

## 基于网络药理学与分子对接技术探讨小檗皮治疗 2 型糖尿病的作用机制

杜欢<sup>1,2</sup>, 徐鑫梅<sup>2</sup>, 徐僮<sup>2</sup>, 李琪<sup>2</sup>, 易欢<sup>2</sup>, 范刚<sup>2\*</sup>

1. 成都市第三人民医院 西南交通大学附属医院, 四川 成都 610031

2. 成都中医药大学 民族医药学院, 四川 成都 611137

**摘要:** **目的** 探讨小檗 *Berberis kansuensis* Schneid. 皮治疗 2 型糖尿病的药效物质与作用机制。 **方法** 基于藏药小檗皮入血成分, 利用 SwissADME、TCMSP 和 Swiss Target Prediction 数据库分别开展活性成分初筛、潜在作用靶点预测, 其次利用 GeneCards、DisGeNET 和 DrugBank 数据库获取 2 型糖尿病相关靶点, STRING 数据库构建靶点蛋白相互作用 (PPI) 网络筛选核心靶点, 根据筛选结果应用 R 语言开展基因本体 (GO) 生物功能和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析, 最终利用 Cytoscape 3.10.1 软件构建“药材-入血成分-靶点-通路-疾病”互作网络筛选核心成分与关键靶点, 以及开展分子对接验证“核心成分-关键靶点”的生物活性。 **结果** 活性初筛得到 28 个候选活性成分, 经 Swiss Target Prediction 预测后, 得到 571 个成分作用靶点; 网络药理学分析结果发现, 小檗皮与 2 型糖尿病有 306 个交集靶点, 小檗皮可能通过 8-氧化小檗碱、蟾毒色胺、蟾毒色胺内盐、小檗碱、药根碱等成分, 分别作用于磷脂酰肌醇 3-激酶催化亚型 (PIK3CA)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (MAPK1)、B 细胞  $\kappa$  轻链基因增强子抑制因子 (IKBKB)、蛋白激酶 B1 (Akt1) 和表皮生长因子受体 (EGFR) 等关键靶点, 调节磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) /Akt、MAPK、肿瘤坏死因子 (TNF) 和核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 等信号通路, 协同发挥抗糖尿病作用。 **结论** 通过整合入血成分鉴定、网络药理学与分子对接结果, 预测了小檗皮治疗 2 型糖尿病的潜在药效成分和作用靶点, 为揭示小檗皮的药效物质基础及其作用机制研究提供参考, 也为小檗皮治疗 2 型糖尿病的深入研究提供靶向。

**关键词:** 小檗皮; 2 型糖尿病; 入血成分; 网络药理学; 分子对接; 8-氧化小檗碱; 蟾毒色胺; 蟾毒色胺内盐; 小檗碱; 药根碱

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)10-2493-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.10.006

## Mechanism of *Berberidis Cortex* in treating type 2 diabetes mellitus based on network pharmacology and molecular docking

DU Huan<sup>1,2</sup>, XU Xinmei<sup>2</sup>, XU Tong<sup>2</sup>, LI Qi<sup>2</sup>, YI Huan<sup>2</sup>, FAN Gang<sup>2</sup>

1. The Third People's Hospital of Chengdu, The Affiliated Hospital of Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China

2. College of Ethnic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

**Abstract: Objective** To explore the effective substances and mechanism of *Berberidis Cortex* in treating type 2 diabetes mellitus. **Methods** Based on the absorbed components derived from *Berberidis Cortex*, SwissADME, TCMSP, and Swiss Target Prediction databases were employed to conduct an initial activity assessment and forecast potential targets. Subsequently, GeneCards, DisGeNET, and DrugBank databases were utilized to obtain targets related to type 2 diabetes mellitus. The STRING database was used to construct a protein interaction network of targets for core target selection. R language was applied for GO function and KEGG pathway analysis based on the screening results. Finally, Cytoscape 3.10.1 software was used to construct an interaction network of “herbs - absorbed components - targets - signal pathways - disease” to screen core and key targets. Additionally, molecular docking was performed to verify the biological activity of “core components - key targets”. **Results** After preliminary activity screening, 28 candidate active components were obtained, and subsequent Swiss Target Prediction predicted interactions with 571 components. Network pharmacology analysis revealed that *Berberidis Cortex* had 306 intersecting targets with type 2 diabetes mellitus. *Berberidis Cortex*

收稿日期: 2024-05-24

基金项目: 成都市科技项目 (2018-YFYF-00053-SN)

作者简介: 杜欢, 男, 博士, 主要从事中药、民族药物物质基础和质量标准研究。E-mail: Dave911dh@163.com

\*通信作者: 范刚, 男, 副研究员, 博士, 主要从事中药、民族药质量控制和药效物质基础研究。E-mail: fangang1111@163.com

potentially exerts its anti-diabetic effects through components such as 8-oxoberberine, bufotenine, bufotenidine, berberine, and jatrorrhizine, acting on key targets like PIK3CA, MAPK1, IKKB, Akt1, and EGFR. This modulation occurs through PI3K/Akt, MAPK, TNF, and NF- $\kappa$ B signaling pathways, collectively contributing to its anti-diabetic effects. **Conclusion** By integrating the identification of absorbed components, network pharmacology, and molecular docking results, predicted potential therapeutic components and targets of *Berberidis Cortex* in treating type 2 diabetes mellitus were preliminarily predicted. This provides a reference for revealing the pharmacological substance basis and mechanism of action of *Berberidis Cortex* and a target for further research on treating type 2 diabetes mellitus with *Berberidis Cortex*.

**Key words:** *Berberidis Cortex*; type 2 diabetes mellitus; absorbed components; network pharmacology; molecular docking; 8-oxoberberine; bufotenine; bufotenidine; berberine; jatrorrhizine

糖尿病在传统藏医学中称为“京尼萨库”病，汉文意为“消耗性尿频症”，小便频繁、尿液混浊、精华物质被消耗是该病的本质特征<sup>[1-2]</sup>。藏医理论认为由于饮食、起居不当等外缘作用下，诱发了内因“隆”“赤巴”和“培根”的紊乱，饮食精华不能正常的吸收、输布、排泄，从而发病<sup>[3]</sup>。传统藏医理论认为其治疗根本在于平衡体内“三因”，《蓝琉璃》记载：“尿频症可用姜黄、小檗皮、余甘子、蒺藜等浓煎内服治疗”<sup>[4]</sup>，其中藏药小檗皮，味苦、性寒，具有清热、解毒、燥湿的功效，可以有效地缓解“京尼萨库”病尿频、喉腭干燥、手和足掌发热等症状，是藏医治疗“京尼萨库”病的常用藏药材之一。

小檗皮来源于小檗科植物甘肃小檗 *Berberis kansuensis* Schneid. 及其同属多种植物的干燥皮<sup>[5]</sup>。现代研究表明，小檗皮中含有木兰花碱、药根碱、巴马汀和小檗碱等生物碱类成分<sup>[6]</sup>。此外，课题组前期通过采用制备液相色谱法对小檗皮化学成分进行定向分离和结构鉴定，研究发现小檗皮药材还含有蟾毒色胺内盐和阿魏酸 4-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷 2 种化学成分<sup>[7]</sup>。近年来，通过研究藏药小檗皮对 2 型糖尿病小鼠血糖水平的影响，发现小檗皮能明显降低四氧嘧啶所致 2 型糖尿病小鼠的血糖水平，并且不影响正常大鼠的血糖水平。通过研究藏药小檗皮对糖尿病大鼠视网膜的保护机制，发现小檗皮对糖尿病大鼠的视网膜具有保护作用，其作用机制可能与整体多点调控糖尿病大鼠视网膜的蛋白激酶 C- $\beta$  (PKC- $\beta$ )、血管内皮生长因子 (VEGF)、低氧诱导因子-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) 表达有关<sup>[8-9]</sup>。由此可见，小檗皮能有效改善 2 型糖尿病动物模型的病理变化和药理学指标，并对糖尿病并发症有一定的防治作用<sup>[8-10]</sup>。虽然小檗皮药材化学成分与药理研究的不断深入，为其质量控制、药效评价奠定了基础，但是由于藏药材是一个多组分复杂体系，往往凭借多成分、多靶点、多途径协同的作用方式发挥疗效。目前，小

檗皮治疗 2 型糖尿病的药效物质基础与作用机制研究亟待进一步完善。近年来，网络药理学和分子对接在药效物质与作用机制研究中发挥着重要的作用，可以预测活性成分，筛选潜在的药效物质，揭示多成分、多靶点的作用机制，并为药物发现和开发提供指导<sup>[11-14]</sup>。

因此，为了进一步完善小檗皮药效物质基础以及多维度阐释小檗皮治疗 2 型糖尿病的作用机制，本研究拟基于课题组前期研究发现藏药小檗皮入血成分，结合网络药理学与分子对接技术初步分析小檗皮治疗 2 型糖尿病的活性成分与作用机制，为进一步深入研究小檗皮治疗 2 型糖尿病的药效物质、作用机制和质量标志物的筛选提供靶向与参考。

## 1 方法

### 1.1 小檗皮的入血成分

课题组前期基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术开展藏药小檗皮的入血成分研究<sup>[15]</sup>，在正、负离子模式下对对照大鼠、糖尿病大鼠的含药血清进行分析，得到小檗皮入血成分的色谱保留时间信息与一级、二级质谱数据，结合数据库与相关参考文献比对结果发现：对照大鼠血清中含有小檗皮入血成分 29 个，其中原型入血成分 8 个，代谢产物 21 个；糖尿病大鼠血清中含有小檗皮入血成分 25 个，其中原型入血成分 8 个，代谢产物 17 个。如表 1 所示，经口服途径给药小檗皮后入血成分主要为生物碱与有机酸类成分及其代谢产物，包括小檗碱、药根碱、小檗红碱、阿魏酸 4-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷等，在血清中主要以原型、还原、水解、甲基化、羟基化、葡萄糖醛酸和硫酸结合物等形式存在。

### 1.2 网络药理学与分子对接研究

**1.2.1 筛选小檗皮活性成分** 将根据 1.1 项下鉴定的小檗皮入血成分，检索 TCMSp 数据库 (<https://old.tcmsp-e.com/molecule.php>) 与 Swiss ADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>)，查找其药动学

表 1 基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术鉴定的小檗皮入血成分以及活性成分的筛选结果  
Table 1 Identification of absorbed components derived from *Berberidis Cortex* by UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS and screening result of active ingredients

编号	$t_R$ /min	化学式	测定值 ( $m/z$ )	误差	二级碎片离子信息 ( $m/z$ )	鉴定结果
—	3.74	$C_7H_{12}O_6$	191.055 3	1.57	191.055 3, 173.045 0, 127.039 0, 93.033 5, 奎宁酸 87.007 7, 85.028 4, 59.0127	
Mol 001	5.19	$C_{18}H_{22}N_2O_7$	379.149 5	1.32	379.149 5, 336.107 2, 203.118 1, 174.091 5, 蟾毒色胺脱氢化的葡萄糖 160.075 5, 132.080 4	醛酸结合物 <sup>#</sup>
Mol 002	6.27	$C_{17}H_{22}N_2O_7$	367.149 5	1.36	367.149 5, 336.107 5, 324.106 7, 191.117 7, 蟾毒色胺去甲基化的葡萄 160.075 6, 148.075 6, 132.080 8	糖醛酸结合物 <sup>#</sup>
Mol 003	6.41	$C_{19}H_{27}N_2O_7$	395.181 6	2.02	395.181 1, 336.107 3, 219.149 0, 160.075 6, 蟾毒色胺内盐的葡萄糖醛 132.080 8, 115.054 1, 60.081 4	酸结合物 <sup>#</sup>
Mol 004	6.61	$C_{18}H_{24}N_2O_7$	381.165 2	-1.05	381.165 2, 336.107 1, 205.133 3, 160.075 6, 蟾毒色胺的葡萄糖醛酸结 58.065 8	合物 <sup>#</sup>
Mol 005	7.30	$C_{13}H_{19}N_2O$	219.148 9	-1.51	219.148 9, 160.075 5, 132.080 7, 115.054 2, 蟾毒色胺内盐 <sup>*#</sup> 60.081 4	
Mol 006	7.64	$C_{12}H_{16}N_2O$	205.133 4	-0.49	205.133 4, 176.984 4, 160.075 6, 149.023 2, 蟾毒色胺 <sup>#</sup> 132.080 8, 58.065 8	
Mol 007	7.90	$C_{12}H_{14}N_2O$	203.118 0	-0.98	203.117 5, 203.052 9, 174.091 4, 162.091 4, 蟾毒色胺的脱氢化产物 <sup>#</sup> 160.075 6, 159.067 9, 147.068 1	
Mol 008	8.03	$C_{12}H_{16}N_2O_4S$	285.090 5	0.70	285.090 5, 240.032 6, 205.133 8, 160.075 8, 蟾毒色胺的硫酸结合物 <sup>#</sup> 132.081 1, 58.065 9	
Mol 009	10.75	$C_{19}H_{22}NO_4$	328.154 1	0.61	328.154 1, 283.096 2, 265.085 7, 251.069 8, 木兰花碱的去甲基化产物 <sup>#</sup> 237.090 7, 223.075 4, 191.085 1, 58.065 8	
Mol 010	10.85	$C_9H_{10}O_7S$	261.007 2	-3.45	261.007 2, 217.016 8, 181.049 6, 137.059 8, 阿魏酸去甲基化和还原的 122.036 2, 79.956 3	硫酸结合物 <sup>#</sup>
Mol 011	11.20	$C_{20}H_{24}NO_5$	358.164 7	0.56	358.164 7, 340.153 8, 313.106 5, 295.096 1, 木兰花碱的羟基化产物 <sup>#</sup> 263.070 0, 235.075 1, 221.059 2, 58.065 8	
Mol 012	11.66	$C_{16}H_{18}O_{10}$	369.083 2	4.34	369.083 2, 193.050 1, 178.026 5, 149.060 2, 阿魏酸的葡萄糖醛酸结 134.036 5, 113.023 5	合物 <sup>#</sup>
Mol 013	11.83	$C_{16}H_{20}O_9$	355.103 5	3.10	355.103 5, 193.049 9, 178.026 2, 149.060 1, 阿魏酸 4- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -吡喃葡萄 139.038 6, 137.023 1, 134.036 4	糖苷 <sup>#</sup>
Mol 014	11.93	$C_{10}H_{12}O_7S$	275.022 8	2.91	275.022 8, 195.065 5, 151.075 5, 135.044 1, 阿魏酸还原产物的硫酸结 123.044 1, 79.956 2, 59.012 7	合物 <sup>#</sup>
Mol 015	11.93	$C_{20}H_{24}NO_4$	342.169 6	-1.17	342.170 2, 297.111 8, 282.088 3, 265.085 5, 木兰花碱 <sup>*#</sup> 237.090 9, 191.085 1, 58.065 8	
Mol 016	12.27	$C_{10}H_{10}O_7S$	273.007 1	2.93	273.007 1, 193.049 9, 178.026 3, 149.059 8, 阿魏酸的硫酸结合物 <sup>#</sup> 139.039 1, 137.023 4, 134.036 3, 96.959 1	
Mol 017	13.15	$C_{25}H_{24}NO_{10}$	498.139 5	0.20	498.139 5, 322.107 3, 307.083 8, 279.089 0, 芬氏唐松草定碱的葡萄糖 250.085 6	醛酸结合物 <sup>#</sup>
Mol 018	13.67	$C_{26}H_{28}NO_{10}$	514.170 3	-0.97	514.170 3, 338.138 2, 323.114 8, 322.107 1, 药根碱的葡萄糖醛酸结 308.091 5, 294.112 0, 280.096 8, 279.088 8	合物 <sup>#</sup>
Mol 019	13.80	$C_{25}H_{26}NO_{10}$	500.154 7	-0.80	500.154 7, 324.122 8, 309.099 2, 308.091 4, 去亚甲基小檗碱的葡萄糖 294.075 9, 292.096 2, 280.096 6, 266.081 1	醛酸结合物 <sup>#</sup>
Mol 020	14.19	$C_{25}H_{24}NO_{10}$	498.138 8	-1.20	498.138 8, 322.107 0, 307.083 4, 279.088 6, 小檗红碱的葡萄糖醛酸结 250.088 6	合物 <sup>#</sup>
Mol 021	15.74	$C_{20}H_{20}NO_4$	338.138 7	0.00	338.138 7, 323.115 2, 322.107 5, 308.091 9, 药根碱 <sup>*#</sup> 306.112 5, 294.112 4, 280.097 0, 279.089 2	
Mol 022	15.80	$C_{19}H_{16}NO_4$	322.106 9	-1.55	322.106 9, 307.083 4, 304.133 3, 279.088 5, 芬氏唐松草定碱 <sup>#</sup> 278.080 9	
Mol 023	16.14	$C_{10}H_{10}O_4$	193.050 1	3.11	193.050 1, 178.026 5, 149.060 0, 139.038 9, 阿魏酸 <sup>#</sup> 137.023 6, 134.036 4, 121.028 9	

表 1 (续)

编号	$t_R/min$	化学式	测定值 ( $m/z$ )	误差	二级碎片离子信息 ( $m/z$ )	鉴定结果
Mol 024	16.40	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>4</sub>	322.107 1	-0.93	322.107 1, 307.083 6, 292.060 9, 279.089 2, 278.081 2	小檗红碱*#
Mol 025	16.41	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>4</sub>	352.154 5	0.57	352.154 5, 337.130 9, 336.123 3, 322.107 5, 320.128 5, 308.128 2, 294.112 5, 292.097 3	巴马汀*#
Mol 026	16.43	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>4</sub>	336.122 6	-1.19	336.122 6, 321.099 2, 320.091 4, 306.075 8, 304.096 8, 292.096 5, 278.080 9	小檗碱*#
Mol 027	18.83	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>8</sub> S	418.060 1	2.39	418.060 1, 338.103 3, 323.079 7, 322.071 9, 308.056 3, 294.077 1, 280.061 4	8-氧化小檗碱还原、去甲基化的硫酸结合物#
Mol 028	20.98	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>8</sub> S	416.044 5	2.64	416.044 5, 336.087 7, 321.064 1, 320.055 9, 293.069 7, 292.061 6, 264.065 9	8-氧化小檗碱去甲基化的硫酸结合物#

\*经过对照品比对实验, #潜在活性成分。

\* tested by comparison, # potential active ingredient.

(ADME) 参数。设置 ADME 参数筛选条件: 类药性 (DL)  $\geq 0.18$ 、生物利用度 (OB)  $\geq 30\%$ , 结合相关文献报道与抗糖尿病明确相关的活性成分<sup>[16-21]</sup>, 整合得到小檗皮治疗 2 型糖尿病的候选活性成分。

**1.2.2 预测小檗皮入血成分与 2 型糖尿病的作用靶点** 结合上述筛选得到的候选活性成分, 利用 Pub Chem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取其 Canonical SMILES, 导入 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>), 物种参数选择为 “homo sapiens, Probability>0”, 筛选靶点, 删除重复。以 “type 2 diabetes” 为检索词, 在 GenCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、DisGeNET 数据库 (<https://www.disgenet.org/>) 和 DrugBank 数据库 (<https://www.drugbank.ca/>) 检索 2 型糖尿病的相关靶点, 将上述靶点整合去重后获得疾病预测靶点。最终将活性成分与 2 型糖尿病靶点取交集, 利用 R 语言的 Venn Diagram 依赖包生成韦恩图进行可视化, 获得小檗皮治疗 2 型糖尿病交集靶点。

**1.2.3 构建蛋白质相互作用 (PPI) 网络** 将交集靶点导入 STRING 数据库, 分析小檗皮治疗 2 型糖尿病靶点之间的相互作用, 参数设定为种属选择 “homo sapiens”, 其他参数保持默认设定。将蛋白交互相关数据分析结果导出并使用 Cytoscape 3.10.1 软件的 CytoNCA 工具, 设定计算靶点的 degree 值、介数中心性 (BC) 和接近中心性 (CC) 参数, 筛选 degree、BC、CC 参数值分别大于 8、25、0.01 的靶点作为重要靶点, 构建共有靶点的 PPI 网络图。

**1.2.4 基因本体 (GO) 生物功能与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析** 将共有靶点数据导入 Rstudio, 利用 clusterProfiler、org.Hs.eg.db 和 GOsemSim 等 R 语言依赖包进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析, 输入数据类型 fromType 参数设置为

“SYMBOL”, 转换的目标类型参数 toType 设置为 “ENTREZID”, 物种和背景数据库参数选择为 “org.Hs.eg.db”, 最后使用 ggplot2、ggthemes 以及 enrichplot 依赖包将结果进行可视化展示。

**1.2.5 构建小檗皮治疗 2 型糖尿病的 “入血成分 - 靶点 - 通路 - 疾病” 调控网络** 将入血成分、成分与疾病共有靶点信息之间的作用关系导入 Cytoscape 3.10.1 软件, 构建小檗皮治疗 2 型糖尿病的 “药材 - 活性成分 - 核心靶点 - 相关通路 - 疾病” 调控网络。使用 Cytoscape 3.10.1 软件内置插件 CytoNCA 工具, 设定计算成分的 degree、BC、CC 参数, 筛选出治疗 2 型糖尿病的核心靶点以及与其关系密切的入血成分。其中节点分别代表药材、入血成分、靶点、通路以及疾病, 节点与节点之间的连接则代表这些药材与入血成分、成分与靶点、靶点与通路以及通路及疾病之间的相互联系, 以 degree 值大小筛选关键靶点与入血成分。

**1.2.6 核心成分与关键靶点的分子对接验证** 将筛选得到的核心靶点作为受体, 与其相互作用的成分作为配体进行分子对接验证。首先在 ChemBio Office 2014 中构建含有小分子结构信息的 sdf 格式文件, 然后根据核心靶点蛋白的 Uniprot 号, 在 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 中下载含有其结构信息的 pdb 格式文件。最终运用 CB-Dock2 server (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/php/index.php>) 分别对小分子配体以及靶蛋白进行能力优化、修饰、加氢、去水分子和能量最小化等处理, 进行分子对接, 统计对接结果并对其进行可视化展示。

## 2 结果

### 2.1 活性成分的筛选

将小檗皮已归属的入血成分导入 TCMSP 与 SwissADME 数据库, 通过 DL、OB 筛选以及结合

文献报道, 完善与抗糖尿病明确相关的活性成分, 最终得到小檗皮治疗 2 型糖尿病的候选活性成分 28 个, 主要为生物碱类化合物及其代谢产物, 见表 1。

## 2.2 靶点预测与交集靶点筛选

利用 Swiss Target Prediction 网站对 28 个候选活性成分进行靶点预测, 选择 Probility>0 的靶点并去除重复靶点, 筛选得到 571 个小檗皮入血成分潜在作用靶点。在 GeneCards、DrugBank、Disgenet 数据库中, 以“type 2 diabetes”为关键字搜索与 2 型糖尿病相关基因, 去除重复后得到相关疾病靶点 2 497 个, 最后利用 R 语言的 Venn Diagram 依赖包将小檗皮入血成分潜在作用靶点与疾病靶点匹配取交集并可视化, 最终筛选出小檗皮抗糖尿病作用的潜在靶点基因 306 个, 相关交集韦恩图结果如图 1 所示。

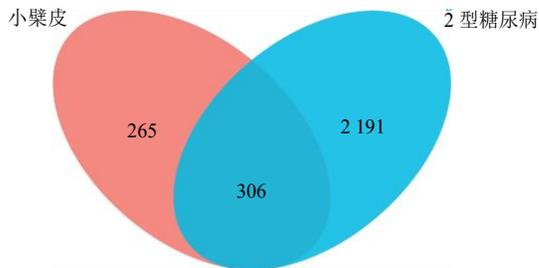


图 1 小檗皮入血成分与 2 型糖尿病交集靶点的韦恩图  
Fig. 1 Venn diagram of the intersection target between the absorbed components derived from *Berberidis Cortex* and type 2 diabetes

## 2.3 关键靶点 PPI 网络构建

将 306 个交集靶点导入 STRING 12.0 分析蛋白相关作用关系, 将分析结果导入 Cytoscape 3.10.1, 利用插件 Network Analysis 分步计算各节点的拓扑参数, 最终获得 PPI 网络如图 2 所示, 共有 82 个节点, 551 条边, 平均 degree 值为 13, 以 degree 值的大小进行排序, 节点的颜色越深、直径越大、越靠近中心即代表节点的 degree 值越大, 筛选 degree 值大于 2 倍中位数, BC、CD 值大于中位数的靶点作为关键靶点, 其中包括信号转导和转录激活因子 (STAT3)、酪氨酸蛋白激酶 (SRC)、磷脂酰肌醇 3-激酶催化亚型 (PIK3CA、PIK3R1), 蛋白激酶 B (Akt1)、表皮生长因子受体 (EGFR) 和丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (MAPK1)。

## 2.4 小檗皮“药材-入血成分-靶点-通路-疾病”调控网络

通过利用 Cytoscape 3.10.1 软件, 将“药材-入

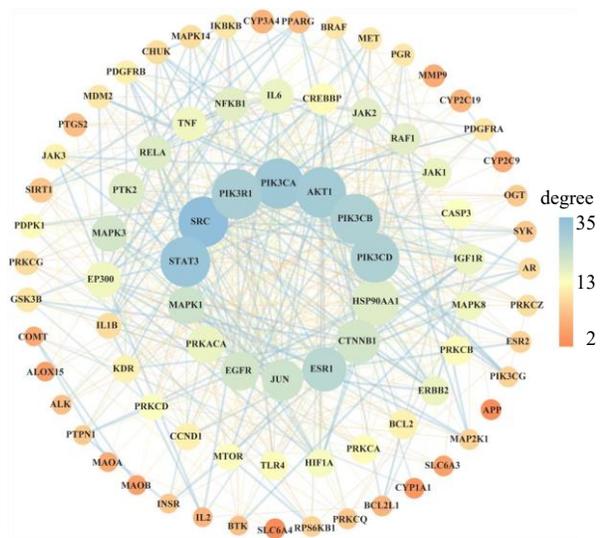


图 2 小檗皮治疗 2 型糖尿病的 PPI 网络图  
Fig. 2 PPI network diagram of *Berberidis Cortex* in treatment of type 2 diabetes

血成分-靶点-通路-疾病”网络互作关系进行整合, 所得结果如图 3 所示, 图中的调控网络总共有 121 个节点, 615 条边组成; 节点越大, 代表该节点与其他关键靶点连线越多, 越可能在小檗皮治疗 2 型糖尿病中发挥作用。以 degree 值大于 18 筛选关键入血成分, 其中有 8-氧化小檗碱、阿魏酸甲酯、波尔定碱、木兰花碱、小檗碱和蟾毒色胺内盐。核心靶点中以 PIK3CA、PIK3CB、PIK3CD、MAPK1、MAPK8、Akt1 等靶点与上述入血成分节点关联最为密切。此外, 11 条相关通路中以磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号 (PI3K/Akt)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (MAPK)、脂质和动脉粥样硬化 (lipid and atherosclerosis)、肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路、晚期糖基化终产物-晚期糖基化终末产物受体 (AGE-RAGE) 信号介导的糖尿病并发症通路排序较前, 表明上述通路可能在改善 2 型糖尿病疾病中具有重要作用。

## 2.5 GO 功能与 KEGG 通路富集分析结果

GO 分析包括生物过程 (BP)、细胞组分 (CC) 与分子功能 (MF) 3 个方面, 通过 82 个靶点进行 GO 分析, 共获得 845 条结果。以  $P < 0.05$  为筛选条件, 得到 482 条结果, 其中 349 条与 BP 有关, 36 条与 CC 有关, 97 条与 MF 有关。根据  $P$  值大小对各通路进行排序, 分别选取 3 个部分中  $P$  最小的 10 条结果进行可视化展示, 如图 4 所示, 其中 BP 主要涉及蛋白质磷酸化、信号传递、凋亡过程的负

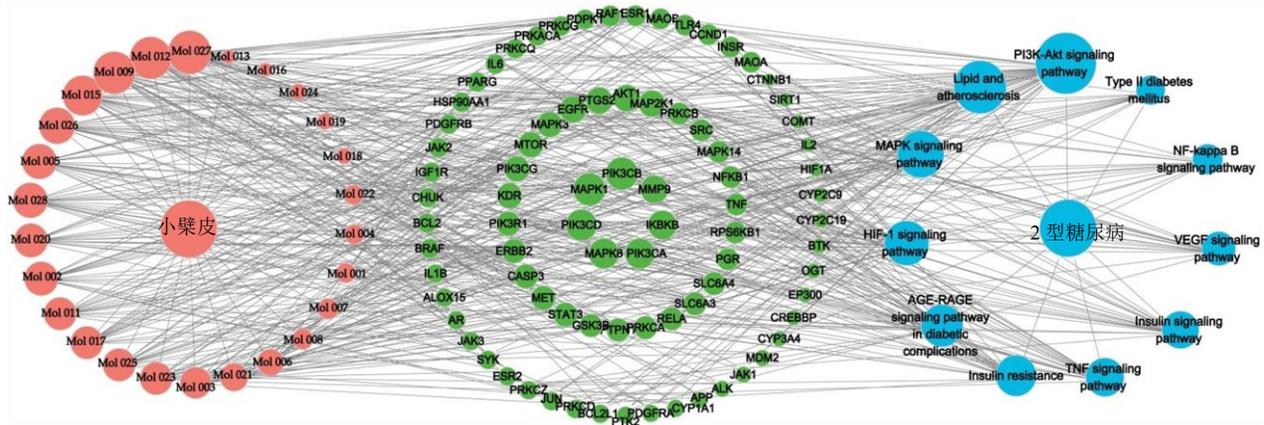


图 3 小檗皮治疗 2 型糖尿病的“药材-入血成分-靶点-通路-疾病”调控网络图

Fig. 3 Regulatory network diagram of “herbs-absorbed components-targets-signal pathways-diseases” in treatment of type 2 diabetes with *Berberidis Cortex*

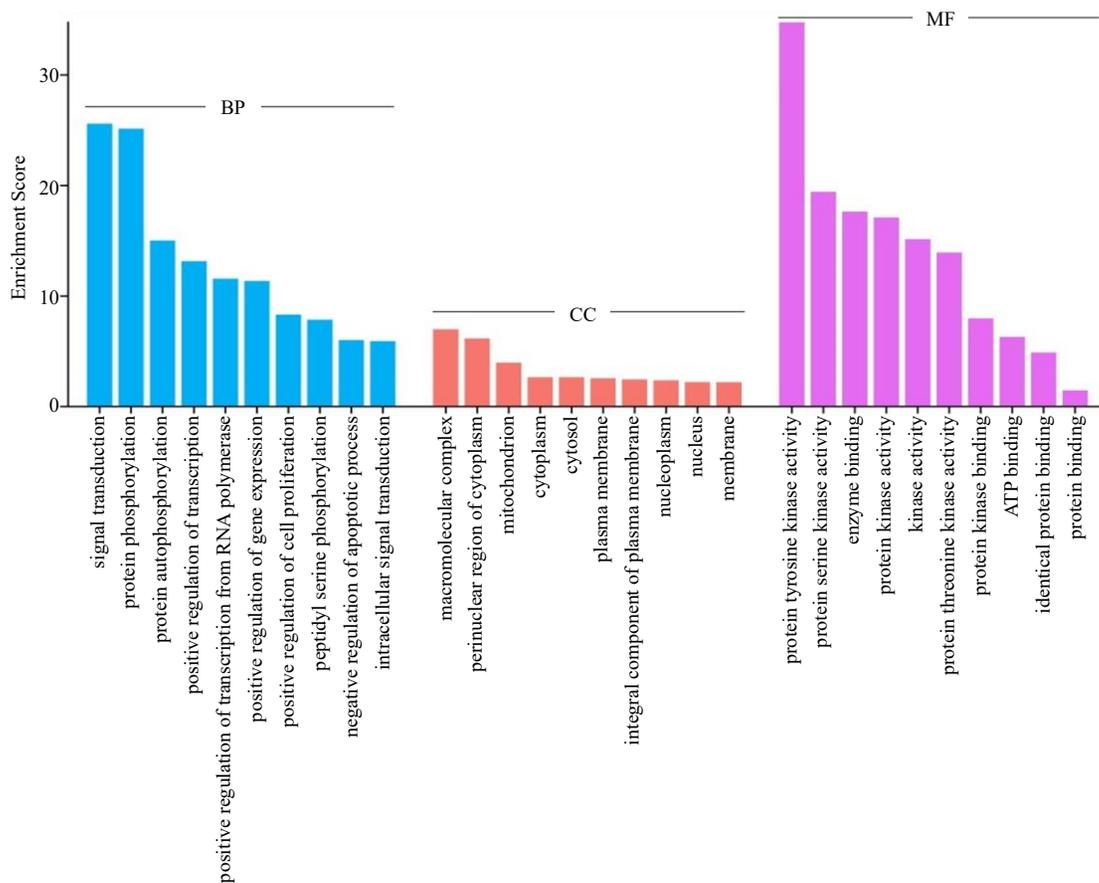


图 4 小檗皮治疗 2 型糖尿病的 GO 功能分析

Fig. 4 GO analyses of *Berberidis Cortex* in treatment of type 2 diabetes

向调控等, CC 主要涉及线粒体、胞浆、细胞质、细胞膜等, MF 主要涉及蛋白激酶活性、酶结合、ATP 结合、激酶活性等。KEGG 通路富集分析结果发现共涉及 183 条通路,  $P < 0.05$  的通路有 176 条, 选

择  $P$  最小的 20 条通路进行可视化展示 (图 5), 横坐标为富集因子, 该值越大代表富集程度越高,  $P$  值代表通路富集分析结果的显著性, 图中节点越大, 表示该通路涉及的基因数越多。其中与 2 型糖尿病

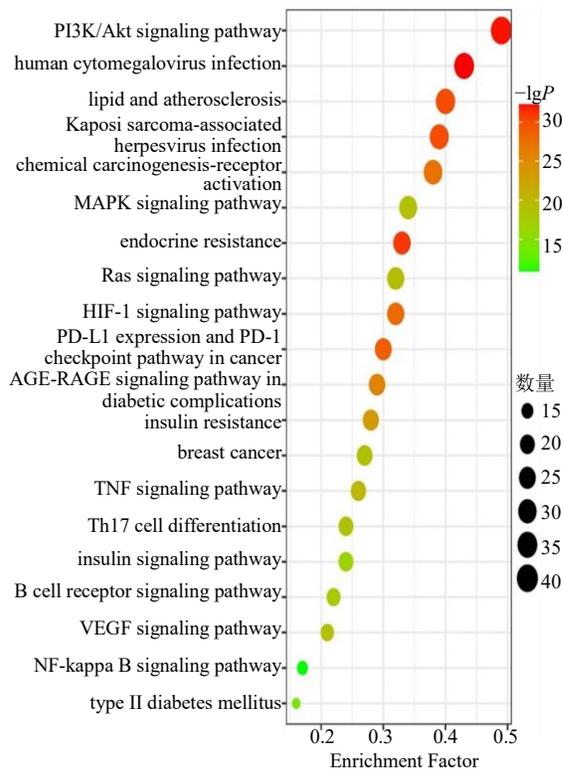


图 5 小檗皮治疗 2 型糖尿病的 KEGG 通路富集分析  
Fig. 5 KEGG pathway enrichment analyses of *Berberidis Cortex* in treatment of type 2 diabetes

关系密切的有 PI3K/Akt 信号通路、AGE-RAGE 信号诱导的糖尿病并发症通路、MAPK 信号通路、TNF 信号通路、胰岛素抵抗通路以及胰岛素信号通路等。

## 2.6 核心成分与关键靶点的分子对接验证结果

选择“药材-成分-靶点-通路-疾病”调控网络中 degree 值排序靠前的入血成分(8-氧化小檗碱还原、去甲基化的硫酸结合物、阿魏酸的葡萄糖醛酸结合物、木兰花碱、小檗碱、药根碱、蟾毒色胺和蟾毒色胺内盐等 26 个入血成分)与核心靶点 PIK3CA、MAPK1、B 细胞  $\kappa$  轻链基因增强子抑制因子(IKBKB)、Akt1、TNF 和 EGFR 进行分子对接验证,以结合能参数等作为对接成功的参考值,其中结合能参数的绝对值越大说明配体与靶蛋白的结合度更高。以分子对接得分的绝对值大于 5.0 为评价指标,对靶蛋白和配体的分子对接结果进行筛选,并以关键入血成分与糖尿病相关的靶蛋白分子对接得分大于 6.0 且有效结合率大于 50%为潜在药效物质的评价指标。最终筛选得到 7 个小檗皮潜在药效物质,分别为 8-氧化小檗碱、蟾毒色胺、蟾毒色胺内盐、小檗碱、药根碱、木兰花碱和小檗红碱;其中入血成分小檗红碱的葡萄糖醛酸结合物、8-氧

化小檗碱还原、去甲基化的硫酸结合物以及蟾毒色胺去甲基化的葡萄糖醛酸结合物与靶蛋白的分子对接得分绝对值均大于 8.0,而其中小檗红碱的葡萄糖醛酸结合物与靶蛋白 4KIK 的得分最高为 8.87。此外,根据入血成分与 6 个核心靶蛋白分子对接结果,选取分子对接得分最高的进行可视化展示,见图 6。

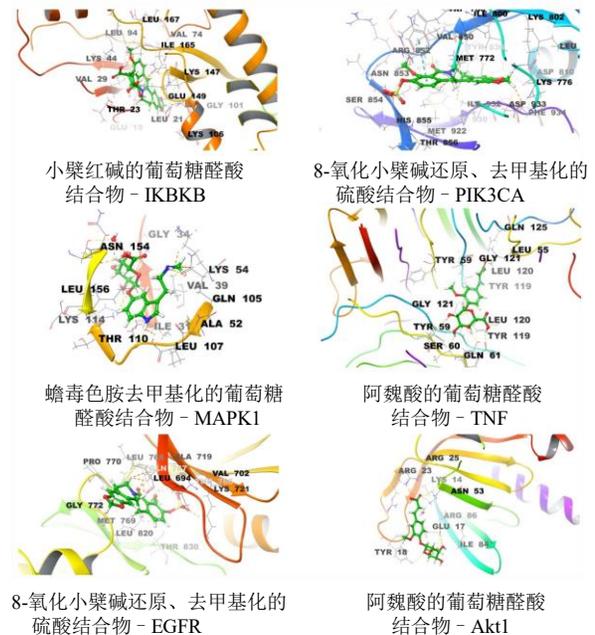


图 6 关键成分与核心靶点的分子对接结果示意图  
Fig. 6 Illustrating the molecular docking results of key components and core targets.

## 3 讨论

基于小檗皮入血成分鉴定分析结果,利用网络药理学分析小檗皮治疗 2 型糖尿病作用的核心靶点及其信号通路,最后采用分子对接技术预测小檗皮潜在活性成分与关键靶点的结合能力,筛选出核心活性成分。本研究结果表明,小檗皮治疗 2 型糖尿病的核心靶点有 PIK3CA、PIK3CB、PIK3CD、MAPK1、IKBKB、Akt1 和 EGFR 等,主要涉及 PI3K/Akt、MAPK、TNF 和糖尿病并发症的 AGE-RAGE 信号通路。现代药理研究表明<sup>[22-23]</sup>,PIK3CA、PIK3CB 和 PIK3CD 是编码磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)的基因,PI3K 是一个关键的信号传导蛋白,PI3K 被激活后,会磷酸化磷脂酰肌醇二酯(PIP2)以生成磷脂酰肌醇三磷酸(PIP3),PIP3 作为二级信号分子,可以将蛋白质激酶 AKT 易位到细胞膜上并激活 Akt,激活的 Akt 在多个生物过程中发挥重要作用,包括促进细胞生存、生长,调控代谢、炎症反应和胰岛素信号传导等<sup>[24]</sup>。异常 PI3K/Akt 信号

通路活化与长期慢性炎症反应和氧化应激有关<sup>[25]</sup>, 常见于代谢性疾病(如 2 型糖尿病), 2 型糖尿病患者由于胰岛素抵抗和分泌障碍, 长期的高血糖、血脂异常及氧化应激过程中会导致慢性炎症的发生, 从而损伤胰腺组织导致白细胞介素(IL)-6 及 TNF- $\alpha$  等炎症因子水平显著升高<sup>[26-28]</sup>。此外, MAPK1 (ERK2) 是 MAPK 信号通路的一部分, 该通路在细胞生长、分化、凋亡和应激反应中发挥重要作用, 与慢性炎症、癌症、心脑血管以及代谢性疾病紧密相关<sup>[28]</sup>。而 IKKB 属于核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 信号通路, 是一个重要的免疫调控通路, 可以影响炎症因子的产生、细胞生存、免疫反应以及许多其他细胞过程。

通过构建“药材-入血成分-靶点-通路-疾病”调控网络与分子对接, 筛选得到与小檗皮治疗糖尿病作用相关的活性成分, 最终筛选得到 7 个小檗皮的潜在药效物质, 分别为 8-氧化小檗碱、蟾毒色胺、蟾毒色胺内盐、小檗碱、药根碱、木兰花碱和小檗红碱。据相关文献报道, 8-氧化小檗碱通过激活腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) /Akt/叉头框蛋白 O1 (FoxO1)、AMPK/反应结合蛋白 (CREB) 调节转录辅激活因子 2 (CRTC2) 信号, 磷酸化糖异生关键转录因子 FoxO1 与转录共刺激因子 CRTC2, 导致 FoxO1 与 CRTC2、过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  共激活因子 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) 以及 CREB 的结合下降, 从而抑制过度的肝糖异生改善 2 型糖尿病症状<sup>[16]</sup>。小檗碱能够通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路的激活及其下游炎症介质的表达从而显著抑制脂多糖诱导的细胞增殖与纤连蛋白的表达<sup>[17]</sup>, 进而阐释小檗碱缓解糖尿病肾病的潜在机制。药根碱可通过上调 Akt/AMPK/内皮型一氧化氮合成酶 (eNOS) 信号通路, 降低血管中 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的含量, 恢复 2 型糖尿病大鼠血管内皮生理功能; 还可通过上调胰岛素受体底物 2 (IRS2)、PI3KR1、p-Akt 以及 p-AMPK 的表达来调节葡萄糖的摄取和利用, 并降低胰岛素抵抗<sup>[18]</sup>。木兰花碱以剂量相关性的方式降低了促炎细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的表达, 其机制可能与抑制 Toll 样受体 4 介导的 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 信号通路相关<sup>[19]</sup>。此外, 蟾毒色胺与蟾毒色胺内盐为课题组首次在小檗皮药材中发现并且证明可吸收入血, 但目前未见有相关降糖或者抗糖尿病活性报道, 而其他 5 个药效物质成分均有降糖或者抗糖尿病活性报道<sup>[20-21]</sup>。由此可初步验证本文网络药理学

与分子对接结果具有一定的指向性和可信度, 可为后续进一步完善小檗皮药效物质研究提供靶向。

综上所述, 小檗皮可能通过 8-氧化小檗碱、蟾毒色胺、蟾毒色胺内盐、小檗碱、药根碱等入血成分, 分别作用于 PIK3CA、MAPK1、IKKB、Akt1 和 EGFR 等关键靶点, 发挥对 PI3K/Akt、MAPK、TNF 和 NF- $\kappa$ B 等信号通路的调节, 增加胰岛素的敏感性、调节葡萄糖代谢以及减轻炎症和氧化应激等生物过程, 发挥抗糖尿病作用。各入血成分可作用于多个靶点, 在多个通路上发挥对不同疾病的治疗作用, 符合传统医学治疗的“多成分、多靶点、多途径”的整体作用特点, 研究结果可为小檗皮药效物质基础、作用机制和质量评价标志物研究提供科学依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 拉巴次仁, 叶凡, 范刚, 等. 藏药小檗皮防治糖尿病视网膜病变的研究思路探讨 [J]. 中外医疗, 2014, 33(13): 192-194.
- [2] 东知项杰, 拉玛阿拉, 俄措卓玛. 浅谈藏医对糖尿病的认识及治疗 [J]. 中国藏学, 2010(4): 163-165.
- [3] 宇妥·宁玛云丹贡布. 四部医典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987: 2-3.
- [4] 第司·桑杰嘉措. 蓝琉璃 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2012: 381-382.
- [5] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准·藏药 [M]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 1995: 340.
- [6] 张静, 吕秀梅, 李艳, 等. 藏族药小檗皮不同药用部位中 4 种生物碱成分的 HPLC 含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(2): 37-42.
- [7] 李琪, 杜欢, 文焕松, 等. 藏族药小檗皮中 6 种成分的含量测定及不同品种比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(5): 968-974.
- [8] 叶凡, 岳丽珺, 范刚, 等. 小檗皮水浸膏对 db/db 糖尿病小鼠视网膜病变的影响 (I) [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(2): 82-86.
- [9] 周邦华, 叶凡, 岳丽珺, 等. 小檗皮水浸膏对 db/db 糖尿病小鼠视网膜病变的影响 (II) [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(24): 116-121.
- [10] 艾小鹏, 王小博, 王小艳, 等. 基于代谢组学的小檗皮对 STZ 诱导糖尿病大鼠肾病的保护机制研究 [J]. 中药药理与临床, 2019, 35(2): 67-73.
- [11] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [12] Hopkins A L. Network pharmacology: The next paradigm in

- drug discovery [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(11): 682-690.
- [13] Pinzi L, Rastelli G. Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4331.
- [14] 邓光辉, 叶梦娟, 蔡肖, 等. 基于网络药理学、分子对接及实验验证探讨霍山石斛治疗非酒精性脂肪肝的作用机制 [J]. *中草药*, 2023, 54(16): 5244-5256.
- [15] Du H, Xu T, Yi H, *et al.* Effect of gut microbiota on the metabolism of chemical constituents of *Berberis kansuensis* extract based on UHPLC-Orbitrap-MS technique [J]. *Planta Med*, 2022, 88(11): 933-949.
- [16] Wu F, Shao Q Q, Xia Q S, *et al.* A bioinformatics and transcriptomics based investigation reveals an inhibitory role of Huanglian-Renshen-Decoction on hepatic glucose production of T2DM mice via PI3K/Akt/FoxO1 signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2021, 83: 153487.
- [17] Jiang Q, Liu P Q, Wu X Q, *et al.* Berberine attenuates lipopolysaccharide-induced extracellular matrix accumulation and inflammation in rat mesangial cells: Involvement of NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2011, 331(1): 34-40.
- [18] 王云山, 张洪, 张晓春. 药根碱对糖尿病模型大鼠血管 Akt/AMPK/eNOS 信号通路的影响 [J]. *医药导报*, 2017, 36(10): 1107-1111.
- [19] Guo S, Jiang K F, Wu H C, *et al.* Magnoflorine ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via suppressing NF- $\kappa$ B and MAPK activation [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 982.
- [20] 汪群红, 何贤君, 胡敏, 等. 小檗碱对 II 型糖尿病大鼠降血糖作用的药效学研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2016, 34(10): 2531-2533.
- [21] 齐飞, 王国胜. 小檗碱药理作用及其结构修饰研究进展 [J]. *药学研究*, 2021, 40(5): 324-328.
- [22] Engelman J A, Luo J, Cantley L C. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism [J]. *Nat Rev Genet*, 2006, 7(8): 606-619.
- [23] Amirani E, Hallajzadeh J, Asemi Z, *et al.* Effects of chitosan and oligochitosans on the phosphatidylinositol 3-kinase-AKT pathway in cancer therapy [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 164: 456-467.
- [24] Song G, Ouyang G L, Bao S D. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival [J]. *J Cell Mol Med*, 2005, 9(1): 59-71.
- [25] Ramasubbu K, Devi Rajeswari V. Impairment of insulin signaling pathway PI3K/Akt/mTOR and insulin resistance induced AGEs on diabetes mellitus and neurodegenerative diseases: A perspective review [J]. *Mol Cell Biochem*, 2023, 478(6): 1307-1324.
- [26] Zarneshan S N, Fakhri S, Farzaei M H, *et al.* Astaxanthin targets PI3K/Akt signaling pathway toward potential therapeutic applications [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 145: 111714.
- [27] Singh A, Kukreti R, Saso L, *et al.* Mechanistic insight into oxidative stress-triggered signaling pathways and type 2 diabetes [J]. *Molecules*, 2022, 27(3): 950.
- [28] Schultze S M, Hemmings B A, Niessen M, *et al.* PI3K/ AKT, MAPK and AMPK signalling: protein kinases in glucose homeostasis [J]. *Expert Rev Mol Med*, 2012, 14: e1.

[责任编辑 高源]