

# 基于网络药理学和分子对接探讨槐花抗2型糖尿病作用机制研究

方榕泽<sup>1</sup>, 蒙燕瑶<sup>1</sup>, 唐秀胜<sup>2</sup>, 李小芬<sup>3</sup>, 王祥培<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>贵州中医药大学, 贵州 贵阳

<sup>2</sup>遵义市中医药院, 贵州 遵义

<sup>3</sup>成都中医药大学, 四川 成都

<sup>4</sup>贵州民族大学, 贵州 贵阳

Email: \*709521748qq.com

收稿日期: 2021年6月5日; 录用日期: 2021年7月3日; 发布日期: 2021年7月9日

## 摘要

目的: 槐花具有抗2型糖尿病的潜力, 但其作用机制尚不明确。方法: 通过TCMSP检索筛选槐花的活性成分及靶点, 在GeneCards数据库中寻找2型糖尿病的相关靶点, 取交集基因进行蛋白互作分析发现, GO生物富集及Kegg富集分析, 最后采用分子对接进行验证。结果: 得到槐花的活性成分有6个, 取交集基因得到93个, 蛋白互作分析发现JUN、TP53和MAPK1治疗2型糖尿病的作用, Kegg富集结果发现, 槐花治疗2型糖尿病主要通过pathways in cancer、HIF-1 signaling pathway等信号通路进行调控。分子对接结果表明, 槐花中的活性成分kaempferol、beta-sitosterol、quercetin等成分与JUN、TP53和MAPK1具有较好的结合能力。结论: 槐花可能是通过kaempferol、beta-sitosterol、quercetin等化学成分调控HIF-1 signaling pathway等信号通路上的JUN、TP53和MAPK1等基因发挥治疗2型糖尿病作用。

## 关键词

槐花, 2型糖尿病, 作用机制, 网络药理学, 分子对接

## Study on Anti-Type 2 Diabetes Mechanism of *Sophora japonica* L. Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

Rongze Fang<sup>1</sup>, Yanyao Meng<sup>1</sup>, Xiusheng Tang<sup>2</sup>, Xiaofen Li<sup>3</sup>, Xiangpei Wang<sup>4\*</sup>

\*通讯作者。

文章引用: 方榕泽, 蒙燕瑶, 唐秀胜, 李小芬, 王祥培. 基于网络药理学和分子对接探讨槐花抗 2 型糖尿病作用机制研究[J]. 药物资讯, 2021, 10(4): 193-202. DOI: 10.12677/pi.2021.104025

<sup>1</sup>Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

<sup>2</sup>Zunyi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zunyi Guizhou

<sup>3</sup>Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

<sup>4</sup>Guizhou Minzu University, Guiyang Guizhou

Email: \*709521748qq.com

Received: Jun. 5<sup>th</sup>, 2021; accepted: Jul. 3<sup>rd</sup>, 2021; published: Jul. 9<sup>th</sup>, 2021

## Abstract

**Objective:** *Sophora japonica* L. has the potential of antitype 2 diabetes, but its mechanism is not clear. **Methods:** Tcmsp was used to search and screen the active components and targets of *Sophora japonica* L., and the related targets of type 2 diabetes mellitus were found in GeneCards database. Protein interaction analysis was carried out on the cross genes. Go (BP) and KEGG enrichment analyses were carried out. Finally, molecular docking was used to verify the results. **Results:** There were 6 active components of *Sophora japonica* L., and 93 of them were obtained by taking the intersection genes. Protein interaction analysis revealed the effect of JUN, TP53 and MAPK1 in the treatment of type 2 diabetes. KEGG enrichment results showed that the treatment of type 2 diabetes by *Sophora japonica* L. was mainly regulated by Pathways in cancer and HIF-1 signaling pathway. Molecular docking results showed that active components such as kaempferol, beta-sitosterol and quercetin of *Sophora japonicae* L. had the good binding ability with JUN, TP53 and MAPK1. **Conclusion:** *A. sophorae* L. may play an important role in the treatment of type 2 diabetes mellitus by regulating the genes of JUN, TP53 and MAPK1 in HIF-1 signaling pathway and other chemical components such as kaempferol, beta-sitosterol and quercetin.

## Keywords

*Sophora japonica* L., Type 2 Diabetes, Mechanism of Action, Network Pharmacology, Molecular Docking

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

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



Open Access

## 1. 引言

2型糖尿病(Type 2 Diabetes Mellitus, T2DM)是多病因引起的以慢性高血糖为特征的代谢性疾病,是由于胰岛素分泌和(或)作用缺陷引起,随着人们的生活不断提高以及生活习惯的改变,糖尿病的发病率逐年升高。据统计,我国 T2DM 的发病率为 10%,给人和社会造成了极大的负担, T2DM 主要为葡萄糖不耐受和血管再生障碍,其中胰岛素抵抗参与了 T2DM 了发生、发展的整个过程,发病原因主要为遗传和饮食机构改变及运动量减少等因素[1] [2]。目前尚不能治愈,仅仅依靠药物及调整生活方式进行调理,因此寻找一种新的治疗靶点及药物越来越受人们关注。

槐花为豆科槐属植物槐 *Sophora japonica* L.的干燥花及花蕾,属于药食两用的一味良药,具有凉血止血,清肝泻火的功效[3]。研究发现,槐花的化学成分主要是黄酮、皂苷及多糖类等。结合药理研究发现

槐花中的黄酮类化合物如槲皮素、多糖类等化合物具有抗氧化、抗炎、降血糖血压等作用。而槐花临床上长被开发为止血药，食疗养生上开发为降血糖药品、保护肠胃药品等。其中目前较少报道的槐花抗 2 型糖尿病研究值得关注，韩玲玲等[4]人研究发现，槐花的醇提物对 2 型糖尿病小鼠的胰岛素和肝糖原等指标进行检测发现具有明显的改善作用。张伟云等[5]人研究发现，槐花的醇提物可改善 2 型糖尿病小鼠的血糖，改善口服葡萄糖的糖耐量。这些实验证据均充分说明槐花在改善 2 型糖尿病中具有一定的潜力，但对于改善 2 型糖尿病的靶点及作用机制尚不明确。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 化学成分的建立

通过 TCMSP 数据库，检索“槐花”所有的化学成分，以  $OB > 30$ 、 $DL > 0.18$  为筛选条件，此条件下默认为该化合物为活性成分，筛选出槐花的活性成分及作用靶点，并通过 UniProt 数据库将靶点的蛋白名转化成基因名格式，最终建立成分靶点数据集。

### 2.2. 靶点的筛选与建立

进入 GeneCards 数据库，以“Type 2 diabetes”为关键词筛选与 2 型糖尿病相关的基因靶点，将疾病靶点和药物靶点共同导入 Venny2.1 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)中，建立疾病 - 药物共用靶点数据集。

### 2.3. 关键靶点 PPI 网络构建

为了明确槐花治疗 2 型糖尿病靶点之间的相互作用，将筛选出的靶点导入 String (<https://string-db.org/>)中，设置种类为“Homo sapiens (人类)”构建靶点互作网络图(PPI)，置信度为 0.9，隐藏网络中离散点，将结果保存为 tsv 文件，导入 Cytoscape3.6.1 中，采用其“Network Analyzer”插件进行分析，确定槐花抗 2 型糖尿病核心的靶点。

### 2.4. GO 生物过程富集分析和 KEGG 信号通路

将疾病 - 药物共有靶点导入 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)中进行 GO 生物过程富集分析和 KEGG 信号通路分析，结果以气泡图的形式进行展示。

### 2.5. 药物成分与靶点分子对接

JUN 的晶体结构(ID: 1a02)、TP53 的晶体结构(ID: 4agq)、MAPK1 (ID: 4fv4)下载于 RCSB PDB 数据库(<http://www.rcsb.org/>)，化合物通过 TCMSP、PubChem 进行下载，并使用 Chem3D 进行能量最小化，启动运行 SYBYL-X 2.0 软件模块中的“Dock Ligand”模块对 JUN、TP53 和 MAPK1 的晶体结构进行对接进行加氢处理、修复侧链、并选择自动寻找活性位点等。

## 3. 结果

### 3.1. 活性成分的筛选

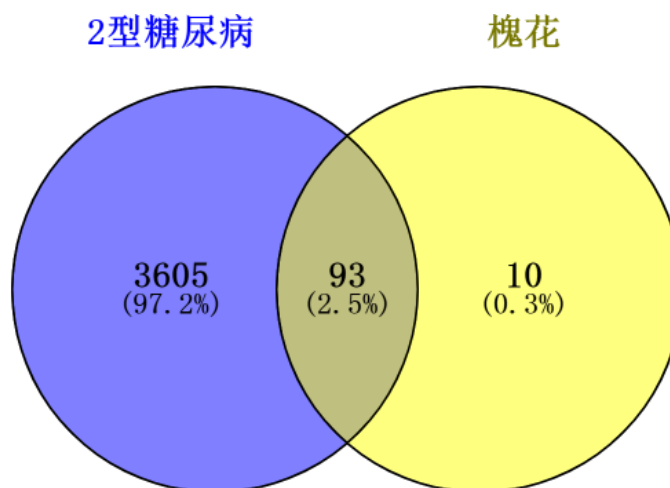
通过检索 TCMSP 数据库，共得到槐花化学成分 27 个，以  $OB > 30$ 、 $DL > 0.18$  为筛选条件，共得到活性成分 6 个，分别为：quercetin-3'-methyl ether (MOL005940)、N-[6-(9-acridinylamino)hexyl]benzamide (MOL005935)、kaempferol (MOL000422)、beta-sitosterol (MOL000358)、isorhamnetin (MOL000354)和 quercetin (MOL000098)，潜在靶点 103 个，具体见表 1。

**Table 1.** *Sophora japonica* L. active ingredients and target number  
**表 1.** 槐花活性成分及靶标数

MOL ID	Chemical Component	靶点个数
MOL005940	quercetin-3'-methyl ether	2
MOL005935	N-[6-(9-acridinylamino)hexyl]benzamide	1
MOL000422	kaempferol	41
MOL000358	beta-sitosterol	28
MOL000354	isorhamnetin	31
MOL000098	quercetin	68

### 3.2. 疾病和药物相关靶点的筛选

在 GeneCards 数据库中以“Type 2 diabetes”为关键词,检索出与 2 型糖尿病相关靶基因共 12,272 个,筛选 relevance score 大于 10 的靶点,共得到 2 型糖尿病相关靶基因 3698 个,采用 Venny2.1 对槐花相关靶点及 2 型糖尿病靶点进行维恩图绘制,见图 1,得到共有靶点 93 个,这些靶点包括 INSR、TNF、PPARG、IL6 和 TP53 等。



**Figure 1.** *Sophora japonica* L. target of active ingredient and target of diabetes

**图 1.** 槐花活性成分靶点与糖尿病交集靶点

### 3.3. 槐花抗 2 型糖尿病的直接作用靶点拓扑参数分析

用 String 数据库构建关键靶点之间的相互作用图,将槐花治疗 2 型糖尿病的共有靶点导入 String 中,得到蛋白互作网络图(如图 2 所示),其中 number of nodes = 93、number of edges = 184、average node degree = 3.96、avg. local clustering coefficient = 0.471、expected number of edges = 56。将结果以 TSV 格式导出,通过 Cytoscape3.6.1 获取 PPI 网络中拓扑参数,采用 Cytoscape3.6.1 插件“Network Analyzer”共有靶点的 Degree、Betweenness centrality 和 Closeness centrality,结果发现 JUN (Degree = 21)、TP53 (Degree = 15)、MAPK1 (Degree = 15)和 TNF (Degree = 14)等综合排名较前,如图 3 所示,说明这些靶点在槐花治疗 2 型糖尿病中发挥着重要作用。

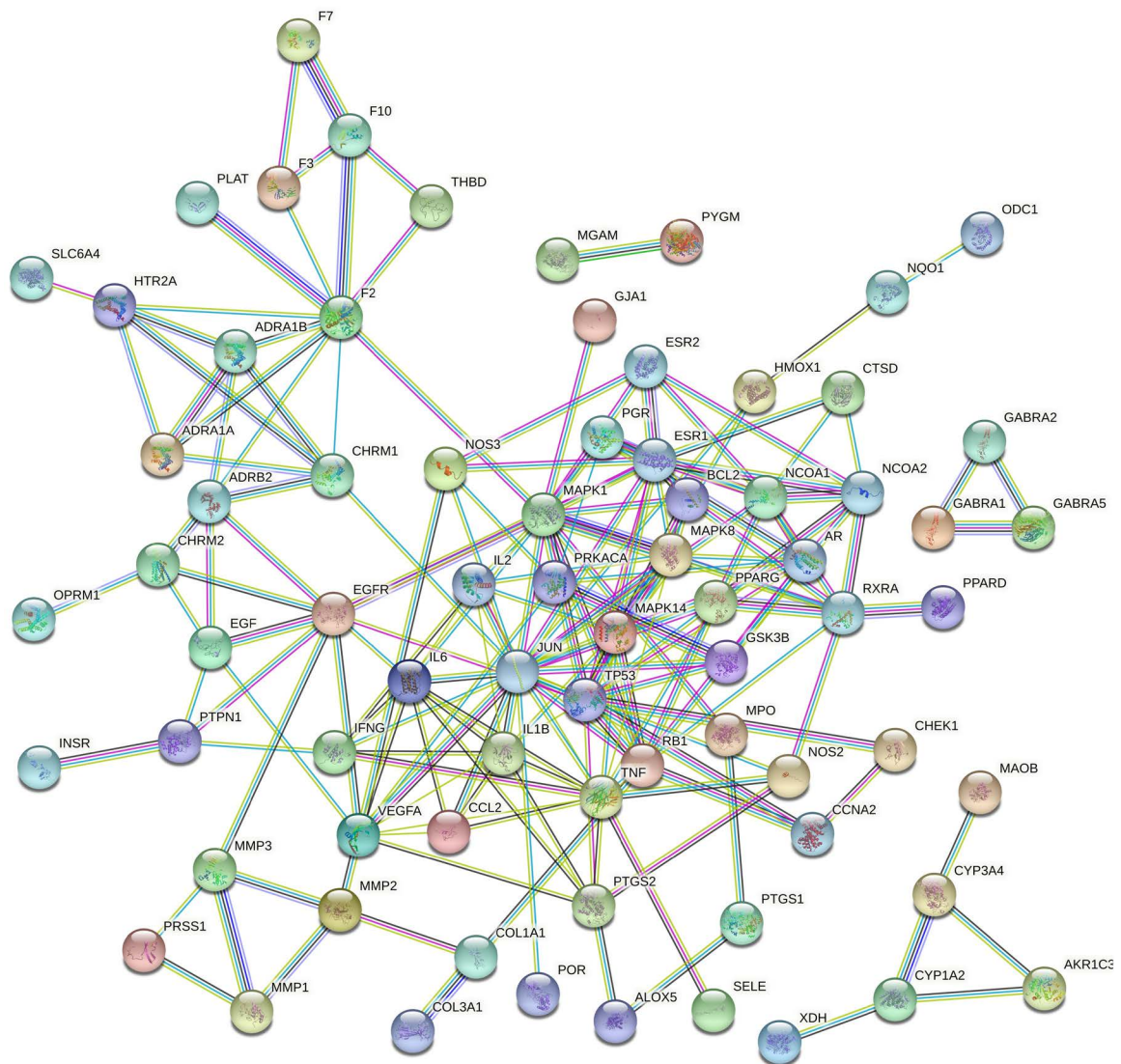


Figure 2. Protein interaction network  
图 2. 蛋白互作网络图

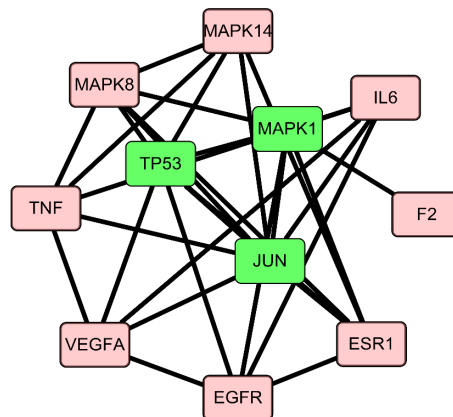


Figure 3. Protein interaction diagram of top ten targets  
图 3. 前十靶点蛋白互作图

### 3.4 GO 生物学功能富集分析

为了进一步探讨槐花治疗 2 型糖尿病的多重作用机制，将 93 个共有靶点导入 David 中进行 GO 富集分析，共得到 GO 生物学富集结果 330 条。其中前 3 位的富集过程包括 positive regulation of nitric oxide biosynthetic process、response to drug 和 positive regulation of transcription, DNA-templated。将前 20 条富集以气泡图的形式展示，其中圆圈的大小表示相关靶点在通路富集的多少，圆圈的颜色越深代表靶点的富集程度，如图 4 所示，这表明了槐花可能是通过调节这些生物过程而发挥抗 2 型糖尿病。

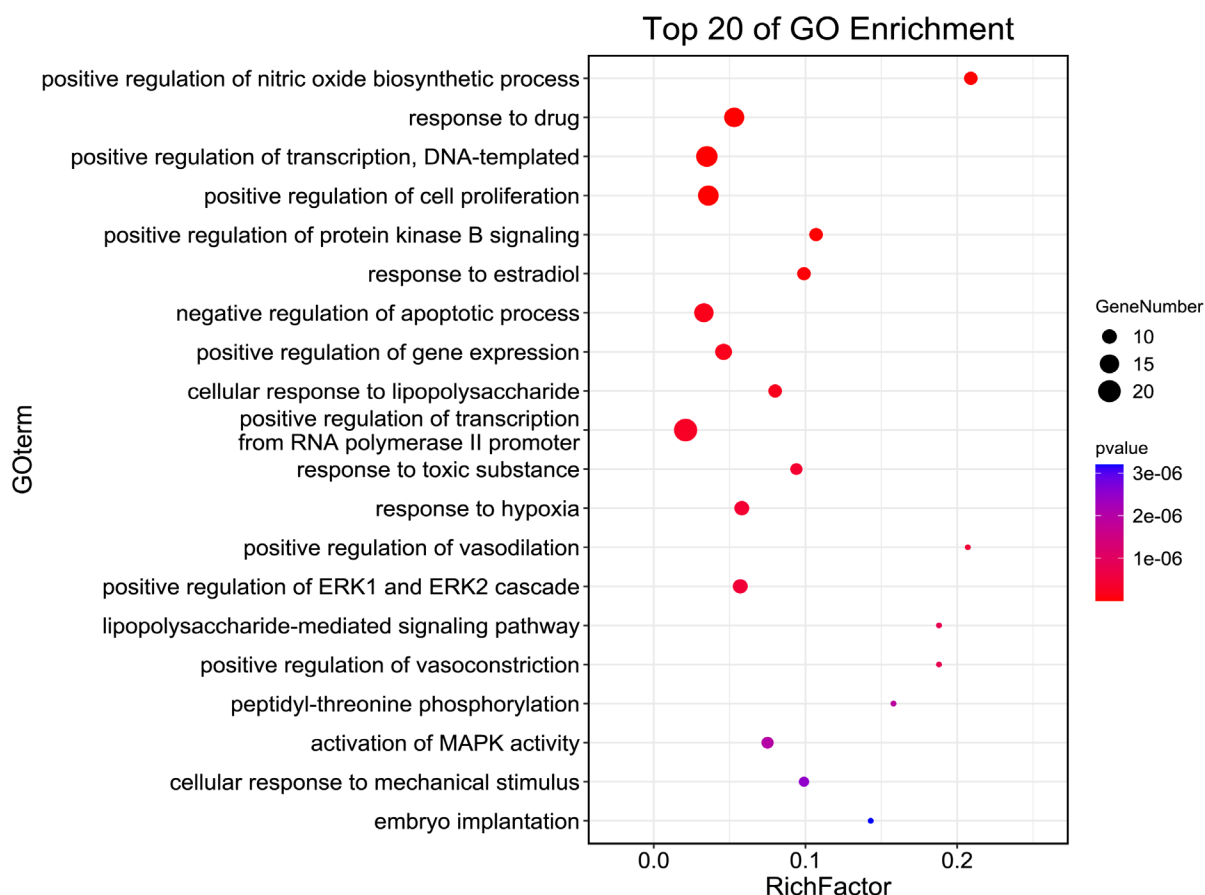


Figure 4. Bubble chart of enrichment results of GO biological function

图 4. GO 生物学功能富集结果气泡图

### 3.5. KEGG 通路分析

将 93 个共有靶点映射到 David 数据库中进行 KEGG 通路富集分析，将物种定义为“人类”，共得到信号通路 110 条。通过筛选槐花 KEGG 富集结果显著性较强的前 20 条信号通路进行展示，这些通路与槐花抗 2 型糖尿病的作用机制密切相关，如图 5 所示。其中前 5 条通路包括 pathways in cancer、HIF-1 signaling pathway、Chagas disease (American trypanosomiasis)、TNF signaling pathway 和 Bladder cancer 等，这些通路大多与 JUN、IL6、TP53 和 EGFR 等有关。

为了更清晰的展现有效成分、核心靶点与通路之间的关系。利用 Cytoscape3.6.1 软件将槐花中的成分、共有靶点进行网络进行可视化分析，通过网络药理学构建出槐花抗 2 型糖尿病的交互网络，筛选出相应的交互蛋白，其中蓝色和红色均代表槐花和 2 型糖尿病的共有靶点，红色代表排名前 30 的靶点，绿色代

表化学成分, 共有 6 个, 粉红色代表药物, 通过构建药物 - 成分 - 靶点网络图, 可更直观更清晰的看出各成分对应的靶点调控。

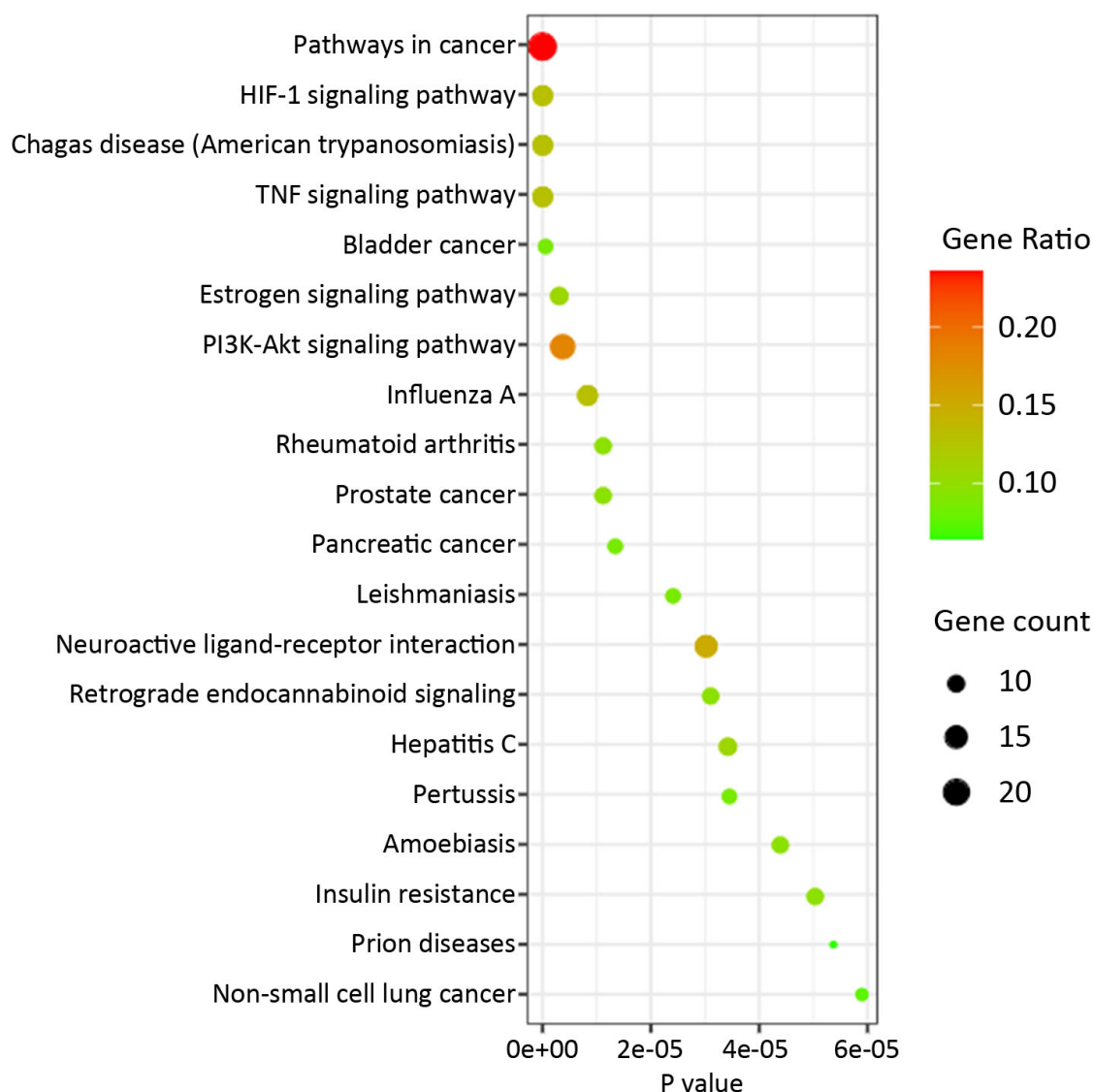
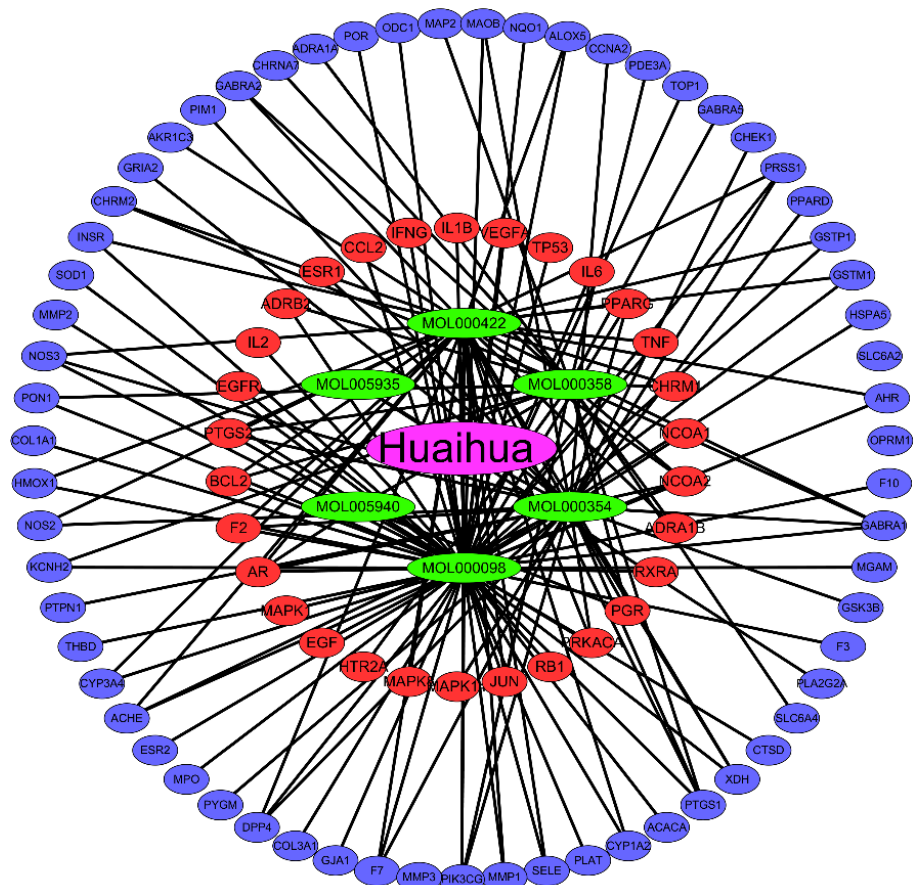


Figure 5. Bubble diagram of KEGG enrichment results

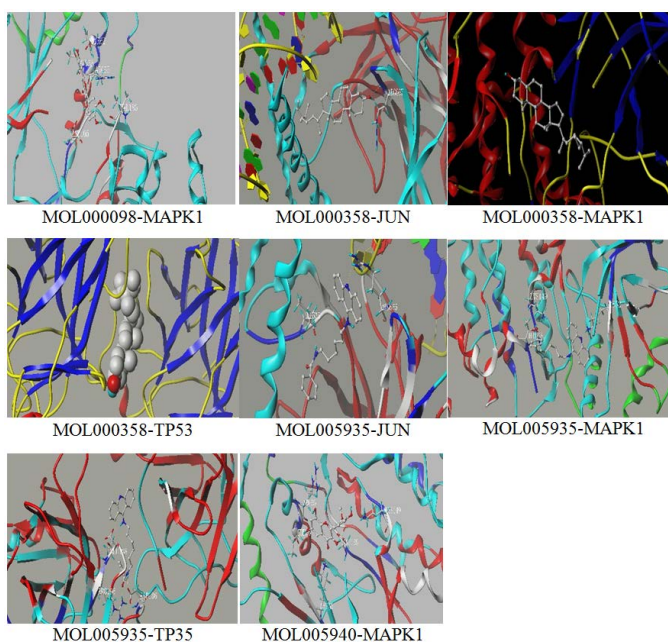
图 5. KEGG 富集结果气泡图

### 3.6. 分子对接结果

基于 PPI 网络和 KEGG 富集分析结果, 选择槐花与 2 型糖尿病共有靶点综合排名较高的关键靶点 (JUN、TP53 和 MAPK1) 进行分子对接, 针对这些靶点的活性成分进行分子对接验证, 以总打分值 (Total Score)  $\geq 5$  为筛选条件 [6] [7] 筛选对接结果较好的化学成分, 总打分值越高说明结合较为稳定。槐花相关活性成分包括 quercetin-3'-methyl ether、N-[6-(9-acridinylamino)hexyl]benzamide、kaempferol、beta-sitosterol、isorhamnetin 和 quercetin。最后将对接结果较好的化学成分和蛋白晶体进行可视化, 结果如图 7 所示。结合成分分子的关键靶标的氨基酸残基清晰地呈现出来, 氢键用虚线表示。所有化合物的对接评分如下图 8 所示。结果发现, quercetin 等 4 个化合物在抗 2 型糖尿病中可能发挥着重要作用。



**Figure 6.** Component-target-disease network diagram  
**图 6.** 化学成分 - 靶点 - 疾病网络图



**Figure 7.** Visualization of molecular docking  
**图 7.** 分子对接可视化



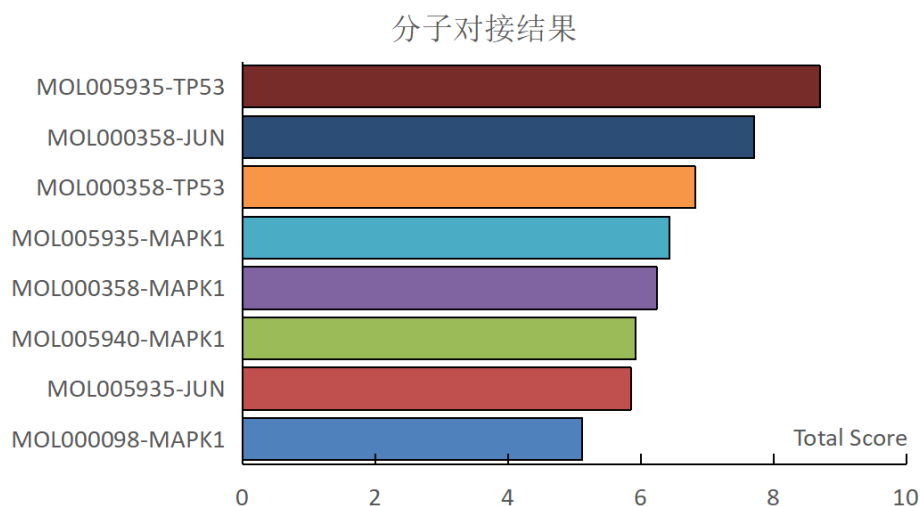


Figure 8. Molecular docking results

图 8. 分子对接结果

#### 4. 讨论

网络药理学具有整体性、系统性的特点，与中医药辨证论治整体思维较为相符，为中药探索药物与疾病的相关性提供了理论指导[8]，改变了传统研究“一个成分对一个靶点”的窘局，将化学成分-靶点-疾病组成一个包含多个体、多层次相互作用的复杂网络，这恰好与中医的多成分、多靶点、多环节的特点相吻合。本研究基于网络药理学研究方法，对槐花有效部位和活性成分进行筛选，研究其多成分-多靶点-多通路作用机制，以阐释其分子间互相作用的内涵。

槐花目前被作为药食两用的药材[9]，具有治疗 2 型糖尿病的药理作用，但其作用机制尚不明确。已有研究表明，槐花中的黄酮类成分、以及 kaempferol、beta-sitosterol、quercetin 等具有改善 2 型糖尿病的作用，苗明三等[10]人研究发现，槐花中的黄酮类成分血清葡萄糖、胰岛素水平和 C-肽水平等指标，这提示槐花中的总黄酮可能是发挥抗 2 型糖尿病的有效部位。汤利华[11]等人研究发现，槐花中的山奈酚对高糖诱导糖尿病具有较好的改善作用，能明显的改善尿素氮、血清肌酐及病理损伤等。李文雯等[12]人研究发现，槲皮素对糖尿病大鼠的胰岛 β 细胞损伤具有较好的修复作用。这些研究表明，槐花治疗 2 型糖尿病具有多成分，多层次的特点。

排名前三的关键靶点中的 JUN (转录因子 AP-1)、TP53 (细胞肿瘤抗原 p53)和 MAPK1 (丝裂原活化蛋白激酶 1)参与了糖尿病的发生发展，如 TP53 可通过调节葡萄糖的转运，控制糖酵解等从而控制糖尿病的发展[13]。JUN 编码 c-jun 蛋白，有研究表面转录因子 AP-1 发生磷酸化激活后，与具有调控作用的基因启动子上在细胞核内发生特异 DNA 序列的结合，最终发挥调控下游基因的转录，与糖尿病的发生发展关系极为密切[14] [15] [16]。而槐花中的槲皮素等化合物对 JUN 的表达具有较好的抑制作用。通过 Kegg 富集分析，得到前 5 的信号通路为 pathways in cancer、HIF-1 signaling pathway、Chagas disease (American trypanosomiasis)、TNF signaling pathway 和 Bladder cancer。其中 HIF-1 signaling pathway 参与了糖尿病的调控，糖尿病因血糖的升高会使氧量增加及微循环功能障碍，最终导致微血管结构、微血流动力学改变、毛细血管基膜等结果及功能发生病变。缺氧诱导因子 HIF-1 调控下游功能基因表达水平，促进靶器官微血管内皮细胞增殖和微血管生成，对缺氧作出应答，从而参与糖尿病并发症的进程[17]。

总之，通过槐花抗 2 型糖尿病的网络药理学研究，初步明确槐花抗 2 型糖尿病活性成分、关键靶点，生物过程及作用机制，可为下一步的实验验证提供参考。

## 基金项目

贵州省一流课程重点建设项目(黔教高发[2017] 158)。

## 参考文献

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版) [J]. 中国糖尿病杂志, 2018, 10(1): 64-67.
- [2] 毛倩云, 王琛. 慢性炎症反应在糖尿病胰岛  $\beta$  细胞功能损伤中作用的新进展[J]. 上海医学, 2019, 42(4): 242-246.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [4] 韩玲玲, 樊海瑞, 林明珠, 赵岩. 槐花醇提取物对 2 型糖尿病合并高尿酸血症小鼠疗效研究[J]. 中药材, 2017, 40(11): 2697-2700.
- [5] 张伟云, 王丽荣, 许长江, 等. 槐花提取物降血糖活性研究[J]. 上海中医药杂志, 2017, 51(05): 93-97.
- [6] 邓桂珠, 林捷欣, 吴纯伟, 等. 复方脑脉通治疗缺血性脑中风多靶点作用的分子对接[J]. 中成药, 2016, 38(8): 1673-1678.
- [7] 樊启猛, 杨岩涛, 肖美凤, 等. 基于分子对接技术的补阳还五汤成分与缺血性脑卒中靶点的相互作用研究[J]. 中草药, 2019, 50(17): 4200-4208.
- [8] 任艳, 邓燕君, 马焱彬, 等. 网络药理学在中药领域的研究进展及面临的挑战[J]. 中草药, 2020, 51(18): 4789-4797.
- [9] 钱文文, 辛宝, 史传道. 槐花的营养保健功能及食品开发前景[J]. 农产品加工, 2016(18): 59-61.
- [10] 苗明三, 李彩荣, 陈元朋. 槐花总黄酮对大鼠糖尿病模型血清胰岛素、瘦素和 C-肽水平的影响[J]. 中国现代应用药学, 2011(10): 896-898.
- [11] 汤利华, 方超, 王浩然, 等. 山奈酚对高糖诱导的糖尿病肾病大鼠肾功能和组织病理损伤的保护作用[J]. 免疫学杂志, 2018, 34(12): 1041-1046.
- [12] 李文雯, 钟大鹏, 张卫, 任丽, 程莹. 槲皮素对糖尿病大鼠胰岛  $\beta$  细胞损伤的保护作用及机制研究[J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(2): 298-303.
- [13] Kung, C.P. and Murphy, M.E. (2016) The role of the p53 tumor suppressor in metabolism and diabetes. *Journal of Endocrinology*, **231**, R61-R75. <https://doi.org/10.1530/JOE-16-0324>
- [14] Shi, Y., Zhang, Y., Wang, C., et al. (2008) Suppressor of cytokine signaling-1 reduces high glucose-induced TGF-beta1 and fibronectin synthesis in human mesangial cells. *FEBS Letters*, **582**, 3484-3488. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.09.014>
- [15] Mao, C.P. and Gu, Z.L. (2005) Puerarin Reduces Increased C-Fos, C-Jun, and Type IV Collagen Expression Caused by High Glucose in Glomerular Mesangial Cells. *Acta Pharmacologica Sinica*, **26**, 982-998. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2005.00133.x>
- [16] 周凤娇, 张丽坤, 苏彦君, 张建勇, 安志霞. 青蒿素对糖尿病大鼠肾组织 c-jun 及 c-fos 基因表达上调的抑制作用[J]. 现代中西医结合杂志, 2014(21): 2294-2295+2298.
- [17] 李媛, 刘明明, 张坚. 缺氧诱导因子 1 $\alpha$  与糖尿病并发症微循环学研究进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2019, 27(10): 793-796.