

基于网络药理学探讨滋肾丸治疗糖调节受损（IGR）的作用机制

蒋春波¹，陆而立¹，梁国强^{1,2*}

¹南京中医药大学附属苏州市中医医院 江苏苏州

²苏州市吴门医派研究院 江苏苏州

【摘要】目的 利用网络药理学探讨滋肾丸治疗 IGR 的作用靶点、信号通路，揭示滋肾丸治疗 IGR 多靶点、多通路的干预作用机制。方法 借助 TCMSP 筛选滋肾丸的有效成分及相应靶点，利用 GeneCards 数据库筛选 IGR 疾病相关靶点。运用 STRING 数据库进行蛋白相互作用（protein-protein interaction, PPI）网络分析。通过 Cytoscape 构建化合物靶点网络、PPI 网络，利用 Draw VennDiagram 网站绘制韦恩图筛选交集靶点，运用 R 软件对滋肾丸作用靶点进行 GO 功能富集分析及 KEGG 通路分析。最终将滋肾丸的效应成分与核心靶点使用分子对接技术运行对接验证。结果 共得滋肾丸 51 个活性成分，对应 145 个靶点，包括与 IGR 相关靶点 130 个。其中，中心靶点为 HSP90AA1、TP53、JUN、MAPK1 和 ESR1 等。通过 GO 及 KEGG 富集分析，筛选出与滋肾丸主要成分相关的信号通路有 15 条。结论 基于网络药理学分析得出滋肾丸有效化学成分，发现滋肾丸可能通过炎症反应、调节免疫等多靶点、多途径作用于 IGR。

【关键词】糖调节受损（IGR）；网络药理学；滋肾丸；药理作用分子作用机制（中药）

【基金项目】江苏省卫生健康委员会医学科科研项目（M2021094）；江苏省高层次卫生人才“六个一工程”拔尖人才科研项目（LGY2020046）；苏州市第九批姑苏卫生重点人才项目（GSWS2022107）；苏州市第五批姑苏卫生拔尖青年人才项目（GSWS2019063）。

【收稿日期】2023 年 5 月 11 日 **【出刊日期】**2023 年 6 月 23 日 **【DOI】**10.12208/j.ircm.20231019

Mechanism research of Zishen Pill in the treatment of IGR based on network pharmacology

Chunbo Jiang¹, Erli Lu¹, Guoqiang Liang^{1,2*}

¹Suzhou TCM Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Suzhou, Jiangsu

²Suzhou Academy of Wumen Chinese Medicine, Suzhou, Jiangsu

【Abstract】 **Objective** To explore the targets and signal pathways of Zishen Pill in the treatment of IGR by using network pharmacology, and to reveal the mechanism of intervention of multiple targets and multiple pathways of Zishen Pill in the treatment of IGR. **Methods** The active ingredients and corresponding targets of Zishen Pill were screened with the help of TCMSP database, and the targets related to IGR disease were screened with GeneCards database. The STRING database was used for protein-protein interaction (PPI) network analysis. By using Cytoscape to build compound target network and PPI network; by using Draw Venn Diagram website to draw a Venn diagram, and using R software to perform gene ontology (GO) functional enrichment analysis and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG). Finally, the effective components of Zishen pills and the core target were used to perform docking verification by using molecular docking technology. **Results** A total of 51 active ingredients were obtained, with 145 corresponding targets, including 130 targets related to IGR, among which the central targets are HSP90AA1, TP53, JUN, MAPK1 and ESR1, etc. Through GO and KEGG enrichment analysis, all together 15 signal pathways related to the main components of Zishen Pill were screened

作者简介：蒋春波（1983-）男，江苏张家港，主任中医师，博士，硕士研究生导师，研究方向：中西医结合肾脏疾病的基础与临床研究。

*通讯作者：梁国强（1979-）男，蒙古族，辽宁喀左，副主任中医师，硕士，研究方向：中医经方、名方及吴门医派时方、验方药效物质基础及其配伍规律研究。

out. **Conclusion** Based on the network pharmacological analysis, the effective chemical components of Zishen Pill were found, and it was found that Zishen Pill may act on IGR through multiple targets and multiple pathways such as inflammation and immune regulation.

【Keywords】 Impaired glucose regulation; Network pharmacology; Zishen Pill; Molecular mechanisms of pharmacological action (TCD)

糖尿病已成为全世界特别是发展中国家重要的公共卫生问题, 以往的研究表明, 对患有 2 型糖尿病 (diabetes mellitus type 2, T2DM) 高风险人群的干预措施可以有效地预防糖尿病的发展。近几十年来的调查表明, T2DM 的患病率逐渐上升, 糖尿病前期之糖调节受损 (Impaired glucose regulation, IGR) 的患病率也逐渐上升, 包括葡萄糖耐量降低 (Impaired glucose tolerance, IGT) 和/或空腹葡萄糖受损 (Impaired fasting glucose, IFG)。IGR 是 T2DM 新发的重要风险、主要病源和预防节点, 一级预防管理推荐生活方式干预, 辅用非胰岛素促泌剂等降糖药防治, 但长期安全性和有效性尚需验证^[1]。

《国际中医药糖尿病诊疗指南 (2017 版)》指出无论肥胖型糖尿病 (脾瘕) 或消瘦型糖尿病 (消瘕), 其自然发展过程均将经历“郁、热、虚、损”不同阶段的病理演变, 以“核心病机-分类-分期-分证”为框架的糖尿病中医诊疗新体系得到了中西医同行的认可^[2]。从中医“整体观”看, IGR 当属于“郁、热”阶段, 与“早期正常血糖-胰岛素代偿性高分泌”、“糖尿病前期 (血糖轻度升高)”二期有机相映。“滋阴清热”法古方滋肾丸 (李东垣《兰室秘藏》) 以黄柏, 知母等量配伍, 少佐肉桂 (中国药典)。黄柏清热燥湿, 泻火除蒸为君, 知母清热泻火, 滋阴润燥为臣, 二者相须为用, 有补水泻火、滋阴清热之功, 主治阴虚内热、骨蒸盗汗, 是典型的治疗消渴的药对; 肉桂补火助阳, 引火归元, 散寒止痛, 温通经脉为佐药, 既能温补肾阳、行气利水, 又可缓和知母黄柏甘寒苦寒之效, 三者共奏“滋补阴液、清利内热”标本兼治之功效, 又可和缓甘寒苦寒伤脾胃之弊, 与 IGR“阴虚内热”有机相应。笔者团队临床研究发现, 滋肾丸可改善 IGR 患者胰岛素抵抗, 调控血中脂联素、胰岛素以及糖脂代谢等相关指标, 驱动了 IGR 的良性结局^[3,4]。本研究通过网络药理学方法, 筛选滋肾丸的药物活性成分以阐释治疗 IGR 的中药作用靶点和生物过程, 从生物复杂系统的角度探讨 IGR 对治疗 IGR 的潜在机制, 为后续基础实

验提供思路。

1 材料与方法

1.1 滋肾丸组方中化学成分及靶点收集

TCMSP (<http://lsp.nwu.edu.cn/>) 共收集了《中华人民共和国药典》(2010 年版) 记载的 499 味中药材, 包含了 12144 种化学成分。以“黄柏”、“知母”和“肉桂”为关键词, 检索 TCMSP 数据库获得滋肾丸组方中化学成分, 以口服生物利用度 (Oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$, 类药性 (Drug likeness, DL) ≥ 0.18 为条件^[5], 筛选滋肾丸组方有效成分, 下载并保存为 Mol2 格式, 并在该数据库中查询主要有效成分的相关靶点分子。

1.2 疾病相关靶点的检索与筛选分析

检索 GeneCard 数据库 (www.genecard.org), 以“Impaired glucose regulation”为关键词, 获得 IGR 相关疾病靶点^[6]。将滋肾丸组方中的有效成分靶点和 IGR 相关靶点上传至在线韦恩图 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 进行映射即两者取交集, 获得滋肾丸治疗 IGR 的潜在作用靶点。

1.3 构建药物成分-靶蛋白-疾病相互作用网络

将筛选得到的疾病-药物成分共同靶蛋白在 STRING 平台构建滋肾丸活性成分靶蛋白和 IGR 相互作用的 PPI 网络。采用 Cytoscape (version 3.7.2) 软件对数据进行网络可视化分析^[7]。网络中, 中药成分、靶点基因和相关疾病由节点表示, 2 个节点之间的相互作用由边表示。节点在网络中的重要性取决于节点的度数与节点相连边的数量, 度数越大, 该节点越重要。

1.4 关键靶点的中药药理调控网络

上述获得 TOP5 关键靶点对应的活性成分提出来, 构建了药物-活性成分-关键靶点基因网络关键, 并使用 Cytoscape 软件进行可视化分析^[8]。

1.5 生物学过程与通路分析

为了进一步研究关键靶点基因所发挥的功能, 本研究进行了功能富集分析。本项目采用 Cluster Profiler R 软件对滋肾丸的成分作用靶点进行基于

GO 数据库生物过程和 KEGG 数据库功能通路的富集分析, 寻找模块关键基因集合内大量基因共同的功能及相关通路 (结果筛选条件为 $P < 0.05$, $\text{counts} > 2$)^[9,10]。

1.6 滋肾丸成分-靶点分子对接

将 1.3 中获得的关键靶点与滋肾丸效应成分进行分子对接, 分子对接能有效确定与靶受体部位空间、作用力和电性特征匹配小分子化合物, 预测与靶点结合的可能性。首先将潜在关键治疗靶点输入蛋白质结构数据库 (ProteinData Bank, PDB), 下载靶点蛋白的 3D 结构, 运用 AutoDock 软件, 选择默认设置, 设置 GridBox 为整个蛋白分子, 运行 Autodock Vina 进行分子对接, 以验证靶点与化合物的结合活性, 得到结合能^[11,12]。

2 结果

2.1 滋肾丸有效成分及作用靶点

以 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 为筛选标准, 获得黄柏活性成分 42 个, 相关靶点 134 个; 知母活性成分 19 个, 相关靶点 91 个; 肉桂活性成分 10 个, 相关靶点 44 个。研究对每种药物获得药物靶点取交集, 最终获得 51 个活性成分, 145 个药物靶点。其中滋肾丸组方中的主要有效成分分析结果, 如下表 1。

2.2 疾病靶点筛选与蛋白相互作用网络构建

本研究在 GeneCards 数据库中共获得 7984 个相关靶点 (筛选条件为: $\text{Category} = \text{Protein Coding}$, $\text{Relevance score} \geq 1$)。本研究使用 R 语言 Venn Diagram 包对上述获得的药物靶点及 IGR 疾病靶点取交集, 共获得 130 个关键靶点。结果如下图 1, 图中粉色代表糖调节受损的疾病靶点, 蓝色表示药物靶点。

2.3 疾病靶点筛选与蛋白相互作用网络构建

为了探究关键靶点之间是否存在互作关系, 我们利用 STRING (<https://string-db.org>) 网站对 130 个关键靶点进行 PPI 网络构建。置信度为 0.8 ($\text{Confidence} = 0.8$), 去除离散的蛋白, 得到 108 个蛋白的互作网关系, 包括 108 个节点, 700 条边。然后本研究用 Cytoscape 软件对蛋白网络图进行可视化, 如下图 2 (其中线条代表它们之间的互作关系; 颜色表示他们的 Degree 值, 颜色越深表示 Degree 值越高, 越处于核心位置)。并且, 本研究对 PPI 网络中基因的 Degree 进行了排序, 并筛选 TOP5 的基因进行后续分析, Degree 排序 TOP5 的基因见表

2, 由此可知 HSP90AA1、TP53、JUN、MAPK1 及 ESR1 可能在糖调节受损的发生发展中发挥重要作用。

2.4 关键靶点的中药药理调控网络

我们将上述获得 5 个关键靶点对应的活性成分提出来, 构建了药物-活性成分-关键靶点基因网络关键, 并使用 Cytoscape 进行可视化, 如下图 3 (粉红色六边形代表中药 (Herb); 橙色菱形代表关键靶点; 黄色正方形代表药物活性成分) 和表 3, 网络包含 2 个药物 (知母、黄柏), 27 个药物活性成分, 5 个关键靶点, 共 70 个关系对。

2.5 关键靶点基因的功能与通路富集分析

本研究使用 R 语言“Enrichplot” (version 1.10.2) 绘制条形图来展示 GO 功能富集结果。结果显示: 在生物过程方面, 共获得 1453 个 Terms, 关键靶点基因与活性氧代谢过程、对药物的反应、肾上腺素能受体信号通路及管径调节等显著相关, 在分子功能方面, 共获得 137 个 Terms, 关键靶点基因与药物结合、丝氨酸型内肽酶活性、G 蛋白-耦合、神经递质受体活性等显著相关, 在细胞组成方面, 共获得 86 个 Terms, 关键靶点基因与突触前后膜的组成成分、突触膜固有成分、膜区等显著相关。结果如下图 4 (纵坐标表示富集的 GO Term, 条形长短表示该 GO Term 富集到关键靶点的个数, 颜色从蓝到红表示结果的可信度从低到高)。

借助 KEGG 数据库, 对 2.2 中 130 个关键靶点基因进行 KEGG 功能富集分析, 得到 147 条相关通路, 并使用 R 语言“Enrichplot”绘制气泡图对 TOP15 通路进行结果显示: 关键靶点基因与内分泌抵抗、钙信号通路、IL-17 信号通路、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用等显著相关。结果如下图 5 (气泡大小表示通路基因多少, 颜色从蓝到红表示结果的可信度从低到高)。

2.6 滋肾丸组方中核心成分与关键分子的对接结果

我们选择了 PPI 网络核心基因 TOP5, 又在中药药理网络中找到了这些基因的靶向活性分子 (具有多个活性分子的关键靶点根据 OB 及 DL 综合选择所对接的分子)。首先我们利用 PubChem 数据库下载了核心成分 (Palmitine、Quercetin 和 Diosgenin) 的 3D 结构, 如下图 6A; 并利用 PDB 数据库下载了

ESR1、HSP90AA1、JUN、MAPK1 和的 PDB ID 的分子与蛋白之间的对接亲和力依次为-7.1 kcal/mol、晶体结构, 关键靶点对应的蛋白结构导入 AutoDock -6.5 kcal/mol、-7.7 kcal/mol、-8.3 kcal/mol 和软件进行分子对接, 模型结果如下图 6B-6F (活性 -8.5kcal/mol)。

表 1 滋肾丸主要有效成分

Herb	MolID	Molecule Name	MW	OB(%)	DL
Rougui	MOL000131	EIC	280.5	41.90	0.14
Rougui	MOL000208	(-)-Aromadendrene	204.39	55.74	0.10
Rougui	MOL000266	beta-Cubebene	204.39	32.81	0.11
Rougui	MOL002697	junipene	204.39	44.07	0.11
Rougui	MOL003522	(-)-Sativene	204.39	37.41	0.10
Rougui	MOL003538	(-)-Ledene	204.39	51.84	0.10
Rougui	MOL002003	(-)-Caryophyllene oxide	220.39	32.67	0.13
Rougui	MOL000057	DIBP	278.38	49.63	0.13
Rougui	MOL000612	(-)-alpha-cedrene	204.39	55.56	0.10
Rougui	MOL000675	oleic acid	282.52	33.13	0.14
Zhimu	MOL001677	asperglaucide	444.57	58.02	0.52
Zhimu	MOL001944	Marmesin	246.28	50.28	0.18
Zhimu	MOL003773	Mangiferolic acid	442.75	36.16	0.84
Zhimu	MOL000422	kaempferol	286.25	41.88	0.24
Zhimu	MOL004373	Anhydrocaritin	368.41	45.41	0.44
Zhimu	MOL004489	Anemarsaponin F qt	432.71	60.06	0.79
Zhimu	MOL004492	Chrysanthemaxanthin	584.96	38.72	0.58
Zhimu	MOL004497	Hippeastrine	315.35	51.65	0.62
Zhimu	MOL004514	Timosaponin B III qt	416.71	35.26	0.87
Zhimu	MOL004517	Xuelianlacton e	248.35	34.58	0.16
Zhimu	MOL000449	Stigmasterol	412.77	43.83	0.76
Zhimu	MOL004528	Icariin I	676.73	41.58	0.61
Zhimu	MOL004534	Anemarrhenasaponin-Ia	773.08	33.08	0.12
Zhimu	MOL004540	Anemarsaponin C qt	416.71	35.50	0.87
Zhimu	MOL004542	Anemarsaponin E qt	448.76	30.67	0.86
Zhimu	MOL000483	(Z)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-N-[2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]acrylamide	313.38	118.35	0.26
Zhimu	MOL002003	(-)-Caryophyllene oxide	220.39	32.67	0.13
Zhimu	MOL000546	diosgenin	414.69	80.88	0.81
Zhimu	MOL000631	coumaroyltyramine	283.35	112.90	0.20
Huangbai	MOL001454	berberine	336.39	36.86	0.78
Huangbai	MOL001458	coptisine	320.34	30.67	0.86
Huangbai	MOL002636	Kihadalactone A	512.7	34.21	0.82
Huangbai	MOL013352	Obacunone	454.56	43.29	0.77
Huangbai	MOL002641	Phellavin qt	374.42	35.86	0.44

表 1 滋肾丸主要有效成分 (续)

Huangbai	MOL002643	delta 7-stigmastenol	414.79	37.42	0.75
Huangbai	MOL002644	Phellopterin	300.33	40.19	0.28
Huangbai	MOL002651	Dehydrotanshinone II A	292.35	43.76	0.40
Huangbai	MOL002652	delta7-Dehydrosophoramine	242.35	54.45	0.25
Huangbai	MOL002653	Dictamine	199.22	31.39	0.11
Huangbai	MOL002656	dihydroniloticin	458.8	36.43	0.81
Huangbai	MOL002659	kihadinan A	486.56	31.60	0.70
Huangbai	MOL002660	niloticin	456.78	41.41	0.82
Huangbai	MOL002662	rutaecarpine	287.34	40.30	0.60
Huangbai	MOL002663	Skimmianin	259.28	40.14	0.20
Huangbai	MOL002664	Fagarine	229.25	72.23	0.15
Huangbai	MOL002666	Chelerythrine	332.37	34.18	0.78
Huangbai	MOL000449	Stigmasterol	412.77	43.83	0.76
Huangbai	MOL002668	Worenine	334.37	45.83	0.87
Huangbai	MOL002670	Cavidine	353.45	35.64	0.81
Huangbai	MOL002671	Candletoxin A	608.79	31.81	0.69
Huangbai	MOL002672	Hericenone H	580.88	39.00	0.63
Huangbai	MOL002673	Hispidone	472.78	36.18	0.83
Huangbai	MOL000358	beta-sitosterol	414.79	36.91	0.75
Huangbai	MOL000622	Magnograndiolide	266.37	63.71	0.19
Huangbai	MOL000762	Palmidin A	510.52	35.36	0.65
Huangbai	MOL000785	palmatine	352.44	64.60	0.65
Huangbai	MOL000787	Fumarine	353.4	59.26	0.83
Huangbai	MOL000790	Isocorypalmine	341.44	35.77	0.59
Huangbai	MOL000098	quercetin	302.25	46.43	0.28
Huangbai	MOL000675	oleic acid	282.52	33.13	0.14
Huangbai	MOL001131	phellamurin_qt	356.4	56.60	0.39
Huangbai	MOL001455	(S)-Canadine	339.42	53.83	0.77
Huangbai	MOL001771	poriferast-5-en-3beta-ol	414.79	36.91	0.75
Huangbai	MOL002331	N-Methylflindersine	241.31	32.36	0.18
Huangbai	MOL002894	berberrubine	322.36	35.74	0.73
Huangbai	MOL005438	campesterol	400.76	37.58	0.71
Huangbai	MOL006239	Ptelein	229.25	72.44	0.15
Huangbai	MOL006392	dihydroniloticin	458.8	36.43	0.82
Huangbai	MOL006401	melianone	470.76	40.53	0.78
Huangbai	MOL006413	phellochin	488.83	35.41	0.82
Huangbai	MOL006422	thalifendine	322.36	44.41	0.73

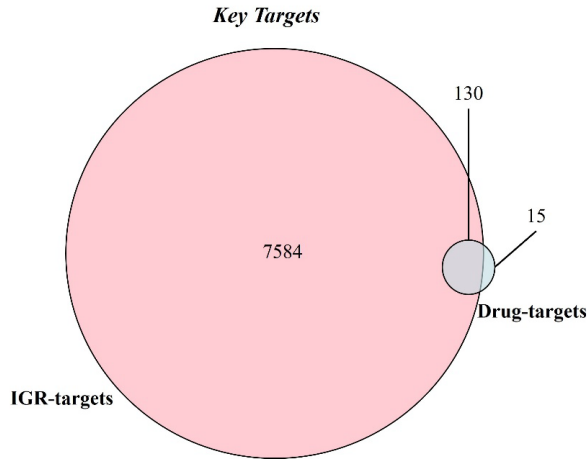


图 1 药物靶点、疾病靶点取交集的韦恩图

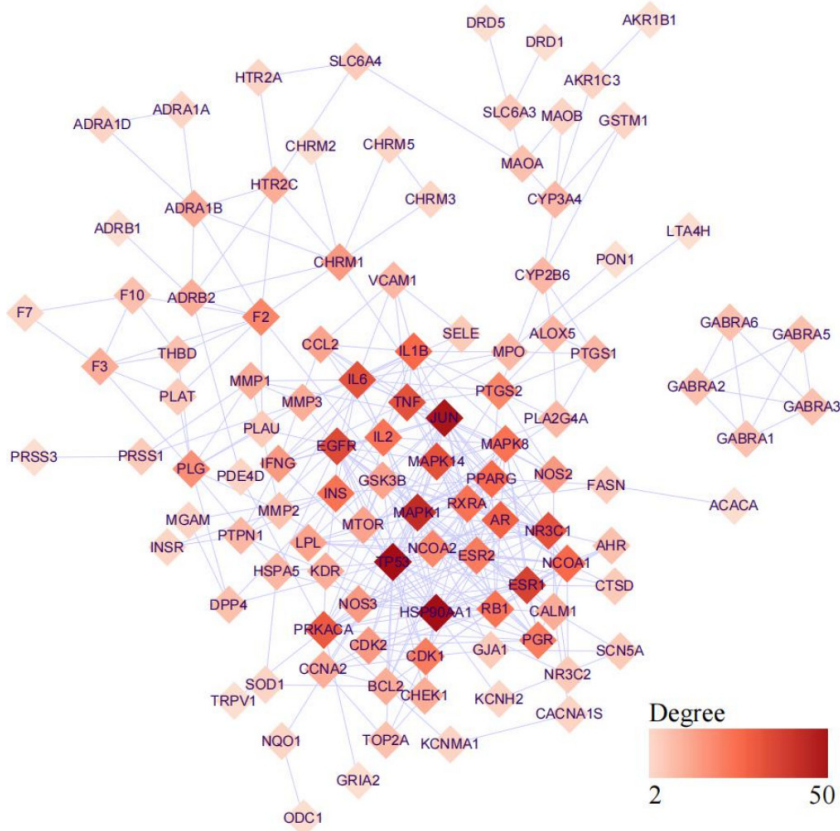


图 2 关键靶点的蛋白相互作用网络

表 2 PPI 网络 Degree 排序 TOP5 关键靶点

Name	Degree	Radiality	Stress	Topological Coefficient
HSP90AA1	50	0.939607843	3570	0.177241379
TP53	50	0.945882353	5622	0.189333333
JUN	48	0.948235294	6872	0.187189055
MAPK1	42	0.949411765	6734	0.191146881
ESR1	36	0.938431373	1756	0.221311475

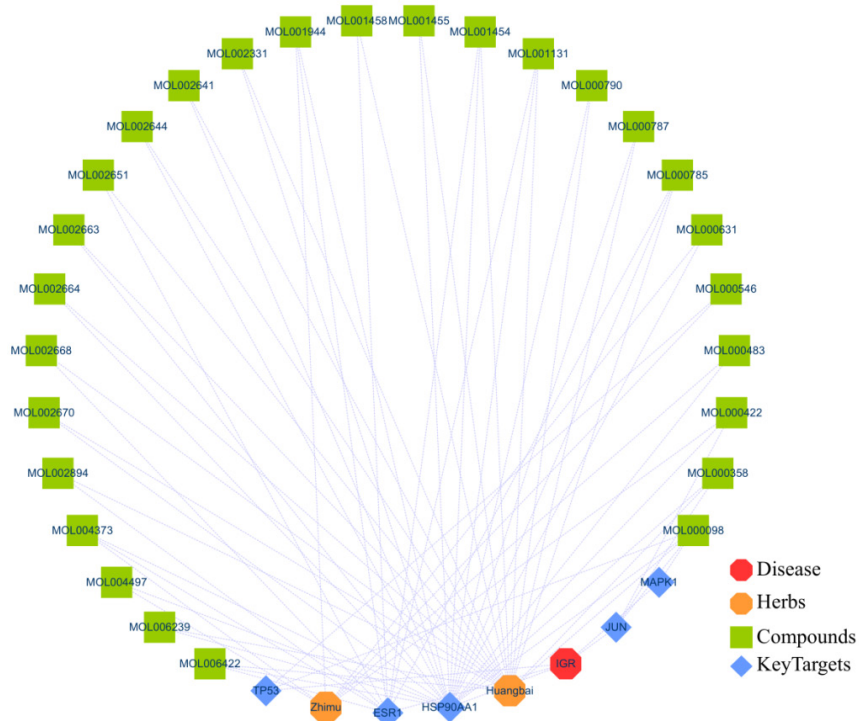


图 3 关键靶点的中药药理调控网络

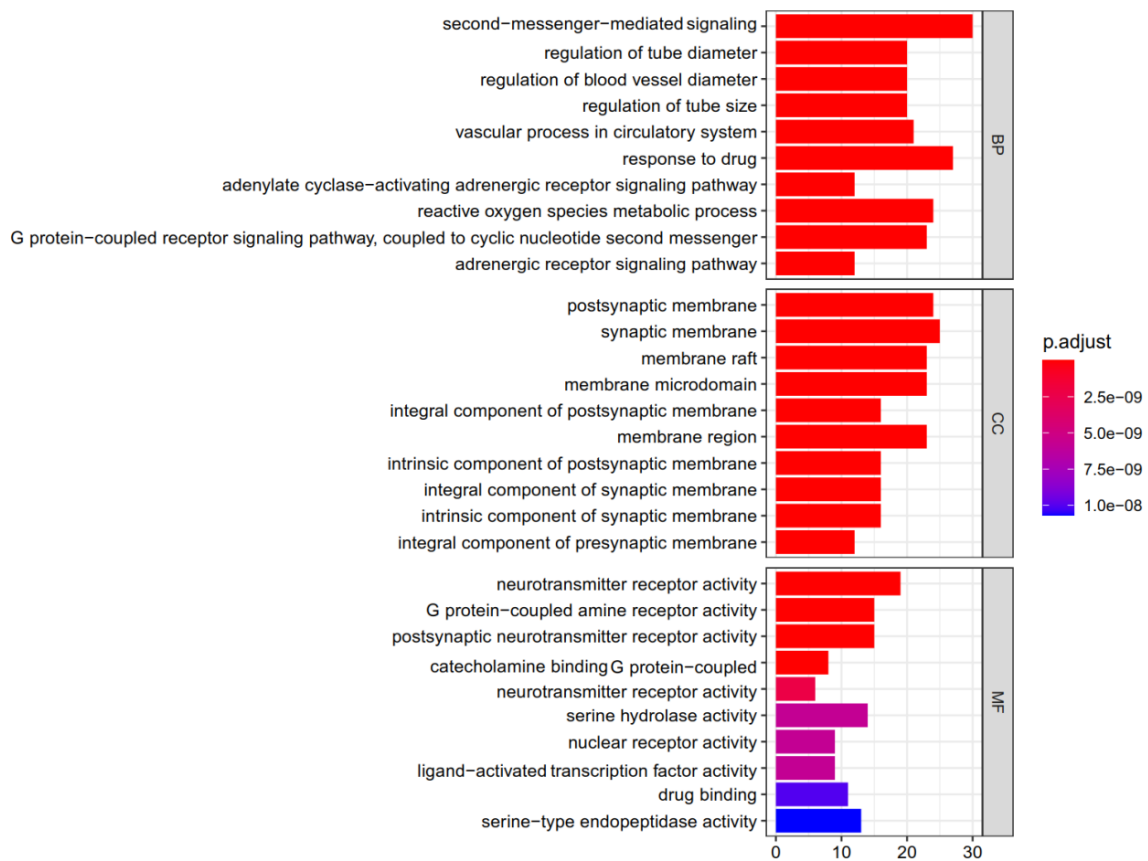


图 4 关键靶点基因的 GO 富集条形图

表 3 关键靶点对应的活性成分

Herb	MolID	Molecule Name	OB(%)	DL	gene_name
Huangbai	MOL000785	palmatine	64.60	0.65	ESR1
Huangbai	MOL001131	phellamurin_qt	56.60	0.39	ESR1
Huangbai	MOL001454	berberine	36.86	0.78	ESR1
Huangbai	MOL001458	coptisine	30.67	0.86	ESR1
Huangbai	MOL002651	Dehydrotanshinone II A	43.76	0.40	ESR1
Huangbai	MOL002668	Worenine	45.83	0.87	ESR1
Huangbai	MOL002894	berberrubine	35.74	0.73	ESR1
Huangbai	MOL006422	thalifendine	44.41	0.73	ESR1
Zhimu	MOL001944	Marmesin	50.28	0.18	ESR1
Zhimu	MOL004373	Anhydroicaritin	45.41	0.44	ESR1
Huangbai	MOL000098	quercetin	46.43	0.28	HSP90AA1
Huangbai	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	HSP90AA1
Huangbai	MOL000785	palmatine	64.60	0.65	HSP90AA1
Huangbai	MOL000787	Fumarine	59.26	0.83	HSP90AA1
Huangbai	MOL000790	Isocorypalmine	35.77	0.59	HSP90AA1
Huangbai	MOL001131	phellamurin_qt	56.60	0.39	HSP90AA1
Huangbai	MOL001454	berberine	36.86	0.78	HSP90AA1
Huangbai	MOL001455	(S)-Canadine	53.83	0.77	HSP90AA1
Huangbai	MOL002331	N-Methylflindersine	32.36	0.18	HSP90AA1
Huangbai	MOL002641	Phellavin_qt	35.86	0.44	HSP90AA1
Huangbai	MOL002644	Phellopterin	40.19	0.28	HSP90AA1
Huangbai	MOL002663	Skimmianin	40.14	0.20	HSP90AA1
Huangbai	MOL002664	Fagarine	72.23	0.15	HSP90AA1
Huangbai	MOL002670	Cavidine	35.64	0.81	HSP90AA1
Huangbai	MOL006239	Ptelein	72.44	0.15	HSP90AA1
Huangbai	MOL006422	thalifendine	44.41	0.73	HSP90AA1
Zhimu	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	HSP90AA1
Zhimu	MOL000483	(Z)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-N-[2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]acrylamide	118.35	0.26	HSP90AA1
Zhimu	MOL000631	coumaroyltyramine	112.90	0.20	HSP90AA1
Zhimu	MOL001944	Marmesin	50.28	0.18	HSP90AA1
Zhimu	MOL004373	Anhydroicaritin	45.41	0.44	HSP90AA1
Zhimu	MOL004497	Hippeastrine	51.65	0.62	HSP90AA1
Huangbai	MOL000098	quercetin	46.43	0.28	JUN
Huangbai	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	JUN
Zhimu	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	JUN
Huangbai	MOL000098	quercetin	46.43	0.28	MAPK1
Huangbai	MOL000098	quercetin	46.43	0.28	TP53
Zhimu	MOL000546	diosgenin	80.88	0.81	TP53

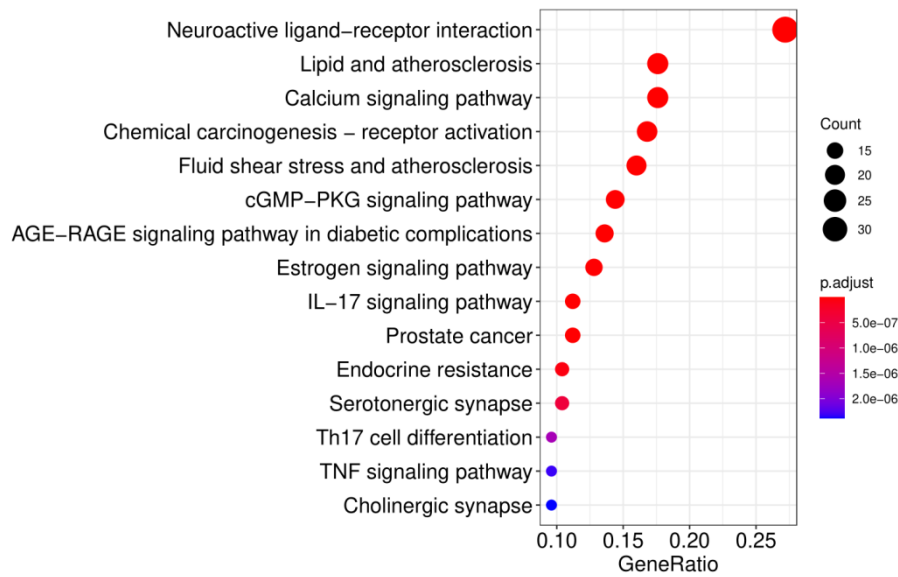


图 5 关键靶点基因的 KEGG 通路富集气泡图

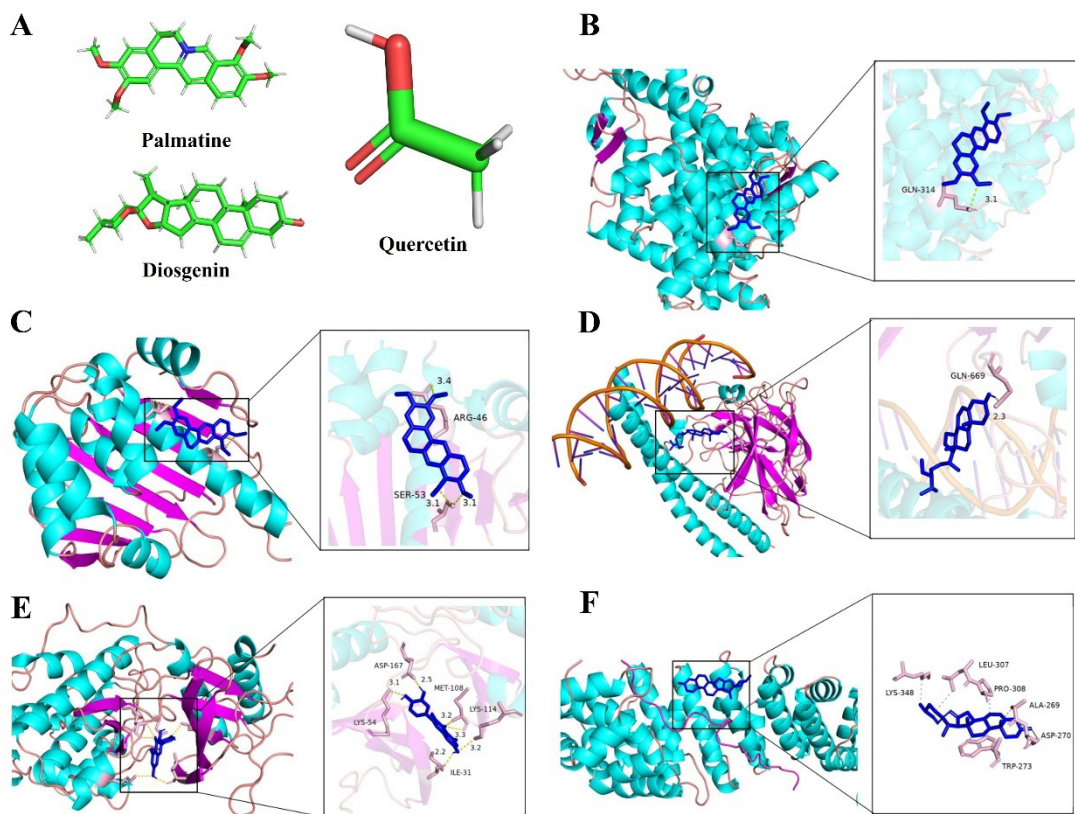


图 6 滋肾丸成分-靶点分子对接模型

3 讨论

在糖尿病 (消渴) 的发生发展中, 生活方式、饮食、情志等因素导致机体湿热内蕴、郁热积聚、

燥热内生等, 损伤机体阴精, 五脏之精逐渐流失, 年轻体壮之时, 机体尚能代偿; 年高体衰之后, 人体之精渐渐失于代偿, 正不胜邪, 同时阴精亏耗,

机体失于濡养滋润, 热邪内聚内生, 更损人体之精, “阴虚内热”病机成矣, 并贯穿老年糖尿病发生发展的始终^[13]。阴虚为其病之本, 内热为其病之标, 本虚标实。当以“滋阴清热”立法, 滋阴扶正, 清热祛邪, 以求标本兼治。IGR 被坚实的循证医学证据证明是糖尿病的“重要预防关口”, 针对其主要发病机制尚缺乏有效的干预手段的关键科学问题, 中医药在多靶点平衡调理优势上, 高度契合了《中国老年 T2DM 防治临床指南(2022 年)》强调的“关注起点, 平衡靶点”的防治策略^[14]。“滋阴清热”立法的滋肾丸(全方)及组方药物(主要活性成分)在防治糖尿病及其并发症方面的药理效应和作用机制得到了较广泛的研究, 可以从多方面发挥糖脂调节、抗氧化和抗炎等作用^[15-17]。

本研究通过利用在线数据库预测糖调节受损的疾病靶点, 黄柏、知母、肉桂活性成分及药物靶点, 并进行生物信息学分析得到以下结果和结论: 首先利用 TCMS 数据库获取黄柏、知母、肉桂的活性成分及其对应的药物靶点, 结果共获得 51 个活性成分, 145 个药物靶点。接着利用 Genecard 数据库数据库获取糖调节受损的疾病靶点, 共获得疾病靶点 7984 个。然后, 利用 Cytoscape 构建了药物-活性成分关键靶点调控网络及 PPI 网络, 我们进一步对 Degree 进行统计, TOP5 关键靶点基因为 HSP90AA1、TP53、JUN、MAPK1 及 ESR1。进一步通过对药物靶点及疾病靶点取交集, 共获得关键靶点 130 个, 功能富集分析结果显示关键靶点基因与活性氧代谢过程、对药物的反应、肾上腺素能受体信号通路及管径调节等生物过程; 药物结合、丝氨酸型内肽酶活性、G 蛋白-耦合、神经递质受体活性等分子功能; 突触前后膜的组成成分、突触膜固有成分、膜区等细胞成分显著相关。另外, 关键靶点基因还参与了内分泌抵抗、钙信号通路、IL-17 信号通路、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用等相关核心 15 条通路。最后, 我们提取 5 个关键靶点及其对应的活性分子, 下载蛋白晶体结构及小分子 3D 结构, 进行分子对接, 结果显示了蛋白与小分子之间均存在结合的氢键。

综上所述, 我们利用在线数据库, 筛选了滋肾丸(黄柏、知母、肉桂)治疗 IGR 的关键靶点, 表明了滋肾丸通过多成分、多靶点、多途径产生协同

治疗 IGR 的潜在作用, 体现了中医整体观的思维特点。本研究旨在阐明滋肾丸对 IGR 治疗的分子机制, 为 IGR 治疗提供了理论依据和参考价值。而本研究仍存在一些局限性, 通过网络药理学方法进行药物成分和靶点的挖掘及药效功能预测, 可能存在忽视方剂中各药物配伍前后活性成分的差异, 活性成分筛选和靶点预测及分析结果需实验证据支持, 缺乏相关靶点的有效识别方法等问题。因此, 接下来还需要设计体内实验验证本研究中预测和分析得到的结果。

参考文献

- [1] Guo M, Wang Z, Wang S, et al. Investigation of risk factors associated with impaired glucose regulation: Using the momentum equation to assess the impact of risk factors on community residents. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1145847.
- [2] Lian F, Ni Q, Shen Y, et al. International traditional Chinese medicine guideline for diagnostic and treatment principles of diabetes. *Ann Palliat Med*. 2020; 9(4): 2237-2250.
- [3] WENG Y, LIANG G, LU E. Effects of Chinese Patent Drug Zishen Pills in Treatment of Elderly Patients with Impaired Glucose Tolerance (IGT)[J]. *Medicinal Plant*, 2022, 13(06):40-43.
- [4] JIANG C, LU E, LIANG G. Clinical Effect of Zishenwan on Elderly Patients with Prediabetes Based on the Method of Sweet-Bitter Therapeutic[J]. *Medicinal Plant*, 2022, 13(01):63-66.
- [5] 于莹,张功,韩涛,等.基于网络药理学与分子对接方法研究菟丝子对 2 型糖尿病的作用研究[J].*中国临床药理学杂志*,2020,36(07):813-817.
- [6] 李思洁,王至婉,许玉龙.基于网络药理学探讨麻杏二三汤治疗慢性阻塞性肺疾病作用机制[J].*国际中医中药杂志*,2021,43(10):1011-1017.
- [7] Guo X, Wu Y, Zhang C, et al. Network Pharmacology Analysis of ZiShenWan for Diabetic Nephropathy and Experimental Verification of Its Anti-Inflammatory Mechanism. *Drug Des Devel Ther*. 2021;15:1577-1594.

- [8] 曹灿,崔瑛,楚玉玺,等.基于网络药理学与分子对接方法的疏风解毒胶囊治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的作用机制与活性成分研究[J].中草药,2020,51(09):2283-2296.
- [9] Kanehisa M, Furumichi M, Tanabe M, et al. KEGG: new perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(D1): D353-D361.
- [10] 梁依敏,钟子劭,黄俊敏,等.基于网络药理学和分子对接探讨四逆散干预肠易激综合征作用机制[J].国际中医中药杂志,2021,43(06):580-587.
- [11] Burley SK, Berman HM, Kleywegt GJ, et al. Protein Data Bank (PDB): The Single Global Macromolecular Structure Archive. *Methods Mol Biol.* 2017;1607:627-641.
- [12] Santos-Martins D, Forli S, Ramos MJ, et al. AutoDock4(Zn): an improved AutoDock force field for small-molecule docking to zinc metalloproteins. *J Chem Inf Model.* 2014;54(8):2371-2379.
- [13] 邓德强,赵进喜.内热伤阴耗气为贯穿糖尿病始终的病机[J].江苏中医药,2007(07):17-18.
- [14] 方朝晖,仝小林,段俊国,等.糖尿病前期中医药循证临床实践指南[J].中医杂志,2017,58(03):268-272.
- [15] You Wu, Boju Sun, Xiaoyuan Guo, et al. Zishen Pill alleviates diabetes in Db/db mice via activation of PI3K/AKT pathway in the liver. *Chin Med.* 2022; 17(1): 128.
- [16] 吴悠, 元智玮,刘铜华,等. 滋肾丸及组方药物抗糖尿病研究进展[J/OL].中国实验方剂学杂志:1-9[2023-07-19]. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20230503> (网络首发).
- [17] 蒋春波,陆而立,梁国强.基于 APN/AdipoR1/AMPK 信号通路探讨滋肾丸对老年糖尿病大鼠骨骼肌胰岛素抵抗的改善作用[J/OL].中华中医药学刊:1-19[2023-07-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.R.20230707.1621.012.html> (网络首发).

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS