

[文章编号] 1000-4718(2019)06-0988-06

# 芩芩酰胺通过抗炎作用缓解糖尿病 心肌病小鼠的心肌病变\*

庄飞<sup>1,2</sup>, 梁广<sup>3</sup>, 钱建畅<sup>3</sup>, 郑超<sup>2Δ</sup>(温州医科大学<sup>1</sup>第二临床医学院,<sup>2</sup>附属第二医院,<sup>3</sup>药学院, 浙江温州 325035)

**[摘要]** **目的:** 探究芩芩酰胺(PL)对糖尿病心肌病模型中心肌损伤和纤维化的作用。**方法:** 高糖刺激心肌H9C2细胞模拟高糖环境建立细胞模型,随后分为对照组、高糖组、低剂量(2.5 μmol/L)PL组及高剂量(5 μmol/L)PL组,qPCR检测炎症因子肿瘤坏死因子α(TNF-α)和白细胞介素6(IL-6)的mRNA表达水平,Western blot检测纤维化指标转化生长因子β(TGF-β)和IV型胶原蛋白(collagen IV)的蛋白表达水平。将C57BL/6小鼠随机分为对照组、1型糖尿病模型组、低剂量(2.5 mg/kg)PL组及高剂量(5 mg/kg)PL组,每组6只。除对照组外,其余各组每日腹腔注射链脲佐菌素(STZ) 50 mg/kg,连续5日,1周后检测空腹血糖≥12 mmol/L认为造模成功。造模成功后,按不同分组给予不同剂量PL,腹腔注射给药13周,每隔2周尾静脉取血检测空腹血糖,第13周检测超声心动图,第13周末麻醉后处死小鼠,取血清检测肌酸激酶同工酶MB(CK-MB)和乳酸脱氢酶(LDH)水平;取心脏固定包埋切片,HE染色和天狼星红染色观察病理变化。**结果:** (1) 高糖诱导下的H9C2细胞TNF-α和IL-6的mRNA表达水平以及TGF-β和collagen IV的蛋白表达水平较对照明显升高,PL处理后上述指标均有所下降( $P < 0.05$ ); (2) STZ造模成功后,腹腔注射PL可逆转糖尿病心肌病小鼠心肌组织结构排列紊乱及纤维化等病理改变,并降低心肌损伤血清学指标CK-MB及LDH水平( $P < 0.05$ )。**结论:** PL可以减轻糖尿病心肌病模型的炎症反应和心肌组织损伤,延缓纤维化进程。

[关键词] 芩芩酰胺; 糖尿病心肌病; 炎症; 纤维化

[中图分类号] R542.2; R285.5 [文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2019.06.005

## Piperlongumine protects mice against diabetic cardiomyopathy by alleviating inflammation

ZHUANG Fei<sup>1,2</sup>, LIANG Guang<sup>3</sup>, QIAN Jian-chang<sup>3</sup>, ZHENG Chao<sup>2</sup>(<sup>1</sup>The Second School of Medicine, <sup>2</sup>The Second Affiliated Hospital, <sup>3</sup>School of Pharmaceutical Sciences, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China. E-mail: wallbb\_1022@163.com)

**[ABSTRACT]** **AIM:** To investigate the effect of piperlongumine (PL) on myocardial injury and fibrosis in diabetic cardiomyopathy (DCM) models. **METHODS:** To imitate cardiomyocytes in a high glucose environment, H9C2 cells were stimulated by high glucose (33 mmol/L), and then the cells were divided into control group, high glucose group, low dose (2.5 μmol/L) of PL group and high dose (5 μmol/L) of PL group. The mRNA levels of inflammatory cytokines tumor necrosis factor-α (TNF-α) and interleukin-6 (IL-6), and the protein levels of pro-fibrotic markers including transforming growth factor-β (TGF-β) and collagen IV were determined. C57BL/6 mice were randomly divided into control group, type 1 diabetes mellitus group, low dose (2.5 mg/kg) of PL group and high dose (5 mg/kg) of PL group. The mice were intraperitoneally injected with streptozotocin at dose of 50 mg/kg for 5 consecutive days. The fasting glucose levels higher than or equal to 12 mmol/L meant the establishment of type 1 diabetes mellitus. The treatment with PL was initiated. The fasting blood glucose was detected every 2 weeks. After echocardiography at the 13th week, the mice were killed after anesthesia at the 13th weekend. The blood was collected to measure the serum levels of creatine kinase isoenzyme MB (CK-MB) and lactate dehydrogenase (LDH). The heart tissues were prepared with formaldehyde for 24 h, and was em-

[收稿日期] 2018-08-30 [修回日期] 2018-12-10

\* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 8167030649); 浙江省医药卫生重大科技计划项目(No. WKJ-ZJ-1625); 温州市科技局公益性科技计划项目(No. H20150001)

Δ通讯作者 Tel: 0577-88002772; E-mail: wallbb\_1022@163.com

bedded in paraffin for pathological sectioning. HE staining and Sirius red staining were conducted. The morphological changes were observed under microscope. **RESULTS:** In the H9C2 cell model induced by high glucose, the mRNA expression levels of TNF- $\alpha$  and IL-6, as well as the protein expression levels of TGF- $\beta$  and collagen IV were significantly higher than those in control group. The above indexes were decreased after PL treatment ( $P < 0.05$ ). PL alleviated the disorder of basic structure, and cardiac fibrosis in the DCM mice. After the administration of PL, the serum levels of CK-MB and LDH were decreased significantly ( $P < 0.05$ ). **CONCLUSION:** PL is a potential cardioprotective agent in treatment of DCM as it can inhibit inflammation and mitigate the diabetic myocardial injury.

[**KEY WORDS**] Piperlongumine; Diabetic cardiomyopathy; Inflammation; Fibrosis

糖尿病是常见的内分泌与代谢性疾病,在全国乃至全世界范围内的发病人群日益增多<sup>[1]</sup>,糖尿病所导致的各种急慢性并发症,特别是心血管并发症被认为是糖尿病患者致残和死亡的主要原因<sup>[2]</sup>。糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy, DCM)的疾病特征是糖尿病所致的心肌结构及心脏功能改变,包括心室肥厚、心肌纤维化以及心功能下降,甚至心力衰竭等<sup>[3-4]</sup>。因此寻求一种新的药物,并进一步探索有效的治疗方案,具有重要的意义。茛菪酰胺(piperlongumine, PL)是中药茛菪中提取的有效成分,具有抗炎和抗氧化等多种药理学作用<sup>[5]</sup>,目前多用于抗乳腺癌和前列腺癌等肿瘤的研究<sup>[6-8]</sup>,然而对于糖尿病并发症的涉及较少,其效果及机制并不明确。本研究通过高糖刺激的大鼠心肌 H9C2 细胞模型以及链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的 1 型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM)小鼠模型,探究 PL 是否能够缓解 DCM 的发生发展。

## 材 料 和 方 法

### 1 细胞株和动物

心肌 H9C2 细胞购自上海生物化学与细胞生物研究所。SPF 级 C57BL/6 小鼠,雄性,5~6 周龄,20~22 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证编号为 SCXK(浙)2015-0009。

### 2 主要试剂

茛菪酰胺购自瀚香生物科技公司,用 0.1% 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)溶解,配制成 20 mmol/L 的母液贮存;STZ 和 MTT 购自 Sigma-Aldrich;DMEM 培养基、含 EDTA 的胰酶和胎牛血清购自 Gibco;RIPA 裂解液和 HE 染色试剂盒购自碧云天生物技术公司;抗转化生长因子  $\beta$ (transforming growth factor-beta, TGF- $\beta$ )及 IV 型胶原蛋白(collagen IV)兔源性 I 抗购自 Abcam;抗 GAPDH 兔源性 I 抗购自杭州贤至生物科技有限公司;过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG(H+L)购自翊圣公司;肌酸激酶同工

酶 MB(creatine kinase isoenzyme MB, CK-MB)试剂盒及乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒购自南京建成公司;TRIzol 和逆转录试剂盒购自 TaKaRa。所用引物由上海吉凯基因技术有限公司根据设计合成,见表 1。

表 1 引物序列

Table 1. The sequences of the primers for qPCR

Name	The primer sequence (5'-3')	Product (bp)
TNF- $\alpha$	Forward: TACTCCCAGGTTCTCTCAAGG	103
	Reverse: GGAGGCTGACTTTCTCTCGTA	
IL-6	Forward: GAGTGTGCAATGGCAATTC	127
	Reverse: ACTCCAGAAGACCAGAGCAG	
$\beta$ -actin	Forward: AAGTCCCTCACCCTCCAAAAG	98
	Reverse: AAGCAATGCTGTACCTTCCC	

### 3 主要方法

**3.1 细胞培养** H9C2 细胞培养于含有 10% 胎牛血清,  $1 \times 10^5$  U/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素的 DMEM (含 1 g/L D-glucose) 的细胞培养液中, 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的恒温培养箱中培养, 隔天换液。待细胞密度生长至 70%~80% 即可进行实验。

**3.2 MTT 法检测细胞活力** 将生长到指数生长期的 H9C2 细胞以每孔 5 000 个接种于 96 孔板, 待细胞贴壁后, 加入不同浓度梯度的 PL 孵育 48 h。随后加入 MTT, 在恒温培养箱中继续孵育 4~6 h, 弃去培养基, 加入 150  $\mu$ L DMSO, 用酶标仪检测各孔 490 nm 的吸光度(A)值。细胞相对活力用与对照组细胞吸光度的比值来表示, 以此计算出 PL 的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。

**3.3 qPCR 实验** 用 TRIzol 变性破碎细胞, 依次用氯仿、异丙醇以及无水乙醇分离提纯总 RNA。参照二步法逆转录试剂盒操作说明书进行逆转录, 获得 cDNA, 进行 qPCR。qPCR 体系为 10  $\mu$ L: cDNA 模板 1  $\mu$ L, 上、下游引物各 0.25  $\mu$ L, SYBR 溶液 5.25  $\mu$ L, 超纯水 3.25  $\mu$ L。反应条件为: 95 °C 3 min; 95 °C 7 s, 55 °C 10 s, 72 °C 15 s, 重复 40 个循环。以  $\beta$ -actin

作为内参照进行结果分析,用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算相应 mRNA 的相对表达量。

**3.4 Western blot 实验** 取药物处理后细胞,加入 PMSF、蛋白磷酸酶抑制剂及 RIPA 裂解液冰上裂解,收集细胞裂解液,4 °C、12 000 r/min 离心 10 min 收集蛋白,并用考马斯亮蓝法进行蛋白定量。用 SDS-PAGE 分离不同分子量的蛋白,电转到 PDVF 膜上,室温下用 TBST 配制的脱脂牛乳封闭 1.5 h。加入 I 抗 4 °C 摇床孵育过夜,用 TBST 洗膜 3 次,每次 5 min 后室温 II 抗孵育 1 h,用 ECL 化学发光剂在凝胶成像系统上显影。

**3.5 动物实验** C57BL/6 小鼠适应性饲养 1 周后随机分为空白对照 (control) 组 ( $n = 6$ ) 和 T1DM 组 ( $n \geq 18$ )。T1DM 组腹腔注射 STZ 50 mg/kg (用柠檬酸钠缓冲液配置, pH 4.5), 每天 1 次,连用 5 d,1 周后血糖  $\geq 12$  mmol/L 认为造模成功。将 T1DM 小鼠随机分为 T1DM 组 ( $n = 6$ )、T1DM + PL (2.5 mg/kg) 组 ( $n = 6$ ) 及 T1DM + PL (5 mg/kg) 组 ( $n = 6$ )。后两组的小鼠在造模成功后隔天腹腔注射相应剂量 PL 连续 13 周,control 组及 T1DM 组不作特殊处理。每组小鼠每 2 周监测体重及血糖变化。第 13 周行超声心动图检测。

13 周末,小鼠用 4% 水合氯醛麻醉后处理,取心脏,4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,每组取 3 个组织,切成 5  $\mu$ m 切片,用于 HE 染色以及天狼星红染色;取血清,按照试剂盒说明书用于检测 CK-MB 以及 LDH 血清学指标。

#### 4 统计学处理

应用 SPSS 22.0 以及 GraphPad Prism 7 软件进行数据统计分析以及作图。所有数据均采用均数  $\pm$  标准差 (mean  $\pm$  SD) 表示,两组间比较采用成组  $t$  检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较

采用 SNK- $q$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 1 PL 可减轻高糖诱导的心肌 H9C2 细胞炎症以及纤维化

心肌 H9C2 细胞用不同浓度的 PL 作用 48 h,根据 MTT 实验结果得出 PL 的半数抑制浓度为 35.05  $\mu$ mol/L,见图 1,因此我们选取 1、2.5 和 5  $\mu$ mol/L 的浓度进行下一步实验。

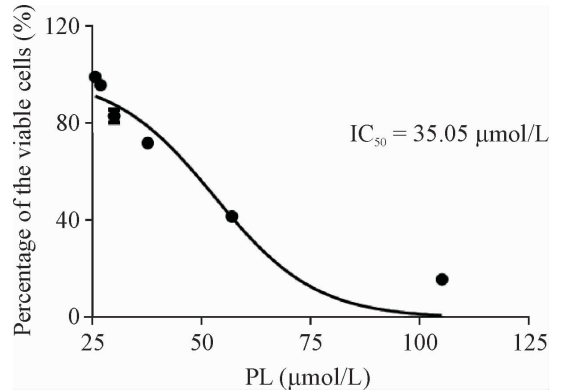


Figure 1. The IC<sub>50</sub> of PL for the viability of H9C2 cells.

#### 图 1 PL 影响 H9C2 细胞生长的半数抑制浓度

**1.1 PL 可抑制高糖诱导的 H9C2 细胞炎症因子的水平** 将生长至对数生长期的 H9C2 细胞接种于 6 孔板中,上述浓度 PL 预处理 1 h 后,加入终浓度为 33 mmol/L 的葡萄糖溶液,继续培养 24 h,收集细胞提取 RNA 进行 qPCR。结果显示高糖 (high glucose, HG) 组较空白组炎症因子 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的 mRNA 水平显著升高 ( $P < 0.01$ ),PL 处理后 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的 mRNA 水平较 HG 组均有所下降,并呈剂量依赖性,见图 2。在充分考虑药物毒性的前提下,为了让实验结果更加明确,在后续实验中,我们选取 2.5  $\mu$ mol/L 和 5  $\mu$ mol/L 2 个浓度的 PL。

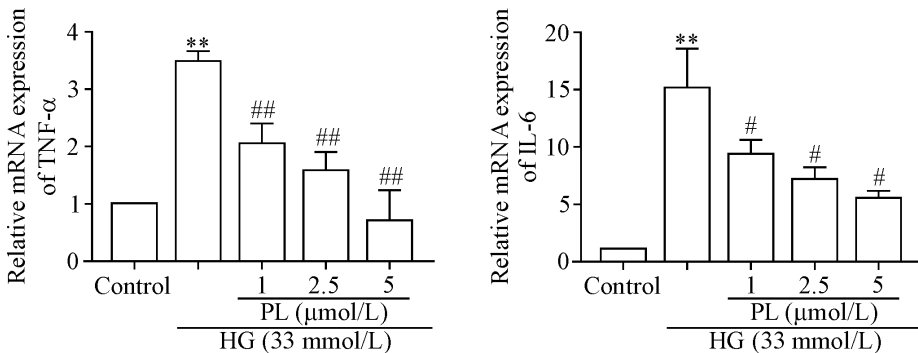


Figure 2. PL attenuated HG-induced cardiac inflammation in the H9C2 cells. The mRNA expression of TNF- $\alpha$  and IL-6 was detected by qPCR. Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*\*  $P < 0.01$  vs control group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$  vs HG group.

#### 图 2 PL 可抑制高糖诱导的 H9C2 细胞炎症因子的 mRNA 水平

**1.2 PL 可减轻高糖诱导的 H9C2 细胞纤维化** 将 H9C2 细胞用不同浓度 PL 预处理后,继续培养 48 h,收集蛋白。结果显示,高糖可增加纤维化标志蛋白

TGF- $\beta$  及 collagen IV 的表达 ( $P < 0.01$ ), PL 处理后表达下降,并呈剂量依赖性 ( $P < 0.01$ ),见图 3。

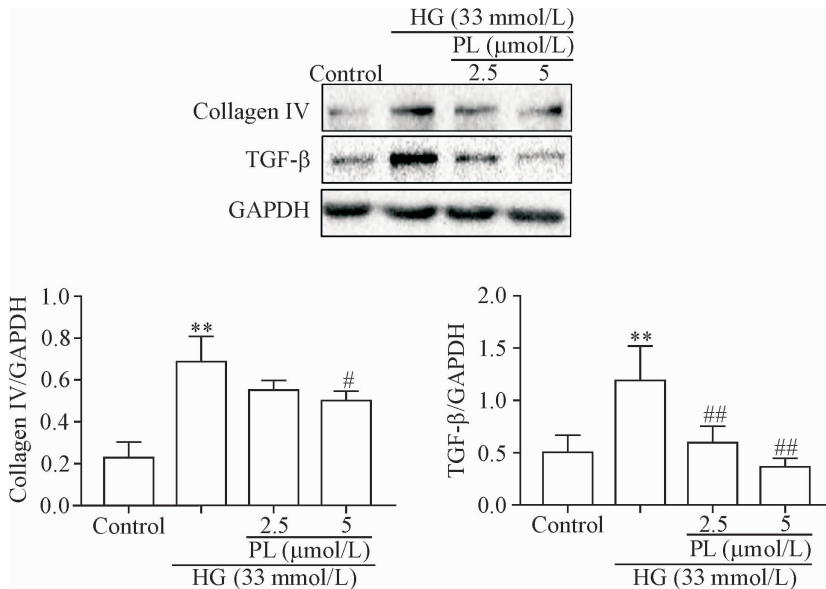


Figure 3. PL alleviated HG-induced cardiac fibrosis. The protein levels of collagen IV and TGF- $\beta$  were determined by Western blot. Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*\*  $P < 0.01$  vs control group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$  vs HG group.

图 3 PL 可减轻高糖诱导的 H9C2 细胞纤维化的蛋白表达

**2 PL 可缓解糖尿病心肌病小鼠的心肌损伤及纤维化**

HE 染色显示 T1DM 组心肌排列紊乱,细胞肥大,PL 可逆转此变化,见图 5。

PL 给药过程中并不影响糖尿病小鼠的血糖,见

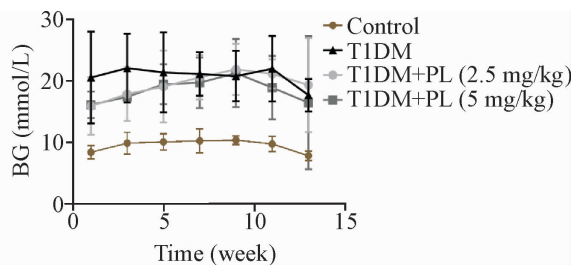
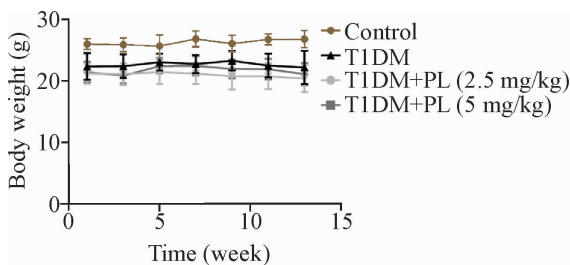


Figure 4. PL didn't change the weight and blood glucose (BG) levels in STZ-induced T1DM mice. Mean  $\pm$  SD.  $n = 5$ .

图 4 PL 不改变 STZ 造模的 1 型糖尿病小鼠的血糖和体重

超声心动图提示,在造模(T1DM)组,室间隔厚度较正常(control)组增加( $P < 0.01$ ),PL 给药后可以减轻室壁增厚( $P < 0.01$ )。功能性指标如射血分数(ejection fraction, EF)也反映出相同特征,T1DM 组小鼠的射血分数低于 control 组,PL 可增加糖尿病心肌病小鼠的射血分数( $P < 0.01$ ),从而改善心功能,见表 2。

**2.1 PL 缓解糖尿病心肌病小鼠心肌损伤** 心肌损伤的血清学指标如 CK-MB 及 LDH 在 T1DM 组小鼠中升高,然而使用 PL 可以使 CK-MB 及 LDH 均明显下降( $P < 0.01$ ),见图 6。

**2.2 PL 缓解糖尿病心肌病小鼠的心肌纤维化** 天狼星红染色所示,T1DM 组胶原纤维较 control 组增多,在应用 PL 后,胶原纤维较造模组明显减少,见图 5。

## 讨 论

糖尿病心肌病是指发生于糖尿病患者,不能用高血压性心脏病、冠状动脉粥样硬化性心脏病及其它心脏病变来解释的心肌疾病,包括心肌结构以及心脏功能的改变<sup>[9-10]</sup>。研究表明,多种因素参与了糖尿病心血管并发症的发生发展,如慢性炎性、氧化应

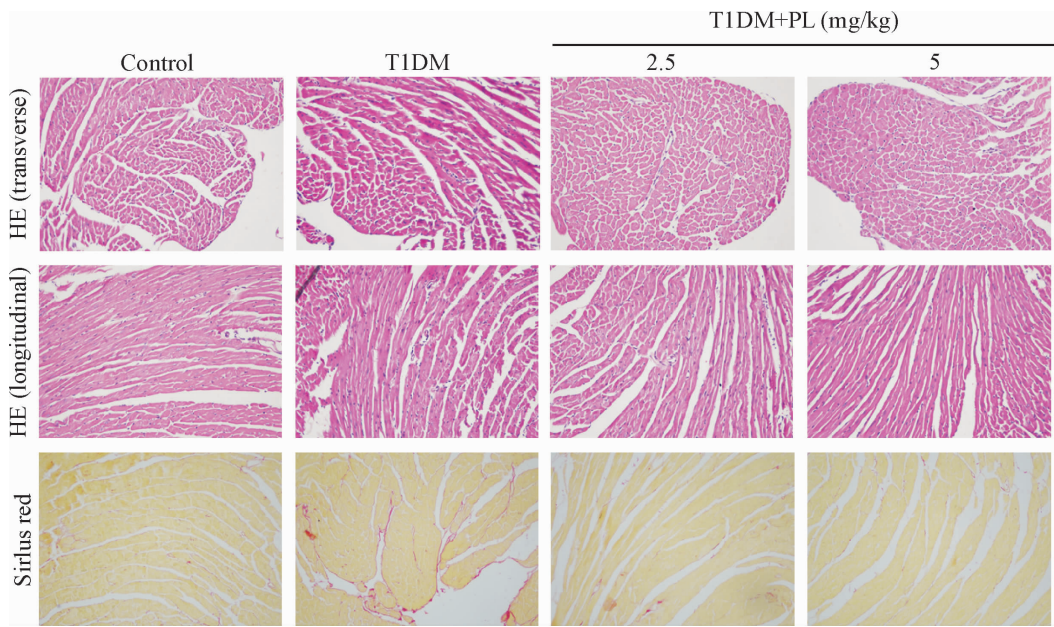


Figure 5. PL alleviated disorder of basic structure (HE staining,  $\times 200$ ) and cardiac fibrosis (Sirius red staining,  $\times 200$ ) in the diabetic cardiomyopathy mice.

图 5 PL 可缓解糖尿病心肌病小鼠的心肌结构紊乱及纤维化等病理变化

表 2 心脏超声心动图测量数据

Table 2. Echocardiographic data (Mean  $\pm$  SD.  $n = 5$ )

Index	Control	T1DM	T1DM + PL (2.5 mg/kg)	T1DM + PL (5 mg/kg)
IVSd (mm)	0.67 $\pm$ 0.03	0.71 $\pm$ 0.01 **	0.68 $\pm$ 0.01 ##	0.67 $\pm$ 0.01 ##
FS (%)	45.20 $\pm$ 1.84	36.38 $\pm$ 1.14 * *	40.06 $\pm$ 1.08	40.28 $\pm$ 1.06
EF (%)	83.56 $\pm$ 1.64	72.33 $\pm$ 1.53 * *	76.88 $\pm$ 0.87 #	78.25 $\pm$ 1.34 #
ICT (ms)	14.50 $\pm$ 1.69	26.00 $\pm$ 1.14 * *	21.00 $\pm$ 0.68 #	18.67 $\pm$ 3.33 #
Et (ms)	40.83 $\pm$ 1.64	55.83 $\pm$ 1.25 * *	50.33 $\pm$ 2.33	47.00 $\pm$ 3.63 #

IVSd: diastolic interventricular septal thickness; FS: fraction shortening; EF: ejection fraction; ICT: isovolumic contraction time; Et: ejection time; IRT: isovolumic relaxation time. \*\*  $P < 0.01$  vs control group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$  vs T1DM group.

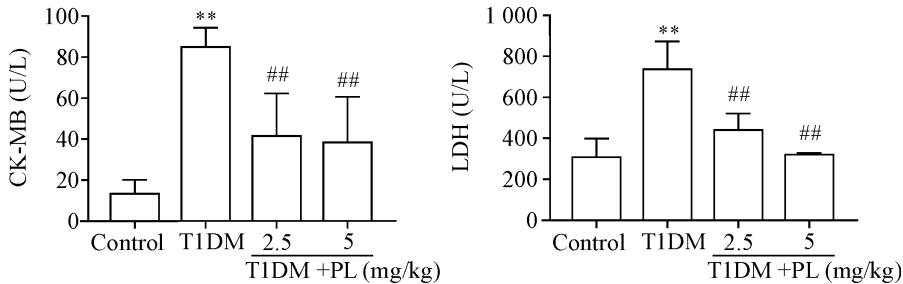


Figure 6. PL mitigated myocardial injury in T1DM mice. Serum CK-MB and serum LDH were examined. Mean  $\pm$  SD.  $n = 5$ . \*\*  $P < 0.01$  vs control group; ##  $P < 0.01$  vs T1DM group.

图 6 PL 可降低血清心肌损伤指标肌酸激酶同工酶和乳酸脱氢酶水平

激、细胞凋亡、胰岛素抵抗和内皮细胞功能失调等等<sup>[11-13]</sup>,相互交织共同作用,造成了心脏损害。炎症,特别是慢性炎症在糖尿病并发症的发生发展中发挥着重要作用。长期糖尿病导致的高糖环境可导致炎症因子如 TNF- $\alpha$  和 IL-6 等在体内释放增多,反复长期慢性炎症刺激,导致心肌细胞肥大、凋亡,心

肌间质纤维化等改变,可能是糖尿病心肌病结构和功能异常的主要原因<sup>[14]</sup>。

萆苈酰胺是从胡椒科植物萆苈的果穗中分离出的生物碱天然产物<sup>[15]</sup>,具有抑制肿瘤、抗炎和抗氧化等多种生物学活性<sup>[5]</sup>。已有研究成果表明,PL 通过抑制 NF- $\kappa$ B 磷酸化从而缓解炎症反应,同时,下调

MAPKs 的活性可成为 PL 抗炎的另一可能机制<sup>[16]</sup>。本研究表明,PL 可以减少高糖环境下炎症因子的表达,从而缓解高糖环境下的心肌细胞的纤维化;在 STZ 诱导的 1 型糖尿病小鼠模型中,PL 可降低心肌损伤指标 CK-MB 和 LDH 水平,改善心脏功能,减轻心肌纤维化。抑制炎症因子的释放,可能是 PL 缓解糖尿病心肌病的主要机制。

本研究证实,高糖诱导的慢性炎症可以促进糖尿病心肌病的发生发展,PL 可以抑制炎症因子的释放,我们可以推测 PL 对糖尿病心肌病可以产生保护性作用。但本研究并未涉及更深层次的机制,具体机制有待进一步探索。

综上所述,本项研究揭示了,PL 通过其抗炎作用缓解心肌纤维化和心肌损伤,从而对糖尿病心肌病小鼠的心肌产生保护性作用。因此,PL 可能成为糖尿病心肌病的潜在治疗药物,抑制炎症可能成为治疗糖尿病心肌病的潜在靶点。

#### [参 考 文 献]

[1] Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2018, 138:271-281.

[2] Wang ZV, Hill JA. Diabetic cardiomyopathy: catabolism driving metabolism[J]. *Circulation*, 2015, 131(9):771-773.

[3] Aneja A, Tang WH, Bansilal S, et al. Diabetic cardiomyopathy: insights into pathogenesis, diagnostic challenges, and therapeutic options[J]. *Am J Med*, 2008, 121(9):748-757.

[4] Liu F, Song R, Feng Y, et al. Upregulation of MG53 induces diabetic cardiomyopathy through transcriptional activation of peroxisome proliferation-activated receptor alpha[J]. *Circulation*, 2015, 131(9):795-804.

[5] 张 鹏,黄启来,华子春. 萆薢酰胺的药理作用研究

进展[J]. *中草药*, 2012, 43(1):201-204.

[6] 姚志峰,姚建新,刘永彪. 萆薢明碱抗肿瘤作用及其机制[J]. *国际肿瘤学杂志*, 2013, 40(4):259-263.

[7] Yao JX, Yao ZF, Li ZF, et al. Radio-sensitization by Piper longumine of human breast adenoma MDA-MB-231 cells *in vitro* [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(7):3211-3217.

[8] Golovine KV, Makhov PB, Teper E, et al. Piperlongumine induces rapid depletion of the androgen receptor in human prostate cancer cells[J]. *Prostate*, 2013, 73(1):23-30.

[9] Devereux RB, Roman MJ, Paranicas M, et al. Impact of diabetes on cardiac structure and function: the strong heart study[J]. *Circulation*, 2000, 101(19):2271-2276.

[10] 杨跃进,王 红,宋光远. 糖尿病心肌病[J]. *中国糖尿病杂志*, 2012, 20(10):794-796.

[11] Liu Q, Wang S, Cai L. Diabetic cardiomyopathy and its mechanisms: role of oxidative stress and damage[J]. *J Diabetes Investig*, 2014, 5(6):623-634.

[12] Levelt E, Gulsin G, Neubauer S, et al. Mechanisms in endocrinology: diabetic cardiomyopathy: pathophysiology and potential metabolic interventions state of the art review [J]. *Eur J Endocrinol*, 2018, 178(4):R127-R139.

[13] Rajesh M, Batkai S, Kechrid M, et al. Cannabinoid 1 receptor promotes cardiac dysfunction, oxidative stress, inflammation, and fibrosis in diabetic cardiomyopathy[J]. *Diabetes*, 2012, 61(3):716-727.

[14] Palomer X, Salvado L, Barroso E, et al. An overview of the crosstalk between inflammatory processes and metabolic dysregulation during diabetic cardiomyopathy[J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(4):3160-3172.

[15] 李瑞和,苏日纳,郭林云,等. 萆薢化学成分与药理作用研究概况[J]. *中国民族医药杂志*, 2006, 12(3):73-74.

[16] Sun LD, Wang F, Dai F, et al. Development and mechanism investigation of a new piperlongumine derivative as a potent anti-inflammatory agent [J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 95(3):156-169.

(责任编辑:陈妙玲,罗 森)