

· 数据挖掘 ·

基于整合药理学策略的交泰丸治疗糖尿病的潜在机制分析

段灿灿¹, 吴先², 穆文碧², 杨沙², 陈启洪², 陈宽², 张建永^{2*}

(1. 遵义医科大学基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室, 贵州遵义 563003; 2. 遵义医科大学药学院, 贵州遵义 563009)

[摘要] 目的:交泰丸为中医治疗失眠的经典方剂,目前临床采用异病同治理念治疗糖尿病,且有较好的疗效,明确其潜在作用机制具有重要意义。方法:该研究基于整合药理学策略及平台(integrative pharmacology platform of traditional Chinese medicine TCMP)研究交泰丸的作用靶点及机制等,构建其治疗糖尿病的核心靶点网络,进一步对获取靶点进行基因功能及通路富集分析,构建可视化的“交泰丸-活性成分-核心靶点-关键通路”的多层次关联网络。结果:共得到交泰丸中活性成分 28 个。这些成分治疗糖尿病涉及核心靶点 187 个,包括疾病靶点 15 个,如精氨酸加压素受体 2(vasopressin V2 receptor, AVPR2),受体活性修饰蛋白 1(receptor activity-modifying protein 1, RAMP1),受体活性修饰蛋白 3(receptor activity-modifying protein 3, RAMP3),胰岛素受体(insulin receptor, INSR)及胰岛素样生长因子受体 1(insulin-like growth factor 1 receptor, IGF1R)等;潜在药物靶点 71 个,如细胞周期蛋白依赖性激酶 9(cyclin-dependent kinase 9, CDK9),葡萄糖激酶(glucokinase, GCK),核转录因子- κ B 抑制剂 α (NF- κ B inhibitor alpha, NF- κ B1 α),核转录因子- κ B p100 亚型(NF- κ B p100 subunit, NF κ B2)及缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor-1 alpha, HIF1 α)等。结论:交泰丸治疗糖尿病的机制涉及活化腺苷酸环化酶活性、细胞胰高血糖素反应、激活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)活性、内分泌系统、促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)信号通路、趋化因子及磷脂酰肌醇三激酶-丝氨酸/苏氨酸激酶(phosphatidylinositol 3-kinase-serine/threonine kinases, PI3K-Akt)等生物过程和信号通路等。该研究为深入探讨交泰丸治疗糖尿病的潜在机制提供了科学依据。

[关键词] 交泰丸; 整合药理学; 糖尿病; 潜在机制

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)08-0133-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190807

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190103.1440.001.html>

[网络出版时间] 2019-01-04 14:19

Potential Mechanism of Jiataiwan for Diabetes Based on Integrative Pharmacology Method

DUAN Can-can¹, WU Xian², MU Wen-bi², YANG Sha², CHEN Qi-hong²,
CHEN Kuan², ZHANG Jian-yong^{2*}

(1. Key Laboratory of Basic Pharmacology of Ministry of Education and Joint International Research Laboratory of Ethnomedicine of Ministry of Education, Zunyi Medical University, Zunyi 563003, China;
2. School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563009, China)

[Abstract] **Objective:** Jiataiwan is a classic prescription in traditional Chinese medicine for insomnia. Modern clinical research has proved its anti-diabetes effect by “the same treatment for different diseases” theory, so it is necessary to study its pharmacological mechanism for anti-diabetes effect. **Method:** In this study, the

[收稿日期] 20180919(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81560736,81803838);贵州省教育厅科技拔尖人才支持项目(黔教合 KY 字[2017]078);贵州省中药管理局课题项目(QZYY-2015-153);遵义医学院硕士启动基金项目(F-726)

[第一作者] 段灿灿, 硕士, 讲师, 从事中药复方作用机制研究, E-mail: duancancan2008@126.com

[通信作者] * 张建永, 博士, 副教授, 从事中药系统生物学研究, E-mail: zhangjianyong2006@126.com

integrative pharmacology platform of traditional Chinese medicine (TCMIP) was used to explore the potential target and mechanism of Jiaotaiwan, and construct its core target network for diabetes. Then the enrich analysis of GO and KEGG on key targets was conducted to build the visual multilayer association network of “Jiaotaiwan-active composition-core target-key pathway”. **Result:** 28 active ingredients were obtained from Jiaotaiwan in this study. Its anti-diabetes effect was relevant to 187 core targets, including 15 known disease targets such as vasopressin V2 receptor (AVPR2), receptor activity-modifying protein 1 (RAMPI), receptor activity-modifying protein 3 (RAMP3), insulin receptor (INSR), and insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R); as well as 71 predictive drug targets such as cyclin-dependent kinase 9 (CDK9), glucokinase (GCK), NF-kappa-B inhibitor alpha (NFKBIA), NF-kappa-B p100 subunit (NFKB2), and hypoxia inducible factor-1 alpha (HIF1A). **Conclusion:** The anti-diabetes mechanism of Jiaotaiwan may be associated with activation of adenylate cyclase activity, cellular response to glucagon stimulus, activation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) activity, endocrine system, gonadotropin-releasing hormone (GnRH) signaling pathway, Chemokine signaling pathway, phosphatidylinositol 3-kinase-serine/threonine kinases (PI3K-Akt) signaling pathway and other related biological processes and pathways. This study provides a scientific evidence for further study of the anti-diabetes mechanism of Jiaotaiwan.

[**Key words**] Jiaotaiwan; integrative pharmacology; diabetes; potential mechanism

经典名方作为中医药理论传承的代表性方剂,具有临床疗效确切,安全性好等特点,同时具有较好的市场应用前景。因此,经典名方成为了中医药研究的热点,其中经典名方的作用机制又是其临床有效性及优势的基础。然而经典名方多成分的属性决定了其必须采用系统和整合的策略来进行作用机制的研究。中药整合药理学是融合了中药学、药代动力学、药理学及计算科学等的一门新兴学科,其通过多层次整合和多模型计算等解析中药复方的作用原理,为有效成分辨识及作用机制等研究提供了新的策略^[1-2]。在上述理念的基础上,即能综合各学科交叉存在的技术壁垒,又能通过简易和实用的在线工具或平台进行快速整合尤为重要。有学者构建了中药整合药理学平台(TCMIP, <http://www.tcmip.cn/>),其通过从方剂到成分,最后到靶点,通路及网络分析的整合,实现多学科对接和有效融合^[3],从而为经典名方的机制研究提供了新的技术手段。

交泰丸作为中医经典名方,出自于明朝韩懋所著的《韩氏医通》,由黄连和肉桂组成。其中对其描述为:“黄连生用为君,佐官桂少许,煎百沸,入蜜,空心服,能使心肾交于顷刻”,明确了该方的药物配伍关系、使用方法及效用。清朝·王士雄著的《四科简效方》进一步丰富了其方义“生川连五钱,肉桂心五分,研细,白蜜丸,空心淡盐汤下,治心肾不交,怔忡无寐,名交泰丸”。从古至今本草文献交泰丸多用于心火炽盛,肾阳不足的水火未济之不寐、心悸、怔忡及遗精等病证,关于其对糖尿病“消渴”的论述较少^[4]。

随着现代生活方式的改变等,糖尿病的证候也趋多样化,结合中医“异病同治”及“肥者生内热”的理论,有学者提出临床用交泰丸防治心火炽盛,心肾失调型的糖尿病,并将交泰丸运用治疗肥胖型 2 型糖尿病(diabetes mellitus type 2, T2DM)患者中,取得了一定的疗效^[5]。动物实验发现交泰丸对胰岛素信号具有增敏作用,进而改善胰岛素抵抗,防治 T2DM 的效用^[6]。进一步研究发现交泰丸可通过增强磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶活性和上调葡萄糖转运蛋白 4 的表达治疗糖尿病小鼠模型^[7]。也有学者从不同配伍比例角度观察了交泰丸对高脂高热卡饲料喂养联合低剂量链脲佐菌素注射的 T2DM 大鼠的治疗作用,结果发现了黄连与肉桂改善血糖和血脂作用方面的剂量比例最佳为 2:1^[8]。综上所述,交泰丸治疗糖尿病具有很大的潜力,但目前对其治疗糖尿病的潜在作用机制仍不十分清楚。本研究采用整合药理学策略,通过系统构建交泰丸的多层次网络,解析其治疗糖尿病的主要活性成分及潜在作用机制,对进一步深入开发交泰丸具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 交泰丸的主要化学成分库构建 TCMIP 的中药材数据库和中药材化学成分数据库,这 2 个数据库收录了 400 余味中药材及 1.3 万余个化合物,通过分别检索“黄连”“肉桂”,收集检索获得的化学成分并进行汇总,建立“交泰丸”的主要化学成分库。

1.2 糖尿病疾病靶点钓取 通过 TCMIP 的疾病/证候靶标数据库,其整合了常用的药物靶点数据库,

如药物数据库 (drugbank) 及在线人类孟德尔遗传 (online mendelian inheritance in man, OMIM) 数据库等, 包含了疾病及症状相关的蛋白和基因信息, 通过此模块以“Diabetes”作为糖尿病的关键词进行检索, 钓取糖尿病相关的疾病蛋白和基因, 作为糖尿病的疾病靶点库。

1.3 交泰丸主要成分的候选靶点预测 采用 TCMIP 的靶点预测模块, 其通过美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的药物的 MACCS 分子指纹构建计算模型, 同时提取化学成分的分子指纹, 通过对比指纹相似性, 结果以 Tanimoto 系数进行相似性打分, 获取候选靶点。本研究首先将“交泰丸”的主要化学成分在平台计算, 然后获取一系列相关候选靶点, 最后以打分不低于 0.7 的靶点作为交泰丸作用的候选靶点网络。

1.4 整合网络构建与分析 通过整合了 HAPPI, Reactome, OPHID 等蛋白相互作用数据库, TCMIP 的蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 数据库, 获取交泰丸作用候选靶点与糖尿病疾病靶点之间的互作关系, 进一步通过 TCMIP 的网络分析模块, 计算交泰丸作用的候选靶点与糖尿病疾病靶点之间的互作关系的网络特征数据, 以“度 (degree)”的 2 倍中位数为卡值, 遴选候选靶点-疾病靶点互作网络的核心靶点; 同时, 以“degree”“紧密度 (closeness)”和“介数 (betweenness)”的中位数为卡值, 以满足 3 个卡值的靶点构建交泰丸作用的候选靶点-糖尿病疾病靶点互作用网络的核心靶点网络。进一步对获取的核心靶点网络与化学成分进行关联分析, 识别交泰丸治疗糖尿病的主要活性成分及核心靶点, 并基于平台的靶点功能模块, 对核心靶点进行基因功能及信号通路富集注释分析, 获取作用的关键信号通路, 通过网络关联获取交泰丸治疗糖尿病的活性成分及核心靶点网络的关系, 最后构建可视化的“交泰丸-活性成分-核心靶点-关键信号通路”的多层次关联的整合网络, 以揭示交泰丸治疗糖尿病的潜在作用机制。

2 结果与讨论

2.1 交泰丸候选靶点预测及功能、通路富集分析 通过系统, 共收集到交泰丸中黄连的主要化学成分 14 个, 多为生物碱类, 如小檗碱、黄连碱、药根碱、木兰花碱及巴马汀等。以及阿魏酸、柠檬苦素及黄柏内酯等。其中小檗碱在动物和临床实验中均显示较强的降糖活性, 其机制与加速糖酵解、激活 AMP 依赖的蛋白激酶通路等有关^[9]。本研究收集到交泰

丸中肉桂中主要成分 12 个, 多为挥发性成分, 如桂皮酸、桂皮醛、草木犀酸 [3-(2-羟基苯基) 丙酸] 等, 其中桂皮酸具有预防和治疗糖尿病及其并发症的作用, 其机制与刺激胰岛素释放、改善胰岛 β 细胞功能等有关^[10]。网络分析显示, 黄连和肉桂对应靶点数分别为 259 和 223 个。经进一步相似性打分筛选后, 得到黄连和肉桂的候选靶点数分别为 136 和 109 个, 二者共有靶点达 83 个, 提示黄连和肉桂可通过作用于共有靶点, 协同作用来治疗糖尿病。

对交泰丸作用的候选靶点进行基因功能分析, 遴选 TOP20 (*P* 值) 的功能, 主要涉及 *L*-抗坏血酸结合、线粒体电子传递、泛醌对细胞色素 C 的影响、氧化还原过程、外泌体等生物过程, 见表 1。进一步对候选靶点的信号通路富集分析, 可见交泰丸候选靶点主要涉及半乳糖代谢、淀粉和糖代谢、碳水化合物消化和吸收、氨基糖和核苷酸糖代谢等生物信号通路, 见表 2。

表 1 交泰丸候选靶点的生物过程分析

Table 1 Functional information of candidate target of Jiaotaiwan

编号	生物过程	靶点数目	<i>P</i> 值
GO:0031418	<i>L</i> -抗坏血酸结合	14	8.82×10^{-24}
GO:0006122	线粒体电子传递, 泛醌对细胞色素 c	9	4.66×10^{-15}
GO:0055114	氧化还原过程	30	4.89×10^{-13}
GO:0008121	泛醌-细胞色素 c 还原酶活性	7	1.20×10^{-12}
GO:0022625	胞浆大核糖体亚基	12	2.23×10^{-12}
GO:0070062	细胞外小体	65	2.05×10^{-11}
GO:0005750	线粒体呼吸链复合体 III	6	8.48×10^{-11}
GO:0018401	肽链-脯氨酸羟化合成 4-羟基-L-脯氨酸	5	1.04×10^{-10}
GO:0005506	铁离子结合	13	1.65×10^{-9}
GO:0044245	多糖消化	4	1.04×10^{-8}
GO:0048384	维甲酸受体信号通路	6	1.17×10^{-8}
GO:0006614	靶向膜的 SRP 依赖的协同翻译蛋白	10	3.71×10^{-8}
GO:0003708	维甲酸受体活性	4	5.18×10^{-8}
GO:0005975	碳水化合物代谢过程	11	7.36×10^{-8}
GO:0043020	NADPH 氧化酶复合物	5	7.79×10^{-8}
GO:0006119	氧化磷酸化	5	1.26×10^{-7}
GO:0032403	蛋白质复合物结合	14	1.30×10^{-7}
GO:0019083	病毒转录	10	1.85×10^{-7}
GO:0006954	炎症反应	17	2.61×10^{-7}
GO:0032870	细胞对激素刺激的反应	7	3.34×10^{-7}

2.2 交泰丸治疗糖尿病的核心靶点网络分析 通过对交泰丸作用的候选靶点与糖尿病疾病靶点进行蛋白质网络互作分析, 获得交泰丸作用的核心靶点

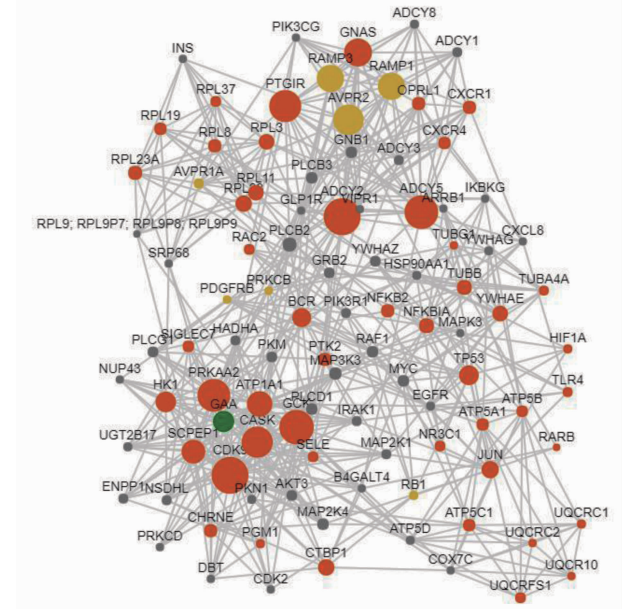
表 2 交泰丸候选靶点的信号通路富集注释分析

Table 2 Pathway information of candidate target of Jiaotaiwan

编号	信号通路	靶点数目	P 值
hsa00052	半乳糖代谢	8	2.26×10^{-7}
hsa00500	淀粉和蔗糖代谢	10	2.82×10^{-7}
hsa04973	碳水化合物消化吸收	9	4.12×10^{-7}
hsa04932	非酒精性脂肪性肝病	14	4.74×10^{-6}
hsa00520	氨基糖与核苷酸糖代谢	8	6.69×10^{-6}
-	碳水化合物代谢	21	7.58×10^{-6}
hsa05200	肿瘤信号通路	21	7.58×10^{-6}
-	消化系统	23	8.92×10^{-6}
hsa05012	帕金森病	13	1.31×10^{-5}
hsa05223	非小细胞肺癌	8	2.56×10^{-5}
hsa03010	核糖体	12	3.57×10^{-5}
hsa04260	心肌收缩	9	4.58×10^{-5}
-	内分泌代谢疾病	16	5.54×10^{-5}
-	循环系统	17	5.55×10^{-5}
hsa04920	脂肪细胞因子信号通路	8	1.31×10^{-4}
hsa00190	氧化磷酸化	11	1.46×10^{-4}
hsa04921	催产素信号通路	12	1.75×10^{-4}
hsa05140	利什曼病	8	1.95×10^{-4}
hsa05216	甲状腺癌	5	3.66×10^{-4}
hsa04066	HIF-1 信号通路	9	4.90×10^{-4}

187 个,包括已知疾病靶点 15 个,潜在药物靶点 71 个,其他靶点 100 个,通用靶点 1 个。通过分析核心靶点在不同类型靶点的分布可知交泰丸治疗糖尿病存在直接作用和间接作用,间接作用可能是其主要作用途径。选取 degree 值前 100 的核心靶点,构建交泰丸治疗糖尿病的核心靶点可视化网络,见图 1,其中图中节点越大,表明 degree 越大,越重要。在这些核心靶点中,degree 较大的有精氨酸加压素受体 2 (vasopressin V2 receptor, AVPR2),受体活性修饰蛋白 1 (receptor activity-modifying protein 1, RAMP1),受体活性修饰蛋白 3 (RAMP3),精氨酸加压素受体 1A (arginine vasopressin receptor 1A, AVPR1A),Rb 转录核心抑制子 1 (RB Transcriptional Corepressor 1, RB1),血小板衍生生长因子 β 受体 (platelet-derived growth factor receptor beta, PDGFRB),胰岛素受体 (insulin receptor, INSR),胰岛素样生长因子受体 1 (insulin-like growth factor 1 receptor, IGF1R) 等疾病靶点,细胞周期蛋白依赖性激酶 9 (cyclin-dependent

kinase 9, CDK9), 葡萄糖激酶 (glucokinase, GCK), 核转录因子- κ B 抑制剂 α (NF-kappa B inhibitor alpha, NF- κ BI α), 核转录因子-kappa p100 亚型 (NF- κ B p100 subunit, NF- κ B2), 缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor-1 alpha, HIF1 α) 等潜在药物靶点。以上结果表明这些靶点在交泰丸治疗糖尿病的核心靶点网络中比较重要。



红色代表潜在药物靶点,黄色代表已知疾病靶点,绿色代表通用靶点,灰色代表其他靶点

图 1 交泰丸治疗糖尿病的核心靶点网络

Fig. 1 Network of Jiaotaiwan candidate targets for diabetes

糖尿病属于代谢性多因素疾病,发病机制复杂,且伴有并发症。有研究表明 AVPR2 突变体可引起肾性尿崩症^[11],RAMP1,RAMP3 可通过促进能量代谢来调节能量稳态^[12]。INSR 参与胰岛素抵抗等过程^[13]。研究发现损伤的 IGF1R 相关信号通路会增加二型糖尿病的风险^[14]。CDK9 在减轻糖尿病心肌损伤中扮演了重要角色^[15]。GCK 可调节胰岛素释放,并是胰岛 β 细胞感受器^[16]。NF- κ BI α , NF- κ B2, toll 样受体 4 (toll like receptor 4, TLR4) 与炎症相关,亦何糖尿病相关^[17]。此外葡萄糖苷酶 α , 酸 (glucosidase alpha, acid, GAA) 为唯一的通用靶点,其抑制剂目前已作为糖尿病治疗的一个经典靶点^[18],推测交泰丸治疗糖尿病与直接抑制 GAA 活性以延缓碳水化合物的吸收。

2.3 核心靶点的生物过程、信号通路富集分析 对获得的交泰丸治疗糖尿病的核心靶点的基因功能分析见表 3,其中与糖尿病相关的基因功能可能涉及

活化腺苷酸环化酶活性、蛋白激酶活性、腺苷酸环化酶激活的 G 蛋白偶联受体信号通路、蛋白丝氨酸/色氨酸激酶活性、信号转导、细胞胰高血糖素反应、激活丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 活性等多个生物过程。如 MAPK 可参与胰岛素信号通路、调节糖脂代谢和氧化应激等^[19]。

表 3 交泰丸治疗糖尿病的生物过程分析

Table 3 Target functional information of Jiaotaiwan on diabetes

编号	生物过程	数目	P 值
GO:0005829	细胞溶质	93	3.08×10^{-24}
GO:0007190	腺苷酸环化酶活性的激活	14	1.45×10^{-19}
GO:0005524	三磷酸腺苷(ATP)结合	55	1.47×10^{-18}
GO:0004672	蛋白激酶活性	23	2.76×10^{-18}
GO:0007189	腺苷酸环化酶激活的 G 蛋白偶联受体信号通路	14	1.18×10^{-17}
GO:0004674	蛋白色氨酸/苏氨酸激酶活性	26	4.17×10^{-16}
GO:0007165	信号转导	43	8.02×10^{-16}
GO:0032403	蛋白复合物结合	22	1.30×10^{-15}
GO:0005515	蛋白结合	134	1.09×10^{-13}
GO:0006468	蛋白磷酸化	26	4.34×10^{-13}
GO:0071377	细胞对胰高血糖素刺激的反应	10	1.78×10^{-12}
GO:0007204	细胞内钙离子浓度的正调节	15	2.11×10^{-12}
GO:0031625	泛素蛋白连接酶结合	20	3.18×10^{-12}
GO:0030168	血小板激活	14	4.79×10^{-12}
GO:0043066	凋亡过程负调控	24	1.14×10^{-11}
GO:0008284	细胞增殖正调控	24	1.82×10^{-11}
GO:0000187	激活 MAPK 活性	13	2.84×10^{-11}
GO:0005179	荷尔蒙活性	12	1.01×10^{-10}
GO:0046777	蛋白质自磷酸化	15	1.19×10^{-10}
GO:0006171	环磷酸腺苷(cAMP)生物合成进程	7	1.39×10^{-10}

进一步对交泰丸治疗糖尿病的核心靶点进行信号通路富集注释分析,根据 P 值筛选关键信号通路,本研究仅列前 20 条通路,见表 4,结果显示交泰丸治疗糖尿病主要通过内分泌系统、促性腺激素释放激素 (gonadotropin-releasing hormone, GnRH) 信号通路、缝隙链接、前列腺癌、趋化因子、磷脂酰肌醇 3-激酶-丝氨酸/苏氨酸激酶 (phosphatidy-linositol 3-kinase-serine/threonine kinases, PI3K/Akt) 等信号通路来实现。

临床发现,糖尿病是内分泌系统紊乱的主要疾病之一。GnRH 可通过增加机体肥胖指数和胰岛素

表 4 交泰丸治疗糖尿病核心靶点的通路富集注释分析

Table 4 Target pathway information of Jiaotaiwan on diabetes

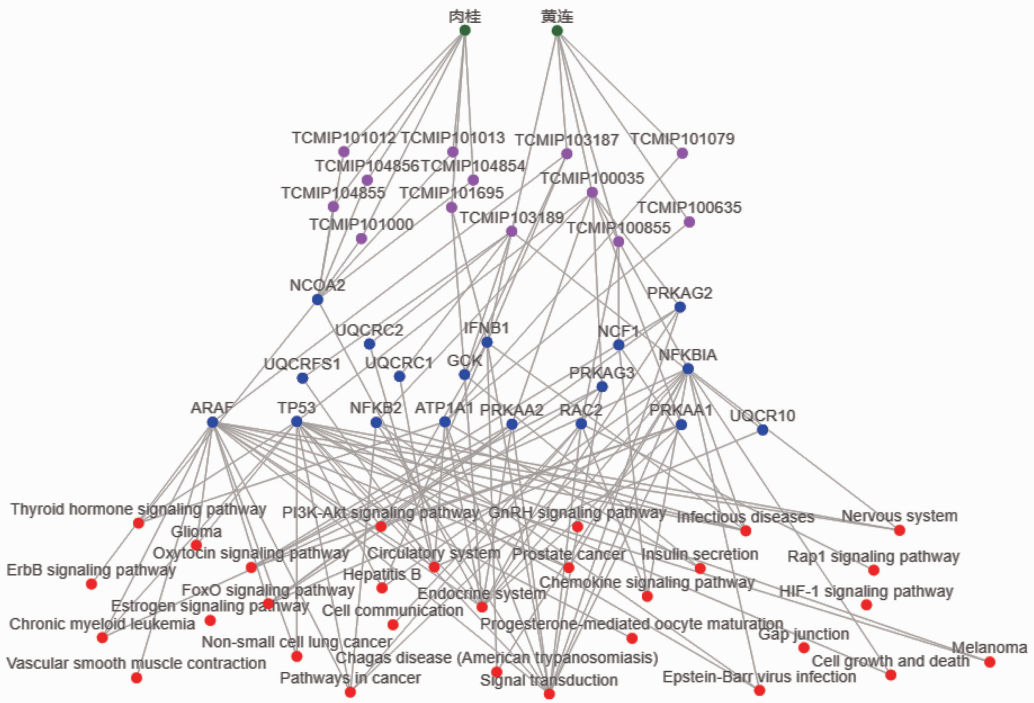
编号	信号通路	数目	P 值
-	内分泌系统	64	2.72×10^{-22}
hsa04912	GnRH 信号通路	25	1.06×10^{-19}
hsa04540	缝隙连接	24	7.39×10^{-19}
hsa05215	前列腺癌	24	7.39×10^{-19}
hsa05214	神经胶质瘤	21	1.98×10^{-18}
hsa05200	肿瘤信号通路	41	2.16×10^{-18}
hsa04062	趋化因子信号通路	32	2.60×10^{-18}
-	循环系统	37	2.68×10^{-18}
hsa04919	甲状腺激素信号通路	26	7.27×10^{-18}
-	信号转导	88	2.06×10^{-17}
hsa05223	非小细胞肺癌	19	3.17×10^{-17}
hsa05161	乙型肝炎	27	1.48×10^{-16}
hsa04915	雌激素信号通路	23	1.99×10^{-16}
hsa05220	慢性髓细胞样白血病	19	8.21×10^{-15}
-	细胞生长与死亡	35	1.33×10^{-14}
-	细胞通讯	41	1.76×10^{-14}
hsa04921	催产素信号通路	25	1.10×10^{-13}
hsa04151	PI3K/Akt 信号通路	36	1.50×10^{-13}
hsa04270	血管平滑肌收缩	22	1.72×10^{-13}
hsa04914	孕酮介导的卵母细胞成熟	19	2.12×10^{-13}

抵抗,抑制胰岛细胞胰岛素释放^[20],又有研究发现交泰丸中的主要活性成分小檗碱可通过调节肠道 GnRH 改善糖代谢^[21],但目前交泰丸作用于此通路尚未报道,值得进一步探索。趋化因子主要参与炎症过程,高糖可诱导趋化因子的表达^[22],可损伤 PI3k-Akt 信号通路,促进糖尿病中的内皮细胞增殖障碍^[23],且已有文献报道交泰丸调节 PI3K/Akt 信号通路增强胰岛素信号通路改善糖尿病大鼠症状^[6]。以上结果提示交泰丸可通过多种信号通路及途径发挥治疗糖尿病的作用。

2.4 交泰丸治疗糖尿病的“交泰丸-活性成分-核心靶点-关键信号通路”多层次整合网络分析 在 TCMIP 的“关键靶点分析”模块中,提取 P 值前 30 的信号通路作为关键信号通路(图 2 红色点),通过这些关键信号通路获取与其关联的核心靶点(图 2 蓝色点),交泰丸活性成分(图 2 粉色点)及中药组成(图 2 绿色点),构建交泰丸治疗糖尿病的“交泰丸-活性成分-核心靶点-通路”的多层次网络。从而将核心靶点网络与活性成分关联起来,分析网络可

知,交泰丸治疗糖尿病主要与 13 个化学成分相关,其中黄连有 6 个,分别为阿魏酸、木兰花碱、小檗碱、柠檬苦素、3-羧基-4-羟基-苯氧基葡萄糖苷及非洲防己碱。研究发现阿魏酸对四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠有保护作用,机制与抑制 NF- κ B 介导的炎症反应有关^[24]。小檗碱已被证实具有较好的降糖作用^[25]。关联的肉桂活性成分 7 个,包括原矢车菊素 A₁,原矢车菊素 B₂,原矢车菊素 B₁,原矢车菊素 B₁-6-C- β -D-葡萄糖苷,(4 β →8)-六表儿茶素,原矢车菊

素 B₅,原矢车菊素 B₇,均为原花青素类,提示肉桂中这类成分可能是其降糖的主要活性组分。在 T2DM 动物和临床实验中均证实此类原花青素可调节糖摄取,改善炎症/氧化应激状态,减少胰岛素抵抗等,推测机制与调节胰高血糖素样肽-1 水平有关^[26]。此外研究比较深入的活性成分原矢车菊素 B₂ 也被报道可通过抗炎作用改善糖尿病^[27]。通过上述网络可推测上述成分是交泰丸治疗糖尿病的活性成分,也验证了 TCMIP 预测的准确性。



绿色代表交泰丸的二味药材,粉色代表活性成分,蓝色代表核心靶点,红色代表信号通路

图 2 交泰丸的“交泰丸-活性成分-核心靶点-关键信号通路”网络

Fig. 2 “Compounds-targets-pathways” network of Jiotaowan

3 结论

经典名方在传承中医药理论、发挥中医特色与优势方面具有重要的、积极的临床应用价值^[28]。然而其多成分和多靶点的特点,使其作用机制研究一直是研究的热点和难点。采用传统天然药物化学的研究思路,对其分离单体后进行活性测试,难以体现中医复方的配伍和协同作用内涵^[29]。研究中药多成分与机体交互作用的整合药理学策略符合中医方剂在机体发挥功效的特点,为经典名方的研究提供了较好的途径和策略。然而如何具体整合需要多学科的合作和交流,形成学科交叉。TCMIP 应运而生,综合了各学科在中药整合药理学的技术手段和优势,为从事中医药的研究者提供了便捷、实用和更

有效的平台。

交泰丸作为治疗心肾不交的经典方剂,临床多用于失眠等治疗。现代研究发现其对糖尿病具有一定的疗效,但机制尚不明确。本文采用中药整合药理学平台 V1.0,研究交泰丸治疗糖尿病的潜在机制。研究发现交泰丸作用的核心靶点可通过直接和间接作用发挥治疗糖尿病作用,主要通过间接作用,从侧面角度反映了其“异病同治”的特点,同时提示交泰丸的“同治”的涵义可能为同一证候的不同疾病均可用其治疗。本研究通过“交泰丸-活性成分-核心靶点-关键信号通路”网络,发现了交泰丸治疗糖尿病的 13 个主要活性成分,同时这些主要活性成分可通过作用于 RAMP1, RAMP3, INSR, IGF1R,

CDK9, GCK, NFKBIA, NFKB2, HIF1A 等核心靶点发挥治疗糖尿病的作用, 这些靶点不同于常规降糖的靶点, 体现了交泰丸治疗糖尿病的独特性及优势。进一步将这些靶点进行富集分析发现, 交泰丸可主要通过内分泌系统, GnRH 信号通路, 趋化因子, PI3K/Akt 等信号通路达到治疗糖尿病的作用, 揭示了交泰丸多靶点多途径治疗糖尿病的多维机制。在这些通路中, 内分泌系统和 PI3K/Akt 是糖尿病中的经典通路, 且交泰丸中的活性成分也有报道, 提示交泰丸可通过干预这 2 条通路上的靶点发挥直接降糖作用; 同时 GnRH 信号通路、趋化因子等通路虽有其在糖尿病中的作用报道, 但交泰丸中为首次预测得到, 可能是其间接降糖的重要通路, 为下一步从实验角度进行验证提供了基础。

综上所述, 交泰丸治疗糖尿病可通过多靶点直接和间接作用治疗糖尿病, 且上述靶点和信号通路与文献报道的糖尿病的发病机制有一定的吻合性, 进一步表明 TCMIP 预测交泰丸机制的准确性, 更为重要的是, 发现的这些潜在靶点和机制, 对于后续研究具有重要的指导作用, 避免了盲目的机制探索。

本研究基于整合药理学策略对交泰丸治疗糖尿病的活性成分挖掘, 潜在作用靶点、通路等机制进行预测和网络分析, 得到的结果与实际情况可能存在偏差, 因此具体活性成分及分子机制仍需进一步通过实验来加以验证。

[参考文献]

[1] 许海玉, 杨洪军. 整合药理学: 中药现代研究新模式[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(3): 357-362.

[2] 张昌林, 吴荣焕, 盛泓沁, 等. 基于网络药理学的葛根苓连汤治疗 2 型糖尿病的效应机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(19): 179-188.

[3] 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.

[4] 张建永, 张滨, 段灿灿. 交泰丸治疗糖尿病的理论基础及应用[J]. 世界中医药, 2016, 11(3): 554-557.

[5] 白永生, 袁琳, 陆雄. 交泰丸治疗糖尿病琐议[J]. 河南中医, 2009, 29(3): 296-297.

[6] DONG H, WANG J H, ER L F, et al. Jiaotai Pill enhances insulin signaling through phos Phatidylinositol 3-Kinase pathway in skeletal muscle of diabetic rats[J]. Chin J Integer Med, 2013, 19(9): 668-674.

[7] HU N, YUAN L, LU X, et al. Anti-diabetic activities of Jiaotaiwan in db/db mice by augmentation of AMPK protein activity and upregulation of GLUT4 expression

[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, doi: 10.1155/2013/180721.

[8] 汪健红, 陆付耳, 董慧, 等. 不同配伍比例交泰丸对 2 型糖尿病大鼠的治疗作用[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(16): 2271-2276.

[9] YIN J, YE J, JIA W. Effects and mechanisms of berberine in diabetes treatment[J]. Acta Pharm Sin B, 2012, 2(4): 327-334.

[10] Adisakwattana S. Cinnamic acid and its derivatives: mechanisms for prevention and management of diabetes and its complications[J]. Nutrients, 2017, 9(2): 163.

[11] BAI Y, CHEN Y, KONG X. Contiguous 22.1-kb deletion embracing AVPR2 and ARHGAP4 genes at novel breakpoints leads to nephrogenic diabetes insipidus in a Chinese pedigree[J]. BMC Nephrol, 2018, 19(1): 26.

[12] ZHANG Z, LIU X, Morgan D A, et al. Neuronal receptor activity-modifying protein 1 promotes energy expenditure in mice[J]. Diabetes, 2011, 60(4): 1063-1071.

[13] Saltiel A R, Kahn C R. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism[J]. Nature, 2001, 414(6865): 799-806.

[14] Muller Y L, Skelton G, Piaggi P, et al. Identification and functional analysis of a novel G310D variant in the insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R) gene that associates with type 2 diabetes in American Indians[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2018, 34(4): e2994.

[15] ZHOU J, ZHOU S, TANG J, et al. Effect of berberine on Cdk9 and cyclin T1 expressions in myocardium of diabetic rats[J]. J Med Coll PLA, 2008, 23(1): 45-51.

[16] Osbak K K, Colclough K, Saintmartin C, et al. Update on mutations in glucokinase (GCK), which cause maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemic hypoglycemia[J]. Hum Mutat, 2009, 30(11): 1512-1526.

[17] Kaldunski M, JIA S, Geoffrey R, et al. Identification of a serum-induced transcriptional signature associated with type 1 diabetes in the Biobreeding rat[J]. Diabetes, 2010, 59(10): 2375-2385.

[18] Fa V D L, Lucassen P L, Akkermans R P, et al. Alpha-glucosidase inhibitors for patients with type 2 diabetes: results from a cochrane systematic review and meta-analysis[J]. Diabetes Care, 2005, 28(1): 154-163.

[19] Choi J, Kim K J, Koh E J, et al. Gelidium elegans extract ameliorates type 2 diabetes via regulation of MAPK and PI3K/Akt signaling[J]. Nutrients, 2018, 10(1): e51.

[20] Würzburger M I, Prelevic G M, SÖnksen P H, et al. Effects of improved blood glucose on insulin-induced hypoglycaemia, TRH, GnRH and exercise texts in

- insulin-dependent diabetes [J]. *Clin Endocrinol*, 2010, 32(6):799-807.
- [21] ZHANG Q, XIAO X, LI M, et al. Berberine moderates glucose metabolism through the GnRH-GLP-1 and MAPK pathways in the intestine [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2014, 14(1):188.
- [22] Shanmugam N, Reddy M A, Guha M, et al. High glucose-induced expression of proinflammatory cytokine and chemokine genes in monocytic cells [J]. *Diabetes*, 2003, 52(5):1256-1264.
- [23] Varma S, Lal B K, ZHENG R, et al. Hyperglycemia alters PI3k and Akt signaling and leads to endothelial cell proliferative dysfunction [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289(4):1744-1751.
- [24] Ramara M, Raman T, Priyadarsini A, et al. Protective effect of ferulic acid and resveratrol against alloxan-induced diabetes in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 690(1/3):226-235.
- [25] MA X, CHEN Z, WANG L, et al. The pathogenesis of diabetes mellitus by oxidative stress and inflammation: its inhibition by berberine [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:782.
- [26] Gonzalezabuín N, Pinent M, Casanovamarti A, et al. Procyanidins and their healthy protective effects against type 2 diabetes [J]. *Curr Med Chem*, 2015, 22(1):39-50.
- [27] YIN W, LI B, LI X, et al. Anti-inflammatory effects of grape seed procyanidin B2 on a diabetic pancreas [J]. *Food Funct*, 2015, 6(9):3065-3071.
- [28] 朱化珍, 陈德兴. 分子生物技术在中药复方药理研究中的应用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(7):278-280.
- [29] 殷小杰, 马晓静, 王岚, 等. 三黄泻心汤活血化瘀优势方抗动脉粥样硬化的作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(22):83-88.

[责任编辑 周冰冰]