

基于UPLC-Q-TOF-MS联合网络药理学的桑源药材 不同入药部位改善胰岛素抵抗的物质基础

吴月峰, 刘金玲, 陈定芳, 朱志飞, 刘有志, 袁筱, 周晋*, 贺福元*
(湖南中医药大学药学院, 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室,
中医药超分子机理与数理特征化实验室, 长沙 410208)

[摘要] 目的: 基于液质联用联合网络药理学和分子对接技术比较桑源药材不同部位改善胰岛素抵抗(IR)物质基础异同。方法: 利用超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术分析桑源药材不同部位的成分差异; 用Sybyl-X2.1软件将成分与IR核心靶点进行对接, 以Total Score ≥ 5 为遴选条件, 绘制成分-疾病-靶点网络图; 计算单靶点-成分对接评分数据集与总靶点-成分对接评分数据集的总量统计矩标准相似度(TQSMSS), 筛选TQSMSS较高的靶点, 构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络, 利用R语言对其进行基因本体论(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。结果: 通过色谱-质谱技术共分析得到桑源药材的41种活性成分, 总量统计矩(相似度)法筛选桑枝、桑白皮、桑椹、桑叶TQSMSS ≥ 0.75 的靶点数量分别为20、23、30、27, 4味桑源药材中GO富集分析靶点功能排序为桑椹>桑叶>桑白皮>桑枝, 涉及到血糖稳态、糖代谢过程、葡萄糖跨膜转运等生物过程; 4味桑源药材KEGG通路富集排序为桑椹>桑枝>桑叶>桑白皮, 涉及到单磷酸腺苷激活的蛋白激酶(AMPK)能量代谢信号通路、胰岛素调控相关的信号通路、抗炎及抗氧化应激的信号通路等。结论: 该研究表明了桑源药材不同部位改善IR的物质基础存在差异, 为桑源药材不同部位的开发提供了依据。

[关键词] 桑枝; 桑白皮; 桑椹; 桑叶; 胰岛素抵抗; 高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS); 分子对接; 物质基础

[中图分类号] R284.2; R285; R289; R22; R2-031; R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)02-0149-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20221214 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220711.1740.003.html>

[网络出版日期] 2022-07-12 13:10

Chemical Constituents and Insulin Resistance Targets in Different Parts of *Morus alba* by UPLC-Q-TOF-MS Combined with Network Pharmacology

WU Yuefeng, LIU Jinling, CHEN Dingfang, ZHU Zhifei, LIU Youzhi,
YUAN Xiao, ZHOU Jin*, HE Fuyuan*

(Laboratory of Supramolecular Mechanism and Mathematic-Physics Characterization for Traditional Chinese Medicine (TCM), Hunan Key Laboratory of Druggability and Preparation Modification of TCM, School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the similarities and differences of material basis for improving insulin resistance (IR) in different parts of *Morus alba* based on liquid-mass combination combined with

[收稿日期] 2022-03-04

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81903759); 国家留学基金项目(201708430243); 湖南省教育厅科学研究项目(21A0256); 长沙市科学技术局项目(kq2004059); 湖南中医药大学药学一流学科开放基金项目(2021YX16); 湖南省研究生科研创新项目(CX20210711); 湖南省自然科学基金联合基金项目(2022JJ80090)

[第一作者] 吴月峰, 在读硕士, 从事中药质量分析与评价研究, E-mail: yuefen_g@163.com

[通信作者] * 周晋, 博士, 副教授, 从事药物制剂质量评价研究、中医药超分子与数理特征化的研究, E-mail: hnzhoujin@sina.com;

* 贺福元, 博士, 教授, 从事中药药理学、中药药剂学、中医药超分子与数理特征化的研究, E-mail: pharmsharking@tom.com

network pharmacology and molecular docking technology. **Method:** Ultra-high performance liquid chromatography tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) was used to analyze the composition differences in different parts of *M. alba*. Sybyl-X2.1 was used to connect components with IR core targets, and the selection criterion was Total Score \geq 5. The "component-target-disease" network map was drawn. The total statistical moment standard similarity (TQSMSS) between the single target-component docking score data set and the total target-component docking score data set was calculated. The targets with higher TQSMSS were screened out, and the protein-protein interaction (PPI) network was constructed. The Gene Ontology (GO) functional analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed using R language. **Result:** Forty-one active components were obtained by UPLC-Q-TOF-MS. According to the total statistical moment (similarity) method, there were 20, 23, 30, and 27 targets with TQSMSS \geq 0.75 in Mori Ramulus, Mori Cortex, Mori Fructus, and Mori Folium, respectively. In the four *M. alba* medicinal sources, the functional order of the targets by GO enrichment analysis was Mori Fructus>Mori Folium>Mori Cortex>Mori Ramulus, which were involved in biological processes such as blood glucose homeostasis, glucose metabolism, and glucose transmembrane transport. The order of the four *M. alba* medicinal sources by KEGG pathway enrichment analysis was Mori Fructus>Mori Ramulus>Mori Folium>Mori Cortex, which were involved in the adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) energy metabolism signaling pathway, the insulin regulation-related signaling pathway, the anti-inflammatory and anti-oxidative stress signaling pathway, and so on. **Conclusion:** This research demonstrates that there are differences in the material basis for improving IR by different parts of *M. alba*, which provides references for the development of different parts of *M. alba*.

[Keywords] Mori Ramulus; Mori Cortex; Mori Fructus; Mori Folium; insulin resistance; ultra-high performance liquid chromatography tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS); molecular docking; material basis

桑的不同部位(桑白皮、桑叶、桑椹和桑枝)都用来入药,且功效各异。4味桑源药材均具有改善胰岛素抵抗(IR)的功效,而桑不同部位治疗IR的药效及临床用药也存在着差异。吴志平等^[1]研究表明桑源药材不同部位乙醇提取物改善链脲佐菌素(STZ)所致糖尿病小鼠血糖水平顺序为桑枝>桑叶>桑皮>桑白皮。在临床上,利用桑白皮、桑椹、桑叶清热的作用,纠正患者因热邪入侵,伤气耗津造成的消渴症状,用桑枝治疗糖尿病周围神经病变引起的肢体疼痛、寒凉、麻木等消渴病痹证^[2]。但是桑源药材治疗IR的成分及成分-靶点作用机制尚未得到充分的阐释,故仍需展开工作明确其物质基础异同。

IR是指脂肪细胞、肌肉细胞和肝细胞对正常浓度胰岛素的代谢反应降低,即胰岛素的降糖功能下调。IR受到饮食方式、过度肥胖、长期久坐等因素影响发生,其病理机制主要包括胰岛素质量及数量异常、胰岛素受体异常、胰岛素信号转导通路异常、复杂分子作用等^[3]。IR可进一步发展为2型糖尿病(T2DM)、代谢综合征^[4]。现代医学认为IR和

T2DM及其并发症的发生和进展密切相关,改善IR是治疗T2DM的关键手段。

在前期研究中,本团队基于超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术鉴定了桑叶甲醇提取物成分^[5],确定了桑源药材成分鉴别的最佳色谱条件,并基于分子连接性指数分析法、信息熵和总量统计矩分析法探讨了桑源中药的物质基础异同^[6-7]。本研究拟用UPLC-Q-TOF-MS技术鉴定桑枝、桑白皮、桑椹和桑叶中的水提物化学成分,再结合分子对接、“化合物-靶点-疾病”网络分析、总量统计矩(相似度)法、网络药理学比较桑源药材不同部位改善IR的物质基础,助力桑的药用资源利用和新产品开发。

1 材料

Waters Acquity UPLC型超高效液相色谱仪,Em-power工作站,含四元梯度泵、自动进样器(美国Waters公司),SHB-III AS型循环水式真空泵(中兴伟业仪器有限公司),SB5200DTD型数控超声波清洗器(新芝生物科技股份有限公司),MS205DU型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司),MicroPette型

手动单道可调式移液器(20~200 μL)、TopPette型手动单道可调式移液器(100~1 000 μL)(大龙医疗设备有限公司);PINE-TREE型超纯水制水机(湘顺源科技有限公司)。

绿原酸、芦丁、异槲皮苷、槲皮素、木犀草苷、山柰酚(中国食品药品检定研究院,批号分别为110753-201415、100080-201409、111809-201403、100081-201610、111720-201609、110861-201611)。紫云英苷、氧化白藜芦醇、桑黄酮G、桑皮苷A(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为B21704、B21467、B24049、B21108,纯度均 $\geq 98\%$)。乙腈、甲醇(HPLC/Spectro,美国Tedia公司),水为超纯水,其他试剂均为分析纯。桑枝、桑白皮、桑椹、桑叶,均购买自湖南中医药大学第一附属医院。经湖南中医药大学石继连教授鉴定为桑科植物桑 *Morus alba* 的干燥嫩枝、干燥根皮、干燥果穗和干燥叶,低温干燥粉碎后过40目筛备用。

2 方法

2.1 桑源药材化学成分研究

2.1.1 供试品溶液的制备 分别精密称取绿原酸5.7 mg、芦丁6.1 mg、异槲皮苷4.3 mg、紫云英苷5.3 mg、槲皮素5.5 mg、木犀草苷3.1 mg、山柰酚2.4 mg、氧化白藜芦醇2.9 mg、桑黄酮G 5.1 mg、桑皮苷A 5.7 mg,分别置于25 mL量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,混合均匀,进样前稀释至1~100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,过0.22 μm 微孔滤膜,备用。

精密称取适量桑枝、桑白皮、桑椹、桑叶样品粉末1 g,置具塞锥形瓶中,加水30 mL,密塞,精密称定,超声提取(功率100 W,频率40 kHz)1 h,取出后放冷至室温,再次精密称定,加水补足质量,离心10 min(12 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$,4 $^{\circ}\text{C}$,离心半径14.8 cm),取上清液,用0.22 μm 微孔滤膜过滤后作为供试品溶液。

2.1.2 UPLC-Q-TOF-MS 条件 Waters Acquity UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 50 mm,1.7 μm);流动相0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~5 min,10%~16%B;5~9 min,16%~24%B;9~14 min,24%~76%B;14~20 min,76%~100%B;20~25 min,100%~10%B),进样量1 μL ,流速0.3 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测波长350 nm,柱温30 $^{\circ}\text{C}$ 。

电喷雾离子源(ESI),负离子模式,高纯氮气作为雾化器和辅助气,氩气作为碰撞气,离子源温度为100 $^{\circ}\text{C}$,去溶剂化温度400 $^{\circ}\text{C}$,锥孔气流50 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$,去溶剂化气流800 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$,喷雾电压-4 500 V,温度

600 $^{\circ}\text{C}$,碰撞电压30 V,校正离子 m/z 554.262 0,质量数扫描范围 m/z 100~1 200,数据采集时间25 min。

2.2 分子对接及网络药理学研究

2.2.1 疾病靶点蛋白的获取 在GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)检索“insulin resistance”,检索时间为2021年12月12日,以相关性分数(relevance score) ≥ 30 为筛选条件^[8],核实靶点的基因名,在蛋白质PDB结构数据库RCSB(<http://www.rcsb.org/>)搜索人源蛋白3D晶体结构的PDB格式文件。

2.2.2 分子对接及化合物-靶点-疾病网络构建 提取IR核心靶点蛋白晶体结构,去除结晶水、加氢和除去侧链的残基,有配体的蛋白晶体根据配体暴露活性位点生成活性口袋、无配体晶体结构采用自动模式生成活性口袋。将靶点与桑源药材活性成分进行对接,使用total score评价成分-靶点对的结合力度,total score ≥ 5 表示成分-靶点对存在较强的相互作用^[9]。采用Sybyl-X 2.1软件对本研究的对接方法进行方法学验证,抽离靶点蛋白原配体后,按上述操作重新对接计算均方根偏差(RMSD),RMSD值均 < 0.2 nm,表示本研究对接方法可行、可靠。统计每个活性成分对接评分 ≥ 5 的靶点数量,并用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)、SciFinder数据库(<https://scifinder-n.cas.org/>)查找活性成分的口服生物利用度(OB)、类药性(DL)、分子式等信息。把上述total score ≥ 5 的活性成分-靶点对导入Cytoscape 3.9.0软件中,绘制桑枝、桑白皮、桑椹和桑叶活性成分与疾病靶点网络图。

2.2.3 靶点-成分对接评分数据集TQSMSS的计算 用总量零阶矩(AUC_T)、总量一阶矩(MCRT_T)、总量二阶矩(VCRT_T)、总量统计矩标准相似度(TQSMSS)等参数对靶点-成分对接评分数据集进行分析,其中 AUC_T 表示所有成分的摩尔质量的加合; MCRT_T 为总靶点-成分对接评分的平均值; VCRT_T 为总靶点-成分对接评分的方差,TQSMSS即两标准正态概率分布曲线下重叠的面积^[9],以TQSMSS ≥ 0.75 为条件筛选潜在核心靶点。

2.2.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建 将总量统计矩(相似度)法筛选的潜在核心靶点导入到STRING蛋白数据库(<https://string-db.org/>),设置物种为“Homo sapiens”,combined score > 0.7 ,隐藏网络的无连接节点。将结果数据导入到Cytoscape 3.9.0软件中构建PPI网络,利用“Network Analyzer”

模块计算 Degree 值,按照 Degree 值大小构建 PPI 网络。

2.2.5 生物信息构建 基于 R 语言从生物过程 (BP)、细胞成分 (CC) 和分子功能 (MF) 3 个层面对潜在核心靶点进行基因本体论 (GO) 富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析,设置“org.Hs.eg.db”、 $P < 0.05$, GO 和 KEGG 可视化分别采用条形图和气泡图。

3 结果与分析

3.1 桑源药材化学成分 按 2.1.2 项下液质联用条件对桑枝、桑白皮、桑椹和桑叶 4 味药材成分进行定性检测分析,各样品在 ESI 负离子模式下获得了良好的响应值,见图 1。从桑枝中共指认出了 14 个化学成分,从桑白皮中共指认出了 18 种化学成分,从桑椹中共指认出了 17 个化学成分,从桑叶指认出了 19 种化学成分。共指认了 41 个化合物。

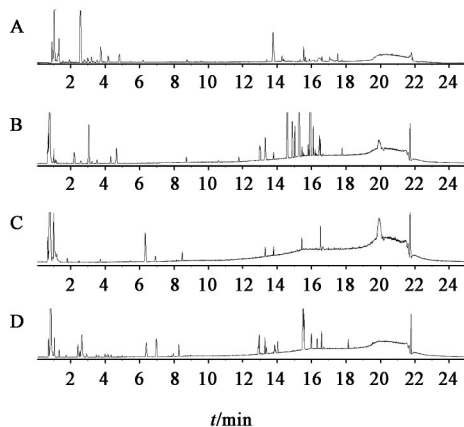


图 1 桑枝(A)、桑白皮(B)、桑椹(C)和桑叶(D)的 MS 质谱总离子流(TIC)

Fig. 1 Mass spectrum total ion chromatogram (TIC) of Mori Ramulus (A), Mori Cortex (B), Mori Fructus (C) and Mori Folium (D)

3.2 基于分子对接及化合物-靶点-疾病网络分析的桑源药材不同部位物质基础比较 在 GeneCards 数据库和蛋白质 PDB 结构数据库共查到 62 个 IR 核心靶点 PDB 文件。将潜在成分与 IR 核心靶点进行对接,分子对接模式见增强出版附加材料;桑枝的化合物 C2 与 IGFBP1 活性位点的 ASP223、ASN225、CYS226 等 5 个氨基酸残基形成氢键,与 ASN180、GLU9、TYR229 等 8 个氨基酸残基有疏水相互作用;桑白皮的化合物 C4 与 ABCC8 的 PHE1482、GLU1480、ASN1481 等 7 个氨基酸残基形成氢键,与 THR696、SER1483、CYS718 等 9 个氨基酸残基有疏水相互作用;桑椹的化合物 C14 与 IRS2 的

ASP1083、SER1086、ARG1136 等 11 个氨基酸残基有氢键作用,与 LEU1078、MET1139、ALA1028 等 8 个氨基酸残基有疏水相互作用;桑叶的化合物 C1 与 PIK3R1 的 VAL851、SER919、GLN859 等 4 个氨基酸残基有氢键作用,与 LEU807、MET922、ASP933 等 12 个氨基酸残基有疏水相互作用。在活性成分到达特定深度(颜色)的活性口袋内部疏水区后,活性口袋中的氨基酸残基可作为氢键给体与活性成分通过氢键相互结合,氨基酸残基-活性成分的作用的相互作用使得两者的结构稳定性较好。

以 total score ≥ 5 为对接结果的筛选条件,统计与靶点相关的 41 个活性成分的基本信息及其作用于 IR 潜在靶点的数量,结果见表 1,并做出桑源药材活性成分-IR 蛋白核心靶点网络图,见增强出版附加材料。其中 C1 作用于 49 个靶点;C2 和 C3 作用于 48 个靶点;C4 和 C5 作用于 46 个靶点;C6、C7 和 C8 作用于 45 个靶点。因此,可能是桑源药材作用于 IR 的关键活性化合物。

3.3 基于总量统计矩(相似度)法的桑源药材不同部位物质基础比较 单靶点-成分对接评分数据集 (STSD) 与总靶点-成分对接评分数据集 (TTSD) 的 TQSMSS 结果见表 2。TQSMSS ≥ 0.75 作为结果的筛选条件,桑枝的胰岛素受体底物 1 (IRS1)、整流性钾离子通道 J 家族 11 因子 (KCNJ11)、肝细胞核因子 1 α (HNF1A)、葡萄糖转运蛋白 4 (SLC2A4)、白细胞介素 (IL)-6、胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 2 (IGF2BP2) 等 STSD 与桑枝 TTSD 的 TQSMSS 大于临界值 0.75;桑白皮的 KCNJ11、HNF1A、雄激素受体 (AR)、肿瘤坏死因子 (TNF)、蛋白磷酸酶 1 调节亚基 3A (PPP1R3A)、蛋白激酶 B1 (Akt1) 等 STSD 与桑白皮 TTSD 大于临界值 0.75;桑椹的 HNF1A、蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 1 (PTPN1)、转录因子 7 类似物 2 (TCF7L2)、糖皮质激素受体 (NR3C1)、TNF 和小窝蛋白 -1 (CAV1) 等 STSD 与桑椹 TTSD 的 TQSMSS 大于临界值 0.75;桑叶的 HNF1A、IL-6、AR、TNF、Akt1、胰高血糖素 (GCG) 等 STSD 与桑叶 TTSD 的 TQSMSS 大于临界值 0.75。

3.4 基于网络药理学的桑源药材不同部位物质基础比较

3.4.1 PPI 网络分析 筛选出 TQSMSS ≥ 0.75 的靶点作为潜在的核心靶点,进行 PPI 网络互作分析,见增强出版附加材料。桑枝共有 17 个节点,102 条边,

表1 桑源药材活性成分及与IR核心靶点的对接

Table 1 Active ingredients of mulberry source and docking results with IR core targets

编号	TCMSP标识 /CAS标识	化合物	分子式	OB/%	DL	药物来源	total score≥5 的靶点数/个
C1	52146-61-9	木犀草素 7-O-(β-D-吡喃葡萄糖基-2-吡喃葡萄糖苷)	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	-	-	④	49
C2	94356-17-9	β-D-glucopyranose, 2-[(2E)-3-phenyl-2-propenoate] 1, 6-bis(3,4,5-trihydroxybenzoa)	C ₂₉ H ₂₆ O ₁₅	-	-	①	48
C3	MOL011621	芹菜素-7-O-芸香糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	7.86	0.75	④	48
C4	54542-51-7	6"-乙酰异槲皮苷	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	-	-	②	46
C5	54542-51-7	槲皮素-3-O-6"-乙酰基葡萄糖苷	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	-	-	②③④	46
C6	MOL008905	β-vicianosyl-3-quercetin	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	7.22	0.71	②③④	45
C7	MOL001624	根皮素	C ₁₅ H ₁₄ O ₅	1.33	0.17	①	45
C8	38681-85-5	槲皮素-3-O-α-鼠李糖-β-葡萄糖-α-鼠李糖苷	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₂	-	-	④	45
C9	147714-60-1	flavoplatycoside	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	-	-	①	44
C10	MOL000738	桑黄酮C	C ₂₅ H ₂₆ O ₆	1.22	0.58	①	44
C11	118169-27-0	山柰酚-3-O-6"-乙酰基葡萄糖苷	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₂	-	-	②③④	44
C12	MOL000416	落叶松树脂醇	C ₂₀ H ₂₄ O ₆	5.53	0.38	①	43
C13	MOL000561	紫云英苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	14.03	0.74	②③④	42
C14	2586048-09-9	矢车菊素-3,5-O-双葡萄糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	-	-	③	41
C15	MOL001415	山柰酚-3-O-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	2.77	0.74	③	41
C16	2185850-75-1	隐绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	-	-	①④	39
C17	MOL000415	芦丁	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	3.2	0.68	①②③④	39
C18	MOL012733	桑皮苷A	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₄	13.34	0.73	①②	37
C19	55136-76-0	槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖-(1→2)-β-D-葡萄糖苷	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	-	-	④	37
C20	MOL000110	异槲皮苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	7.47	0.30	①②③④	37
C21	MOL007932	山柰酚-3-O-芸香糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	5.15	0.73	④	36
C22	MOL012695	桑黄酮G	C ₄₀ H ₃₆ O ₁₁	3.01	0.51	②	35
C23	MOL003871	绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	13.61	0.31	①②③④	34
C24	MOL000098	槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	46.43	0.28	②	34
C25	MOL006407	新绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	18.05	0.33	①②③④	33
C26	MOL012688	氧化白藜芦醇	C ₁₄ H ₁₂ O ₄	109.29	0.13	①②	33
C27	MOL000735	环桑素	C ₂₅ H ₂₄ O ₆	9.84	0.84	①②	33
C28	345898-70-6	chalconmoracin	C ₃₉ H ₃₆ O ₉	-	-	②	33
C29	5373-11-5	木犀草苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	-	-	①③	31
C30	MOL003758	鸢尾甲黄素B	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	71.55	0.34	④	30
C31	MOL000002	矢车菊素	C ₁₅ H ₁₁ O ₆ ⁺	1.36	0.24	③	29
C32	23445-11-6	(2,5-二羟基苯甲酸酯)-1-葡萄糖	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	-	-	④	29
C33	90989-33-6	桑呋喃J	C ₃₄ H ₂₈ O ₉	-	-	②④	25
C34	MOL000422	山柰酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	41.88	0.24	②	21
C35	MOL000360	阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	39.56	0.06	③	17
C36	MOL001456	柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	56.22	0.05	③④	15
C37	MOL001468	苹果酸	C ₄ H ₆ O ₅	59.62	0.02	④	7
C38	MOL000114	香草酸	C ₈ H ₈ O ₄	35.47	0.04	③	6
C39	MOL000105	原儿茶酸	C ₇ H ₆ O ₄	25.37	0.04	③	3
C40	71815-36-6	takakin-8-glucuronide	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂	-	-	③	3
C41	MOL012811	白桦脂酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	15.52	0.78	②	3

注:①、②、③、④分别表示桑枝、桑白皮、桑椹和桑叶所含成分

表2 STDS与TTDS的TQSMSS

Table 2 TQSMSS between STDS and TTDS

靶点	名称	TTDS				靶点	名称	TTDS			
		桑枝	桑白皮	桑椹	桑叶			桑枝	桑白皮	桑椹	桑叶
INSR	胰岛素受体	0.527	0.715	0.754	0.747	ABCB1	三磷酸腺苷结合转运蛋白B1	0.592	0.443	0.525	0.490
INS	胰岛素	0.481	0.625	0.655	0.482	TBC1D4	蛋白质激酶B的底物蛋白	0.563	0.629	0.628	0.628
IGF1R	胰岛素样生长因子1受体	0.366	0.677	0.725	0.625	TNF	肿瘤坏死因子	0.884	0.938	0.930	0.957
IGF1	胰岛素样生长因子1	0.538	0.719	0.860	0.772	PPP1R3A	蛋白磷酸酶1调节亚基3A	0.689	0.960	0.823	0.789
IRS1	胰岛素受体底物1	0.766	0.686	0.747	0.767	ESR1	雌激素受体1	0.216	0.195	0.264	0.193
IRS2	胰岛素受体底物2	0.605	0.514	0.727	0.647	GH1	生长激素1	-	-	-	-
PPARG	过氧化物酶体增殖物激活受体 γ	0.523	0.730	0.825	0.786	IGFBP5	胰岛素样生长因子结合蛋白5	-	0.197	0.266	0.310
KCNJ11	整流性钾离子通道J家族11因子	0.784	0.946	0.782	0.883	IDE	胰岛素降解酶	0.854	0.812	0.880	0.847
HNF1A	肝细胞核因子1 α	0.970	0.980	0.982	0.911	HNF1B	肝细胞核因子1B	0.800	0.704	0.801	0.814
IGF2	胰岛素样生长因子2	0.674	0.695	0.722	0.736	MTNR1B	褪黑素受体1B	0.539	0.628	0.770	0.562
GCK	葡糖激酶	0.376	0.265	0.575	0.417	GHR	生长激素受体	-	-	-	-
SLC2A4	葡萄糖转运蛋白4	0.754	0.819	0.759	0.789	Akt1	蛋白激酶1	0.817	0.898	0.858	0.891
ABCC8	ATP结合C家族8因子	0.423	0.684	0.503	0.634	IGFBP4	胰岛素样生长因子结合蛋白4	0.750	0.798	0.737	0.861
PDX1	胰十二指肠同源异型盒基因1	0.477	0.451	0.683	0.699	CAV-1	小窝蛋白-1	0.511	0.889	0.958	0.727
IL-6	白细胞介素-6	0.925	0.874	0.860	0.949	BSCL2	先天性脂质营养不良II型蛋白	0.153	-	-	-
Akt2	蛋白激酶2	0.443	0.681	0.755	0.672	MAPK8IP1	丝裂原活化蛋白激酶8相互作用蛋白1	0.780	0.797	0.857	0.859
IGFBP1	胰岛素样生长因子结合蛋白1	0.598	0.687	0.767	0.708	IGF2R	胰岛素样生长因子2受体	0.313	#DIV/0!	0.370	0.320
HNF4A	肝细胞核因子4 α	0.464	0.179	0.434	0.309	IGFBP6	胰岛素样生长因子结合蛋白6	0.604	0.516	0.494	0.665
THRB	甲状腺激素受体 β	0.363	0.156	0.526	0.251	HMGA1	高迁移率族蛋白A1	-	-	-	0.213
LEP	瘦素	0.552	0.718	0.612	0.719	GCG	胰高血糖素	0.842	0.880	0.853	0.956
IGF2BP2	胰岛素样生长因子2 mRNA结合蛋白2	0.759	0.782	0.728	0.729	PRKAR1A	蛋白激酶A的RI α 调节亚基	0.244	0.230	0.240	0.431
ENPP1	外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶1	0.734	0.682	0.785	0.765	FoxP3	叉头状转录因子P3	0.337	0.620	0.567	0.680
SLC30A8	溶质载体家族30成员8	0.221	-	-	0.301	LIPE	激素敏感性脂肪酶	0.950	0.861	0.823	0.969
PIK3R1	磷脂酰肌醇3-激酶调节亚基	0.507	0.667	0.720	0.634	PRMT7	蛋白质精氨酸甲基转移酶7	0.837	0.878	0.834	0.865
IGFBP2	胰岛素样生长因子结合蛋白2	0.821	0.783	0.729	0.719	PDE4D	磷酸二酯酶4D	0.882	0.720	0.971	0.805

续表 2

靶点	名称	TTDSD				靶点	名称	TTDSD			
		桑枝	桑白皮	桑椹	桑叶			桑枝	桑白皮	桑椹	桑叶
PTPN1	蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型1	0.568	0.697	0.925	0.846	CRP	C反应蛋白	0.536	0.692	0.672	0.781
TCF7L2	转录因子7类似物2	0.588	0.885	0.889	0.850	STAT3	信号转导和转录激活因子3	0.750	0.942	0.847	0.986
LMNA	核纤层蛋白A/C	0.568	0.489	0.851	0.700	ABCC1	三磷酸腺苷结合盒亚家族C成员1	0.643	0.633	0.607	0.678
ADIPOQ	脂联素	0.261	-	0.258	-	LEPR	瘦素受体	0.678	0.894	0.717	0.813
AR	雄激素受体	0.739	0.915	0.760	0.904	F5	凝血因子V	0.906	0.841	0.826	0.915
NR3C1	糖皮质激素受体	0.928	0.767	0.933	0.692	SHBG	性激素结合球蛋白	0.965	0.928	0.962	0.952

注:-表示该靶点与成分相互作用不明显

名靠前;桑白皮共有20个节点,142条边,Akt1、IL-6、GCG、TNF、CAV1、NR3C1等靶点排名靠前;桑椹共有28个节点,270条边,TNF、IL-6、IGF1、GCG、CAV1、SLC2A4等靶点排名靠前;桑叶共有25个节点,Akt1、IRS1、GCG、IL-6、SLC2A4、KCNJ11等靶点排点,230条边,IRS1、IGF1、GCG、TNF、IL-6、CRP等靶点排名靠前。

3.4.2 GO富集分析 GO富集结果显示见增强出版附加材料,桑枝共有499个GO项目明显富集($P < 0.05$),492个在BP中富集,4个在CC中富集,3个在MF中富集,主要涉及胰岛素分泌、血糖稳态、碳水化合物稳态、葡萄糖导入、葡萄糖跨膜运输等生物过程。桑白皮共有859个GO项目明显富集($P < 0.05$),838个在BP中富集,5个在CC中富集,16个在MF中富集,主要涉及血糖稳态、碳水化合物稳态、调控小分子代谢过程、胰岛素分泌、糖代谢过程、正调控肽基-丝氨酸磷酸化、调控DNA结合转录因子活性等生物过程。桑椹共有1108个GO项目明显富集($P < 0.05$),1074个在BP中富集,11个在CC中富集,23个在MF中富集,主要涉及细胞对肽的反应、血糖稳态、碳水化合物稳态、葡萄糖导入、糖原生物合成过程的调控、葡聚糖生物合成过程的调控、己糖跨膜转运等生物过程。桑叶共有901个GO项目明显富集($P < 0.05$),879个在BP中富集,5个在CC中富集,17个在MF中富集,主要涉及血糖稳态、碳水化合物稳态、糖代谢过程、葡萄糖导入、葡萄糖跨膜转运、胰岛素分泌、调控前体代谢物和能量的生成等生物过程。4味桑源药材中靶点功能排序为桑椹>桑叶>桑白皮>桑枝。

3.4.3 KEGG富集分析 KEGG富集结果见增强出版附加材料,桑枝总共77条KEGG通路显著富集,

包括单磷酸腺苷激活的蛋白激酶(AMPK)信号通路、叉头框蛋白O1(FoxO1)信号通路、胰岛素信号通路、脂肪细胞因子信号通路、酪氨酸蛋白激酶(JAK)/信号转导子和转录激活子(STAT)信号通路等;桑白皮总共62条KEGG通路显著富集,包括脂肪细胞因子信号通路、晚期糖基化终末产物(AGE)/糖基化终末产物受体(RAGE)信号通路、AMPK信号通路、胰岛素信号通路、JAK/STAT信号通路、低氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路等;桑椹总共97条KEGG通路显著富集,包括AMPK信号通路、FoxO1信号通路、胰岛素信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/Akt信号通路等;桑叶总共66条KEGG通路显著富集,包括AMPK信号通路、FoxO1信号通路、胰岛素信号通路、HIF-1信号通路、MAPK信号通路、PI3K/Akt信号通路等。4味桑源药材中KEGG通路富集排序为桑椹>桑枝>桑叶>桑白皮。4味桑源药材都涉及到AMPK能量代谢信号通路、胰岛素调控相关的信号通路、抗炎及抗氧化应激的信号通路等。

4 讨论

中医认为IR是脾的病变,其证为本虚标实,疾病日久乃及心、肾,最终导致气阴亏虚及内热、痰湿、血瘀等,表现为消渴多饮、多食易饥、尿频尿多等症状^[10]。正如《黄帝内经·灵枢·本藏》曰:“脾坚则藏安难伤;脾脆则善病消痒易伤”^[11]。前期笔者基于本草考证发现桑叶、桑白皮和桑椹皆可治消渴,桑枝可治痹证,且无明显不良反应^[12],他们在治疗IR方面具有独特的优势,但是其物质基础异同仍未得到充分的阐述。

“化合物-靶点-疾病”网络分析结果显示的结果表明,木犀草素7-O-(β -D-吡喃葡萄糖基)-2-吡喃葡

葡萄糖苷)、芹菜素-7-*O*-芸香糖苷、6''-乙酰异槲皮苷、槲皮素-3-*O*-6''-乙酰基葡萄糖苷、根皮素、山柰酚-3-*O*-葡萄糖苷、桑黄酮G、异槲皮苷、矢车菊素-3,5-*O*-双葡萄糖苷等化合物的潜在作用靶点较多,在IR的治疗中可能发挥重要作用。根皮素等是桑枝的专属成分,通过抑制分化的3T3L1细胞细胞周期蛋白依赖性激酶(Cdk)5活化及相应过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 磷酸化,增加葡萄糖摄取,改善IR^[13]。6''-乙酰异槲皮苷、桑黄酮G是桑白皮的专属成分。6''-乙酰异槲皮苷可能通过抗炎、抑制脂肪生成改善肥胖相关的炎症反应^[14];桑黄酮G使IR的HepG2细胞明显增强葡萄糖摄取,并抑制蛋白酪氨酸磷酸酶1B表达^[15]。矢车菊素-3,5-*O*-双葡萄糖苷、山柰酚-3-*O*-葡萄糖苷等是桑椹的专属成分,研究表明,桑椹提取的的矢车菊素-3,5-*O*-双葡萄糖苷具有抗肥胖、抗炎作用,缓解C57BL/6J肥胖小鼠模型IR^[16-17],山柰酚-3-*O*-葡萄糖苷通过调节代谢和炎症通路减轻高脂和果糖饮食诱导Wistar大鼠肥胖、缓解IR^[18]。木犀草素7-*O*-(β -*D*-吡喃葡萄糖基-2-吡喃葡萄糖苷)、芹菜素-7-*O*-芸香糖苷等是桑叶的专属成分,具有抗氧化、抗炎等作用。研究表明,木犀草素能预防肥胖和脂肪肝变性,并通过降低血浆胃抑制多肽水平和肝糖原酶活性而缓解IR^[19],芹菜素可改善棕榈酸诱导的HepG2细胞和高脂饮食小鼠的IR和脂质蓄积^[20]。异槲皮苷是4味桑源药材所共有的成分,具有明显的改善IR作用,能增加HepG2细胞对葡萄糖的摄取,抑制AGEs诱导的GLUTag细胞损伤和凋亡^[21]。

总量统计矩(相似度)法是一种可靠的,抗干扰能力强,集特征与模糊分析于一体,并能与其他特征变量偶联分析方法,其表征体系包括AUC_T、MCRT_T、VCRT_T、TQSMSS等分析参数^[22]。如果单靶点-成分数据集与总靶点-成分数据集的TQSMSS较高,则可能说明了这些靶点在网络代谢中处于核心地位。桑枝TQSMSS高的靶点包括IRS1、KCNJ11、HNF1A、SLC2A4、IL-6和IGF2BP2等;桑白皮TQSMSS高的靶点包括KCNJ11、HNF1A、AR、TNF、PPP1R3A和Akt1等;桑椹TQSMSS高的靶点包括HNF1A、PTPN1、TCF7L2、NR3C1、TNF和CAV1等;与桑叶TQSMSS高的靶点包括HNF1A、IL-6、AR、TNF、Akt1和GCG等。分子对接模拟验证了这些靶点与成分结合活性较好,结合这些靶点蛋白在PPI网络与其他蛋白相互作用较多的结果,故认为他们是潜在核心靶点。HNF1A、TNF是4味

桑源药材共有的潜在核心靶点,HNF1A是一种在肝脏中高表达的转录因子,对IR及胰岛 β 细胞损伤具有重要的调控作用。HNF1A的I27L多态性被认为与IR有关,可能通过调节肝脏糖代谢相关酶和肝脏的胰岛素反应性影响IR^[23]。TNF是一种脂肪素和细胞因子,作为脂肪素与促进IR和肥胖诱导的T2DM紧密相关,作为刺激急性期反应的细胞因子主要被巨噬细胞释放,具有诱导发热、凋亡细胞死亡和炎症反应等作用^[24-25]。桑枝专属的潜在靶点BSCL2与先天性全身脂肪营养不良相关联,BSCL2基因突变可引起胰岛素作用缺陷^[26]。桑叶专属的潜在靶点HMGA1,他的缺乏会引起人和小鼠的IR,而其变异与T2DM的风险有关^[27]。

GO和KEGG富集分析表明,4味桑源药材对IR的治疗过程主要涉及血糖稳态、碳水化合物稳态、糖代谢过程、葡萄糖导入、葡萄糖跨膜转运、胰岛素分泌等过程,4味桑源药材中靶点功能排序为桑椹>桑叶>桑白皮>桑枝,4味桑源药材改善IR主要涉及到AMPK能量代谢信号通路,PI3K/Akt介导的胰岛素调控相关信号通路,MAPK、TNF、FoxO1介导的抗炎及抗氧化应激的信号通路等,4味桑源药材通过多种生物过程和信号通路参与改善IR。研究表明,桑枝通过PI3K/Akt/FoxO1信号通路负向调节FoxO1减轻STZ诱导糖尿病小鼠IR^[28],通过调控AMPK信号通路相关的靶点葡萄糖-6-磷酸酶(G6Pase)、葡萄糖激酶(GCK)和磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(PEPCK)的表达,增加INS1、INS2和胰十二指肠同源体-1(PDX-1)的表达,降低糖尿病小鼠的IR^[29];桑白皮通过抑制蛋白质酪氨酸磷酸酶1B和 α -葡萄糖苷酶改善IR^[15],通过IRS/Akt介导的胰岛素信号通路改善由高脂引起的认知功能损害和神经元缺陷^[30];桑椹通过AMPK/乙酰辅酶A羧化酶(ACC)/雷帕霉素的哺乳动物靶标(mTOR)能量代谢信号通路改善IR^[31],通过激活骨骼肌中的AMPK、磷酸化(p)-Akt底物160 kDa和抑制肝脏中的糖异生来改善高血糖和胰岛素敏感性^[32];桑叶通过AGEs/RAGE信号通路和p38 MAPK/核转录因子- κ B(NF- κ B)通路抑制AGE诱导GLUTag细胞损伤和细胞凋亡,增加葡萄糖摄取,促进HepG2细胞分化^[21],通过IRS1/PI3K/葡萄糖转运蛋4(GLUT4)胰岛素信号通路改善IR^[33]。

综上,本研究利用液质联用技术鉴定了桑枝、桑白皮、桑椹和桑叶成分,通过分子对接及化合物-靶点-疾病网络分析、总量统计矩(相似度)法、网络

药理学开展了桑源药材不同部位物质基础比较研究。然而未能考虑到桑源药材成分的药物动力学影响因素,如药物体内最低有效浓度、细胞色素P450等代谢酶对成分的代谢作用。需引入“网通虹势”理论研究桑源药材在体内的生物代谢差异^[34],结合基于平衡常数的药物代谢网络动力学模型研究多成分-多靶点互作关系,揭示桑源药材不同部位多成分在体内产生异效的物质基础及作用机制。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 吴志平,周巧霞,顾振纶,等. 桑树不同药用部位的降血糖效果比较[J]. 蚕业科学,2005,31(2):215-217.
- [2] 史银春,傅强,王世东,等. 国医大师吕仁和应用桑科植物治疗糖尿病及并发症临床经验[J]. 海南医学院学报,2021,27(13):1028-1031.
- [3] 孙丰卉,王秋虹,邱宗林,等. 中医药治疗2型糖尿病胰岛素抵抗的机制研究进展[J]. 医学综述,2018,24(20):4068-4072,4077.
- [4] 李佳欣,陈思琦,葛鹏玲. 2型糖尿病胰岛素抵抗研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2021,23(12):94-97.
- [5] 刘金玲,李文姣,王韧,等. 基于UPLC-Q-TOF/MS技术的桑叶化学成分快速识别分析[J]. 中国中医药信息杂志,2018,25(2):69-73.
- [6] 朱志飞,刘金玲,樊启猛,等. 基于指纹图谱段带总量统计矩法和信息熵的桑源药材成分比较分析研究[J]. 中国中药杂志,2021,46(10):2547-2555.
- [7] 吴月峰,朱志飞,刘金玲,等. 基于分子连接性指数探讨桑源药材不同入药部位“异效”的物质基础[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(13):152-160.
- [8] 李媚,陈盛君,王协和,等. 广藿香UPLC指纹图谱研究及基于网络药理学的广藿香潜在质量标志物预测[J]. 中草药,2021,52(9):2665-2677.
- [9] 樊启猛,杨岩涛,肖美凤,等. 基于分子对接技术的补阳还五汤成分与缺血性脑卒中靶点的相互作用研究[J]. 中草药,2019,50(17):4200-4208.
- [10] 牛丽华,于丰彦,周福生. 胰岛素抵抗的中医病机[J]. 中国医药指南,2008,6(24):383-384.
- [11] 徐芹庭. 细说黄帝内经[M]. 北京:新世界出版社,2007:124.
- [12] 吴月峰,陈定芳,朱志飞,等. 桑源中药用药规律及超分子作用机制研究[J]. 湖南中医药大学学报,2021,41(11):1807-1812.
- [13] KUMAR S, SINHA K, SHARMA R, et al. Phloretin and phloridzin improve insulin sensitivity and enhance glucose uptake by subverting PPAR γ /Cdk5 interaction in differentiated adipocytes[J]. Exp Cell Res, 2019, 383(1):111480.
- [14] AHN E M, ASAMENEW G, KIM H W, et al. Anti-obesity effects of *Petasites japonicus* (Meowi) ethanol extract on raw 264.7 macrophages and 3T3-L1 adipocytes and its characterization of polyphenolic compounds[J]. Nutrients, 2020, 12(5):1261.
- [15] PAUDEL P, YU T, SEONG S, et al. Protein tyrosine phosphatase 1B inhibition and glucose uptake potentials of mulberrofuran G, albanol B, and kuwanon G from root bark of *Morus alba* L. in insulin-resistant HepG2 cells: An *in vitro* and *in silico* study[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(5):1542.
- [16] KIM H B, GO E J, RYU B R, et al. Anti-obesity effect of mulberry anthocyanins in C57BL/6J mice [J]. Korean J Medicinal Crop Sci, 2021, 29(5):317-327.
- [17] WU T, QI X, LIU Y, et al. Dietary supplementation with purified mulberry (*Morus australis* Poir) anthocyanins suppresses body weight gain in high-fat diet fed C57BL/6 mice[J]. Food Chem, 2013, 141(1):482-487.
- [18] KHLIFI R, DHAOUFEI Z, TOUMIA I B, et al. Erica multiflora extract rich in quercetin-3-O-glucoside and kaempferol-3-O-glucoside alleviates high fat and fructose diet-induced fatty liver disease by modulating metabolic and inflammatory pathways in Wistar rats [J]. J Nutr Biochem, 2020, 86:108490.
- [19] HUANG Y, ZHANG X. Luteolin alleviates polycystic ovary syndrome in rats by resolving insulin resistance and oxidative stress [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2021, 320(6):E1085-E1092.
- [20] KWON E, KIM S Y, CHOI M. Luteolin-enriched artichoke leaf extract alleviates the metabolic syndrome in mice with high-fat diet-induced obesity [J]. Nutrients, 2018, 10(8):979.
- [21] LI J S, JI T, SU S L, et al. Mulberry leaves ameliorate diabetes via regulating metabolic profiling and AGEs/RAGE and p38 MAPK/NF- κ B pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 283:114713.
- [22] 贺福元,邓凯文,黄胜,等. 总量统计矩标准相似度数学模型的建立及应用研究[J]. 药学学报, 2013, 48(9):1453-1458.
- [23] YANG Y, ZHOU T, LIU Y, et al. Identification of HNF4A mutation p. T130I and HNF1A mutations p. I27L and p. S487N in a Han Chinese family with early-onset maternally inherited type 2 diabetes [J]. J Diabetes Res, 2016, 2016:3582616.
- [24] SETHI J K, HOTAMISLIGIL G S. Metabolic messengers: Tumour necrosis factor [J]. Nat Metab,

- 2021,3(10):1302-1312.
- [25] 李寒,王宁,马伯艳. 基于肝细胞焦亡的黄连温胆汤干预 IGT IR 的机制[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(13):3394-3401.
- [26] 朱大龙,陆菊明.《中国2型糖尿病防治指南(2020年版)》编写说明[J]. 中华糖尿病杂志, 2021, 13(4): 312-314.
- [27] CHIEFARI E, FOTI D P, SGARRA R, et al. Transcriptional regulation of glucose metabolism: The emerging role of the HMGA1 chromatin factor [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2018, 9: 357.
- [28] QIU F, WANG J, LIU H Y, et al. Mulberry bark alleviates effect of STZ inducing diabetic mice through negatively regulating FoxO1 [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019: 2182865.
- [29] LIU H Y, FANG M, ZHANG Y Q. *In vivo* hypoglycaemic effect and inhibitory mechanism of the branch bark extract of the mulberry on STZ-induced diabetic mice[J]. Sci World J, 2014, 2014: 614265.
- [30] YOU S, JANG M, KIM G. Mori Cortex radiceisattenuates high fat diet-induced cognitive impairment via an IRS/Akt signaling pathway [J]. Nutrients, 2020, 12(6): 1851.
- [31] YAN F, ZHENG X. Anthocyanin-rich mulberry fruit improves insulin resistance and protects hepatocytes against oxidative stress during hyperglycemia by regulating AMPK/ACC/mTOR pathway [J]. J Funct Foods, 2017, 30: 270-281.
- [32] CHOI K H, LEE H A, PARK M H, et al. Mulberry (*Morus alba* L.) Fruit extract containing anthocyanins improves glycemic control and insulin sensitivity via activation of AMP-activated protein kinase in diabetic C57BL/Ksj-db/db Mice[J]. J Med Food, 2016, 19(8): 737-745.
- [33] CAI S, SUN W, FAN Y, et al. Effect of mulberry leaf (Folium Mori) on insulin resistance via IRS-1/PI3K/ Glut-4 signalling pathway in type 2 diabetes mellitus rats[J]. Pharm Biol, 2016, 54(11): 2685-2691.
- [34] 贺福元,邓凯文,刘文龙,等. 中药复方对人体作用本质:“网通虹势”的多重遗传谱效动力学[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 240-247.

[责任编辑 顾雪竹]