

# 当归补血汤及其活性成分通过 NLRP3/ASC/caspase-1 通路调控糖尿病大鼠动脉粥样硬化及网络药理学研究

李秋芳<sup>1,2</sup>, 王文恺<sup>3</sup>, 龚 曼<sup>1,4</sup>, 傅金英<sup>1</sup>, 代丽萍<sup>1,4</sup>, 王舒珣<sup>3</sup>, 刘雅琳<sup>1,4\*</sup>

[1. 河南中医药大学, 河南 郑州 45004; 2. 河南省中医院 (河南中医药大学第二附属医院), 河南 郑州 450002; 3. 南京中医药大学, 江苏 南京 210024; 4. 河南省道地药材综合开发与利用工程中心, 河南 郑州 450046]

**摘要:**目的 观察当归补血汤及其主要吸收成分通过 NLRP3/ASC/caspase-1 信号通路调控糖尿病大鼠动脉粥样硬化, 并结合网络药理学预测其他潜在作用靶点。方法 将 SD 大鼠随机分为正常对照组、模型组、当归补血汤组、当归补血汤吸收生物活性成分组。除正常对照组外, 其他各组用链脲佐菌素 (STZ, 60 mg/kg) 一次性腹腔注射建立糖尿病大鼠模型, 正常对照组给予普通饲料, 其余 3 组给予高糖高脂饲料, 喂养 4 周, 同时给药组分别灌胃当归补血汤、吸收生物活性成分 (ABCs) 混合溶液, 正常对照组、模型组灌胃等体积的生理盐水。采用 ELISA 法检测大鼠血清 NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-6、ICAM-1 水平, Western blot 法检测主动脉 NLRP3、caspase-1、IL-1 $\beta$ 、IL-18、ASC 蛋白表达, HE 染色观察大鼠主动脉病理学变化。采用网络药理学预测当归补血汤治疗糖尿病、动脉粥样硬化、血管内皮炎症的核心靶点、成分及相关通路。结果 与模型组比较, 当归补血汤可降低大鼠血清 NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-6、ICAM-1 水平 ( $P < 0.05$ ), 修复主动脉组织结构损伤, 抑制主动脉组织 NLRP3、caspase-1、IL-1 $\beta$ 、IL-18、ASC 蛋白表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 同时 ABCs 可发挥当归补血汤相似的药理作用。此外, 网络药理学预测表明 ABCs 中阿魏酸、黄芪甲苷为核心活性成分, 还可能通过 PI3K-Akt、AGE-RAGE 信号通路发挥作用。结论 当归补血汤及 ABCs 可能通过 NLRP3/ASC/caspase-1 炎症信号通路改善大鼠糖尿病伴动脉粥样硬化, ABCs 中阿魏酸、黄芪甲苷可能为发挥作用的主要成分。

**关键词:** 当归补血汤; 糖尿病动脉粥样硬化; NLRP3/ASC/caspase-1 信号通路; 芒柄花素; 毛蕊异黄酮; 阿魏酸; 黄芪甲苷; 网络药理学

中图分类号: R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)06-1987-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.06.048

随着现代社会生活的改变, 糖尿病的患病率在逐年上升, 已成为全球威胁人类健康的三大慢性非传染性疾病之一<sup>[1]</sup>。在糖尿病患者中, 动脉粥样硬化是最为常见的并发症<sup>[2]</sup>, 并最终导致冠心病、脑血管意外和下肢坏疽等<sup>[3]</sup>。炎症反应是动脉粥样硬化形成的重要环节, 大量临床及试验研究发现, 糖尿病动脉粥样硬化的发病与 NLRP3/ASC/caspase-1 信号通路密切相关<sup>[4-6]</sup>。

当归补血汤出自李东垣的《内外伤辨惑论》, 由黄芪、当归按 5:1 比例组成, 具有补气生血的功效。糖尿病早期病因为燥热伤阴, 随着疾病发展, 阴伤及气, 导致气阴两虚, 而“气为血之帅”, 故气虚则运血生血无力, 出现血虚燥热及瘀血阻滞。由此可见, 糖尿病治疗的关键在于补

气生血滋阴, 而当归补血汤的功效正契合其病因病机。课题组前期研究了当归补血汤的疗效及其机理, 发现该方可降低动脉粥样硬化模型大鼠 C-反应蛋白和 TNF- $\alpha$  水平, 具有抗炎抗氧化作用, 还能调节血脂、抑制主动脉 MCP-1、ICAM-1 和 CD36 的基因表达<sup>[7-8]</sup>。本课题组前期实验也研究了芒柄花素、毛蕊异黄酮、阿魏酸、黄芪甲苷为当归补血汤吸收入血活性成分 (absorbed bioactive compounds, ABCs) 的药代动力学规律<sup>[9]</sup>。此外, 网络药理学作为一种基于系统生物学阐述疾病发生发展及药物作用的新兴学科, 对发现药物潜在药理机制有巨大帮助。

本研究采用动物实验, 首次揭示了当归补血汤及 ABCs 通过 NLRP3/ASC/caspase-1 信号通路干预糖尿病动脉粥样

收稿日期: 2021-01-10

基金项目: 河南省科技攻关计划项目 (212102311087); 河南省高等学校重点科研项目计划 (18A350002); 河南省中医院院级课题项目 (2018YJKT10)

作者简介: 李秋芳 (1988—), 女, 博士, 主治医师, 从事中医药治疗内分泌疾病研究。E-mail: liqiufang0811@126.com

\* 通信作者: 刘雅琳 (1984—), 男, 博士, 副教授, 从事药物分析与中药复方研究。Tel: (0371) 65801259, Email: liuyalin\_1984@163.com

网络出版日期: 2021-07-30

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20210729.1528.002.html>

硬化的物质基础及作用机制,此外结合网络药理学方法探讨其他可能的作用机制,为全面解析当归补血汤及ABCs的作用机制奠定基础。

## 1 材料

1.1 动物 40只雄性SPF级SD大鼠,体质量(270±10)g,购自山东省实验动物中心,实验动物生产许可证号SCXK(鲁)2014-0007。动物于河南中医药大学动物实验中心标准化饲养,恒温(23±1)℃,相对湿度(50±5)%,自由饮水饮食。高脂高糖饲料由基础饲料加入脂肪15%、蔗糖20%、鸡蛋5%、胆固醇1%、食盐0.1%,由郑州大学实验动物中心提供。

1.2 试剂与药物 黄芪(批号180621)、当归(批号180801)购自亳州市张仲景中药饮片有限公司。芒柄花素(批号RQ1833)、阿魏酸(批号RQ18R920)、黄芪甲苷(批号RQ1214)对照品购自上海瑞生生物科技有限公司,纯度98%;毛蕊异黄酮(批号Wkq19011810)购自四川省维克奇生物科技有限公司,纯度98%;链脲佐菌素(批号RK18S1206)、NF-κB、TNF-α、IL-6、ICAM-1试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司;RIPA裂解液(货号G2002)、β-actin多克隆一抗(货号GB12001)、caspase-1多克隆一抗(货号GB11383)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司;NLRP3多克隆一抗(货号ab214185)购自英国Abcam公司;IL-18多克隆一抗(货号10663-1-ap)购自美国CST公司。

1.3 仪器 电子天平[型号PL-203,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];离心机(型号D1008E)、匀浆仪(型号KZ-II,武汉赛维尔生物科技有限公司);酶标检测仪(型号Ri2100c,深圳雷杜生命科学股份有限公司);凝胶成像仪(型号V300,日本EPSON公司);石蜡切片机(型号RM2235,德国Leica公司);双垂直电泳仪(型号DYCZ-24DN)、转印电泳仪(型号DYCZ-40D)购自北京六一生物技术有限公司。

## 2 方法

2.1 当归补血汤灌胃汤剂的制备 根据处方依次称取黄芪500g、当归100g,置于圆底烧瓶中,加10倍量蒸馏水,室温浸泡60min后,电热套加热至沸腾开始计时,煎煮30min,纱布过滤,滤渣再加6倍量蒸馏水,搅拌均匀后继续煎煮30min,过滤,合并2次滤液,置于旋转蒸发器中,60℃下旋转蒸发至1500mL,即得当归补血汤质量浓度为0.4g/mL,低温保存,备用。

2.2 动物分组与给药 将40只SD大鼠适应性喂养1周后,随机分为正常对照组、模型组、当归补血汤组(4g/kg)、ABCs组(剂量浓度相当于课题组前期测得母方的量<sup>[10]</sup>,即芒柄花素2.68mg/kg,毛蕊异黄酮2.56mg/kg,阿魏酸1.36mg/kg,黄芪甲苷0.45mg/kg),每组10只大鼠,除正常对照组喂食基础饲料外,其余各组大鼠给予高脂高糖饲料进行喂养,均自由饮水。造模成功后的大鼠灌胃给药,灌胃容量为10mL/kg,ABCs组灌胃由芒柄花素、毛蕊异

黄酮、阿魏酸、黄芪甲苷组成的ABCs混合溶液,当归补血汤组灌胃当归补血汤,正常对照组与模型组灌胃等体积的生理盐水,每天1次,持续4周。

2.3 糖尿病动脉粥样硬化模型的建立 大鼠隔夜空腹12h后右侧腹腔注射进行造模,其中模型组、ABCs组、当归补血汤组注射1%STZ60mg/kg,并在此期间继续喂以高糖高脂饲料<sup>[11]</sup>;正常对照组注射相等剂量的柠檬酸钠缓冲液并喂以普通饲料。大鼠成模判定标准为注射后第3、7天检测血糖,如随机血糖≥16.9mmol/L;或出现多饮、多尿、消瘦、乏力、懒动等症状,且连续2次随机血糖>11.1mmol/L,即视为糖尿病造模成功。

2.4 大鼠一般情况记录 观察大鼠一般情况:包括精神状态、行为活动、毛发、毛色、清洁度、排便排尿情况等。每周称量1次大鼠体质量,检测1次随机血糖,给药结束后记录大鼠24h内摄食、饮水量,处死前禁食12h测空腹血糖。

2.5 血清炎症因子检测 末次灌胃2h后,用10%水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,腹主动脉取血,4℃、3500r/min离心10min得到血清,分装后于-80℃保存。检测前4℃融化样本,严格按照ELISA试剂盒说明书检测血清NF-κB、TNF-α、IL-6、ICAM-1水平。

2.6 蛋白免疫印迹 称取主动脉组织100mg,加入裂解液,匀浆提取总蛋白,BCA法进行蛋白定量,确定上样体积。每组样品加入1/4体积的5×Loading buffer后煮沸5min,-80℃保存备用。配制分离胶和浓缩胶,将样品加入电泳孔中,电泳条件为浓缩胶用电压75V,分离胶用120V,200mA电流转膜1h后,将膜放入含5%脱脂奶粉的TBST溶液中室温封闭1h,按1:1000比例加入一抗稀释液,4℃过夜,次日孵育二抗、洗膜、显影。条带经Alpha软件处理系统分析目标带的灰度值,β-actin为内参,数据以目的条带与内参条带的灰度比值表示。

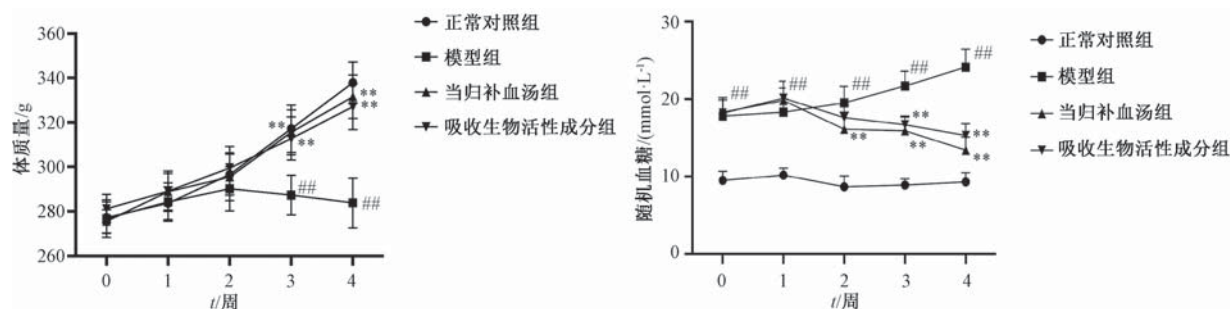
2.7 大鼠主动脉病理切片分析 取主动脉根部,用10%甲醛固定,脱水,石蜡包埋,制片(4μm),HE染色,光学显微镜下观察血管部位脂质沉积、纤维变性程度、炎症范围等。

2.8 网络药理学分析 从TCMSP(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)数据库收集当归补血汤成分及其吸收生物活性成分。Swiss Target Prediction(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)和SEA(<http://sea.bkslab.org/>)数据库来检索与化合物相关的作用靶点;以血管内皮炎症(vascular endothelial inflammation)、动脉粥样硬化(atherosclerosis)、糖尿病(diabetes)为关键词,从GeneCards(<https://www.genecards.org/>),OMIM(<http://www.omim.org/>)两个数据库中筛选疾病相关靶点。通过STRING(<https://string-db.org/>,版本11.0)数据库将检索得到的当归补血汤有效成分与糖尿病、动脉粥样硬化、血管内皮炎症的关联靶点进行蛋白互作分析。通过KOBAS3.0对当归补血汤治疗疾病的候选靶点进行

KEGG 通路富集分析, 使用 <https://www.omicshare.com/tools/> 在线工具绘制 KEGG 气泡图。用 Cytoscape 3.6.0 构建“成分-核心靶点-通路”相互作用网络图。

2.9 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理, 计量资料用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两两比较采用  $t$  检验, 多组间比较采用单因素方差分析。  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。柱状图用 GraphPad Prism 8.4 软件绘制。

### 3 结果

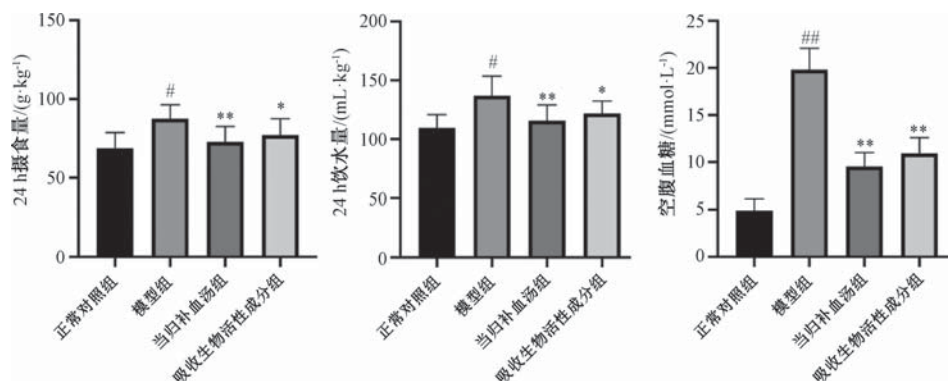


注: 与正常对照组比较,  $^{##}P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $^{**}P < 0.01$ 。

图1 当归补血汤及吸收生物活性成分对大鼠体重、随机血糖的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

3.2 当归补血汤及吸收生物活性成分对大鼠 24 h 摄食、饮水量及空腹血糖的影响 与正常对照组比较, 模型组大鼠 24 h 摄食量、饮水量增多 ( $P < 0.05$ ), 空腹血糖升高

( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 当归补血汤和吸收生物活性成分能减少大鼠摄食、饮水量 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 降低空腹血糖 ( $P < 0.01$ ), 改善糖尿病基础症状, 见图 2。



注: 与正常对照组比较,  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ 。

图2 当归补血汤及吸收生物活性成分对大鼠 24 h 摄食、饮水量及空腹血糖的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

3.3 当归补血汤及吸收生物活性成分对大鼠血清 NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-6、ICAM-1 水平的影响 如表 1 所示, 与正常对照组比较, 模型组大鼠血清 NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-6、ICAM-1 水平升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 给予当归补

血汤后, 大鼠血清 NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-6、ICAM-1 水平均降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 同时, 吸收生物活性成分发挥了与原方剂相似作用。

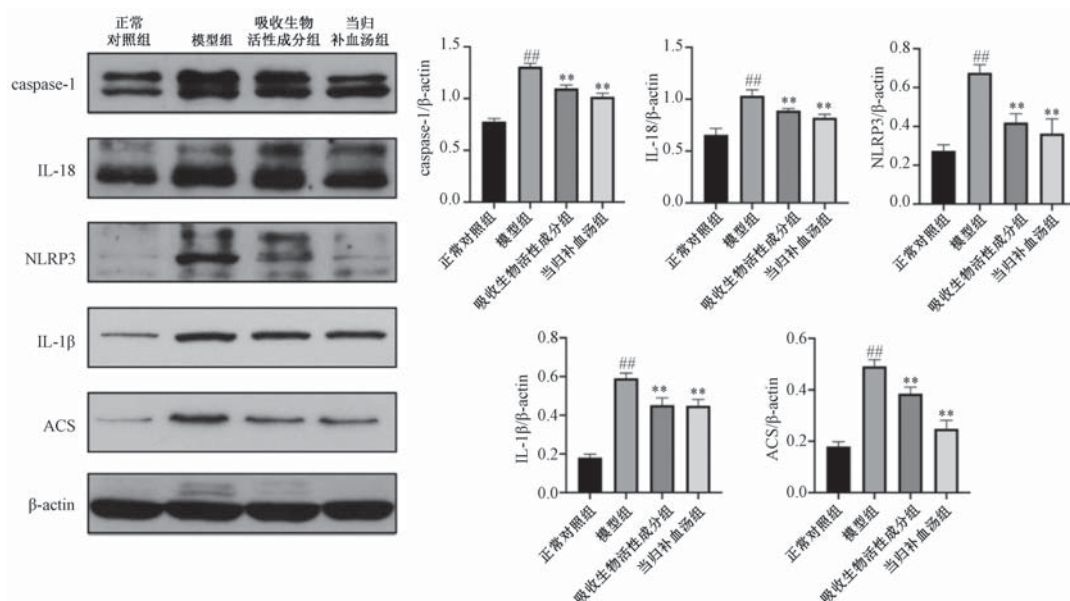
表1 当归补血汤及吸收生物活性成分对大鼠血清 NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-6、ICAM-1 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

| 组别        | NF- $\kappa$ B/(pg·mL <sup>-1</sup> ) | TNF- $\alpha$ /(pg·mL <sup>-1</sup> ) | IL-6/(pg·mL <sup>-1</sup> ) | ICAM-1/(pg·mL <sup>-1</sup> ) |
|-----------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| 正常对照组     | 406.21±18.92                          | 695.96±40.66                          | 414.67±37.72                | 460.47±47.95                  |
| 模型组       | 690.81±54.84 <sup>##</sup>            | 795.02±43.90 <sup>##</sup>            | 636.26±22.73 <sup>##</sup>  | 738.33±93.84 <sup>##</sup>    |
| 当归补血汤组    | 583.84±56.97 <sup>**</sup>            | 727.07±45.00 <sup>*</sup>             | 535.13±53.35 <sup>**</sup>  | 559.55±69.89 <sup>**</sup>    |
| 吸收生物活性成分组 | 624.39±21.62 <sup>*</sup>             | 731.40±70.86                          | 527.24±50.13 <sup>**</sup>  | 542.25±63.21 <sup>**</sup>    |

注: 与正常对照组比较,  $^{##}P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ 。

3.4 当归补血汤及吸收生物活性成分对大鼠主动脉 NLRP3/ASC/caspase-1 信号通路蛋白表达的影响 与正常对照组比较, 模型组大鼠主动脉中 caspase-1、IL-18、NLRP3、IL-

1 $\beta$ 、ASC 蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 吸收生物活性成分组和当归补血汤组大鼠主动脉中 caspase-1、IL-18、NLRP3、IL-1 $\beta$ 、ASC 蛋白表达均降低 ( $P < 0.01$ ), 见图 3。



注：与正常对照组比较， $^{##}P<0.01$ ；与模型组比较， $^{**}P<0.01$ 。

图 3 当归补血汤及吸收生物活性成分对大鼠主动脉 NLRP3/ASC/caspase-1 信号通路蛋白表达的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=8$ )

3.5 当归补血汤及吸收生物活性成分对大鼠主动脉组织病理结构的影响 正常对照组大鼠主动脉组织结构正常，内膜、中膜、外膜分界清楚，内膜光滑完整，内皮细胞排列紧密，未见炎性细胞及脂质沉积；与正常对照组比较，模型组大鼠主动脉组织结构紊乱，内膜不光滑不完整，内膜增厚，中膜有炎性细胞及脂质沉积；与模型组比较，当归补血汤和吸收生物活性成分组可见斑块面积及病变有不同程度的减轻，内皮较完整，中膜未见明显脂质沉积，见图 4。

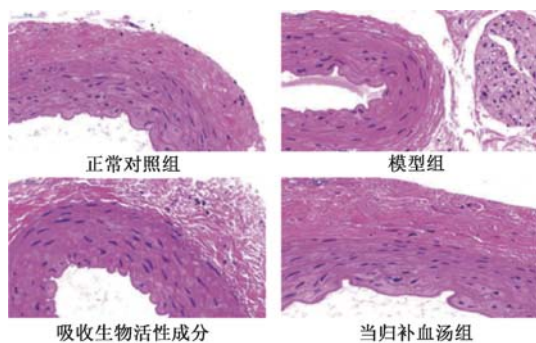
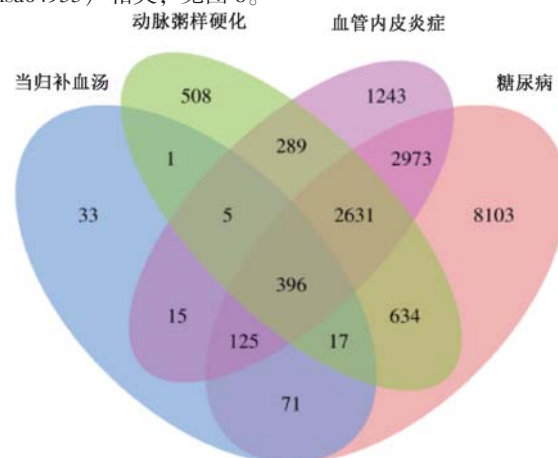


图 4 当归补血汤及吸收生物活性成分对大鼠主动脉组织病理结构的影响 (HE,  $\times 400$ )

3.6 网络药理学分析 通过 TCMSP 数据库及相关文献检索收集得到当归补血汤 (当归、黄芪) 中的化合物共 22 种，其中来自当归的 2 种，来自黄芪的 20 种，ABCs 共 4 个成分，其中芒柄花素、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷来源于黄芪，阿魏酸来源于当归。删除重复成分后，得到 24 个化合物，见表 2。从数据库中筛选当归补血汤成分相关靶点 663 个，从疾病数据库中筛选疾病相关靶点删除重复值后得到糖尿病 (14 950 个)、动脉粥样硬化 (4 481 个)、血管内皮炎症 (7 677 个) 相关靶点。使用在线绘图工具对当归补血汤

化学成分的对靶点和疾病靶点进行韦恩图分析，可以看出当归补血汤与糖尿病、动脉粥样硬化、血管内皮炎症共有 396 个交集靶点，见图 5。采用 Cytoscape 3.6.0 构建成分-靶点网络图，可见 ABCs 各成分靶点较多，见图 6。对核心靶点进行蛋白互作分析，结果显示 PIK3CA、PIK3R1、MAPK1、MAPK3、SRC、AKT1、APP、STAT3、FYN、HSP90AA1 为当归补血汤治疗糖尿病、动脉粥样硬化及血管内皮炎症的核心靶点，见图 7；Mol-3 (阿魏酸)、Mol-17、Mol-24 (黄芪甲苷)、Mol-8、Mol-19、Mol-16、Mol-13、Mol-12、Mol-10、Mol-9 是当归补血汤治疗糖尿病、动脉粥样硬化及血管内皮炎症的核心成分，见图 6。KEGG 分析结果表明，当归补血汤治疗作用可能与 PI3K-Akt 信号通路 (hsa04151)、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路 (hsa04933) 相关，见图 8。



注：蓝色为当归补血汤成分靶点，红色为糖尿病靶点，绿色为动脉粥样硬化，紫色为血管内皮炎症靶点。

图 5 当归补血汤治疗疾病潜在靶点

表 2 当归补血汤候选化合物的网络信息图

| 编号    | 化合物                                                                                                                                                                                                                  | 分子量    | OB/%   | DL   | 来源 |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|--------|------|----|
| Mol1  | 豆甾醇                                                                                                                                                                                                                  | 412.77 | 43.83  | 0.76 | 当归 |
| Mol2  | $\beta$ -谷甾醇                                                                                                                                                                                                         | 414.79 | 36.91  | 0.75 | 当归 |
| Mol3  | 阿魏酸                                                                                                                                                                                                                  | 192.23 | 40.43  | 0.06 | 当归 |
| Mol4  | 白桦脂酸                                                                                                                                                                                                                 | 456.78 | 55.38  | 0.78 | 黄芪 |
| Mol5  | 熊竹素                                                                                                                                                                                                                  | 314.31 | 50.83  | 0.29 | 黄芪 |
| Mol6  | 常春藤皂苷元                                                                                                                                                                                                               | 414.79 | 36.91  | 0.75 | 黄芪 |
| Mol7  | (3 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i> ,13 <i>R</i> ,14 <i>S</i> ,17 <i>R</i> )-10,13-二甲基-17-[(2 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-5-丙烷-2-基辛烷-2-基]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-十二氢-1 <i>H</i> -环戊基[ <i>a</i> ]菲-3-醇 | 428.82 | 36.23  | 0.78 | 黄芪 |
| Mol8  | 异鼠李素                                                                                                                                                                                                                 | 316.28 | 49.6   | 0.31 | 黄芪 |
| Mol9  | 3,9-二- <i>O</i> -甲基尼索林                                                                                                                                                                                               | 314.36 | 53.74  | 0.48 | 黄芪 |
| Mol10 | 5'-羟基异月桂醇-2',5'-二- <i>O</i> -葡萄糖苷                                                                                                                                                                                    | 642.67 | 41.72  | 0.69 | 黄芪 |
| Mol11 | 7- <i>O</i> -甲基异马齿苋醇                                                                                                                                                                                                 | 316.38 | 74.69  | 0.30 | 黄芪 |
| Mol12 | 9,10-二甲氧基紫檀苷-3- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -葡萄糖苷                                                                                                                                                                  | 462.49 | 36.74  | 0.92 | 黄芪 |
| Mol13 | (6 <i>aR</i> ,11 <i>aR</i> )-9,10-二甲氧基-6 <i>a</i> ,11 <i>a</i> -二氢-6 <i>H</i> -苯并呋喃并[3,2- <i>c</i> ]铬-3-醇                                                                                                            | 300.33 | 64.26  | 0.42 | 黄芪 |
| Mol14 | 联苯双酯                                                                                                                                                                                                                 | 418.38 | 31.10  | 0.67 | 黄芪 |
| Mol15 | 二氢异黄酮                                                                                                                                                                                                                | 316.33 | 109.99 | 0.30 | 黄芪 |
| Mol16 | 山柰酚                                                                                                                                                                                                                  | 286.25 | 41.88  | 0.24 | 黄芪 |
| Mol17 | (2 <i>S</i> )-2-[4-[(2-氨基-4-氧代-1 <i>H</i> -蝶啶-6-基)甲胺基]苯甲酰基]氨基]戊二酸                                                                                                                                                    | 441.45 | 68.96  | 0.71 | 黄芪 |
| Mol18 | (3 <i>R</i> )-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)铬-7-醇                                                                                                                                                                               | 302.35 | 67.67  | 0.26 | 黄芪 |
| Mol19 | 异木糖醇-7,2'-二- <i>O</i> -葡萄糖苷                                                                                                                                                                                          | 626.67 | 49.28  | 0.62 | 黄芪 |
| Mol20 | 1,7-二羟基-3,9-二甲氧基紫檀烯                                                                                                                                                                                                  | 314.31 | 39.05  | 0.48 | 黄芪 |
| Mol21 | 槲皮素                                                                                                                                                                                                                  | 302.25 | 46.43  | 0.28 | 黄芪 |
| Mol22 | 芒柄花素                                                                                                                                                                                                                 | 268.28 | 69.67  | 0.21 | 黄芪 |
| Mol23 | 毛蕊异黄酮                                                                                                                                                                                                                | 284.28 | 47.75  | 0.24 | 黄芪 |
| Mol24 | 黄芪甲苷                                                                                                                                                                                                                 | 785.09 | 17.74  | 0.15 | 黄芪 |

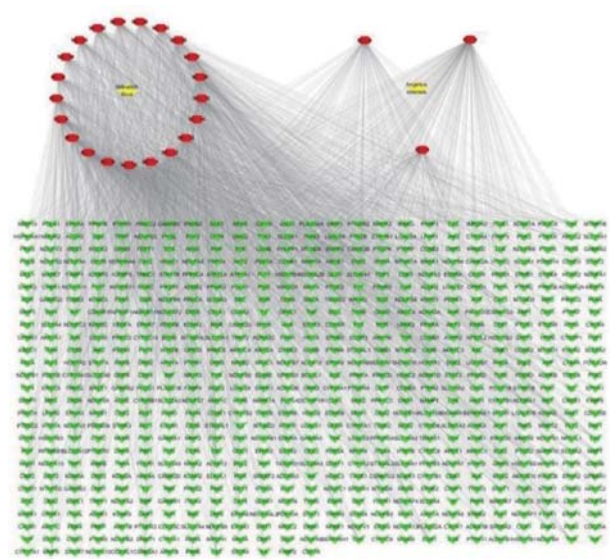


图 6 成分-靶点网络图

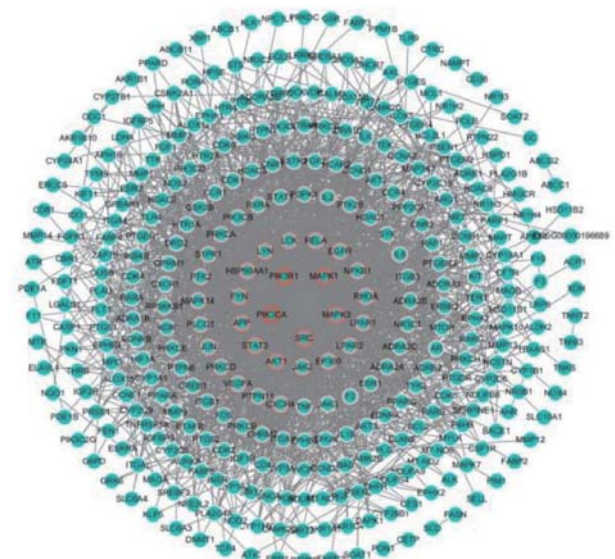


图 7 蛋白-蛋白相互作用网络

4 讨论

中医理论认为糖尿病动脉粥样硬化的病因病机为饮食不节、喜食肥甘、积热内蕴、耗气伤阴、气虚日久、运血无力而致瘀血内阻、脉络不通、筋失所养、脉管堵塞<sup>[12-13]</sup>，同时大量的临床证据表明，气阴两虚、气血亏虚是糖尿病动脉粥样硬化的主要证型<sup>[14]</sup>。糖尿病动脉粥样硬化患者普遍存在肥胖，血糖异常升高，同时存在红细胞参数下降、血小板活化、凝血因子活性改变等病理变化，可引起血液

黏稠、血栓形成、动脉血流量下降等改变，与中医学“气血亏虚型血瘀”的形成机制相吻合<sup>[15-17]</sup>。当归补血汤方中黄芪补气，推动体内瘀滞的气血运行，疏通堵塞脉管；当归养血，濡养干枯筋脉，从而实现气血双补。故本研究选用补气生血的代表方当归补血汤为研究对象具有较高的临床研究价值。

糖尿病动脉粥样硬化是一种复杂的临床疾病，其发病机制尚不明确，主流观点有内皮细胞功能紊乱、血脂代谢

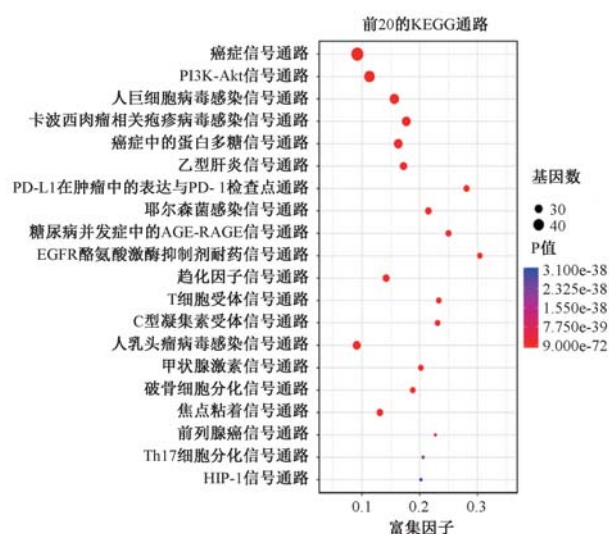


图 8 KEGG 富集分析

异常、血小板功能及凝血机制异常、全身低度炎症状态、机体氧化应激状态等<sup>[18]</sup>，其中 NLRP3/ASC/caspase-1 炎症信号通路得到越来越多的关注。本实验研究结果显示，ABCs 与当归补血汤均可下调 NLRP3/ASC/caspase-1 信号通路蛋白表达，降低下游炎症因子水平，具有抗炎作用，同时，ABCs 与当归补血汤组大鼠动脉斑块面积较模型组明显减少。因此，本实验结果提示 ABCs 能够代表母方当归补血汤发挥对糖尿病动脉粥样硬化大鼠的治疗作用，但治疗作用不及母方，可能与当归补血汤中含有的多糖、氨基酸、微量元素等作用相关，需要进一步的深入研究。同时，网络药理学预测表明当归补血汤及 ABCs 改善糖尿病、动脉粥样硬化及血管内皮炎症的核心靶点为 PIK3CA、PIK3R1、MAPK1、MAPK3、SRC、AKT1 等，ABCs 中阿魏酸、黄芪甲苷为核心活性成分，其作用机制可能还与 PI3K-Akt 信号通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路有关，PI3K-Akt 信号通路处于 NLRP3/ASC/caspase-1 信号通路上游，有待进行进一步深入研究。

综上所述，本文首次报道了 ABCs 作为当归补血汤治疗糖尿病动脉粥样硬化的核心成分群，尤其是阿魏酸、黄芪甲苷可能发挥主要作用。当归补血汤通过 NLRP3/ASC/caspase-1 信号通路发挥调节糖尿病动脉粥样硬化的作用，而本实验为后期全面揭示其作用机制奠定了物质和理论基础。

#### 参考文献:

[1] 廖 涌. 中国糖尿病的流行病学现状及展望[J]. 重庆医科大学学报, 2015, 40(7): 1042-1045.  
[2] 黄 霖, 李迎新, 刘 华. 实验性糖尿病大鼠动脉粥样硬化模型的建立[J]. 中国中医急症, 2007, 16(9): 1111-1113.  
[3] 袁晓勇, 刘 瑾, 袁戈恒, 等. 北京市多中心筛查糖尿病高

危足及其危险因素分析[J]. 中国糖尿病杂志, 2020, 28(7): 486-491.

[4] 万招飞, 刘小军, 薛嘉虹, 等. NLRP3 炎症小体在糖尿病患者动脉粥样硬化的作用[J]. 山西医科大学学报, 2019, 50(10): 1399-1402.  
[5] Zhou W Y, Chen C Y, Chen Z H, et al. NLRP3: a novel mediator in cardiovascular disease[J]. *J Immunol Res*, 2018, 2018: 5702103.  
[6] Tang G, Duan F Q, Li W X, et al. Metformin inhibited Nod-like receptor protein 3 inflammasomes activation and suppressed diabetes-accelerated atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 119: 109410.  
[7] 王文恺, 孙 悦, 钟 琪, 等. 当归补血汤对糖尿病合并抑郁模型大鼠血清炎症因子的干预作用[J]. 中医学报, 2020, 35(6): 1258-1261.  
[8] Xue M, Bian Y, Liu Y L, et al. Danggui buxue decoction ameliorates lipid metabolic defects involved in the initiation of diabetic atherosclerosis; identification of active compounds[J]. *J Tradit Chin Med*, 2020, 40(3): 414-421.  
[9] 刘雅琳, 王文恺, 李秋芳, 等. 当归补血汤中 4 种成分在大鼠血浆中的药动学研究[J]. 中成药, 2020, 42(2): 278-283.  
[10] 薛 梅, 卞 勇, 周俊杰, 等. 当归补血汤主要吸收成分对 GK 大鼠肾保护作用研究[J]. 南京中医药大学学报, 2018, 34(2): 190-193.  
[11] Singh B K, Singh A, Kumar V. Ameliorative effect of adjunct therapy of metformin with atorvastatin on streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats[J]. *Drug Res (Stuttg)*, 2016, 66(1): 28-32.  
[12] 李 凯, 高 泓, 谢春光, 等. 谢春光教授运用“治未病”思想防治糖尿病下肢大血管病变经验介绍[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(7): 1711-1712.  
[13] 胡艳红, 杨 静, 修成奎, 等. 益气活血方治疗糖尿病血管病变的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(8): 1-12.  
[14] 张秀玲. 老年 2 型糖尿病合并颈动脉粥样硬化患者不同中医证型的颈动脉超声影像分析[J]. 中国中西医结合影像学杂志, 2020, 18(3): 249-252.  
[15] 彭 超, 李 静. 红细胞与血小板检测参数在糖尿病血管并发症中的检测价值[J]. 临床医药文献电子杂志, 2020, 7(27): 10-11.  
[16] 黄艳丽, 毕建璐, 汤海欣, 等. 糖尿病血管病变的综合诊断方法的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(6): 812-814.  
[17] 付 鹏, 姚凤祯, 赵方鹏, 等. 周亚滨从气血亏虚辨治冠心病心绞痛的理论认识[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(7): 2636-2638.  
[18] 邹晓昭, 赵铁夫. 糖尿病合并冠状动脉粥样硬化性心脏病的研究进展[J]. 医学综述, 2016, 22(22): 4467-4470.