

地蕊总黄酮抗 2 型糖尿病作用机制的网络药理学研究及实验验证

莫烨云, 朱盼, 唐雨菲, 李笑笑, 杨秋莉, 李金燕, 韦丽秋, 李丽*

广西中医药大学 药学院 广西高校中药神经-代谢及免疫药理重点实验室, 广西 南宁 530200

摘要: 目的 利用网络药理学方法研究地蕊总黄酮抗 2 型糖尿病的作用机制, 通过动物实验对靶点进行验证。方法 通过文献检索收集地蕊总黄酮的化学成分, 并在 Swiss Target Prediction 平台进行筛选; 依据 Swiss Target Prediction、GeneCards、TTD、DrugBank 数据库预测和筛选地蕊总黄酮成分治疗 2 型糖尿病的作用靶点; 由 Cytoscape 3.7.1 构建“成分-疾病-靶点”网络; String 数据库构建靶点蛋白相互作用 (PPI) 网络; R 语言对靶点基因进行基因本体 (GO) 富集分析及京都基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。以高脂饮食诱导和 ip 链脲佐菌素 (STZ) 方法构建 2 型糖尿病模型大鼠, 将 2 型糖尿病模型造模成功的 40 只大鼠随机分成模型组, 二甲双胍组 (0.2 g/kg) 组, 地蕊总黄酮 (0.34、0.45、0.60 g/kg) 组, 每组 8 只, 继续提供高脂饲料喂养, 另设对照组。各组每天 ig 相应药物, 1 次/d, 对照组和模型组 ig 0.5% CMC-Na 溶液, 连续给药 5 周。记录大鼠体重、饮水量和摄食量, 检测大鼠血糖及血脂的相关指标, 运用 qPCR 法检测地蕊总黄酮对 2 型糖尿病大鼠肝组织中磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (Akt)、腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 作用靶点的调控作用。Western blotting 法检测各组大鼠肝脏中 Akt、AMPK、固醇调节元件结合蛋白-1C (SREBP-1C) 的蛋白相对表达量。结果 从地蕊总黄酮成分中筛选得到槲皮素、芹菜素、柚皮素等 8 种活性成分, 作用于 98 个 2 型糖尿病靶点, GO 功能与 KEGG 富集分析表明, 地蕊总黄酮抗糖尿病主要通过调节 PI3K/Akt 信号通路、AMPK 相关信号通路等来发挥抗 2 型糖尿病的作用。动物实验证实, 地蕊总黄酮可降低 2 型糖尿病大鼠的空腹血糖 (FBG), 抑制血脂升高, 上调 2 型糖尿病大鼠肝脏 PI3K、Akt、AMPK mRNA 表达, 显著增加 Akt、AMPK 蛋白表达含量, 降低 SREBP-1C 蛋白表达含量 ($P < 0.01$ 、 0.05), 对糖、脂代谢紊乱均具有改善作用, 具有良好的抗 2 型糖尿病作用。结论 验证了地蕊总黄酮多成分、多靶点、多途径治疗 2 型糖尿病的特点, 其抗糖尿病的作用机制可能与调节 PI3K、Akt、AMPK、SREBP-1C 靶点的表达水平, 从而改善糖脂代谢紊乱有关, 为后续更进一步研究作用机制提供参考。

关键词: 地蕊总黄酮; 2 型糖尿病; 网络药理学; 验证; 槲皮素; 芹菜素; 柚皮素; 磷脂酰肌醇-3-激酶; 蛋白激酶 B; 固醇调节元件结合蛋白-1C

中图分类号: R977 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)01-0023-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.01.004

Mechanism of *Melastoma dodecandrum* flavonoids in treatment of type 2 diabetes mellitus on network pharmacology and validation

MO Yeyun, ZHU Pan, TANG Yufei, LI Xiaoxiao, YANG Qiuli, LI Jinyan, WEI Liqiu, LI Li

Key Laboratory of TCM Neuro-metabolism and Immunopharmacology of Guangxi Education Department, College of Pharmacy, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530200, China

Abstract: Objective To study the mechanism of anti type 2 diabetes by *Melastoma dodecandrum* flavonoid by using the method of network pharmacology, and to verify the related targets by animal experiments. **Methods** To collect the chemical constituents of *M. dodecandrum* flavonoids through literature search, and screen the target of *M. dodecandrum* in treatment of type 2 diabetes based on the Swiss Target Prediction, GeneCards, TTD, and DrugBank databases platform. To construct the “active ingredients - type 2 diabetes -

收稿日期: 2023-08-30

基金项目: 广西中医药重点学科壮药学 (GXZK-Z-20-64); 广西一流学科建设项目 (桂教科研[2022]1 号); 广西壮族自治区科学技术厅壮瑶药重点实验室项目 (桂科基字[2014]32 号); 广西协同创新中心建设项目 (桂教科研[2014]13 号); 广西壮族自治区民族药资源与应用工程研究中心资助项目 (桂发改高技函[2020]2605 号); 广西科技基地和人才专项 (桂科 AD21238031); 广西科技计划项目 (桂科 AB21196016); 广西中医药大学研究生教育创新计划项目 (YCSY2022008, YCSW2023387); 广西中医药大学校级科研项目 (2022MS013); 广西壮瑶药重点实验室立项课题 (GXZYZZ2022-16)

作者简介: 莫烨云, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药学。E-mail: 642439489@qq.com

***通信作者:** 李丽, 女, 教授。E-mail: lilygxn@163.com

potential target” by Cytoscape 3.7.1 software. The target protein interaction network was constructed through the String platform, GO enrichment analysis and KEGG metabolic pathway were analyzed through the R language analysis platform. To construct type 2 diabetes mellitus model rats high-fat diet induction and ip administered with streptozotocin method. 40 rats successfully modeled type 2 diabetes mellitus model were randomly divided into model group, metformin group (0.2 g/kg) group, and *M. dodecandrum* flavonoids (0.34, 0.45, 0.60 g/kg) groups, with 8 rats in each group. High-fat diet was continued and a control group was set up. Each group was given the corresponding drug intragaically once daily, the control group and model group were given 0.5% CMC-Na solution intragaically for 5 weeks. The body mass, water intake, and food intake of rats were recorded, and the related indexes of blood glucose and blood lipid of rats were detected. qPCR was used to detect the regulatory effects of *M. dodecandrum* flavonoids flavones on the targets of PI3K, Akt, and AMPK in liver tissue of type 2 diabetic rats. The protein expressions levels of Akt, AMPK, and SREBP-1c in liver tissues of rats in each group were detected by Western blotting. **Results** 8 Active ingredients such as quercetin, apigenin, naringin were screened from *M. dodecandrum* flavonoids and acted on 98 type 2 diabetes targets. GO function and KEGG enrichment analysis showed that *M. dodecandrum* flavonoids play an anti-diabetic role in type 2 diabetes mainly by regulating PI3K/Akt signaling pathway and AMPK related signaling pathway. Animal experiments confirmed that *M. dodecandrum* flavonoids can decrease FBG, inhibit the increase of blood lipid, up-regulate the mRNA expression of *PI3K*, *Akt*, and *AMPK* in liver of type 2 diabetic rats, and significantly increase the protein expression levels of Akt and AMPK, reduce the expression of SREBP-1C protein ($P < 0.01, 0.05$), can improve the metabolic disorders of sugar and lipid, and has a good anti-type 2 diabetes effect. **Conclusion** This study verified the characteristics of *M. dodecandrum* flavonoids in treatment of type 2 diabetes with multi-component, multi-target and multi-pathway. The anti-diabetic mechanism of *M. dodecandrum* flavonoids may be related to the regulation of the expression levels of PI3K, Akt, AMPK, and SREBP-1C targets, thereby improving the disorder of glucose and lipid metabolism, providing a reference for further research on the mechanism of action.

Key words: *Melastoma dodecandrum* flavonoids; type 2 diabetes; network pharmacology; experiments; quercetin; apigenin; naringin; PI3K; Akt; SREBP-1C

糖尿病是目前全球最突出的慢性疾病之一，其病因与遗传、环境、年龄等多种因素有关^[1]。相关研究表明，中药能显著改善糖尿病患者的血糖和临床指标，有效延缓糖尿病的进展^[2]。地蕊为野牡丹科植物地蕊 *Melastoma dodecandrum* Lour.的全草，广西民族民间主要用来治疗“消渴”“虚劳”“肠炎”等病证，是瑶医药的常用药材之一^[3]。在本课题组的前期研究中，地蕊不同部位提取物对胰岛素抵抗、链脲佐菌素（STZ）所致高血糖大鼠和小鼠模型均有不同程度的降血糖和调脂作用，其中地蕊总黄酮不仅能降低 2 型糖尿病大鼠的血糖，改善血脂及氧化应激紊乱，缓解糖尿病病程发展引起的肝肾功能损伤及胰腺病理损伤，且其代谢组学研究结果表明地蕊总黄酮发挥抗糖尿病药理活性的主要作用途径可能是苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成通路，甘油磷脂代谢通路，花生四烯酸代谢通路，牛磺酸和牛磺酸的代谢通路，胆汁酸的生物合成通路及烟酸和烟酰胺代谢通路^[4-17]。但地蕊总黄酮治疗 2 型糖尿病的物质基础及作用靶点仍不清楚。因此，本研究采用网络药理学研究方法，对地蕊总黄酮的化学成分及其治疗 2 型糖尿病的相关靶基因和代谢通路进行较全面系统地分析，探讨地蕊总黄

酮治疗 2 型糖尿病的作用机制；再结合动物实验以高脂饮食诱导和 ip STZ 构建 2 型糖尿病模型大鼠，记录大鼠体质量、饮水量和摄食量，检测血糖及血脂的相关指标，qPCR 法检测地蕊总黄酮对 2 型糖尿病大鼠肝组织中磷脂酰肌醇 3-激酶（PI3K）、蛋白激酶 B（Akt）、腺苷酸活化蛋白激酶（AMPK）作用靶点的调控作用，蛋白质印迹（Western blotting）法检测大鼠肝脏中 Akt、AMPK、胆固醇调节元件结合蛋白-1C（SREBP-1C）的蛋白表达量，为后续的机制研究提供一定的理论和实验基础。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠，180~220 g，购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司，许可证号 SCXK（湘）2019-0004；室内环境温度：21~25 ℃，相对湿度：50%~70%，在光照周期 12 h/12 h 环境中分笼适应性饲养。动物实验经广西中医药大学实验动物福利伦理委员会批准，批号 DW20230528-103。

1.2 材料与试剂

地蕊购于南宁小瑶王药店，由广西中医药大学药学院药用植物教研室梁子宁教授鉴定为地蕊 *Melastoma dodecandrum* Lour.的干燥全草。

链脲佐菌素(质量分数 $\geq 75\%$, 美国 Sigma 公司, 批号 20200320); 盐酸二甲双胍片(中美上海施贵宝制药有限公司, 规格 0.85 g/片, 批号 ABQ2906); 总 RNA 提取试剂盒(上海 Promega Corporation 公司; 批号 LS1040); 反转录试剂盒(赛默飞世尔科技公司, 批号 K1622); 无水乙醇(广州化学试剂厂); 引物(上海捷瑞股份有限公司); MaximaTMSYBRGreen/ROXqPCRMasterMix(赛默飞世尔科技公司, K0221); Akt 兔抗(Cell Signaling Technology, 货号#4685); AMPK 兔抗(Cell Signaling Technology, 货号#2603); SREBP-1C 兔抗[亚飞(上海)生物医药科技有限公司, 货号 AF6283]; GAPDH 鼠抗(上海康成科技发展有限公司, 货号 KC-5G4); PVDF 膜(美国密理博, 货号 IPVH00010); Marker(赛默飞世尔科技公司, 货号 PM2510); 蛋白定量分析试剂盒(上海博彩医疗器械有限公司, 货号 K3000); HRP 羊抗鼠(武汉博士德生物工程有限公司, 货号 BA1050); HRP 羊抗兔(武汉博士德生物工程有限公司, 货号 BA1054)^[2]。

1.3 主要仪器

匀浆机(Fastprep-24 MP); LX-100 离心机(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司); YXQ-LS-30S 立式压力蒸汽灭菌器(上海博迅实业有限公司医疗设备厂); SKG-01 电热恒温干燥箱(湖北省黄石市医疗器械厂); LightCycler96 PCR 仪(Roche 公司); TS-1 摇床(金坛市富华仪器厂); JS-680A 自动凝胶图像分析仪(上海培清科技有限公司); TGL-16 台式高速冷冻离心机(Cence); VE-186 电泳槽(上海天能科技有限公司)。

2 实验方法

2.1 网络药理学预测

2.1.1 地苿总黄酮化学成分的收集与筛选 利用文献报道^[3, 18-19]检索收集地苿黄酮类的化学成分, 在 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 平台, 根据化合物的吸收、分布、代谢、排泄(ADME)特性进行筛选^[3]。

2.1.2 活性成分作用靶点的筛选 利用 Swiss Target Prediction 平台, 预测活性成分的潜在靶点(Probability >0), 即得药物作用靶点基因。

2.1.3 疾病靶点的收集 在 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)、DrugBank 数据库(<https://www.drugbank.ca/>)、TTD 数据库(<https://TTD.org/>)中输入关键词“type 2 diabetes mellitus”

进行检索, 得到 2 型糖尿病相关靶基因。对从 GeneCards 数据库获得的靶点按中位数进行筛选, 3 个数据库去除重复基因, 即可得到与 2 型糖尿病相关的靶基因。

2.1.4 “成分-疾病-靶点”网络的构建 在 Venn 2.1 在线软件作图工具平台(<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/>)上分别录入地苿黄酮类成分靶点与 2 型糖尿病相关的作用靶点, 得到药物与疾病的共同靶点。由 Cytoscape 3.7.1 构建活性“成分-疾病-靶点”相互作用网络图。

2.1.5 靶蛋白相互作用网络(PPI)的构建 将作用靶点导入 String 数据库(<https://string-db.org/>), 选择 multiple proteins, 限定物种为 homo sapiens, 置信度 >0.4 , 构建 PPI 关系图, 并根据蛋白之间的关联度进行排序。

2.1.6 基因功能和通路富集分析 在 R 3.6.1 软件安装 Bioconductor 软件包“org.Hs.eg.db”并运行, 将药物-疾病共同靶点转换成 entrezID。然后在 R 软件安装“clusterProfiler”包, 根据已转换的 entrezID, 以 $P<0.05$, $Q<0.05$ 进行关键靶基因基因本体(GO)与京都基因与基因组百科全书(KEGG)功能富集分析, 将结果以条形图形式输出。

2.2 动物实验验证

2.2.1 地苿总黄酮的提取与制备 地苿全草粉碎后称取适量粉末, 按照药材质量与溶剂体积为 1:30 加入 50%乙醇溶液浸泡过夜, 使用真空抽滤泵对药液进行抽滤并收集抽滤液。使用真空旋转蒸发仪对抽滤液进行减压浓缩并收集浓缩液。使用 AB-8 大孔树脂对浓缩液进行纯化, 上样后依次用纯化水和 70%乙醇进行洗脱, 并收集 70%乙醇洗脱液。将洗脱液置于 55℃恒温水浴锅上干燥, 得到棕黄色地苿总黄酮粉末。经测定地苿总黄酮的质量分数为 73.9%, RSD 为 0.83%。对地苿总黄酮的最大给药量进行安全性测定, 结果显示地苿总黄酮 ig 的日最大给药量为 11.2 mg/g。动物给药前将地苿总黄酮粉末放入研钵中仔细研磨, 称取适量药粉加入 0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液, 配制不同浓度的地苿总黄酮混悬液, 置于 4℃冰箱保存备用。

2.2.2 2 型糖尿病大鼠模型建立、分组及给药 将 60 只 SPF 级 SD 雄性大鼠适应性饲养 1 周后, 根据体质量随机抽取 8 只大鼠给予普通维持饲料作为对照组, 其余大鼠均以高脂高糖饲料(普通饲料 73.5%、蔗糖 10%、猪油 10%、蛋黄粉 5%、胆固醇

1%、胆酸钠 0.5%) 连续喂养 6 周, 禁食不禁水 12 h 后, 按照 40 mg/kg 的剂量 ip STZ (临用前使用 pH 4.2 柠檬酸 - 柠檬酸钠缓冲液配成 1% 的溶液), 1 周后尾静脉采血, 测定空腹血糖 (FBG) ≥ 11.1 mmol/L 即为造模成功^[10-11]。

将 2 型糖尿病模型造模成功的 40 只大鼠随机分成模型组、二甲双胍组 (0.2 g/kg) 组、地恙总黄酮高剂量 (0.34、0.45、0.60 g/kg) 组, 每组 8 只, 继续提供高脂饲料喂养。各组每天 ig 相应药物, 1 次/d, 对照组和模型组 ig 0.5% CMC-Na 溶液, 连续给药 5 周。

2.2.3 样本收集与处理 给药 5 周后, 将大鼠用水合氯醛麻醉后腹主动脉取血, 处死大鼠, 在冰面上分离大鼠肝脏, 经冰生理盐水洗净后擦干称质量, -80°C 冷冻保存^[13]。

2.2.4 大鼠体质量、饮水量及摄食量 记录各组大鼠给药前后的饮水量、摄食量变化。每周将各组大鼠禁食不禁水 10 h 后检测和记录其空腹体质量值。

2.2.5 糖代谢指标 FBG 检测 在给药前、给药第

7、14、21、28、35 天, 将所有大鼠禁食不禁水 12 h 后经尾静脉采血, 使用罗式血糖仪测定大鼠 FBG。

2.2.6 脂代谢指标检测 按照试剂盒说明书检测各组大鼠血清中低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)。

2.2.7 qPCR 法检测大鼠肝脏组织 *PI3K*、*Akt*、*AMPK* mRNA 水平 用总 RNA 提取试剂盒提取大鼠肝脏总 RNA, 并测定浓度。按照逆转录试剂盒进行逆转录合成 cDNA, 用于 PCR 反应。根据 GenBank 中大鼠 *PI3K*、*Akt1*、*AMPK*、 β -actin 基因的 mRNA 序列, 用 Primer Premier 5.0 软件设计引物, 引物序列见表 1, 由上海捷瑞股份有限公司合成。PCR 反应体系 10 μL : SYBR Green Master Mix 5 μL , 上、下游引物各 0.5 μL , cDNA 模板 1 μL , ddH₂O 补至 10 μL 。PCR 反应条件: 95°C 预变性 10 min; 95°C 变性 15 s, 60°C 延伸 1 min, 共 40 个循环。每个样本重复 3 次。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

基因	引物序列 (5'→3')	片段长度/bp	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$
<i>PI3K</i>	正向: ACCTACACTTGGGGGACATC	134	60
	反向: TCCCCTCTCCCCAGTAGTTT		
<i>Akt</i>	正向: TAGGCATCCCTTCCTTACAG	235	60
	反向: GTCCAGCATGAGGTTCTCC		
<i>AMPK</i>	正向: TCCTCCAACGGGTTCTTT	202	60
	反向: TGGTTTGCTCTGGCTTCG		
β -actin	正向: GAGAGGGAAATCGTGCGT	93	60
	反向: GGAGGAAGAGGATGCGG		

2.2.8 Western blotting 法检测大鼠肝脏组织 Akt、AMPK、SREBP-1C 蛋白表达水平 制备肝组织匀浆, 裂解后提取肝组织总蛋白, 采用 BCA 试剂盒对蛋白进行定量。取适量的蛋白样本变性后进行电泳分离, 并转移至 PVDF 膜; 将 PVDF 膜封于 5% 脱脂奶粉孵育 2 h, 封闭完成后加入按倍数稀释好的 Akt、AMPK、SREBP-1C 一抗 4°C 孵育过夜; 孵育过夜后的 PVDF 膜洗涤后, 加入山羊抗兔二抗孵育继续 90 min; 孵育完成的 PVDF 膜洗涤后, 按照 ECL 发光试剂盒说明书操作, 使用凝胶系统进行观察并采集图像, 并用 JS-680A 自动凝胶成像分析仪器中 SensiAnsys 软件进行目的条带的灰度值分析。

2.2.9 数据处理 应用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 ANOVA 分析多组间比较, 采用 *t* 检验分析组间比较, 荧光定量 PCR 结果用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行计算。

3 网络药理学分析结果

3.1 黄酮类活性成分及其作用靶点

从文献检索出地恙黄酮类化学成分并通过 Swiss Target Prediction 数据库进行 ADME 筛选, 最终筛选出活性成分 12 个, 利用 Swiss Target Prediction 数据库进行靶点预测得到 776 个基因靶点, 删除重复项后得到 213 个药物潜在靶点。其中 4 个成分未预测到靶点, 其余 8 个活性成分见表 2。

表 2 地蕊黄酮类活性成分基本信息
Table 2 Basic information on the active ingredients of flavonoids in *M. dodecandrum*

化学成分	GI	DL
3, 7, 4'-trimethoxyquercetin	high	yes
apigenin	high	yes
diosmetin	high	yes
epicatechin-[8,7-e]-4β-(4-hydroxyphenyl)-3,4-dyhydroxyl-2(3H)-pyranone	high	yes
kaempferol	high	yes
luteolin	high	yes
naringenin	high	yes
quercetin	high	yes

3.2 疾病靶点的收集

基于 GeneCards、DrugBank、TTD 平台筛选、去重后，分别获得 1 151、116、81 个靶点，合并 3 个数据库的靶点，删除重复项后共得到 1 274 个疾病潜在靶点。

3.3 “成分 - 疾病 - 靶点”网络分析

使用 Cytoscape 软件构建“成分 - 疾病 - 靶点”相互作用网络图，如图 1 所示，其中长方形表示药物，三角形表示 8 个黄酮类成分，椭圆形表示这些活性成分对应的抗 2 型糖尿病作用相关靶点，菱形表示疾病，边代表活性成分与抗 2 型糖尿病靶点的相互作用。

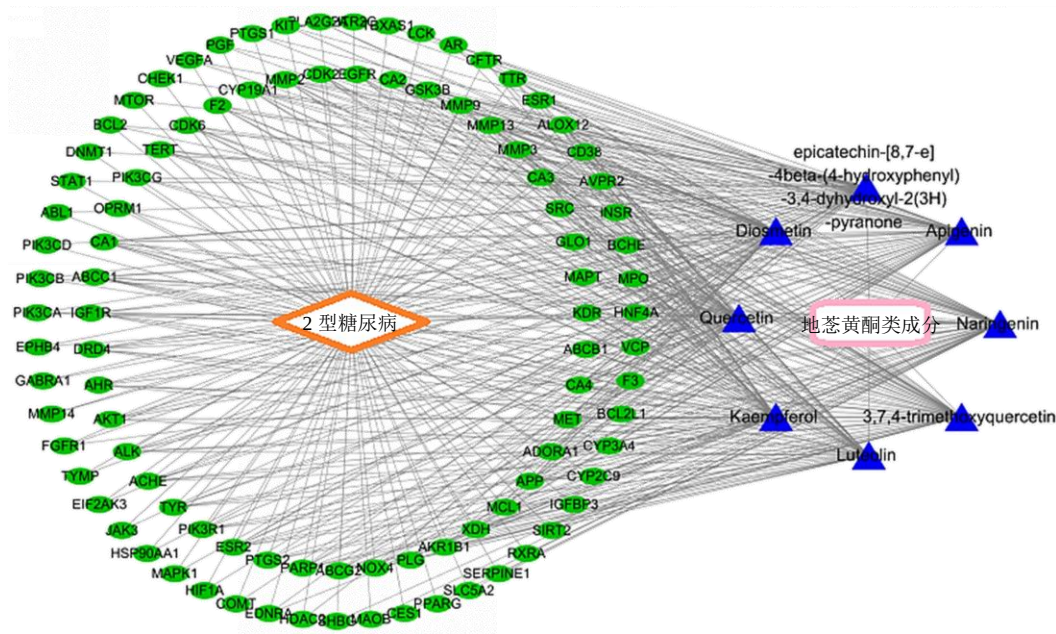


图 1 “成分 - 疾病 - 靶点”网络
Fig. 1 “Active ingredient - target - disease” network

3.4 靶蛋白 PPI 网络分析

在 String 数据库中录入上述 98 个共同靶点，分析得到 PPI 网络，如图 2 所示，节点表示靶点，每条边代表蛋白之间的相互作用关系，线条越多代表关联度越大。

PPI 网络中，共有 98 个节点，981 条边，平均节点度为 20，平均局部聚类系数为 0.54。排名前 30 位的靶点对应的边数如图 3 所示，可见蛋白激酶 B1 (Akt1)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、表皮生长因子受体 (EGFR)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)、络氨酸激酶 (SRC)、环状素受体 1 (ESR1)、磷酸肌醇 3 激酶调节亚基 1 (PIK3R1) 等靶点位于网络的核心位置，在 PPI 网络中发挥关键

调控作用。

3.5 GO 注释分析和 KEGG 富集分析

将 98 个共同靶点经 R 语言运行后，GO 分析选取生物学过程、细胞组分及分子功能 3 部分，得到交集基因集合共富集至 1 712 条生物学过程、53 条细胞组分、121 个与分子功能相关的过程。分别选取前 20 条结果形成 GO 功能富集的条形图，如图 4 所示，P 代表富集的显著性，颜色越深则显著性越高。交集基因主要参与抗氧化反应 (response to oxidative stress)、蛋白激酶 B 信号传导 (protein kinase B signaling)、脂酰肌醇 3-激酶信号 (phosphatidylinositol 3-kinase signaling)、对氧化应激的反应 (cellular response to oxidative stress) 等生

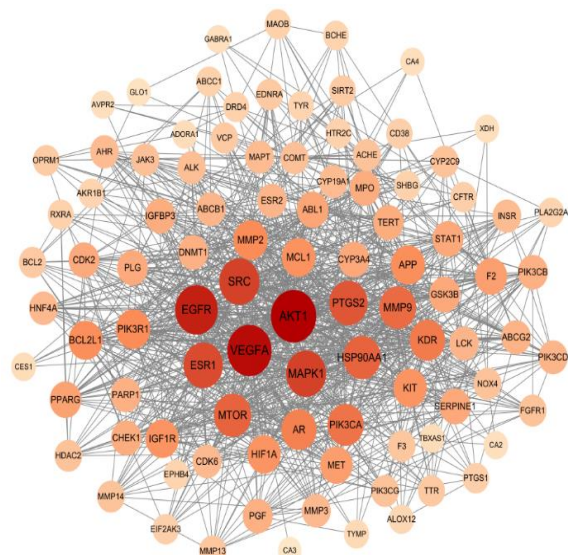


图 2 地蕊黄酮类靶点 PPI 网络图

Fig. 2 PPI network diagram of target of *M. dodecandrum* flavonoids

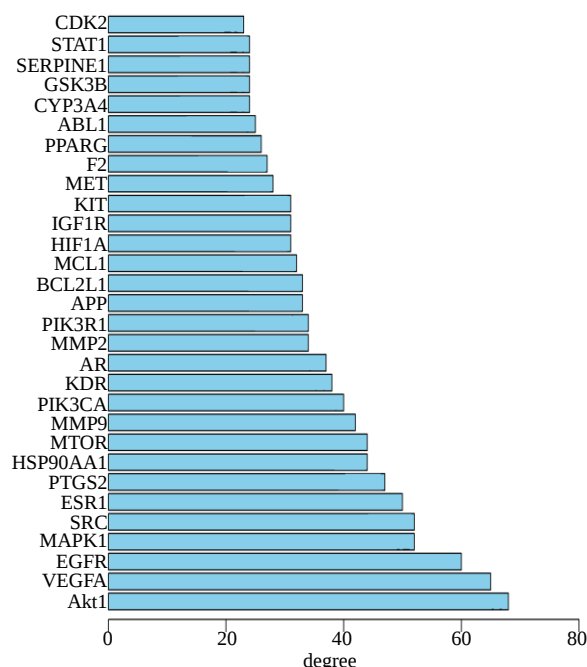


图 3 靶点对应的边数

Fig. 3 Number of edges corresponding to the target

物学过程；主要涉及磷脂酰肌醇 3-kinase 复合物 (phosphatidylinositol 3-kinase complex)、转移酶复合物, 转移含磷基团 (transferase complex, transferring phosphorus-containing groups)、膜筏 (membrane raft)、膜微结构域 (membrane microdomain)、膜区域 (membrane region 等细胞组分表达过程；主要富集蛋白质酪氨酸激酶活性 (protein tyrosine kinase activity)、蛋白磷酸酶结合 (protein phosphatase

binding)、磷酸酶结合 (phosphatase binding)、跨膜受体蛋白酪氨酸激酶活性 (transmembrane receptor protein tyrosine kinase activity) 等分子功能。

KEGG 分析发现, 交集基因富集在 126 条通路上, 主要涉及磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路 (PI3K/Akt signaling pathway)、缺氧诱导因子信号通路 (HIF-1 signaling pathway)、晚期糖基化终末产物-糖基化终末产物受体信号通路 (AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、酪氨酸激酶 - 信号转导及转录激活子信号通路 (JAK-STAT signaling pathway)、腺苷酸活化蛋白激酶信号通路 (AMPK signaling pathway)、肿瘤坏死因子信号通路 (TNF signaling pathway) 等。选取前 20 条目形成 KEGG 功能富集的条形图, 见图 4。

4 实验验证结果

4.1 地蕊总黄酮对 2 型糖尿病大鼠体质量、饮水量及摄食量的影响

如表 3、图 5 所示, 在给药 35 d 后, 与对照组相比, 模型组大鼠的饮水量及摄食量显著上升, 体质量显著下降 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 地蕊总黄酮 0.34、0.60 g/kg 组和二甲双胍组大鼠空腹体质量显著上升 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 地蕊总黄酮各剂量组和二甲双胍组大鼠的饮水量、摄食量均呈减少趋势但不显著。

4.2 地蕊总黄酮对 2 型糖尿病大鼠空腹血糖的影响

如表 4 所示, 在给药期间, 与对照组相比, 模型组大鼠 FBG 显著升高 ($P < 0.01$), 并持续处在高血糖状态; 与模型组相比, 各给药组大鼠也一直处于高血糖状态, 但 FBG 呈现逐渐下降趋势; 在给药第 28、35 天时, 除地蕊总黄酮 0.45 g/kg 组, 各给药组大鼠 FBG 均显著下降 ($P < 0.05$ 、0.01)。

4.3 地蕊总黄酮对 2 型糖尿病大鼠血脂的影响

如表 5 所示, 与模型组相比, 各给药组大鼠血清中 TG、TC、LDL-C 水平均下降 ($P < 0.05$ 、0.01), 地蕊总黄酮 0.45 g/kg 组及二甲双胍组 HDL-C 水平显著上升 ($P < 0.05$)。

4.4 地蕊总黄酮对 2 型糖尿病大鼠肝脏 *PI3K*、*Akt*、*AMPK* mRNA 表达的影响

如图 6 所示, 与模型组相比, 各给药组大鼠肝脏中 *Akt*、*AMPK* mRNA 相对表达量均显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01), 地蕊总黄酮 0.60 g/kg 组和二甲双胍组大鼠肝脏 *PI3K* mRNA 相对表达量显著升高 ($P < 0.05$)。

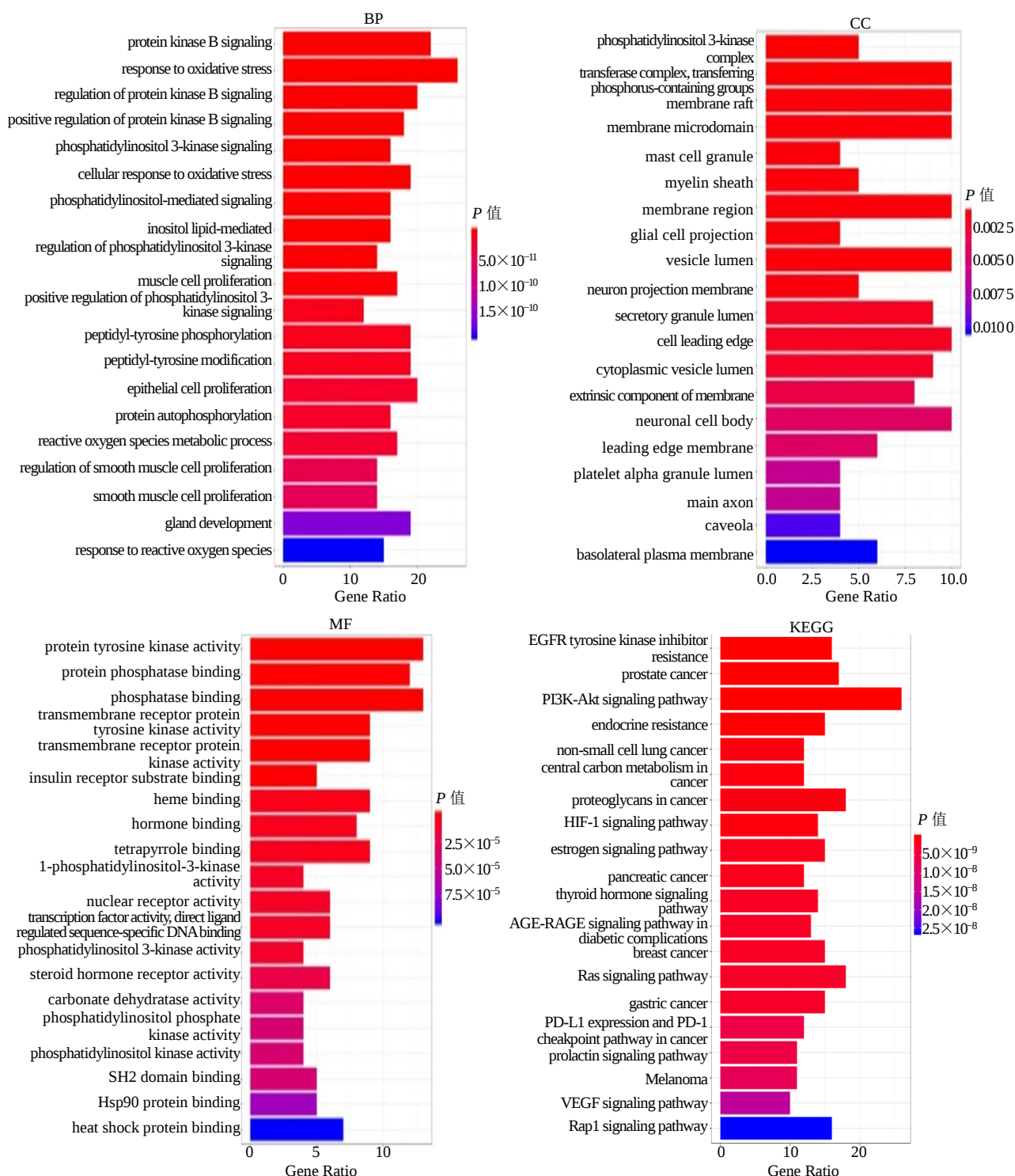


图 4 GO 功能富集和 KEGG 通路分析

Fig. 4 GO functional enrichment and KEGG pathway analysis

4.5 地恙总黄酮对 2 型糖尿病大鼠肝脏 Akt、AMPK、SREBP-1C 蛋白表达的影响

如图 7、表 6 所示，与模型组大鼠相比，地恙总黄酮各剂量组大鼠 Akt 蛋白表达水平显著升

高 ($P < 0.05$ 、 0.01)；地恙总黄酮 0.45、0.60 g/kg 组和二甲双胍组大鼠的肝脏 AMPK 蛋白表达水平平均显著增高 ($P < 0.01$)，而地恙总黄酮 0.34、0.45 g/kg 组大鼠肝脏中 SREBP-1C 蛋白表达水

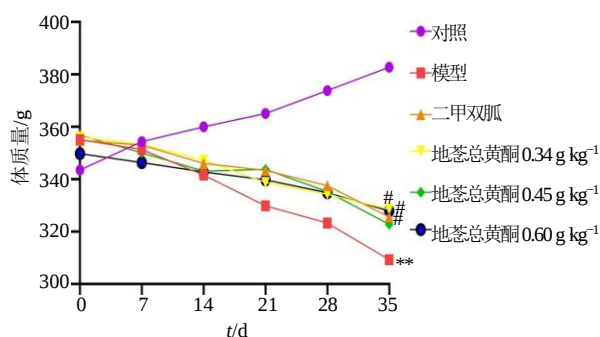
表 3 地总黄酮对 2 型糖尿病大鼠体质量、饮水量、摄食量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effects of *M. dodecandrum* flavonoids on body weight, water intake, and food intake in type 2 diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(g kg ⁻¹)	体质量/g		摄食量/(g 100 g ⁻¹)	饮水量/(mL 100 g ⁻¹)
		0 d	35 d		
对照	—	343.5 ± 24.1	382.8 ± 19.3	7.22	15.18
模型	—	355.1 ± 8.5	309.3 ± 10.8**	12.05**	56.63**
二甲双胍	0.25	354.9 ± 14.8	325.6 ± 13.8 [#]	10.24	45.22
地总黄酮	0.34	349.8 ± 16.8	327.9 ± 12.8 [#]	10.79	51.37
	0.45	356.8 ± 19.2	322.8 ± 14.2	10.74	52.30
	0.60	356.1 ± 17.2	328.5 ± 15.1 [#]	9.73	49.10

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group.



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group.

图 5 地总黄酮对 2 型糖尿病大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 5 Effect of *M. dodecandrum* flavonoids on body weight of type 2 diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

平均显著降低 ($P < 0.01$)。

3 讨论

糖尿病是一种多基因疾病, 随着时间的推移, 单靶向药物的有效性下降, 大多数患者需要增加剂量以维持治疗效果, 通常与多种不良反应有关^[20], 因此“一个靶点, 一种药物”可能不适用于 2 型糖尿病等多基因疾病。多项研究对植物性药物治疗糖尿病进行探索, 发现了传统民间药物含有多种具有抗糖尿病活性的活性成分, 如黄酮类、三萜类、生物碱和皂甙^[21-22]。基于药用植物的天然成分可以针对多种蛋白质, 调节多种途径, 从而产生协同效应。中草药具有多成分、多靶点、多途径的鲜明特点, 可能对糖尿病患者长期血糖的调控发挥重要作用。

本研究通过网络药理学构建“药物-成分-

表 4 地总黄酮对 2 型糖尿病大鼠空腹血糖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effect of *M. dodecandrum* flavonoids on fasting blood glucose in type 2 diabetes rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(g kg ⁻¹)	FBG/(mmol L ⁻¹)					
		0 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
对照	—	4.7 ± 0.2	4.7 ± 0.2	4.5 ± 0.2	4.6 ± 0.2	4.6 ± 0.1	4.5 ± 0.4
模型	—	18.4 ± 2.4**	18.2 ± 2.4**	18.6 ± 4.0**	17.7 ± 4.6**	18.3 ± 3.0**	17.8 ± 4.5**
二甲双胍	0.25	18.7 ± 2.1	18.4 ± 2.4	18.0 ± 2.1	16.1 ± 3.3	15.5 ± 1.8 [#]	13.8 ± 2.1 ^{##}
地总黄酮	0.34	18.3 ± 1.6	17.4 ± 3.4	16.4 ± 3.5	16.3 ± 2.9	15.4 ± 3.4 [#]	14.1 ± 2.5 ^{##}
	0.45	19.3 ± 1.7	19.2 ± 3.5	18.4 ± 2.1	16.5 ± 4.2	15.8 ± 3.0	14.2 ± 1.9 ^{##}
	0.60	18.7 ± 2.2	18.4 ± 3.4	17.0 ± 2.5	15.3 ± 3.5	14.8 ± 3.1 [#]	13.2 ± 2.3 ^{##}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group.

靶点-疾病”的互作网络, 筛选出了地总黄酮类成分抗 2 型糖尿病的物质基础可能是槲皮素、芦丁、山柰酚、芹菜素、柚皮素、香叶木素等, 相关研究

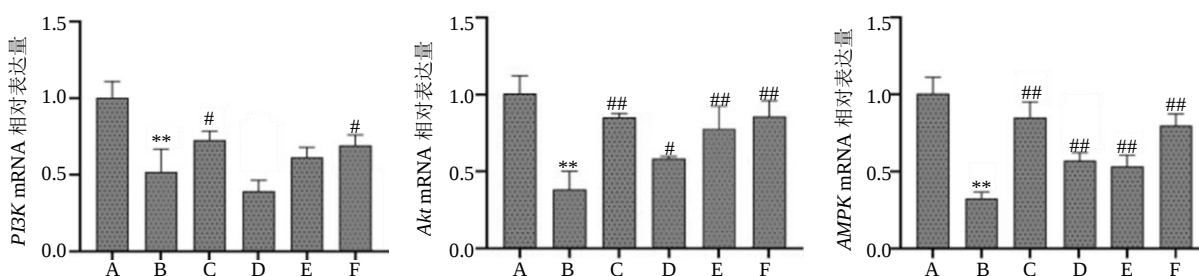
表明槲皮素能有效降低糖尿病大鼠血糖和胆固醇的水平以及调节血脂紊乱^[23]。芹菜素能够降低 STZ 诱导的糖尿病大鼠血糖、血脂水平, 增强机体抗氧

表 5 地蕊总黄酮对 2 型糖尿病大鼠血脂的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)Table 5 Effect of *M. dodecandrum* flavonoids on blood lipids in type 2 diabetes rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量/(g kg ⁻¹)	TC/(mmol L ⁻¹)	TG/(mmol L ⁻¹)	HDL-C/(mmol L ⁻¹)	LDL-C/(mmol L ⁻¹)
对照	—	1.70 ± 0.05	0.62 ± 0.06	2.25 ± 0.21	0.30 ± 0.05
模型	—	2.53 ± 0.37**	1.25 ± 0.10**	1.84 ± 0.18**	0.42 ± 0.07**
二甲双胍	0.25	2.03 ± 0.24##	0.98 ± 0.08##	2.11 ± 0.17#	0.35 ± 0.08#
地蕊总黄酮	0.34	2.05 ± 0.25##	1.03 ± 0.09##	2.07 ± 0.35	0.32 ± 0.06##
	0.45	1.99 ± 0.33##	0.95 ± 0.15##	2.11 ± 0.30#	0.29 ± 0.05##
	0.60	1.85 ± 0.50##	1.01 ± 0.12##	1.93 ± 0.21	0.33 ± 0.04##

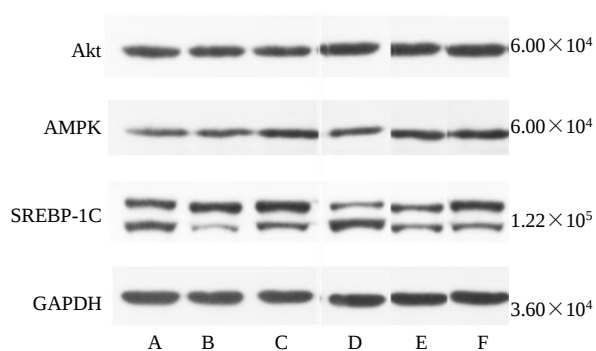
与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.



A-对照 B-模型 C-二甲双胍 D-地蕊总黄酮 0.34 g kg⁻¹ E-地蕊总黄酮 0.45 g kg⁻¹ F-地蕊总黄酮 0.6 g kg⁻¹; 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

A-control B-model C-metformin D-*M. dodecandrum* flavonoids 0.34 g kg⁻¹ E-*M. dodecandrum* flavonoids 0.45 g kg⁻¹ F-*M. dodecandrum* flavonoids 0.6 g kg⁻¹; ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

图 6 地蕊总黄酮对 2 型糖尿病大鼠肝脏基因 *PI3K*、*Akt*、*AMPK* mRNA 相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)Fig. 6 Effects of *M. dodecandrum* flavonoids on the relative mRNA expression of *PI3K*, *Akt*, and *AMPK* in liver of type 2 diabetes rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

A-对照 B-模型 C-二甲双胍 D-地蕊总黄酮 0.34 g kg⁻¹ E-地蕊总黄酮 0.45 g kg⁻¹ F-地蕊总黄酮 0.6 g kg⁻¹

A-control B-model C-metformin D-*M. dodecandrum* flavonoids 0.34 g kg⁻¹ E-*M. dodecandrum* flavonoids 0.45 g kg⁻¹ F-*M. dodecandrum* flavonoids 0.6 g kg⁻¹

图 7 地蕊总黄酮对 2 型糖尿病大鼠肝脏 *Akt*、*AMPK*、*SREBP-1C* 蛋白表达量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)Fig. 7 Effect of *M. dodecandrum* flavonoids on protein expression of *Akt*, *AMPK*, *SREBP-1C* in liver of type 2 diabetes rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

化能力、降低自由基损伤、改善肝功能^[24]。柚皮素具有抑制 α -葡萄糖苷酶活性和晚期糖基化终末产物 (AGEs) 生成的能力,前者能催化水解低聚糖生成葡萄糖,上升餐后血糖,后者过度积累会导致糖尿病并发症的发生发展^[25]。因此推测地蕊总黄酮中抗 2 型糖尿病的主要活性成分可能为槲皮素、芹菜素、柚皮素等。

PPI 网络分析发现地蕊总黄酮通过多靶点发挥抗 2 型糖尿病的作用,关键靶点可能是 *Akt1*、*VEGFA*、*EGFR*、*MAPK1*、*SRC*、*ESR1*、*PIK3R1*, *Akt* 属于丝/苏氨酸蛋白激酶家族,是一种调节细胞生长、存活和增殖的多功能蛋白,表达于多种组织中,在 2 型糖尿病的发生中起关键作用^[26]。*Akt* 有 3 个亚型,即 *Akt1*、*Akt2*、*Akt3*,而 *Akt1* 在体内组织中广泛表达^[27],许多研究证实 *Akt1* 多态性可能与 2 型糖尿病的发生有关^[26]。*PI3K* 是 *Akt* 信号通路中的关键蛋白,可调节细胞存活、生长、分化、葡萄糖运输和利用^[28]。*PIK3R1* 基因编码 *PI3K* 蛋白

表 6 地蕊总黄酮对 2 型糖尿病大鼠肝脏 Akt、AMPK、SREBP-1C 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)
Table 6 Effect of *M. dodecandrum* flavonoids on protein expression of Akt, AMPK, and SREBP-1C in liver of type 2 diabetes rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	剂量/(g kg ⁻¹)	Akt/GAPDH	AMPK/GAPDH	SREBP-1C/GAPDH
对照	—	0.372 ± 0.062	0.291 ± 0.060	0.333 ± 0.017
模型	—	0.322 ± 0.059	0.280 ± 0.069	0.389 ± 0.062*
二甲双胍	0.25	0.416 ± 0.076	0.550 ± 0.033 ^{##}	0.345 ± 0.056
地蕊总黄酮	0.34	0.468 ± 0.053 [#]	0.346 ± 0.030	0.314 ± 0.038 ^{##}
	0.45	0.490 ± 0.084 ^{##}	0.400 ± 0.058 ^{##}	0.298 ± 0.056 ^{##}
	0.60	0.519 ± 0.032 ^{##}	0.442 ± 0.057 ^{##}	0.341 ± 0.060

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group.

的调节亚基,可与 p110 催化亚基形成 PI3K 蛋白^[29]。PIK3R1 在胰岛素信号转导中发挥着至关重要的作用^[28],其多态性与 2 型糖尿病易感性有关^[30],沉默 PIK3R1 可减轻小鼠的胰岛素抵抗^[31]。因此 Akt1、PIK3R1 极有可能成为有价值的 2 型糖尿病治疗靶点,为 2 型糖尿病的治疗提供新的方向。

对靶点进行 KEGG 分析表明影响的相关通路可能为 PI3K/Akt、AMPK 信号通路,胰岛素信号通路是涉及蛋白质、糖类、脂代谢和生长调控的多条信号通路,其中 PI3K/Akt 信号通路是胰岛素信号转导的重要节点,可调节血糖摄取、细胞代谢、细胞存活、增殖、迁移和糖原合成^[32-33]。AMPK 通路与 PI3K/Akt 通路作为一种中枢能量调节器,在体内调节葡萄糖稳态和脂质代谢中起着重要作用^[34]。有研究表明 AMPK 激活能调节 PI3K/Akt 信号通路,改善肝脏、骨骼肌、脂肪组织糖脂代谢^[34]。PI3K/Akt 途径也介导脂质合成, SREBP-1C 在肝脏中的过度表达选择性地诱导脂质合成基因的表达。据报道, Akt 可调节 mTORC1-S6K1 途径,以调节肝脏中 SREBP-1C 的表达^[35]。AMPK 也可以通过调节 SREBP-1C 的表达来调节脂质代谢,激活脂肪酸、三酰甘油和胆固醇合成相关的基因^[36]。本研究动物实验中地蕊总黄酮能显著上调 2 型糖尿病大鼠肝脏 PI3K、Akt、AMPK mRNA 表达,表明地蕊总黄酮可能缓解 PI3K/Akt、AMPK 胰岛素信号通路的损伤; Western blotting 实验结果显示, Akt、AMPK 蛋白表达量有降低但差异不具显著性,原因可能是 mRNA 翻译成蛋白的生物学过程具备太多可能性,且它们是通过调控下游产生联级效应,放大通路末端的蛋白 SREBP-1C 进而产生调控作用,因此 SREBP-1C 的蛋白表达水平显著降低,说明地蕊总黄酮在一定

程度上可能通过影响 PI3K/Akt/SREBP-1C、AMPK/SREBP-1C 通路抑制 2 型糖尿病大鼠的脂质积累。

综上所述,本研究应用网络药理学方法并结合动物实验,对地蕊黄酮类成分与 2 型糖尿病之间复杂网络关系进行研究,筛选出了地蕊黄酮类成分抗 2 型糖尿病的可能物质基础和作用靶点及其抗糖尿病的作用机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Yue S J, Liu J, Feng W W, et al. System pharmacology-based dissection of the synergistic mechanism of Huangqi and Huanglian for diabetes mellitus [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 694.
- [2] Tian J, Jin D, Bao Q, et al. Evidence and potential mechanisms of traditional Chinese medicine for the treatment of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2019, 21(8): 1801-1816.
- [3] 王金凤, 张评许, 王雨彤, 等. 民族药地蕊研究进展 [J]. *中草药*, 2018, 49(5): 1211-1219.
- [4] 李丽, 周芳. 地蕊提取物对高血糖模型小鼠血糖的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(20): 187-189.
- [5] 李丽, 罗泽萍, 周焕第, 等. 地蕊提取物降血脂作用的实验研究 [J]. *时珍国医国药*, 2012, 23(11): 2783-2784.
- [6] 李丽, 罗泽萍, 周焕第, 等. 地蕊醇提取物对正常小鼠血糖及糖耐量的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2013, 24(3): 631-632.
- [7] 李丽, 罗泽萍, 周焕第, 等. 地蕊正丁醇萃取物对链脲佐菌素致糖尿病模型小鼠的影响 [J]. *医药导报*, 2014, 33(2): 173-176.
- [8] 李丽, 罗泽萍, 杨秀芬, 等. 地蕊醇提取物对糖尿病模型小鼠血糖的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(11): 3091-3093.

- [9] 李丽, 罗泽萍, 周焕第, 等. 地苿乙酸乙酯提取部位对糖尿病小鼠血糖、血脂及抗氧化作用的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(12): 3250-3252.
- [10] 翁竞玉, 罗泽萍, 陈俊, 等. 地苿乙酸乙酯提取部位提取液对糖尿病大鼠糖代谢的影响及其机制 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(3): 654-656.
- [11] 翁竞玉, 周敬凯, 陈静梅, 等. 地苿黄酮对糖尿病小鼠糖脂代谢及氧化应激的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(9): 1950-1953.
- [12] 周敬凯, 黄馨慧, 刘舒凌, 等. 地苿总黄酮对胰岛素抵抗小鼠的干预作用及机制研究 [J]. 中国畜牧兽医, 2020, 47(9): 3030-3037.
- [13] 李丽, 梁丽清, 庞珍莲, 等. 地苿粗多糖对 STZ 致糖尿病小鼠血糖、血脂及抗氧化作用的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(10): 2153-2156.
- [14] 周敬凯, 翁竞玉, 朱盼, 等. 地苿总黄酮对高脂饮食大鼠减肥作用及肠道菌群的影响 [J]. 中成药, 2021, 43(10): 2673-2678.
- [15] 李丽, 朱盼, 郭兴兰, 等. 地苿粗多糖对高脂饮食诱导肥胖小鼠脂代谢的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49(1): 122-130.
- [16] 翁竞玉. 基于代谢组学研究地苿总黄酮对糖尿病的干预作用 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2021.
- [17] Weng J Y, Zhou J K, Liang L Q, et al. UHPLC/QTOF-MS-based metabolomics reveal the effect of *Melastoma dodecandrum* extract in type 2 diabetic rats [J]. *Pharm Biol*, 2019, 57(1): 807-815.
- [18] 王金凤. 民族药地苿化学成分及其药理学研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [19] Tong Y, Jiang Y, Chen X, et al. Extraction, enrichment, and quantification of main antioxidant aglycones of flavonoids and tannins from *Melastoma dodecandrum* Lour.: Guided by UPLC-ESI-MS/MS [J]. *J Chem*, 2019: PP1-12.
- [20] 陈洁, 顿文亮. 中药活性成分抗2型糖尿病的研究进展综述 [J]. 江苏科技信息, 2016(26): 35-38.
- [21] Zhang R Z, Yu S J, Bai H, et al. TCM-Mesh: The database and analytical system for network pharmacology analysis for TCM preparations [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2821.
- [22] 李斌, 萧琪, 张嘉诺, 等. 华中五味子果实化学成分的分鉴定及其抗糖尿病活性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(8): 2379-2387.
- [23] 杨颖, 王芸芸, 蒋琦辰. 槲皮素药理作用的研究进展 [J]. 特种经济动植物, 2020, 23(5): 24-28.
- [24] 刘俊法. 芹菜素对糖尿病大鼠降血糖、调节血脂和抗氧化能力的影响 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(5): 44-47.
- [25] 何勇林. 三种黄酮类化合物抑制 α -葡萄糖苷酶活性和晚期糖基化终末产物生成作用研究 [D]. 沈阳: 辽宁大学, 2020.
- [26] Yin X Y, Xu Z Y, Zhang Z Y, et al. Association of PI3K/AKT/mTOR pathway genetic variants with type 2 diabetes mellitus in Chinese [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2017, 128: 127-135.
- [27] Cohen Jr M M. The AKT genes and their roles in various disorders [J]. *Am J Med Genet A*, 2013, 161A(12): 2931-2937.
- [28] Karadoğan A H, Arikoglu H, Gökürk F, et al. PIK3R1 gene polymorphisms are associated with type 2 diabetes and related features in the Turkish population [J]. *Adv Clin Exp Med*, 2018, 27(7): 921-927.
- [29] del Rincon J P, Iida K, Gaylinn B D, et al. Growth hormone regulation of p85 α expression and phosphoinositide 3-kinase activity in adipose tissue: mechanism for growth hormone-mediated insulin resistance [J]. *Diabetes*, 2007, 56(6): 1638-1646.
- [30] Mir R, Elfaki I, Duhier F M A, et al. Molecular determination of mir RNA-126 rs4636297, phosphoinositide-3-kinase regulatory subunit 1-gene variability rs7713645, rs706713 (Tyr73Tyr), rs3730089 (Met326Ile) and their association with susceptibility to T2D [J]. *J Pers Med*, 2021, 11(9): 861.
- [31] McCurdy C E, Schenk S, Holliday M J, et al. Attenuated Pik3r1 expression prevents insulin resistance and adipose tissue macrophage accumulation in diet-induced obese mice [J]. *Diabetes*, 2012, 61(10): 2495-2505.
- [32] Chen S H, Liu X N, Peng Y. MicroRNA-351 eases insulin resistance and liver gluconeogenesis via the PI3K/AKT pathway by inhibiting FLOT2 in mice of gestational diabetes mellitus [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(9): 5895-5906.
- [33] Liu T Y, Shi C X, Gao R, et al. Irisin inhibits hepatic gluconeogenesis and increases glycogen synthesis via the PI3K/Akt pathway in type 2 diabetic mice and hepatocytes [J]. *Clin Sci(Lond)*, 2015, 129(10): 839-850.
- [34] 刘鑫. 益糖康调控 PEDF 激活 PI3K/Akt 及 AMPK 信号通路改善 T2DM 大鼠 IR 的机制研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2021.
- [35] Li S, Ogawa W, Emi A, et al. Role of S6K1 in regulation of SREBP1c expression in the liver [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 412(2): 197-202.
- [36] 张毅. 降糖消渴颗粒对 T2DM 小鼠肝脏糖脂代谢和内质网应激的影响 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.