

## • 实验研究 •

## 逍遥散治疗糖尿病的网络药理学分析

杨子博, 李冬冬\*

天津市医药科学研究所, 天津 300020

**摘要:** 目的 基于网络药理学方法探讨、筛选经典名方逍遥散治疗糖尿病的可能通路、靶点、成分。方法 利用 TCMSP、TCMIP、Drugbank、TTD 等数据库检索成分、靶点信息, 并进行 Cytoscape 分析; 利用 String 数据库进行蛋白互作分析, 利用 ClueGO 进行 GO 等数据库信息富集, 并以 Autodock Vina 进行分子对接验证。结果 检索得到逍遥散 394 个可能的活性成分和 558 个成分靶点, 糖尿病相关靶点 4 963 个, 靶点取交集后得到 359 个靶点, 在 Cytoscape 进行分析并按 Degree 排序后取前 10 个靶点。按 Degree、Average Shortest Path Length、Betweenness Centrality 和 Closeness Centrality 排序后各取排名靠前的一半数据得到 325 个靶点, 在 String 数据库中进行检索利用 Cytoscape 分析, 取 Degree 大于 100 的靶点, 与中药-成分-靶点网络分析中的 10 个靶点去重合并后得到 21 个靶点, 对这 21 个靶点进行分子对接验证和 GO、KEGG、REACTOME 数据库检索分析。结论 筛选出 8 个潜在活性结构, 利用分子对接在 21 个潜在关键靶点中筛选出 1 个与成分结合非常强的靶点即 NOS2。

**关键词:** 逍遥散; 糖尿病; 网络药理学; 靶点; 通路

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1674-5515(2020)09-1733-12

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2020.09.001

## Explore interaction between Xiaoyao Powder and diabetes based on network pharmacology

YANG Zi-bo, LI Dong-dong

Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin 300020, China

**Abstract: Objective** To investigate and screen related pathways, targets and ingredients of classical formula Xiaoyao Powder in treating diabetes based on network pharmacology. **Methods** The databank TCMSP and TCMSP were used to search and retrieve information of ingredients and targets of Xiaoyao Powder, then data was processed with Cytoscape, protein relationship was analysed by String, the information of GO was enriched by ClueGO, the results were validated by Autodock Vina. **Results** From TCMSP and TCMIP, 394 ingredients and 558 targets of Xiaoyao Powder were obtained. From GenCLiP3, DisGeNET, DrugBank, OMIM, TTD got 4 963 targets related to diabetes were obtained. Herb-ingredient-target network was created and analyzed by Cytoscape, the results were arranged by Degree, the first ten targets was take to complete a further discussion. The results by Degree, Average Shortest Path Length, Betweenness Centrality and Closeness Centrality were arranged separately, half of each part got 325 targets in total, in String databank, the results were arranged by Degree, the target which has a higher degree value than 100 were analysed, together with the 10 targets above, and with the help of ClueGO the information of Pathway, Molecular Function, etc were enriched. **Conclusion** Eight molecules may be active to diabetes targets. Among 21 targets, one target, NOS2, can combine with those ingredients in Xiaoyao Powder through docking results.

**Key words:** Xiaoyao Powder; diabetes; network pharmacology; target; pathway

收稿日期: 2020-08-26

基金项目: 天津市医药科学研究所科研团队项目 (STD-1)

作者简介: 杨子博, 研究实习员, 硕士, 研究方向为有机化学。E-mail: thus@icc.edu.cn

\*通信作者 李冬冬, 研究员, 博士, 研究方向为药物化学。E-mail: lidongdong2010@163.com

糖尿病是遗传和环境因素共同作用形成的以高血糖为特征的常见代谢病,目前无有效治愈方案,发病率逐年上升,成为严重影响人们生命健康的慢性病之一<sup>[1]</sup>。糖尿病可以分为 $\beta$ 细胞破坏导致胰岛素绝对减少的1型糖尿病,通常由于胰岛素抵抗导致胰岛素分泌不足的2型糖尿病,妊娠期糖尿病,其他原因导致的特殊糖尿病,如单基因糖尿病综合征等<sup>[2]</sup>。

经典名方逍遥散出自《太平惠民和剂局方》,由柴胡、当归、白芍、白术、茯苓、炙甘草、薄荷、生姜8味药组成<sup>[3-4]</sup>,为临床疏肝解郁、养血健脾的常用方剂<sup>[5]</sup>,临床上常用于治疗糖尿病。丁华君<sup>[6]</sup>研究了逍遥散在2型糖尿病治疗中的应用,对比了常规西医治疗和西医、逍遥散共同用药的结果,认为逍遥散在2型糖尿病治疗中能更好控制血糖,减少西医治疗的不良反应。陈欢等<sup>[7]</sup>研究表明逍遥散含药血清可以缓解高糖合并皮质酮或单纯高糖引起的胰岛素抵抗。刘加河等<sup>[8]</sup>在逍遥散治疗糖尿病合并抑郁症的疗效观察研究中,对观察组加用逍遥散后,汉密尔顿抑郁量表评分、生存质量特异性量表评分均低于对照组,表明逍遥散可以降低血糖水平。

中药具有多成分、多靶点、多途径作用的特征,网络药理学能够系统反映药物对疾病网络的干预机制<sup>[9]</sup>。本研究利用网络药理学对逍遥散治疗糖尿病的可能作用机制进行探讨,筛选出逍遥散的8个潜在活性成分,1个与逍遥散中成分结合较强的靶点,为其临床治疗糖尿病提供理论参考。

## 1 方法与材料

### 1.1 逍遥散潜在活性成分及靶点、疾病靶点的检索

在TCMSP (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology, <https://www.tcmspw.com/tcmsp.php>)<sup>[10]</sup>数据库中搜索柴胡、当归、白芍、白术、茯苓、炙甘草、薄荷、生姜的成分,筛选口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ ,类药性(DL) $\geq 0.18$ 的成分并获取其对应靶点。在TCMIP (Integrative Pharmacology-based Research Platform of Traditional Chinese Medicine, <http://www.tcmip.cn/TCMIP/index.php/Home/Login/login.html>)<sup>[11]</sup>数据库中搜索中药,删除其中DL为弱的成分,得到TCMIP数据库中逍遥散的成分和靶点。根据InChI (International Chemical Identifier)、canonical SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System)<sup>[12]</sup>去重合并2个数据库得到的成分。将蛋白名称、基因简称等转换为Uniprot数据库的统一编号,去重得到逍遥散成

分靶点。

以“diabetic nephropathy”“diabetic kidney disease”、“type II diabetes”、“type 2 diabetes”“type 2 diabetes mellitus”“noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus”、“diabetes”、“diabetes enteropathy”、“diabetic ulcer”、“Diabetes Mellitus”、“diabetic”为糖尿病相关关键词,在GenCLiP3 (<http://ci.smu.edu.cn/genclip3/analysis.php>)<sup>[13]</sup>库、DisGeNET (<https://www.disgenet.org/search>)<sup>[14]</sup>库、DrugBank (<https://www.drugbank.ca/>)<sup>[15]</sup>、OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man, <https://omim.org/>)<sup>[16]</sup>、TTD (Therapeutic Target Database, <http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>)<sup>[17]</sup>中检索、整理得到糖尿病相关靶点。

### 1.2 中药-成分-靶点网络构建、分析

将成分、疾病靶点在Bash中用sort排序、uniq去重得潜在关键靶点,利用R语言中VennDiagram包可视化。将中药-成分-靶点整理后导入Cytoscape (Version 3.8.0, Java 11.0.7)<sup>[18]</sup>进行可视化分析、做图。筛选潜在关键靶点,在String数据库进行蛋白相互作用分析,以Cytoscape处理检索结果和筛选。

### 1.3 利用ClueGO进行靶点相关内容富集

将中药-成分-靶点网络和String数据库筛选出的靶点利用ClueGO<sup>[19]</sup>进行GO(The Gene Ontology Resource, <http://geneontology.org/>)<sup>[20]</sup>、KEGG(KEGG Pathway Database, <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>)<sup>[21]</sup>、REACTOME(Reactome, <https://reactome.org/>)<sup>[22]</sup>数据库的通路(Pathway)、生物过程(Biological Process, BP)、分子功能(Molecular Function, MF)、细胞组分(Cellular Component, CC)富集、筛选。

### 1.4 分子对接验证

为避免遗漏潜在活性结构,同时也为了验证靶点的重要性,利用Pymol (2.4.0a0 Open-Source)<sup>[23]</sup>、OpenBabel<sup>[24]</sup>对结构进行预处理,用Autodock Vina<sup>[25]</sup>对逍遥散所有成分与筛选出的潜在关键靶点进行对接计算,按对接能量进行筛选。

## 2 结果

### 2.1 逍遥散潜在活性成分及靶点、疾病靶点

在TCMSP数据库中搜索柴胡、当归、白芍、白术、茯苓、炙甘草、薄荷、生姜,筛选OB $\geq 30\%$ , DL $\geq 0.18$ 的成分,去重共计得到成分149个,靶点264个。在TCMIP数据库中搜索中药,删除DL为弱的成分,去重共计得到成分247个,靶点341个。根据InChI、canonical SMILES去重合并2个数据库

得到成分 394 个成分, 558 个靶点。

以糖尿病相关关键词在 GenCLiP3 库中检索、整理后得到 3 655 个靶点, 在 DisGeNET 库中检索、整理后得到 3 427 个靶点。在 DrugBank 中检索、整理得到 100 个靶点。在 OMIM 库中检索整理得到 616 个靶点。在 TTD 库中检索、整理得到 283 个靶点。合并整理, 得到 4 963 个靶点。

在整理疾病靶点过程中注意到, DrugBank 数据库的搜索结果中会给出检索词的别名, 如查询“Diabetes”, 会在结果页标注“Diabetes”也被称作“Diabetes Mellitis”“Diabetes Mellitus (D003920)”等, 为了保证疾病靶点检索准确和全面, 对上述疾病关键词的 77 个别名在 DrugBank 数据库中进行了再次检索、整理, 结果得到 1 952 个靶点, 去重后得到 148 个靶点, 与原关键词检索结果去重合并后得到靶点 154 个, 与其他数据库相比, 由增加的靶点数量看, 对检索词别名再次检索对检索结果数量贡献不大。

将关键词别名在 DrugBank 中检索的结果与上述疾病数据库检索结果合并共得到 4 967 个疾病靶点, 与成分对应靶点取交集共得到 359 个靶点。

## 2.2 中药 - 成分 - 靶点网络构建

将 8 味中药、394 个成分、359 个靶点在 Cytoscape 中进行分析、做图。由图 1 可见, 8 味中药的成分和相关靶点比较多, 存在比较复杂的关系。在数据处理过程中发现, 部分结构如在 TCMIP 库中检索到的 Dimethyl Camphorate, 数据库显示成药性为“好”, 但是并没给出相应靶点, 为了避免错漏可能有活性

的结构, 在后续研究中利用 Autodock Vina 对所有结构和筛选出的关键靶点进行了分子对接。对数据进行分析, 中药相关参数按自由度 (Degree) 排序后如表 1 所示, 甘草 Degree 最大, 预示其可能的活性成分数量最多。同时接近中心性 (Closeness Centrality) 很大、平均最短路径长度 (Average Shortest Path Length) 很小, 说明其在网络中可能非常重要。当归介数 (Betweenness Centrality) 很大, 说明其可能也在本方剂中起着非常重要的作用。

对 Cytoscape 处理结果中的靶点部分, 按 Degree 由大到小排序后前 10 个靶点如表 2 所示。分别对自由度、平均最短路径长度、介数、接近中心性按值大小排序后, 各取排名靠前的一半得到 4 份数据, 然后对得到的结果取交集得到 4 个参数排名都比较靠前的 325 个靶点用于 String 数据库分析。

表 1 按 Degree 排序的中药-成分-靶点 Cytoscape 分析结果  
Table 1 Sort the result of herb-ingredient-target network by degree in Cytoscape

中药	自由度	平均最短 路径长度	介数	接近中心性
甘草	108	2.67	0.065 7	0.037 4
当归	26	3.29	0.092 7	0.030 4
生姜	25	3.38	0.049 3	0.029 6
柴胡	21	3.03	0.018 8	0.033 0
薄荷	14	3.54	$8.02 \times 10^{-3}$	0.028 3
白芍	9	3.33	$2.52 \times 10^{-3}$	0.030 1
茯苓	8	3.45	$4.35 \times 10^{-3}$	0.029 0
白术	7	3.63	$6.07 \times 10^{-4}$	0.027 6

表 2 按自由度排序的前 10 个靶点

Table 2 Values of the first 10 targets after sorted by Degree

基因简称	自由度	平均最短 路径长度	介数	接近中心性
ESR1	108	2.72	0.056 0	0.368
PTGS2	107	2.53	0.073 4	0.396
AR	93	2.60	0.062 7	0.384
ESR2	75	2.97	0.027 7	0.336
NOS2	70	3.36	$5.18 \times 10^{-3}$	0.297
HSP90AB1	69	2.90	0.013 9	0.345
PTGS1	67	2.54	0.055 1	0.394
NCOA2	62	2.67	0.031 4	0.375
PRSS1	58	3.14	$6.11 \times 10^{-3}$	0.318
CDK2	57	3.59	$1.84 \times 10^{-3}$	0.279

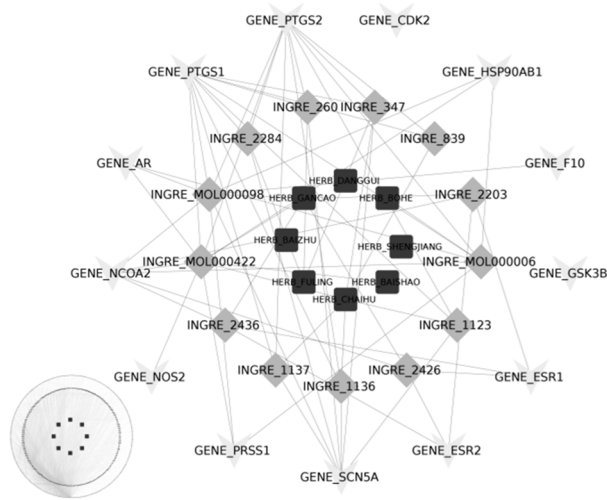


图 1 中药-成分-靶点作用网络图

Fig. 1 Network of herb - ingredient - target

对 325 个靶点在 String 数据库中检索并以 Cytoscape 进行可视化处理结果如图 2 所示, 图中按 Degree 由大到小颜色由红逐渐变蓝, 面积由大变小。按 Degree 做散点图如图 3 所示, 高自由度靶点占小部分。

对 String 数据库检索结果, 按 Degree 排序取前 13 个, 由图 4 可见这 13 个蛋白之间存在比较复杂的关系。除 PTGS2 外, AKT1、ALB、CASP3、EGF、ESR1、IL6、INS、JUN、MAPK1、MYC、TP53、VEGFA 这 12 个靶点 Average Shortest Path Length 和 Closeness Centrality 排序也在排名前 13 以内(表 3), 说明其可能起着非常重要的作用。

对药物-成分-靶点网络分析中筛出的 10 个靶点和 String 蛋白互作网络分析中筛出的 13 个靶点取交集得到 2 个靶点 ESR1、PTGS2, 其在药物-成

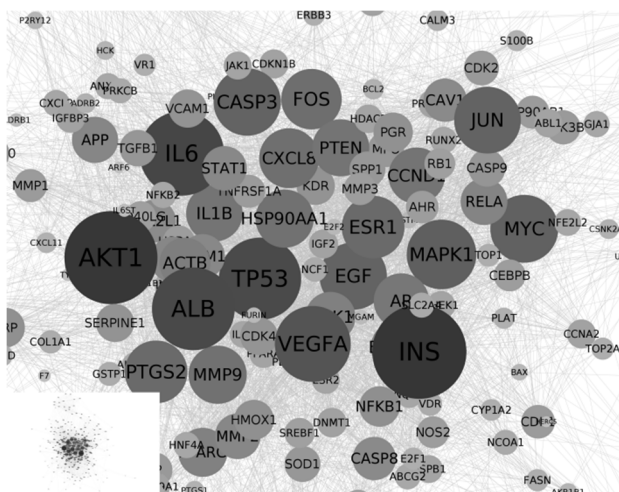


图 2 325 个靶点在 String 数据库中的检索结果  
Fig. 2 Searching results of String databank

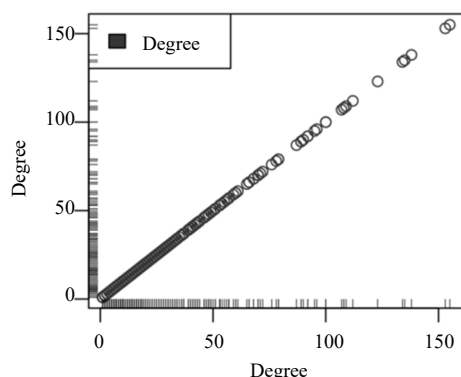


图 3 325 个靶点的 Degree 分布  
Fig. 3 Distribution of Degree

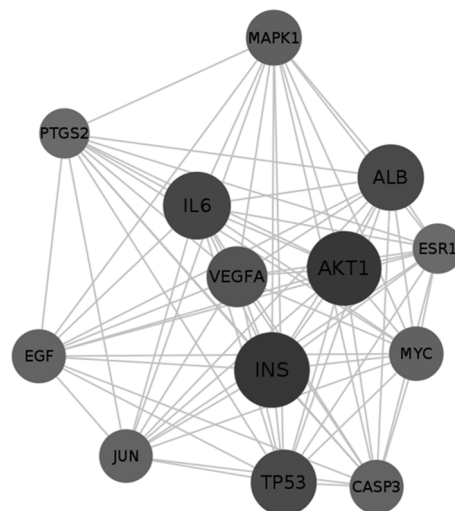


图 4 String 检索结果中 Degree 值排序前 13 个靶点  
Fig. 4 The first 13 targets of searching results in String databank after sorted by Degree

表 3 String 数据库分析结果中 12 个 Degree、Average Shortest Path Length、Closeness Centrality 同时排名靠前的靶点

Table 3 The first 12 targets from results of searching String databank which have a higher value of Degree, Average Shortest Path Length and Closeness Centrality

基因简称	自由度	平均最短路径长度	接近中心性
AKT1	153	1.53	0.652
ALB	135	1.61	0.620
CASP3	108	1.72	0.581
EGF	108	1.70	0.589
ESR1	100	1.75	0.573
IL6	138	1.62	0.619
INS	155	1.52	0.658
JUN	107	1.70	0.589
MAPK1	112	1.70	0.587
MYC	109	1.73	0.578
TP53	134	1.63	0.615
VEGFA	123	1.66	0.602

分-靶点和蛋白相互作用网络中都起重要作用, 预示这 2 个靶点可能起着非常关键的作用。

### 2.3 利用 ClueGO 进行靶点相关内容富集

利用 ClueGO 对靶点进行富集。生物过程富集结果如图 5 所示, 排序筛选后得到一氧化氮合酶 (nitric-oxide synthase activity)、乳腺腺泡发育 (mammary gland alveolus development)、妊娠中的



母性过程 (maternal process involved in female pregnancy)、细胞核蛋白定位正调节 (positive regulation of protein localization to nucleus)、DNA 合成调节 (regulation of DNA biosynthetic process)、miRNA 基因沉默 (negative regulation of production of miRNAs involved in gene silencing by miRNA)、端粒酶活性 (telomerase activity)、核胞浆转运正调节 (positive regulation of nucleocytoplasmic transport)、氮氧化物生物合成过程 (nitric oxide biosynthetic process)、成纤维细胞增生调节 (regulation of fibroblast proliferation)、逍遥散可能与这些生物过程关系比较紧密。

分子功能富集结果如图 6 所示, 富集结果共 5 个, 包括一氧化氮合酶 (nitric-oxide synthase activity)、核受体活性 (nuclear receptor activity)、

RNA 聚合酶 II 转动激活结合因子 (RNA polymerase II general transcription initiation factor binding)、端粒酶活性 (telomerase activity)、调节端粒酶活性 (regulation of telomerase activity)。

细胞组分富集结果只有 1 个, 血小板 alpha 颗粒腔 (platelet alpha granule lumen)。

KEGG 富集结果如图 7 所示, 按  $P$  值选取前 10 个 KEGG 通路, 结果包括前列腺癌 (Prostate cancer)、Kaposi sarcoma 相关疱疹感染 (Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection)、结肠癌 (Colorectal cancer)、乳腺癌 (Breast cancer)、肺小细胞癌 (Small cell lung cancer)、乙型肝炎 (Hepatitis B)、HIF-1 信号通路 (HIF-1 signaling pathway)、雌激素信号通路 (Estrogen signaling pathway)、膀胱癌 (Bladder cancer)、丙型肝炎 (Hepatitis C)。

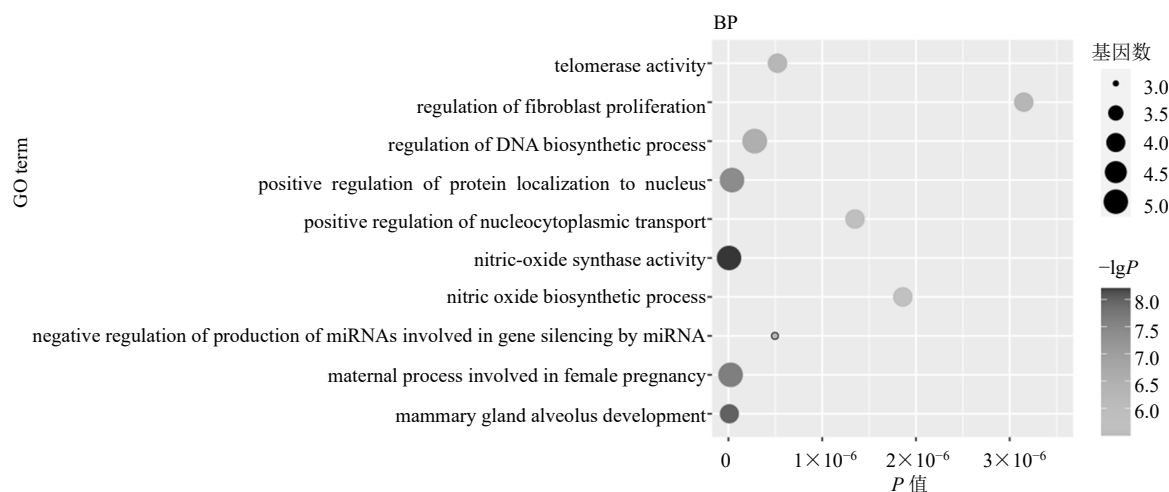


图 5 GO 数据库排序前 10 的 Biological Process 富集结果

Fig. 5 The first 10 Biological Process enriching results in GO databank

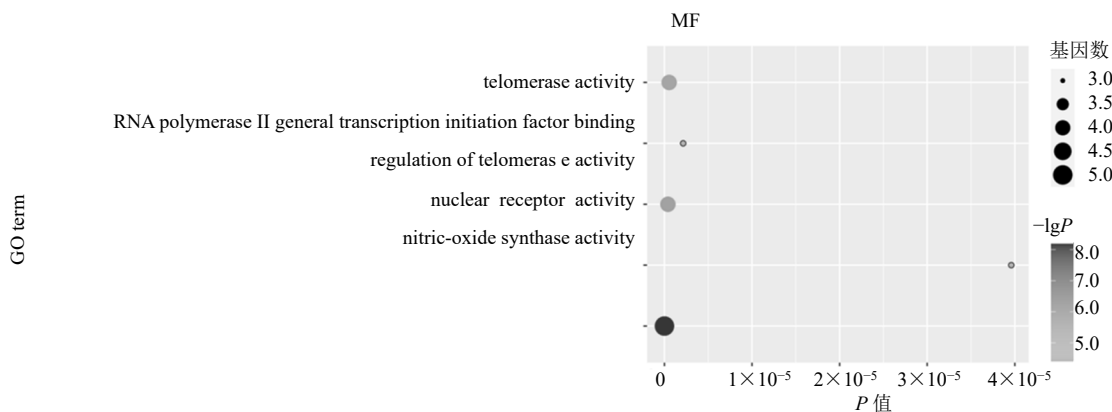


图 6 GO 数据库 Molecular Function 富集结果

Fig. 6 The results of Molecular Function enriching in GO databank

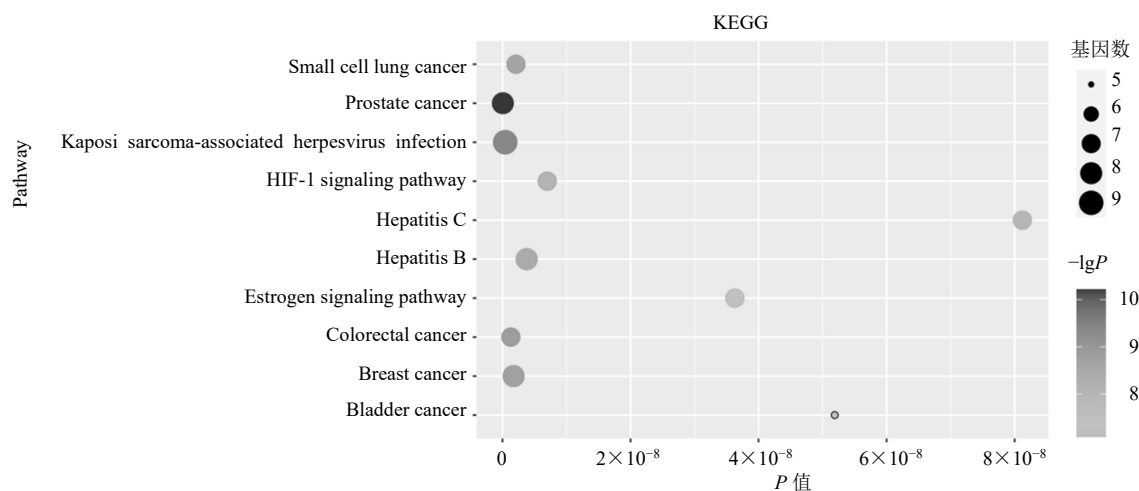


图 7 KEGG 富集排序前 10 个结果气泡图

Fig. 7 The first 10 enriching results in KEGG

REACTOME 通路富集结果如图 8 所示, 包括 ESR 介导信号 (ESR-mediated signaling)、白细胞介素 4、13 信号 (Interleukin-4 and Interleukin-13 signaling)、PI5P、PP2A、IER3 调节 PI3K/AKT 信号 (PI5P, PP2A and IER3 Regulate PI3K/AKT Signaling)、PI3K/AKT 网络负调节 (Negative regulation of the PI3K/AKT network)、余核雌激素信号 (Extra-nuclear estrogen signaling)、细胞凋亡内在通路 (Intrinsic Pathway for Apoptosis)、基于雌激素的下调 ESR 膜信号核行为 (Estrogen-dependent nuclear events downstream of ESR-membrane

signaling)、TP53 降解调节 (Regulation of TP53 Degradation)、TP53 表达、降解调节 (Regulation of TP53 Expression and Degradation)、AP-2 家族转录因子调节 (Transcriptional regulation by the AP-2 (TFAP2) family of transcription factors)。

#### 2.4 分子对接验证

为筛选重要成分, 同时也为了验证筛出的 21 个蛋白, 对所有成分与 21 个靶点利用 Autodock Vina 进行分子对接。在 Unirprot 和 RCSB 库中查询合适的蛋白编号, 在 DrugBank 库中查找靶点对应药物做能量对比 (表 4)。

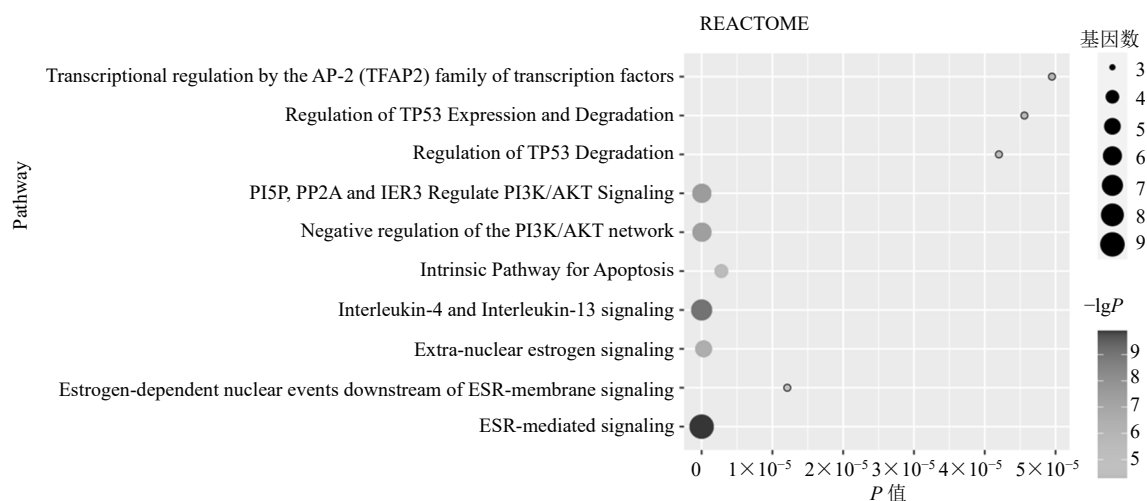


图 8 REACTOME 通路富集前 10 个结果气泡图

Fig. 8 The first 10 results of pathway enriching in REACTOME

表 4 蛋白结构和对照药物选择

Table 4 Proteins and the drugs as contrast

ID	基因简称	UNIPROT_ID	PDB_ID	参照药物名称
1	AKT1	P31749	1UNQ	Enzastaurin
2	ALB	P02768	1E7A	Phenprocoumon
3	AR	P10275	1T65	Flutamide
4	CASP3	P42574	1GFW	Emricasan
5	CDK2	P24941	1AQ1	R-roscovitine
6	EGF	P01133	1NQL	Tesevatinib
7	ESR1	P03372	1A52	Diethylstilbestrol
8	ESR2	Q92731	1U3R	Tamoxifen
9	HSP90AB1	P08238	1UYM	SNX-5422
10	IL6	P05231	1ALU	VX-702
11	INS	P01308	1BEN	Myristic acid
12	JUN	P05412	1JNM	T-5224
13	MAPK1	P28482	1PME	CI-1040
14	MYC	P01106	1NKP	TWS-119
15	NCOA2	Q15596	1MVC	CHEMBL180517
16	NOS2	P35228	3E7G	Miconazole
17	PRSS1	P07477	1FXV	Nafamostat
18	PTGS1	P23219	6Y3C	Indomethacin
19	PTGS2	P35354	5F19	Sulindac
20	TP53	P04637	1AIE	PhiKan-083
21	VEGFA	P15692	1FLT	Vandetanib

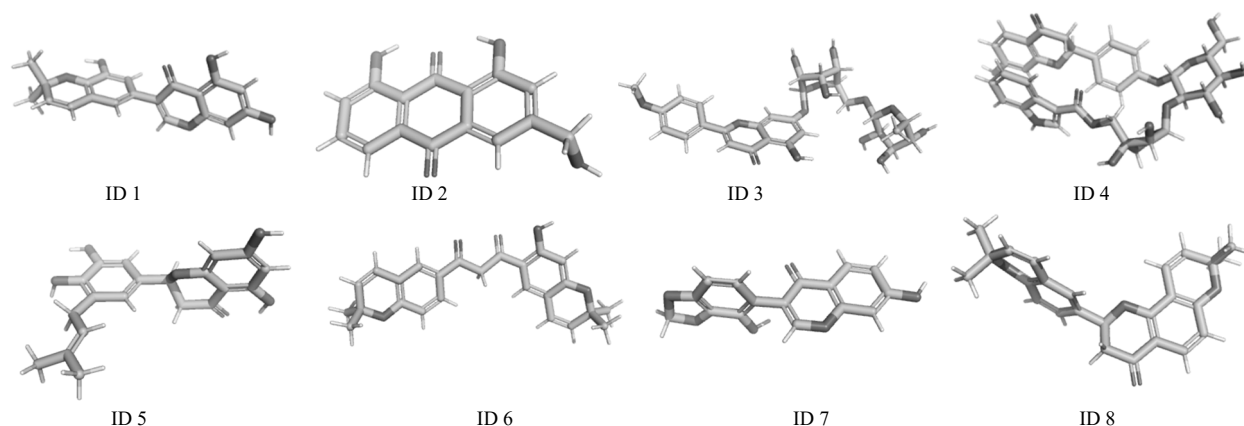
筛选出对接结果中对接能量低于对照药物的成分,利用 UpsetR<sup>[26]</sup>分析、统计成分对接能低于对照药的靶点个数,为便于阅读,仅展示部分作用靶点个数较高的统计结果如图 9 所示,按成分与 21 个靶点对接结果中成分出现次数由高到低在下图按颜色由红到蓝渐变。分析可知,有 1 个成分与 16 个蛋白结合的能力均高于相应对照药物,有 2 个成分与 14 个蛋白结合的能力均高于相应对照药物,有 5 个成分与 13 个蛋白结合的能力均高于相应对照药物。

在以往的工作中通常根据 CAS 号去除重复结构,但是部分结构 CAS 号不易查询,影响结构去重处理。在此尝试利用 InChI(International Chemical Identifier)、canonical SMILES(Simplified Molecular Input Line Entry System)处理去重,在对下图整理过程中,发现该方法还是有不足之处,导致有结构重复的情况发生。经过摸索、对比发现,先由 3D 结构转换为 InChI,再由 InChI 转为 canonical SMILES

会减少重复结构存在的几率。但是,在后续处理中发现利用 TCMSP 和 TCMIP 数据库直接下载的成分 3D 结构进行去重还是存在一些问题。由于数据库本身某个条目记录不准确导致结果的误判。比如 Coptisine,在 TCMIP 数据库中编号为 472,在 TCMSP 数据库中编号为 MOL001458,TCMIP 数据库中对 Coptisine 的氮原子进行了正电标注,而 TCMSP 数据库未对该氮原子进行电荷标注,导致在去重对比中对这 2 个文件转换后生成 2 个不同的 canonical SMILES。在对逍遥散的处理中,经逐个结构核对,暂未发现该结构检索方法对最终结果造成严重影响。

出现频次最高的 8 个结构整理数据库编号,以 Pymol (2.4.0a0 Open-Source) 做图如表 5 和图 10 所示,其中编号为 4、6 的成分未查询到 CAS 号。由结构图可见 8 个结构存在相似性,多为近似线状多环结构,且多含酚羟基。





ID 编号与表 5 中的 ID 编号相同  
The ID No. are same with ID No. in Table 5

图 10 与逍遥散成分对接能小于对照药的蛋白个数排序前 8 的结构 3D 图

Fig. 10 3D View of First 8 structures which have lower docking energy than contrast drug

以 21 个靶点名称、基因简称和糖尿病做关键词在搜索引擎中检索可知，RAC- $\alpha$  serine/threonine-protein kinase (AKT1) 是 AKT 相关 3 个激酶 (AKT1、AKT2、AKT3) 之一，作用于新陈代谢、增生等，与之相关的通路包括 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications 等。AKT 负责调节糖吸收。Albumin (ALB) 可以结合水、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$  等，主要作用是调整血胶质渗透压。可能含有 2 个钙结合位点，Asp-273 同时可以结合钙和锌，与糖尿病中的糖化有关。Androgen receptor (AR) 与 2 型糖尿病有关，甾醇类荷尔蒙受体是配体激活转录因子，调节真核细胞基因表达并影响细胞增殖和分化。Caspase-3 (CASP3) 与激活半胱氨酸相关的级联凋亡相关，与生物过程 response to glucose (葡萄糖响应) 相关。Cyclin-dependent kinase 2 (CDK2) 属于激酶，在 DNA 合成早期被周期素 E 激活，在 S 和 G<sub>2</sub> 阶段含量最高，对细胞分裂非常重要，在胰岛素分泌中表达较多<sup>[31]</sup>。Pro-epidermal growth factor (EGF) 刺激表皮、上皮组织生长，在组织修复中具有重要作用<sup>[32]</sup>。Estrogen receptor (ESR1) 是核荷尔蒙受体，ESR1 数量不足可能会导致胰岛抵抗<sup>[33]</sup>。Nahid Safari-Alighiarloo 等<sup>[34]</sup>的研究认为 1 型糖尿病和多发硬化与 Heat shock protein HSP 90-beta (HSP90AB1) 有关。部分研究认为 2 型糖尿病病人体内炎症因子 interleukin-6 (IL-6) 表达较高<sup>[35]</sup>。Transcription factor AP-1 (JUN) 的表达和糖尿病伤口愈合有关<sup>[36]</sup>。MAPK1/ERK2

和 MAPK3/ERK1 在 MAPK/ERK 级连中起着非常重要的作用，黄连汤剂通过强化 mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1) 表达治疗 2 型糖尿病<sup>[37]</sup>。Nitric oxide synthase, inducible (NOS2) 在糖尿病中极易受影响<sup>[38]</sup>。Attia 等<sup>[39]</sup>研究埃及糖尿病人的结果表明 Prostaglandin G/H synthase 1 (PTGS1) 等 7 个基因突变显著与糖尿病有关。Prostaglandin G/H synthase 2 (PTGS2) 和 2 型糖尿病发展病因有关<sup>[40]</sup>。Cellular tumor antigen p53 (TP53) 与 2 型糖尿病存在显著关系<sup>[41]</sup>。在糖尿病肾病中上调 Vascular endothelial growth factor A (VEGFA) 可以保持微血管不受伤害<sup>[42]</sup>。

Chen 等<sup>[38]</sup>认为诱导一氧化氮合成酶 (Inducible nitric oxide synthase, INOS, NOS2) 和内皮一氧化氮合成酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS, NOS3) 与 2 型糖尿病有关，在对 490 份中国糖尿病病人样本进行探究后，笔者认为 NOS2 rs2779248 和 NOS2 rs1137933 基因聚合态在杂合子对照、显性模型和等位基因对照中与高风险 2 型糖尿病显著相关。

根据 REACTOME 数据库中通路 R-HSA-202131 的记录，Nitric oxide (NO) 是多功能的第二信使，参与到哺乳动物的多个生理过程中，包括免疫反应、强化突触传递、扩张血管、放松肌肉。NO 是可以穿透细胞膜的高活性物质。它的信号载量取决于其生物合成水平，其合成控制复杂但稳定，在转录和翻译级别进行控制。NO 由一系列一氧化氮合成酶 (NOS) 控

制, 自 *L*-精氨酸合成而来。目前已经鉴定出 3 个 NOS 异构, 包括神经一氧化氮合成酶(nNOS, NOS1) 诱导、iNOS、eNOS。其中, iNOS 最初从巨噬细胞中分离得到, 后来在其他细胞中也发现了它的存在。这 3 个酶的活性取决于调钙蛋白(calmodulin), iNOS 在基因表达水平调控, 不断的释放 NO, 与细胞内钙含量无关。激活 eNOS 并释放 NO 的因素包括胰岛素等。

综上所述, 本研究检索、筛选出与糖尿病相关的潜在关键通路、分子功能、生物过程。筛选出 21 个与糖尿病相关程度比较高的靶点, 其中靶点 NOS2 与各成分结合能相对较低, 为糖尿病靶点选择和药物结构设计提供了思路。筛选出 8 个对糖尿病的 21 个潜在关键靶点作用比较强的逍遥散成分, 这些成分多具有酚羟基、醇羟基和酮基, 可以做进一步结构修饰。方剂中甘草 Degree 最大, 同时其 Closeness Centrality 很大, Average Shortest Path Length 很小, 说明其在方剂网络中可能起着非常重要的作用, 为逍遥散单味中药研究提供了思路。

#### 参考文献

- [1] 李 贻, 张鹏敏, 贺 君. 西药联合中药汤剂治疗糖尿病并发症的临床进展综述 [J]. 糖尿病新世界, 2020, 23(5): 196-198.
- [2] Association A D. 2. classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes: 2020 [J]. *Dia Care*, 2020, 43(Suppl1): S14-S31.
- [3] 罗 杰, 刘小波, 吕红君, 等. 逍遥散对抑郁大鼠的行为学及抗氧化作用的影响 [J]. 中成药, 2019, 41(12): 2869-2875.
- [4] 吕 梦, 王雅泽, 赵 迪, 等. 基于粪便代谢组学技术的逍遥散抗抑郁作用机制研究[J]. 中草药, 2020, 51(13): 3482-3492.
- [5] 曹旭焱, 张少强, 刘 岩. 逍遥散及其化裁方临床应用进展 [J]. 河南中医, 2019, 39(11): 1775-1778.
- [6] 丁华君. 逍遥散在 2 型糖尿病治疗中的应用及有效性探究 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(12): 41-42.
- [7] 陈 欢, 张铭珈, 倪 慧, 等. 逍遥散含药血清影响 RIN-m5f 细胞活性及胰岛素分泌的机制探讨 [J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(6): 647-652.
- [8] 刘加河, 洪冠宇, 纪春敏, 等. 逍遥散治疗糖尿病合并抑郁症的疗效观察 [J]. 糖尿病新世界, 2018, 21(10): 77-78, 81.
- [9] 刘 武, 丁 宁, 姜 赫, 等. 基于网络药理学探究真武汤治疗糖尿病肾病的作用机制 [J/OL]. 海南医学院学报, [2020-08-25]. <https://doi.org/10.13210/j.cnki.jhmu.20200710.005>.
- [10] Ru J L, Li P, Wang J N, *et al*. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminformatics*, 2014, 6(1): 1-6.
- [11] Xu H Y, Zhang Y Q, Liu Z M, *et al*. ETCM: An encyclopaedia of traditional Chinese medicine [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D976-D982.
- [12] O'Boyle N M. Towards a Universal SMILES representation - A standard method to generate canonical SMILES based on the InChI [J]. *J Cheminform*, 2012, 4: 22.
- [13] Wang J H, Zhao L F, Wang H F, *et al*. GenCLiP 3: Mining human genes' functions and regulatory networks from PubMed based on co-occurrences and natural language processing [J]. *Bioinformatics*, 2020, 36(6): 1973-1975.
- [14] Piñero J, Ramírez-Anguita J M, Saüch-Pitarch J, *et al*. The DisGeNET knowledge platform for disease genomics: 2019 update [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(D1): D845-D855.
- [15] Wishart D S, Feunang Y D, Guo A C, *et al*. DrugBank 5.0: A major update to the DrugBank database for 2018 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D1074-D1082.
- [16] Hamosh A, Scott A F, Amberger J S, *et al*. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), a knowledgebase of human genes and genetic disorders [J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(suppl\_1): D514-D517.
- [17] Wang Y X, Zhang S, Li F C, *et al*. Therapeutic target database 2020: Enriched resource for facilitating research and early development of targeted therapeutics [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(D1): D1031-D1041.
- [18] Shannon P, Markiel A, Ozier O, *et al*. Cytoscape: a software environment for integrated models of

- biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [19] Bindea G, Mlecnik B, Hackl H, *et al.* ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(8): 1091-1093.
- [20] Ashburner M, Ball C A, Blake J A, *et al.* Gene Ontology: Tool for the unification of biology [J]. *Nat Genet*, 2000, 25(1): 25-29.
- [21] Kanehisa M. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(1): 27-30.
- [22] Fabregat A, Jupe S, Matthews L, *et al.* The reactome pathway knowledgebase [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D649-D655.
- [23] DeLano W L. Pymol: An open-source molecular graphics tool [J]. *Newslett Protein Crystallogr*, 2002, 40: 1-8.
- [24] O'Boyle N M, Banck M, James C A, *et al.* Open Babel: An open chemical toolbox [J]. *J Cheminform*, 2011, 3(1): 1-14.
- [25] Trott O, Olson A J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. *J Comput Chem*, 2010, 31(2): 455-461.
- [26] Conway J R, Lex A, Gehlenborg N. UpSetR: An R package for the visualization of intersecting sets and their properties [J]. *bioRxiv*, 2017, doi: 10.1101/120600.
- [27] Urakov A L, Gurevich K G, Sorokina I A, *et al.* Metformin and vildagliptin combination: A new approach of endothelial nitric oxide synthase activity regulation and metabolism in diabetes mellitus type 2 [J]. *Rev Clin Pharm Drug Ther*, 2018, 16(2): 5-12.
- [28] Mishra V K, Kumar A. Curcumin induced cell death and inhibition of telomerase activity in mouse lymphoma P388D1 cells [J]. *Excli J*, 2009, doi: 10.17877/DE290R-575
- [29] AlDehaini D M B, Al-Bustan S A, Ali M E, *et al.* Shortening of the leucocytes' telomeres length in T2DM independent of age and telomerase activity [J]. *Acta Diabetol*, 2020, doi: 10.1007/s00592-020-01550-4.
- [30] Martins I J, Fernando W M A D B. High fibre diets and Alzheimer's disease [J]. *Food Nutr Sci*, 2014, 5(4): 410-424.
- [31] Boutchueng-Djidjou M, Belleau P, Bilodeau N, *et al.* A type 2 diabetes disease module with a high collective influence for Cdk2 and PTPLAD1 is localized in endosomes [J]. *PLoS One*, 2018, 13(10): e0205180.
- [32] Choi S M, Lee K M, Kim H J, *et al.* Effects of structurally stabilized EGF and bFGF on wound healing in type I and type II diabetic mice [J]. *Acta Biomater*, 2018, 66: 325-334.
- [33] Yang J J, Han R F, Chen M Y, *et al.* Associations of estrogen receptor alpha gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis [J]. *Horm Metab Res*, 2018, 50(6): 469-477.
- [34] Safari-Alighiarloo N, Taghizadeh M, Mohammad Tabatabaei S, *et al.* Identification of common key genes and pathways between type 1 diabetes and multiple sclerosis using transcriptome and interactome analysis [J]. *Endocrine*, 2020, 68(1): 81-92.
- [35] Rodrigues K F, Pietrani N T, Bosco A A, *et al.* IL-6, TNF- $\alpha$ , and IL-10 levels/polymorphisms and their association with type 2 diabetes mellitus and obesity in Brazilian individuals [J]. *Arch Endocrinol Metab*, 2017, 61(5): 438-446.
- [36] Tombulturk F K, Soydas T, Sarac E Y, *et al.* Regulation of MMP 2 and MMP 9 expressions modulated by AP-1 (c-Jun) in wound healing: Improving role of *Lucilia sericata* in diabetic rats [J]. *Acta Diabetol*, 2019, 56(2): 177-186.
- [37] Pan L L, Li Z Z, Wang Y F, *et al.* Network pharmacology and metabolomics study on the intervention of traditional Chinese medicine Huanglian Decoction in rats with type 2 diabetes mellitus [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 258: 112842.
- [38] Chen F, Li Y M, Yang L Q, *et al.* Association of NOS2 and NOS3 gene polymorphisms with susceptibility to type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy in the Chinese Han population [J]. *IUBMB Life*, 2016, 68(7):

- 516-525.
- [39] Attia H R M, Kamel S A, Ibrahim M H, *et al.* Open-array analysis of genetic variants in Egyptian patients with type 2 diabetes and obesity [J]. *Egypt J Med Hum Genet*, 2017, 18(4): 341-348.
- [40] Konheim Y L, Wolford J K. Association of a promoter variant in the inducible cyclooxygenase-2 gene (PTGS2) with type 2 diabetes mellitus in Pima Indians [J]. *Hum Genet*, 2003, 113(5): 377-381.
- [41] Qu L L, He B S, Pan Y Q, *et al.* Association between polymorphisms in RAPGEF1, TP53, NRF1 and type 2 diabetes in Chinese Han population [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 91(2): 171-176.
- [42] Sivaskandarajah G A, Jeansson M, Maezawa Y, *et al.* Vegfa protects the glomerular microvasculature in diabetes [J]. *Diabetes*, 2012, 61(11): 2958-2966.