

基于整合用药及靶点网络探讨中药治疗2型糖尿病合并高脂血症的核心处方及作用机制

张笑涵^{1,2}, 刘乃需³, 钦 扬⁴, 刘奕呈⁵, 谢雁鸣², 杜 柏^{1*}, 刘 毅^{2*}

1. 中国中医科学院广安门医院, 心血管科, 北京 100053

2. 中国中医科学院 临床基础医学研究所, 北京 100700

3. 南京中医药大学 第一临床医学院, 江苏 南京 210023

4. 山西中医药大学 第一临床学院, 山西 晋中 030002

5. 中国中医科学院西苑医院 心血管科, 北京 100091

摘要: 目的 基于整合用药网络及靶点网络, 筛选中医药治疗2型糖尿病合并高脂血症的核心处方及药对, 并探讨潜在的分子作用机制。方法 以中国学术期刊全文数据库(CNKI)、万方数据库(Wanfang Data)、维普生物医学数据库(VIP)及Web of Science、PubMed中英文数据库为数据来源, 结合古今医案云平台、R Studio Apriori关联规则函数进行数据挖掘, 得到治疗2型糖尿病合并高脂血症的核心处方。通过TCMSP、UniProt、Swiss Target Prediction等数据库得到核心处方药物有效成分及潜在靶点, 利用Cytoscape 3.8.1构建中药复方的药物-成分-靶点网络; 与OMIM、Therapeutic Target Database、DrugBank等数据库得到的疾病靶点取交集, 构建2型糖尿病合并高脂血症核心靶点蛋白质相互作用(PPI)网络。将核心靶点导入Metascape数据库进行基因本体(GO)注释及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析; 并将处方的核心成分及2型糖尿病合并高脂血症的关键靶点逐一进行分子对接以初步验证其有效性。结果 由文献检索共得到中医药治疗糖尿病合并高脂血症经验方256首, 涉及组成中药236味。综合数据挖掘结果得到核心处方, 包括丹参、黄芪、茯苓、泽泻、山药、山楂、白术、葛根; 高频药对有“山楂-丹参”“葛根-黄芪”等。经过数据库综合筛选, 得到核心处方中有效活性成分132个。其中芹黄素、木犀草素、异鼠李素、丹参新醌甲、熊竹素为核心活性成分, 核心处方治疗的核心靶点为类视黄醇X受体、细胞肿瘤抗原p53、RELA原癌基因、丝氨酸蛋白激酶磷酸、热休克蛋白 α 等。主要通路包括脂质与动脉粥样硬化通路、化学致癌-受体激活、胰岛素抵抗、PPAR信号通路及胆汁分泌。经分子对接论证, 预测的核心靶点与关键成分之间有较强的结合活性。结论 中药治疗2型糖尿病合并高脂血症的核心处方组合可通过多活性成分, 于多靶点、多通路调控, 可为临床应用及药物开发提供参考思路。

关键词: 2型糖尿病; 高脂血症; 数据挖掘; 网络药理学; 分子对接; 黄芪; 丹参; 葛根; 山药; 泽泻; 山楂; 茯苓; 白术; 芹黄素; 木犀草素; 异鼠李素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)11-2309-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.11.004

Research of prescription rules and mechanism of traditional Chinese medicine in treatment of type 2 diabetes with hyperlipidemia based on medication and target network

ZHANG Xiaohan^{1,2}, LIU Naixu³, QIN Yang⁴, LIU Yicheng⁵, XIE Yanming², DU Bai¹, LIU Yi²

1. Department of Cardiovascular Diseases, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

2. Institute of Clinical Basic Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

3. The First Clinical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

收稿日期: 2023-06-24

基金项目: 国家中医药管理局2021岐黄学者支持项目(国家中医药人教函[2022]6); 谢雁鸣全国名老中医药专家传承工作室建设项目(国家中医药人教函[2022]75)

第一作者: 张笑涵(1999—), 女, 硕士研究生在读, 主要从事中医药防治心血管病研究。E-mail: HannAah_z@163.com

*共同通信作者: 杜 柏(1978—), 男, 博士, 主要从事中医药防治心血管病研究。E-mail: dubaidubai@sina.com

刘 毅(1993—), 男, 博士研究生在读, 研究方向中药上市后再评价方法学。E-mail: 709473245@qq.com

4. The First Clinical College, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030002, China

5. Department of Cardiovascular Diseases, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China

Abstract: Objective To obtain the core prescription and herb pairs of Chinese medicine in the treatment of type 2 diabetes mellitus with hyperlipidemia, by using data mining, network pharmacology, and molecular docking technology, which further helps explore the potential molecular mechanism. **Method** This research was built on the retrieval from database like CNKI, Wanfang, VIP, Web of Science and PubMed. Data mining, operated on R Studio, provided the foundation of the core prescription. Then the active ingredients and potential targets were collected from TCMSP, UniProt, and Swiss Target Prediction databases and disease targets from OMIM, Therapeutic Target Database. The network of the ingredient-target of the compound and protein-protein interaction (PPI) of intersection targets between disease and ingredients were constituted via Cytoscape 3.8.1. The core targets extracted from the PPI network were imported into the Metascape website to perform gene ontology (GO) function annotation and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. In the end, the core ingredients and targets were verified by molecular docking seriatim. **Results** 256 prescriptions consisting of 236 herbs were founded in total. Based on data mining, the core prescription of eight Chinese materia medica (*Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, *Astragali Radix*, *Poria*, *Alismatis Rhizoma*, *Dioscoreae Rhizoma*, *Crataegi Fructus*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, *Puerariae Lobatae Radix*) and herb pairs such as the combination of *Crataegi Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* and *Puerariae Lobatae Radix-Astragali Radix* were acquired. Through comprehensive screening, 132 active ingredients (i.e., apigenin, luteolin, isorhamnetin, dan-shexinkum A, etc.) and 878 potential targets (i.e., RXR α , TP53, AKT1, CAV1, etc.) were got. The main signal paths include Lipid and atherosclerosis, Chemical carcinogenesis- receptor activation, Insulin resistance, PPAR signalling pathway, etc. The molecular docking results indicated the ideal affinity between the core ingredients and targets. **Conclusion** The core prescription combination of traditional Chinese medicine for treating type 2 diabetes with hyperlipidemia can be regulated by multiple active ingredients at multiple targets and pathways, which can provide reference ideas for clinical application and drug development.

Key words: type 2 diabetes; hyperlipidemia; data mining; network pharmacology; molecular docking; pharmacological mechanism; *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*; *Astragali Radix*; *Poria*; *Alismatis Rhizoma*; *Dioscoreae Rhizoma*; *Crataegi Fructus*; *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*; *Puerariae Lobatae Radix*; apigenin; luteolin; isorhamnetin

2型糖尿病是一种慢性进展性代谢性疾病, 据国际糖尿病联合会预测, 2045年全球患病群体将达7亿以上, 并逐渐呈现年轻化的趋势^[1]。据统计, 我国2型糖尿病患者中合并高脂血症的发病率超过60%, 合病将导致心血管病风险增加8倍以上^[2-3]。《国家基层糖尿病防治管理指南》(2022版)中明确提出: 在2型糖尿病的诊疗过程中应重视未病先防, 对常见的可干预危险因素如血脂代谢紊乱, 应尽早结合中医辨证等综合干预治疗, 有助于预防和延缓并发症^[4]。2型糖尿病在中医学中属“消渴”范畴, 高脂血症无对应病名, 大致属“脂浊”。中医药治疗2型糖尿病合并高脂血症具有广泛的优势, 目前研究领域主要为治疗该病的随机对照试验或临床观察性研究的报道, 缺少针对临床有效经验的总结性研究及机制探讨。因此, 本研究从探讨多靶点、多通路联合调控的角度出发, 对临床方药进行数据挖掘及网络药理学研究, 为中医药治疗2型糖尿病合并高脂血症提供理论依据及临床思路。

1 资料与方法

1.1 文献来源

本研究纳入的文献主要来源于中国学术期刊全文数据库(CNKI)、万方数据库(Wanfang Data)、维普生物医学数据库(VIP)及Web of Science、PubMed中英文数据库, 检索年限为各数据库建库至2022年10月8日。检索主题词分别为“2型糖尿病”“高脂血症”“消渴”“中医药”“中药”“方剂”“type 2 diabetes”“hyperlipidemia”“Chinese medicine”“prescription”“decoction”, 限定文献类型为临床试验研究(并不限制于随机对照研究), 名中医经验、医案、验案等。

1.2 文献纳入标准

①治疗适应证明确诊断为糖尿病合并高脂血症, 无其他合并症; ②有完整、明确的方药组成或加减; ③临床疗效有统计学意义或疗效满意的经验方。

1.3 文献排除标准

①排除重复文献及方药; ②排除指南、共识、动物实验、系统评价及综述类文章; ③排除记载中成

药制剂、针灸疗法、穴位贴敷等治疗手段的相关文献。

1.4 文献筛选及建立数据库

由2名独立的审查者进行文献筛选及查重以避免选择偏倚,由第3人浏览并根据纳排标准,最终确定纳入文献175篇。文献中所载中药、方剂、中医证候及证型等均记录于Excel中,参考《中国药典》2020年版和《中华本草》对所记载的中药名进行标准化^[5-6]。

1.5 数据挖掘

利用R Studio对纳入的256首方剂进行描述性统计分析,获得高频药物,使用Apriori函数对236味中药进行关联规则分析,并获取关联规则图;以《中国药典》2020年版为标准,综合分析药物的四气五味、归经^[5-6];利用古今医案云平台网站对药物进行系统聚类、用药网络分析。综合药物频率、关联规则、用药网络及聚类分析结果,得出中药治疗2型糖尿病合并高脂血症的核心处方及药对。

1.6 用药网络分析

在中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)中筛选出核心处方的有效成分,并获取相应的靶点;于Swiss Target Prediction数据库(物种限定为智人)寻找核心处方的有效成分相应靶点,与两者并集并去重,再经蛋白质分析数据库(universal protein, UniProt)匹配并规范靶点的基因名称(物种限定为智人)。通过Cytoscape 3.8.1软件,构建“复方-有效活性成分-靶点网络图”。在Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)、Therapeutic Target Database (TTD)、Gene Cards等数据库中,以“type 2 diabetes with hyperlipidemia”为检索词,获取疾病交集靶点并去重。通过Excel软件获取药物和疾病的交集靶点,基于STRING平台构建蛋白质相互作用(PPI)网络后,导入Cytoscape 3.8.1,经过筛选获取核心靶点。进行拓扑分析后得

到疾病及有效成分的关键靶点。使用Metascape平台进行基因本体(GO)注释分析及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,并绘制高频药物治疗2型糖尿病合并高脂血症核心靶点的信号通路气泡图。

1.7 分子对接

将大分子受体(疾病的关键靶点)与配体(关键有效成分)进行分子对接。通过Zinc(<https://zinc.docking.org/>)数据库获取配体的3D结构,蛋白质结构数据库(Protein Data Bank, PDB, <http://www.rcsb.org/>)获取受体3D结构。用PyMol软件对其进行预处理后,借助Autodock Vina对配体及受体逐一进行分子对接,并统计各组对接结合能。用PyMol对结合活性前4位的结果进行可视化绘图,并通过R Studio构建配体与受体间结合能的热图。

2 结果

2.1 数据挖掘

2.1.1 药物使用频次、频率分析 本研究共筛选文献175篇,其中录入256首方剂,包含236味中药。通过R Studio进行高频药物统计,用药频次前15位的中药见表1。

2.1.2 药物关联规则分析 利用R Studio对236味中药进行关联规则分析,可表示为“前项药物→后项药物”。设置支持度(前后项药物在所有处方中同时出现的概率)>15%,置信度(前项出现时后项药物出现的概率)>60%为筛选条件,根据提升度对关联结果进行排序,提升度>1表明前后项药物之间的关联有效^[7],具体结果见表2及图1。由关联分析可得核心药对为丹参-山楂(提升度最高),山药-黄芪(置信度最高),地黄-黄芪(支持度及同现频率最高)等。

2.1.3 药物性味、归经分析 对纳入的236味中药进行药物性味、归经统计,具体如图2所示。其中四气分布中,以性寒药最多见(80, 33.9%),次为温性药(77, 30.1%);五味分布中则以甘味药(127,

表1 高频药物频次与频率(前15位)

Table 1 Occurrence and frequency of high frequency-herbs (top 15)

序号	药名	频次	频率/%	序号	药名	频次	频率/%	序号	药名	频次	频率/%
1	黄芪	142	55.5	6	茯苓	84	32.8	11	川芎	56	21.9
2	丹参	127	49.6	7	山药	83	32.4	12	党参	48	18.8
3	葛根	104	40.6	8	地黄	74	28.9	13	桃仁	47	18.4
4	泽泻	100	39.1	9	白术	63	24.6	14	当归	42	16.4
5	山楂	86	33.6	10	黄连	59	23.0	15	苍术	41	16.0

表2 提升度前10位药物同现频次关联分析

Table 2 Correlation of top 10 herbs with high cooccurrence

序号	频繁集	支持度/%	置信度/%	提升度/%	同现频次
1	丹参→山楂	19.6	72.5	222.6	50
2	葛根→黄芪	19.6	69.4	170.3	50
3	山药→黄芪	19.6	94.3	169.4	50
4	山楂→黄芪	20.8	63.9	156.6	53
5	葛根、黄芪→山药	28.2	86.7	155.8	72
6	葛根、山药→黄芪	22.0	65.1	130.7	56
7	黄芪、山药→葛根	27.1	66.3	119.1	69
8	丹参→黄芪	19.2	66.2	118.9	49
9	山药→葛根	21.6	64.0	114.8	55
10	地黄→黄芪	30.2	60.6	108.9	77

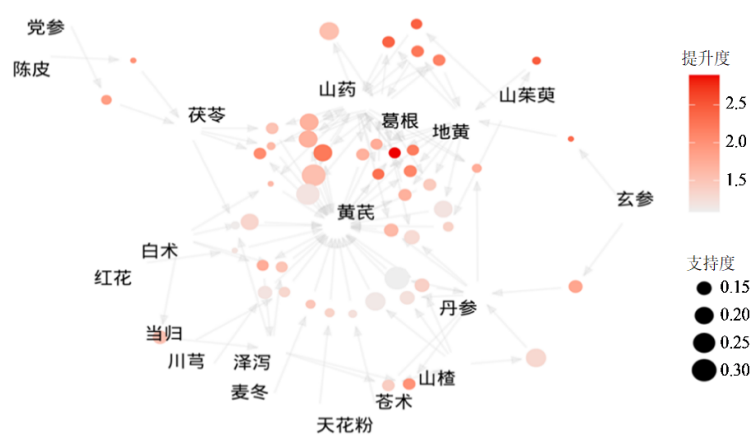


图1 中药治疗2型糖尿病合并高脂血症关联规则网络

Fig. 1 Correlation network of Chinese medicine in treatment of T2DM with hyperlipidemia

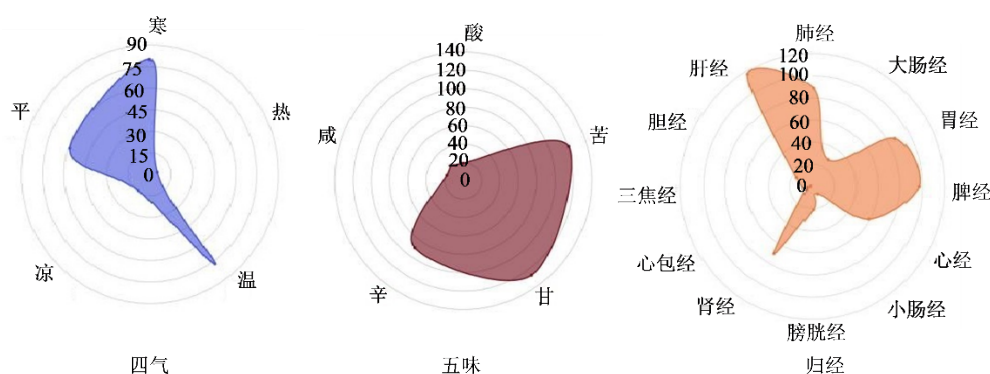


图2 纳入药物性味归经雷达图

Fig. 2 Radar map of characteristic of included herbs

49.6%)最多见, 次为苦味药(121, 30.1%)。归经分布中, 以肝经药归属最多(127, 47.9%), 其次是脾经药(97, 36.6%)。

2.1.4 聚类分析 基于古今医案云平台网站, 对高频药物前20味药物进行系统聚类, 选择欧氏距离类

型及最长距离法进行聚类, 得到如图3所示的聚类分析结果。该方法共将高频药物分为4类。可将其分别概括为第1类: 丹参、葛根、黄芪、山药, 取益气养阴、活血化瘀之效; 第2类: 泽泻、山楂、何首乌、茯苓、白术、党参、陈皮, 意在健脾渗湿、化痰降浊; 第3

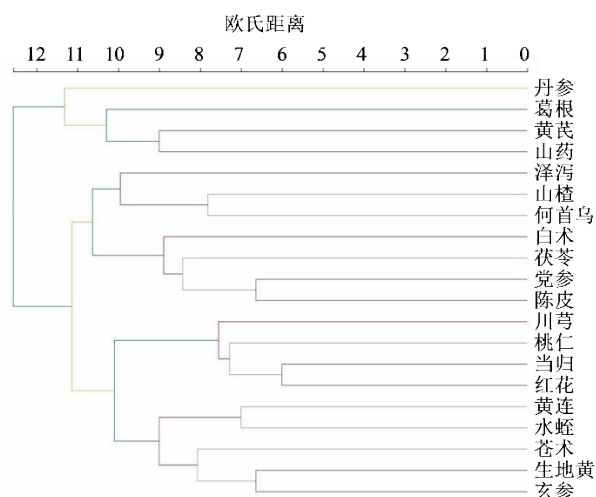


图3 高频药物聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of herbs with high frequency

类:川芎、桃仁、当归、红花,可活血养血、化瘀行气;第4类黄连、水蛭、苍术、生地、玄参,有泻火养阴、生津止渴之意。

2.1.5 复杂网络分析 基于古今医案云平台对纳入高频药物进行复杂网络呈现,是核心处方筛选的重要依据,如图4所示。其中节点大小代表某中药在该网络中的重要程度,连线疏密衡量某中药与其他药物的关联程度。

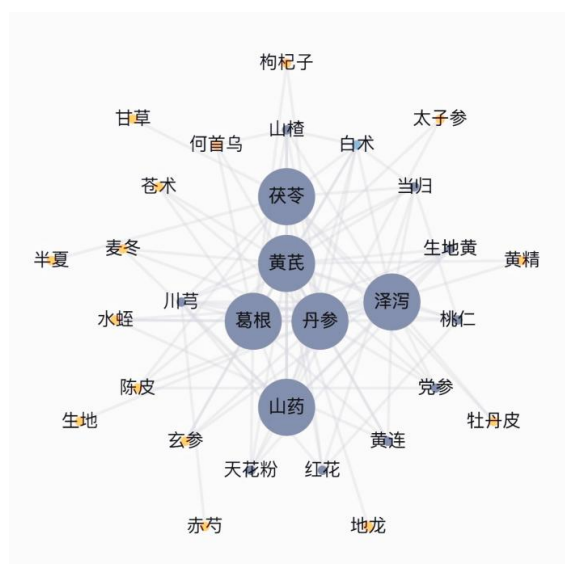


图4 高频药物复杂网络分析

Fig. 4 Complicated network of herbs with high frequency

综合频数、复杂网络、关联规则及药物聚类分析,得到中医药治疗2型糖尿病合并高脂血症的核心处方,包含黄芪、丹参、葛根、泽泻、山药、山楂、茯苓、白术共8味药,共奏益气养阴、活血泄浊之功,并以此作为下一步靶点网络分析的对象。

2.2 靶点网络预测

2.2.1 有效成分的筛选及靶点预测 在TCMSP数据库中分别检索核心处方中8味中药的有效成分,以口服生物利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18为筛选标准,共得到132个有效成分,其中黄芪15个、丹参86个、葛根4个、山楂6个、泽泻9个、山药9个、茯苓12个、白术7个,药物间重合成分8个。

在TCMSP、Swiss Target Prediction数据库获取靶点,并经UniProt校正基因名,去重后共获得878个潜在靶点。其中可预测到较多潜在靶点的活性成分包括芹黄素(139个)、木犀草素(122个)、异鼠李素(114个)、丹参新醌甲(109个)等。

在OMIM、Therapeutic Targets Database、GeneCards等数据库中检索2型糖尿病伴高脂血症,取去重后的并集靶点共得到1365个相关疾病靶点。将疾病靶点与处方活性成分靶点取交集,即可得到核心处方直接作用于2型糖尿病合并高脂血症的靶点250个,如图5所示。

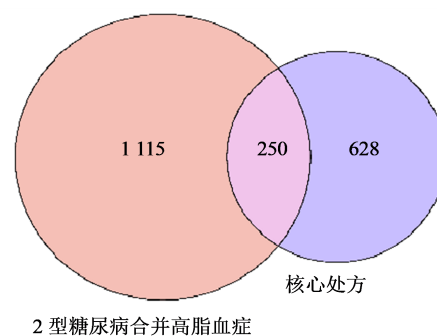
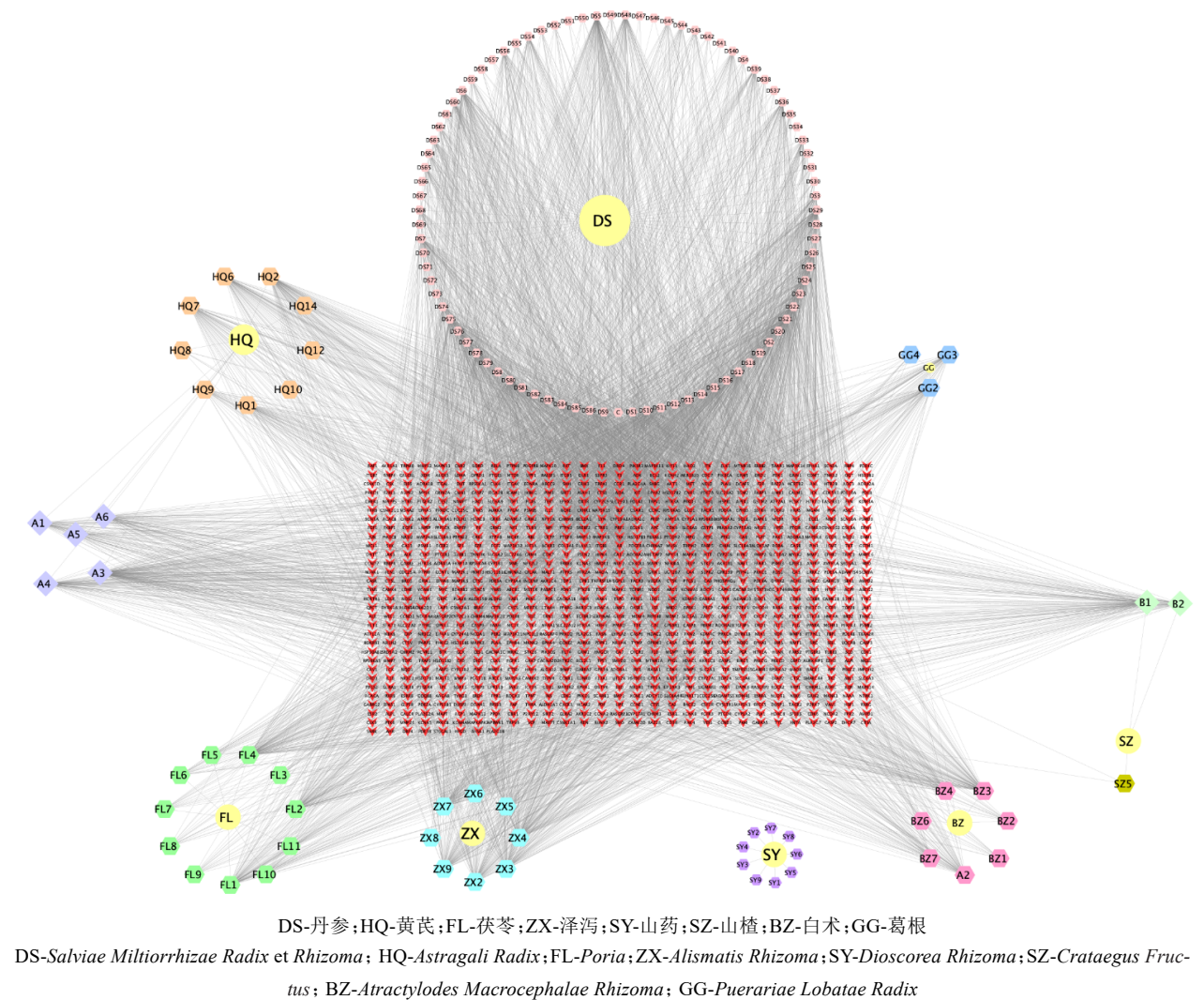


图5 疾病-核心处方药物交集靶点映射 Venn图

Fig. 5 Venn diagram of disease-core prescription-drug intersection target mapping

2.2.2 药物-活性成分-靶点网络及PPI网络构建 利用Cytoscape3.8.1构建复方活性成分-靶点网络,可得到一个1028个节点(8味药物、132种药物活性成分、878个靶基因)以及5146条边的网络(图6)。其中以A、B节点代表两药物之间重复出现的活性成分。由于数量较多,只展示度值≥100的成分的拓扑分析结果,见表3。设置度值≥100,中介中心度>30000,紧密度>0.078为筛选核心成分的必要条件,结合热点文献报道,推测核心成分为芹黄素(apigenin)、异鼠李素(isorhamnetin)、木犀草素(luteolin)、丹参新醌甲(dan-shexinkum A)、酒酵母甾醇(cerevisterol)等。

将疾病-成分交集靶点导入STRING 11.5平台,可初步得到1个242个节点,772条边的PPI网络。



DS-丹参;HQ-黄芪;FL-茯苓;ZX-泽泻;SY-山药;SZ-山楂;BZ-白术;GG-葛根
DS-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma; HQ-Astragali Radix;FL-Poria;ZX-Alismatis Rhizoma;SY-Dioscorea Rhizoma;SZ-Crataegus Fructus; BZ-Atractylodes Macrocephalae Rhizoma; GG-Puerariae Lobatae Radix

图6 核心处方-成分-靶点网络
Fig. 6 Network of core prescription-ingredient-target

表3 处方核心活性成分拓扑分析
Table 3 Topological analysis of core active ingredients of prescription

序号	代号	中文名称	度值	中介中心度	紧密度
1	DS80	芹黄素	140	69 822.090	0.078 836 260
2	A3	异鼠李素	139	41 592.900	0.079 091 260
3	DS5	木犀草素	123	36 736.470	0.078 631 036
4	DS29	丹参新醌甲	110	47 435.043	0.079 079 080
5	DS75	丹参酮IIB	105	85 074.586	0.078 945 346
6	HQ2	熊竹素	102	30 203.380	0.078 921 080
7	ZX3	泽泻醇B醋酸酯	101	29 425.982	0.078 522 824
8	ZX2	泽泻醇B	101	31 177.256	0.078 546 844
9	FL4	酒酵母甾醇	100	36 578.594	0.078 763 710
10	BZ3	14-乙酰基各里光酰基-8-反式白术三醇	100	46 916.040	0.078 655 130

再将其导入 Cytoscape 3.8.1 中,利用 CytoNCA 插件,通过节点的中介中心性(BC)对该网络进行排序、分析,可以得到186个节点,1 142条边的PPI核心网络,如图7所示。PPI网络图中,靶蛋白之间作用关系的强弱与靶蛋白对应圆的大小、颜色深浅呈正相关^[8]。因此,对该可视化网络中代表疾病靶点

的大节点进行拓扑分析,结果见表4,并由此推测2型糖尿病合并高脂血症的关键靶点分别为类视黄醇X受体(RXR α)、细胞肿瘤抗原p53(TP53)、丝氨酸蛋白激酶磷酸(AKT1)、热休克蛋白 α (HSP90AA1)、

细胞质膜微囊蛋白(CAV1)等。

2.2.3 中医药治疗2型糖尿病合并高脂血症作用靶点GO、KEGG富集分析 经过GO富集分析,共得到2 553个条目,其中包括生物过程(BP)相关结果

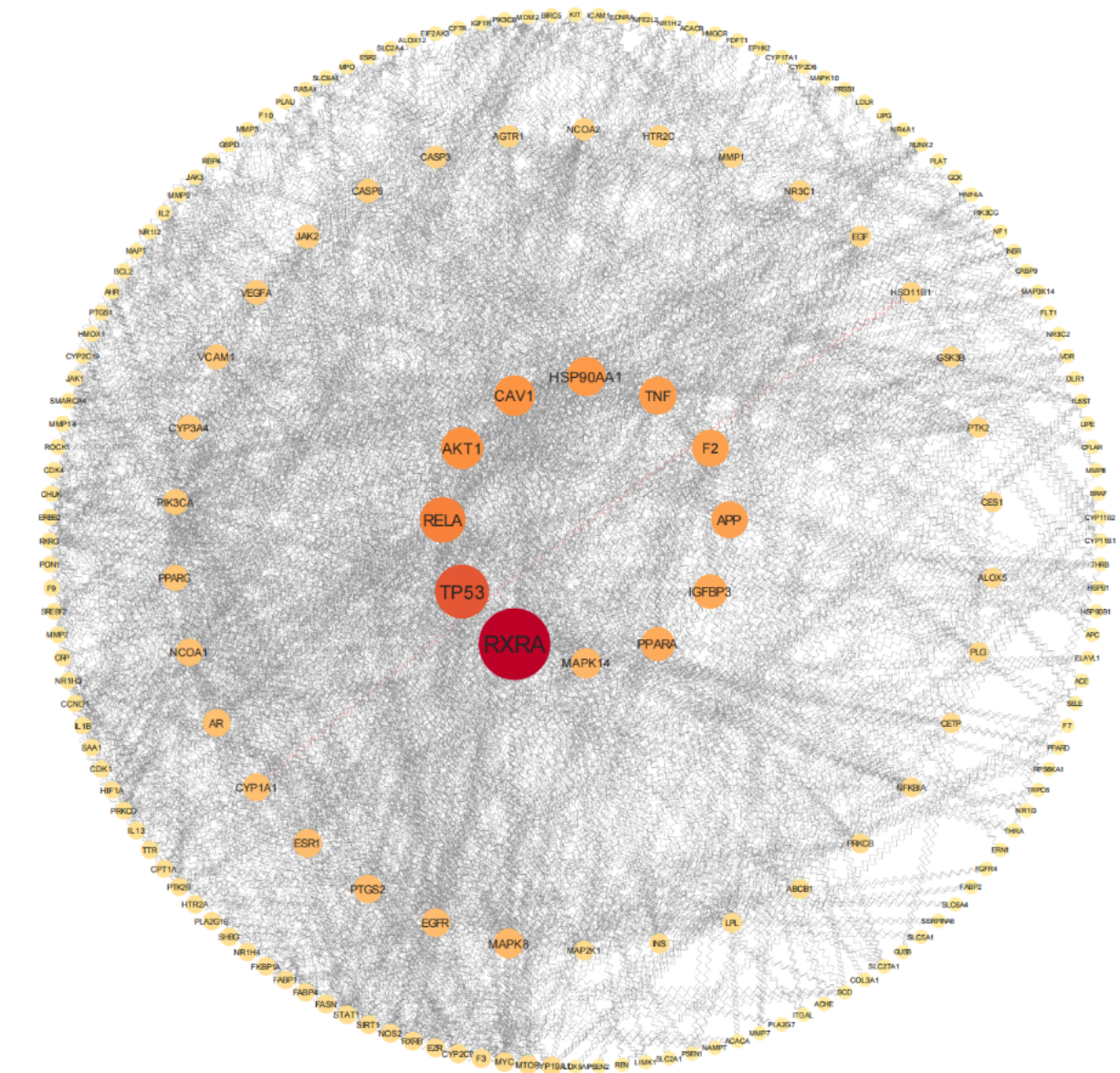


图7 疾病-成分交集靶点蛋白互作核心网络

Fig. 7 PPI network of disease-ingradient intersection target

表4 疾病关键靶点拓扑分析

Table 4 Topological analysis of hub targets of disease

序号	基因名	基因全称	中介中心度	度值	紧密度
1	<i>RXRα</i>	类视黄醇X受体	5 243.430 0	80	0.452 322 75
2	<i>TP53</i>	细胞肿瘤抗原p53	3 627.194 3	74	0.449 029 12
3	<i>AKT1</i>	丝氨酸蛋白激酶磷酸	2 522.440 4	68	0.437 352 24
4	<i>HSP90AA1</i>	热休克蛋白 α	2 280.897 7	66	0.437 352 24
5	<i>CAV1</i>	细胞质膜微囊蛋白	2 418.692 6	38	0.410 199 55

2 125 条,分子功能(MF)相关结果 279 条,细胞成分(CC)相关结果 149 条,分别选取富集得分(lgP 值)为前 10 的条目进行展示,如图 8 所示。其中 BP 主要涉及激素应答(response to hormone)、对无机物质的反应(response to inorganic substance)、对氧含量降低的反应(response to decreased oxygen levels);MF 主要包括核受体活性(nuclear receptor activity)、蛋白激酶活性(protein kinase activity)、丝氨酸水解酶活性(serine hydrolase activity)等;CC 主

要包括膜筏(membrane raft)、细胞顶端(apical part of cell)、膜侧面(side of membrane)等。

KEGG 通路富集分析共纳入药物治疗 2 型糖尿病合并高血脂症的 237 个信号通路,主要包括肿瘤中信号通路(pathway in cancer)、脂质与动脉粥样硬化(lipid and atherosclerosis)、化学致癌-受体激活通路(chemical carcinogenesis-receptor activation)、胰岛素抵抗通路、PPAR 信号通路等。取富集基因数量最多的前 20 条通路进行可视化,得到气泡图如图 9 所示。

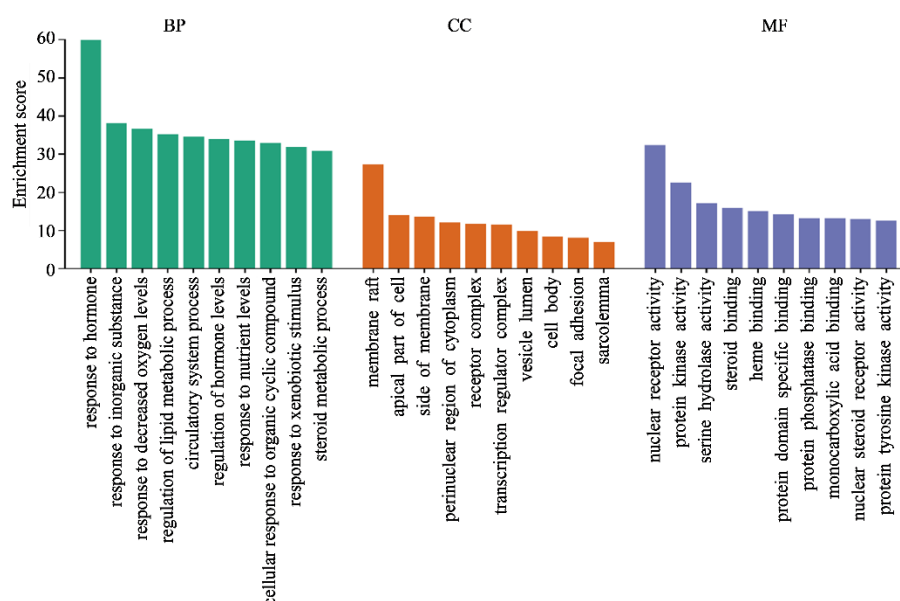


图 8 疾病-活性成分交集靶点 GO 功能分析(前 10 条)

Fig. 8 Go annotation of disease-active ingredient intersection target (top 10)

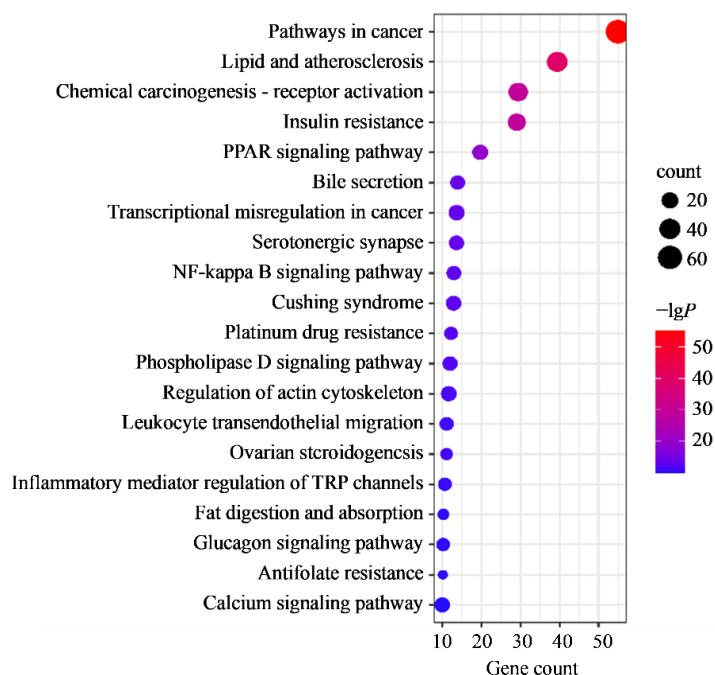


图 9 疾病-活性成分交集靶点 KEGG 通路富集分析(前 20 条)

Fig. 9 KEGG enrichment analysis of disease-active ingredient intersection target (top 20)

2.3 分子对接分析

对经过网络药理学拓扑分析的关键靶点及核心成分两两进行分子对接,将2型糖尿病合并高脂血症的5个关键靶点作为大分子受体,10个核心成分作为小分子配体。通常认为结合能越低,配体与受体之间对接结果越稳定,结果越理想,小于 $-20.92 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 可被认为结合效能较强^[9]。各配体-受体间结合能如图10所示,可知各组间结合能稳定在 $-20.92\sim-41.84 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 范围。选择结合最稳定的前6组进行可视化,并展示具有氢键结合结构的4组。由图11可知,泽泻醇B醋酸酯与PHE-438、PHE-439、GLY-443结合形成氢键;木犀草素与活性位点附近的GLY-429、ARG-316形成氢键;酒酵母甾醇

与ASN-267形成氢键;丹参新醌甲与ASP-379、PRO-378、ILE-229形成氢键结合到HSP90AA1。

3 讨论

2型糖尿病在中医学中属“消渴”范畴,《医学衷中参西录》中有关于病机的论述为“消渴之证,多由元气不升”。其中又以阴虚证患者最为多见。主要病机是气阴亏虚为本,痰浊、血瘀为标。高脂血症在中医学中无对应病名,多认为属“脂浊”范畴,与湿、痰、瘀、浊关系密切^[10]。当消渴病导致痰浊、血瘀等有形之邪的产生可诱发脂浊症;另一方面又可作为致病因素使气阴两虚进一步加重,使合病互相胶结难愈。现代医学认为,高血糖状态下的胰岛素抵抗/胰岛素不足可降解外周脂肪和增加肝脏对脂肪酸的摄取,是脂质代谢紊乱的关键环节^[11]。临床上可用于2型糖尿病的调脂药主要以他汀类为主,由于存在疗效个体差异明显,肝肾功能损害、横纹肌溶解等副作用而导致临床疗效不满意^[12]。中医药治疗2型糖尿病优势独到,常以益气养阴、活血化瘀为基本思路。

在本研究中,通过数据挖掘得到的核心处方中,黄芪为君,性甘味微温,入肺脾经,有补气升阳、以助布气散津之功;丹参为臣,性苦微寒,入心、肝经,有活血祛瘀、通经凉血之功;由关联分析可知,葛根、山药常与黄芪同现频率较高,共同配伍可奏益气养阴、生津止渴之功,可同为臣药;山楂与丹参同现频率较高,可同奏活血化瘀、降脂泄浊之功,是为佐药;茯苓、泽泻两药合用,取意于先泄其浊,方可存其清,而使阴精得补,亦为佐药;再少佐以白术,配合黄芪、山药补脾而助健运,以除湿消浊。如此补泄兼施、标本兼治,针对2型糖尿病合并高脂血

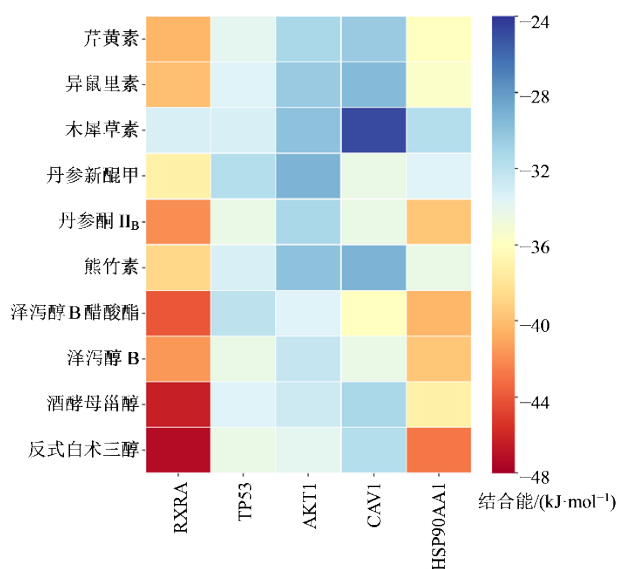


图10 配体-受体分子对接结合能热图

Fig. 10 Heat map of binding energy for ligand-receptor molecular docking

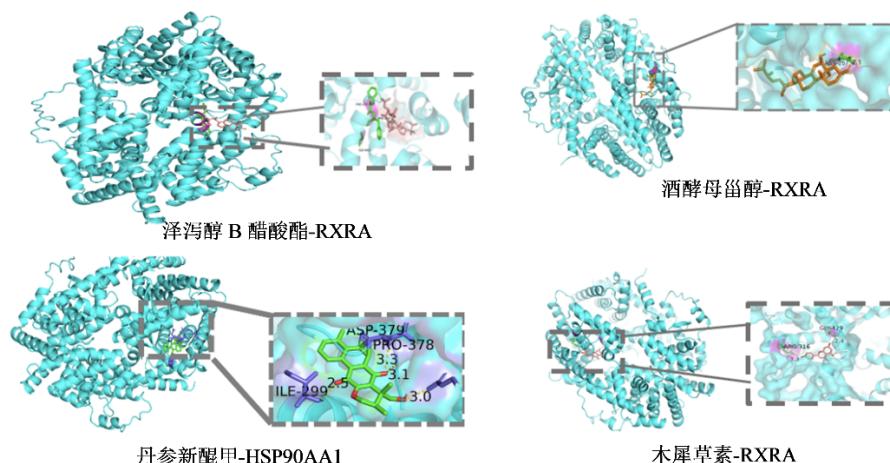


图11 分子对接可视化结果

Fig. 11 Visualization of molecular docking

症气阴亏虚、痰瘀互结的基本病机,符合中医学辨证施治的基本思想。经现代药理学证明,黄芪具有突出的免疫调节、抗氧化、抗衰老、调血脂、保护心血管等作用^[13];丹参可调控糖脂代谢外,还可通过改善氧化还原稳态、降低炎症反应等治疗糖尿病并发症,或通过提升脂质转运能力以保肝^[14-15]。葛根可通过改善胰岛素敏感性而调整糖脂代谢紊乱及冠心病患者纤溶机制紊乱,有利于降低2型糖尿病合并高脂血症的心血管病风险^[16]。

由网络药理学结果可知,该核心处方的关键活性成分包括芹黄素、异鼠李素、木犀草素、丹参新醌、丹参酮II_B等。其中,芹黄素作为一种可食用的植物衍生类黄酮,可通过抑制 α -葡萄糖苷酶,促进胰岛素分泌,并中和细胞中活性氧发挥降糖作用,并可通过激活线粒体自噬途径以改善脂质沉积^[17-18]。异鼠李素同为类黄酮,是黄芪、山楂共有的活性成分,通过激活JAK2通路并在低浓度范围内促进葡萄糖摄取可维持葡萄糖稳定;亦可通过抑制PPAR- γ 激动剂罗格列酮以阻断脂肪细胞分化,控制血脂^[19]。木犀草素可通过调节丝裂原活化蛋白激酶途径,减少脂多糖诱导的巨噬细胞细胞损伤和氧化应激^[20]。丹参新醌甲可通过明显抑制脂多糖对Kupffer细胞的激活作用,降低其增殖以减少炎症因子分泌^[21]。由本研究得到的PPI网络可筛选出11个疾病关键靶点。以RXR α 为代表的类视黄醇X受体作为多种核受体的必要伴生物,作为转录因子在诸多信号通路发挥着如新陈代谢,细胞发育、分化和死亡的重要作用;RXR α 可被浓度性激活,进而上调胆固醇调节员结合蛋白1c(srebp-1c)的表达,损害由葡萄糖刺激的胰岛素分泌而加重2型糖尿病症状^[22-23]。TP53在维持细胞正常生长,抑制恶性增殖中起重要作用,亦可参与代谢调节,如通过TIGAR这一诱导糖酵解和凋亡调节因子的下游蛋白的调节,可起到降低糖酵解、抗氧化的功能^[24]。丝氨酸蛋白质激酶(AKT1),其活化在细胞存活、增殖及代谢中至关重要,过度活化会引起过度增殖以至癌变;研究表明黄芪能通过负调节AKT1信号通路调控自噬,从而发挥糖尿病的治疗作用^[25-26]。分子对接结果显示,各核心成分与核心靶点间均有稳定的结合结构,进一步验证了核心处方的科学性。

GO注释及KEGG富集分析的结果表明,中医药治疗2型糖尿病合并高脂血症的核心靶点可能从调控肿瘤中信号通路、脂质与动脉粥样硬化通路、胰岛素抵抗、及PPAR信号通路过程中发挥作用。

胰岛素抵抗可作为代谢综合征(包括2型糖尿病合并血脂异常)的中心环节,其可能机制与氧化应激、糖脂代谢紊乱、炎症途径等有关;如当脂肪细胞中的三酰甘油不断累积,可诱导多种炎症反应,破坏葡萄糖稳态,且过量胰岛素分泌可促使前脂肪细胞转化为脂肪细胞,进而导致二者共病之间相互影响,促进恶化,加重胰岛素抵抗及脂代谢紊乱^[27-28]。PPAR通路主要调控脂肪细胞分化及糖脂代谢途径,以及胰岛素敏感性和炎症途径,因此与全身代谢的生理调节以及代谢紊乱有重要相关性。PPAR- γ 作为PPAR家族中被研究最多的成员,与RXR α 结合生成过氧化物酶体增值反应元件(PPREs),如与内源性或配体结合后可发生构象变化,并诱导靶基因转录;值得注意的是,除了遗传、转录及翻译调节机制等,不同的翻译后修饰如磷酸化、乙酰化都与PPAR- γ 激活有关,由此导致的细胞特异性调节与药物的不同效力有关^[29]。因此,在强调糖尿病个性化管理的循证背景下,发挥中医药个体精准治疗的巨大优势外,亦应重视破译各信号通路的复杂调控过程,为糖尿病患者量身定制治疗方案提供理论依据。

经过本研究,可以初步证实基于数据挖掘得到的治疗2型糖尿病合并高脂血症的核心处方与中医学中方剂组方思路及对疾病的认识规律相合;初步论证了该方剂可从多成分-多靶点-多通路的角度联合调控,以期实现君臣相伍、增强疗效的治疗优势,为后续实验研究提供基础。本研究存在着一定的局限性,如数据挖掘中只考虑了药物的出现频次,而未将药物的量效关系等其他因素纳入考量;核心成分及靶点的筛选主要基于网络药理学的拓扑分析,其实用性及有效性仍需在后期动物实验或临床试验中进一步验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cho N H, Shaw J E, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045 [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2018, 138: 271-281.
- [2] Ji L N, Hu D Y, Pan C Y, et al. Primacy of the 3B approach to control risk factors for cardiovascular disease in type 2 diabetes patients [J]. Am J Med, 2013, 126(10): 925.e11-925.e22.
- [3] 梁晓丽, 宋润络, 丁雅芳, 等. 社区老年居民高脂血症发病风险列线图模型建立 [J]. 世界临床药物, 2021, 42

- (5): 395-400, 418.
- Liang X L, Song R L, Ding Y F, et al. Establishment of a nomogram prediction model for the risk of hyperlipidemia in elderly residents in the community [J]. World Clin Drugs, 2021, 42(5): 395-400, 418.
- [4] 赵能江, 杨叔禹, 孙文杰, 等. «国家基层糖尿病防治管理指南(2022)»中医药内容解读与比较 [J]. 中国中西医结合杂志, 2023, 43(2): 232-235.
- Zhao N J, Yang S Y, Sun W J, et al. Interpretation and comparison of the contents of Chinese medicine in national guidelines for the prevention and control of diabetes in primary care(2022) [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2023, 43(2): 232-235.
- [5] 中国药典 [S]. 三部. 2020.
- Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume III. 2020.
- [6] 国家中医药管理局«中华本草»编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- National Administration of Traditional Chinese Medicine, "Chinese Materia Medica" Editorial Board. *Chinese Materia Medica* [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999.
- [7] 王璐, 饶颖, 周佳林, 等. 基于数据挖掘和网络药理学对腹泻型肠易激综合征的方证探讨 [J]. 浙江中医药大学学报, 2022, 46(9): 1043-1054.
- Wang L, Rao Y, Zhou J L, et al. Research on prescriptions and syndromes of irritable bowel syndrome with predominant diarrhea based on data mining and network pharmacology [J]. J Zhejiang Chin Med Univ, 2022, 46(9): 1043-1054.
- [8] 张树娟, 张海龙, 张东, 等. 基于数据挖掘和网络药理学的咳嗽变异性哮喘用药规律及机制研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(9): 1218-1227.
- Zhang S J, Zhang H L, Zhang D, et al. Study on medication rules and mechanism of cough variant asthma based on data mining and network pharmacology [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2022, 33(9): 1218-1227.
- [9] Yuan C, Wang M H, Wang F, et al. Network pharmacology and molecular docking reveal the mechanism of Scopoletin against non-small cell lung cancer [J]. Life Sci, 2021, 270: 119105.
- [10] 梁凤莲, 徐红. 高脂血症的中医药辨证论治 [J]. 光明中医, 2009, 24(2): 379-380.
- Liang F L, Xu H. Syndrome differentiation and treatment of hyperlipidemia in traditional Chinese medicine [J]. Guangming J Chin Med, 2009, 24(2): 379-380.
- [11] 张声生, 吴震宇, 陈剑明, 等. 三七总皂苷改善高脂诱导脂肪肝大鼠模型氧化应激及胰岛素抵抗的研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(1): 56-61.
- Zhang S S, Wu Z Y, Chen J M, et al. Study on the mechanism of action of total saponins of *Panax notoginseng* in ameliorating oxidative stress and insulin resistance in rats fed with high fat diet [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2014, 34(1): 56-61.
- [12] Francis P, Forman L. Use of statins in patients with and without liver disease [J]. Clin Liver Dis, 2020, 15(1): 40-45.
- [13] 杨波, 许智莹, 林程程, 等. 五味子、黄芪混合多糖对大鼠高脂血症的降脂作用 [J]. 食品工业科技, 2020, 41(16): 314-317, 325.
- Yang B, Xu Z Y, Lin C C, et al. Lipid-lowering effect of polysaccharides from mixed of *Schisandra chinensis* and *Astragalus membranaceus* on hyperlipidemia in wistar rats [J]. Sci Technol Food Ind, 2020, 41(16): 314-317, 325.
- [14] 姚欣卉, 肖洪彬, 卞敬琦, 等. 丹参有效成分在治疗糖尿病及其并发症中的作用机制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(7): 209-218.
- Yao X H, Xiao H B, Bian J Q, et al. New progress in mechanism of *salviae miltiorrhizae Radix* et rhizoma in treatment of diabetes and its complications [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2021, 27(7): 209-218.
- [15] 吴志焕, 曹丹丹, 刘利敏. 三七丹参片调节高脂血症小鼠脂质转运的机制 [J]. 中成药, 2022, 44(3): 965-968.
- Wu Z H, Cao D D, Liu L M. Mechanism of Sanqi Danshen Tablet in regulating lipid transport in hyperlipidemic mice [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(3): 965-968.
- [16] 周遵明, 谭梅傲, 彭冲, 等. 黄芪葛根汤对高脂血症大鼠脂质代谢和氧化应激的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2022, 42(2): 195-201.
- Zhou Z M, Tan M A, Peng C, et al. Impact of Huangqi Gegen formula on lipid metabolism and oxidative stress in hyperlipidemia rats [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2022, 42(2): 195-201.
- [17] Hsu M C, Guo B C, Chen C H, et al. Apigenin ameliorates hepatic lipid accumulation by activating the autophagy-mitochondria pathway [J]. J Food Drug Anal, 2021, 29(2): 240-254.
- [18] Salehi B, Venditti A, Sharifi-Rad M, et al. The therapeutic potential of apigenin [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(6): 1305.
- [19] Gong G, Guan Y Y, Zhang Z L, et al. Isorhamnetin: A review of pharmacological effects [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 128: 110301.
- [20] Li L, Luo W, Qian Y Y, et al. Luteolin protects against diabetic cardiomyopathy by inhibiting NF- κ B-mediated

- inflammation and activating the Nrf2-mediated antioxidant responses [J]. *Phytomedicine*, 2019, 59: 152774.
- [21] 沈敏, 李俊杰, 李霄, 等. 丹参化学成分对脂多糖激活 Kupffer 细胞作用的影响 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2012, 28(11): 831-835.
- Shen M, Li J J, Li X, et al. Influence of the chemical constituents of *Salvia miltiorrhiza* Bunge on lipopolysaccharide-induced activation of Kupffer cells [J]. *J Clin Hepatol*, 2012, 28(11): 831-835.
- [22] Yang H Y, Liu M, Sheng Y, et al. All-trans retinoic acid impairs glucose-stimulated insulin secretion by activating the RXR/SREBP-1c/UCP₂ pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43(6): 1441-1452.
- [23] Girardi C S, Rostirolla D C, Lini F J M, et al. Nuclear RXR α and RXR β receptors exert distinct and opposite effects on RA-mediated neuroblastoma differentiation [J]. *Biochim Biophys Acta BBA Mol Cell Res*, 2019, 1866(3): 317-328.
- [24] Liu W W, Xu X C, Fan Z M, et al. Wnt signaling activates TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator and protects against cisplatin-induced spiral ganglion neuron damage in the mouse cochlea [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2019, 30(11): 1389-1410.
- [25] 孟利, 杜彩萍. Akt1K64/276 与 SUMO1 结合激活 ERK1/2-Elk1-BDNF 信号通路 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2022, 38(12): 1661-1670.
- Meng L, Du C P. Akt1K64/276-SUMO1 stimulates ERK1/2-Elk1-BDNF pathway [J]. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2022, 38(12): 1661-1670.
- [26] 姚琼, 叶太生, 张莹雯, 等. 基于网络药理学及 Akt1/mTOR 自噬通路探讨黄芪减少糖尿病肾病蛋白尿的作用机制 [J]. *世界科学技术: 中医药现代化*, 2021, 23(8): 2699-2710.
- Yao Q, Ye T S, Zhang Y W, et al. Discussion on the mechanism of *Radix astragali* seu *hedysari* in reducing proteinuria in diabetic nephropathy based on network pharmacology and Akt1/mTOR autophagy pathway [J]. *Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol*, 2021, 23(8): 2699-2710.
- [27] Jabłonska-Lietz B, Wrzosek M, Włodarczyk M, et al. New indexes of body fat distribution, visceral adiposity index, body adiposity index, waist-to-height ratio, and metabolic disturbances in the obese [J]. *Kardiologia Pol*, 2017, 75(11): 1185-1191.
- [28] 詹佳佳, 郭丹, 周泽芳, 等. 基于胰岛素抵抗探析高尿酸血症及痛风患者血尿酸水平与 2 型糖尿病(痰湿瘀阻证)的关系 [J/OL]. *辽宁中医药大学学报*, (2022-07-26). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1543.R.20220725.1633.105.html>.
- Zhan J J, Guo D, Zhou Z F, et al. Relationship between serum uric acid level and type 2 diabetes mellitus(phlegm dampness and blood stasis syndrome) in hyperuricemia and gout patients based on insulin resistance [J/OL]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, (2022-07-26). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1543.R.20220725.1633.105.html>.
- [29] Cataldi S, Costa V, Ciccodicola A, et al. PPAR γ and diabetes: Beyond the genome and towards personalized medicine [J]. *Curr Diab Rep*, 2021, 21(6): 18.

[责任编辑 刘东博]