·论著·一次研究·

基于网络药理学与动物实验探讨升降散加黄连方对糖尿病的作用机制研究



兰辛键[1]，丁　涛[2]，刘　博[2]，王　鑫[2]，陈　彪[3]，秦　佳[4]，付　双[1]

1. 长春中医药大学基础医学院（长春 130011）
2. 吉林省中医药科学院中药药理毒理研究所（长春 130011）
3. 重庆市中医药学院附属垫江医院骨四科（重庆 408399）
4. 长春市教育考试院（长春 130011）

【摘要】目的 基于网络药理学与动物实验探究升降散加黄连方治疗糖尿病的作用机制。**方法** 利用中药系统药理学数据库和分析平台（TCMSP）和本草祖鉴（HERB）数据库获取升降散加黄连方活性成分及靶点，整合在线人类孟德尔遗传（OMIM）、DrugBank等数据库筛选糖尿病相关靶点，经Venny 2.1.0软件取交集后构建蛋白质-蛋白质相互作用（PPI）网络，借助Metascape平台进行基因本体（GO）与京都基因与基因组百科全书（KEGG）富集分析，并对核心成分与关键靶点进行分子对接。将60只C57BL/6J小鼠随机分为正常对照组、模型组、阳性对照组（二甲双胍150 mg/kg）及升降散加黄连方低、中、高剂量组（5、10、20 g/kg），每组10只。除正常对照组外，高脂喂养4周后腹腔注射链脲佐菌素造模，灌胃给药后检测相关指标及蛋白激酶Bα（AKT1）、肿瘤坏死因子（TNF）、表皮生长因子受体（EGFR）蛋白表达。**结果** 升降散加黄连方含185个活性成分，与糖尿病共有171个共同靶点（其中AKT1、TNF等为关键靶点），核心成分为黄柏酮、小檗碱、蜕皮甾酮。富集分析主要涉及晚期糖基化终末产物-晚期糖基化终末产物受体（AGE-RAGE）、TNF等信号通路。分子对接显示核心成分与关键靶点结合能均＜-7 kcal/mol。动物实验结果显示，与模型组比较，升降散加黄连方各剂量组均能显著降低血糖，改善小鼠脂质代谢紊乱，下调炎症因子表达，减轻胰腺病理损伤，上调AKT1蛋白表达并下调TNF、EGFR蛋白表达（$P<0.05$）；且中、高剂量组的部分指标与阳性对照组无明显差异（$P>0.05$）。**结论** 升降散加黄连方通过多成分、多靶点、多通路协同调控糖脂代谢与炎症反应，高剂量降糖抗炎效果显著、接近二甲双胍，可作为糖尿病治疗的候选中药复方。

【关键词】升降散加黄连方；网络药理学；分子对接；糖尿病；肿瘤坏死因子；表皮生长因子受体

【中图分类号】R285　　**【文献标识码】**A

Study on the mechanism of action of the Shengjiang powder plus Huanglian decoction in diabetes based on network pharmacology and animal experiments

LAN Xinjian[1], DING Tao[2], LIU Bo[2], WANG Xin[2], CHEN Biao[3], QIN Jia[4], FU Shuang[1]

1. College of Basic Medical, Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130011, China

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202602058
基金项目：吉林省教育厅科学技术研究项目（JJKH20261239KJ）
通信作者：付双，博士，讲师，Email：fushuang@ccucm.edu.cn

2. Institute of Pharmacology and Toxicology of Traditional Chinese Medicine, Jilin Academy of Chinese Medical Sciences, Changchun 130011, China
3. Fourth Department of Bone, Dianjiang Hospital Affiliated to Chongqing University of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 408399, China
4. Changchun Education Examination Institute, Changchun 130011, China
Corresponding author: FU Shuang, Email: fushuang@ccucm.edu.cn

【Abstract】Objective To investigate the mechanism of Shengjiang powder plus Huanglian decoction in treating diabetes based on network pharmacology and animal experiments. Methods The Traditional Chinese Medicine System Platform (TCMSP) and HERB databases were used to obtain the active ingredients and targets of Shengjiang powder plus Huanglian decoction. Diabetic-related targets were screened by integrating databases such as OMIM and DrugBank. The protein-protein interaction (PPI) network was constructed to obtain the intersection using software Venny 2.1.0. Gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses were conducted using the Metascape platform, and molecular docking was performed on core components and key targets. 60 C57BL/6J mice were randomly divided into a normal control group, a model group, a positive control group (metformin 150 mg/kg), and low-, medium-, and high-dose groups (5, 10, 20 g/kg) of Shengjiang powder plus Huanglian decoction, with 10 mice in each group. Except for the normal control group, after 4 weeks of high-fat feeding, streptozotocin was injected intraperitoneally to establish a model. After intragastric administration, relevant indicators and protein expression of AKT1, TNF, and EGFR were detected. Results Shengjiang powder plus Huanglian decoction contained 185 active components, 171 common targets associated with diabetes (AKT1, TNF, etc. were key targets), and the core ingredients were obacunone, berberine and ecdysterone. Enrichment analysis mainly involved signaling pathways such as AGE-RAGE and TNF. Molecular docking showed that the binding energies of core components and key targets were both less than -7 kcal/mol. The results of animal experiments showed that, compared with the model group, each dose group of Shengjiang powder plus Huanglian decoction could significantly lower blood glucose, improve the disorder of lipid metabolism in mice, downregulate the expression of inflammatory factors, reduce the pathological damage of pancreas, up-regulate the expression of AKT1 protein and down-regulate the expression of TNF and EGFR protein ($P < 0.05$); and some indicators in the medium and high dosage groups showed no significant difference from the positive control group ($P > 0.05$). Conclusion Shengjiang powder plus Huanglian decoction regulates glucose and lipid metabolism and inflammatory response through multi-component, multi-target and multi-pathway synergistic regulation. The high-dose group showed significant hypoglycemic and anti-inflammatory effects comparable to those of metformin. It can be used as a candidate Chinese medicine compound for the treatment of diabetes.

【Keywords】Shengjiang powder plus Huanglian decoction; Network pharmacology; Molecular docking; Diabetes; Tumor necrosis factor; Epidermal growth factor receptor

糖尿病作为重大公共卫生问题，全球患者数量已突破5亿且持续增长[1-3]。该病以持续高血糖为特征，可引发多系统并发症，给患者及其家庭和社会带来沉重负担[4]。临床治疗多依赖降糖药物，但存在不良反应且难以改善核心病理环节，寻找安全有效的治疗方案成为研究重点[5]。

中医药治疗糖尿病历史悠久、优势独特。现代医学糖尿病与中医“消渴病”范畴基本对应，中医认为消渴病核心病机为燥热内盛、气机失常、痰浊瘀热互结、阴津耗损，进而导致全身气血阴阳失衡、脏腑功能失调。“辨证论治”可提高治疗效果，且中医药多靶点、多途径干预疾病进程[6]。升降散加黄连方由经典方升降散加黄连而成，全方共含白僵蚕、蝉蜕、片姜黄、大黄、黄连5味药物。升降散有升清降浊、散风清热之效[7-8]。黄连是治疗消渴病的经典药物，其活性

成分小檗碱可降低血糖[9]。研究发现，升降散可改善糖尿病小鼠胰岛素抵抗和慢性炎症，黄连与生地黄配伍适用于燥热伤津型糖尿病[10-12]。将二者配伍组成升降散加黄连方，符合中医治疗消渴病思路，但具体作用机制尚不明确。网络药理学从整体-网络-靶点-成分解析复方中药作用机制，与中医药治疗理念契合，已广泛应用于中药复方机制研究[13]。动物实验可验证网络药理学预测结果，揭示药物体内作用过程[14-15]。基于此，本研究拟采用网络药理学预测和动物实验验证策略，先预测升降散加黄连方治疗糖尿病的可能机制，再通过动物实验明确关键作用靶点与信号通路，为其临床应用提供依据，也为中医药治疗糖尿病机制研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

BSA822S百分之一电子天平（德国赛多利斯科学仪器公司）；WD-9405B回旋式脱色摇床（北京市六一生物科技有限公司）；Mini-PROTEAN Tetra小型电泳槽和Mini Trans-Blot小型转膜槽和PowerPac Basic基础电泳仪（美国伯乐生命医学产品有限公司）；安稳+血糖测定仪和安稳+血糖测试纸（三诺生物传感股份有限公司）；PX85ZH型电子分析天平（美国奥豪斯国际贸易有限公司）；1416R型高速冷冻离心机（珠海黑马医学仪器公司）；ASP6025 S组织脱水机（德国徕卡显微系统贸易有限公司）；BS-230全自动生化分析仪（深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司）；YD-6K生物组织包埋机、YD-1900生物组织冷冻台、YD-A生物组织摊片机和YD-355AT手动轮转式切片机（金华市益迪医疗公司）。

1.2 主要药品与试剂

高脂饲料（斯贝福生物技术有限公司，批号：20240301）；链脲佐菌素（美国MCE公司，批号：HY1375302）；白僵蚕、蝉蜕、片姜黄、大黄、黄连药材购自哈尔滨三棵树中药材专业市场，批号：230902、220905、231021、240814、240833，经长春中医药大学中药鉴定教研室主任翁丽丽教授鉴定，均符合《中国药典》2025年版相关标准；盐酸二甲双胍片［默克制药（江苏）有限公司，批号：2502053，规格：0.5 g/片］；胰岛素注射液（江苏万邦生化医药股份公司，批号：22212209，规格：400 U/10 mL）；Western Blot脱脂奶粉（上海碧云天生物技术有限公司，批号：P0216）；葡萄糖（广州琪福食品公司，批号：20240901）；肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白细胞介素（interleukin，IL）-1β、IL-6、核因子-κB（nuclear factor-κB，NF-κB）试剂盒（中国上海研生，货号：YS-ELISA0370、YS-ELISA0310、YS-ELISA0330、YS-ELISA0883）；蛋白激酶Bα（protein kinase Bα，AKT1）、TNF-α、表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor，EGFR）一抗（沈阳万类生物科技有限公司，批号：R10250003、R04025040、R07241010）；兔二抗（北京博奥森生物技术有限公司，批号：0295G）；苏木素染色液、伊红染色液（北京雷根生物技术有限公司，批号：DH0006-1、DH0006-2）。

1.3 动物

SPF级C57BL/6J小鼠60只，8~9周龄，体重18~21 g，雌雄各半，购自长春亿斯实验动物有限公司。饲养环境为温度（20 ± 2）℃、相对湿度50%~60%、12 h/12 h明暗交替，自由摄食饮水。本实验经长春中医药大学动物伦理委员会批准（批准号：2025542），所有操作均遵循动物伦理相关准则。

1.4 升降散加黄连方治疗糖尿病的网络药理学分析

1.4.1 升降散加黄连方活性成分与靶点获取

根据中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP，https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php）、本草祖鉴（HERB）平台（http://herb.ac.cn/）、中药百科全书（ETCM）数据库（http://www.tcmip.cn），以口服利用度（oral bioavailability，OB）≥ 30%、药物相似性（drug-likeness，DL）≥ 0.18为条件，检索白僵蚕、蝉蜕、片姜黄、大黄、黄连5味中药的活性成分及基因靶点[16]，通过Venny 2.1.0软件对5味中药的活性成分及基因靶点取交集。

1.4.2 糖尿病靶点及复方调控网络

利用在线人类孟德尔遗传（OMIM，https://www.omim.com）、DrugBank（https://go.drugbank.com）、GeneCard（https://www.genecards.org/）和DisGeNET（https://disgenet.com）数据库，搜索“diabetes”相关靶点，并与升降散加黄连方的靶点取交集；采用Cytoscape 3.7.1等软件处理数据，

构建以中药名称、交集靶点基因和药物有效成分为节点的中药复方调控网络。

1.4.3 蛋白质-蛋白质相互作用网络

应用 STRING 数据库（https://string-db.org）构建靶点蛋白质-蛋白质相互作用（proteinprotein interaction，PPI）网络，筛选度值排名靠前、与糖尿病密切相关的核心组分对应靶点间的相互作用，设置“Homo sapiens”进行操作，其余参数保持默认。以 PPI 网络连线的粗细代表互相作用的强弱，靶点的度表示互相作用的靶点个数[16]。

1.4.4 基因本体与京都基因与基因组百科全书富集分析

在 Metascape 数据库中，将升降散加黄连方与糖尿病共有靶点分别从生物学过程（biological process，BP），细胞组成（cellular component，CC）和分子功能（molecular function，MF）3 个模块进行基因本体（gene ontology，GO）功能注释，并进行京都基因与基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）富集分析，采用 Cytoscape 3.7.1 软件构建 PPI 网络筛选获得关键基因-KEGG 信号通路可视化网络，筛选关键靶点的主要代谢通路、生物过程和基因信息，初步分析升降散加黄连方可能的分子作用机制。

1.4.5 分子对接

为进一步探索升降散加黄连方中核心成分的作用、验证网络药理学结果，将核心成分与关键靶点进行对接并评价其亲和力。通过 PubChem 平台（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/）获取中药活性成分的 2D 结构并用 Chem3D 软件优化活性成分结构；使用蛋白质数据库（PDB，https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/）下载靶蛋白结构，运用 PyMOL 2.5 软件对蛋白结构进行预处理并保存；通过 Discovery Studio（https://discover. 3ds. com/discovery-studio-visualizer-download）构建靶 RNA 结构；结合 AutoDock Tools 1.5.7 软件对蛋白及 RNA 受体进行加氢、计算电荷等处理；使用 AutoDock Vina1.1.2 软件进行分子对接，结合能越低，配体与受体结合越稳定。使用 PyMOL 2.5 软件将对接结果进行可视化展示，以结合能< -7 kcal/mol 作为筛选条件[16]。

1.5 升降散加黄连方治疗糖尿病动物实验

1.5.1 动物分组、模型建立及给药

适应性喂养 1 周后，采用随机数字表法将 60 只小鼠分为以下 6 组（每组 10 只）：正常对照组、模型组、阳性对照组（二甲双胍 150 mg/kg）、升降散加黄连方低（5 g/kg）、中（10 g/kg）、高（20 g/kg）剂量组[17]。升降散加黄连方由白僵蚕 10 g、蝉蜕 6 g、片姜黄 10 g、大黄 12 g、黄连 30 g 组成，药材加 10 倍量水浸泡 30 min，武火煮沸后文火煎煮 40 min，过滤；药渣加 8 倍量水再煎 40 min，过滤，合并滤液，浓缩至所需浓度，-20 ℃避光保存[18]。给药前用生理盐水稀释至相应浓度，混匀后 4 ℃保存。给药剂量按人与小鼠体表面积折算确定。

除正常对照组外，其余各组高脂饲料喂养 4 周后，按 25 mg/kg 腹腔注射 1% 链脲佐菌素，间隔 1 周后再按 40 mg/kg 注射 1% 链脲佐菌素，继续高脂喂养 3 d。以连续 3 d 空腹血糖 > 16.7 mmol/L 且尿糖 > 300 mg/dL 判定为造模成功。造模成功后，各组每日固定时间灌胃给药或等体积生理盐水，连续干预 8 周。期间正常对照组予普通饲料，其余各组予高脂饲料。干预结束后禁食不禁水 12 h，采集血液及胰腺组织用于指标检测。

1.5.2 小鼠血糖及血脂水平检测

给药干预期间，自正式给药当日记为第 1 周，每周检测 1 次空腹血糖（禁食不禁水 12 h 后，尾静脉采血）。干预 8 周结束后，各组小鼠禁食不禁水 12 h，称重，尾静脉采血复核空腹血糖，随后取腹主动脉血，离心取上清液，采用全自动生化分析仪检测总胆固醇（TC）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）、甘油三酯（TG）水平。

1.5.3 血清炎症因子水平

胰岛素耐量试验结束后取血，静置 2 h，离心（1 370 × *g*）15 min，吸取上清液。采用 ELISA 试剂盒检测炎症相关因子 TNF-α、IL-1β、IL-6 及 NF-κB 的水平。

1.5.4 胰腺组织病理形态 HE 染色

小鼠采血后，无菌解剖取部分胰腺组织，于 4% 多聚甲醛中固定 24 h 以上。经脱水、透明、浸蜡包埋后，切成 4~6 μm 薄片，贴于载玻片并烘干。脱蜡水化后，苏木素染色细胞核，分化返蓝，伊红染色细胞质，再经脱水、透明、封片。于光学显微镜下观察胰腺组织及胰岛细胞的形态变化。

1.5.5 Western Blot 检测

取胰腺组织 20 mg，加入 200 μL RIPA 裂解

液，裂解提取总蛋白。采用10% SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白，将蛋白转移至0.45 μm NC膜上。用5%脱脂牛奶室温封闭2 h，随后于4 ℃孵育AKT1、TNF-α、EGFR一抗过夜（稀释比例均为1∶2 000）。孵育结束后，TBST洗膜3次，每次10 min。再加入辣根过氧化物酶标记的兔二抗（稀释比例1∶10 000），室温孵育1 h。TBST洗膜3次，最后采用接触式化学发光成像系统曝光显影，检测蛋白表达水平。

1.6 统计学分析

采用SPSS 23.0统计软件进行数据分析。计量资料以$\bar{x} \pm s$表示。不同时间点血糖值的比较采用重复测量方差分析，事后多重比较采用LSD-t检验。以$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 网络药理学分析结果

2.1.1 有效活性成分与糖尿病相关靶点筛选

经筛选，共获得升降散加黄连方有效活性成分185个，糖尿病相关靶点2 029个。将升降散加黄连方活性成分靶点与糖尿病靶点取交集，共获得171个共同靶点（图1）。

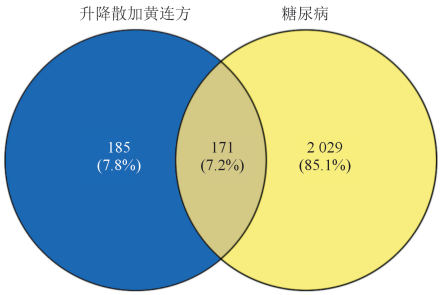


图1 升降散加黄连方与糖尿病靶点韦恩图

Figure 1. Venn diagram of Shengjiang powder plus Huanglian decoction and diabetes mellitus targets

2.1.2 PPI网络构建与核心靶点筛选

将171个共同靶点输入STRING数据库，设定置信度>0.4，隐藏游离节点，获得PPI网络图（图2）。该网络包含34个节点和393条边，节点度值排名前5的靶点分别为AKT1、TNF、EGFR、雌激素受体1（estrogen receptor 1，ESR1）、过氧化物酶体增殖物激活受体γ（peroxisome proliferator-activated receptor gamma，PPARG）。

2.1.3 成分-靶点-疾病网络构建

药物-成分-靶点-疾病可视化网络图共包含102个节点、236条相互作用关系（图3）。网络图以活性成分、疾病靶点、糖尿病分别作为3类节点，依据度值调控节点大小与可视化布局，最终筛选获得度值排名前3的关键成分分别为黄柏酮（obacunone）、小檗碱（berberine）和蜕皮甾酮（ecdysterone）。

2.1.4 GO和KEGG富集分析

GO富集分析显示，BP中糖皮质激素反应富

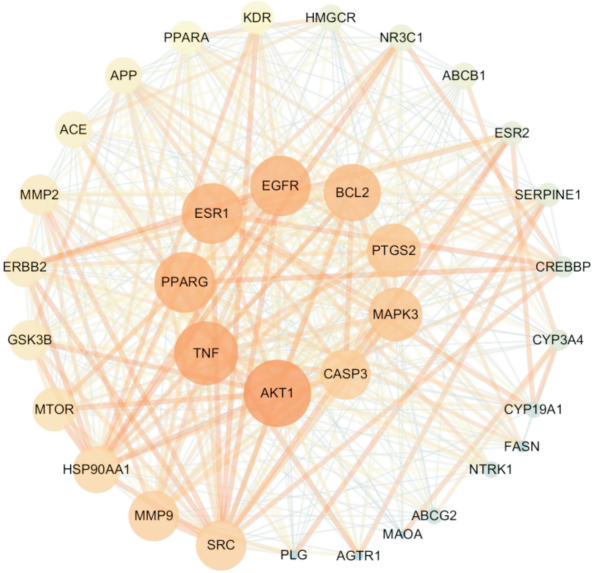


图2 药物与疾病PPI网络图

Figure 2. Drug-disease PPI network diagram

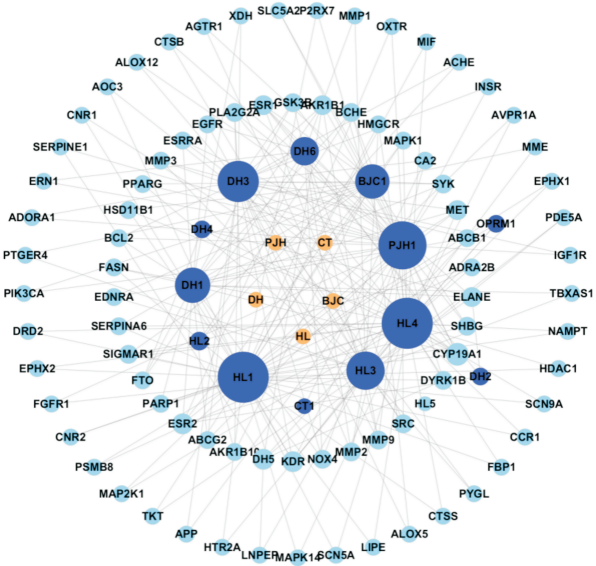


图3 药物-成分-靶点-疾病网络图

Figure 3. Drug-ingredient-target-disease network diagram

注：HL. 黄连；DH. 大黄；BJC. 白僵蚕；CT. 蝉蜕；PJH. 片姜黄；HL1. 小檗碱；HL2. 表小檗碱；HL3. 黄连碱；HL4. 黄柏酮；PJH1. 蜕皮甾酮；CT1. 甲壳质；DH1. 大黄素；DH3. 大黄酸；DH4. 大黄素蒽酮；DH6. 泽兰黄素；BJC1. 蜕皮甾酮。

集最高，肽酪氨酸磷酸化等次之；CC中质膜富集最高，线粒体等也有较高富集；MF中巨噬细胞集落刺激因子受体活性富集分数最高，血小板衍生生长因子受体活性等次之。KEGG富集显示，晚期糖基化终末产物-晚期糖基化终末产物受体（advanced glycation end product-advanced glycation end product receptor，AGE-RAGE）信号通路、脂质与动脉粥样硬化及TNF信号通路富集明显（图4）。

2.1.5 分子对接

选择升降散加黄连方主要活性成分小檗碱、黄柏酮、蜕皮甾酮与糖尿病的核心受体AKT1、TNF、EGFR、ESR1、PPARG逐一对接，以结合能 < -7 kcal/mol为筛选条件，验证分子间的结合模式（图5）。结果显示，AKT1-黄柏酮的结合能为-7.0 kcal/mol，AKT1-蜕皮甾酮的结合能为

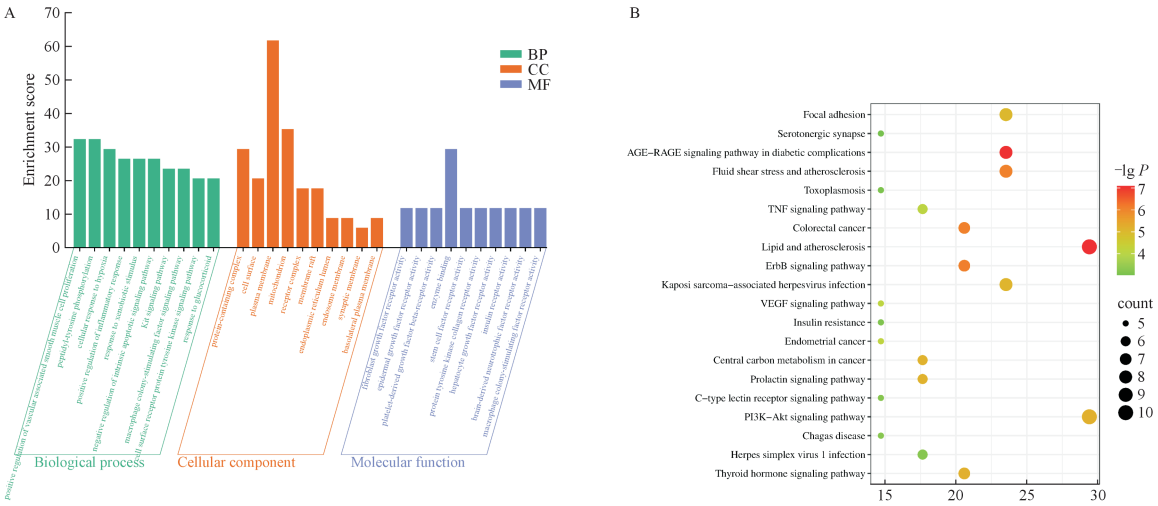


图4 GO功能与KEGG信号通路富集分析

Figure 4. GO function and KEGG signaling pathway enrichment analysis

注：A. GO功能富集分析；B. KEGG信号通路富集分析。

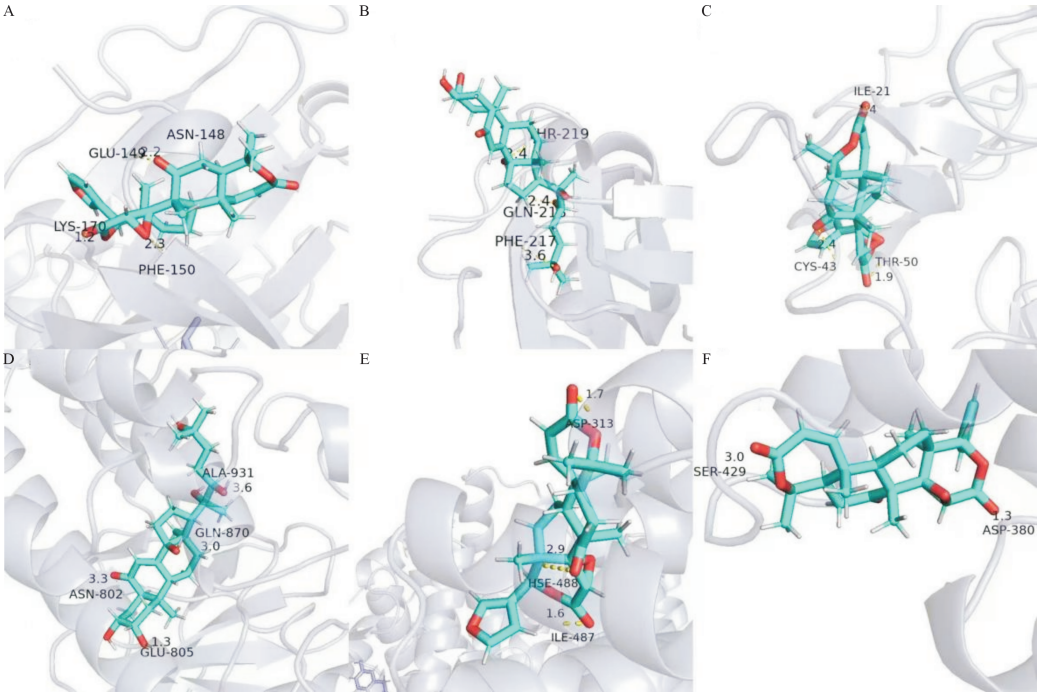


图5 升降散加黄连方主要活性成分与糖尿病核心受体分子对接分析

Figure 5. Docking analysis of the main active components of Shengjiang powder plus Huanglian decoction with core receptor molecules related to diabetes mellitus

注：A. AKT1-黄柏酮；B. AKT1-蜕皮甾酮；C. TNF-黄柏酮；D. EGFR-蜕皮甾酮；E. ESR1-黄柏酮；F. PPARG-黄柏酮。

−7.1 kcal/mol，TNF−黄柏酮的结合能为−7.1 kcal/mol，EGFR−蜕皮甾酮的结合能为−7.0 kcal/mol，ESR1−黄柏酮的结合能为−7.2 kcal/mol，PPARG−黄柏酮的结合能为−7.3 kcal/mol，升降散加黄连方多种活性成分与糖尿病蛋白都具有较好结合活性。

2.2 动物实验结果

2.2.1 小鼠血糖水平

与正常对照组相比，模型组各周血糖值均显著升高（$P < 0.05$），提示造模成功。与模型组相比，升降散加黄连方低剂量组和中剂量组的血糖水平在第2周差异无统计学意义（$P > 0.05$），第4周起显著降低（$P < 0.05$），但仍高于阳性对照组（$P < 0.05$）。升降散加黄连方高剂量组的血糖水平在第2周与模型组差异无统计学意义（$P > 0.05$），第4周起显著低于模型组（$P < 0.05$），且与阳性对照组差异无统计学意义（$P > 0.05$）。显示升降散加黄连方低、中剂量有一定降糖作用，而高剂量的降糖效果更显著，与阳性对照药二甲双胍相当。具体见表1。

表1 各组小鼠不同时点血糖水平比较（$\bar{x} \pm s$，mmol/L，$n = 10$）

Table 1. Comparison of blood glucose levels among different groups of mice at different time points ($\bar{x} \pm s$, mmol/L, n=10)

组别	第2周	第4周	第6周	第8周
正常对照组	6.18 ± 0.28	6.39 ± 0.45	6.75 ± 0.63	6.63 ± 0.56
模型组	20.62 ± 2.23^{a}	24.64 ± 1.31^{a}	28.87 ± 2.96^{a}	30.59 ± 3.14^{a}
阳性对照组	21.33 ± 2.06^{a}	18.95 ± 1.56^{ab}	13.64 ± 1.11^{ab}	12.60 ± 1.26^{ab}
升降散加黄连方低剂量组	20.58 ± 1.57^{a}	21.80 ± 1.42^{abc}	21.15 ± 1.67^{abc}	20.13 ± 2.49^{abc}
升降散加黄连方中剂量组	21.56 ± 2.98^{a}	20.58 ± 1.69^{abc}	15.36 ± 1.35^{abc}	16.41 ± 1.43^{abc}
升降散加黄连方高剂量组	22.34 ± 1.75^{a}	19.11 ± 1.98^{ab}	13.80 ± 1.49^{ab}	13.50 ± 1.34^{ab}

注：与正常对照组比较，$^{a}P < 0.05$；与模型组比较，$^{b}P < 0.05$；与阳性对照组比较，$^{c}P < 0.05$。

2.2.2 小鼠血脂水平

与正常对照组比较，模型组TC、LDL−C、TG水平均显著升高，HDL−C水平显著降低（$P < 0.05$），提示造模成功，小鼠出现脂质代谢紊乱。与模型组比较，升降散加黄连方低剂量组TC水平差异无统计学意义（$P > 0.05$），LDL−C、TG水平显著降低，HDL−C水平显著升高（$P < 0.05$），且TG水平与阳性对照组无明显差异（$P > 0.05$）；中剂量组TC、LDL−C、TG水平均显著降低，HDL−C水平显著升高，且LDL−C、TG水平与阳性对照组无明显差异（$P > 0.05$）；高剂量组TC、TG水平均显著降低，HDL−C水平显著升高（$P < 0.05$），且TG水平与阳性对照组无明显差异（$P > 0.05$）。具体见表2。

表2 干预后各组小鼠血脂水平比较（$\bar{x} \pm s$，mmol/L，$n = 10$）

Table 2. Comparison of blood lipid levels among groups of mice after intervention ($\bar{x} \pm s$, mmol/L, n=10)

组别	TC	LDL−C	HDL−C	TG
正常对照组	2.73 ± 0.52	0.48 ± 0.05	1.19 ± 0.08	0.81 ± 0.04
模型组	4.30 ± 0.61^{a}	0.71 ± 0.07^{a}	0.80 ± 0.06^{a}	1.02 ± 0.06^{a}
阳性对照组	2.87 ± 0.33^{b}	0.52 ± 0.03^{ab}	1.26 ± 0.09^{b}	0.88 ± 0.06^{ab}
升降散加黄连方低剂量组	3.81 ± 0.57^{ac}	0.62 ± 0.07^{abc}	0.92 ± 0.08^{abc}	0.90 ± 0.05^{ab}
升降散加黄连方中剂量组	3.76 ± 0.36^{abc}	0.55 ± 0.04^{ab}	0.95 ± 0.08^{abc}	0.87 ± 0.09^{b}
升降散加黄连方高剂量组	3.35 ± 0.41^{abc}	0.67 ± 0.05^{ac}	0.95 ± 0.03^{abc}	0.84 ± 0.07^{b}

注：与正常对照组比较，$^{a}P < 0.05$；与模型组比较，$^{b}P < 0.05$；与阳性对照组比较，$^{c}P < 0.05$。

2.2.3 小鼠血清炎症因子水平

与正常对照组对比，模型组中IL−1β、IL−6、NF−κB、TNF−α的表达水平均显著高于正常对照组（$P < 0.05$）。与模型组对比，升降散加黄连方低、中、高剂量组的IL−1β、IL−6、NF−κB、TNF−α表达水平均显著低于模型组（$P < 0.05$），且各炎症因子表达水平随剂量增加而呈逐步降低趋势；其中中剂量组TNF−α的表达水平，以及高剂量组IL−6、TNF−α的表达水平与阳性对照组无明显差异（$P>0.05$）。具体见表3。

2.2.4 小鼠胰腺组织病理形态

正常对照组细胞大小形态一致，无炎症及异常增生；模型组组织结构紊乱，有细胞增生、坏死或炎症浸润等病理变化；阳性对照组组织结构改善，细胞形态趋正常，炎症等减少；升降散加黄连方低剂量组组织结构有改善，细胞部分恢复正常；中剂量组改善更佳，异常细胞减少；高剂量组接近正常对照组，病理变化显著减轻，细胞基本正常，炎症等明显减少（图6）。

2.2.5 Western Blot检测结果

与正常对照组比，模型组胰腺组织AKT1蛋白表达显著减少（$P < 0.05$），TNF、EGFR蛋白表达增加（$P < 0.05$）。与模型组相比，升降散加黄连方低、高剂量组AKT1蛋白表达增加（$P < 0.05$），升降散加黄连方低剂量组TNF蛋白表达减少（$P < 0.05$），升降散加黄连方低、中、高剂量组EGFR蛋白表达减少（$P < 0.05$）。具体见图7。

表3 干预后各组小鼠血清炎症因子水平比较（$\bar{x} \pm s$，pg/mL，$n = 10$）

Table 3. Comparison of serum inflammatory factors levels among groups of mice after intervention ($\bar{x} \pm s$, pg/mL, n=10)

组别	IL-1β	IL-6	NF-κB	TNF-α
正常对照组	10.42 ± 1.62	12.89 ± 2.23	73.87 ± 32.15	62.42 ± 5.89
模型组	42.55 ± 1.93^{a}	47.39 ± 1.52^{a}	357.86 ± 34.22^{a}	167.33 ± 9.41^{a}
阳性对照组	26.79 ± 2.36^{ab}	21.57 ± 2.78^{ab}	110.37 ± 22.37^{ab}	92.27 ± 8.79^{ab}
升降散加黄连方低剂量组	16.08 ± 1.57^{abc}	30.69 ± 2.96^{abc}	295.94 ± 28.05^{abc}	111.68 ± 14.51^{abc}
升降散加黄连方中剂量组	14.49 ± 1.04^{abc}	26.42 ± 2.34^{abc}	253.99 ± 25.28^{abc}	93.73 ± 3.59^{ab}
升降散加黄连方高剂量组	13.21 ± 1.23^{abc}	22.91 ± 1.77^{ab}	225.67 ± 25.89^{abc}	85.43 ± 5.71^{ab}

注：与正常对照组比较，$^{a}P < 0.05$；与模型组比较，$^{b}P < 0.05$；与阳性对照组比较，$^{c}P < 0.05$。

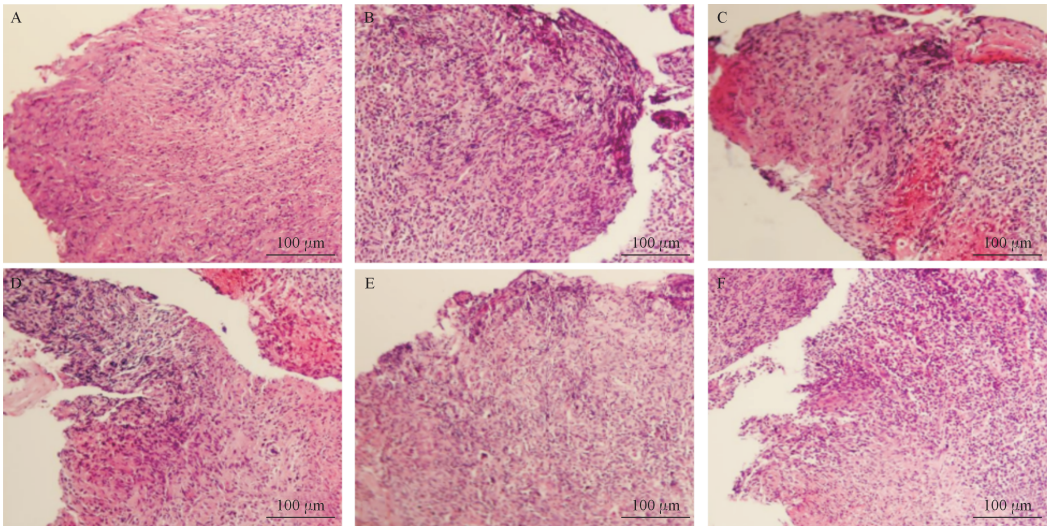


图6 胰腺组织HE染色结果（100×）

Figure 6. HE staining results of pancreatic tissue （100×）

注：A. 正常对照组；B. 模型组；C. 阳性对照组；D. 升降散加黄连方低剂量组；E. 升降散加黄连方中剂量组；F. 升降散加黄连方高剂量组。

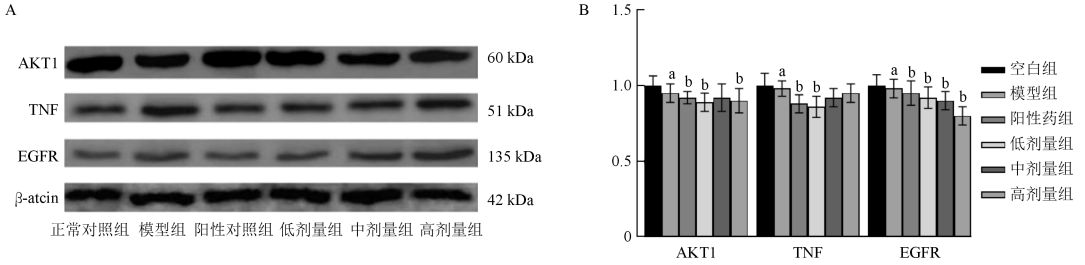


图7 各组小鼠蛋白表达水平比较（$n = 10$）

Figure 7. Comparison of protein expression levels among groups of mice （n=10）

注：A. 蛋白免疫印迹电泳图；B. 蛋白条带的灰度值定量柱状图；与正常对照组比较，$^{a}P < 0.05$；与模型组比较，$^{b}P < 0.05$。

3 讨论

本研究采用“网络药理学预测-动物实验验证”策略探究升降散加黄连方治糖尿病机制，为中医药复方治代谢病提供新思路。整合多数据库筛选出其185个活性成分、2 029个相关靶点及171个共同靶点。其中，AKT1主导胰岛素信号传导[19]，TNF介导慢性炎症[20]，EGFR参与胰岛损伤修复[21]，ESR1调控糖脂代谢与炎症[22]，PPARG为胰岛素增敏关键转录因子[23]，共同构成糖尿病病理调控的核心网络。通路富集分析提示，AGE-RAGE信号通路和TNF信号通路是其中最显著相关的通路。AGE-RAGE信号通路过度激活是糖尿病慢性并发症发生发展的核心通路，可加剧氧化应激损伤并介导慢性低度炎症反应[24]；TNF信号通路异常活化则参与胰岛素抵抗、胰岛损伤及代谢紊乱进程，干预糖尿病炎症与代谢异常[25]。

动物实验结果表明，升降散加黄连方高剂量组可显著改善糖尿病小鼠的脂质代谢紊乱，抑制炎症因子表达，减轻慢性炎症反应，HE染色和Western Blot结果进一步证实其可改善胰岛素信号通路和减轻炎症损伤，这些结果与网络药理学预测机制高度契合，表明升降散加黄连方可通过多靶点协同作用发挥治疗作用。但低、中剂量组效果不如高剂量组显著，提示药物剂量与治疗效果可能存在正相关关系，未来研究可进一步优化剂量方案，探索最佳治疗窗口。

从中医理论分析，糖尿病属“消渴病”范畴，核心病机多为燥热内盛、气机升降失常、痰浊瘀热互结、阴津耗损。升降散加黄连方以升清降浊、清热解毒、调畅气机为基本治法，契合消渴“郁、热、虚、瘀”的病机特点，方中药物可清泄胃肠郁热、通利三焦气机，改善燥热伤津所致多食、多饮、乏力等症状，彰显中医药“多成分、多靶点、多途径”特色。关键活性成分黄柏酮、小檗碱和蜕皮甾酮从不同途径干预糖尿病病理。研究表明，小檗碱可抑制炎症因子表达[26]，黄柏酮亦具有抗炎及调节糖脂代谢相关通路的作用[27]，二者或通过相互影响信号通路与靶点产生协同效应。这些成分协同标本兼治。PPI网络中AKT1与TNF强相互作用，提示胰岛素信号与炎症通路或交叉调控，升降散加黄连方同时调节二者实现协同增效。

本研究虽初步揭示升降散加黄连方治疗糖尿病的关键靶点与通路，但仍存在如下局限性：网络药理学预测可能遗漏未知靶点，动物实验未评估长期安全性与临床剂量可行性，核心靶点功能有待进一步验证。未来可结合单细胞测序、条件性敲除小鼠等技术深入解析机制，并开展长期毒理与临床研究，为其疗效与安全性评价及临床转化提供依据，为中医药治疗糖尿病研究拓展新思路。

参考文献

1 Abu-Farha M, Iizuka K, Yabe D, et al. Editorial: advances in the research of diabetic nephropathy[J]. Front Endocrinol, 2023, 13: 1116188. DOI: 10.3389/fendo.2023.1135265.

2 Chen Y, Liu QP, Shan ZF, et al. Catalpol ameliorates podocyte injury by stabilizing cytoskeleton and enhancing autophagy in diabetic nephropathy[J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 1477. DOI: 10.3389/fphar.2019.01477.

3 Matoba K, Takeda Y, Nagai Y, et al. Unraveling the role of inflammation in the pathogenesis of diabetic kidney disease[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(14): 3393. DOI: 10.3390/ijms20143393.

4 王振泽. 残余胆固醇与下肢动脉硬化闭塞症合并糖尿病患者的临床特征及危险性分析[D]. 西安: 西安医学院, 2025. DOI: 10.27909/d.cnki.gxaxy.2025.000174.

5 乔琳, 金艳, 郭兆安. 中医药调控NLRP3炎症小体缓解糖尿病肾病肾间质纤维化的机制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(5): 1164-1171. [Qiao L, Jin Y, Guo ZA. Research progress on the mechanism of traditional Chinese medicine regulating NLRP3 inflammasome to alleviate renal interstitial fibrosis in diabetic nephropathy[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2024, 49(5): 1164-1171.] DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20231123.401.

6 黄风玲. 基于PI3K/Akt/NF-κB信号通路探讨加味升降散对糖尿病肾病小鼠肾损伤的干预机制[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2023. DOI: 10.27119/d.cnki.ghezc.2023.000624.

7 尹虹. 加味升降散对糖尿病肾病Ⅲ期-Ⅳ期痰热互瘀型患者血清NLR、TNF-α、IL-10水平的影响及相关性研究[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2023. DOI: 10.27119/d.cnki.ghezc.2023.000614.

8 吴凡, 程剑峰, 盛杖, 等. 基于三焦膜穷学说探讨升降散合方的临床应用[J]. 陕西中医药大学学报, 2025, 48(5): 48-52. [Wu F, Cheng JF, Sheng Z, et al. Exploration on the clinical application of Shengjiang powder combined with prescriptions based on the San Jiao Cou Qiao theory[J]. Journal of Shaanxi University of Chinese Medicine, 2025, 48(5): 48-52.] DOI: 10.13424/j.cnki.jsctcm.2025.05.007.

9 马伯艳, 李寒, 李云凤, 等. 黄连及其有效成分降糖作用的研究进展及量效关系[J]. 中成药, 2019, 41(12): 2970-2973. [Ma BY, Li H, Li YF, et al. Research progress and dose-effect relationship of Coptis chinensis and its active components in hypoglycemic

effect[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2019, 41(12): 2970-2973.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.12.028.

10 白薇, 暴雪丽, 张文华, 等. 高思华应用升降散治疗糖尿病泌汗异常经验[J]. 山东中医杂志, 2021, 40(9): 977-980. [Bai W, Bao XL, Zhang WH, et al. Experience of Gao Sihua in treating diabetic sweating abnormalities with Shengjiang powder[J]. Shandong Journal of Traditional Chinese Medicine, 2021, 40(9): 977-980.] DOI: 10.16295/j.cnki.0257-358x.2021.09.015.

11 陈可, 张效科. 中药黄连治疗2型糖尿病药理机制研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2025, 27(2): 94-98. [Chen K, Zhang XK. Research progress on the pharmacological mechanism of Coptis chinensis in the treatment of type 2 diabetes mellitus[J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2025, 27(2): 94-98.] DOI: 10.13194/j.issn.1673-842X.2025.02.017.

12 刘舟, 张卫华, 梁兴. 黄连温胆汤治疗糖尿病的研究进展[J]. 陕西中医学院学报, 2010, 33(6): 152-153. [Liu Z, Zhang WH, Liang X. Research progress on Huanglian Wendan Decoction in the treatment of diabetes mellitus[J]. Journal of Shaanxi College of Chinese Medicine, 2010, 33(6): 152-153.] DOI: 10.13424/j.cnki.jsctcm.2010.06.041.

13 谢玉霞, 葛武鹏, 李国薇, 等. 驼乳乳铁蛋白DPP-Ⅳ抑制肽的筛选验证及其防治糖尿病潜在作用机制探究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(6): 384-395. [Xie YX, Ge WP, Li GW, et al. Screening and verification of DPP-IV inhibitory peptides from camel milk lactoferrin and exploration of their potential mechanism in preventing and treating diabetes mellitus[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(6): 384-395.] DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070138.

14 Li XB, Li XD, Wang L, et al. Advancing traditional Chinese medicine research through network pharmacology: strategies for target identification, mechanism elucidation and innovative therapeutic applications[J]. Am J Chin Med, 2025, 53(7): 1-22. DOI: 10.1142/S0192415X25500752.

15 Ding Y, Wang XY, Feng YC, et al. Exploring the effects of the anti-diarrheal formula on intestinal oxidative stress based on network pharmacology, molecular docking, and microbiomics[J]. Fitoterapia, 2025, 185106742. DOI: 10.1016/J.FITOTE.2025.106742.

16 于冰莉, 付海申, 张娜娜, 等. 基于网络药理学和分子对接探究益气养阴调津丸治疗2型糖尿病的作用机制[J]. 医学理论与实践, 2025, 38(9): 1441-1446, 1468. [Yu BL, Fu HS, Zhang NN, et al. Exploration on the mechanism of Yiqi Yangyin Tiaojin Pills in the treatment of type 2 diabetes mellitus based on network pharmacology and molecular docking[J]. Journal of Medical Theory and Practice, 2025, 38(9): 1441-1446, 1468.] DOI: 10.19381/j.issn.1001-7585.2025.09.001.

17 Racine CK, Carres IL, Herring AJ, et al. The high-fat diet and low-dose streptozotocin type-2 diabetes model induces hyperinsulinemia and insulin resistance in male but not female C57BL/6J mice[J]. Nutr Res, 2024, 131: 135-146. DOI: 10.1016/J.NUTRES.2024.09.008.

18 鲁子瑜, 李健英, 蒋碧辉, 等. 黄连解毒汤通过Notch1/NF-κB信号通路改善大鼠高血压性心肌肥厚[J]. 医学研究杂志, 2025, 54(2): 123-131. [Lu ZY, Li JY, Jiang BH, et al. Huanglian Jiedu decoction improves hypertensive myocardial hypertrophy in rats via Notch1/NF-κB signaling pathway[J]. Journal of Medical Research, 2025, 54(2): 123-131.] DOI: 10.11969/j.issn.1673-548X.2025.02.020.

19 Manning DB, Toker A. AKT/PKB signaling: navigating the network [J]. Cell, 2017, 169(3): 381-405. DOI: 10.1016/j.cell.2017.04.001.

20 Hotamisligil SG. Foundations of immunometabolism and implications for metabolic health and disease[J]. Immunity, 2017, 47(3): 406-420. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.08.009.

21 Taniguchi CM, Brice E, Ronald CK. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2006, 7(2): 85-96. DOI: 10.1038/nrm1837.

22 Mauvais-Jarvis F, Clegg DJ, Hevener AL. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis[J]. Endocr Rev, 2013, 34(3): 309-338. DOI: 10.1210/er.2012-1055.

23 Ahmadian M, Suh JM, Hah N, et al. PPARγ signaling and metabolism: the good, the bad and the future[J]. Nat Med, 2013, 19(5): 557-566. DOI: 10.1038/nm.3159.

24 Mariyam K, Georg P, Abdu A. Advanced glycation end products and diabetes mellitus: mechanisms and perspectives[J]. Biomolecules, 2022, 12(4): 542-542. DOI: 10.3390/BIOM12040542.

25 Moller ED. Potential role of TNF-α in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes[J]. Trends Endocrinol Metab, 2000, 11(6): 212-217. DOI: 10.1016/S1043-2760(00)00272-1.

26 Zhu LP, Han JK, Yuan RR, et al. Berberine ameliorates diabetic nephropathy by inhibiting TLR4/NF-κB pathway[J]. Biol Res, 2018, 51(1): 9. DOI: 10.1186/s40659-018-0157-8.

27 Wang XW, Hong JM, Liang R, et al. Obacunone ameliorates high-fat diet-induced MAFLD by regulating the PPARγ-FABP1/CD36 axis and the gut-liver crosstalk[J]. Phytomedicine, 2025, 147: 157180. DOI: 10.1016/J.PHYMED.2025.157180.

收稿日期：2026 年 02 月 28 日 修回日期：2026 年 04 月 15 日
本文编辑：李 阳 冼静怡