

基于代谢组学和网络药理学探究露水草醋酸乙酯部位改善 2 型糖尿病小鼠的作用机制

阙涵韵, 艾柯代·艾地汗, 张仲瑞, 张 乐, 龚普阳*, 顾 健*

西南民族大学药学与食品学院, 四川 成都 610041

摘要: 目的 探究露水草醋酸乙酯部位 (ethyl acetate fraction of *Cyanotis arachnoidea*, ECA) 对 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 小鼠的改善作用及其机制。方法 通过高脂饲料喂养联合 ip 链脲佐菌素建立 T2DM 小鼠模型。ECA 干预 4 周后, 检测 ECA 对 T2DM 小鼠糖脂代谢生化指标及组织病理变化的影响。采用非靶向代谢组学分析各组小鼠血清中的代谢物变化及所涉及代谢通路。采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱表征 ECA 的化学组成, 结合网络药理学方法筛选 ECA 改善 T2DM 的关键靶点及通路, 并采用 Western blotting 验证相关靶标蛋白表达。结果 ECA 可有效增加 T2DM 小鼠体质量并显著降低 T2DM 小鼠空腹血糖 ($P < 0.01$), 改善糖耐量、胰岛素抵抗及空腹胰岛素水平 ($P < 0.01$)。ECA 可显著改善 T2DM 小鼠血清中三酰甘油、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇以及高密度脂蛋白胆固醇水平 ($P < 0.01$), 缓解肝脏和胰腺病理损伤。代谢组学分析显示, ECA 主要调控 18 种差异代谢物介导的甘油磷脂代谢、嘌呤代谢以及赖氨酸降解等代谢通路。网络药理学结果显示, ECA 可能通过调节蛋白激酶 B1、磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α 、糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 等靶点介导的磷酸肌醇 3-激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) /蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路改善 T2DM。Western blotting 实验结果表明, 与模型组比较, ECA 显著上调小鼠肝脏组织中 PI3K、Akt、GSK-3 β 的磷酸化水平 ($P < 0.05, 0.01$)。结论 ECA 可能通过调控 PI3K/Akt 轴及恢复代谢稳态减轻 T2DM 小鼠的糖脂代谢异常。

关键词: 露水草; 2 型糖尿病; 代谢组学; 网络药理学; 糖脂代谢; PI3K/Akt 信号通路; 红苋甾酮; 旌节花甾酮 D; 20-羟基蜕皮激素

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)21-7806-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.21.014

Mechanisms of ethyl acetate fraction of *Cyanotis arachnoidea* in improving mice with type 2 diabetes mellitus based on metabolomics and network pharmacology

QUE Hanyun, AKIDA Adiham, ZHANG Zhongrui, ZHANG Le, GONG Puyang, GU Jian

College of Pharmacy and Food, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China

Abstract: Objective To explore the therapeutic effects and mechanisms of ethyl acetate fraction of *Cyanotis arachnoidea* (ECA) on type 2 diabetes mellitus (T2DM) in mice. **Methods** A mouse model of T2DM was established by administering a high-fat diet followed by intraperitoneal injection with streptozotocin. After ECA intervention for four weeks, the effects of ECA on serum biochemical indicators of glucolipid metabolism and histopathological changes in T2DM mice were evaluated. Untargeted metabolomics was employed to analyze metabolite alterations in the serum of mice from each group and to identify the involved metabolic pathways. The chemical constituents of ECA were characterized using ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry. Integrated with network pharmacology, the key target groups responsible for the ameliorative effects of ECA on T2DM were screened. Furthermore, the expression levels of these key target proteins were validated by Western blotting confirmatory experiment. **Results** ECA effectively increased body weight and significantly reduced fasting blood glucose in T2DM mice ($P < 0.01$), and improved glucose tolerance, insulin resistance and fasting insulin levels ($P < 0.01$). Additionally,

收稿日期: 2025-07-10

基金项目: 四川省中医药管理局中医药科研专项 (2024ZD026); 西南民族大学青藏高原研究科技创新团队 (2024CXTD16); 四川省中医药管理局重大项目 (民族药材系统研究与转化创新团队) (2023ZD05)

作者简介: 阙涵韵, 硕士研究生, 研究方向为中药药理学。E-mail: 821985085@qq.com

*通信作者: 顾 健, 博士生导师, 教授, 研究方向为中药药理学。E-mail: gujiancd@163.com

龚普阳, 博士生导师, 副教授, 主要从事中药药效物质基础研究。E-mail: gongpuyang1990@163.com

ECA significantly modulated serum lipid profiles, including triglycerides, total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol ($P < 0.01$), and alleviated pathological injuries in the liver and pancreas. Metabolomics analysis revealed that ECA primarily regulated metabolic pathways such as glycerophospholipid metabolism, purine metabolism and lysine degradation, which were mediated by 18 differential metabolites. Network pharmacology results indicated that ECA might ameliorate T2DM by targeting key molecules including protein kinase B1, phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha, glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β), and modulating the phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway. Western blotting results demonstrated that ECA significantly up-regulated the phosphorylation levels of PI3K, Akt and GSK-3 β in liver tissues of mice compared with model group ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** ECA ameliorates glucolipid metabolism dysregulation in T2DM by modulating the PI3K/Akt axis and restoring metabolic homeostasis.

Key words: *Cyanotis arachnoidea* C. B. Clark; type 2 diabetes mellitus; metabolomics; network pharmacology; glucolipid metabolism; PI3K/Akt signaling pathway; rubrosterone; stachysterone D; 20-hydroxyecdysone

2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 是一种以胰岛素抵抗伴糖脂代谢异常为特征的代谢性疾病^[1]。据统计, 全球范围内 T2DM 患者约 4 亿人, 且发病率仍呈逐年上升趋势, 成为全世界慢性病防控的难题之一^[2]。目前, 临床治疗 T2DM 的策略主要为服用降糖药物, 但仍存在个体疗效差异及药物依赖性, 且长期服药易导致肝肾功能受损及胃肠道反应等不良事件的发生^[3-4]。中医药防治 T2DM 具有独特的理论认识和丰富用药经验, 多维度的系统调控优势促使中药成为 T2DM 新药开发的重要来源。

露水草 *Cyanotis arachnoidea* C. B. Clark 是我国彝族传统草药, 为鸭跖草科 (Commelinaceae) 蓝耳草属 *Cyanotis* D. Don 的多年生草本植物, 具有补虚、祛湿、活血等功效, 主要用于治疗肾性水肿、糖尿病及类风湿性关节炎等^[5-6]。现代药理学研究表明, 露水草及其活性成分具有促进创伤愈合、降血糖、调血脂、抗氧化、保肝、抗炎和抗风湿等作用^[7-8]。临床研究报道, 露水草联合二甲双胍可显著降低 T2DM 患者的糖化血红蛋白和血清 C 肽水平^[9]。同时, 露水草含有的 20-羟基蜕皮甾酮 (20-hydroxyecdysone, 20E) 等蜕皮类固醇物质, 其抗氧化与抗炎等生物学活性为多途径改善 T2DM 提供了物质基础^[10-14]。然而, 露水草治疗 T2DM 的整合作用机制尚不明确。

目前, 代谢组学技术已成熟用于表征 T2DM 病程进展及药物治疗中机体代谢网络的响应规律, 进而为疾病诊断及药物作用机制研究提供重要线索^[15]。同时, 网络药理学以系统观和整体观为指导, 通过构建成分、靶标、信号通路和疾病间的互作网络, 广泛地用于揭示以多成分为特征的中药整合显效机制^[16-17]。本研究通过复制高脂饲料喂养联合 ip 链脲

佐菌素 (streptozotocin, STZ) 诱导的 T2DM 小鼠模型, 评估露水草醋酸乙酯部位 (ethyl acetate fraction of *Cyanotis arachnoidea*, ECA) 的体内药效, 进而采用代谢组学联合网络药理学的方法^[18]探究 ECA 干预 T2DM 的作用机制, 以期露水草的药用价值开发提供一定的科学依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 60 只, 6~8 周龄, 体质量 18~22 g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 实验动物许可证号 SCXK (京) 2019-0008。饲养环境温度 22~25 °C, 相对湿度 40%~60%, 自由进食饮水, 12 h/12 h 光照与黑暗规律交替。所有动物实验操作经西南民族大学动物伦理委员会批准 (批准号 NO.202212002)。

1.2 药材

露水草收集于云南省玉溪市新平县建兴乡马鹿塘, 经西南民族大学药学与食品学院顾健教授鉴定为鸭跖草科蓝耳草属植株露水草 *C. arachnoidea* C. B. Clark 的干燥根。

1.3 药品与试剂

盐酸二甲双胍片 (国药准字 H20023370, 批号 2410134) 购自默克制药 (江苏) 有限公司; STZ (批号 S0130-1G) 购自美国 Sigma 公司; 高脂饲料 (批号 XSYT-020105) 购自北京小泰有泰生物技术有限公司; 柠檬酸钠缓冲液 (pH 4.5, 批号 C1013) 购自北京索莱宝科技有限公司; 0.9%氯化钠溶液 (批号 160711) 购自四川科伦药业股份有限公司; 葡萄糖 (批号 G6172) 购自上海麦克林生化科技股份有限公司; 胰岛素注射液 (批号 H10890001) 购自江苏万邦生化医药集团有限责任公司; 中性树胶 (批号 YSQN41-91) 购自上海懿洋仪器有限公司; 无水乙

醇 (批号 05.001.0170A)、二甲苯 (批号 05.001.0586A) 购自成都市科隆化学品有限公司; 革兰氏染液 (批号 G1065) 购自武汉赛维尔生物科技有限公司; 甲醇 (批号 1060351000)、乙酸铵 (批号 73594-100G-F)、超纯水、乙腈购自德国 Merck 公司; 甲酸 (批号 85178) 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; ECL 试剂盒 (批号 WBKLS0100) 购自美国 Millipore 公司; 小鼠胰岛素 ELISA 试剂盒 (批号 MU30432) 购自武汉贝茵莱生物科技有限公司; 总胆固醇 (total cholesterol, TC) 试剂盒 (批号 C048-f)、三酰甘油 (triglyceride, TG) 试剂盒 (批号 C061-a)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 试剂盒 (批号 C069-b)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 试剂盒 (批号 C070-b) 购自长春汇力生物技术有限公司; 蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 抗体 (批号 YT0185) 购自美国 ImmunoWay 公司; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体 (批号 AF7021)、磷酸肌醇 3-激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 抗体 (批号 AF6241)、p-Akt 抗体 (批号 AF0016)、糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 抗体 (批号 BF8003)、p-GSK-3 β 抗体 (批号 AF2016)、p-PI3K 抗体 (批号 AF3241) 购自美国 Affinity 公司。

1.4 仪器

安稳+型血糖仪 (三诺生物传感股份有限公司); AU120 型分析天平、Nexera UHPLC LC-30A 型超高效液相色谱仪 (日本岛津公司); KZ-III-F 型高速低温组织研磨仪 (武汉赛维尔生物科技有限公司); BK-200 型全自动生化分析仪 (山东博科再生医学有限公司); Q Exactive HF-X 型四极杆-轨道阱混合型质谱仪 (美国 Thermo 公司); Acquity UPLC 超高效液相色谱仪、Xevo[®] G2-SQ-TOF 质谱仪 (美国 Waters 公司); Xiande-2000A 型旋转蒸发器 (上海贤德实验仪器有限公司); SHZ-D (III) 型循环水式多用真空泵 (上海力辰邦西仪器科技有限公司); PowerPac Basic 型电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司); ChemiScope 6100 型化学发光成像系统 (上海勤翔科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 ECA 的制备及成分分析

2.1.1 ECA 的制备 取 200 g 粉碎过筛的干燥露水

草药材, 加入 75% 乙醇 2 000 mL, 回流提取 3 次, 每次 60 min, 合并提取液, 浓缩至无醇味后, 用 200 mL 纯水溶解, 依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取, 收集醋酸乙酯组分, 旋转蒸发去除溶剂后, 加入 200 mL 纯水溶解, 置于 -20 °C 保存备用。

2.1.2 UPLC-Q-TOF/MS 分析

(1) 色谱条件: 采用 Waters Acquity I-Class 超高效液相色谱系统, 配备 Acquity UPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m)。流动相 A 为水 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱: 0~15 min, 10%~30% B; 15~20 min, 30%~40% B; 20~25 min, 40%~60% B; 25~30 min, 60%~90% B; 30~36 min, 90%~5% B。体积流量 0.3 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 1 μ L。

(2) 质谱条件: 采用 Waters Xevo[®] G2-SQ-TOF 质谱仪, Zpray[™] 电喷雾离子源, 在正离子模式下检测, 全扫描质量范围为 m/z 50~1 500, 低能量碰撞电压为 15~25 V, 高能量碰撞电压为 35~45 V, 锥孔电压为 40 V, 毛细电压为 2 kV。数据通过 MassLynx V4.1 软件采集和处理。

2.2 动物分组、造模与给药

C57BL/6J 小鼠适应性喂养 7 d 后, 随机选取 10 只小鼠作为对照组, 给予常规饲料喂养; 50 只小鼠作为造模组, 给予高脂饲料喂养。4 周后, 小鼠禁食不禁水 12 h, 造模组连续 7 d ip STZ 溶液 (40 mg/mL), 对照组小鼠 ip 等体积的柠檬酸钠缓冲液。1 周后, 空腹血糖 (fasting blood glucose, FBG) $\geq$ 11.0 mmol/L 即视为造模成功^[19]。将造模成功的小鼠随机分成模型组、二甲双胍 (200 mg/kg) 组和 ECA 低、中、高剂量 (1.64、3.28、6.56 g/kg, 分别相当于临床剂量的 1、2、4 倍)^[9] 组, 每组 10 只。各给药组小鼠 ig 相应药物, 对照组和模型组 ig 等体积的蒸馏水, 1 次/d, 连续给药 4 周。

2.3 血糖稳态评估

每周使用血糖仪检测各组小鼠 FBG。最后 1 周进行口服糖耐量实验 (oral glucose tolerance test, OGTT), 即分别于小鼠 ig 葡萄糖溶液 (1 g/kg) 后 0、0.5、1.0、1.5、2.0 h 采集尾部静脉血测定血糖。在实验结束前 5 d 进行胰岛素耐量实验 (insulin tolerance test, ITT), 即小鼠禁食 6 h 后, ip 胰岛素 (0.8 U/kg), 于 0、0.5、1.0、1.5、2.0 h 采集尾部静脉血, 测定血糖。通过梯形法计算 OGTT 和 ITT 血糖的曲线下面积 (area under curve, AUC)。

2.4 生化指标检测及组织病理学观察

末次给药后,小鼠禁食不禁水 12 h,眼眶取血,4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,置于-80 ℃冰箱保存。采用小鼠胰岛素 ELISA 试剂盒测定血清中胰岛素水平,并计算胰岛素抵抗指数(homeostatic model assessment for insulin resistance, HOMA-IR)。使用全自动生化分析仪检测小鼠血清中 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平。

取各组小鼠肝脏和胰腺组织,置于 4%多聚甲醛中固定过夜,石蜡包埋后切片(厚度 4 μm),进行苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,于显微镜下观察并采集图像。

2.5 血清代谢组学分析

2.5.1 分析样本的制备 将血清样本于 4 ℃解冻,精密吸取血清 100 μL 于 1.5 mL 离心管中,加入 400 μL 甲醇-乙腈(1:1)后,4 ℃、14 000 r/min 离心 20 min,取上清液于进样瓶中,进样测定。

2.5.2 质控(quality control, QC)样本的制备 取各组血清样本各 25 μL 于同一离心管中,涡旋混匀,按照“2.5.1”项下方法处理,取上清液于进样瓶中,进样测定,用于系统稳定性的考察。

2.5.3 色谱条件 Waters Acquity UPLC BEH Amide HILIC 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm),流动相为 0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱:0~0.5 min, 2% B; 0.5~11.5 min, 2%~98% B; 11.5~15.5 min, 98% B; 15.5~17 min, 98%~2% B。柱温 35 ℃; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 1 μL。

2.5.4 质谱条件 采用 Q Exactive HF-X 质谱仪,母离子扫描范围为 m/z 70~1 050,其一级质谱的分辨率为 120 000,自动增益控制(automatic gain control, AGC)目标值为 3×10^6 ,最大离子注入时间为 100 ms,二级质谱分辨率为 7 500,AGC 目标值为 2×10^5 ,最大离子注入时间为 50 ms,使用高能碰撞解离(high energy collision dissociation, HCD)碎裂模式,归一化碰撞能量设置为 20、40、60 eV,隔离窗口为 m/z 1.5,子离子扫描范围 m/z 200~2 000。

2.5.5 代谢组学数据处理 使用 Progenesis_QI 软件对质谱分析收集的原始数据进行数据库检索,借助 HMDB 数据库、Metlin、MASSBANK 等公共数据库对代谢物进行鉴定。将数据矩阵导入 SIMCA-P 14.1 进行主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)及偏最小二

乘-判别分析(partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)。以 OPLS-DA 中重要性投影(variable importance in projection, VIP)>1、 $P<0.05$ 、倍数变化(fold change, FC)>1.2 或≤0.83 为标准筛选差异代谢标志物。通过 MetaboAnalyst 6.0 软件(<https://www.metaboanalyst.ca/>)进行代谢通路分析。

2.6 网络药理学分析

基于“2.1.2”项下化学表征结果,从 PubChem 下载 ECA 化学成分 SMILES 号,通过 SwissTargetPrediction 数据库预测靶点。在 OMIM、DisGeNET 和 Gene Cards 数据库中,以“type 2 diabetes mellitus”为关键词收集疾病靶点^[20-21]。将 T2DM 疾病靶点与 ECA 作用靶点取交集,即为 ECA 治疗 T2DM 的潜在靶点。使用 STRING 数据库进行蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)分析,采用 Cytoscape 3.10.0 软件构建 PPI 网络并进行拓扑分析。将关键靶点导入 DAVID 数据库进行基因本体(gene ontology, GO)及京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析,并进行可视化。

2.7 Western blotting 检测肝脏组织 PI3K/Akt/GSK-3β 通路相关蛋白表达

取各组小鼠肝脏组织,加入裂解液提取总蛋白,通过 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。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,封闭后,分别加入 p-PI3K(1:1 000)、PI3K(1:1 000)、p-Akt(1:1 000)、Akt(1:1 000)、GSK-3β(1:1 000)、p-GSK-3β(1:1 000)和 GAPDH(1:5 000)抗体,4 ℃孵育过夜;TBST 洗膜后,加入山羊抗兔二抗,室温孵育 1 h,加入 ECL 化学发光试剂显影。

2.8 统计学分析

实验数据采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,3 组及 3 组以上比较分析采用 Dunnett's 检验^[22]。

3 结果

3.1 ECA 的成分分析

正离子模式下 ECA 总离子色谱如图 1 所示。采用 Masslynx 4.1 软件分析质谱数据分析,结合文献资料,鉴定出 ECA 中化学成分 12 个(表 1)。

3.2 ECA 对 T2DM 小鼠体质量和食物摄入量的影响

如图 2-A、B 所示,与对照组比较,模型组小鼠体质量显著降低($P<0.01$),食物摄入量显著增

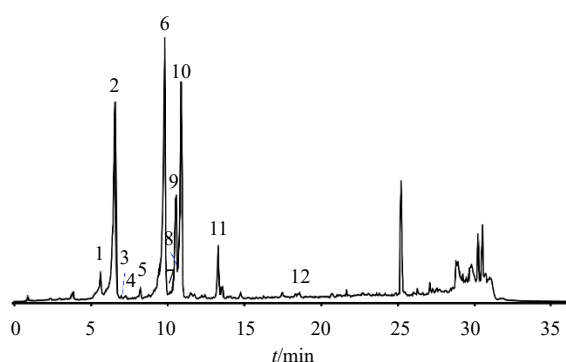


图 1 ECA 的 UPLC-QTOF-MS 总离子流图
Fig. 1 Total ion chromatogram of ECA by UPLC-QTOF-MS

表 1 ECA 的成分鉴定结果

Table 1 Component identification results of ECA

编号	<i>t</i> _R /min	分子式	加合离子	相对分子质量 (<i>m/z</i>)		误差 (×10 ⁻⁶)	MS/MS 碎片离子 (<i>m/z</i>)	化合物
				理论值	实测值			
C1	5.6	C ₁₉ H ₂₆ O ₅	[M+H] ⁺	335.186 0	335.185 8	0.6	299.162 4, 189.088 8, 301.175 2	红苋甾酮 ^[23-24]
C2	6.5	C ₂₇ H ₄₂ O ₆	[M+H] ⁺	463.306 2	463.306 0	0.4	301.180 6, 427.283 5, 445.294 6	旌节花甾酮 D ^[25]
C3	6.8	C ₂₇ H ₄₂ O ₆	[M+H-H ₂ O] ⁺	445.294 3	445.295 4	-2.5	301.173 6, 427.282 8, 445.299 6, 447.293 6	dacryhainansterone ^[25]
C4	7.9	C ₂₁ H ₃₀ O ₅	[M+H] ⁺	363.216 3	363.217 1	-2.2	309.175 2, 327.192 4	坡斯特甾酮 ^[11]
C5	8.7	C ₂₇ H ₄₂ O ₇	[M+H] ⁺	479.300 6	479.300 9	-0.6	299.164 6, 189.091 2, 311.196 6	isovitexirone ^[26]
C6	9.8	C ₂₉ H ₄₆ O ₈	[M+H] ⁺	523.327 5	523.327 1	0.8	301.178 9, 427.283 8	ajugasterone C 2-acetate ^[25]
C7	10.2	C ₂₇ H ₄₄ O ₇	[M+H] ⁺	481.316 7	481.316 5	0.4	189.093 4, 299.178 8, 311.211 8, 409.263 9, 427.312 0	筋骨草甾酮 C ^[25]
C8	10.3	C ₂₇ H ₄₄ O ₇	[M+H] ⁺	481.318 5	481.316 5	4.2	299.162 8, 189.091 7, 311.199 1, 427.278 2	露水草甾酮 D ^[27]
C9	10.4	C ₂₇ H ₄₄ O ₇	[M+H] ⁺	481.318 5	481.316 5	4.2	445.295 5, 463.303 3, 299.165 5, 409.275 7, 189.093 2, 427.285 0, 311.202 7, 445.295 5	20-羟基蜕皮激素 ^[14,27]
C10	10.8	C ₂₉ H ₄₆ O ₈	[M+H-H ₂ O] ⁺	505.318 5	505.316 5	4.0	409.272 4, 299.174 9, 311.202 2, 189.091 0	20-hydroxyecdysone 2-acetate/ 20-hydroxyecdysone 3-acetate ^[25]
C11	12.2	C ₂₇ H ₄₄ O ₆	[M+H] ⁺	465.320 5	465.321 6	-2.4	249.115 0, 173.010 5	ponasterone A ^[25]
C12	18.5	C ₂₇ H ₄₄ O ₅	[M+H] ⁺	449.325 0	449.326 7	-3.8	189.121 4, 303.213 6	露水草甾酮 A ^[12]

体的胰岛素敏感性和代谢功能^[29]。如图 2-E、G 所示,与对照组比较,模型组 ITT 的 AUC 显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,各给药组 ITT 的 AUC 显著降低 ($P<0.01$)。如图 2-H、I 所示,与对照组比较,模型组小鼠血清中空腹胰岛素水平和 HOMA-IR 显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,二甲双胍组和 ECA 中、高剂量组小鼠血清中空腹胰岛素水平显著降低 ($P<0.01$),各给药组 HOMA-IR 均显著降低 ($P<0.01$)。表明 ECA 可以通过降低 FBG 和空腹胰岛素水平来改善 HOMA-IR。

加 ($P<0.01$);与模型组比较,ECA 各给药组小鼠体质量显著升高 ($P<0.01$),ECA 高剂量组食物摄入量显著减少 ($P<0.01$),表明 ECA 可改善 T2DM 小鼠体质量降低,可能对饮食异常有影响。

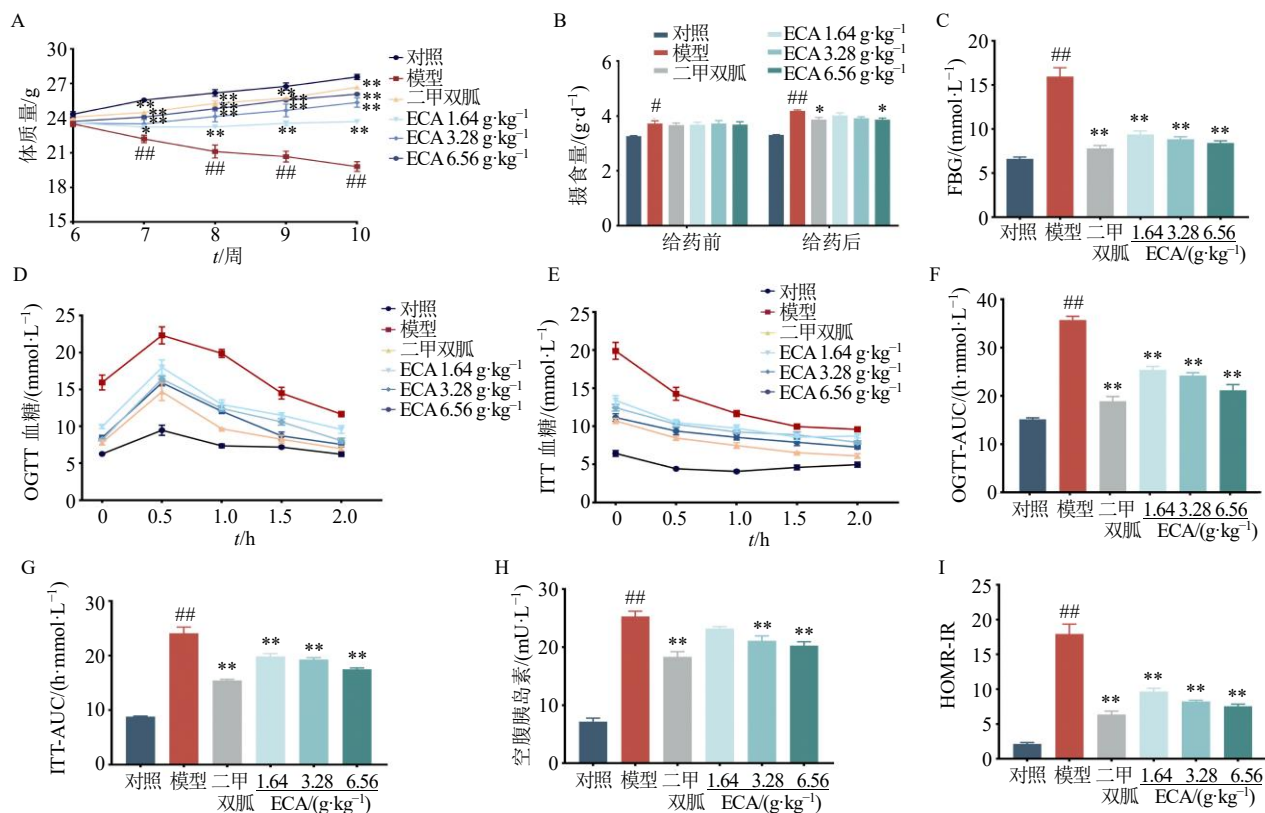
3.3 ECA 改善 T2DM 小鼠的糖代谢紊乱

如图 2-C 所示,与对照组比较,模型组小鼠 FBG 显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,各给药组小鼠 FBG 均显著降低 ($P<0.01$)。OGTT 用于评估胰腺 β 细胞的功能和机体对血糖的调节作用^[28]。如图 2-D、F 所示,小鼠 ig 葡萄糖 0.5 h 后血糖达到最高值,与对照组比较,模型组 OGTT 的 AUC 显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,ECA 各给药组 OGTT 的 AUC 显著降低 ($P<0.01$)。ITT 广泛用于评估机

3.4 ECA 改善 T2DM 小鼠血脂水平和肝脏、胰腺组织病理损伤

如图 3-A~D 所示,与对照组比较,模型组小鼠血清中 TC、TG、LDL-C 水平显著升高 ($P<0.01$),HDL-C 水平显著降低 ($P<0.01$);与模型组比较,各给药组小鼠血清中 TC、TG、LDL-C 水平显著降低 ($P<0.01$),HDL-C 水平显著升高 ($P<0.01$),表明 ECA 能有效调控 T2DM 小鼠血脂水平。

各组小鼠胰腺组织 HE 染色结果见图 3-E,模型组胰岛萎缩、细胞数量减少、脂质液泡积聚,出



A-体质量; B-摄食量; C-FBG; D-OGTT; E-ITT; F-OGTT的AUC; G-ITT的AUC; H-空腹胰岛素; I-HOMA-IR; 与对照组比较: $##P < 0.01$; 与模型组比较: $*P < 0.05$ $**P < 0.01$, 图2、6同。

A-body weight; B-food intake; C-FBG; D-OGTT; E-ITT; F-OGTT-AUC; G-ITT-AUC; H-fasting insulin; I-HOMA-IR; $##P < 0.01$ vs control group; $*P < 0.05$ $**P < 0.01$ vs model group, same as Figs. 2, 6.

图2 ECA对T2DM小鼠体质量、摄食量及糖代谢紊乱的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 2 Effects of ECA on body weight, food intake and glucose metabolic disorders in T2DM mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

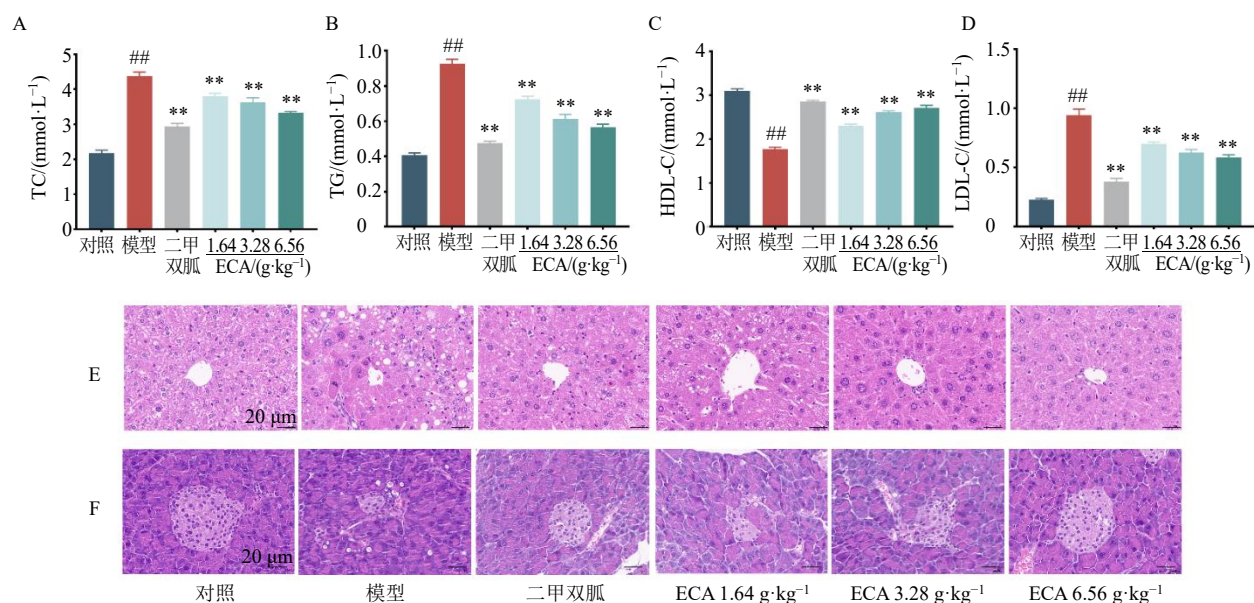


图3 ECA对T2DM小鼠血脂水平(A~D)和胰腺(E, ×40)、肝脏(F, ×40)病理形态的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

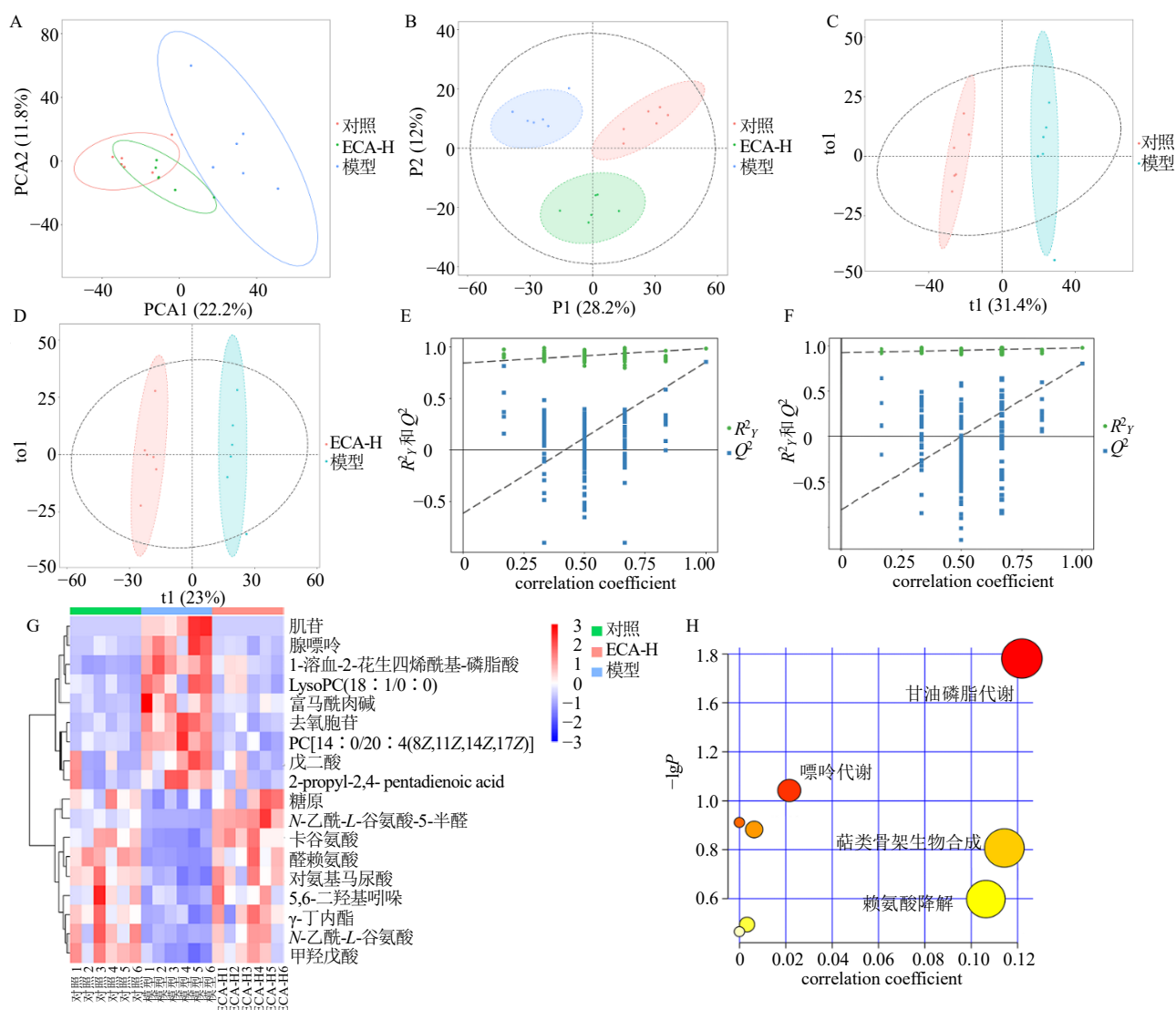
Fig. 3 Effect of ECA on blood lipid levels (A~D) and pathological morphology of pancreas (E, ×40) and liver (F, ×40) ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

现严重的胰腺损伤；给予 ECA 治疗后胰岛病理损伤改善明显。各组小鼠肝脏组织 HE 染色结果见图 3-F，对照组肝索排列整齐，未见炎症浸润和脂滴；模型组肝细胞发生退行性改变，肝索排列紊乱，可见广泛脂肪变性，肝组织中炎症细胞轻微浸润；给予 ECA 治疗后肝细胞退行性改变明显减轻，其中 ECA 高剂量改善作用最佳。

3.5 ECA 对 T2DM 小鼠血清代谢物的影响

血清代谢组学分析共鉴定出 3 363 种代谢物，其中正离子模式下 2 018 种，负离子模式下 1 345

种。如图 4-A 所示，模型组的代谢谱与对照组明显不同，表明造模后内源性代谢物发生变化。PLS-DA（图 4-B）显示 3 组之间组内聚集和组间分离明显。如图 4-C、D 所示，OPLS-DA 模型显示对照组与模型组、模型组与 ECA 高剂量组之间的代谢组轮廓存在明显的差异。进一步进行 200 次置换检验，结果显示，对照组 vs 模型组 R^2 和 Q^2 值分别为 0.84、-0.62（图 4-E），模型组 vs ECA 高剂量组 R^2 和 Q^2 值分别为 0.92、-0.81（图 4-F），表明模型未产生过度拟合。



A-PCA 评分图；B-PLS-DA 评分图；C-对照组 vs 模型组 OPLS-DA 评分图；D-模型组 vs ECA 高剂量（ECA-H）组 OPLS-DA 评分图；E-对照组 vs 模型组 OPLS-DA 模型的置换检验图；F-模型组 vs ECA 高剂量组 OPLS-DA 模型的置换检验图；G-血清差异代谢物热图；H-主要代谢途径。A-PCA score plot; B-PLS-DA score plot; C-OPLS-DA score plot of control group vs model group; D-OPLS-DA score plot of model group vs ECA high-dose (ECA-H) group; E-permutation tests of OPLS-DA model between control group vs model group; F-permutation tests of OPLS-DA model between model group vs ECA high-dose group; G-heat map of differential metabolites from serum; H-main metabolic pathway.

图 4 高剂量 ECA 对 T2DM 小鼠血清代谢物的影响

Fig. 4 Effect of high-dose ECA on serum metabolites of T2DM mice

基于 OPLS-DA 模型, 根据 $VIP>1$ 、 $P<0.05$ 和 $FC>1.2$ 或 ≤ 0.83 共筛选出 18 个差异代谢物(图 4-G 和表 2)。与对照组比较, 模型组小鼠血清中 PC[14 : 0/20 : 4(8Z, 11Z, 14Z, 17Z)]、LysoPC (18 : 1/0 : 0)、戊二酸、腺嘌呤、肌苷、1-溶血-2-花生四烯酰基-磷脂酸等水平显著升高 ($P<0.05$), 甲羟戊

酸、富马酰肉碱、糖原和 *N*-乙酰-*L*-谷氨酸等水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01); 给予高剂量 ECA 干预后, 以上代谢物水平发生显著逆转 ($P<0.05$)。代谢通路富集分析(图 4-H)表明, ECA 高剂量组可能通过调节甘油磷脂代谢、嘌呤代谢和赖氨酸降解等多种代谢途径改善 T2DM。

表 2 高剂量 ECA 干预后 T2DM 小鼠血清代谢标志物
Table 2 Serum metabolic markers in T2DM mice after intervention with high-dose ECA

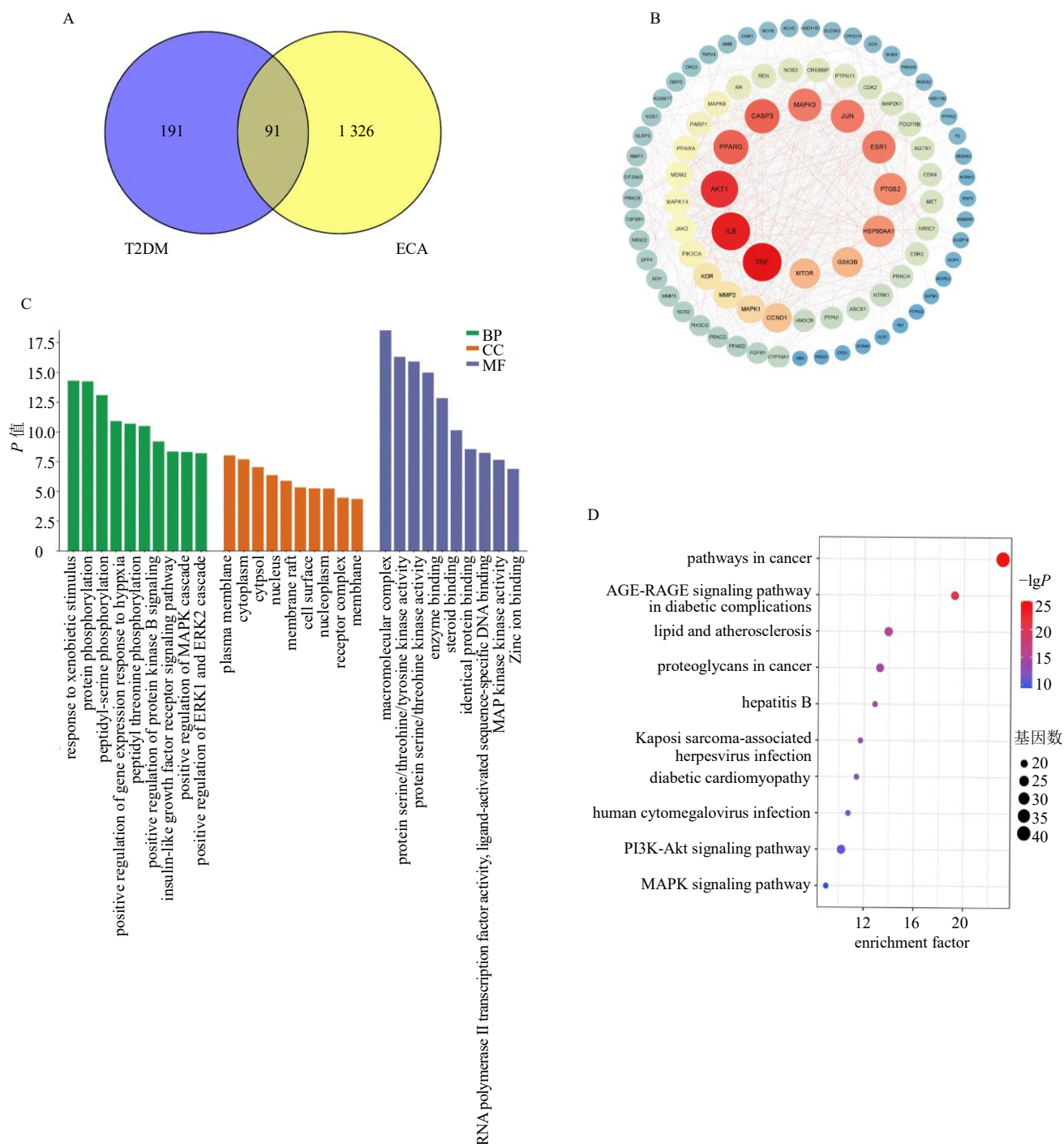
编号	<i>t</i> _R /min	代谢物	分子式	相对分子质量 (<i>m/z</i>)	加和离子	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (<i>m/z</i>)	模型vs对照	ECA vs模型
1	1.54	甲羟戊酸	C ₆ H ₁₂ O ₄	131.070 3	[M+H-H ₂ O] ⁺	0.027	43.017 8, 45.033 5, 71.049 1	↓ ^{##}	↑ ^{**}
2	2.78	<i>N</i> -乙酰- <i>L</i> -谷氨酸	C ₇ H ₁₁ NO ₅	190.071 1	[M+H] ⁺	0.764	43.017 0, 56.049 0, 84.047 7, 100.039 9	↓ ^{##}	↑ [*]
3	2.82	PC[14 : 0/20 : 4(8Z,11Z,14Z,17Z)]	C ₄₂ H ₇₆ NO ₈ P	754.536 2	[M+H] ⁺	-2.527	146.981 8, 489.237 6, 593.454 0, 717.446 6	↑ ^{##}	↓ ^{**}
4	3.18	富马酰肉碱	C ₁₁ H ₁₇ NO ₆	242.102 2	[M+H-H ₂ O] ⁺	-0.038	71.049 0	↓ [#]	↑ [*]
5	3.38	腺嘌呤	C ₅ H ₅ N ₅	136.061 9	[M+H] ⁺	1.056	135.887 0, 118.954 0, 62.141 0, 92.039 0	↑ ^{##}	↓ ^{**}
6	4.22	对氨基马尿酸	C ₉ H ₁₀ N ₂ O ₃	193.061 6	[M-H] ⁻	-1.150	92.050 6	↓ ^{##}	↑ ^{**}
7	4.73	LysoPC(18 : 1/0 : 0)	C ₂₆ H ₅₂ NO ₇ P	566.347 3	[M+FA-H] ⁻	1.809	210.053 7, 281.248 6, 224.069 3, 542.301 9	↑ [#]	↓ [*]
8	4.97	醛赖氨酸	C ₆ H ₁₁ NO ₃	190.072 1	[M+FA-H] ⁻	0.217	41.003 3, 44.998 2, 53.003 3	↓ ^{##}	↑ ^{**}
9	5.05	戊二酸	C ₅ H ₈ O ₄	177.040 4	[M+FA-H] ⁻	-0.473	41.003 0, 54.031 0	↑ [#]	↓ [*]
10	5.25	5,6-二羟基吡咯	C ₈ H ₇ NO ₂	194.045 8	[M+FA-H] ⁻	-0.432	92.050 6, 118.029 8	↓ [#]	↑ [*]
11	5.48	2-propyl-2,4-pentadienoic acid	C ₈ H ₁₂ O ₂	158.117 7	[M+NH ₄] ⁺	0.981	41.039 1, 55.054 8, 67.054 8, 95.086 1, 53.039 1	↑ [#]	↓ [*]
12	5.51	肌苷	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₅	267.073 1	[M-H] ⁻	-1.545	108.020 7, 135.031 0, 267.073 0	↑ [#]	↓ ^{**}
13	5.76	去氧胞苷	C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₄	226.083 1	[M-H] ⁻	-1.072	41.900 0, 65.600 0, 93.200 0	↑ ^{##}	↓ ^{**}
14	5.97	1-溶血-2-花生四烯酰基-磷脂酸	C ₂₃ H ₃₉ O ₇ P	457.235 7	[M-H] ⁻	-0.671	78.959 1, 96.960 0	↑ ^{##}	↓ ^{**}
15	10.62	<i>N</i> -乙酰- <i>L</i> -谷氨酸-5-半醛	C ₇ H ₁₁ NO ₄	218.066 6	[M+FA-H] ⁻	-2.137	41.003 3, 41.998 5, 58.029 8	↓ ^{##}	↑ ^{**}
16	10.97	γ-丁内酯	C ₄ H ₆ O ₂	131.034 9	[M+FA-H] ⁻	-0.919	39.029 9, 41.038 6, 44.997 1	↓ ^{##}	↑ [*]
17	13.17	卡谷氨酸	C ₆ H ₁₀ N ₂ O ₅	191.066 5	[M+H] ⁺	1.096	44.013 6, 43.018 4, 85.040 2, 99.055 8, 102.055 5	↓ ^{##}	↑ ^{**}
18	14.78	糖原	C ₂₄ H ₄₂ O ₂₁	684.254 4	[M+NH ₄] ⁺	-1.898	43.018 0, 75.044 0, 325.113 0, 399.149 7, 593.192 4	↓ ^{##}	↑ [*]

“↑”表示升高, “↓”表示降低; 与对照组比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ 。
“↑” indicates an increase, “↓” indicates a decrease; [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group.

3.6 网络药理学分析结果

获取 ECA 潜在靶点 1 417 个, 从 OMIM、DisGeNET 和 GeneCards 数据库获得 T2DM 相关靶点 282 个, 得到 ECA 治疗 T2DM 的潜在靶点共 91 个(图 5-A)。如图 5-B 所示, PPI 网络由 90 个节点和 1 031 条边组成, 节点大小和颜色强度表示基因重要性。根据度值大小, AKT1、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cystein-asparate protease-3, CASP3)和 GSK3B 为 ECA 治疗 T2DM

的关键靶点。GO 分析筛选得到生物过程(biological process, BP)、细胞组分(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF)各 478、57 和 95 个条目 ($P<0.05$), 选择前 10 条进行可视化(图 5-C)。KEGG 通路富集分析显示核心靶点主要富集于晚期糖基化终末产物(advanced glycation end product, AGE)-晚期糖基化末端受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)、PI3K-Akt 及丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)等信号通路(图 5-D)。



A-ECA 和 T2DM 交集靶点的韦恩图；B-PPI 网络；C-GO 功能富集分析；D-KEGG 通路富集分析。

A-Venn diagram of intersection targets of ECA and T2DM; B-PPI network; C-GO function enrichment analysis; D-KEGG pathway enrichment analysis.

图 5 ECA 改善 T2DM 的网络药理学分析

Fig. 5 Network pharmacological analysis of ECA in treatment of T2DM

3.7 ECA 对 T2DM 小鼠肝脏组织 PI3K/Akt/GSK-3 β 通路相关蛋白表达的影响

采用 Western blotting 检测各组小鼠肝脏组织中 PI3K、Akt、GSK-3 β 、p-PI3K、p-Akt、p-GSK-3 β 蛋白表达。结果如图 6 所示，与对照组比较，模型组

小鼠肝脏组织中 PI3K、Akt 和 GSK-3 β 的磷酸化水平显著降低 ($P < 0.01$)；与模型组比较，ECA 高剂量组肝脏组织中 PI3K、Akt、GSK-3 β 的磷酸化水平显著升高 ($P < 0.05, 0.01$)。表明 ECA 可能通过激活 PI3K/Akt/GSK-3 β 信号通路改善 T2DM。

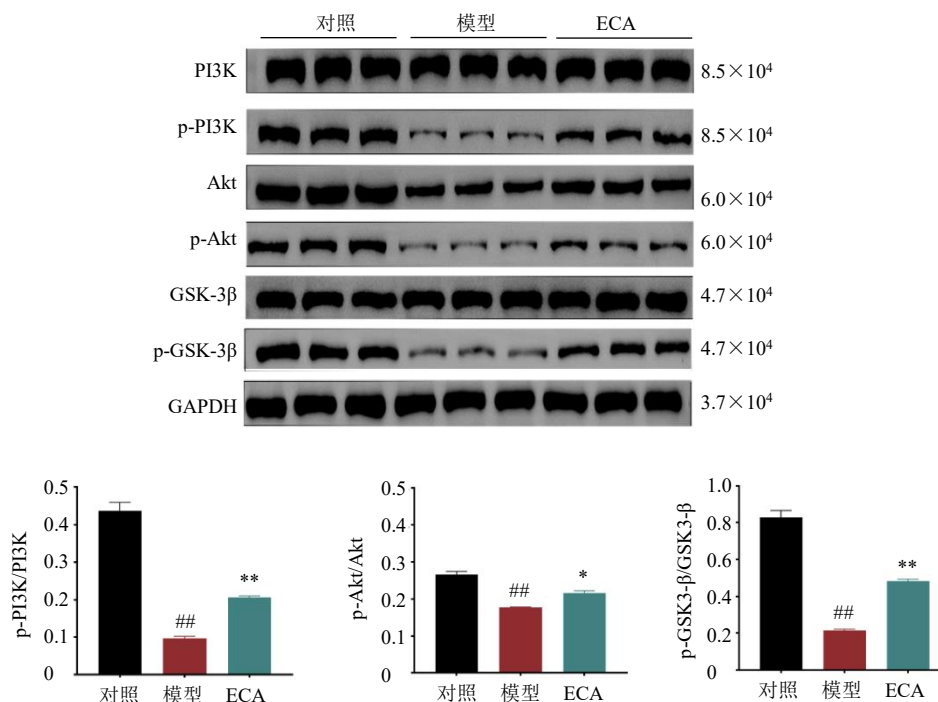


图 6 高剂量 ECA 对 T2DM 小鼠肝脏组织 PI3K/Akt/GSK-3β 通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effects of high-dose ECA on expressions of PI3K/Akt/GSK-3β pathway related proteins in liver tissue of T2DM mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

本研究采用高脂饲料喂养联合 ip STZ 的方法构建 T2DM 小鼠模型,通过 HE 染色、生化指标检测、代谢组学和网络药理学方法,探究 ECA 改善 T2DM 的作用机制。结果证实 ECA 能够有效改善 T2DM 小鼠糖脂代谢异常。代谢组学结果显示,与模型组比较,ECA 干预后 PC[14:0/20:4 (8Z, 11Z, 14Z, 17Z)]、LysoPC (18:1/0:0)、1-溶血-2-花生四烯酰磷酸酯水平显著降低。PC[14:0/20:4 (8Z, 11Z, 14Z, 17Z)] 是一种磷脂酰胆碱 (phosphatidylcholine, PC)。研究表明,高脂饮食状态下,肠道来源外泌体中的 PC 含量上升,可抑制肝脏和脂肪组织中的胰岛素信号通路,从而诱发全身性胰岛素抵抗^[30-31]。LysoPC (18:1/0:0) 是一种溶血磷脂酰胆碱 (lysophosphatidylcholine, LysoPC),作为 PC 的代谢产物,其水平异常升高可能促进炎症反应、引起线粒体功能障碍以及加剧胰岛素抵抗^[32-33]。临床观察亦发现,肥胖人群血清中的 LysoPC 水平相对较高,进一步印证了其代谢异常与胰岛素抵抗之间的密切关联^[34]。因此,PC 和 LysoPC 的上调可能促进肥胖和糖尿病的发生和进展。1-溶血-2-花生四烯酰磷脂酸酯是一种溶血磷脂

酸 (lysophosphatidic acid, LPA)。研究表明,该物质对中性粒细胞的趋化性与超微结构具有显著调控作用^[35]。在糖尿病状态下,高血糖环境常导致免疫功能障碍,突出表现为中性粒细胞趋化性与吞噬能力下降^[36]。因此,干预 LPA 对中性粒细胞趋化功能的调控,可能成为改善糖尿病患者免疫稳态的潜在靶点。从代谢通路角度看,PC、LysoPC 与 LPA 均属于甘油磷脂代谢网络中的重要分子,而该代谢体系在 T2DM 及其伴随的血脂异常发生过程中易发生紊乱^[37]。综合上述结果,提示 ECA 可能通过调控甘油磷脂代谢改善 T2DM。

腺嘌呤和肌苷是嘌呤代谢途径的 2 种重要代谢产物。在嘌呤代谢周期中,腺苷被磷酸化为腺嘌呤并迅速脱氨为肌苷,然后肌苷会转化为次黄嘌呤,次黄嘌呤在黄嘌呤酶的作用下会转化为黄嘌呤,并伴随着超氧化物的增加^[38]。超氧化物可导致糖尿病患者出现微血管功能障碍,直接引起血脂和蛋白质过氧化,损害机体组织^[39-40]。腺嘌呤和肌苷的水平在 T2DM 肾病和糖尿病视网膜病变患者血浆中显著升高,被认为是监测 T2DM 并发症的潜在生物标志物^[41]。本研究发现 ECA 治疗后,小鼠血清腺嘌呤和肌苷水平显著降低,表明 ECA 通过调节这 2 种

嘌呤代谢物改善 T2DM。在能量代谢过程中,长链酰基需与肉碱结合生成酰基肉碱,才能被转运至线粒体基质中进行 β -氧化并产生能量。富马酰肉碱作为人体内众多酰基肉碱中的一种关键载体,负责将富马酰基输送至线粒体内部,为三羧酸循环提供重要底物^[42]。近年来研究发现,酰基肉碱的积累可作为胰岛素抵抗的早期生物标志物,其在血液中水平的升高与 T2DM 的风险增加显著相关^[43]。因此,降低体内特定酰基肉碱的含量被认为是改善胰岛素敏感性的潜在策略之一。本研究结果显示,在 ECA 干预后,富马酰肉碱在 T2DM 小鼠体内并未出现下降,这一现象提示 ECA 改善 T2DM 代谢紊乱的作用机制可能并非主要通过调控酰基肉碱代谢通路实现。戊二酸是氨基酸代谢产物,也是参与 T 细胞调控等生理过程的内源性代谢物^[44]。戊二酸水平的异常升高可引发全身性代谢性酸中毒,严重时可发展为戊二酸尿症,这是一种常伴随神经代谢紊乱的有机酸血症^[45]。此外,戊二酸在体内蓄积还会对周围及中枢神经系统产生直接毒性,导致神经功能损伤^[46]。本研究中,经 ECA 干预后,T2DM 小鼠血清中戊二酸水平显著降低,提示 ECA 可能在一定程度上缓解了戊二酸积累所引起的神经毒性。同时,已有研究报道露水草中所含的植物类固醇成分具备神经保护活性^[6,47]。因此,戊二酸水平的降低可能在露水草改善 T2DM 相关神经损伤的过程中发挥重要作用。未来研究可进一步聚焦于戊二酸代谢通路,深入探讨其在露水草活性成分介导的神经保护作用中的具体机制。

网络药理学分析结果提示 PI3K/Akt 信号通路可能在 ECA 改善 T2DM 中发挥重要作用,故本研究进一步验证了对照组、模型组和 ECA 高剂量组小鼠肝脏中 PI3K、Akt、GSK-3 β 、p-PI3K 和 p-Akt 的表达水平变化。PI3K/Akt 信号通路是维持机体胰岛素敏感性、调节糖脂代谢稳态及调节细胞生长周期的核心通路之一^[48]。其中,PI3K 作为关键的脂质激酶,其激活是胰岛素刺激后引发下游信号传导并促进葡萄糖摄取的必要前提^[49]。活化的 PI3K 促使 Akt 发生磷酸化,进而通过调控下游多个关键靶点,在糖脂代谢、炎症及氧化应激等多个层面发挥改善作用^[50]。在糖代谢方面,磷酸化的 Akt 可进一步使 GSK-3 β 磷酸化,从而抑制其活性,解除对糖原合酶的抑制,促进肝糖原合成并降低血糖^[51-52]。除糖代谢调控外,该通路还参与脂质代谢调节,例如通过

抑制肝脏中固醇调节元件结合蛋白-1c (sterol regulatory element-binding protein-1c, SREBP1C) 的表达,促进脂肪酸氧化,从而改善脂代谢紊乱^[53]。靶向调控 PI3K/Akt 信号通路从糖、脂代谢调节与炎症抑制等多方面综合改善 T2DM 代谢异常,具有重要的治疗意义。Western blotting 结果显示,与对照组比较,模型组小鼠肝组织中 PI3K、Akt 和 GSK-3 β 磷酸化水平显著降低;与模型组比较,ECA 干预后小鼠肝组织中 PI3K、Akt 和 GSK-3 β 磷酸化水平显著升高。以上结果表明,ECA 激活 PI3K/Akt/GSK-3 β 通路可能是缓解胰岛素抵抗的潜在机制,是 ECA 治疗 T2DM 的重要机制之一。

综上,ECA 通过激活肝脏 PI3K/Akt/GSK-3 β 信号通路缓解胰岛素抵抗,并协同调控甘油磷脂与嘌呤代谢,最终共同介导了其对于 T2DM 小鼠糖脂代谢紊乱的改善作用。此外,本研究网络药理分析结果显示,MAPK 通路和 AGE-RAGE 信号通路也与 T2DM 的调控有关。未来可进一步探索 ECA 中化学成分通过调控多通路改善 T2DM 的作用机制,为 ECA 的临床应用提供可靠指导。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王慧森,张宏伟,刘明,等. 基于网络药理学与实验验证研究地黄环烯醚萜苷调控 AGEs/RAGE/MAPK 通路保护 2 型糖尿病小鼠肝脏的作用机制 [J]. 中草药, 2025, 56(14): 5061-5073.
- [2] Chatterjee S, Khunti K, Davies M J. Type 2 diabetes [J]. *Lancet*, 2017, 389(10085): 2239-2251.
- [3] Wang M, Yang Q, Li Y, *et al.* Therapeutic potential of traditional Chinese medicine and mechanisms for the treatment of type 2 diabetes mellitus [J]. *Chin Med*, 2025, 20(1):157-193.
- [4] Dixon S A, Mishra S, Dietsche K B, *et al.* The effects of prebiotics on gastrointestinal side effects of metformin in youth: A pilot randomized control trial in youth-onset type 2 diabetes [J]. *Front Endocrinol*, 2023, 14: 1125187.
- [5] 谭成玉,王金辉,李锐,等. 露水草的化学成分 [J]. 药学学报, 2003, 38(10): 760-762.
- [6] Tóth G, Santa-Maria A R, Herke I, *et al.* Highly oxidized ecdysteroids from a commercial *Cyanotis arachnoidea* root fraction as potent blood-brain barrier protective agents [J]. *J Nat Prod*, 2023, 86(4): 1074-1080.
- [7] 胡婧楠,冯玉,田义龙,等. 露水草植物甾体甙酮类化学成分及其药理作用研究进展 [J]. 中国药物警戒, 2023, 20(2): 231-235.

- [8] 李洁. 彝药露水草质量标准的建立及其主要成分促伤口愈合活性初探 [D]. 成都: 西南交通大学, 2022.
- [9] 易庆华, 王宏亮, 申艾鑫, 等. 露水草联合二甲双胍治疗 2 型糖尿病血糖及 C 肽变化的临床分析 [J]. 云南医药, 2018, 39(5): 463-465.
- [10] Issaadi H M, Tsai Y C, Chang F R, *et al.* Centrifugal partition chromatography in the isolation of minor ecdysteroids from *Cyanotis arachnoidea* [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1054: 44-49.
- [11] Tan C Y, Wang J H, Li X. Phytoecdysteroid constituents from *Cyanotis arachnoidea* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2003, 5(4): 237-240.
- [12] Tan C Y, Wang J H, Zhang H, *et al.* A new phytosterone from *Cyanotis arachnoidea* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2002, 4(1): 7-10.
- [13] 聂瑞麟, 邱明华. 露水草工业生产蜕皮激素弃渣内的蜕皮甾酮 [J]. 云南植物研究, 1987, 9(2): 253-256.
- [14] Khamis M M, Adamko D J, El-Aneed A. Mass spectrometric based approaches in urine metabolomics and biomarker discovery [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2017, 36(2): 115-134.
- [15] Sobsey C A, Ibrahim S, Richard V R, *et al.* Targeted and untargeted proteomics approaches in biomarker development [J]. *Proteomics*, 2020, 20(9): e1900029.
- [16] Zhang P, Zhang D F, Zhou W A, *et al.* Network pharmacology: Towards the artificial intelligence-based precision traditional Chinese medicine [J]. *Brief Bioinform*, 2023, 25(1): bbad518.
- [17] Ye C S, Li Y M, Shi J Y, *et al.* Network pharmacology analysis revealed the mechanism and active compounds of Jiao Tai Wan in the treatment of type 2 diabetes mellitus via SRC/PI3K/AKT signaling [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 337(Pt 2): 118898.
- [18] 王晨, 刘苏杰, 阮佳鑫, 等. 基于代谢组学和网络药理学探讨“黄芪-玉竹-灵芝”配伍治疗慢性支气管炎作用机制 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(11): 2475-2488.
- [19] Deng J J, Liu Y, Duan Z G, *et al.* Protopanaxadiol and protopanaxatriol-type saponins ameliorate glucose and lipid metabolism in type 2 diabetes mellitus in high-fat diet/streptozocin-induced mice [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 506.
- [20] Piñero J, Saüch J, Sanz F, *et al.* The DisGeNET cytoscape app: Exploring and visualizing disease genomics data [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2021, 19: 2960-2967.
- [21] Rappaport N, Twik M, Plaschkes I, *et al.* MalaCards: An amalgamated human disease compendium with diverse clinical and genetic annotation and structured search [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1): D877-D887.
- [22] 刘静贤, 罗晓敏, 顾健, 等. 基于代谢组学技术探究藏药蕨麻对环磷酰胺致骨髓抑制的改善作用机制 [J]. 药学报, 2023, 58(7): 1851-1858.
- [23] Chen H, Wang C X, Qi M C, *et al.* Anti-tumor effect of *Rhaponticum uniflorum* ethyl acetate extract by regulation of peroxiredoxin1 and epithelial-to-mesenchymal transition in oral cancer [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 870.
- [24] Li S H, Zhan H J, Yao P, *et al.* Non-taxane compounds from the bark of *Taxus yunnanensis* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2002, 4(2): 147-154.
- [25] 胡婧楠. 露水草治疗 2 型糖尿病的药效物质基础及作用机制研究 [D]. 保定: 河北中医学院, 2023.
- [26] Bounou-Tsona G, Gainche M, Decombat C, *et al.* Chemical profile, antioxidant and Anti-inflammatory potency of fractions of *Vitex madiensis* Oliv. and *Crossopteryx febrifuga* (Afzel ex G. Don) [J]. *Plants*, 2023, 12(2): 386.
- [27] 谭成玉. 露水草化学成分及其药理活性的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2002.
- [28] Wang H, Fu Y X, Zhao Q Y, *et al.* Effects of heat-treated starch and protein from foxtail millet (*Setaria italica*) on type 2 diabetic mice [J]. *Food Chem*, 2023, 404: 134735.
- [29] Luo D, Mu T H, Sun H N. Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaf polyphenols ameliorate hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus mice [J]. *Food Funct*, 2021, 12(9): 4117-4131.
- [30] Kumar A, Sundaram K, Mu J, *et al.* High-fat diet-induced upregulation of exosomal phosphatidylcholine contributes to insulin resistance [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 213-234.
- [31] Yang J Y, Wang M, Yang D W, *et al.* Integrated lipids biomarker of the prediabetes and type 2 diabetes mellitus Chinese patients [J]. *Front Endocrinol*, 2023, 13: 1065665.
- [32] Chen S S, Zong G, Wu Q Q, *et al.* Associations of plasma glycerophospholipid profile with modifiable lifestyles and incident diabetes in middle-aged and older Chinese [J]. *Diabetologia*, 2022, 65(2): 315-328.
- [33] Graessler J, Schwudke D, Schwarz P E H, *et al.* Top-down lipidomics reveals ether lipid deficiency in blood plasma of hypertensive patients [J]. *PLoS One*, 2009, 4(7): e6261.
- [34] Pietiläinen K H, Sysi-Aho M, Rissanen A, *et al.* Acquired obesity is associated with changes in the serum lipidomic profile independent of genetic effects: A monozygotic twin study [J]. *PLoS One*, 2007, 2(2): e218.
- [35] Gerrard J M, Clawson C C, White J G. Lysophosphatidic acids: III. Enhancement of neutrophil chemotaxis [J]. *Am J Pathol*, 1980, 100(3): 609-618.

- [36] Casqueiro J, Casqueiro J, Alves C. Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis [J]. *Indian J Endocrinol Metab*, 2012, 16 Suppl 1(Suppl1): S27-S36.
- [37] Zhong X L, Xiao C, Wang R L, *et al*. Lipidomics based on UHPLC/Q-TOF-MS to characterize lipid metabolic profiling in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus with dyslipidemia [J]. *Heliyon*, 2024, 10(4): e26326.
- [38] Li J M, Fenton R A, Cutler B S, *et al*. Adenosine enhances nitric oxide production by vascular endothelial cells [J]. *Am J Physiol*, 1995, 269(2 Pt 1): C519-C523.
- [39] Anwar M M, Meki A M A. Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: Effects of garlic oil and melatonin [J]. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2003, 135(4): 539-547.
- [40] Tanemoto M, Saitoh H, Satoh F, *et al*. Predictors of undiagnosed renal artery stenosis among Japanese patients with risk factors of atherosclerosis [J]. *Hypertens Res*, 2005, 28(3): 237-242.
- [41] Xia J F, Liang Q L, Hu P, *et al*. Correlations of six related purine metabolites and diabetic nephropathy in Chinese type 2 diabetic patients [J]. *Clin Biochem*, 2009, 42(3): 215-220.
- [42] Fritz I B. Action of carnitine on long chain fatty acid oxidation by liver [J]. *Am J Physiol*, 1959, 197: 297-304.
- [43] Sun L, Liang L M, Gao X F, *et al*. Early prediction of developing type 2 diabetes by plasma acylcarnitines: A population-based study [J]. *Diabetes Care*, 2016, 39(9): 1563-1570.
- [44] Mao Y, Bajinka O, Tang Z X, *et al*. Lung-brain axis: Metabolomics and pathological changes in lungs and brain of respiratory syncytial virus-infected mice [J]. *J Med Virol*, 2022, 94(12): 5885-5893.
- [45] Bishop F S, Liu J K, McCall T D, *et al*. Glutaric aciduria type 1 presenting as bilateral subdural hematomas mimicking nonaccidental trauma. Case report and review of the literature [J]. *J Neurosurg*, 2007, 106(3 Suppl): 222-226.
- [46] 王峤,杨艳玲. 戊二酸尿症 1 型的复杂临床表型与基因型 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2016, 18(5): 460-465.
- [47] Xia X C, Zhang Q Y, Liu R Z, *et al*. Effects of 20-hydroxyecdysone on improving memory deficits in streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus in rat [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 740: 45-52.
- [48] Chen Y Y, Chen S S, Chen K T, *et al*. Magnolol and 5-fluorouracil synergy inhibition of metastasis of cervical cancer cells by targeting PI3K/AKT/mTOR and EMT pathways [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(1): 94-105.
- [49] He C X, Wang K, Xia J, *et al*. Natural exosomes-like nanoparticles in mung bean sprouts possesses anti-diabetic effects via activation of PI3K/Akt/GLUT4/GSK-3 β signaling pathway [J]. *J Nanobiotechnology*, 2023, 21(1): 349.
- [50] Gao W, Wang M, Xu W, *et al*. Modified Weiling Decoction inhibited excessive autophagy via AKT/mTOR/ULK1 pathway to alleviate T2DM: Integrating network pharmacology and experimental validation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 347: 119753.
- [51] Hu X, Liu Z, Lu Y, *et al*. Glucose metabolism enhancement by 10-hydroxy-2-decenoic acid via the PI3K/AKT signaling pathway in high-fat-diet/streptozotocin induced type 2 diabetic mice [J]. *Food Funct*, 2022, 13(19): 9931-9946.
- [52] Santoleri D, Titchenell P M. Resolving the paradox of hepatic insulin resistance [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2019, 7(2): 447-456.
- [53] 张晶玉, 董墨思, 郭乃菲, 等. 高果糖诱导 2 型糖尿病机制及中药多糖缓解 2 型糖尿病的靶点通路研究进展 [J]. *中草药*, 2024, 55(13): 4598-4607.

[责任编辑 李亚楠]