

基于网络药理学的“苍术-玄参”药对抗 2 型糖尿病作用机制研究

田会东¹, 王静², 郭丽娜¹, 贾明璐¹, 陈雪平¹, 王瑞^{1*} (1. 漯河市中心医院, 河南 漯河 462000; 2. 漯河医学高等专科学校, 河南 漯河 462000)

摘要: 目的 采用网络药理学方法研究苍术-玄参药对抗 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), 获得苍术、玄参主要活性成分和相关作用靶点, 并借助 Cytoscape 3.6.1 软件构建苍术-玄参药对活性成分-靶点网络图。通过 TTD 数据库中检索抗 2 型糖尿病靶点, 在 STRING 数据库进行蛋白质间相互作用分析, 构建抗 2 型糖尿病靶点 PPI 网络图, 利用 Cytoscape 3.6.1 软件中的 Merge 功能与活性成分-靶点融合, 获得苍术-玄参药对对抗 2 型糖尿病作用靶点。运用 DAVID 数据库对苍术-玄参药对对抗 2 型糖尿病作用靶点进行 KEGG 通路富集, 进一步研究苍术-玄参药对对抗 2 型糖尿病作用机制。结果 获得具有类药性、口服吸收良好的成分 27 个, 苍术-玄参药对对抗 2 型糖尿病作用靶点 10 个, 包括 PTGS2、DPP4、PTGS1、NR3C2 等。KEGG 分析得到与苍术-玄参药对对抗 2 型糖尿病作用有关的通路 6 条, 关键通路包括脂肪细胞脂解调控通路、PPAR 信号通路、胰岛素抵抗、AMPK 信号通路等。结论 苍术-玄参中的活性物质主要通过作用于 PTGS2、DPP4、PTGS1、NR3C2 等靶点协同治疗 2 型糖尿病, 为深入剖析苍术-玄参药对复杂体系, 阐释其治疗 2 型糖尿病的潜在复杂作用机制提供了新方向。

关键词: 网络药理学; 苍术; 玄参; 2 型糖尿病; 作用机制

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)02-0165-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.02.008

引用本文: 田会东, 王静, 郭丽娜, 等. 基于网络药理学的“苍术-玄参”药对抗 2 型糖尿病作用机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(2): 165-169.

Study on Mechanism of Atractylodis Rhizoma-Scrophulariae Radix Drug Pair Against Type 2 Diabetes Mellitus Based on Network Pharmacology

TIAN Huidong¹, WANG Jing², GUO Lina¹, JIA Minglu¹, CHEN Xueping¹, WANG Rui^{1*} (1. Luohe Central Hospital, Luohe 462000, China; 2. Luohe Medical College, Luohe 462000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the mechanism of Atractylodis Rhizoma-Scrophulariae Radix drug pair against type 2 diabetes mellitus using network pharmacology. **METHODS** The chemical components and targets of Atractylodis Rhizoma-Scrophulariae Radix were searched from TCMSP database and Cytoscape 3.6.1 was used to build a network between components and targets. Secondly, “type 2 diabetes mellitus” targets were searched from TTD, and targets retrieved were used to build a PPI network based on the analysis by STRING database. To obtain type 2 diabetes mellitus targets of the active components, the PPI network was fused with the component-target network. Finally, the DAVID database was used to perform KEGG pathway enrichment analysis in order to explore the mechanism of Atractylodis Rhizoma-Scrophulariae Radix drug pair against type 2 diabetes mellitus. **RESULTS** The 27 kinds of effective compounds were obtained, 10 target proteins and 6 enrichment pathways were selected. Key targets included PTGS2, DPP4, PTGS1, NR3C2, etc. Regulation included regulation of lipolysis in adipocytes, PPAR signaling pathway, insulin resistance, AMPK signaling pathway, etc. **CONCLUSION** The active components of Atractylodis Rhizoma-Scrophulariae Radix act on insulin receptor in the treatment of type 2 diabetes mainly through PTGS2, DPP4, PTGS1, NR3C2, etc. This study provide a new foundation for further study on the mechanism of Atractylodis Rhizoma-Scrophulariae Radix composition.

KEYWORDS: network pharmacology; Atractylodis Rhizoma; Scrophulariae Radix; 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, 其中以 2 型糖尿病居多^[1]。近年来, 随着生活方式的改变、人口老龄化的加剧, 2 型糖尿病患病率逐年攀升^[2]。据最新数据显示, 我国糖尿病患者数量居世界之首, 发病人群呈年轻化趋

势^[3]。2 型糖尿病及其并发症严重威胁人类健康, 给国家财政带来巨大负担。因此, 抗 2 型糖尿病药物的发掘已成为研发人员关注的焦点。苍术-玄参药对来源于著名老中医吕景山所著的《施今墨对药》^[4], 苍术化脾家之湿, 兼雄壮之气而鼓动脾

作者简介: 田会东, 男, 药师 Tel: (0395)2970499
(0395)3356116 E-mail: 2165592780@qq.com

E-mail: 504905136@qq.com

*通信作者: 王瑞, 男, 硕士, 主任药师 Tel:

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^[5]。然而目前苍术-玄参药对抗糖尿病的作用机制尚不完全明了。作为一门新兴学科，系统药理学广泛应用于中药复杂作用机制的研究，打破了“一个药物，一个靶点，一种疾病”的框架思维，用整体的角度去研究药物-靶点-疾病的关系，为中药药理的研究开辟了新的思路^[6]。因此，本研究采用网络药理学方法，对“苍术-玄参”药对抗 2 型糖尿病的作用机制进行研究，为“苍术-玄参”药对的进一步开发应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 化合物及靶点的筛选

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>)中获取化学成分。把 OB $\geq$ 30%和 DL $\geq$ 0.18 作为限制条件^[7]，从而得到活性成分，并获得相应的靶蛋白，把靶蛋白名称输入 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 活性成分-靶点网络构建

将筛选出的活性成分和 UniProt 数据库获得的人源靶点导入软件 Cytoscape 3.6.1，构建“活性成分-靶点蛋白”的网络图。

1.3 2 型糖尿病靶点 PPI 网络构建

运用 TTD(<https://db.idrblab.org/ttd/>)数据库，以“Type 2 Diabetes”为关键词，检索与 2 型糖尿病相关的靶点，将得到的靶点基因输入 STRING 在线分析平台(<https://string-db.org/>)，选择分值 >0.7 (高置信度评分)，预测靶点与靶点之间的相互作用关系，构建抗 2 型糖尿病靶点 PPI 网络图。

1.4 网络合并

运用 Cytoscape 3.6.1 软件中的 Merge 功能将活性成分-靶点网络和抗 2 型糖尿病 PPI 网络合并，从而得到苍术玄参抗 2 型糖尿病的核心物质和关键靶点。

1.5 通路富集分析

运用 DAVID6.8 数据库对苍术-玄参抗 2 型糖尿病靶点蛋白，进行 KEGG 网络富集分析，并以 $P<0.05$ 作为筛选条件，进一步阐明靶点在信号通路中的作用。

2 结果

2.1 主要活性成分

通过筛选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。

表 1 苍术-玄参药对筛选后得到的 27 个活性成分

Tab. 1 Twenty-seven active ingredients after screened in Atractylodes Lancea-Scrophularia ningpoensis drug pair

TCMSP 编号	化合物名称	OB/%	DL	度值	来源
MOL000173	wogonin	30.68	0.23	41	苍术
MOL000175	cyperene	51.10	0.11	4	苍术
MOL000043	atractylenolide I	37.37	0.15	8	苍术
MOL000178	atractylenolide III	31.66	0.17	4	苍术
MOL000180	Aractylenolide II	46.20	0.15	2	苍术
MOL000184	NSC63551	39.25	0.76	1	苍术
MOL000185	Stigmasterol 3-O-beta-D-glucopyranoside	21.32	0.63	2	苍术
MOL000188	3 β -acetoxyatractylone	40.57	0.22	21	苍术
MOL000190	3,5-dimethoxy-4-glucosyloxy-phenylalylalcohol	29.00	0.32	12	苍术
MOL000194	patchoulene	51.71	0.11	7	苍术
MOL000044	atractylenolideII	47.50	0.15	5	苍术
MOL000084	beta-daucosterol	20.63	0.63	1	苍术
MOL000085	beta-daucosterol_qt	36.91	0.75	1	苍术
MOL000086	(24S)-5beta-Stigmastan-3beta-ol	25.32	0.75	1	苍术
MOL000087	beta-sitosterol 3-O-glucoside	20.63	0.62	1	苍术
MOL000091	daucosterin	20.63	0.63	1	苍术
MOL000093	daucosterol	20.63	0.63	1	苍术
MOL000095	delta 7-stigmastanol	25.32	0.75	1	苍术
MOL002222	sugiol	36.11	0.28	10	玄参
MOL002820	catapol_qt	44.69	0.1	4	玄参
MOL000357	Sitogluside	20.63	0.62	16	玄参
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	34	玄参
MOL000359	Sitosterol	36.91	0.75	3	玄参
MOL000675	oleic acid	33.13	0.14	44	玄参
MOL007658	14-deoxy-12(R)-sulfoandrographolide	62.57	0.42	1	玄参
MOL007662	harpagoside_qt	122.87	0.32	7	玄参
MOL007670	6-O-methylcatapol_qt	60.28	0.11	6	玄参

2.2 “活性成分-靶点”网络构建

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 构建成网络图，见图 1。图 1 包含 147 个节点(27 个活性成分和 120 个相关靶点)和 239 条线，其椭圆形代表活性成分，三角形代表相关靶点，线代表活性成分与相关靶点的关系。据报道，度值(degree)和介数值的节点(betweenness)与活性成分的重要性呈正相关，即其值越大，相应的节点在此网络图中越重要。结果显示，oleic acid、wogonin、beta-sitosterol、3 β -acetoxyatractylone 等化合物和 PGR(孕激素受体)、GABRA1(γ -氨基丁酸受体 α 1 亚型)、PTGS2(前列腺素 G/H 合成酶 2)、CHRM3(乙酰胆碱 M3 受体)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。

2.4 合并网络

运用 Cytoscape 3.6.1 软件中的 Merge 功能将活性成分-靶点网络和 TTD 中抗 2 型糖尿病靶点 PPI 网络合并, 获得交集网络图, 见图 3。从而得到苍术-玄参药对发挥抗 2 型糖尿病作用的核心化合物 15 个, 关键靶点 10 个, 包括多巴胺 D1 受体、前列腺素 G/H 合成酶 2、二肽基肽酶 IV、前列腺素 G/H 合成酶 1、盐皮质激素受体、胰岛素等。



图 3 抗 2 型糖尿病作用活性成分-靶点网络
Fig. 3 anti-type 2 diabetes active ingredient-target network

2.5 KEGG 通路富集

运用 DAVID 数据库进行 KEGG 通路富集分析, 以分析苍术-玄参抗 2 型糖尿病活性成分-靶点网络中的 10 个靶蛋白在信号通路中的作用。结果显示 10 个靶蛋白涉及 9 条信号通路, 以 $P<0.05$ 筛选出 6 条信号通路, 见表 2。

表 2 KEGG 通路富集分析
Tab. 2 KEGG pathway enrichment analysis

编号	通路名称	基因数	P 值
hsa04923	Regulation of lipolysis in adipocytes	3	0.002
hsa03320	PPAR signaling pathway	3	0.003
hsa04931	Insulin resistance	3	0.008
hsa04152	AMPK signaling pathway	3	0.010
hsa04932	Non-alcoholic fatty liver disease(NAFLD)	3	0.015
hsa04960	Aldosterone-regulated sodium reabsorption	2	0.049

3 讨论

中医药在我国历史悠久, 在防治糖尿病等慢病方面具有独特优势, 与西药相比, 中药治疗糖尿病具有安全、温和、持久的优点, 因此, 降糖中药的研究近年来备受关注^[8]。研究报道, 苍术具

有抑制胃酸分泌、促进肠胃运动、降糖、抗菌消炎、保护心血管等作用^[9], 玄参及其各拆分组分对 2 型糖尿病大鼠具有降血糖作用^[10]。但苍术-玄参药对抗 2 型糖尿病的作用机制尚未完全阐明。本研究采用系统网络药理学预测了苍术-玄参对药抗 2 型糖尿病的主要活性成分及潜在分子作用机制。分析发现主要活性成分排名靠前的有十八烯酸、汉黄芩素、 β -谷甾醇、3 β -乙酰氧基苍术酮, 胡萝卜苷等。研究证实十八烯酸、汉黄芩素、 β -谷甾醇、胡萝卜苷均能明显降低 2 型糖尿病患者的血糖^[11-12]。

由抗 2 型糖尿病作用活性成分-靶点网络可知, 15 种活性成分 6 种来自苍术, 9 种来自玄参。苍术成分能够对 6 个关键靶点产生作用, 玄参成分对 9 个关键靶点产生作用, 苍术-玄参两药共同产生作用的核心靶点有 6 个, 这也为两药配伍治疗 2 型糖尿病的合理性提供了理论基础。近年来的研究表明 2 型糖尿病是一种慢性低度炎症状态, 炎症是诱发 2 型糖尿病的重要因素之一^[13]。研究证实, IL-6 可促进肝脏合成超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 等急性时相蛋白, 促进炎症发生, 是 2 型糖尿病的独立影响因素之一^[14]; 抑制 DPP4 可以阻断对 GLP-1 的降解, 因此增加了体内内源性 GLP-1 水平和活性, 从而促进胰岛素分泌^[15]; PPARG 基因定位于 3p25, 属于转录因子的核激素受体超家族, 在调节胰岛素敏感性方面具有重要作用^[16]。这些研究报道部分预示着通过网络药理学预测苍术-玄参药对作用靶点和通路的可行性, 可以把 IL6、PTGS2、DPP4、SCD、PPARG 等 10 个关键靶点作为苍术-玄参对药抗 2 型糖尿病的潜在作用靶点深入研究其作用机制。

由 KEGG 通路富集分析可知, 10 个关键靶点主要富集在 Regulation of lipolysis in adipocytes(脂肪细胞脂解调控通路), PPAR signaling pathway(过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路), Insulin resistance(胰岛素抵抗通路), AMPK signaling pathway(AMPK 信号通路)等 6 个信号通路。其中 P 值最小的是脂肪细胞脂解调节通路, 有可能是苍术-玄参治疗 2 型糖尿病的主要通路。研究表明, 脂质分解的调节与人类多种疾病如代谢综合征、胰岛素抵抗、肥胖症、糖尿病等密切相关^[17]。这也为下一步通过动物实验对苍术-玄参抗 2 型糖尿病作用机制研究指明了一个方向。

综上所述,本研究首次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初探,成功预测了苍术-玄参药对抗2型糖尿病的主要活性成分、作用靶点和相关信号通路,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。网络药理学是一种新兴的研究方法,本研究的结论仍存在局限性,尚需要基础和临床药理试验进一步验证。

REFERENCES

- [1] SUN L. Progress in treatment of diabetes and complications [J]. Med J Chin People's Health(中国民康医学), 2012, 24(2): 228.
- [2] Chinese Diabetes Society. Chinese guideline for the prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus(2017 edition) [J]. Chin J Diabet Mellitus(中华糖尿病杂志), 2018, 10(1): 4-67.
- [3] ZONG Y, DONG H L, CHEN T, et al. Mechanism of herb pair containing Scutellariae Radix and Coptidis Rhizoma on treatment of type 2 diabetes mellitus based on network pharmacology [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50(4): 888-894.
- [4] 吕景山. 施今墨对药[M]. 北京: 人民军医出版社, 1996: 107-108.
- [5] 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.
- [6] ZHAO J L, TANG S L, CHEN G M, et al. Therapeutic mechanism of Gegen Qinlian Tang based on systematic pharmacology in treatment of type 2 diabetes [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2018, 24(12): 199-209.
- [7] LI B, LEI S S, LI H, et al. Systematic understanding the mechanisms of Ji Mai Tong Tablet treatment on hypertension [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(1): 49-57.
- [8] SONG B L. Progress in active constituents of traditional Chinese medicine for treating type 2 diabetes [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2017, 28(5): 1193-1194.
- [9] DENG A P, LI Y, WU Z T, et al. Advances in studies on chemical compositions of *Atractylodes lancea* and their biological activities [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2016, 41(21): 3904-3913.
- [10] ZHANG N, LI Z H, YU H, et al. Antidiabetic activity of Radix Scrophulariae and its split fraction [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2016, 32(5): 55-60.
- [11] GU J X, DOU D Q. Studies on the anti-diabetic components of opuntia milpa alta haw [J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2007, 9(11): 15-16.
- [12] HOU Y L, ZHOU W. Effect of Hanbaicalin on fasting blood sugar in type 2 diabetic mice with high fat feeding and low dose STZ [J]. Guangdong Med J(广东医学), 2016, 37(17): 2569-2572.
- [13] HOTAMISLIGIL G S. Inflammation and metabolic disorders [J]. Nature, 2006, 44(7121): 960-967.
- [14] ZHANG L M, GAO L. Progress in the role of inflammatory cytokines in the pathogenesis of type 2 diabetes [J]. Chongqing Med(重庆医学), 2016, 45(8): 1113-1116.
- [15] GAO F, LI L P, LI H, et al. Frontiers in the treatment of diabetes [J]. Her Med(医药导报), 2016, 35(7): 679-687.
- [16] TANG X, LIN Y, HUANG W F, et al. The investigation of relationship between PPARG gene single nucleotide polymorphisms and blood lipid abnormality in patients with type 2 diabetic mellitus [J]. Lab Med(检验医学), 2009, 24(3): 190-193.
- [17] 胡丽莉. 慢性肾衰增加脂肪组织脂质分解[D]. 广州: 南方医科大学, 2010.

收稿日期: 2019-01-11
(本文责编: 曹粤锋)

<http://www.chinjmap.com>