71.86±1.15	36.40±1.86
模型组	4.19±0.15 **	3.37±0.23 **	45.76±1.01 **	19.52±3.34 **
复方芪地化瘀汤低剂量组	3.96±0.19	2.96±0.14 ##	50.56±0.99 #	25.37±1.41 ##
复方芪地化瘀汤中剂量组	3.80±0.22 #	2.70±0.09 ##	56.08±3.63 ##	28.84±2.08 ##
复方芪地化瘀汤高剂量组	3.71±0.15 ##	2.51±0.16 ##	61.30±1.08 ##	32.45±1.90 ##
达格列净组	3.59±0.09 ##	2.35±0.09 ##	65.30±2.50 ##	34.53±1.02 ##

注: 与空白组比较, ** P<0.01; 与模型组比较, #P<0.05, ##P<0.01。



注: A 为空白组, B 为模型组, C~E 分别为复方芪地化瘀汤低、中、高剂量组, F 为达格列净组。

图7 各组小鼠心脏超声图

表6 各组小鼠血清 TG、TC、LDL-C、HDL-C 水平比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	TG	TC	LDL-C	HDL-C
空白组	0.67±0.11	1.97±0.18	1.15±0.14	2.32±0.12
模型组	2.17±0.06 **	6.79±0.35 **	3.39±0.13 **	0.80±0.08 **
复方芪地化瘀汤低剂量组	1.77±0.11 ##	5.28±0.16 ##	2.75±0.19 ##	1.34±0.14 ##
复方芪地化瘀汤中剂量组	1.44±0.06 ##	4.84±0.14 ##	2.06±0.12 ##	1.65±0.08 ##
复方芪地化瘀汤高剂量组	1.15±0.12 ##	3.21±0.40 ##	1.81±0.10 ##	1.95±0.12 ##
达格列净组	0.98±0.08 ##	3.00±0.21 ##	1.54±0.15 ##	2.05±0.12 ##

注: 与空白组比较, ** P<0.01; 与模型组比较, ##P<0.01。

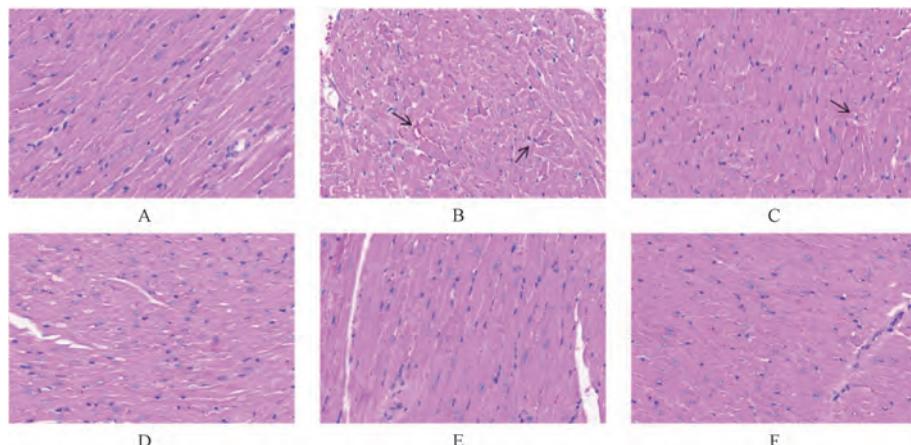
3.4.5 复方芪地化瘀汤对 DCM 小鼠血清 Ox-LDL、MCP-1、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、CRP 水平的影响 与空白组比较, 模型组小鼠血清 Ox-LDL、MCP-1、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、CRP 水平升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 复方芪地化瘀汤各剂量组和达格列净组小鼠血清 Ox-LDL、MCP-1、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、CRP 水平降低 ($P<0.01$), 见表 7。3.4.6 复方芪地化瘀汤对 DCM 小鼠心肌组织病理形态的影响 HE

染色显示, 空白组心肌纤维排列整齐, 胞浆丰富, 核居中; 模型组心肌纤维紊乱, 部分溶解断裂, 胞核位置不一, 细胞界限模糊; 与模型组比较, 复方芪地化瘀汤中、高剂量组和达格列净组心肌纤维排列有序, 结构完整, 边界清晰, 复方芪地化瘀汤低剂量组心肌组织损伤有所改善, 但效果不及其他给药组, 见图 8。

表7 各组小鼠血清 Ox-LDL、MCP-1、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、CRP 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, n=6)

组别	Ox-LDL/($\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$)	MCP-1/($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	IL-1 β /($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
空白组	1.06 \pm 0.03	129.22 \pm 5.84	29.68 \pm 6.90
模型组	3.00 \pm 0.10 **	206.99 \pm 2.90 **	180.95 \pm 10.38 **
复方芪地化瘀汤低剂量组	2.24 \pm 0.06 ##	185.98 \pm 1.72 ##	150.46 \pm 13.13 ##
复方芪地化瘀汤中剂量组	1.76 \pm 0.06 ##	163.00 \pm 6.32 ##	115.19 \pm 8.58 ##
复方芪地化瘀汤高剂量组	1.52 \pm 0.09 ##	148.36 \pm 5.71 ##	84.07 \pm 4.71 ##
达格列净组	1.36 \pm 0.07 ##	148.54 \pm 6.21 ##	72.20 \pm 11.09 ##
组别	IL-6/($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	TNF- α /($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	CRP/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
空白组	37.40 \pm 3.62	53.83 \pm 2.66	2.31 \pm 0.16
模型组	86.90 \pm 2.66 **	133.81 \pm 4.24 **	6.34 \pm 0.21 **
复方芪地化瘀汤低剂量组	77.28 \pm 1.56 ##	111.48 \pm 3.04 ##	5.48 \pm 0.27 ##
复方芪地化瘀汤中剂量组	70.24 \pm 1.98 ##	93.40 \pm 3.54 ##	4.04 \pm 0.28 ##
复方芪地化瘀汤高剂量组	61.41 \pm 3.59 ##	83.86 \pm 1.82 ##	3.20 \pm 0.17 ##
达格列净组	54.74 \pm 3.41 ##	79.97 \pm 3.96 ##	3.07 \pm 0.18 ##

注: 与空白组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, ## $P<0.01$ 。

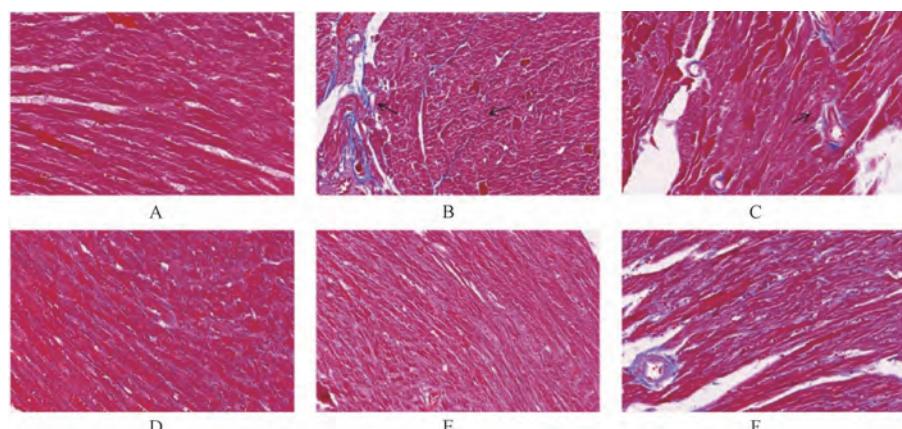


注: A 为空白组, B 为模型组, C~E 分别为复方芪地化瘀汤低、中、高剂量组, F 为达格列净组。

图8 各组小鼠心肌组织HE染色 ($\times 400$)

3.4.7 复方芪地化瘀汤对 DCM 小鼠心肌组织纤维化的影响 Masson 染色显示, 空白组心肌细胞间少量胶原纤维, 形态结构正常; 模型组见大片胶原纤维区域, 心肌纤维断裂肿胀; 复方芪地化瘀汤低剂量组和达格列净组胶原纤维

区域缩小, 心肌细胞排列相对整齐; 复方芪地化瘀汤中、高剂量组胶原纤维区域显著缩小, 心肌细胞排列较整齐, 提示复方芪地化瘀汤可改善 DCM 小鼠心肌纤维化。



注: A 为空白组, B 为模型组, C~E 分别为复方芪地化瘀汤低、中、高剂量组, F 为达格列净组。

图9 各组小鼠心肌组织 Masson 染色 ($\times 400$)

3.4.8 复方芪地化瘀汤对 DCM 小鼠心肌组织 TP53、Src、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、Hsp90aa1、MAPK1 蛋白表达

的影响。如表8、图10所示,与空白组比较,模型组小鼠心肌组织Src、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、Hsp90aa1、MAPK1蛋白表达降低($P<0.01$),TP53蛋白表达升高($P<0.01$);与模型组比较,复方芪地化瘀汤各剂量组和达格列净组小鼠心肌组织Src、Hsp90aa1蛋白表达升高($P<0.01$),TP53蛋白表达降低($P<0.01$),复方芪地化瘀汤中、高剂量组和达格列净组MAPK1蛋白表达升高($P<0.05$, $P<0.01$),复方芪地化瘀汤高剂量组和达格列净组p-PI3K/PI3K蛋白表达升高($P<0.05$, $P<0.01$)。

3.4.9 复方芪地化瘀汤对 DCM 小鼠心肌组织 TP53、Src、

表8 各组小鼠心肌组织 TP53、Src、p-PI3K、p-Akt、Hsp90aa1、MAPK1 蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

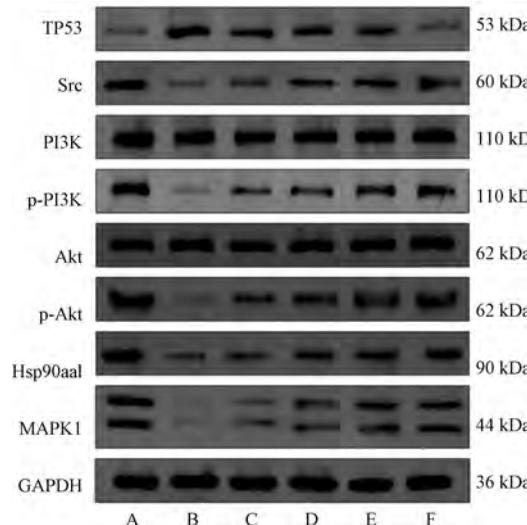
组别	TP53	Src	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	Hsp90aa1	MAPK1
空白组	0.07±0.01	0.57±0.02	0.75±0.19	0.85±0.09	0.62±0.02	0.70±0.23
模型组	0.58±0.02 **	0.08±0.02 **	0.08±0.02 **	0.11±0.08 **	0.10±0.02 **	0.05±0.02 **
复方芪地化瘀汤低剂量组	0.43±0.03 ##	0.16±0.01 ##	0.13±0.04	0.23±0.11	0.17±0.03 ##	0.14±0.03
复方芪地化瘀汤中剂量组	0.33±0.03 ##	0.25±0.02 ##	0.22±0.06	0.33±0.14	0.29±0.02 ##	0.23±0.04 #
复方芪地化瘀汤高剂量组	0.23±0.03 ##	0.35±0.01 ##	0.36±0.07 #	0.36±0.17	0.38±0.01 ##	0.32±0.04 ##
达格列净组	0.16±0.02 ##	0.44±0.03 ##	0.49±0.16 ##	0.54±0.06 ##	0.44±0.01 ##	0.43±0.08 ##

注:与空白组比较, ** $P<0.01$;与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

表9 各组小鼠心肌组织 TP53、Src、PI3K、Akt、Hsp90aa1、MAPK1 mRNA 表达比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	TP53	Src	PI3K	Akt	Hsp90aa1	MAPK1
空白组	1.16±0.16	1.03±0.05	0.96±0.04	0.98±0.08	1.014±0.03	0.95±0.07
模型组	9.45±0.26 **	0.09±0.002 **	0.13±0.02 **	0.12±0.01 **	0.08±0.01 **	0.09±0.02 **
复方芪地化瘀汤低剂量组	6.29±0.38 ##	0.21±0.06 ##	0.37±0.07 ##	0.27±0.02 #	0.19±0.03	0.21±0.03
复方芪地化瘀汤中剂量组	4.48±0.09 ##	0.28±0.04 ##	0.37±0.02 ##	0.31±0.05 ##	0.28±0.05 #	0.33±0.06 ##
复方芪地化瘀汤高剂量组	3.36±0.78 ##	0.44±0.05 ##	0.56±0.07 ##	0.47±0.03 ##	0.45±0.12 ##	0.42±0.02 ##
达格列净组	2.60±0.78 ##	0.67±0.09 ##	0.73±0.11 ##	0.73±0.05 ##	0.60±0.13 ##	0.69±0.11 ##

注:与空白组比较, ** $P<0.01$;与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。



注: A 为空白组, B 为模型组, C~E 分别为复方芪地化瘀汤低、中、高剂量组, F 为达格列净组。

图10 各组小鼠心肌组织 TP53、Src、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、Hsp90aa1、MAPK1 蛋白免疫印迹图

4 讨论

DCM 作为 DM 心血管并发症, 表现为血糖升高及血脂

PI3K、Akt、Hsp90aa1、MAPK1 mRNA 表达的影响。如表9 所示,与空白组比较,模型组小鼠心肌组织、TP53 mRNA 表达升高($P<0.01$),Src、PI3K、Akt、Hsp90aa1、MAPK1 mRNA 表达降低($P<0.01$);与模型组比较,复方芪地化瘀汤各剂量组和达格列净组小鼠心肌组织 TP53 mRNA 表达降低($P<0.01$),Src、PI3K、Akt mRNA 表达升高($P<0.05$, $P<0.01$),复方芪地化瘀汤中、高剂量组和达格列净组 MAPK1 mRNA 表达升高($P<0.05$, $P<0.01$)。

异常,导致心脏肥大与功能障碍^[11]。长期高血糖使低密度脂蛋白更容易发生氧化修饰形成 Ox-LDL,进而促进内皮损伤与炎症,加速斑块形成,影响心脏健康^[12-13]。多种炎症相关标志物 MCP-1、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、CRP 等在 DCM 中被上调,直接损害心肌并加剧炎症^[14-15]。研究提示复方芪地化瘀汤能降低 DCM 小鼠的 Ox-LDL 及多种炎症因子的表达,降低血糖血脂,改善心肌纤维化^[16]。虽然该方在糖尿病及其并发症相关的临床诊疗中应用已久,且疗效良好,但针对其治疗 DCM 的研究仍缺乏。本实验通过化学成分分析、网络药理学与分子对接,以及动物实验证,探讨其改善 DCM 的作用机制,为其未来开发与临床应用提供参考。

本研究鉴定出复方芪地化瘀汤治疗 DCM 的 5 种核心活性成分为天师酸、亚油酸、锦葵酸、甘草素和木兰花碱。研究表明,天师酸、锦葵酸具有抗炎抗氧化活性^[17-20]。亚油酸可抑制炎性因子表达,降低心脏代谢疾病风险^[21]。甘草素可能通过 LKB1/AMPK、PI3K/Akt 信号通路发挥心脏保护及改善脂质代谢作用^[22-23]。木兰花碱通过促进 Akt 磷酸化实现降糖抗炎^[24-25]。以上研究结果表明,复方芪地化瘀汤中含有多种抗炎、抗氧化、心脏保护、降脂的药效物质基础。网络药理学分析显示,复方芪地化瘀汤可能通过

TP53、Src、Akt、Hsp90aa1、MAPK1等核心靶点改善DCM。Src激酶作为关键细胞信号调节因子,是Src激酶家族中最广泛研究的蛋白之一,与多种人类疾病相关^[26]。Src通过激活反向PI3K/Akt信号通路,参与调控细胞的多种生物学活动^[27]。目前,关于Src/PI3K/Akt信号通路的研究主要集中于肿瘤领域^[28-29];而PI3K/Akt信号通路是经典的胰岛素信号传导通路^[30]。研究发现,糖心平胶囊等中药复方和黄芪甲苷等单体可通过激活PI3K/Akt信号通路改善DCM^[31-32]。MAPK1基因的某些位点变异可能影响个体的糖尿病易感性^[33]。Hsp90aa1作为重要的分子伴侣,属于热休克家族,参与多种生物过程^[34-35]。现有研究表明,HSP90A水平与血压参数显著相关,且在高血压患者中异常升高,提示其可能参与心血管病理机制^[36]。p53诱导TIGAR(TP53诱导的糖酵解和细胞凋亡调节因子)的表达,从而降低细胞内果糖2,6-二磷酸的浓度,减少糖酵解并将葡萄糖分解代谢转移到磷酸戊糖途径,TIGAR对糖酵解具有抑制作用,对DCM存在保护作用^[37-38]。

本研究动物实验结果表明,复方芪地化瘀汤可改善DCM小鼠体质量、血糖水平、血脂水平及Ox-LDL、MCP-1、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、CRP等水平,还可以改善心肌纤维化。此外,模型组小鼠p-Akt、p-PI3K和Src蛋白降低,提示Src/PI3K/Akt信号通路可能被抑制;而复方芪地化瘀汤的干预逆转了相关蛋白的表达,表明其改善DCM可能与激活该信号通路有关。复方芪地化瘀汤还可靶向上调Hsp90aa1和MAPK1蛋白表达,下调TP53蛋白表达,表明其在抗炎和增强免疫方面有潜在优势。通过KEGG途径富集分析,发现复方芪地化瘀汤治疗DCM的关键通路主要富集于癌症、PI3K/Akt、MAPK等信号通路,均与细胞生长、凋亡、抗氧化及抗炎密切相关,这表明复方芪地化瘀汤可能通过多途径对DCM提供心脏保护。

综上所述,本研究基于UPLC-Q-TOF-MS技术鉴定了复方芪地化瘀汤的化学成分,结合网络药理学与分子对接分析,阐明其改善DCM的关键成分为天师酸、锦葵酸、亚油酸、甘草素、木兰花碱,潜在作用靶点为TP53、Src、Akt1、Hsp90aa1、MAPK1。动物实验证明,复方芪地化瘀汤可能通过调控Src/PI3K/Akt信号通路改善DCM小鼠的心肌纤维化、糖脂代谢及炎症反应。

参考文献:

- [1] Bai H T, Noh K C, Wang Z H, et al. Regulation of inflammatory microenvironment using a self-healing hydrogel loaded with BM-MSCs for advanced wound healing in rat diabetic foot ulcers [J]. *J Tissue Eng*, 2020, 11: 2041731420947242.
- [2] Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2019, 157: 107843.
- [3] Al-obaid S, Alshahrani R M, Alonazi A S, et al. Liraglutide attenuates diabetic cardiomyopathy via the ILK/PI3K/AKT/PTEN signaling pathway in rats with streptozotocin-induced type 2 diabetes mellitus [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2024, 17(3): 374.
- [4] Li Y, Long W H, Zhang H F, et al. Irbesartan ameliorates diabetic nephropathy by activating the Nrf2/Keap1 pathway and suppressing NLRP3 inflammasomes *in vivo* and *in vitro* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 131: 111844.
- [5] Wang Q, Ye Y F, Yang L H, et al. Painful diabetic neuropathy: the role of ion channels [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 173: 116417.
- [6] 周嘉琪,林介夫,陈嘉佳,等.靶向CD36调控脂质代谢:糖尿病心肌病防治新靶点[J].中国动脉硬化杂志,2023,31(12): 1013-1019.
- [7] Liao J, Fu L Y, Tai S, et al. Essential oil from *Fructus Alpiniae zerumbet* ameliorates vascular endothelial cell senescence in diabetes by regulating PPAR- γ signalling: A 4D label-free quantitative proteomics and network pharmacology study [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 321: 117550.
- [8] 薛玲,王文萍,石岩,等.经方合方“白虎加人参汤合栝楼牡蛎散”辨治糖尿病心肌病机理初探[J/OL].辽宁中医杂志:1-10(2024-11-18)[2025-01-27].<https://link.cnki.net/urlid/21.1128.R.20241118.1310.005>.
- [9] 姚鹏宇,梁粟,李伟,等.糖尿病心肌病病机理论摘要[J].辽宁中医药大学学报,2024,26(10): 212-216.
- [10] 王金鑫,段鹏,朱庆磊.一种建立小鼠2型糖尿病心肌病模型的方法[J].中国病理生理杂志,2018,34(4):764-768.
- [10] 陈佳俊,蒋晓风,申亚亚,等.基于网络药理学、分子对接及实验研究探讨活血解毒降糖方治疗糖尿病心肌病的作用机制[J].中西医结合心脑血管病杂志,2024,22(17):3078-3089.
- [12] Vrieling F, Wilson L, Rensen P C, et al. Oxidized low-density lipoprotein (Ox-LDL) supports *Mycobacterium tuberculosis* survival in macrophages by inducing lysosomal dysfunction [J]. *PLoS Pathog*, 2019, 15(4): e1007724.
- [13] 钱秋海,倪青,杨文军.糖尿病心肌病病证结合诊疗指南(2021-12-31)[J].世界中医药,2022,17(12):1641-1653.
- [14] Ulven S M, Holven K B, Gil Á, et al. Milk and dairy product consumption and inflammatory biomarkers: an updated systematic review of randomized clinical trials [J]. *Adv Nutr*, 2019, 10(suppl_2): S239-S250.
- [15] Wu B, Huang X Y, Li L, et al. Attenuation of diabetic cardiomyopathy by relying on kirenol to suppress inflammation in a diabetic rat model [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(11): 7651-7663.
- [16] Zhang S, Yan M, Liang P, et al. Fu-Fang-Qi-Di-Hua-Yu-Tang improves diabetic macrovascular disease via PI3K/AKT pathway regulation [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2025, 18: 2247-2265.
- [17] 郭浩楠,李花花,姜苗苗,等.生半夏化学成分的研究

- 究[J]. 中国药学杂志, 2024, 59(3): 235-240.
- [18] Zhai X, Wang K M, Gao X Y, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Menispermum Rhizoma*[J]. *Molecules*, 2023, 28(6): 2701.
- [19] 王团委, 王振中, 王秋红, 等. 华南忍冬花蕾中1个新的单萜类化合物[J]. 中草药, 2022, 53(23): 7317-7323.
- [20] Eddouks M, Amtaghri S, Qabouche A, et al. A comprehensive overview of *Hibiscus rosa-sinensis* L.: its ethnobotanical uses, phytochemistry, therapeutic uses, pharmacological activities, and toxicology[J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2024, 24(1): 86-115.
- [21] Belury M A. Linoleic acid, an omega-6 fatty acid that reduces risk for cardiometabolic diseases: premise, promise and practical implications[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2023, 26(3): 288-292.
- [22] Bao L, Hao P, Jiang M J, et al. Liquiritigenin regulates insulin sensitivity and ameliorates inflammatory responses in the nonalcoholic fatty liver by activation PI3K/AKT pathway[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2023, 102(4): 793-804.
- [23] 练强. 甘草素调节LKB1/AMPK信号通路对冠心病大鼠的心脏保护作用研究[J]. 四川医学, 2023, 44(9): 916-920.
- [24] Wang L, Li P F, Zhou Y, et al. Magnoflorine ameliorates collagen-induced arthritis by suppressing the inflammation response via the NF-κB/MAPK signaling pathways[J]. *J Inflamm Res*, 2023, 16: 2271-2296.
- [25] 王英, 武晓, 刘凤娟, 等. 木兰花碱调控CD44s/STAT3通路对肺癌细胞迁移、侵袭及干性特征的影响实验研究[J]. 陕西医学杂志, 2024, 53(11): 1449-1453; 1458.
- [26] 龚玉雯, 王志平. SRC激酶调控肿瘤糖代谢的研究进展[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2024, 45(5): 755-763.
- [27] Khalil A, Cevik S E, Hung S, et al. Developmental exposure to 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether permanently alters blood-liver balance of lipids in male mice[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9: 548.
- [28] Ye Q Q, Gui C C, Jin D Y, et al. Synergistic effect of cannabidiol with dasatinib on lung cancer by SRC/PI3K/AKT signal pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 173: 116445.
- [29] Wang X Y, Wang Y J, Hou Z L, et al. Ingenane-type diterpenoids inhibit non-small cell lung cancer cells by regulating SRC/PI3K/Akt pathway[J]. *Nat Prod Res*, 2024, 38(19): 3460-3465.
- [30] Lee H, Jeong W T, So Y S, et al. Taxifolin and sorghum ethanol extract protect against hepatic insulin resistance via the miR-195/IRS1/PI3K/AKT and AMPK signalling pathways[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(9): 1331.
- [31] 李晓文, 林兰, 倪青, 等. 糖心平胶囊药效及急性毒性实验观察[J]. 医学研究杂志, 2020, 49(11): 78-82.
- [32] 苏笑宇, 朱禹奇, 段默涵, 等. 黄芪甲苷通过PI3K/Akt信号通路改善2型糖尿病大鼠心脏功能的研究进展[J]. 名医, 2023(20): 36-38.
- [33] Zeng S Y, Yang L, Lu H Q, et al. Rutaecarpine prevents hypertensive cardiac hypertrophy involving the inhibition of Nox4-ROS-ADAM17 pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(6): 4196-4207.
- [34] He Y B, Fang L W, Hu D, et al. Necroptosis-associated long noncoding RNAs can predict prognosis and differentiate between cold and hot tumors in ovarian cancer[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 967207.
- [35] Zhang T T, Wei W, Chang S R, et al. Integrated network pharmacology and comprehensive bioinformatics identifying the mechanisms and molecular targets of Yizhiqingxin Formula for treatment of comorbidity with Alzheimer's disease and depression[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 853375.
- [36] Timofeev Y S, Kiselev A R, Dzhioeva O N, et al. Heat shock proteins (HSPs) and cardiovascular complications of obesity: searching for potential biomarkers[J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2023, 45(12): 9378-9389.
- [37] Tang Z, Li L, Tang Y, et al. CDK2 positively regulates aerobic glycolysis by suppressing SIRT5 in gastric cancer[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(8): 2590-2598.
- [38] 李姚娜, 杨慧宇. TP53诱导的糖酵解和凋亡调控因子在常见心血管疾病中的研究进展[J]. 中国医药, 2023, 18(4): 599-602.