

苍术-玄参药对治疗 2 型糖尿病作用机制的网络药理学研究

田会东, 郭丽娜, 贾明璐, 陈雪平, 王单单, 王 瑞*

漯河市中心医院, 河南 漯河 462000

摘要:目的 采用网络药理学方法研究苍术-玄参药对治疗 2 型糖尿病的作用机制。方法 通过检索中药系统药理数据分析平台 (TCMSP), 把口服利用度 (OB) $\geq 20\%$, 类药性 (DL) ≥ 0.1 作为筛选条件, 获得苍术、玄参主要活性成分和相关作用靶点。通过 UniProt 数据库提取作用靶点的基因名称, 并用 CTD 网络在线分析平台获得与 2 型糖尿病相关的作用靶点, 构建活性成分靶点相互作用的网络图和疾病靶点相互作用网络图。利用 Cytoscape 3.6.1 软件中的 Merge 功能进行网络合并, 筛选交集网络, 进一步进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。结果 筛选得到 27 个活性分子, 18 个作用于 2 型糖尿病的靶点, KEGG 富集通路 37 条, 关键靶点包括胰岛素 (INS)、一氧化氮合酶 3 (NOS3)、肿瘤坏死因子 (TNF) 等, 关键通路包括长寿调节通路、胰岛素分泌、脂肪细胞因子信号通路、缺氧诱导因子-1 (HIF-1) 信号通路、视黄酸诱导基因蛋白 I (RIG-I) 样受体信号通路、晚期糖基化终末产物 (AGE) 及其受体 (RAGE) 的 AGE-RAGE 信号通路等。结论 苍术-玄参药对中的活性成分能通过多靶点、多通路起到治疗 2 型糖尿病的作用, 为苍术-玄参药对的进一步开发提供了科学依据。

关键词: 苍术; 玄参; 2 型糖尿病; 作用机制; 网络药理学

中图分类号: R969 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2019)05-1274-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.05.002

Network pharmacology study on action mechanism of *Atractylodis Rhizoma* - *Scrophulariae Rhizoma* drug pair in treatment of type 2 diabetes mellitus

TIAN Hui-dong, GUO Li-na, JIA Ming-lu, CHEN Xue-ping, WANG Dan-dan, WANG Rui

Luohe Central Hospital, Luohe 462000, China

Abstract: Objective To explore the action mechanism of *Atractylodis Rhizoma* - *Scrophulariae Rhizoma* drug pair in treatment of type 2 diabetes mellitus using network pharmacology. **Methods** All the chemical components related to *Atractylodis Rhizoma* - *Scrophulariae Rhizoma* from TCMSP database were searched. The oral bioavailability (OB) $\geq 20\%$ and drug likeness (DL) ≥ 0.1 were used as the screening conditions for molecular compounds. The gene names of the targets were extracted from Uniprot database. The CTD analysis platform online was retrieved for the genes associated with type 2 diabetes mellitus, and then the component target PPI network and the disease target were mapped using the Cytoscape software. The Cytoscape 3.6.1 software was used to merge the network and filter the intersection network, and further analyze the gene GO function and the KEGG pathway enrichment. **Results** A total of 27 kinds of effective compounds, 18 target proteins, and 37 enrichment pathways were selected. Key target included INS, NOS3, and TNF etc. Regulation included longevity regulating pathway, insulin secretion, adipocytokine signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, RIG-I signaling pathway, and AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications, etc. **Conclusion** *Atractylodis Rhizoma* - *Scrophulariae Rhizoma* drug pair and its active ingredients play therapeutic effect of type 2 diabetes mellitus through various target and multiple pathway, which provides the scientific basis for the development of *Atractylodis Rhizoma* - *Scrophulariae Rhizoma* drug pair.

Key words: network pharmacology; *Atractylodis Rhizoma*; *Scrophulariae Rhizoma*; type 2 diabetes mellitus; mechanism

糖尿病是以糖代谢紊乱为主的一类常见内分泌性代谢疾病, 在传统中医上属于消渴症范畴, 其病机主要是阴津亏耗、燥热偏盛^[1]。苍术-玄参药对来源于《施今墨对药》^[2], 苍术化脾家之湿, 兼雄

收稿日期: 2018-12-26

作者简介: 田会东 (1987—), 药师, 本科, 研究方向为药理学。

*通信作者 王 瑞 (1974—), 主任药师, 硕士, 研究方向为中药制剂。E-mail: yaoxuebu116@163.com

壮之气而鼓动脾气升生；玄参撤胃家之热，兼苦成之性而降泻阳明之浊，两者互相配伍，恢复脾胃气机的升降，共奏滋阴清热、健脾滋肾之功，临床上用于治疗糖尿病^[3]。中药及其方剂具有多成分、多靶点、多途径、多层次整合协同产生功效等特点^[4]，目前苍术-玄参药对治疗糖尿病的作用机制尚不完全清楚。网络药理学是目前一种新的研究药物作用机制的方法，广泛应用于中药复方的研究，为中药作用机制的研究开辟了新的思路^[5]。因此，本研究采用网络药理学方法，对苍术-玄参药对主要活性物质、作用靶点及信号通路对其治疗2型糖尿病的作用机制进行研究，希望为苍术-玄参药对的进一步开发应用提供参考依据，同时也为2型糖尿病的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 筛选活性成分及相应靶点

分别以苍术、玄参为关键词，从中药系统药理学分析平台（TCMSP）（<http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>）中获取所有化学成分。把口服生物利用度（OB） $\geq 20\%$ 和类药性（DL） ≥ 0.1 作为筛选条件，从而得到活性成分。其中OB和DL是筛选活性成分的重要指标，OB、DL值越高，表明其越有可能被开发成临床药物。活性成分的作用靶点从TCMSP数据库中获得，把靶点名称输入UniProt数据库（<https://www.uniprot.org/>），获得其相应靶点的人源的靶点基因名称。

1.2 构建活性成分-靶点蛋白网络

将苍术-玄参药对筛选出的活性成分和UniProt数据库获得的人源靶点输入Cytoscape 3.6.1软件，运用Network Analyzer插件分析构建活性成分-靶点蛋白的网络图。

1.3 构建疾病相关靶点PPI网络

运用CTD（[tp://ctdbase.org/](http://ctdbase.org/)）数据库，以“diabetes mellitus type 2”“type 2 diabetes”为关键词，检索与2型糖尿病相关的靶点基因，导出证据来源可靠的靶点基因。将导出的靶点基因输入STRING在线分析平台（<https://string-db.org/>），构建与2型糖尿病相关的靶点的PPI网络图。

1.4 构建活性成分相关靶点PPI网络

从UniProt数据库获得的成分相关靶点基因输入STRING在线分析平台构建活性成分靶点的PPI网络图。

1.5 网络合并

运用Cytoscape 3.6.1软件中的Merge功能将药

对活性成分靶点PPI网络图和疾病相关靶点PPI网络图合并，观察是否有交集网络。有交集的蛋白靶点可能是苍术-玄参药对治疗2型糖尿病的关键靶点。

1.6 通路富集分析

运用Cytoscape 3.6.1软件中的Clue Go插件功能，将有交集的作用靶点输入软件中作图，进行KEGG网络富集分析，进一步阐明靶点蛋白在信号通路中的作用。

2 结果

2.1 主要活性成分的筛选

本试验通过TCMSP平台共检索出96个化学成分，其中苍术49个，玄参47个。以OB $\geq 20\%$ 和DL ≥ 0.1 作为筛选条件获得41个化合物，剔除未找到作用靶点的成分，最终共得到活性化合物27个，其中苍术18个，玄参9个，见表1。通过数据分析发现：玄参中化合物玄参苷，分子编号MOL007662在27个化合物中具有较高的OB值（122.87%）。同时还发现一些化合物虽然OB值较低但具有很高的度值，因此具有重要作用，如 β -谷甾醇、汉黄芩素等。

2.2 活性成分-靶点网络图的构建

从UniProt数据库得到人源靶点基因共120个，将活性成分与作用靶点通过Cytoscape 3.6.1构建网络图，见图1。图1中包含147个节点（27个活性成分和120个相关靶点）和239条线。结果显示十八烯酸、汉黄芩素、 β -谷甾醇和3 β -乙酰氧基苍术酮等化合物和孕激素受体（PGR）、 γ -氨基丁酸受体 $\alpha 1$ 亚型（GABRA1）、前列腺素G/H合成酶2（PTGS2）、乙酰胆碱M3受体（CHRM3）等靶点蛋白在网络图中具有枢纽作用，可能是关键的活性成分和靶点蛋白。这也充分说明了苍术-玄参药对是以多成分、多靶点协同作用的特点。

2.3 疾病相关靶点PPI网络的构建

在CTD数据库检索到与2型糖尿病相关的靶点有26710个，其中证据来源可靠的靶点有211个，将其输入STRING在线分析平台，为保证信息的高置信度、预测效果最佳，本试验将置信度评分设置最高（大于0.9），同时剔除独立于网络之外的靶蛋白，从而构建2型糖尿病相关靶点的PPI网络，见图2。

2.4 成分相关靶点PPI网络的构建

从UniProt数据库共获得的成分相关靶点120个，输入STRING在线分析平台，按2.3项下设置构建化合物靶点的PPI网络图，见图3。

表 1 苍术 - 玄参药对中的活性成分

Table 1 Active ingredients from *Atractylodis Rhizoma - Scrophulariae Rhizoma* drug pair

TCMSP 编号	化合物名称	OB/%	DL	度值	药物
MOL000173	汉黄芩素	30.68	0.23	41	苍术
MOL000175	香附烯	51.10	0.11	4	苍术
MOL000043	白术内酯 I	37.37	0.15	8	苍术
MOL000178	白术内酯 III	31.66	0.17	4	苍术
MOL000180	白术内酯 II	46.20	0.15	2	苍术
MOL000184	5β-豆甾-22-烯-3-酮	39.25	0.76	1	苍术
MOL000185	豆甾醇-3-氧-β-D-葡萄糖苷	21.32	0.63	2	苍术
MOL000188	3β-乙酰氧基苍术酮	40.57	0.22	21	苍术
MOL000190	3,5-二甲氧基-4-葡萄糖氧基苯基烯丙醇	29.00	0.32	12	苍术
MOL000194	广藿香烯	51.71	0.11	7	苍术
MOL000044	白术内酯 II (同分异构体)	47.50	0.15	5	苍术
MOL000084	β-胡萝卜苷	20.63	0.63	1	苍术
MOL000085	β-胡萝卜苷元	36.91	0.75	1	苍术
MOL000086	(24S)-5β-豆甾烷-3β-醇	25.32	0.75	1	苍术
MOL000087	β-谷甾醇 3-O-葡萄糖苷	20.63	0.62	1	苍术
MOL000091	胡萝卜苷	20.63	0.63	1	苍术
MOL000093	胡萝卜苷 (空间异构体)	20.63	0.63	1	苍术
MOL000095	δ7-豆甾醇	25.32	0.75	1	苍术
MOL002222	柳杉酚	36.11	0.28	10	玄参
MOL002820	梓醇	44.69	0.10	4	玄参
MOL000357	西托糖苷	20.63	0.62	16	玄参
MOL000358	β-谷甾醇	36.91	0.75	34	玄参
MOL000359	谷甾醇	36.91	0.75	3	玄参
MOL000675	十八烯酸	33.13	0.14	44	玄参
MOL007658	14-去氧-12(R)-磺酸基穿心莲内酯	62.57	0.42	1	玄参
MOL007662	玄参苷	122.87	0.32	7	玄参
MOL007670	6-O-甲基梓醇	60.28	0.11	6	玄参

2.5 合并网络

运用 Cytoscape 3.6.1 软件中的 Merge 功能将药对活性成分靶点 PPI 网络图和疾病相关靶点 PPI 网络图合并, 获得交集靶点 PPI 网络图, 见图 4。共有 18 个节点, 96 条线。度值较高的靶点有 INS(17)、NOS3 (15)、TNF (14) 等, 见表 2, 表明苍术 - 玄参药对作用于这 18 个靶点而发挥作用, 而这 18 个靶点又是相互作用协同起到治疗 2 型糖尿病的作用。

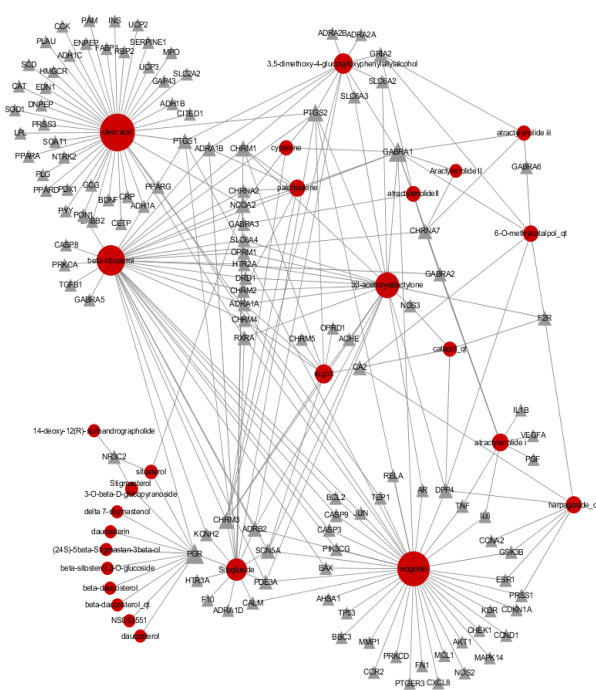


图 1 活性成分 - 靶点网络图

Fig. 1 Network model of active ingredient-target

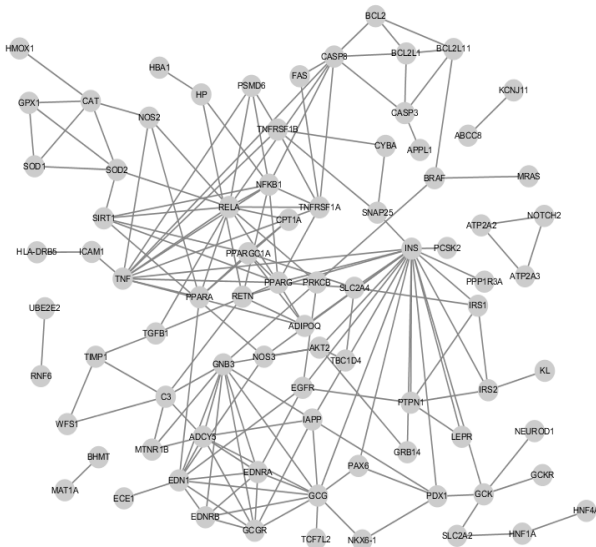
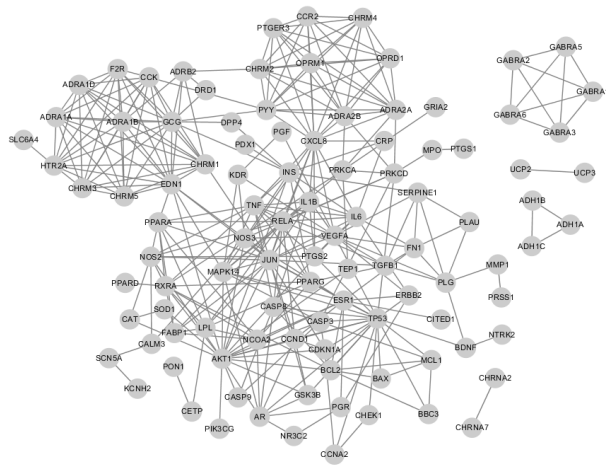


图 2 疾病靶点的 PPI 网络

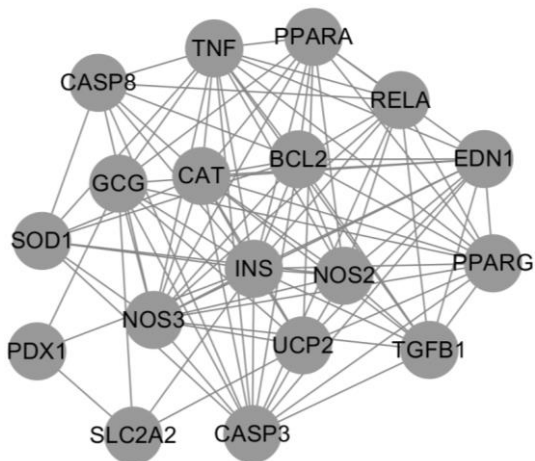
Fig. 2 PPI network for disease targeting



圆形代表化合物靶点，线代表靶点之间的相互作用关系
the circles represent disease targets, the lines represent the interaction between the targets

图 3 化合物靶点的 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of component targets



圆形代表靶点，线代表靶点之间的相互作用关系
the circles represent targets, the lines represent the interaction between the targets

图 4 交集靶点 PPI 网络

Fig. 4 PPI network of Intersection targets

2.6 KEGG 通路富集

运用 Cytoscape 3.6.1 软件中的 Clue Go 插件功能对交集靶点基因进行 KEGG 通路富集分析。在通路富集分析中发现，该 18 个靶点主要富集在 37 条信号通路上，见图 5。不同的颜色代表不同的类型，可分为 6 个类型，这些通路主要包括长寿调节通路、胰岛素分泌、脂肪细胞因子信号通路、缺氧诱导因子-1 (HIF-1) 信号通路、视黄酸诱导基因蛋白 I (RIG-I) 样受体信号通路、晚期糖基化终末产物

表 2 交集靶点

Table 2 Intersection targets

Uniprot ID	基因	靶点名称
P52945	PDX1	胰十二指肠同源异型基因 1
P11168	SLC2A2	促葡萄糖转运蛋白 2
P55851	UCP2	线粒体解偶联蛋白 2
O15519	CASP8	半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 8
P00441	SOD1	超氧化物歧化酶 1
Q04206	RELA	转录因子 p65
P01275	GCG	胰高血糖素
P01137	TGFB1	转化生长因子 β1
Q07869	PPARA	过氧化物酶体增殖物激活受体 α
P35228	NOS2	一氧化氮合酶 2
P05305	EDN1	内皮素-1
P37231	PPARG	过氧化物酶体增殖物激活受体 γ
P42574	CASP3	半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3
P04040	CAT	过氧化氢酶
P10415	BCL2	凋亡调节因子 Bcl-2
P01375	TNF	肿瘤坏死因子
P29474	NOS3	一氧化氮合酶 3
P01308	INS	胰岛素



图 5 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis

(AGE) 及其受体 (RAGE) 的 AGE-RAGE 信号通路等。这些通路之间相互影响，介导疾病的炎症反应、信号转导等过程，影响细胞的增殖、分化、代谢等多种生物学功能。

3 讨论

中医中药在预防糖尿病方面的优势已逐渐显现，中医药有相对完备的理论基础，效果可靠并且

不良作用较少, 中医药能有效降低糖尿病的发病率已逐步得到验证^[6]。现代医学研究表明 2 型糖尿病的发病机制主要是胰岛细胞功能缺陷和胰岛素抵抗^[7], 胰岛 B 细胞功能失调导致胰岛素分泌不足是疾病的核心^[8]。

本研究采用网络药理学的方法初步探讨了苍术 - 玄参药对的主要活性成分、作用于 2 型糖尿病的靶点、相关生物信号通路。通过 TCMSP 数据库共发现化学成分 96 个, 进一步筛选获得主要活性成分 27 个。通过构建靶点 PPI 网络图, 合并网络, 共得到与 2 型糖尿病相关的靶点 18 个, 研究表明胰十二指肠同源框因子-1 (PDX-1) 主要通过激活 INS 和其他参与葡萄糖传感和新陈代谢的重要因子, 保护胰岛 B 细胞功能^[9]。据陈秀芳等^[10]研究报道, 糖尿病长期高糖状态可导致胰腺组织中 SOD、CAT 活性降低, ROS 生成增多, 从而上调线粒体内 UCP2 的表达。通过 KEGG 通路富集得到信号通路 37 条, 主要包括长寿调节通路、胰岛素分泌、脂肪细胞因子信号通路、HIF-1 信号通路、RIG-I 样受体信号通路、AGE-RAGE 信号通路等, 可以把这些信号通路作为苍术 - 玄参药对作用于 2 型糖尿病的信号通路深入研究其作用机制。另外, 本次通路富集还富集了百日咳、弓形虫病、阿米巴病、乙型肝炎和小细胞肺癌等疾病的多条信号通路, 表明生物体内疾病之间的作用机制是相互作用、相互影响的。

综上所述, 本研究采用网络药理学的方法对苍术 - 玄参药对治疗 2 型糖尿病的复杂机制进行了探

究, 体现了中药复方多成分、多靶点、多通路的特点, 为进一步深入探讨作用机制奠定了基础, 同时也为中药复方治疗 2 型糖尿病的物质基础和作用机制提供了借鉴。

参考文献

- [1] 孙琳. 糖尿病并发症研究进展 [J]. 中国民康医学, 2012, 24(2): 228.
- [2] 吕景山. 施今墨对药 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1996: 107-108.
- [3] 李智, 齐铮. 从施今墨药对浅析消渴病病机 [J]. 北京中医药, 2012, 31(1): 28-29.
- [4] 陈娟, 顾俊菲, 汪春飞, 等. 组分结构中药与网络药理学: 病理机制网络的系统整体调控 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(4): 758-764.
- [5] Hopkins A L. Network pharmacology [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(10): 1110-1111.
- [6] 赵洪彪, 陈清光, 顾逸梦, 等. 糖尿病前期干预研究进展 [J]. 中国医药科学, 2013, 3(9): 39-43.
- [7] Chan J C, Zhang Y, Ning G. Diabetes in China: a societal solution for a personal challenge [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2014, 2(12): 969-979.
- [8] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2010 年版) [J]. 中国糖尿病杂志, 2012, 20(1): 54-109.
- [9] 谭英姿, 李俊燕, 陶枫, 等. 胰十二指肠同源异型盒基因-1 多态性与 2 型糖尿病的相关性 [J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(24): 6136-6138.
- [10] 陈秀芳, 雷康福, 董敏, 等. 葛根素对 2 型糖尿病大鼠胰腺 β 细胞损伤的影响 [J]. 温州医科大学学报, 2017, 47(12): 859-863.