

• 药理与临床 •

桑黄素通过调控 PI3K/Akt 通路抑制胃癌细胞的作用机制

崔宇彤¹, 贺立^{1#}, 李俊杰², 侯毅², 薄思涵³, 由涌⁴, 刘镭⁴, 高亚贤^{4,5*}, 王永为^{6*}

1. 承德医学院临床学院, 河北 承德 067000

2. 承德医学院基础医学院, 河北 承德 067000

3. 衢州市第三医院 精神卫生防治科, 浙江 衢州 324000

4. 承德医学院基础医学院 免疫学教研室, 河北 承德 067000

5. 河北省泛血管疾病重点实验室, 河北 承德 067000

6. 承德医学院基础医学院 解剖学教研室, 河北 承德 067000

摘要: 目的 整合网络药理学、分子对接及体外实验探讨桑枝活性成分桑黄素治疗胃癌的作用机制。方法 通过网络药理学筛选桑枝潜在靶点与胃癌疾病靶点, 取交集获得共同靶点; 采用蛋白-蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络拓扑分析、基因本体论 (gene ontology, GO) 与京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析、GEO 数据集筛选核心靶点。通过分子对接与分子动力学模拟验证桑枝活性成分桑黄素与磷脂酰肌醇 3-激酶调节亚基 1 (phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit 1, PIK3R1) 的结合能力及复合物稳定性。体外实验以 100、200、300、400 $\mu\text{mol/L}$ 桑黄素单独或联合磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 激动剂 740Y-P 干预人胃腺癌 AGS 细胞, 采用 CCK-8 法、平板克隆形成实验检测细胞增殖能力, 流式细胞术检测细胞凋亡率与细胞周期分布, Western blotting 检测 PI3K/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 通路、凋亡及周期相关蛋白表达。结果 共获得桑枝潜在靶点 178 个、胃癌相关靶点 13 100 个, 交集靶点 159 个; 富集分析显示关键通路为 PI3K/Akt 通路。桑黄素与 PIK3R1 结合亲和力良好, PIK3R1 在胃癌组织中显著高表达, 复合物结构稳定。体外实验结果显示, 桑黄素可剂量相关性抑制 AGS 细胞增殖, 诱导 G₀/G₁ 期阻滞并促进细胞凋亡 ($P < 0.05$ 、 0.01); 同时下调 PI3K/Akt 通路、B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、周期蛋白 D1 (cyclin D1, CCND1)、细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (cyclin-dependent kinase 4, CDK4)、CDK6 蛋白表达 ($P < 0.05$ 、 0.01), 上调 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax)、p21 蛋白表达 ($P < 0.01$); 与 740Y-P 联用后可显著逆转桑黄素的抑增殖、促凋亡及周期阻滞作用 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结论 桑黄素可通过靶向并稳定结合 PIK3R1, 抑制 PI3K/Akt 通路活化, 进而诱导胃癌细胞周期阻滞、促进凋亡并抑制增殖, 发挥抗胃癌活性。

关键词: 桑黄素; 胃癌; 生物信息学; PI3K/Akt 通路; 细胞凋亡; 细胞增殖

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)15-5902-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.15.011

Mechanism of morin in inhibiting gastric cancer cells by regulating PI3K/Akt pathwayCUI Yutong¹, HE Li¹, LI Junjie², HOU Yi², BO Sihan³, YOU Yong⁴, LIU Lei⁴, GAO Yaxian^{4,5}, WANG Yongwei⁶

1. Clinical College, Chengde Medical University, Chengde 067000, China

2. Basic Medical College, Chengde Medical University, Chengde 067000, China

收稿日期: 2026-03-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81703001); 河北省自然科学基金资助项目 (H2026406050); 河北省泛血管疾病重点实验室开放项目 (FXGJBKFKT2504); 河北省高等学校科学技术研究项目 (QN2026257); 承德医学院大学生创新创业训练计划项目 (2025007, 2024107)

作者简介: 崔宇彤, 女, 本科生, 研究方向为中药免疫。E-mail: 15232958020@163.com

#共同第一作者: 贺立, 女, 本科生, 研究方向为中药免疫。E-mail: 18942604570@163.com

***通信作者:** 王永为, 男, 副教授, 研究方向为中药免疫。E-mail: wangyongwei@cdmc.edu.cn

高亚贤, 女, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药免疫。E-mail: gaoyaxian@cdmc.edu.cn

3. Department of Mental Health Prevention and Control, The Third Hospital of Quzhou, Quzhou 324000, China
4. Department of Immunology, Basic Medical College, Chengde Medical University, Chengde 067000, China
5. Hebei Key Laboratory of Panvascular Diseases, Chengde 067000, China
6. Department of Anatomy, Basic Medical College, Chengde Medical University, Chengde 067000, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of morin, an active ingredient of Sangzhi (*Mori Ramulus*), against gastric cancer based on network pharmacology, molecular docking and *in vitro* experiments. **Methods** Potential targets of *Mori Ramulus* and gastric cancer-related targets were screened by network pharmacology, and the intersection of targets was obtained. Protein-protein interaction (PPI) network topological analysis, gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analysis, and GEO dataset validation were used to screen core targets. Molecular docking and molecular dynamics simulation were applied to verify the binding ability of morin (the active ingredient of *Mori Ramulus*) to phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit 1 (PIK3R1) and the stability of the formed complex. In *in vitro* experiments, human gastric adenocarcinoma AGS cells were treated with 100, 200, 300, 400 $\mu\text{mol/L}$ morin alone or combined with phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) agonist 740Y-P. Cell proliferation ability was detected by CCK-8 assay and plate clone formation assay. Cell apoptosis rate and cell cycle distribution were detected by flow cytometry. Expressions of PI3K/protein kinase B (Akt) pathway, apoptosis and cycle related proteins were detected by Western blotting. **Results** A total of 178 potential targets of *Mori Ramulus*, 13 100 gastric cancer-related targets, and 159 intersecting targets were identified. Enrichment analysis showed that the key pathway was the PI3K/Akt pathway. Morin had strong binding affinity with PIK3R1, was significantly highly expressed in gastric cancer tissues, and the constructed morin-PIK3R1 complex maintained excellent stability. The *in vitro* experiment results showed that morin could inhibit AGS cells proliferation in a dose-dependent manner, induce G₀/G₁ phase arrest, and promote cell apoptosis ($P < 0.05, 0.01$). Meanwhile, morin downregulated the expressions of PI3K/Akt pathway, B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), cyclin D1 (CCND1), cyclin-dependent kinase 4 (CDK4) and cyclin-dependent kinase 6 (CDK6) protein ($P < 0.05, 0.01$), and upregulated the expressions of Bcl-2 associated X protein (Bax) and p21 ($P < 0.01$). Combined treatment with 740Y-P significantly reversed the effects of morin on proliferation, apoptosis and cell cycle ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Morin can exert anti-gastric cancer activity by targeting and stably binding to PIK3R1, inhibiting the activation of PI3K/Akt pathway, inducing cell cycle arrest, promoting apoptosis, and inhibiting proliferation in gastric cancer cells.

Key words: morin; gastric cancer; bioinformatics; PI3K/Akt pathway; cell apoptosis; cell proliferation

胃癌是常见和致命的癌症之一，由于早期诊断困难，大部分患者发现时已是晚期，是全球发病率第 5 位、致死率位居前列的肿瘤^[1]。胃癌是胃黏膜上皮源性的恶性肿瘤疾病，其重要影响因素包括地域环境、生活与饮食习惯、癌前病变和遗传因素等，快节奏生活背景下发病人群渐呈年轻化趋势^[2]。胃癌治疗以多学科综合治疗为主的综合治疗策略，治疗效果虽有所提升，但预后复发率和转移率仍居高^[3]。中医药抗肿瘤具有多靶点、不良反应较低的特点，与化疗联用可减轻化疗不良反应、改善胃癌患者生活质量并延长生存期，在胃癌综合治疗中展现出潜在应用价值^[4]。桑枝为桑科桑属植物桑 *Morus alba* L. 的干燥嫩枝，含有黄酮、多酚和生物碱等具有降血糖、抗氧化、抗炎等活性，其部分成分也展现出潜在抗肿瘤活性^[5]。桑枝也是桑蚕产业丰富的副产物，开发桑枝新途径具有重大意义^[6]。多种天然黄酮类化合物能以不同方式对胃癌产生抑制作用^[7]。桑黄素是从桑科植物中分离得到的一种黄酮类化合物，是桑枝中含量丰富的天然成分之一。现代药理学研究显示，桑黄素具

有抗炎、抗氧化、神经保护和抗菌等活性^[8]，但其对胃癌发生发展的作用机制目前并不明确。本研究通过网络药理学与基因表达全集 (gene expression omnibus, GEO) 数据集差异基因分析，预测桑枝治疗胃癌的作用靶点与信号通路，结合分子对接技术与分子动力学模拟分析进一步验证候选核心靶点，最后通过体外实验验证桑黄素通过磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) /蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 治疗胃癌的作用机制。

1 材料

1.1 细胞

人胃腺癌 AGS 细胞购自中国科学院上海细胞库。

1.2 药品与试剂

桑黄素 (质量分数 $\geq 98\%$ ，批号 SSS05-20240627A01) 购自南京春秋生物工程有限公司；PI3K 激动剂 740Y-P (质量分数 99.78%，批号 DDGWL)、增强型细胞计数试剂盒 (cell counting kit-8, CCK-8, 批号 WUKLE) 购自思科捷生物技术有限公司；4%多聚甲醛 (批号 25420539) 购自 Biosharp

公司;乙醇(批号 20250408)、甲醇(批号 20251113)购自天津市科密欧化学试剂有限公司;青链霉素混合液(批号 240006006)、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS, 批号 SA240910)、DMEM/F12 基础培养基(批号 WHB824U181)购自武汉普诺赛生命科技有限公司;磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS, 批号 IBKER027)购自北京伊诺凯科技有限公司;0.25%胰蛋白酶消化液(批号 2500040007)、RIPA 蛋白裂解液(批号 2500110012)、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO, 批号 GP2403016)、BCA 蛋白定量试剂盒(批号 2500010501)购自北京索莱宝科技有限公司;1%结晶紫水溶液(批号 TB2507)购自河北瑞帕特生物科技有限公司;Annexin V-APC/7-AAD 细胞凋亡检测试剂盒(批号 A407326)、细胞周期染色试剂盒(批号 A507324)购自杭州联科生物技术股份有限公司;彩虹预染蛋白 Marker(批号 ZG2701)购自苏州新赛美生物科技有限公司;PVDF 转印膜(批号 0000328308)购自美国 Millipore 公司;p21 抗体(批号 10502319)购自艾比玛特医药科技(上海)有限公司;p-Akt (Ser473) 抗体(批号 13038S)购自美国 CST 公司; α -微管蛋白(α -tubulin)抗体(批号 10028551)、PI3K p110 β 亚基(p110 β)抗体(批号 10031588)、PI3K p85 α 亚基(p85 α)抗体(批号 10052244)、Akt 兔单克隆抗体(批号 00071929)、B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)抗体(批号 10005560)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)抗体(批号 10005017)、周期蛋白 D1(cyclin D1, CCND1)抗体(批号 10003818)、周期蛋白依赖性激酶 4(cyclin-dependent kinase 4, CDK4)抗体(批号 00113795)、CDK6 抗体(批号 00117738)、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗(批号 20001626)、HRP 标记的山羊抗鼠 IgG 二抗(批号 20001573)购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.3 仪器

CKX53SF-R 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司);XB70 型雪花制冰机(宁波格兰特制冷设备制造有限公司);DW-86L626 型医用超低温保存箱(青岛海尔特种电器有限公司);Heracell 150i 型二氧化碳培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);HD-4+型全自动细胞计数仪[高分(北京)生物科技有限公司];Classic EU10 型纯水机(青岛普洛斯科技有限公司);ZHJH-C1112C 型超净工作台(上海智城分

析仪器制造有限公司);Genespeed 416 型台式离心机、Genespeed 1736R 型低温高速离心机(基因有限公司);WT100-1 型恒温水浴槽(杭州米欧仪器有限公司);PR224ZH 型电子天平[奥豪斯仪器(常州)有限公司];SX-500 型高压蒸汽灭菌器(日本 TOMY 公司);Research[®] plus 型移液器(德国 Eppendorf 公司);VE-180 型微型垂直电泳槽(上海天能科技有限公司);VE-186 型湿式电转印槽(上海天能科技有限公司);ELx808IU 型酶标仪(美国 BioTek 公司);KB-800 型智能脱色摇床(海门其林贝尔仪器制造有限公司);Tanon 6100 型化学发光成像系统(上海天能科技有限公司);BG-Power 600 型电泳电源[贝晶生物科技(上海)有限公司];MTC-100 型恒温混匀仪(杭州川一实验仪器有限公司);FACSCalibur 型流式细胞仪(美国 BD Biosciences 公司)。

2 方法

2.1 生物信息学分析

2.1.1 网络药理学研究 以类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 、口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 为标准,通过 TCMSP 数据库(<https://www.tcmsp-e.com/>)筛选桑枝的核心活性成分,通过 SwissTargetPrediction (<https://www.swisstargetprediction.ch/>)预测其潜在靶标并经 UniProt(<https://www.uniprot.org/>)注释,通过 GeneCard(<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<https://www.omim.org/>)、PharmGkb (<https://www.pharmgkb.org/>)、TTD (<https://db.idrblab.net/ttd/>)、DrugBank (<https://go.drugbank.com/>)数据库筛选胃癌相关基因,经交集分析确定活性成分与疾病的共同靶点;利用 STRING 数据库(<https://string-db.org/>)构建蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络,通过 Cytoscape 3.10.1 软件构建“桑枝活性成分-靶点-胃癌”网络图并筛选核心靶点,经 DAVID 数据库(<https://davidbioinformatics.nih.gov>)富集分析(校正后 $P < 0.05$),采用气泡图展示关键基因本体(gene ontology, GO)条目及京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路,并基于 KEGG 富集结果,对富集程度较高的通路通过 KEGG Mapper (<https://www.genome.jp/kegg/mapper/>)进行可视化分析。

2.1.2 GEO 数据集验证靶点 采用 GSE54129 基因集验证目标位点的表达模式。使用 easyGEO 工具筛选差异表达基因(differentially expressed genes,

DEGs), 设定阈值为 $|\log_2$ 差异倍数 (fold change, FC) >1 且 $P<0.05$, 将结果以火山图形式呈现, 并通过韦恩图展示桑枝活性成分候选靶点基因与 GSE54129 数据集全部基因集的交集情况。

2.1.3 分子对接实验 选择活性成分与核心靶点进行分子对接分析。从 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载活性成分的二维结构, 使用 Chem3D 软件进行能量最小化处理获得三维结构; 通过 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载蛋白质的三维结构, 利用 Pymol 软件剔除与相关蛋白质结合的小分子配体及水分子。将优化后的结构导入 AutoDock Tools 进行氢化处理和分子对接, 采用 AutoDock Vina 软件进行分子对接, 获得的配体-靶标构象通过 PyMOL 和 Discovery Studio 软件进行可视化。

2.1.4 分子动力学模拟实验 采用 GROMACS 软件进行分子动力学模拟, 其中小分子配体使用 GAFF 力场参数, 蛋白受体使用 Amber 力场。将蛋白质结构置于模拟盒中, 并用 TIP3P 水溶剂化, 加入适量钠离子或氯离子以中和体系的电荷。随后对整个体系进行能量最小化, 并进行正则系综 (NVT) 和等温等压系综 (NPT) 预平衡, 最后进行 100 ns 的动力学模拟。通过均方根偏差 (root mean square deviation, RMSD) 评估蛋白和配体结合的结构稳定性, 均方根波动 (root mean square fluctuation, RMSF) 评估蛋白质-配体复合物的柔性, 回旋半径 (radius of gyration, Rg) 评估复合物的紧凑性, 溶剂可及表面积 (solvent accessible surface area, SASA) 评估复合物在溶剂中的稳定性, 氢键的数量评估复合物系统的稳定性, 通过分子力场-泊松玻尔兹曼表面面积法 (MM/PBSA) 计算小分子配体与蛋白受体的结合自由能。

2.2 体外实验验证

2.2.1 溶液的配制 称取 50 mg 桑黄素, 溶于 DMSO 配制成 120 mmol/L 储备液, 分装后避光保存于 -20°C ; 称取 10 mg 740 Y-P, 溶于超纯水配制成 1 mmol/L 储备液, 分装后避光保存于 -20°C , 实验前新鲜配制 50 $\mu\text{mol/L}$ 工作稀释液。

2.2.2 细胞培养 AGS 细胞用含 10% FBS 和 1% 双抗的 DMEM/F12 培养基, 置于 37°C 、5% CO_2 细胞培养箱中常规培养。

2.2.3 CCK-8 检测细胞活力 取对数生长期的 AGS 细胞, 以 3×10^3 个/孔接种于 96 孔板, 培养过

夜待细胞贴壁。分别加入 10、20、40、80、160、320、640 $\mu\text{mol/L}$ 桑黄素溶液, 作用 24、48、72 h, 另设置对照组 (接种细胞不给药) 和空白组 (不接种细胞不给药)。按照 CCK-8 试剂盒说明书操作, 检测各孔吸光度 (A) 值, 计算抑制率和半数抑制浓度 (half inhibitory concentration, IC_{50})。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{给药}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.2.4 克隆形成实验 AGS 细胞以 500 个/孔接种于 6 孔板, 培养过夜待细胞贴壁。设置对照组及桑黄素 (100、200、300、400 $\mu\text{mol/L}$) 组和 DMSO 组, 弃去培养基, 对照组加入完全培养基, 桑黄素组加入含不同浓度桑黄素的完全培养基, DMSO 组加入含 DMSO 的完全培养基, 干预 24 h。弃去培养基, 更换为不含药物及 DMSO 的新鲜完全培养基继续培养, 每 3 天更换 1 次培养基。待出现肉眼可见细胞集落后, 弃去培养基, 以 4% 多聚甲醛固定 30 min, 0.1% 结晶紫染色 15 min; PBS 缓慢冲洗多余染液, 室温自然风干后, 在标准光照条件下拍照并计数克隆形成数。

2.2.5 流式细胞术检测细胞凋亡与细胞周期 AGS 细胞以 3×10^5 个/孔接种于 6 孔板, 培养过夜待细胞贴壁。按“2.2.4”项下方法进行分组和给药, 培养 24 h。弃去培养液, 加入不含 EDTA 的胰蛋白酶消化细胞, 加入 800 μL 含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养基终止消化, 轻轻吹打制成单细胞悬液。1 500 r/min 离心 4 min, 弃上清, 收集细胞沉淀并重悬至细胞密度为 1×10^5 个/mL。取细胞悬液, 按照细胞凋亡检测试剂盒与细胞周期检测试剂盒说明书步骤操作, 加入 500 μL binding buffer 重悬后进行染色, 采用流式细胞术检测细胞凋亡及细胞周期分布情况。

2.2.6 Western blotting 检测细胞周期、凋亡及 PI3K/Akt 通路相关蛋白表达 AGS 细胞以 3×10^5 个/孔接种于 6 孔板, 培养过夜待细胞贴壁。按“2.2.4”项下方法进行分组和给药, 培养 24 h。收集细胞, 加入裂解液提取蛋白, 蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 用 5% 脱脂牛奶封闭后, 分别加入 α -tubulin、p110 β 、p85 α 、p-Akt、Akt、Bcl-2、Bax、p21、CCND1、CDK4、CDK6 一抗, 4°C 孵育过夜; 洗膜后加入相应二抗, 室温孵育 1 h。采用 ECL 化学发光试剂显影, 使用 Image J 软件对蛋白条带灰度值进行定量分析。

2.2.7 PI3K 激动剂 740Y-P 对桑黄素抗肿瘤作用的影响 设置对照组、桑黄素 (400 $\mu\text{mol/L}$) 组、740Y-

P (50 $\mu\text{mol/L}$) 组和桑黄素 (400 $\mu\text{mol/L}$) + 740Y-P (50 $\mu\text{mol/L}$) 组, 给予 740Y-P 预处理 4 h, 随后给予 400 $\mu\text{mol/L}$ 桑黄素处理 24 h。按“2.2.3”项下方法检测细胞活力。设置对照组、桑黄素 (400 $\mu\text{mol/L}$) 组、740Y-P (50 $\mu\text{mol/L}$) 组、桑黄素 (400 $\mu\text{mol/L}$) + 740Y-P (50 $\mu\text{mol/L}$) 组和 DMSO 组, 按“2.2.4”项下方法检测克隆形成数, 按“2.2.5”项下方法检测细胞凋亡与细胞周期分布情况, 按“2.2.6”项下方法检测细胞周期及 PI3K/Akt 通路相关蛋白的表达。

2.3 统计学分析

采用 R 语言与 GraphPad Prism 10.0 软件进行数据分析与可视化。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 若统计数据符合正态分布、方差齐, 组间比较用 One-way ANOVA 分析, 两两比较采用独立样本 t 检验; 若统计数据不符合正态分布则采用非参数检验。

3 结果

3.1 生物信息学分析

3.1.1 桑枝活性成分筛选 根据 $\text{OB} \geq 30\%$ 且 $\text{DL} \geq 0.18$ 的成药性标准, 从桑枝中鉴定出活性成分 3 个 (表 1), 分别为桑黄素、山柰酚和氧化血根碱。

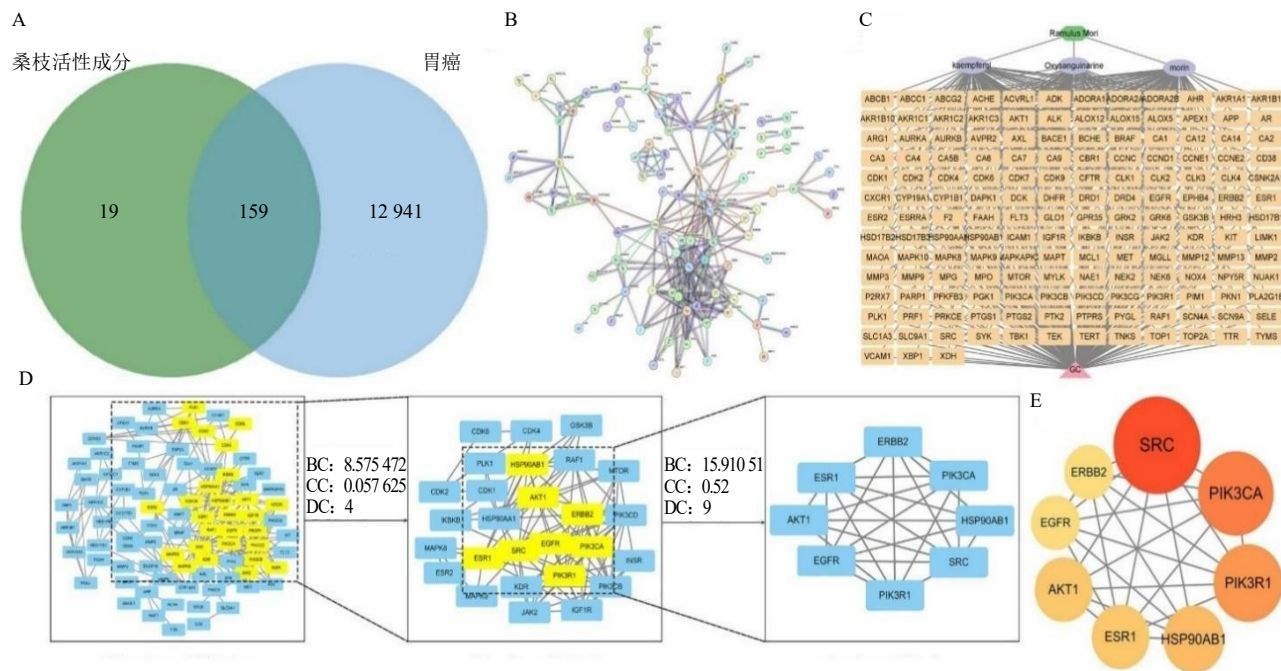
3.1.2 桑枝活性成分与胃癌的交集靶点筛选 合并去重后, 桑枝中的 3 个活性成分共得到 178 个靶点。各数据库共收集到 13 100 个与胃癌相关的基因, 将二者取交集, 共得到桑枝治疗胃癌的 159 个靶点 (图 1-A)。

3.1.3 PPI 网络构建 通过 STRING 数据库构建 PPI 网络 (图 1-B), 使用 Cytoscape 3.10.1 软件进行可视化分析, 如图 1-C 所示, 该网络包含 100 个节点 (相互作用靶点) 和 287 条边 (靶点间关系)。通过 “network analysis” 插件计算各节点的拓扑属性

表 1 桑枝的活性成分

Table 1 Active ingredients of *Mori Ramulus*

Mol ID	成分	PubChem CID	相对分子质量	OB/%	DL	靶点数量
MOL000422	山柰酚	5280863	286.25	41.88	0.24	100
MOL000729	氧化血根碱	—	347.34	46.97	0.87	88
MOL000737	桑黄素	5281670	302.25	46.23	0.27	100



A-桑枝活性成分与胃癌共同靶点的韦恩图; B-STRING 数据库构建含 192 个节点的初级互作图谱; C-基于 Cytoscape 3.10 软件构建的桑枝治疗胃癌的靶点网络; D-PPI 网络核心靶点的筛选流程; E-Cytoscape 3.10 软件筛选的核心靶点, 颜色越深代表度中心性越高。

A-Venn diagram of common targets between active ingredients from *Mori Ramulus* and gastric cancer; B-primary interaction graph with 192 nodes using STRING database; C-target network for *Mori Ramulus* in treatment of gastric cancer constructed based on Cytoscape 3.10 software; D-screening process of PPI network core targets; E-core targets selected by Cytoscape 3.10 software, with darker color representing higher degree centrality.

图 1 网络药理学筛选桑枝治疗胃癌的活性成分及潜在靶点

Fig. 1 Active ingredients and potential targets of *Mori Ramulus* against gastric cancer screened by network pharmacology

(中介中心度、接近中心度和度值), 将 3 项属性值超过中位数的靶点进行 3 轮筛选 (图 1-D), 最终确定 8 个核心靶点 (图 1-E), 分别为酪氨酸蛋白激酶 Src (proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src, SRC)、雌激素受体 α (estrogen receptor alpha, ESR1)、磷脂酰肌醇 3 激酶调节亚基 1 (phosphoinositide-3-kinase regulatory subunit 1, PIK3R1)、磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha, PIK3CA)、人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, ERBB2)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、热休克蛋白 90 α 家族 B 成员 1 (heat shock protein 90 alpha family class B member 1, HSP90AB1)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1 (serine/threonine kinase 1, AKT1)。核心靶点的拓扑属性值见表 2。

3.1.4 GO 和 KEGG 富集分析 对桑枝治疗胃癌的 159 个靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析, 共获得 722 个 GO 条目, 包括 459 个生物过程 (biological processes, BP)、80 个细胞成分 (cellular

表 2 核心靶点拓扑属性值

靶点	中介中心度	接近中心度	度值
SRC	1.6	1.000 000 000	7
ESR1	1.6	1.000 000 000	7
PIK3R1	0.8	0.875 000 000	6
PIK3CA	0.8	0.875 000 000	6
ERBB2	0.8	0.875 000 000	6
EGFR	0.8	0.875 000 000	6
HSP90AB1	0.8	0.777 777 778	5
AKT1	0.8	0.777 777 778	5

component, CC) 和 183 个分子功能 (molecular function, MF) 条目, 对各条目前 10 名进行可视化分析, 如图 2-A 所示, BP 条目涉及蛋白质磷酸化、染色质重塑等关键生物过程, CC 条目涉及细胞质、质膜等结构, MF 条目包含 ATP 结合、蛋白激酶活性等。KEGG 分析鉴定出 151 条富集通路, 对前 10 条进行可视化分析, 如图 2-B 所示, 主要富集于 PI3K-Akt 通路、内分泌耐药性以及前列腺癌、胰腺癌等泛癌通路和经典癌症通路。采用 KEGG Mapper 绘制 PI3K/Akt 通路机制图以阐明桑枝治疗胃癌的潜在作用机制 (图 3)。

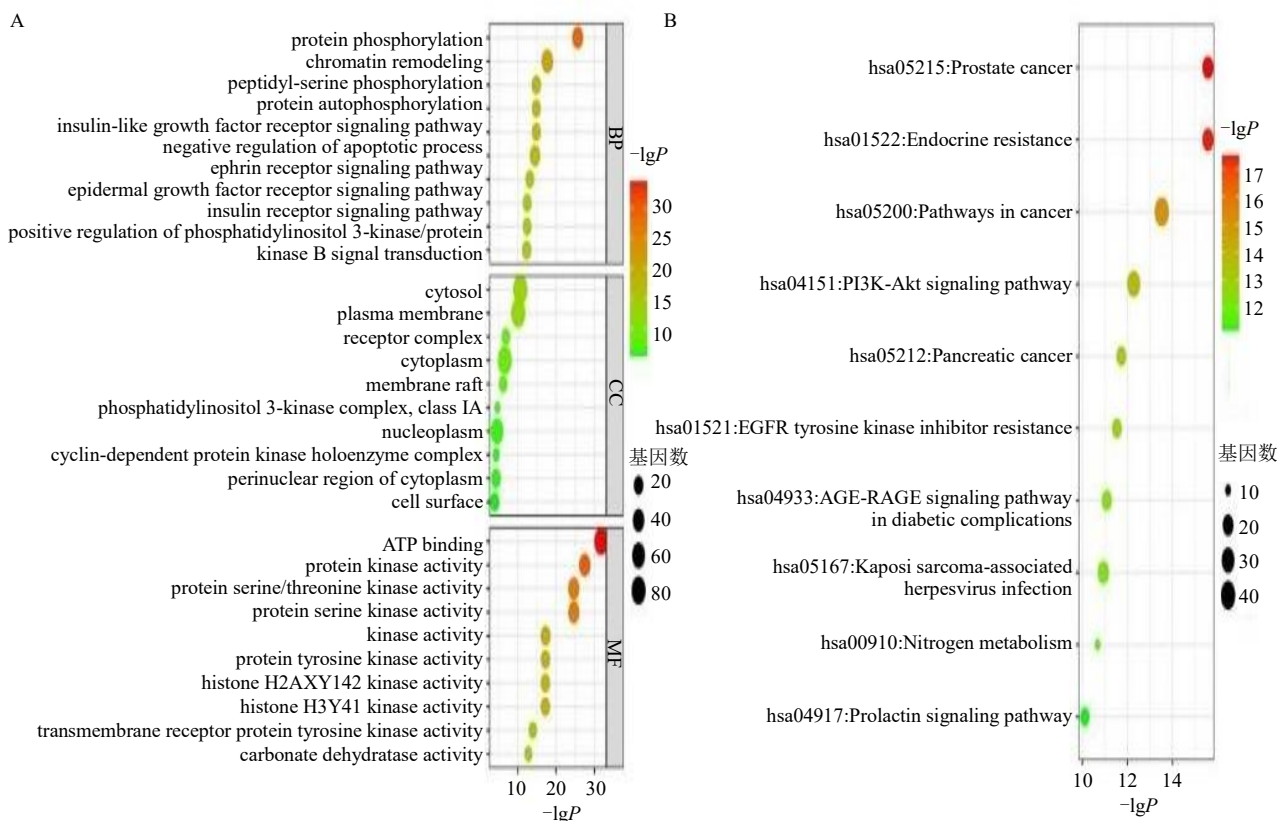
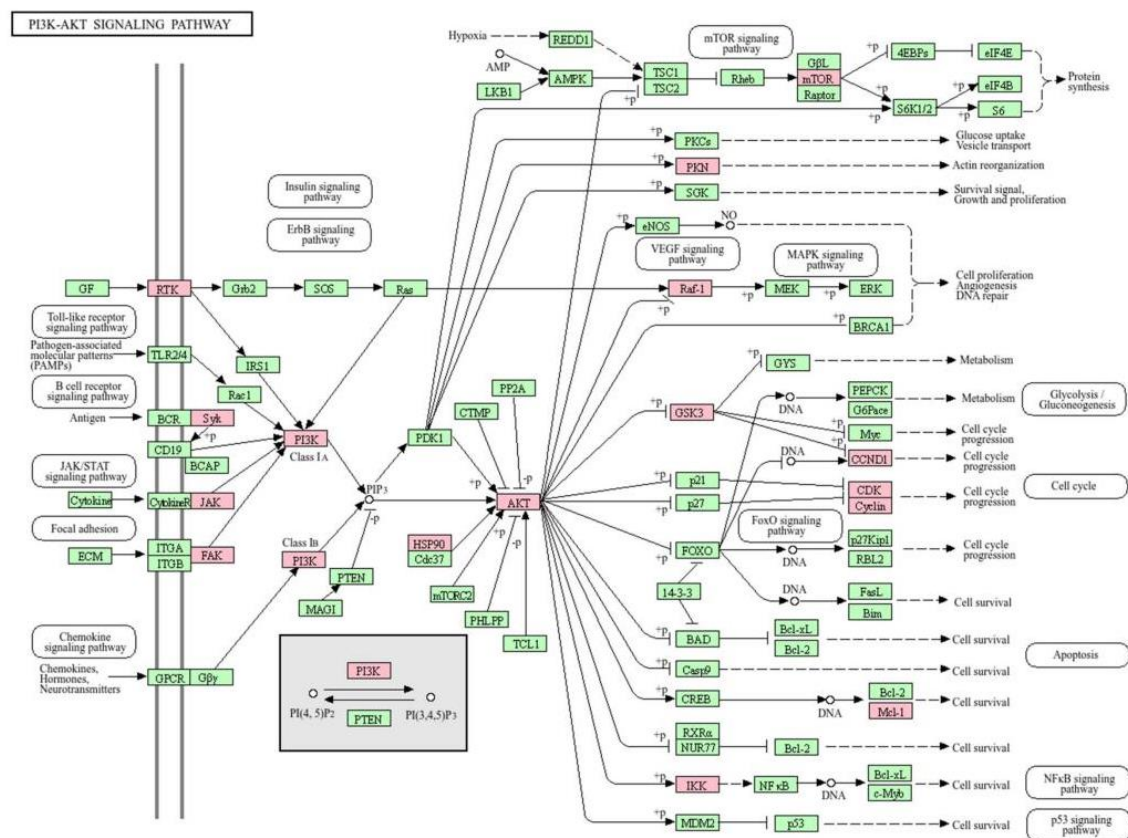


图 2 GO (A) 和 KEGG (B) 富集分析
Fig. 2 GO (A) and KEGG (B) enrichment analysis



红色方框为桑枝治疗胃癌的靶点。

Red box represents target of *Ramulus Mori* in treatment of gastric cancer.

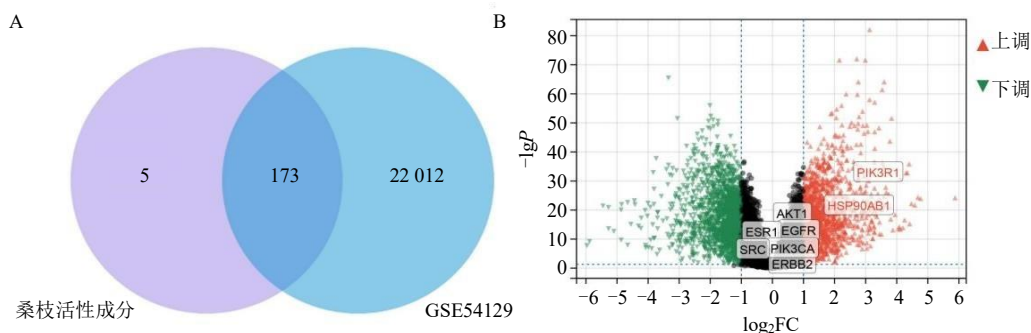
图3 KEGG Mapper 可视化 PI3K/Akt 信号通路

Fig. 3 PI3K/Akt signaling pathway visualized by KEGG Mapper

3.1.5 GEO 数据集的靶点验证结果 将 GSE54129 数据集全部基因与桑枝活性成分靶点基因取交集，得到 173 个共同基因（图 4-A）。GSE54129 数据集中鉴定出 3 673 个胃癌相关 DEGs，其中 1 990 个基因下调，1 683 个基因上调（图 4-B），网络药理学分析得到的桑枝治疗胃癌的 2 个核心靶基因

（PIK3R1、HSP90AB1）明显上调。

3.1.6 活性成分与核心靶点的分子对接验证 选取 GSE54129 数据集中明显上调的 2 个核心靶点蛋白（PIK3R1、HSP90AB1）与桑枝中的活性成分（山柰酚、桑黄素、氧化血根碱）进行分子对接，结果如图 5 所示。结合能 < -4.25 kcal/mol 为基线相互作用



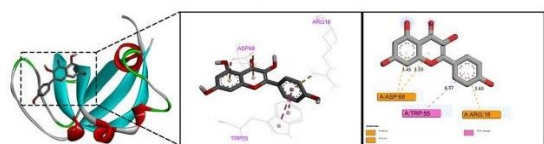
A-桑枝靶点与 GSE54129 数据集的交集基因；B-GSE54129 数据集中胃癌的 DEGs。

A-common genes between *Mori Ramulus* targets and GSE54129 dataset; B-DEGs of gastric cancer in GSE54129 dataset.

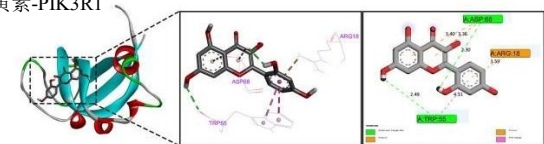
图4 GEO 数据库筛选胃癌 DEGs

Fig. 4 DEGs of gastric cancer screened by GEO database

山柰酚-PIK3R1



桑黄素-PIK3R1



氧化血根碱-HSP90AB1

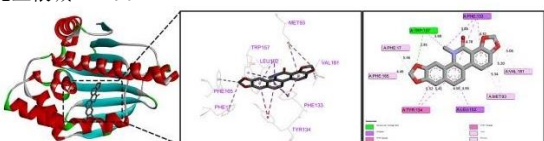


图 5 桑枝活性成分与潜在靶点的分子对接示意图
Fig. 5 Molecular docking schematic diagram of active components from *Mori Ramulus* and potential targets

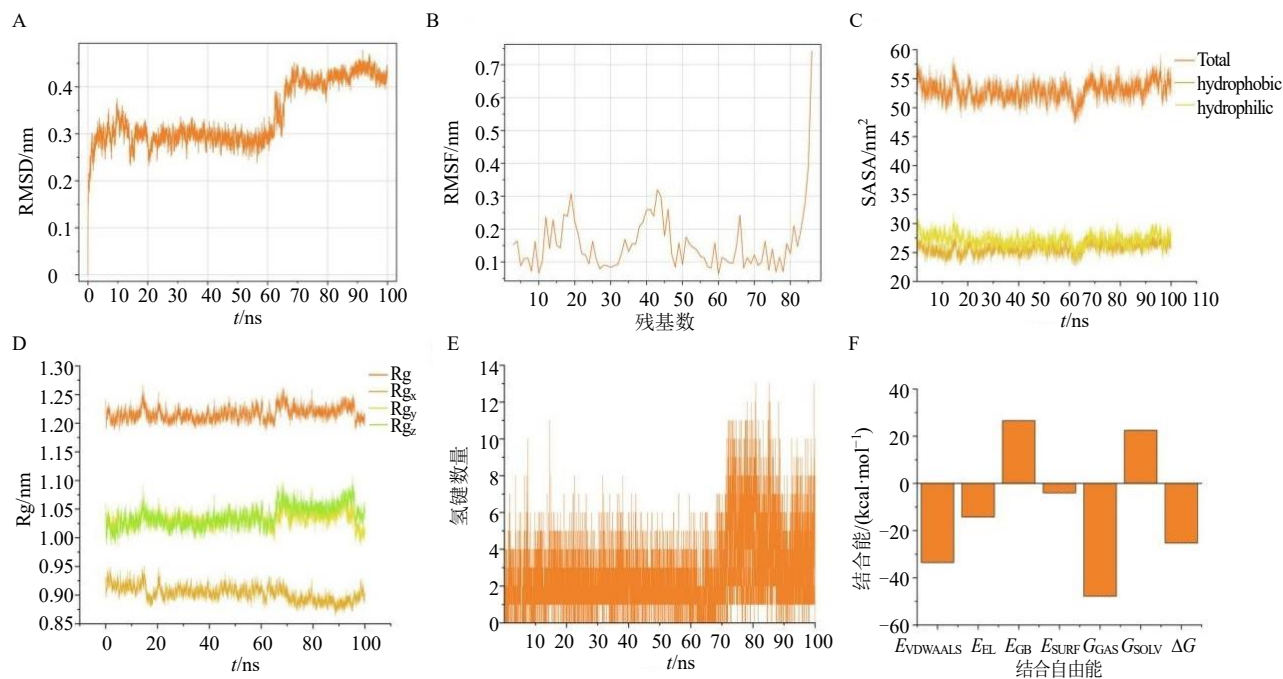
用 ($1 \text{ kcal/mol} = 4.182 \text{ kJ/mol}$), 结合能 $< -5.0 \text{ kcal/mol}$ 为良好结合, 结合能 $< -7.0 \text{ kcal/mol}$ 为高亲和力结合。如表 3 所示, PIK3R1 可与山柰酚和桑黄素结合, 其中与桑黄素的结合能力更佳; HSP90AB1 可与氧化血根碱结合。

表 3 桑枝活性成分与潜在靶点的结合能

Table 3 Binding energies between active components from *Mori Ramulus* and potential targets

靶点	活性成分	PDB (ID)	结合能/($\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$)
PIK3R1	山柰酚	1PHT	-6.8
	桑黄素	1PHT	-7.0
HSP90AB1	氧化血根碱	6N8Y	-12.0

3.1.7 分子动力学模拟结果 桑黄素的 OB、DL 均优于山柰酚, 相对分子质量更符合口服小分子药物的最优范围。结合 PPI 网络度中心性排序、GEO 胃癌数据集差异表达分析及 KEGG 通路富集优先级, 锁定 PI3K/Akt 通路上关键调控靶点 PIK3R1, 其在胃癌组织高表达且与肿瘤增殖、周期、凋亡调控高度相关, 为机制验证的核心靶点。选用桑黄素-PIK3R1 复合物进行分子动力学模拟, 考察复合物的结合稳定性及构象动力学。RMSD 结果 (图 6-A) 显示, 该复合物在 2 ns 时达到初始稳定状态, 随后出现轻微波动并在 63 ns 时出现短暂冲击, 最终在 80 ns 后于 0.4 nm 处达到平衡, 表明整体稳定性良好。RMSF 结果 (图 6-B) 显示, 虽然复合物整体结构稳定, 但 11-26 和 33-47 残基具有较大的弹性,



A-RMSD; B-RMSF; C-SASA; D-Rg; E-氢键数量; F-结合自由能。
A-RMSD; B-RMSF; C-SASA; D-Rg; E-number of hydrogen bonds; F-binding free energy.

图 6 桑黄素与 PIK3R1 的分子动力学模拟结果
Fig. 6 Molecular dynamics simulation results of morin with PIK3R1

提示在靶向修饰上述残基后,桑黄素-PIK3R1 复合物系统的稳定性可能会增强。SASA 结果(图 6-C)显示,在 100 ns 模拟过程中,总疏水性和亲水性 SASA 始终保持相对稳定水平,提示蛋白质溶剂暴露特征未发生显著变化,且桑黄素与 PIK3R1 之间的接触面积稳定。 R_g 保持相对恒定,仅在 15、69 ns 时出现小幅升高(图 6-D),表明复合物结构紧凑且折叠良好。氢键数量结果(图 6-E)显示,80 ns 后复合物分子间氢键数量显著增加,进一步强化了结合稳定性。

通过 MM/PBSA 框架对轨迹衍生构象体进行定量分析,结合能结果(图 6-F)显示,桑黄素-PIK3R1 复合物表现出显著的负相互作用能($E_{VDWAALS} = -33.58$ kcal/mol, $E_{EL} = -14.25$ kcal/mol),表明范德华力和静电作用是该复合物热力学稳定性的主要贡献因素。溶剂化作用(G_{SOLV})包含极性项 E_{GB} (26.59 kcal/mol)和非极性项 E_{SURF} (-4.03 kcal/mol)。气相自由能($G_{GAS} = -47.83$ kcal/mol)与($G_{SOLV} = 22.56$ kcal/mol)的叠加产生 $\Delta G = -25.27$ kcal/mol,表明桑黄素对 PIK3R1 具有强亲和力。

3.2 体外实验验证

3.2.1 桑黄素抑制 AGS 细胞活力 如图 7-A 所示,

桑黄素呈时间和剂量相关性抑制 AGS 细胞活力,桑黄素作用 AGS 细胞 24、48、72 h 的 IC_{50} 分别为 313.4、307.6、207.7 $\mu\text{mol/L}$ 。根据文献报道及预实验结果,综合考虑抑制效应与细胞状态,选取 100、200、300、400 $\mu\text{mol/L}$ 桑黄素处理 AGS 细胞 24 h 进行后续实验。

3.2.2 桑黄素抑制 AGS 细胞增殖 如图 7-B、C 所示,与对照组(桑黄素为 0 $\mu\text{mol/L}$)比较,300、400 $\mu\text{mol/L}$ 桑黄素显著抑制 AGS 细胞克隆形成($P < 0.01$),且呈剂量相关性,表明桑黄素能抑制 AGS 细胞增殖。

3.2.3 桑黄素促进 AGS 细胞凋亡 如图 7-D、E 所示,与对照组比较,200~400 $\mu\text{mol/L}$ 桑黄素显著提高细胞凋亡率($P < 0.05$ 、0.01),且呈剂量相关性。该促凋亡效应与抑制细胞增殖的变化趋势一致,提示桑黄素主要通过诱导细胞凋亡发挥抑制 AGS 细胞增殖的作用。

3.2.4 桑黄素阻滞 AGS 细胞周期 如图 7-F~H 所示,与对照组比较,300、400 $\mu\text{mol/L}$ 桑黄素显著提高 G_0/G_1 期细胞比例($P < 0.01$),且呈剂量相关性。表明桑黄素可通过诱导 AGS 细胞发生 G_0/G_1 期阻滞,进而抑制细胞增殖。

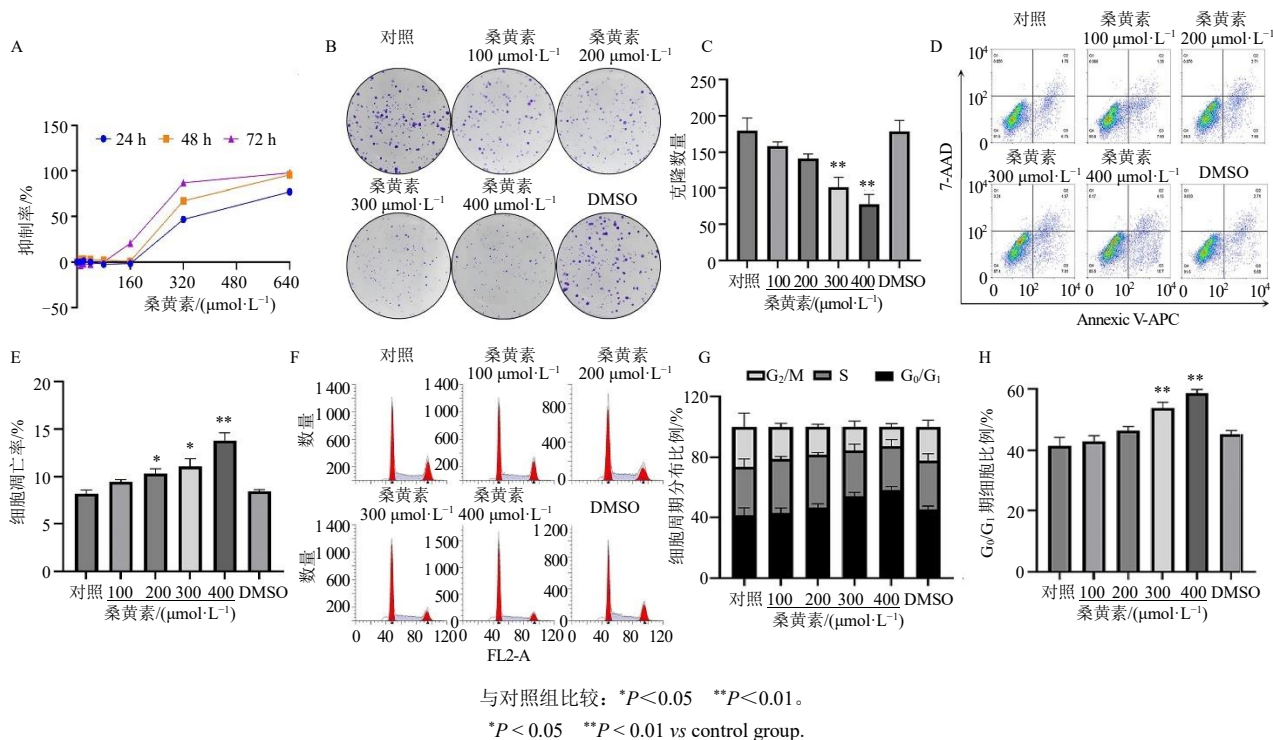


图7 桑黄素对 AGS 细胞活力 (A)、克隆形成 (B、C)、凋亡 (D、E) 和细胞周期分布 (F~H) 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)
Fig. 7 Effect of morin on viability (A), colony formation (B, C), apoptosis (D, E) and cell cycle distribution (F~H) in AGS cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3.2.5 桑黄素对 AGS 细胞 PI3K/Akt 通路、周期及凋亡相关蛋白表达的影响 如图 8 所示,与对照组比较,400 $\mu\text{mol/L}$ 桑黄素显著下调 PI3K/Akt 通路关键分子 (p85 α 、p110 β 、p-Akt) 及增殖相关蛋白 (CCND1、CDK4、CDK6) 和抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达 ($P<0.05$ 、0.01),显著上调促凋亡蛋白 Bax 与细胞周期调控蛋白 p21 表达 ($P<0.05$ 、0.01); 300

$\mu\text{mol/L}$ 桑黄素显著下调 p85 α 、p110 β 、CCND1、CDK6 蛋白和抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达 ($P<0.05$),显著上调 p21 蛋白表达 ($P<0.01$); 200 $\mu\text{mol/L}$ 桑黄素显著下调 p85 α 、p110 β 表达 ($P<0.05$),显著上调 p21 蛋白表达 ($P<0.01$)。表明桑黄素能够抑制 PI3K/Akt 通路的磷酸化水平,诱导 AGS 细胞发生 G₀/G₁ 期阻滞并促进细胞凋亡。

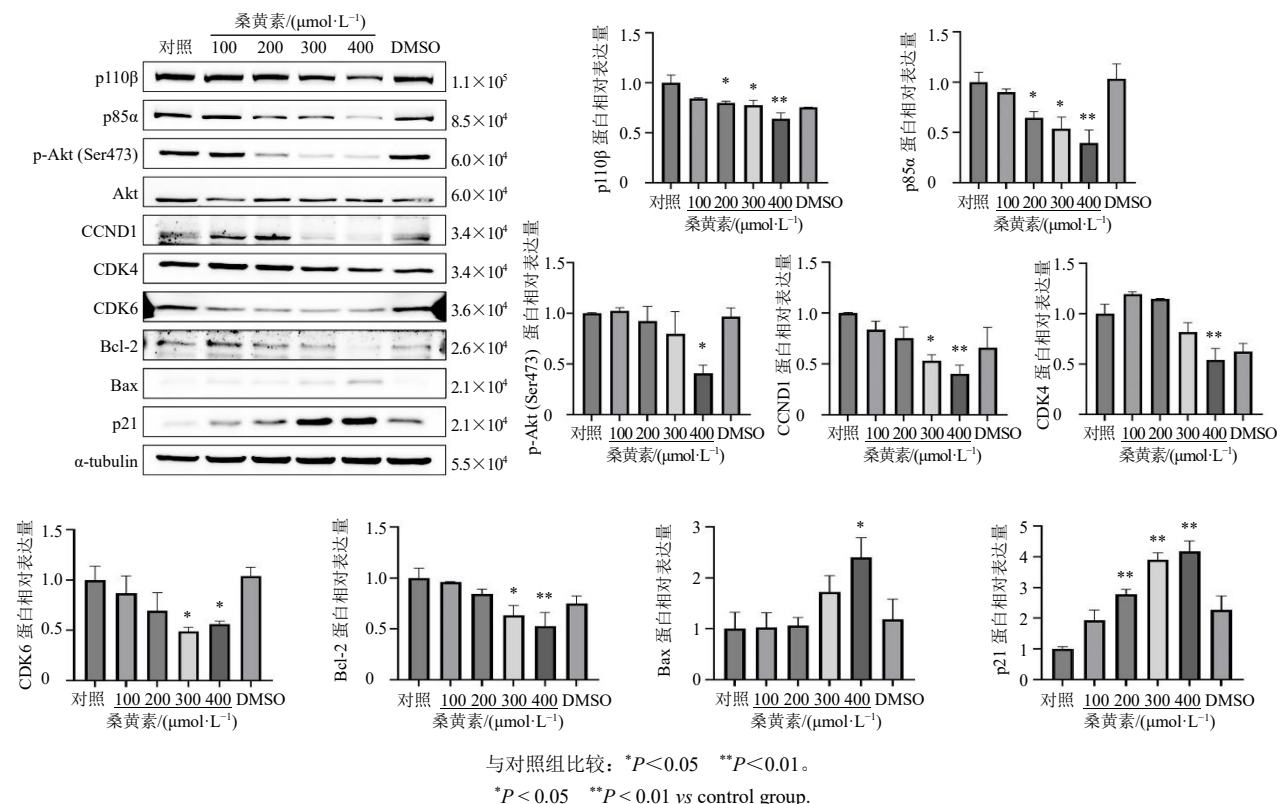


图 8 桑黄素对 AGS 细胞中 PI3K/Akt 通路及凋亡、周期相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 8 Effect of morin on expressions of PI3K/Akt pathway, apoptosis and cycle-related proteins in AGS cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.3 PI3K 激动剂 740Y-P 回复实验结果

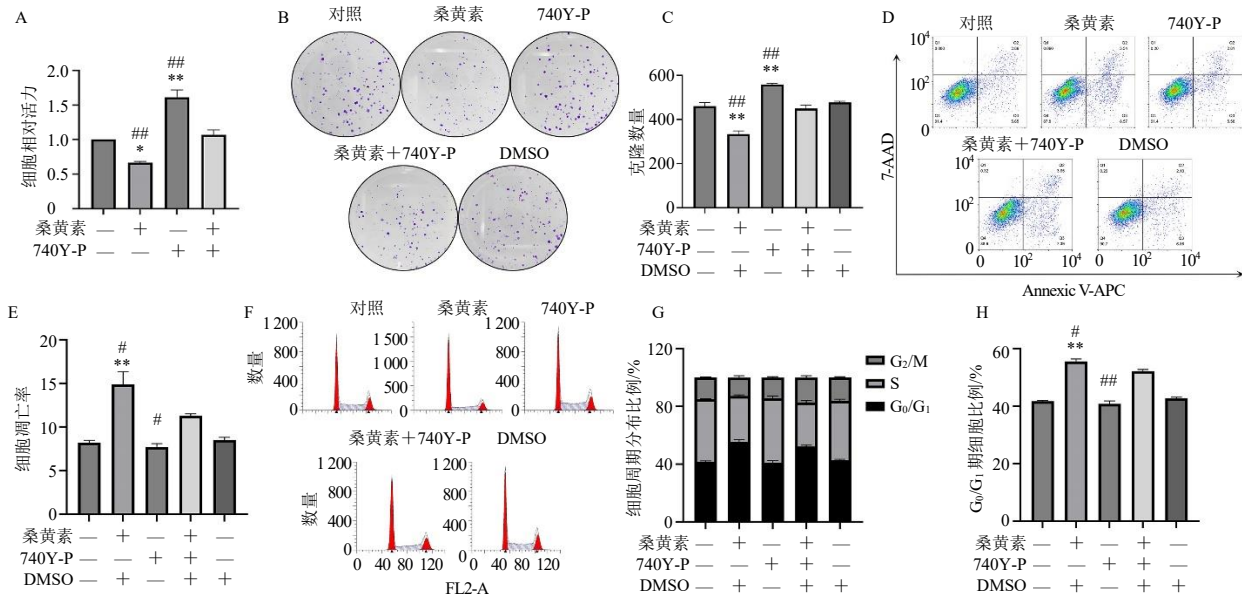
3.3.1 740Y-P 可部分逆转桑黄素抑制 AGS 细胞活力的效应 如图 9-A 所示,与对照组比较,740Y-P 单独处理显著提高细胞活力 ($P<0.01$),桑黄素单独处理则明显抑制 AGS 细胞活力 ($P<0.05$);与联合处理组比较,桑黄素单用组的细胞存活率显著降低 ($P<0.01$),但 740Y-P 单用组的细胞存活率显著升高 ($P<0.01$),表明 740Y-P 能够在一定程度上逆转桑黄素对 AGS 细胞活力的抑制作用。

3.3.2 740Y-P 可部分逆转桑黄素抑制 AGS 细胞增殖的效应 如图 9-B、C 所示,与对照组比较,740Y-P 单独处理可显著提升 AGS 细胞的克隆形成能力 ($P<0.01$),而桑黄素单独处理则明显抑制细胞克隆形成 ($P<0.01$);与联合处理组比较,桑黄素单用

组的克隆形成数显著减少 ($P<0.01$),但 740Y-P 单用组的克隆形成数显著增加 ($P<0.01$),表明 740Y-P 能够在一定程度上逆转桑黄素对 AGS 细胞增殖的抑制作用。

3.3.3 740Y-P 可部分逆转桑黄素促 AGS 细胞凋亡的效应 如图 9-D、E 所示,与对照组比较,桑黄素单独处理则显著提高了细胞凋亡率 ($P<0.01$)。与联合处理组比较,桑黄素单用组的细胞凋亡率显著升高 ($P<0.05$),但 740Y-P 单用组的细胞凋亡率显著降低 ($P<0.05$),表明 740Y-P 能够在一定程度上逆转桑黄素促 AGS 细胞凋亡作用。

3.3.4 740Y-P 可部分逆转桑黄素阻滞 AGS 细胞周期的效应 如图 9-F~H 所示,与对照组比较,桑黄素单独处理可显著诱导细胞 G₀/G₁ 期阻滞 ($P<0.01$)。



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与桑黄素+740Y-P 组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

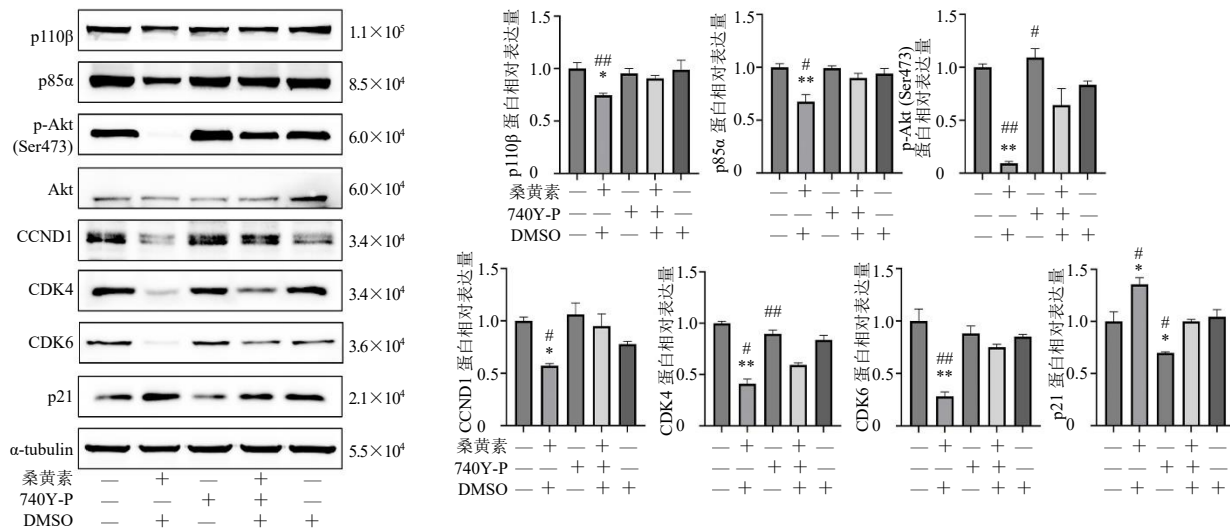
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs morin + 740Y-P group.

图9 740Y-P联合桑黄素对AGS细胞活力(A)、克隆形成(B、C)、凋亡(D、E)和细胞周期分布(F~H)的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 9 Effect of 740Y-P combined morin on viability (A), colony formation (B, C), apoptosis (D, E) and cell cycle distribution (F~H) in AGS cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

与联合处理组比较, 桑黄素单用组的细胞 G_0/G_1 期比例显著升高 ($P < 0.05$), 但 740Y-P 单用组的细胞 G_0/G_1 期比例显著降低 ($P < 0.01$), 表明 740Y-P 能够在一定程度上逆转桑黄素阻滞 AGS 细胞周期作用。

3.3.5 740Y-P 联合桑黄素对 AGS 细胞中 PI3K/Akt 通路及周期相关蛋白表达的影响 如图 10 所示, 与对照组比较, 桑黄素单用组可显著下调 p85 α 、p110 β 、p-Akt、CCND1、CDK4 及 CDK6 蛋白的表



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与桑黄素+740Y-P 组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs morin + 740Y-P group.

图10 740Y-P联合桑黄素对AGS细胞PI3K/Akt通路及周期相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 10 Effect of 740Y-P combined with morin on expressions of PI3K/Akt pathway and cycle-related proteins in AGS cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

达 ($P < 0.05$ 、 0.01), 并显著上调 p21 的表达 ($P < 0.05$); 740Y-P 单用组可显著下调 p21 蛋白的表达 ($P < 0.05$)。与联合用药组相比, 桑黄素单用组显著降低 PI3K/Akt 通路相关蛋白及细胞周期相关蛋白的表达 ($P < 0.05$ 、 0.01), 显著升高 p21 蛋白的表达 ($P < 0.05$); 740Y-P 单用组可显著上调 p-Akt、CDK4 蛋白的表达 ($P < 0.05$ 、 0.01), 并显著下调 p21 蛋白的表达 ($P < 0.05$)。表明 740Y-P 可部分逆转桑黄素对 AGS 细胞中 PI3K/Akt 通路及周期相关蛋白表达的调控作用。

4 讨论

目前胃癌领域的新药研发持续推进, 但临床转化与疗效提升仍较为有限, 晚期胃癌患者整体预后仍不理想^[9]。由于胃癌发病机制复杂、治疗靶点尚不明确, 导致个体化治疗实施受限, 因此挖掘高准确度的预后标志物与作用靶点, 对改善胃癌患者预后具有重要意义^[10]。网络药理学能够系统阐释中药多成分、多靶点、多通路协同调控的特点, 为中药活性成分筛选、作用靶点预测及机制探索提供可靠策略^[11]。本研究通过网络药理学、PPI 和富集分析, 发现桑枝抗胃癌的作用机制与 PI3K/Akt 信号通路有关, 并在此基础上开展分子对接与体外实验验证。PIK3R1 编码 IA 类 PI3K 的调节亚基 p85 α , 包含 p85 α 、p55 α 及 p50 α 3 种亚型^[12]。研究表明, PIK3R1 在胃癌中异常高表达, 可促进肿瘤发生发展及恶性进展^[13]。已有研究证实 PI3K p85 α 与 p-Akt 在胃癌组织中呈高表达状态^[14]。本研究基于 GEO 数据集 GSE54129 进行差异表达分析, 结果显示, 与正常胃黏膜组织比较, 胃癌组织中 PIK3R1 转录水平显著升高, 提示其可作为胃癌潜在治疗靶点。核心靶点关联分析显示, PIK3R1 为桑枝中山柰酚与桑黄素的共同作用靶点。PI3K/Akt 信号通路是调控细胞增殖、分化、凋亡及周期进程的关键通路, 在多种恶性肿瘤中频繁发生改变, 进而影响肿瘤的发生与进展^[15]。在胃癌中, 抑制 PI3K/Akt 通路可显著减弱细胞恶性生物学行为^[16]。CDK4、CDK6、CCND1 和 pRb 的升高与恶性细胞周期失调密切相关^[17-18], 靶向抑制上述因子可为胃癌治疗提供新方向。

黄酮类化合物是一种结构多样的植物化学类化合物, 在多种致癌途径中表现出明显的抗肿瘤活性。本研究选择桑枝主要类黄酮桑黄素进行进一步研究。分子对接实验和分子动力学模拟证实了桑黄素与 PIK3R1 的高亲和力和桑黄素-PIK3R1 复合物

的结构持续性。桑黄素为典型的天然黄酮类活性成分, 100~500 $\mu\text{mol/L}$ 桑黄素可通过诱导细胞周期阻滞、激活线粒体依赖凋亡通路, 抑制人白血病 HL-60 细胞增殖^[19]; 在 HeLa 细胞中同样表现出明确的抗肿瘤作用, 其 IC₅₀ 为 214.28 $\mu\text{mol/L}$, 并可引起肿瘤细胞形态学改变^[20]。研究表明, 桑黄素可通过抑制 BAD 蛋白的泛素-蛋白酶体降解途径, 进而促进肿瘤细胞凋亡^[21]。然而, 目前尚未见研究阐明桑黄素能否通过靶向 PI3K/Akt 信号通路调控胃癌细胞周期进程, 其具体分子机制有待进一步揭示。

天然黄酮可经 PI3K/Akt 通路抑癌, 安全性优于人工合成抑制剂^[22]; 分子模拟证实其能结合 PI3K 核心位点, 具多靶点调控特征, 机制异于合成抑制剂^[23], 桑黄素抑癌活性明确, 细胞毒性极低 (动物实验每日 300 mg/kg 长期给药未见明显不良反应), 且可抑制 P-糖蛋白、提高化疗药胞内浓度而不损伤正常细胞^[24]。渥曼青霉素虽强效抑制 PI3K, 但给药缺陷阻碍临床转化^[25]; LY294002 则存在水溶性差、药动学不佳^[26]及脱靶严重等问题^[27]。综上, 桑黄素作为不良反应小、多靶点的天然抑癌先导物, 具有独特研发价值。本研究用桑黄素和 PI3K 激动剂 740Y-P 处理 AGS 细胞, CCK-8 和克隆形成实验证实了桑黄素可剂量相关性抑制 AGS 细胞增殖; 流式细胞术结果显示, 桑黄素可诱导 AGS 细胞凋亡, 使细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期, 同时降低 G₂/M 期细胞比例; Western blotting 结果进一步表明, 桑黄素可下调 PI3K/Akt 相关蛋白 (p85 α 、p110 β 、p-Akt) 和增殖相关蛋白 (Bcl-2、CCND1、CDK4、CDK6) 表达, 同时上调促凋亡蛋白 Bax 与周期抑制蛋白 p21 表达。740Y-P 可显著逆转桑黄素的作用, 进一步证实桑黄素通过抑制 PI3K/Akt 信号通路诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期并抑制细胞增殖, 发挥抗胃癌的作用。

本研究仍存在一定局限性: 仅在 AGS 细胞中进行验证, 结论外推性有限; 仅采用回复实验验证通路作用, 未采用 siRNA 敲低、过表达等基因水平直接证据; 桑黄素 IC₅₀ 相对偏高, 与其为天然产物、作用温和、细胞敏感性及相关因素相关。后续将增加其他胃癌细胞系与正常胃上皮细胞进行验证, 并通过基因干扰等手段进一步明确桑黄素直接靶向 PIK3R1 的分子机制。同时本研究依据 OB、DL 及分子对接、动力学稳定性择优确定桑黄素与 PIK3R1 为主验证对象, 筛选标准客观可控; 其余活性成分及网络核心靶点将在后续实验中补充对比

验证,以完善多成分、多靶点调控体系。

综上,桑枝活性成分桑黄素可与 PI3K 调节亚基 PIK3R1 稳定结合,通过抑制 PI3K/Akt 通路的活化,下调周期相关蛋白表达,上调促凋亡蛋白表达,进而诱导胃癌细胞 G₀/G₁ 期周期阻滞、促进细胞凋亡并抑制增殖,是具有潜在应用价值的天然抗胃癌候选小分子。本研究为桑黄素用于胃癌防治提供实验依据,也为开发靶向 PI3K/Akt 通路的天然药物提供新思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Bray F, Laversanne M, Sung H, *et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-263.
- [2] Machlowska J, Baj J, Sitarz M, *et al.* Gastric cancer: Epidemiology, risk factors, classification, genomic characteristics and treatment strategies [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 4012.
- [3] Chen Y, Jia K, Xie Y, *et al.* The current landscape of gastric cancer and gastroesophageal junction cancer diagnosis and treatment in China: A comprehensive nationwide cohort analysis [J]. *J Hematol Oncol*, 2025, 18(1): 42.
- [4] Lin J, Wang J C, Zhao K, *et al.* Molecular targets and mechanisms of traditional Chinese medicine combined with chemotherapy for gastric cancer: A Meta-analysis and multi-omics approach [J]. *Ann Med*, 2025, 57(1): 2494671.
- [5] 郭明鑫, 吴霞, 沈颖, 等. 桑枝的化学成分、药理活性研究进展及质量标志物预测分析 [J]. *西北药学杂志*, 2023, 38(5): 224-229.
- [6] 陈菁, 陆春霞, 莫炳巧, 等. 国外蚕桑资源多元化利用研究进展 [J]. *蚕业通讯*, 2024, 44(3): 108-113.
- [7] Cai J, Tan X, Hu Q, *et al.* Flavonoids and gastric cancer therapy: From signaling pathway to therapeutic significance [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2024, 18: 3233-3253.
- [8] 吕宁, 张培培, 吴丽娜, 等. 桑色素的药理作用研究进展 [J]. *山东化工*, 2022, 51(16): 84-88.
- [9] Zeng Z, Zhu Q. Progress and prospects of biomarker-based targeted therapy and immune checkpoint inhibitors in advanced gastric cancer [J]. *Front Oncol*, 2024, 14: 1382183.
- [10] Sato Y, Okamoto K, Kawano Y, *et al.* Novel biomarkers of gastric cancer: Current research and future perspectives [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(14): 4646.
- [11] Zhao W B, Wang B Y, Li S. Network pharmacology for traditional Chinese medicine in era of artificial intelligence artificial intelligence [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(4): 558-560.
- [12] Fox M, Mott H R, Owen D. Class IA PI3K regulatory subunits: p110-independent roles and structure [J]. *Biochem Soc Trans*, 2020, 48(4): 1397-1417.
- [13] Zou B, Xu Y E, He H C, *et al.* PIK3R1 as a gastric cancer biomarker linked to CD73⁺ Treg-mediated immunosuppression [J]. *Oncol Res*, 2026, 34(2): 1-23.
- [14] Ye B, Jiang L L, Xu H T, *et al.* Expression of PI3K/Akt pathway in gastric cancer and its blockade suppresses tumor growth and metastasis [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2012, 25(3): 627-636.
- [15] 郝艳娇, 李志宇, 常明智, 等. PI3K-Akt 信号通路在胃癌中的作用机制及研究进展 [J]. *神经药理学报*, 2021, 11(6): 53-59.
- [16] Bagheri Saghy Khorasani A, Pourbagheri-Sigaroodi A, Pirsalehi A, *et al.* The PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in gastric cancer: From oncogenic variations to the possibilities for pharmacologic interventions [J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 898: 173983.
- [17] 许勤. *p16、p27、cyclinD1、CDK4 和 Rb 基因在胃癌演化系列组织中的表达及其意义* [D]. 福州: 福建医科大学, 2002.
- [18] Mari A, Mani G, Nagabhishek S N, *et al.* Carvacrol promotes cell cycle arrest and apoptosis through PI3K/Akt signaling pathway in MCF-7 breast cancer cells [J]. *Chin J Integr Med*, 2021, 27(9): 680-687.
- [19] Kuo H M, Chang C J, Lin H Y, *et al.* Morin inhibits the growth of human leukemia HL-60 cells via cell cycle arrest and induction of apoptosis through mitochondria dependent pathway [J]. *Anticancer Res*, 2007, 27(1A): 395-405.
- [20] Zhang Q, Wang Y, Li J, *et al.* Molecular mechanism of anti-cancerous potential of morin extracted from mulberry in Hela cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 112: 466-475.
- [21] Wang Y, Sun X Y, Ma F Q, *et al.* Morin inhibits ubiquitination degradation of Bcl-2 associated agonist of cell death and synergizes with Bcl-2 inhibitor in gastric cancer cells [J]. *J Integr Med*, 2025, 23(3): 320-332.
- [22] 韦燕飞, 刘莎莎, 金丽杰, 等. 黄酮类中药单体通过 PI3K/Akt 信号通路抑制肿瘤的研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(10): 6-10.
- [23] Suhail M, AlZahrani W M, Shakil S, *et al.* Analysis of some flavonoids for inhibitory mechanism against cancer target phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) using computational tool [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1236173.
- [24] Caselli A, Cirri P, Santi A, *et al.* Morin: A promising natural drug [J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(8): 774-791.
- [25] Karve S, Werner M E, Sukumaran R, *et al.* Revival of the abandoned therapeutic wortmannin by nanoparticle drug delivery [J]. *PNAS*, 2012, 109(21): 8230-8235.
- [26] Granja A, Evans J, Pritchard S, *et al.* A vascular targeted pan phosphoinositide 3-kinase inhibitor prodrug, SF1126, with antitumor and antiangiogenic activity [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(1): 117-126.
- [27] Dittmann A, Ghosh S, Hewitt S, *et al.* The commonly used PI3-kinase probe LY294002 is an inhibitor of BET bromodomains [J]. *ACS Chem Biol*, 2014, 9(2): 495-502.

[责任编辑 李亚楠]