

· TCMIP 中医药大数据研究和解析专题 ·

[编者按] TCMIP V2.0是一个集中医药大数据管理及整合药理学计算服务于一体化的智能化数据挖掘平台,包含国际权威数据库中医药百科全书(ETCM)的数据资源,可用于实现疾病、证候、中药药性相关分子查询和功能挖掘,中药(含方剂)靶标预测及作用机制研究,临床组方规律分析,中医药多维关联网络自定义构建和核心靶标群筛选等方面研究,通过系统集成和模块整合,化繁为简,最终快速实现“病-证-方”互作网络多层次关联的全套分析。

该专题借助TCMIP V2.0,选择经典名方、临床验方、中成药、数据库优选组方为研究对象,从微观、宏观层面系统解析了中药复方与其所治疗疾病之间复杂的相互作用关系,并从分子水平阐释了中药及方剂的作用机制,可为中药新药开发、经典名方研制、配伍规律解析等方面研究提供借鉴。

## 基于数据挖掘和整合药理学的马齿苋治疗糖尿病的 处方发现及分子机制探讨

侯金丽<sup>1</sup>, 王萍<sup>2</sup>, 张彦琼<sup>2</sup>, 唐仕欢<sup>2</sup>, 刘峰<sup>3</sup>, 俞励平<sup>4</sup>, 许海玉<sup>2,3\*</sup>

(1. 云南中医药大学 中药学院, 昆明 650500; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;  
3. 陕西国际商贸学院, 陕西 咸阳 712046; 4. 广州中大药物开发有限公司, 广州 510000)

[摘要] 目的:基于中医药大数据创建用于治疗糖尿病的含马齿苋的新方剂并探讨其治疗糖尿病的分子机制。方法:以“马齿苋”为关键词,利用中医传承辅助平台和中医药百科全书在线数据库(ETCM),挖掘与马齿苋联合使用频次最高的药物,组成新的方剂;基于中医基础理论分析该新方剂治疗糖尿病的合理性,并运用中医药整合药理学研究平台(TCMIP)对新方剂进行靶标预测,构建药物与糖尿病相关疾病靶标相互作用网络,富集分析药物干预疾病关键靶标,绘制“中药-成分-关键靶标-通路”网络图。结果:ETCM含马齿苋的方剂共89首。其中与马齿苋联合使用频次较高的药物有黄柏、生地黄、防风,将这4味中药组成新方剂。针对该新方剂治疗糖尿病共得到89条关键核心靶标信息,其中药物与疾病共有靶标10条,包括磷脂酰肌醇-3激酶调节亚基1(PIK3R1),胰岛素(INS),葡萄糖激酶(GCK)等,新方剂主要通过调控生长激素受体信号、蛋白激酶A(PKA)激活、磷脂酰肌醇-3激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号、肾上腺素能受体等通路治疗糖尿病。结论:通过中医药大数据分析创建的含马齿苋新方剂对糖尿病的治疗作用体现了中药多成分、多靶点、多通路的特点,可为阐释其治疗糖尿病的作用机制与物质基础提供科学依据。

[关键词] 马齿苋; 中医传承辅助平台(TCMISS); 中医药百科全书在线数据库(ETCM); 整合药理学; 方剂; 蛋白激酶; 分子机制

[中图分类号] R22;R28;R587;C37 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2020)24-0001-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201552

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200610.1358.003.html>

[网络出版日期] 2020-6-10 17:04

### Discussion on Prescription Discovery and Molecular Mechanism of Portulacae Herba in Treating Diabetes Mellitus Based on Data Mining and Integrative Pharmacology

HOU Jin-li<sup>1</sup>, WANG Ping<sup>2</sup>, ZHANG Yan-qiong<sup>2</sup>, TANG Shi-huan<sup>2</sup>, LIU Feng<sup>3</sup>, YU Li-ping<sup>4</sup>, XU Hai-yu<sup>2,3\*</sup>  
(1. School of Chinese Materia Medica, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

[收稿日期] 20200216(023)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2017YFC1702303,2017YFC1702104);国家自然科学基金项目(81830111,81774201);陕西省高校青年创新团队和陕西省科技厅项目(2016SF-378)

[第一作者] 侯金丽,在读硕士,从事中药药理学研究,E-mail:1006223205@qq.com

[通信作者] \*许海玉,博士,研究员,博士生导师,从事中药整合药理学研究,Tel:010-64014411,E-mail:hy\_xu627@163.com

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3. Shaanxi Institute of International Trade & Commerce, Xianyang 712046, China; 4. Guangzhou Zhongda Pharmaceutical Development Co. Ltd., Guangzhou 510000, China)

**[Abstract]** **Objective:** A new prescription containing *Portulacae Herba* was created and the molecular mechanism of the new prescription for treating diabetes was clarified based on big data of traditional Chinese medicine (TCM). **Method:** Taking *Portulacae Herba* as the key word, the TCM Inheritance Support System and Encyclopedia of TCM (ETCM) were used to excavate the most frequently used medicines combined with *Portulacae Herba*, and form a new prescription. Based on the basic theory of TCM, this paper analyzed the rationality of the new prescription in treating diabetes, and used the Integrative Pharmacology-based Research Platform of TCM (TCMIP) to predict the target of the new prescription, and constructed the interaction network between drugs and targets of diabetes-related diseases, the key targets of drug intervention were enriched and analyzed, and the network graph of TCM-chemical composition-key target-pathway was drawn. **Result:** There were 89 prescriptions containing *Portulacae Herba* in ETCM. The most frequently used medicines in combination with *Portulacae Herba* were *Phellodendri Chinensis Cortex*, *Rehmanniae Radix* and *Saposhnikovia Radix*, the four medicines were combined into a new prescription. According to the new prescription to treat diabetes, 89 key core target information was obtained, among which there were 10 targets of drug and disease, including phosphoinositide-3 kinase regulatory subunit 1 (PIK3R1), insulin (INS), glucokinase (GCK), etc. The new prescription treated diabetes by regulating growth hormone receptor signaling, protein kinase A (PKA) activation, adrenoceptors and other pathways. **Conclusion:** The therapeutic effect of new prescription containing *Portulacae Herba* created by big data analysis of TCM on diabetes reflects multi-component, multi-target, multi-pathway characteristics of TCM, which can provide scientific basis for explaining the mechanism and material basis of this new prescription in the treatment of diabetes.

**[Key words]** *Portulacae Herba*; Traditional Chinese Medicine Inheritance Support System (TCMISS); Encyclopedia of TCM (ETCM); integrative pharmacology; formula; protein kinase; molecular mechanism

糖尿病是一个全球性的严重公共卫生问题,2017年全球约4.25亿成人糖尿病患者,中国患者人数达1.14亿,居世界首位<sup>[1]</sup>。糖尿病属于严重危害人民健康的慢性非传染性疾病,持续高血糖与长期代谢紊乱等可导致全身组织器官,特别是眼、肾及神经系统的损害及其功能障碍和衰竭,对患者的身心健康造成了极大的影响<sup>[2]</sup>。当前治疗糖尿病的药物主要有双胍类、磺脲类、苯甲酸衍生物类促泌剂和 $\alpha$ -糖苷酶抑制剂等,这些药物以控制血糖为主要目的,需要长期服用,随着病情发展剂量逐渐增加,从而导致肝肾功能损伤以及出现多种并发症<sup>[3]</sup>。中医药对糖尿病认识和治疗具有一定的优势,糖尿病属于“消渴”范畴,最早记载于《黄帝内经》,中医以“标本兼治”为原则,通过辨证论治,既能有效降低血糖,又能有效控制并发症<sup>[4]</sup>。

马齿苋为马齿苋科植物马齿苋 *Portulaca oleracea* 的干燥地上部分,又称“长寿菜”“天然抗生素”等,唐代《本草拾遗》记载马齿苋具有“破痲癖,止消渴”功效,同时,在《新修本草》《本草备要》《外台秘要》等多本古籍文献记载马齿苋对糖尿病并发

症有治疗作用,如“目盲,白翳”“多年恶疮”“足趾甲疽,肿烂”“头面浮肿、心腹胀满”等。现代药理研究表明,马齿苋有抗菌、降血脂、抗肿瘤、抗氧化、增强免疫力等作用<sup>[5]</sup>。马齿苋水煎剂和水煎醇沉液对链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病大鼠有降血糖作用,且毒副作用小<sup>[6]</sup>。马齿苋多糖可显著降低空腹血糖水平,提高糖尿病大鼠空腹血清胰岛素水平和胰岛素敏感指数值<sup>[7]</sup>。本课题组前期参照文献<sup>[6]</sup>对STZ诱导的I型糖尿病小鼠模型进行降糖预试验考察,结果表明马齿苋确有降低血糖的作用。

中药复方(方剂)是中医临床用药的主要形式,然而,当前缺乏含马齿苋的方剂用于糖尿病及其并发症的治疗,同时马齿苋及其复方治疗糖尿病及糖尿病并发症的作用机制尚不明确,这均限制了马齿苋的临床应用,因此,创制新药显得尤为重要。目前中药新药候选处方主要来源于经典方剂、名医名家的经验方剂、确有成效的中成药的二次开发和根据实验室现代药理研究结果组成的方剂<sup>[8]</sup>。而对于以上4种方式无法得到的处方应如何快速、准确、可行地进行中药核心组合的筛选,缩短新药研发周

期,是当前研究需要解决的科学问题。基于此,本研究经过大量探索,确定了一种新的药物研发模式,以中医药百科全书在线数据库(ETCM)为基础,利用中医传承辅助平台(TCMISS)对目标方剂进行频次统计、组方规律分析;运用中医药整合药理学研究平台(TCMIP)对分析结果进行靶标预测并构建多层次关联网络图。基于分析结果创建用于治疗糖尿病的含马齿苋的方剂,并明确其分子机制,为新药研发和临床应用提供依据。

## 1 数据与方法

**1.1 含马齿苋方剂的来源和组成分析** 利用ETCM (<http://www.nrc.ac.cn:9090/ETCM/>)<sup>[9]</sup>共收集3 979首中药成方制剂。对ETCM中含有马齿苋的方剂进行收集整理,以“马齿苋”作为检索关键词,共得到89个处方。在此基础上,通过TCMISS V2.5进行数据挖掘和分析,包括药物基本信息统计、频次统计、组方规律分析等方面<sup>[10]</sup>。

**1.2 治疗糖尿病方剂的来源和组成分析** 以“糖尿病”或“消渴”为关键词在ETCM进行方剂提取,得方剂392首,借助TCMISS V2.5进行数据挖掘。

**1.3 方剂成分靶标预测和疾病靶标群获取** TCMIP V2.0 (<http://www.tcmip.cn/TCMIP/index.php>)<sup>[11]</sup>以ETCM为基础,具有中药(含方剂)靶标预测及功能分析、疾病相关分子集及其功能挖掘、组方用药规律分析、中医药关联网络挖掘等功能。在含马齿苋方剂组成分析和治疗糖尿病方剂组成分析基础上,创建含马齿苋治疗糖尿病的基本处方,在此基础上,利用中药(含方剂)靶标预测及功能分析功能,选择含马齿苋治疗糖尿病的基本处方的药物组成,获得相对应的靶标。其中靶标预测原理为利用MedChem Studio(version 3.0)软件对中药方剂成分二维结构与DrugBank中认证药物(Approved)进行结构相似性搜索,以Tanimoto系数进行相似性打分,设定相似性分数 $\geq 0.8$ 时,可获得该方剂中药化学成分的潜在靶标。TCMIP V2.0的疾病相关分子集及其功能挖掘功能作为疾病分子靶标挖掘的一个工具,该功能系统收集和整理了人类表型本体数据库(HPO),在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM),疾病相关的基因与突变位点数据库(DisGeNet),人类最全的罕见病知识库(Orphanet)等数据库。以“Diabetes Mellitus”为关键词,获取糖尿病的疾病靶标集。方剂靶标集和疾病靶标集的分子功能和参与通路通过基因本体(GO)数据库和京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库富集获得。

**1.4 网络构建与分析** 通过TCMIP V2.0的中医药关联网络挖掘功能模块进行网络构建、分析、可视化。方剂作用潜在靶标集与疾病靶标集通过蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)数据库获得相互作用关联,该平台镶嵌了人类注释与预测蛋白相互作用数据库(HAPPI),生物学通路辅助数据库(Reactome),在线人类蛋白相互作用预测数据库(OPHID),蛋白质相互作用数据库(InAct),人类蛋白文献数据库(HPRD),生物分子相互作用数据库(MINT),蛋白相互作用数据库(DIP),包含PDZ结构域的蛋白质相互作用数据库(PDZBase)等数据库中PPI数据。网络分析通过计算网络特征值获得,以节点连接度(degree)的2倍中位数为卡值,选取中药靶标-疾病基因相互作用网络的核心节点(hubs);在此基础上,以degree,节点紧密度(closeness)和节点介度(betweenness)的中位数为卡值,选取同时满足3个卡值的节点为中药方剂矫正疾病失衡网络的关键核心靶标网络。degree和closeness能确定在网络中节点的拓扑结构重要性,数值越大说明越重要<sup>[12]</sup>。选取P前十的通路绘制“中药方剂-中药材-关键药效成分-核心靶标-关键通路”的网络图。见图1。

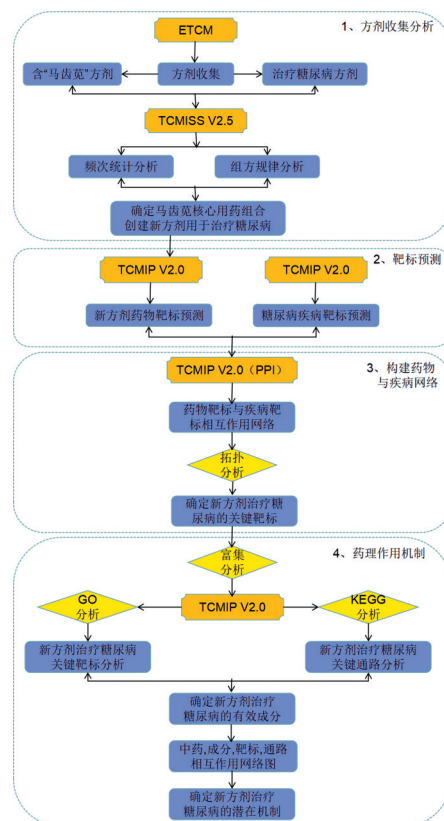


图1 含马齿苋新方剂治疗糖尿病的数据挖掘流程  
Fig. 1 Data mining process of new prescription containing Portulacae Herba for treatment of diabetes mellitus

## 2 结果与分析

**2.1 含马齿苋方剂的中医疾病频次分析** 利用TCMISS V2.5对89首含有马齿苋的中药成方制剂进行中医疾病频次统计,结果分析出主治疾病共有63种,无治疗糖尿病或消渴症的方剂,其中频次 $\geq 2$ 次的有11种,包括频次为5次的痔疮和频次均为2次的疔疮、金疮、丹毒、疮疡、痔漏、血风疮、痢疾、难产、臃疮、发背。因糖尿病属于慢性疾病,患者长期患病,免疫力低下,常诱发丹毒、臃疮、发背等<sup>[13]</sup>,其中疮疡、血风疮为糖尿病并发症常出现的症状<sup>[14-15]</sup>。

**2.2 含马齿苋方剂的常用药物频次及核心用药组合分析** 在以马齿苋为关键词搜索的89首方剂中,共涉及269味中药,常与马齿苋配伍的中药有18味

(频次 $\geq 5$ 次),即频次为89次的马齿苋,频次为8次的黄柏,频次为7次的生地黄、防风,频次为6次的荆芥、蒺藜、芒硝、花椒,频次为5次的槐枝、白芷、皂荚、楸叶、地榆、赤芍、甘草、苦参、葱白、五倍子。基于关联规则Apriori算法<sup>[16]</sup>对含马齿苋方剂进行组方规律分析,分别设置支持度(表示在所有方剂里该组合同时出现的频次至少占总处方数的百分比)为4%,6%,8%,置信度0.9,基于此对常用药物组合及核心药物组合进行数据挖掘及分析。结果发现当支持度设定为4%时,能够较全面显示出与马齿苋配伍药物的使用情况;随着支持度增加至8%,核心药物配伍部分逐渐凸显,马齿苋常与黄柏、生地黄、防风联合使用治疗疾病。不同支持度下网络化展示见图2。

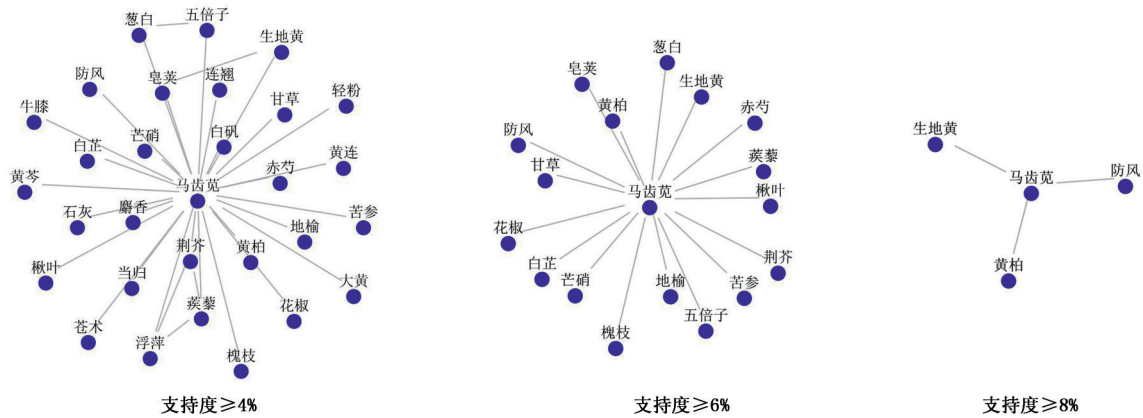


图2 含马齿苋方剂常用药物组合的网络分析

Fig. 2 Network analysis of commonly used medicine combinations in prescriptions containing *Portulacae Herba*

**2.3 治疗糖尿病常用药物频次和新方剂的方解分析** 利用TCMISS V2.5,按疾病“糖尿病”或“消渴”提取出录入系统中的相关中药,共计387味。然后进行药物使用频次统计(频次 $\geq 6$ 次),结果与马齿苋联合使用频次最高的3味中药(生地黄、黄柏、防风)均包含其中,见表1。基于中医基础理论对马齿苋、黄柏、生地黄、防风配伍组成的新方剂治疗糖尿病及其并发症的科学性进行分析。赵进喜等<sup>[17]</sup>认为糖尿病中医病机的核心是“热”,纵观糖尿病的整个发展阶段,热性病机贯穿始终,清热药物的应用是糖尿病中医药治疗中的重要组成部分,也是取得良好疗效的关键环节。糖尿病的证候主要为阴虚燥热、气阴两虚,治当益气养阴、清热。基于中药四气五味理论分析,该方以甘寒为主,苦辛酸相配。生地黄甘寒,滋阴清热,黄柏味苦主降,配以防风、马齿苋的辛、酸味使升降同调,气机得以宣畅。由于防风主要通过调节全身代谢间接达到治疗糖尿病的目的,因此防风与糖尿病证候之间的关系为间接

作用关系<sup>[18]</sup>。综上所述,该新创方剂遵循“急则治其标,缓则治其本”的原则,在控制血糖的同时,可防治糖尿病引起的并发症,达到标本兼治,见图3。

### 2.4 新创方剂治疗糖尿病的分子机制探讨

**2.4.1 新创方剂治疗糖尿病“药物靶标-疾病靶标”核心网络分析** 运用TCMIP V2.0对药物、疾病进行靶标预测,共得到药物靶标1177个,疾病靶标173个,基于PPI数据库,构建药物与疾病靶标之间的相互作用网络,见图4。在TCMIP V2.0设定同时满足大于节点“连接度”“介度”“紧密度”的中位数为卡值,得到关键核心靶标89个,其中关键核心靶标大部分为药物潜在靶标(putative drug targets),例如腺苷酸环化酶1(ADCY1),丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶1(AKT1),5-羟色胺受体2C(HTR2C),5-羟色胺受体7(HTR7)和 $\beta_1$ 肾上腺素受体(ADRB1)等,药物与疾病共有靶标10个,即磷脂酰肌醇-3激酶调节亚基1(PIK3R1),胰岛素(INS),蛋白酪氨酸磷酸酶1(PTPN1),焦磷酸酶/磷酸二酯酶1(ENPP1),葡萄

表1 对糖尿病有治疗作用的常用中药频次分析

Table 1 Frequency analysis of commonly used traditional Chinese medicines with therapeutic effect on diabetes mellitus

中药	频数/次	中药	频数/次	中药	频数/次	中药	频数/次	中药	频数/次
麦冬	131	泽泻	26	肉苁蓉	14	陈皮	10	龙骨	7
甘草	114	瓜蒌	24	山药	14	冬瓜	10	车前子	7
茯苓	103	乌梅	23	芦根	14	枇杷叶	10	犀角	7
人参	101	牡蛎	23	芍药	13	桔梗	9	巴戟天	7
天花粉	100	山茱萸	19	菟丝子	13	半夏	9	槟榔	6
黄连	85	升麻	19	石斛	13	赤石脂	9	广藿香	6
知母	65	苦参	18	小麦	13	远志	9	龙胆	6
生地黄	62	肉桂	18	栀子	13	木通	9	大枣	6
葛根	43	当归	18	枸杞子	12	赤芍	8	芒硝	6
黄芪	39	枳壳	17	玉竹	12	附子	8	白蜜	6
石膏	38	桑白皮	16	白芍	12	朱砂	8	桑螵蛸	6
黄芩	37	柴胡	15	牡丹皮	12	白茅根	8	防风	6
五味子	35	茯神	15	生姜	12	天冬	8	鹿茸	6
地骨皮	30	铅丹	14	牛膝	12	竹叶	8	水银	6
熟地黄	29	木香	14	黄柏	11	厚朴	7	苦杏仁	6
白术	27	玄参	14	大黄	11	干姜	7	猪苓	6

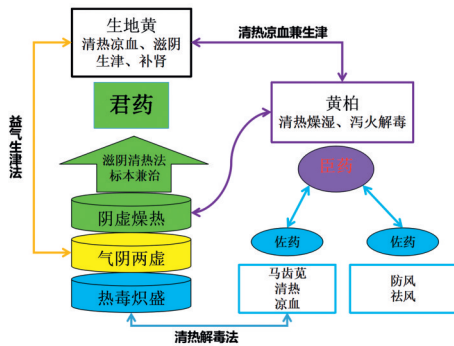
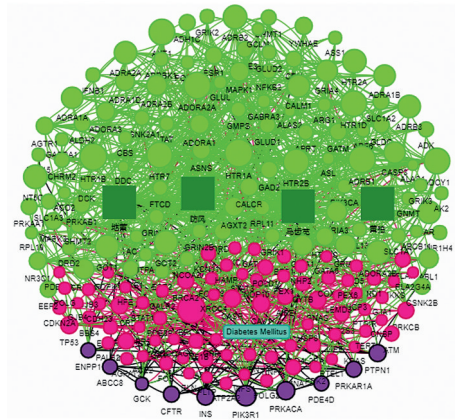


图3 新创方剂的君臣佐使方解分析

Fig. 3 Prescription analysis of new prescription

糖激酶(GCK),环磷酸腺苷依赖的磷酸激酶A调节亚基1 $\alpha$ (PRKAR1A),囊性纤维化跨膜转导调节因子(CFTR),磷酸二酯酶4D(PDE4D),环磷酸腺苷(cAMP)依赖性蛋白激酶 $\alpha$ 催化亚基(PRKACA),腺苷三磷酸结合盒转运蛋白C8(ABCC8)。

其中已有研究证实与糖尿病发病机制相关的靶标有PIK3R1,PIK3R1在胰岛素信号传导中起关键作用。胰岛素信号传导障碍与胰岛素抵抗的发生有着密切的关系<sup>[19]</sup>。GCK在胰岛细胞和肝脏中受葡萄糖和胰岛素调控,当血液葡萄糖浓度升高进入胰岛 $\beta$ 细胞内,刺激GCK促进胰岛素释放,随着血液胰岛素水平升高,肝脏中GCK基因表达增强,肝脏摄取葡萄糖及合成糖原的能力增加,最终导致



紫色表示共有靶标;红色表示疾病靶标;绿色表示药物靶标

图4 新方剂治疗糖尿病的核心靶标网络

Fig. 4 Core target network of new prescription for treatment of diabetes mellitus

血液葡萄糖浓度降低<sup>[20]</sup>。由ABCC8基因编码的磺脲类受体1(SUR1)广泛存在于胰岛 $\beta$ 细胞、脑和肌肉组织中,其是三磷酸腺苷(ATP)敏感性钾通道( $K_{ATP}$ 通道)的组成亚基之一,在胰岛 $\beta$ 细胞中SUR1亚基可以通过调节 $K_{ATP}$ 通道的活性来影响胰岛素的分泌。当ABCC8基因突变后会导致 $K_{ATP}$ 通道活动发生异常,从而导致新生儿糖尿病<sup>[21]</sup>。胰岛 $\beta$ 细胞损伤和分泌功能受损是糖尿病发病的关键因素,可溶性N-乙基马来酰亚胺敏感性因子附着型蛋白受体(SNARE)复合物是调节胰岛素分泌的重要环节,CFTR在糖尿病胰岛 $\beta$ 细胞中低表达是 $\beta$ 细胞胰岛素分泌减少和功能受损的一个重要因素。CFTR通过调控SNARE复合物的组合,参与调控 $\beta$ 细胞分泌功能,通过调控胰岛 $\beta$ 细胞增殖、凋亡参与调节胰岛损伤<sup>[22]</sup>。INS在机体糖代谢调控中发挥着不可替代的作用,INS通过其受体底物与受体结合调控PI3K的活性,使蛋白激酶B(PKB/Akt)磷酸化,促进葡萄糖摄取与利用<sup>[23]</sup>。

与糖尿病并发症相关的靶标有ENPP1,ENPP1是胰岛素信号传导的关键调节剂,ENPP1表达水平升高会抑制多种细胞中胰岛素受体的酪氨酸激酶活性,从而导致胰岛素抵抗。ENPP1基因多态性、胰岛素抵抗和糖尿病肾病的发展有关<sup>[24]</sup>。ENPP1基因突变可引起糖尿病视网膜病变<sup>[25]</sup>,并且可以增加冠状动脉疾病的患病风险<sup>[26]</sup>。蛋白尿是糖尿病肾病的主要特征,是肾小球毛细血管壁通透性增加或近端小管内吞作用减弱的结果。研究发现糖尿病动物的肾皮质和近端小管内吞作用的关键成分CFTR下调可引起糖尿病动物肾脏的近端小管内吞作用和肾小球滤过功能障碍<sup>[27]</sup>。新生糖尿病患儿

钾通道中SUR1亚单位的ABCC8基因突变会引起糖尿病酮症酸中毒<sup>[28]</sup>。血管重塑在糖尿病心血管并发症的发病机制中起着至关重要的作用。通过上调微小RNA(miR-24)调控PI3K/Akt信号通路上的PIK3R1基因,抑制细胞增殖、迁移和基质沉积,从而抑制血管平滑肌细胞的血管重塑<sup>[29]</sup>。

基于GO和KEGG数据库对新方剂(马齿苋、生地黄、黄柏、防风)的化学成分药物靶标-疾病靶标进行基因和通路分析,根据P显示前10个条目。新方剂治疗糖尿病关键靶标基因功能条目显示,其中与治

疗糖尿病及其并发症发病机制相关的基因功能有G蛋白偶联受体、腺苷酸环化酶激活作用、肾上腺素能受体、血管收缩等条目,具体结果见表2。靶标通路富集分析表明,通路功能富集在肾上腺素能受体和PI3K/Akt信号通路等,相关结果见表3。有研究表明肾上腺素受体基因突变与胰岛素抵抗、非胰岛素依赖型糖尿病、肥胖及高血压病的发病有关<sup>[30]</sup>。PI3K/Akt信号通路是胰岛素的主要下游分子通路,与细胞生长、分化、增殖、凋亡及葡萄糖转运密切相关,其异常是胰岛素抵抗和2型糖尿病发生的基本机制<sup>[31]</sup>。

表2 新创方剂治疗糖尿病关键靶标基因功能信息

Table 2 Enriched gene ontology terms for biological processes from new prescription for treating diabetes mellitus

ID	条目	数目/个	P
GO:0007165	信号转导(signal transduction)	48	2.81×10 <sup>-24</sup>
GO:0007186	G蛋白偶联受体信号通路(G-protein coupled receptor signaling pathway)	39	1.12×10 <sup>-23</sup>
GO:0071880	腺苷酸环化酶激活肾上腺素能受体信号通路(adenylate cyclase-activating adrenergic receptor signaling pathway)	10	9.48×10 <sup>-19</sup>
GO:0042493	药物反应(response to drug)	20	5.54×10 <sup>-17</sup>
GO:0007188	腺苷酸环化酶调节G蛋白偶联受体信号通路(adenylate cyclase-modulating G-protein coupled receptor signaling pathway)	12	6.05×10 <sup>-17</sup>
GO:0007187	G蛋白偶联受体信号通路,环核苷酸第二信使偶联信号通路(G-protein coupled receptor signaling pathway, coupled to cyclic nucleotide second messenger)	12	2.23×10 <sup>-16</sup>
GO:0071875	肾上腺素能受体信号通路(adrenergic receptor signaling pathway)	7	2.08×10 <sup>-15</sup>
GO:0007190	腺苷酸环化酶活性的激活(activation of adenylylase activity)	9	3.07×10 <sup>-14</sup>
GO:0007189	腺苷酸环化酶活化G蛋白偶联受体信号通路(adenylate cyclase-activating G-protein coupled receptor signaling pathway)	12	1.09×10 <sup>-13</sup>
GO:0098664	G蛋白偶联血清素受体信号通路(G-protein coupled serotonin receptor signaling pathway)	7	1.39×10 <sup>-10</sup>

表3 新创方剂治疗糖尿病的关键靶标通路信息

Table 3 Enriched KEGG pathways of potential targets from new prescription for treating diabetes mellitus

ID	条目	数目/个	P
R-HSA-390696	肾上腺素能受体(adrenoceptors)	8	1.37×10 <sup>-16</sup>
R-HSA-418555	Gαs信号过程[G alpha (s) signalling events]	16	3.62×10 <sup>-14</sup>
R-HSA-390666	血清素受体(serotonin receptors)	7	1.55×10 <sup>-12</sup>
R-HSA-417973	腺苷P1受体(adenosine P1 receptors)	4	4.30×10 <sup>-9</sup>
R-HSA-442720	通过激活腺苷酸环化酶使环磷酸腺苷反应元件结合蛋白1磷酸化(CREB1 phosphorylation through the activation of adenylylase)	5	2.56×10 <sup>-8</sup>
R-HSA-6811558	磷脂酰肌醇-5-磷酸,蛋白磷酸酶2A和早期应答基因3调节的PI3K/Akt信号(PI5P, PP2A and IER3 regulate PI3K/Akt signaling)	9	1.41×10 <sup>-7</sup>
R-HSA-74749	信号衰减(signal attenuation)	4	8.70×10 <sup>-7</sup>
R-HSA-982772	生长激素受体信号(growth hormone receptor signaling)	5	1.27×10 <sup>-6</sup>
R-HSA-163615	蛋白激酶A激活(PKA activation)	4	9.44×10 <sup>-6</sup>
R-HSA-164378	胰高血糖素信号传导中的PKA激活(PKA activation in glucagon signalling)	4	9.44×10 <sup>-6</sup>

与治疗糖尿病并发症相关的通路功能主要富集在腺苷受体,PI3K/Akt信号通路,PKA信号通路,

生长激素受体信号通路等。糖尿病酮症酸中毒是糖尿病的一种急性并发症,研究表明通过调节糖尿

病小鼠的PKA信号通路,可抑制脂肪分解和肝酮生成,改善酮症酸中毒<sup>[32]</sup>。糖尿病视网膜病变是糖尿病的微血管并发症,有研究发现胰岛素样生长因子结合蛋白-3(IGFBP-3)在糖尿病视网膜病变中具有显著的血管保护作用,通过激活高血糖视网膜内皮细胞中的PKA信号通路可以调节IGFBP-3<sup>[33]</sup>。miR-21通过过表达抑制第10号染色体同源丢失性磷酸酶-张力蛋白基因(PTEN)的表达,从而激活PI3K/Akt信号通路,刺激糖尿病视网膜病变大鼠视网膜血管内皮细胞的活性和血管的生成,抑制细胞凋亡<sup>[34]</sup>。腺苷受体是神经传递和炎症反应的重要调节剂<sup>[35]</sup>,而神经变性和炎症环境是糖尿病视网膜病变发展进程中的关键因素。胰高血糖素样肽-1(GLP-1)可以保护心脏微血管免受氧化应激、细胞凋亡以及由此产生的糖尿病微血管屏障功能障碍,有助于改善糖尿病患者的心脏功能和心脏葡萄糖代谢。GLP-1的保护作用依赖于PKA信号通路下游视紫红质(Rho)基因的抑制作用<sup>[36]</sup>。有文献记载糖尿病肾病随着核苷水平的增加而发展,而核苷的生理作用是由腺苷受体的P1家族介导的<sup>[37]</sup>。另有研究发现腺苷受体在肾小球生理和血管内皮生长因子中产生的作用有望用于糖尿病肾病的治疗与干预<sup>[38]</sup>。成纤维细胞生长因子1<sup>ΔHBS</sup>(FGF1<sup>ΔHBS</sup>)通过抑制氧化应激和炎症改善肾功能障碍,其作用机制分别通过激活糖原合酶激酶-3β/核转录因子E2相关因子2(GSK-3β/Nrf2)途径和抑制凋亡信号调节激酶1/c-Jun氨基末端激酶(ASK1/JNK)信号传导途径来介导,深入研究发现,这2个途径均受FGF1<sup>ΔHBS</sup>激活的PI3K/Akt信号通路的控制<sup>[39]</sup>。由糖尿病周围神经病变引起的糖尿病足可以通过上调PI3K/Akt信号通路上的miR-9而发挥神经保护作用,进而达到治疗作用<sup>[40]</sup>。胡其娴<sup>[41]</sup>研究发现生长激素受体在糖尿病患者及动物模型中均存在表达异常,认为生长激素受体与糖尿病及其并发症有密切的关系。综上所述,提示新方剂对糖尿病及其并发症都有很好的治疗作用。

**2.4.2 “中药材-关键药效成分-核心靶标-关键通路”多维关联网络分析** 通过TCMIP V2.0绘制的“中药-成分-关键靶标-通路”网络可视化图见图5。关键通路根据P显示前20个通路,这些通路涉及多个方面,如糖代谢、乙醛酸代谢等多个代谢通路;还有前文提到影响糖尿病发病机制的通路,包括PI3K/Akt信号通路、生长激素受体信号通路以及PKA信号通路等。参与这些通路的核心靶标主要

有PIK3R1, INS, GCK, PTPN1, PRKAR1A, PRKACA, α2A肾上腺素能受体基因(ADRA2A)等。与其作用的化学成分有木蜡酸、梓醇、去甲肾上腺素、黄柏碱、药根碱及多糖等。大量研究表明多糖及去甲肾上腺素有降糖作用。地黄多糖可以提高肥胖大鼠血清中GLP-1和葡萄糖依赖性促胰岛素释放肽(GIP)的水平,进而发挥对肥胖型糖尿病的降血糖作用<sup>[42]</sup>。马齿苋多糖可降低由四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠的血糖值<sup>[43]</sup>;去甲肾上腺素可以促进胰岛分泌胰岛素,以调节人体内糖代谢过程,从而降低血糖,起到维持血糖稳定的作用<sup>[44]</sup>。而黄柏中小檗碱的降糖机制则是通过增加患者葡萄糖的消耗,改善葡萄糖耐量,进而达到降低血糖的作用<sup>[45]</sup>。

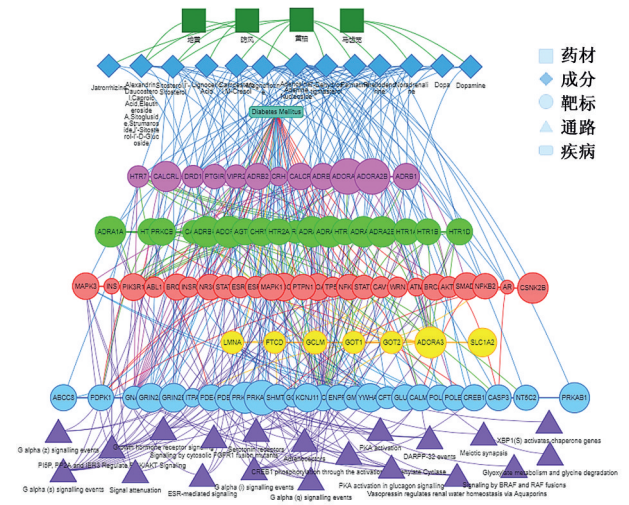


图5 新创方剂治疗糖尿病的“中药-成分-关键靶标-通路”多维关联网络

Fig. 5 Multi-dimensional association network of Chinese materia medica-component-key targets-pathway of new prescription for treating diabetes mellitus

糖尿病的并发症累及多个器官,致死率、致残率高,因此临床治疗除控制血糖外,对并发症的治疗也尤为重要。研究表明黄柏的有效成分药根碱通过调节Akt/一磷酸腺苷活化蛋白激酶/内皮型一氧化氮合酶(Akt/AMPK/eNOS)信号通路可改善血管内皮功能紊乱,使炎症反应减轻,从而降低糖尿病血管并发症发生<sup>[46]</sup>;黄柏碱则可通过调控Toll样受体4/Nod样受体蛋白3(TLR4/NLRP3)信号通路降低体内炎症因子水平,从而对急性肾损伤发挥保护作用<sup>[47]</sup>。地黄的有效成分梓醇因具有激活内源性β-内啡肽通路、增强骨骼肌对葡萄糖的摄取、增加肝糖原的合成、减少小肠对葡萄糖的吸收、抗氧

化等药理作用,对糖尿病及其并发症如糖尿病肾病、糖尿病脑病和糖尿病周围神经病变也有一定的防治作用<sup>[48]</sup>。另有研究表明,以防风为君药的防风通圣散联合二甲双胍片对腹型肥胖的2型糖尿病患者有较好的疗效<sup>[18]</sup>。而对于伴有便秘和肥胖的糖尿病患者,防风通圣散可通过改善便秘,促进全身代谢,减少内脏脂肪,降低胰岛素用量,达到治疗糖尿病的目的。现代药理研究也表明防风具有抗炎、抗过敏、调节免疫及血液流变等功效<sup>[49]</sup>,这些功效对于糖尿病肾病足细胞损伤也有一定的保护作用。

### 3 讨论

中药组方是中医临床治病的主要形式<sup>[50]</sup>。研究发现马齿苋对糖尿病有治疗作用,但缺乏含马齿苋的临床有效方剂,限制了其临床应用。为此,本研究以ETCM为基础,运用TCMISS,基于关联规则Apriori算法<sup>[16]</sup>对含“马齿苋”方剂和治疗糖尿病方剂进行组方规律分析,获得马齿苋常用组合药物频次及糖尿病方剂中常用药物的使用频次,从而以“马齿苋”为关键药材,创制了新的治疗糖尿病的方剂(黄柏、生地黄、防风、马齿苋)。综观全方,诸药相合,共奏益气养阴、清热解毒之功,符合中医理论对糖尿病的治疗法则要求。

4味药材对糖尿病及其并发症的治疗作用虽有诸多报道<sup>[5,42-43,51]</sup>。但其组成的新方剂,治病机制并不清楚。整合药理学平台能够明确方剂药效物质基础及其治疗疾病的分子机制,因此,本文借助TCMIP V2.0分析新方剂的治病机制,分析结果中新方剂在糖尿病治疗方面发挥药效的成分主要为梓醇、黄柏碱、药根碱、去甲肾上腺素及多糖等,这些有效成分既可作用于PIK3R1和GCK等与胰岛素抵抗、糖代谢相关的靶标,又与多个经典代谢通路(PI3K/Akt和PKA)相关,这与现有的有关糖尿病的文献报道一致,可能是新方剂治疗糖尿病及其并发症的分子机制。针对上述分析所得结果对关键成分、靶标进行分析,进一步佐证了本文分析结果的可靠性,再结合上述分析绘制新方剂治疗糖尿病的“功效-病机-药材-成分-靶标-通路”关联性分析图,见图6。

安全、有效、质量可控是所有药物的金标准,对于含多种成分的中药方剂质量控制更为关键。化学成分的可测性是确定质量标志物的重要依据。2015年版《中国药典》规定采用HPLC测定地黄中梓醇的含量和黄柏中黄柏碱、小檗碱的含量。孙雪梅等<sup>[52]</sup>采用HPLC测定黄柏中药根碱的含量。刘迪

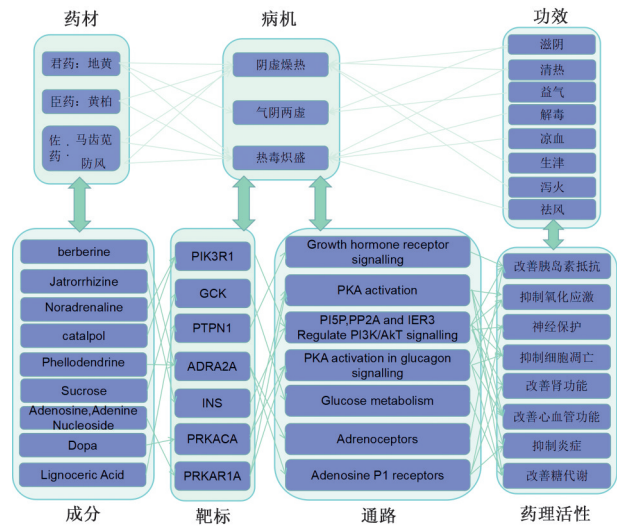


图6 新创方剂的“功效-病机-药材-成分-靶标-通路”解析

Fig. 6 Analysis of efficacy-pathogenesis-medicinal herbs-composition-target-pathway of new prescription

等<sup>[53]</sup>采用液相色谱定量分析方法测定马齿苋中去甲肾上腺素的含量。综上所述,新组方中的梓醇、黄柏碱、小檗碱、药根碱、去甲肾上腺素与其有效性密切相关,是其可能的主要药效物质基础,可作为质量标志物。本研究既从宏观角度上了解中药的运用规律,又从微观角度获取其潜在的分子机制,充分结合了传统中医理论与现代医学研究的优势。但本研究仅是基于现有研究结果的一个预测,新创方剂尚需进一步的动物试验或临床研究加以完善、验证与确认,但本研究能为新方剂的创制提供一种新的研究思路。

### 【参考文献】

- [1] International Diabetes Federation (IDF). IDF diabetes atlas-8th edition [EB/OL]. <http://www.diabetesatlas.org>, 2019-09-15/2020-02-20.
- [2] 杨文英. 中国糖尿病的流行特点及变化趋势[J]. 中国科学:生命科学, 2018, 48(8): 812-819.
- [3] 傅晓晴. 中西医结合治疗糖尿病的优势探讨[J]. 福建中医学院学报, 2001, 11(3): 55-57.
- [4] 贺宁. 中医治疗“糖尿病”的优势[A]. 中国中西医结合学会. 第七届全国中西医结合营养学术会议论文资料汇编[C]. 北京: 出版社不详, 2016: 485-486.
- [5] 牛广财, 朱丹. 马齿苋化学成分及其药理作用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(6): 1090-1092.
- [6] 高红梅, 陈新, 王月珍. 马齿苋降血糖有效部位研究[J]. 长春中医药大学学报, 2012, 28(3): 536-537.
- [7] BAI Y, ZANG X L, MA J S, et al. Anti-diabetic effect of *Portulaca oleracea* L. polysaccharide and its mechanism in diabetic rats[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17

- (8):1201-1214.
- [ 8 ] 唐仕欢,陈建新,杨洪军,等. 基于复杂系统熵聚类方法的中药新药处方发现研究思路[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2009,11(2):225-228.
- [ 9 ] 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.
- [10] 耿亚,马月香,许海玉,等.《中药成方制剂》含山楂方剂用药规律研究[J]. 中国中药杂志,2016,41(15):2932-2937.
- [11] 许海玉,刘振明,付岩,等. 中药整合药理学计算平台的开发与应用[J]. 中国中药杂志,2017,42(18):3633-3638.
- [12] 曼琼,王婷婷,唐纯玉,等. 基于整合药理学策略分析小儿扶脾颗粒对功能性消化不良的精准应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(11):173-179.
- [13] 王晓岩,方芳,王卫群,等. 左下肢丹毒合并Ⅱ型糖尿病护理体会[J]. 西南军医,2009,11(4):776.
- [14] 王璐,吴寅. 浅述从湿毒论治糖尿病足[J]. 新疆中医药,2010,28(3):76-78.
- [15] 王世伟. 糖尿病皮肤瘙痒症治疗体会[J]. 实用中医药杂志,2013,29(9):772-773.
- [16] 李健,卢朋,唐仕欢,等. 基于中医传承辅助系统的治疗肺病方剂组方规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):254-257.
- [17] 赵进喜,冯兴中,仝小林,等. 论糖尿病的中医核心病机与基本治法[J]. 北京中医药,2019,38(1):3-6.
- [18] 吴艳,郑承红. 防风通圣散联合二甲双胍片治疗腹型肥胖2型糖尿病临床观察[J]. 湖北中医杂志,2011,33(2):23-24.
- [19] KARADOĞAN A H, ARIKOĞLU H, GOKTURK F, et al. PIK3R1 gene polymorphisms are associated with type 2 diabetes and related features in the Turkish population [J]. *Adv Clin Exp Med*, 2018, 27 (7) : 921-927.
- [20] 朱垚吉,王文娟,李庆生. 2型糖尿病遗传倾向及其关联基因研究进展[J]. 中国慢性病预防与控制,2015,23(3):229-232.
- [21] 朱静,何芷萍,张光亚,等. ABC8基因突变与新生儿糖尿病关系的研究进展[J]. 医学综述,2017,23(12):2424-2428.
- [22] 张伟伟,杨震,张洪梅,等. 囊性纤维化跨膜传导调节因子(CFTR)在胰岛β细胞损伤和胰岛素分泌过程中的作用及机制研究[A]. 中华医学会. 中华医学会第十二次全国内分泌学学术会议论文汇编[C]. 重庆:出版社不详,2013:189.
- [23] 吴金梅,范颖,李新,等. 基于析因设计探讨黄芪葛根配伍对糖尿病大鼠骨骼肌Ins/APN/LEP及其受体的影响[J]. 中华中医药学刊,2019,37(6):1349-1351.
- [24] SORTICA D A, CRISPIM D, ZAFFARI G P, et al. The role of ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 in diabetic nephropathy [J]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2011, 55(9):677-685.
- [25] GOHARI L S, SHARAF SHAH A, ABBASPOUR S, et al. Single locus and haplotype association of ENPP1 gene variants with the development of retinopathy among type 2 diabetic patients [J]. *Int Ophthalmol*, 2020, 40(3):639-647.
- [26] SUMI S, RAMACHANDRAN S, RAMANKUTTY V, et al. ENPP1 121Q functional variant enhances susceptibility to coronary artery disease in South Indian patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Mol Cell Biochem*, 2017, 435(1/2):67-72.
- [27] FIGUEIRA M F, CASTIGLIONE R C, DELEMOSBABOSA C M, et al. Diabetic rats present higher urinary loss of proteins and lower renal expression of megalin, cubilin, CIC-5, and CFTR [J]. *Physiol Rep*, 2017;5(13):e13335.
- [28] SOOD S, LANDRETH H, BUSTINZA J, et al. Neonatal diabetes: case report of a 9-week-old presenting diabetic ketoacidosis due to an activating ABC8 gene mutation [J]. *J Investig Med High Impact Case Rep*, 2017, 5(1):2324709617698718.
- [29] CAI W, ZHANG J, YANG J, et al. MicroRNA-24 attenuates vascular remodeling in diabetic rats through PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2019, 29(6):621-632.
- [30] 丁国宪,沈捷,陈家伟. 胰岛素抵抗的分子遗传学病因[J]. 中华内科杂志,1998,37(6):30-32.
- [31] SONG Z X, GUO Y F, ZHOU M, et al. The PI3K/p-Akt signaling pathway participates in calcitriol ameliorating podocyte injury in DN rats [J]. *Metabolism*, 2014, 63(10):1324-1333.
- [32] PARK J H, SEO I, SHIM H M, et al. Melatonin ameliorates SGLT2 inhibitor-induced diabetic ketoacidosis by inhibiting lipolysis and hepatic ketogenesis in type 2 diabetic mice [J]. *J Pineal Res*, 2020, 68(2):e12623.
- [33] THAKRAN S, ZHANG Q H, MORALES-TIRADO V, et al. Pioglitazone restores IGFBP-3 levels through DNA PK in retinal endothelial cells cultured in hyperglycemic conditions [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(1):177-184.
- [34] LU J M, ZHANG Z Z, MA X, et al. Repression of microRNA-21 inhibits retinal vascular endothelial cell growth and angiogenesis via PTEN dependent-PI3K/

- Akt/VEGF signaling pathway in diabetic retinopathy [J]. *Exp Eye Res*, 2020, 190: 107886.
- [35] VINDEIRINHO J, SANTIAGO A R, CAVADAS C, et al. The adenosinergic system in diabetic retinopathy [J]. *J Diabetes Res*, 2016, doi: 10.1155/2016/4270301.
- [36] WANG D J, LUO P, WANG Y B, et al. Glucagon-like peptide-1 protects against cardiac microvascular injury in diabetes via a cAMP/PKA/Rho-dependent mechanism[J]. *Diabetes*, 2013, 62(5): 1697-1708.
- [37] QUEZADA C, ALARCÓN S, JARAMILLO C, et al. Targeting adenosine signaling to treatment of diabetic nephropathy [J]. *Curr Drug Targets*, 2013, 14 (4) : 490-496.
- [38] MARTÍN R S, VALLADARES D, ROA H, et al. Do adenosine receptors offer new therapeutic options for diabetic nephropathy?[J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2009, 7(4):450-459.
- [39] WANG D Z, JIN M Y, ZHAO X Y, et al. FGF1<sup>ΔHBS</sup> ameliorates chronic kidney disease via PI3K/AKT mediated suppression of oxidative stress and inflammation[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(6):464.
- [40] FAN L, ZHANG H F, LI X B, et al. Emodin protects hyperglycemia-induced injury in PC-12 cells by up-regulation of miR-9 [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2018, 474: 194-200.
- [41] 胡其娴. 生长激素受体及其亚型与糖尿病及其并发症的关系[J]. *医学综述*, 2011, 17(20):3117-3120.
- [42] 蔡春沉, 王洪玺, 王肃. 地黄多糖对肥胖糖尿病大鼠模型的治疗作用及对血清中 GLP-1、GIP 水平的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(18):4506-4507.
- [43] 李凤林, 余蕾. 马齿苋多糖降血糖与血脂作用研究 [J]. *中国食品添加剂*, 2011(1):64-68.
- [44] 张兆洪, 孙美荣. 保健植物马齿苋[J]. *生物学杂志*, 1991, 18(1):26-27.
- [45] 范景辉, 赵玉梅, 李志平. 小檗碱的药理作用研究 [J]. *中国药物经济学*, 2014, 9(6):220-221.
- [46] 王云山, 张洪, 张晓春. 药根碱对糖尿病模型大鼠血管 Akt/AMPK/eNOS 信号通路的影响[J]. *医药导报*, 2017, 36(10):1107-1111.
- [47] 姜盈盈, 林岳. 黄柏碱改善脓毒症大鼠急性肾损伤的作用及机制研究[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2019, 25(6):882-887.
- [48] 许瑞, 刘莉, 毕艳平, 等. 梓醇对糖尿病及其并发症作用的研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2015, 13(9):1082-1085.
- [49] 方莉, 张培培, 马红珍. 加味黄风汤对糖尿病肾病足细胞损伤保护机制研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2016, 18(12):121-123.
- [50] 周萍, 罗华丽, 胡红. 大黄与栀子的配伍机制及临床意义[J]. *重庆医学*, 2013, 42(16):1814-1816.
- [51] 杨兆庚, 陈宝琴. 防风治疗脱疽[J]. *中医杂志*, 2003, 44(6):411-412.
- [52] 孙雪梅, 卢先明, 邓晶晶, 等. HPLC测定黄柏不同部位中的盐酸小檗碱和盐酸药根碱[J]. *华西药学杂志*, 2010, 25(5):101-102.
- [53] 刘迪, 王彬, 张莉, 等. 马齿苋中去甲肾上腺素和多巴胺的测定研究[J]. *食品科技*, 2017, 42(8):296-299.
- [责任编辑 刘德文]