

张青强, 马佳佳, 朱和权, 等. 基于代谢组学及网络药理学分析不同品种芡实中活性成分及其对人糖尿病的作用[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(11): 2163-2176.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.11.020

基于代谢组学及网络药理学分析不同品种芡实中活性成分及其对人糖尿病的作用

张青强^{1,2}, 马佳佳³, 朱和权², 李勇⁴, 李红领⁵, 刘欢², 蔡为荣¹, 李春阳²

(1.安徽工程大学生物与食品工程学院,安徽 芜湖 241000; 2.江苏省农业科学院农产品加工研究所,江苏 南京 210014; 3.江苏太湖地区农业科学研究所,江苏 苏州 215000; 4.江苏省农业科学院农业资源与环境研究所,江苏 南京 210014; 5.南京工业大学食品与轻工学院,江苏 南京 211816)

摘要: 通过代谢组学、网络药理学及分子对接技术分析不同芡实品种中的活性成分及其对糖尿病的作用。使用四极杆飞行时间液质联用系统(LC-QTOF-MS)、Metaboanalyst (<https://www.metaboanalyst.ca/>)和TBtools软件对芡实成分进行检测和分析;通过PubChem筛选出芡实中具有生物活性的成分;使用Swiss预测芡实成分靶点,通过多种数据库检索疾病靶点取交集;绘制蛋白质互作(PPI)网络查找主要成分及核心靶点;对交集靶点进行GO富集分析和KEGG富集分析;最后通过分子对接技术进行验证。结果表明,苏芡和刺芡中有153种在含量方面具有显著差异的成分;从苏芡中筛选出12种具有缓解糖尿病及其并发症效果的成分以及578个潜在靶点,从刺芡中筛选出3种具有缓解糖尿病及其并发症效果的成分及226个潜在靶点;GO富集和KEGG富集分析结果显示,苏芡中的靶点主要富集在糖尿病性心脏病、胰岛素抵抗、糖尿病并发症中的高级糖基化终末产物-受体信号通路,刺芡中的靶点主要富集在癌症的发病途径、脂肪细胞脂解的调控、磷酸腺苷活化蛋白激酶信号通路;分子对接分析结果显示,筛选出的成分均结合在靶点蛋白质的凹陷处,结合自由能均为负值,分子对接构象稳定。说明,苏芡在缓解糖尿病及其并发症等方面较刺芡具有更好的效果。

关键词: 芡实; 糖尿病; 代谢组学; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R285;S645.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)11-2163-14

Effects of active components in different varieties of *Euryale ferox* on human diabetes based on metabolomics and network pharmacology

ZHANG Qingqiang^{1,2}, MA Jijia³, ZHU Hequan², LI Yong⁴, LI Hongling⁵, LIU Huan², CAI Weirong¹, LI Chunyang²

(1. College of Biological and Food Engineering, Anhui Polytechnic University, Wuhu 241000, China; 2. Institute of Agroproduct Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 3. Taihu Research Institute of Agricultural Sciences, Suzhou 215000, China; 4. Institute of Agricultural Resources and Environment, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 5. College of Food Science and Light Industry, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, China)

Abstract: This study aims to elucidate the active ingredient differences in *Euryale ferox* and the alleviation of diabetes among different varieties, known as South *Euryale* and North *Euryale*, using metabolomics, network pharmacology, and molecular docking techniques. Liquid chromatography-quadrupole time of flight-mass spectrometry (LC-QTOF-MS), Metaboanalyst (<https://www.metaboanalyst.ca/>), and TBtools were used for the detection and analysis of components in *E. ferox*.

收稿日期: 2024-05-24

基金项目: 苏州市科技计划项目(SNG2022068)

作者简介: 张青强(1998-),男,安徽亳州人,硕士研究生,研究方向为营养与功能食品。(E-mail) zhangqingqiang521@gmail.com。马佳佳为共同第一作者。

通讯作者: 李春阳, (E-mail) lichunyang968@126.com

Bioactive components in *E. ferox* were screened through PubChem. Swiss was used to predict the targets of *E. ferox* components, and disease targets were searched from multiple databases and combined. Protein-protein interaction (PPI) net-

works were constructed to identify major components and core targets. GO analysis and KEGG analysis were conducted on the intersected targets. Finally, molecular docking models were used for validation. The results showed that 153 components with significant differences in the content were found between South *Euryale* and North *Euryale*. Twelve components with the potential to alleviate diabetes and its complications, along with 578 potential targets, were identified in South *Euryale*, while three components and 226 potential targets were identified in North *Euryale*. GO and KEGG enrichment analysis revealed that the targets in South *Euryale* were mainly enriched in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy, insulin resistance, and the advanced glycation end products-receptor of advanced glycation endproducts (AGE-RAGE) signaling pathway in diabetic complications, while the targets in North *Euryale* were primarily enriched in the pathogenesis of cancer, regulation of adipocyte lipolysis, and the adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase (AMPK) signaling pathway. Molecular docking results showed that the screened components combined to the depressed sites of target proteins, with negative binding free energy and stable molecular docking conformations. It can be concluded that South *Euryale* exhibited better effects in alleviating diabetes and its complications compared to North *Euryale*.

Key words: *Euryale ferox*; diabetes; metabolomics; network pharmacology; molecular docking

芡实(*Euryale ferox* Salish.)俗称鸡头米,为睡莲科芡属一年水生草本植物,属药食同源作物。芡实主要分为2类:一类是刺芡,也叫北芡或者野芡,在福建省、浙江省、安徽省及江苏省北部等地种植,籽粒壳薄、粒小、粳性,呈白色;另一类是苏芡,也叫南芡或者栽培芡,主产于苏州地区,籽粒壳厚、粒大、糯性,呈玉白色^[1]。

糖尿病是影响人类寿命的主要疾病之一,2021年,全球有 5.29×10^8 名糖尿病患者^[2],中国是世界糖尿病患者最多的国家,糖尿病及糖尿病前期发病率超过50%。预防糖尿病的首位措施就是生活方式干预,饮食干预是其中一种^[3]。

人们对于芡实作用的研究包括益肾固精健脾止泻等^[4],也包括降血糖^[5],但是对于不同品种的芡实降血糖效果的研究较少。代谢组学和网络药理学已成为揭示生物系统复杂功能和行为的强大工具,在药食同源食品(铁皮石斛^[6]、天麻^[7]等)加工过程中的成分及药理活性变化研究上已有应用。本试验拟基于四极杆飞行时间液质联用(LC-QTOF-MS)技术对芡实中化学成分进行系统研究,采用代谢组学方法鉴定其差异代谢物,采用代谢分析工具富集代谢通路。然后应用网络药理学方法,挖掘出与糖尿病有关的靶点,用Cytoscape软件构建代谢组学与网络药理学的集成网络。最后,对得到的关键靶标进行分子对接验证,为芡实功能性产品开发及生产加工提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

芡实分别为干燥的未剥皮刺芡(S1),来自广东

省肇庆市;干燥的剥皮刺芡(S2),来自苏北洪泽湖;干燥的未剥皮苏芡(S3),来自苏州市吴中区甪直镇;干燥的剥皮苏芡(S4),来自苏州市吴中区东山镇。

甲醇(CH_3OH)为分析纯(国药集团化学试剂有限公司产品)。

1.2 仪器与设备

高效液相色谱串联飞行时间质谱(美国Agilent公司产品),上海亚荣RE52-A旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂产品),真空冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司产品),台式低速离心机(湖南可成仪器设备有限公司产品)。

1.3 试验方法

1.3.1 芡实提取液的分析 将苏芡、刺芡冻干后,研磨成粉末状。以甲醇为溶剂分别溶解重量相同(0.1 g)的芡实粉末,振荡提取30 min,6 000 r/min离心15 min;取上清液,将沉淀用甲醇溶解后再次振荡、提取、离心,取上清液,将2次上清液合并,并进行减压浓缩,得到无醇味的芡实提取液。参考Mu等^[8]的方法,调整LC-QTOF-MS的色谱条件和质谱条件,得到试验数据。对LC-QTOF-MS试验数据进行整理分析,利用MS-DI-AL软件,将试验数据与数据库数据进行比对,鉴定化合物。使用Metaboanalyst 6.0和Tbtools 2.029软件绘制主成分(PCA)分析图和热图(Heat-Map)。通过方差分析(ANOVA)对差异代谢物进行筛选,然后检索PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取成分标志号(CID)及分类信息,通过Lipinski原则筛选出有更好的药代动力学的物质,查阅文献获取各成分作用的信息,选择苏芡和刺芡中有显著含量差异的成分用于进一步研究。

1.3.2 芡实成分靶点及糖尿病作用靶点的筛选

在 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 网站,以智人 (*Homo sapiens*) 为研究物种,输入从 PubChem 数据库中获取的各成分的 Smiles 结构式,检索得到该成分可能作用的靶点蛋白质。搜集所有成分的作用靶点,取并集得到苏芡和刺芡的作用靶点信息。

以“Diabetes”为检索词分别在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、TTD 数据库 (Therapeutic Target Database) 及 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>) 中进行检索,搜集所有靶点并去除其中的重复靶点,得到与糖尿病有关的所有靶点信息。

1.3.3 构建蛋白质互作 (PPI) 网络

选择“*Homo sapiens*”为研究物种,分别将苏芡和刺芡的作用靶点数据输入到 STRING12.0 数据库中进行检索,导出 PPI 图。下载蛋白质互作数据导入到 Cytoscape 3.8.2 软件,通过 CytoNCA 插件计算出该互作网络中各靶点度值 (*Degree*)。选择 *Degree* 较大的靶点并查找其对应成分,重绘 PPI 图凸显关键靶点。

1.3.4 GO 富集分析及 KEGG 富集分析

将活性成分干预糖尿病的靶点蛋白质借助 David 数据库 (<https://david.ncicrf.gov/>) 中的 Functional Annotation Chart 进行检索,选择“*Homo sapiens*”物种,收集 GOTERM_BP_DIRECT、GOTERM_CC_DIRECT、GOTERM_MF_DIRECT 和 KEGG_PATHWAY 数据;再使用 Bioinformatics (<https://www.bioinformatics.com.cn/>) 网站中的富集气泡图工具及 BP、CC、MF 三合一分析工具对靶点进行信号通路富集分析。

1.3.5 分子对接验证

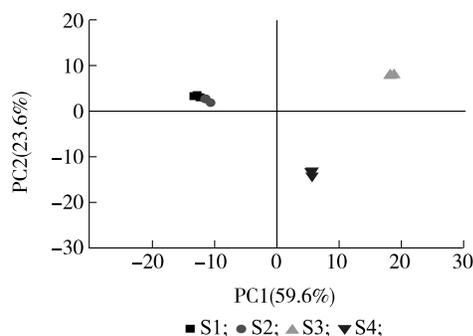
配体文件:在 PubChem 数据库下载靶点蛋白质对应成分的 sdf 格式的三维 (3D) 结构文件,通过 OpenBabel 3.1.1 软件转化为 pdb 格式并且保存。受体文件:在 RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>) 网站检索靶点蛋白质并勾选“*Homo sapiens*”进行筛选,在检索结果中选择分辨率最高的蛋白质结构,下载为 pdb 格式文件,使用 Pymol 2.6 软件,对蛋白质结构进行去水并去除包含的其他配体,保存为 pdbqt 格式。通过 AutoDock4 对大分子蛋白质加氢、计算电荷数等;对小分子配体进行显示扩展性处理。使用 autogrid4 生成受体网络,使用 autodock4 进行分子对接,完成对接后进行结构分析,选择结合能为负值且数值最小的分子对接结构,最后通过 Pymol 2.6 软件标记出结合位点,计算出分

子间距离,输出对接结构图。

2 结果与分析

2.1 代谢组学分析

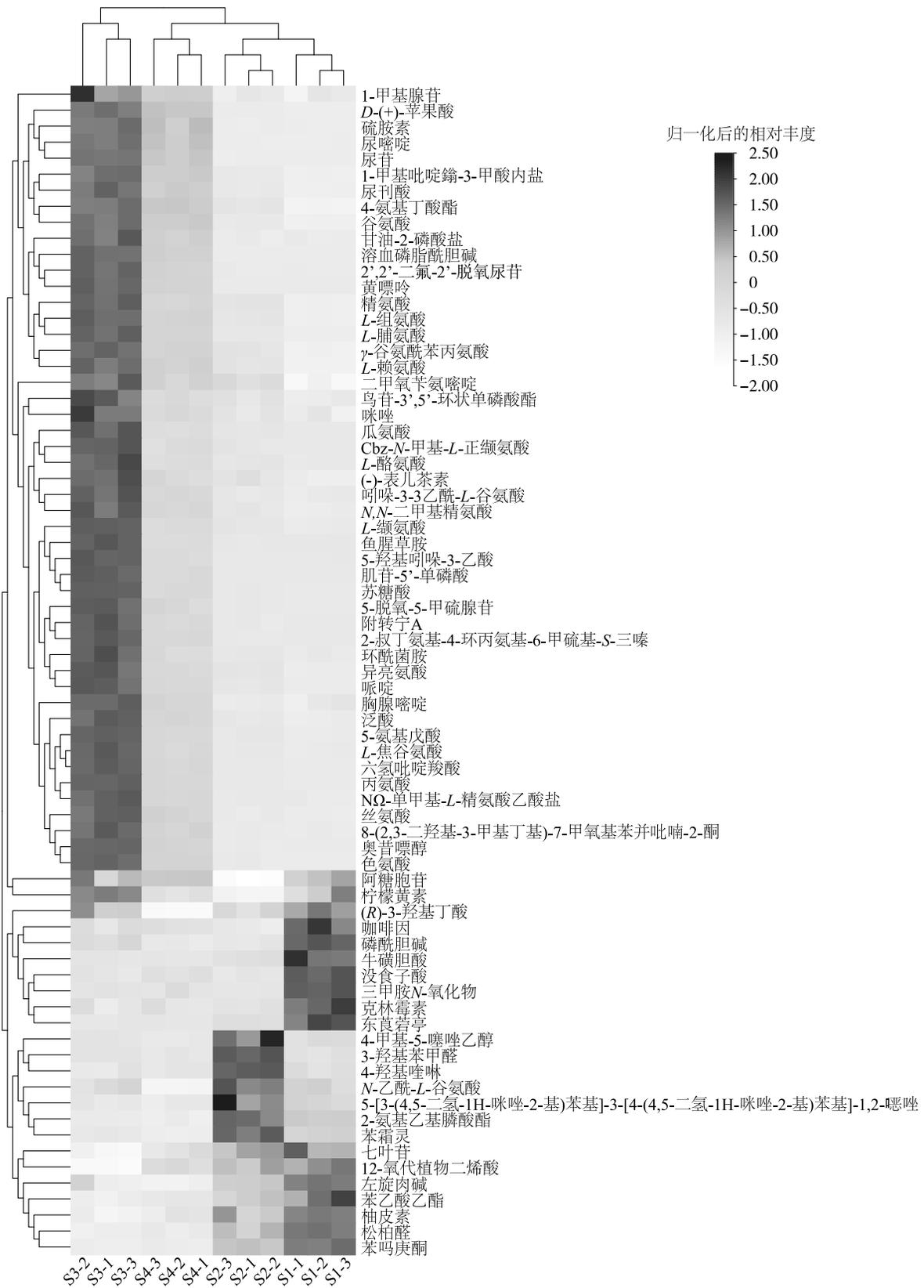
如图 1 所示,S1 和 S2 在化学组成及其成分含量方面存在较小差异,而 S3 和 S4 与 S1、S2 存在着较为显著的差异。对 S1、S2、S3、S4 4 组样品的峰面积大小进行方差分析,经过去重筛选,结果显示,228 种成分的含量存在显著差异。按 Lipinski 原则 [脂水分配系数 ($\text{mllog}P$) ≤ 5 , 氢键给体 ($n\text{OHNH}$) ≤ 5 , 氢键受体 ($n\text{OH}$) ≤ 10], 将主要成分筛选出来。最终筛选得到 153 种成分。对 153 种成分进行层次聚类分析,结果如图 2 所示。从整体上看,苏芡中 129 种成分的含量显著高于刺芡,其中包括多种氨基酸,如人体必需氨基酸 (色氨酸、赖氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸、苏氨酸)、核酸及其衍生物 (胞苷、鸟嘌呤、胸腺嘧啶、尿嘧啶、尿苷等)、维生素及其衍生物 (烟酸、胆碱、吡哆醇、硫胺素、泛酸) 以及其他重要的活性物质 (表儿茶素、培哌普利、阿糖胞苷、劳拉西泮等)。不同品种芡实成分具有显著差异,苏芡有机成分含量明显优于刺芡。而对于同一品种不同地区的苏芡,其成分也有显著差异。聚类热图分析结果 (图 2) 显示,S3 成分中,多种氨基酸及其衍生物、维生素及其衍生物含量高于 S4。同一芡实品种成分在不同地区产生显著差异的原因是不同产地的气候、土壤、光照因素影响植物无机成分含量,而无机成分又影响着芡实中有机物成分的合成及生理功能的调控,从而导致芡实中的有机成分产生显著差异^[9]。



S1:干燥的未剥皮刺芡; S2:干燥的剥皮刺芡; S3:干燥的未剥皮苏芡; S4:干燥的剥皮苏芡; PC1:主成分 1; PC2:主成分 2。

图 1 苏芡及刺芡的差异成分的主成分分析结果

Fig.1 Results of principal component analysis of the different components of South *Euryale* and North *Euryale*



S1、S2、S3、S4 见图 1 注。

图 2 苏芡及刺芡的差异成分的聚类热图

Fig.2 Clustered heatmap of the difference components of South *Euryale* and North *Euryale*

图 2 显示,不同品种芡实有 153 种成分含量存在显著差异,通过查询相关文献,找出各成分的作用,找出了 15 种具有降血糖或改善糖尿病神经性疼痛的成分。其中 12 种在苏芡中具有较高含量,3 种在刺芡中具有较高含量,对 15 种成分进行注解,如

表 1 所示。芡实中的活性成分不但可以调节血糖,还可以抗肿瘤、抗炎、抗氧化、避免细胞损伤以及保护神经。其中多数活性成分在苏芡中的含量较高,因此苏芡相比刺芡可能会有更好的辅助降血糖效果。

表 1 苏芡及刺芡的差异性成分及功能

Table 1 Differential composition and function of South *Euryale* and North *Euryale*

品种	化合物名	化合物英文名	成分标志号	分子式	功能
苏芡	钩吻素子	Koumine	102004413	C ₂₀ H ₂₂ N ₂ O	减轻类风湿关节炎 ^[10] 、调节糖尿病神经性疼痛 ^[11] 、抗细胞损伤 ^[12]
	(+)-辛可宁	(+)-Cinchonine	90454	C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O	降血糖 ^[13] 、抗肿瘤 ^[14]
	甘草苷	Liquiritin	503737	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	降血糖 ^[15] 、抗肿瘤 ^[16]
	DL-3-氨基异丁酸	DL-3-Amino-isobutyric acid	64956	C ₄ H ₉ NO ₂	降血糖 ^[17] 、抗细胞损伤 ^[18]
	硫胺素	Thiamine	1130	C ₁₂ H ₁₇ N ₄ OS+	降血糖 ^[19] 、抗氧化 ^[20] 、保护肾脏 ^[21] 等
	葫芦巴碱	Trigonelline	5570	C ₇ H ₇ NO ₂	降血糖 ^[22] 、保护神经 ^[23] 等
	丹参酮 II A	Tanshinone II a	164676	C ₁₉ H ₁₈ O ₃	降血糖 ^[24] 、抑制神经损伤 ^[25] 、抗肿瘤 ^[26] 等
	鞣花酸	Ellagic Acid	5281855	C ₁₄ H ₆ O ₈	降血糖 ^[27] 、抗肿瘤 ^[28]
	甜菜碱	Betaine	247	C ₅ H ₁₁ NO ₂	降血糖 ^[29] 、抗炎 ^[30]
	1,2,3-苯三酚	Pyrogallol	1057	C ₆ H ₆ O ₃	抑制 α-葡萄糖苷酶活性 ^[31] 、抗氧化 ^[32]
	北美圣草素	Eriodictyol	440735	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	促进胰岛素分泌 ^[33]
	瓜氨酸	Citrulline	9750	C ₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	降血糖 ^[34] 、抗炎 ^[35] 、维护心血管健康 ^[36]
刺芡	柚皮素	Naringenin	439246	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	调节血糖 ^[37] 、抗炎 ^[38]
	没食子酸	Gallic acid	370	C ₇ H ₆ O ₅	降血糖、抗脂质过氧化、抗氧化 ^[39]
	东莨菪亭	Scopoletin	5280460	C ₁₀ H ₈ O ₄	抑制 α-葡萄糖苷酶活性 ^[40] 、抗炎 ^[41]

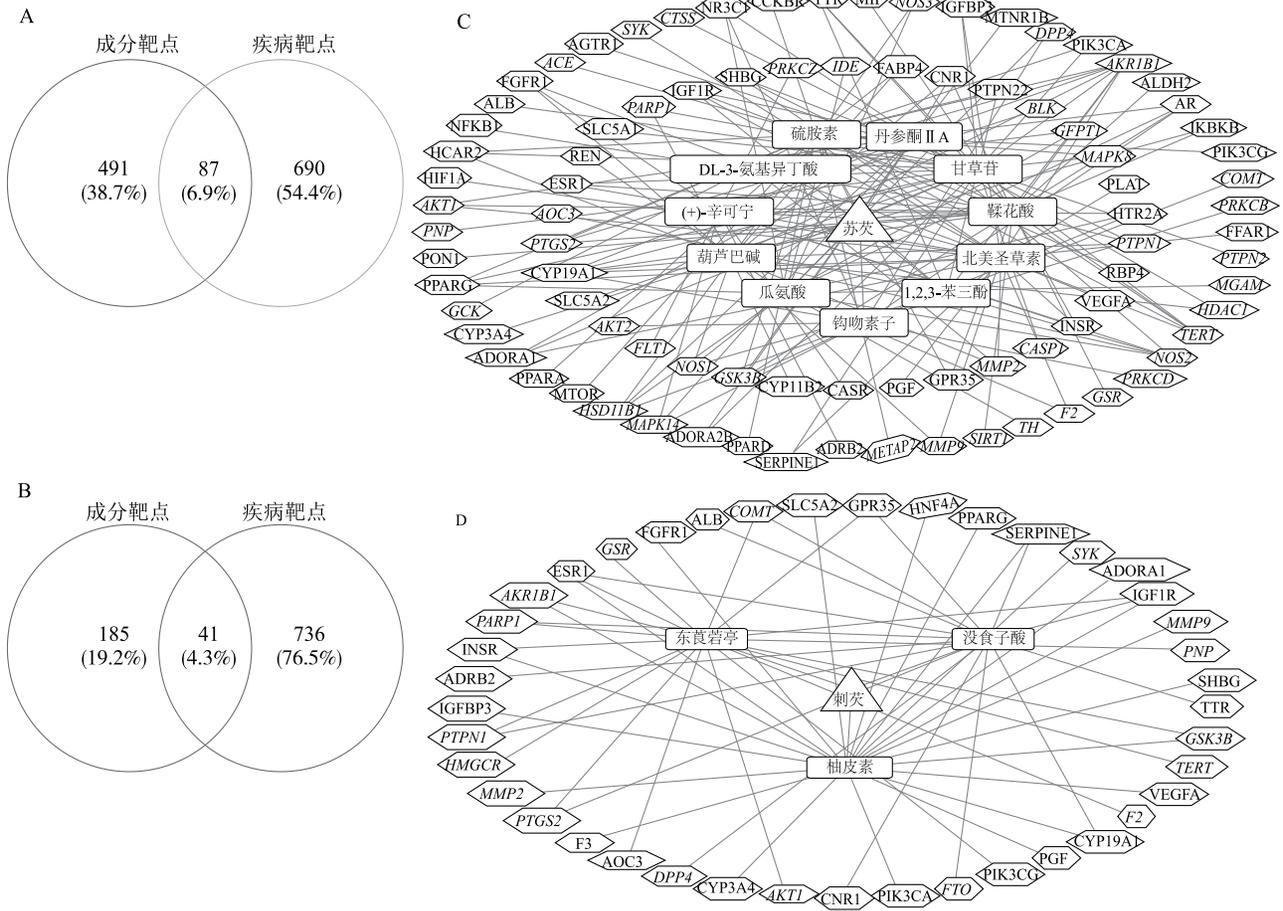
2.2 芡实成分靶点及糖尿病作用靶点的筛选结果

将苏芡中 12 种成分的 Smiles 化学结构分别上传到 Swiss Target Prediction 网站,得到预测靶点,取并集,获得 578 个预测靶点;如图 3A 所示,从疾病数据库里检索与糖尿病相关靶点后获得去重后的 777 个靶点。如图 3B 所示,刺芡中的 3 种活性成分得到成分靶点 226 个。苏芡和刺芡与疾病相交的靶点数分别为 87 个和 41 个。甜菜碱与糖尿病不存在相交靶点,甜菜碱可以降血糖是因为甜菜碱可以通过抑制内质网应激的强度从而治疗糖尿病型肾病^[42],最终使血糖相对降低。在 Cytoscape3.8.2 软件中将靶点与成分文件导入,绘制出靶点、成分、芡实间的网络关系图(图 3C 和 3D)。苏芡中,甘草苷(Liquiritin)具有 23 个潜在作用靶点,鞣花酸(Ellagic acid)和北美圣草素

(Eriodictyol)有 22 个潜在作用靶点,硫胺素有 20 个潜在作用靶点。在刺芡中,柚皮素(Naringenin)有 22 个潜在作用靶点,东莨菪亭(Scopoletin)有 18 个潜在作用靶点,没食子酸(Gallic acid)有 15 个潜在作用靶点。

2.3 构建 PPI 网络图

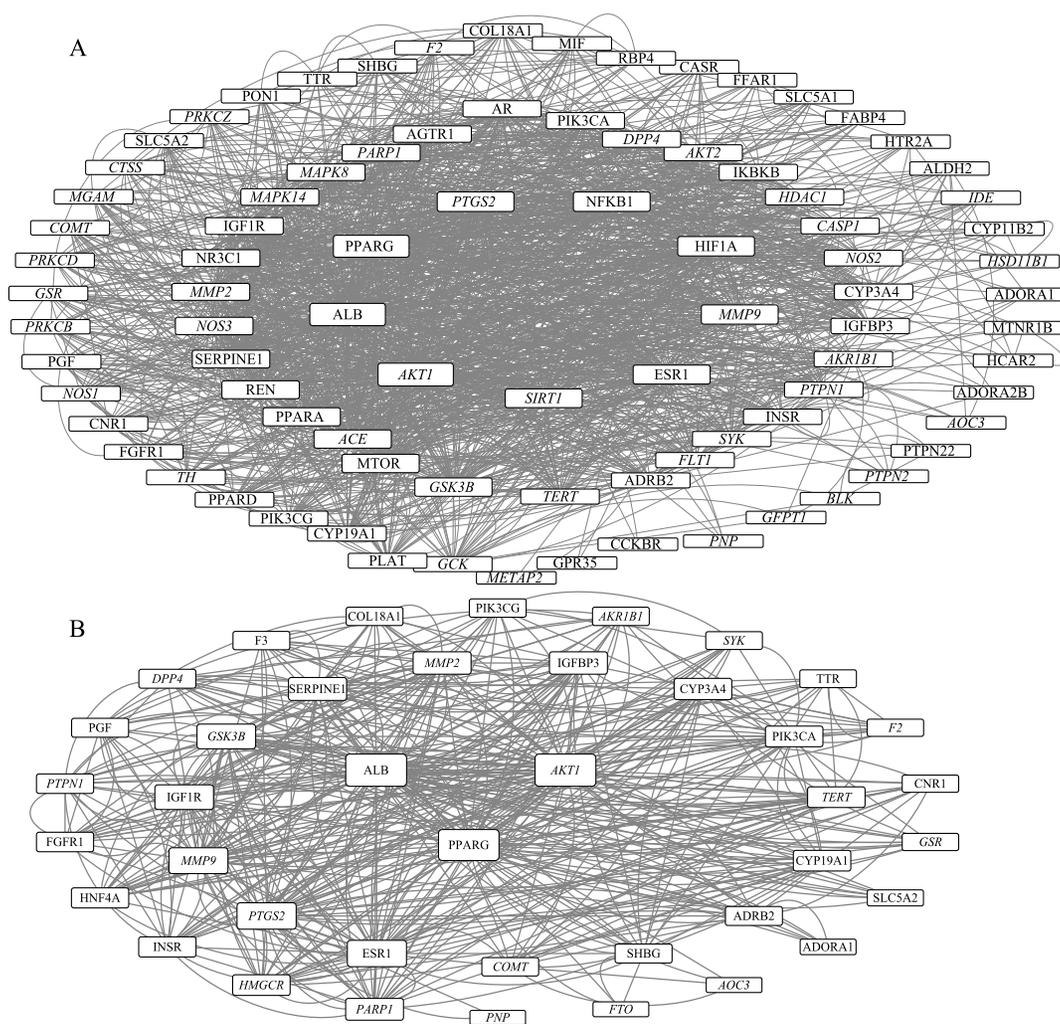
将苏芡和刺芡成分的潜在作用靶点分别与糖尿病靶点的交集靶点上传至 STRING12.0 数据库中,获取靶点间作用关系图。再把数据导入 Cytoscape,利用 CytoNCA 插件计算出该互作网络中各靶点度^[43]值,筛选度值的平均值的 2 倍作为核心靶点,绘制网络图(图 4)。图 4A 和图 4B 分别为苏芡、刺芡成分干预下的糖尿病靶点相互作用网络图。其中苏芡中核心靶点 9 个,刺芡中核心靶点 3 个,见表 2。



A, B 分别为苏芡、刺芡成分作用靶点与疾病靶点韦恩图; C, D 分别为苏芡、刺芡中成分与疾病靶点关系图。PTPN22: 蛋白质酪氨酸磷酸酶非受体型 22; IGF1R: 胰岛素样生长因子 1 受体; AOC3: 含铜胺氧化酶 3; NOS1: 一氧化氮合酶 1; NOS2: 一氧化氮合酶 2; COMT: 儿茶酚-O-甲基转移酶; TTR: 转甲状腺素蛋白; HCAR2: 羟基羧酸受体 2; PPARγ: 过氧化物酶体增殖物活化受体 γ; PPARα: 过氧化物酶体增殖物活化受体 α; PPARδ: 过氧化物酶体增殖物活化受体 δ; METAP2: 甲硫氨酰氨基肽酶 2; GPR35: G 蛋白偶联受体 35; RBP4: 视黄醇结合蛋白 4; MAPK8: 丝裂原活化蛋白激酶 8; FABP4: 脂肪酸结合蛋白 4; PTGS2: 前列腺素内过氧化物合酶 2; GSK3β: 糖原合酶激酶 3β; TERT: 端粒酶逆转录酶; PIK3CG: 磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 γ; PIK3CA: 磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α; CCKBR: 胆囊收缩素 B 受体; ACE: 血管紧张素转换酶; GCK: 葡萄糖激酶; MTOR: 雷帕霉素激酶的机制靶点; MMP9: 基质金属蛋白酶 9; MMP2: 基质金属蛋白酶 2; PTPN1: 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体 1 型; CNR1: 大麻素受体 1; PARP1: 聚(ADP-核糖)聚合酶 1; CYP19A1: 细胞色素 P450 家族 19 亚家族 A 成员 1; CYP11B2: 细胞色素 P450 家族 11 亚家族 B 成员 2; HDAC1: 组蛋白去乙酰化酶 1; IKKβ: 核因子 κB 激酶亚基 β 抑制剂; NOS3: 一氧化氮合酶 3; FGFR1: 成纤维细胞生长因子受体 1; CYP3A4: 细胞色素 P450 家族 3 亚家族 A 成员 4; HSD11B1: 羟基类固醇 11-β 脱氢酶 1; TH: 酪氨酸羟化酶; HTR2A: 5-羟色胺受体 2A; GFPT1: 谷氨酰胺-果糖-6-磷酸转氨酶 1; IDE: 胰岛素降解酶; REN: 肾素; F2: 凝血因子 II (凝血酶); MGAM: 麦芽糖酶-葡糖淀粉酶; AR: 雄激素受体; DPP4: 二肽基肽酶 4; NR3C1: 核受体亚家族 3C 组成员 1; MAPK14: 丝裂原活化蛋白激酶 14; ADRB2: β2-肾上腺素受体; CASR: 钙感受受体; INSR: 胰岛素受体; BLK: 酪氨酸蛋白激酶; PRKCZ: 蛋白激酶 Cζ; FLT1: Fms 相关受体酪氨酸激酶 1; MTNR1B: 褪黑激素受体 1B; CTSS: 组织蛋白酶 S; AKT1: AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶 1; ADORA1: 腺苷 A1 受体; ADORA2B: 腺苷 A2b 受体; SHBG: 性激素结合球蛋白; ESR1: 雌激素受体 1; FFAR1: 游离脂肪酸受体 1; IGF1R3: 胰岛素样生长因子结合蛋白 3; SYK: 脾脏相关酪氨酸激酶; HIF1A: 缺氧诱导因子 1 亚基 α; SERPINE1: Serpin 家族 E 成员 1; PGF: 胎盘生长因子; VEGFA: 血管内皮生长因子 A; PLAT: 组织型纤溶酶原激活剂; SLC5A1: 溶质载体家族 5 成员 1; SLC5A2: 溶质载体家族 5 成员 2; PTPN2: 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体 2 型; AGTR1: 血管紧张素 II 受体 1 型; ALB: 白蛋白; PNP: 嘌呤核苷磷酸化酶; CASP1: 胱天蛋白酶 1; GSR: 谷胱甘肽二硫键还原酶; ALDH2: 乙醛脱氢酶 2 家族成员; MIF: 巨噬细胞移动抑制因子; NFKB1: 核因子 κB 亚基 1; PONI: 对氧磷酶 1; SIRT1: 去乙酰化酶 1; AKT2: AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶 2; PRKCD: 蛋白激酶 Cδ; AKR1B1: 醛酮还原酶家族 1 成员 B; PRKCB: 蛋白激酶 Cβ; FTO: α-酮戊二酸依赖性双加氧酶; F3: 凝血因子 III (组织因子); HNF4A: 肝细胞核因子 4α; HMGCR: 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶。

图 3 芡实成分作用靶点与糖尿病作用靶点韦恩图及关系图

Fig.3 Venn diagram and relationship chart of action targets of *Euryale ferox* seed components and diabetes



A, B 分别为苏芡、刺芡成分干预下的糖尿病靶点相互作用网络图。PTPN22: 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 22; IGF1R: 胰岛素样生长因子 1 受体; AOC3: 含铜胺氧化酶 3; NOS1: 一氧化氮合酶 1; NOS2: 一氧化氮合酶 2; COMT: 儿茶酚-O-甲基转移酶; TTR: 转甲状腺素蛋白; HCAR2: 羟基羧酸受体 2; PPAR γ : 过氧化物酶体增殖激活受体 γ ; PPAR α : 过氧化物酶体增殖激活受体 α ; PPAR δ : 过氧化物酶体增殖激活受体 δ ; METAP2: 甲硫氨酰氨基肽酶 2; GPR35: G 蛋白偶联受体 35; RBP4: 视黄醇结合蛋白 4; MAPK8: 丝裂原活化蛋白激酶 8; FABP4: 脂肪酸结合蛋白 4; PTGS2: 前列腺素内过氧化物合酶 2; GSK3 β : 糖原合酶激酶 β ; TERT: 端粒酶逆转录酶; PIK3CG: 磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 γ ; PIK3CA: 磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α ; CCKBR: 胆囊收缩素 B 受体; ACE: 血管紧张素转换酶; GCK: 葡萄糖激酶; MTOR: 雷帕霉素激酶的机制靶点; MMP9: 基质金属蛋白酶 9; MMP2: 基质金属蛋白酶 2; PTPN1: 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 1 型; CNR1: 大麻素受体 1; PARP1: 聚(ADP-核糖)聚合酶 1; CYP19A1: 细胞色素 P450 家族 19 亚家族 A 成员 1; CYP11B2: 细胞色素 P450 家族 11 亚家族 B 成员 2; HDAC1: 组蛋白去乙酰化酶 1; IKK β : 核因子 κ B 激酶亚基 β 抑制剂; NOS3: 一氧化氮合酶 3; FGFR1: 成纤维细胞生长因子受体 1; CYP3A4: 细胞色素 P450 家族 3 亚家族 A 成员 4; HSD11B1: 羟基类固醇 11- β 脱氢酶 1; TH: 酪氨酸羟化酶; HTR2A: 5-羟色胺受体 2A; GFPT1: 谷氨酰胺-果糖-6-磷酸转氨酶 1; IDE: 胰岛素降解酶; REN: 肾素; F2: 凝血因子 II (凝血酶); MGAM: 麦芽糖酶-葡萄糖淀粉酶; AR: 雄激素受体; DPP4: 二肽基肽酶 4; NR3C1: 核受体亚家族 3C 组成员 1; MAPK14: 丝裂原活化蛋白激酶 14; ADRB2: β 2-肾上腺素受体; CASR: 钙感受受体; INSR: 胰岛素受体; BLK: 酪氨酸蛋白激酶; PRKCZ: 蛋白激酶 C ζ ; FLT1: Fms 相关受体酪氨酸激酶 1; MTNR1B: 褪黑激素受体 1B; CTSS: 组织蛋白酶 S; AKT1: AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶 1; ADORA1: 腺苷 A1 受体; ADORA2B: 腺苷 A2b 受体; SHBG: 性激素结合球蛋白; ESR1: 雌激素受体 1; FFAR1: 游离脂肪酸受体 1; IGF1R: 胰岛素样生长因子结合蛋白 3; SYK: 脾脏相关酪氨酸激酶; HIF1A: 缺氧诱导因子 1 亚基 α ; SERPINE1: Serpin 家族 E 成员 1; PGF: 胎盘生长因子; VEGFA: 血管内皮生长因子 A; PLAT: 组织型纤溶酶原激活剂; SLC5A1: 溶质载体家族 5 成员 1; SLC5A2: 溶质载体家族 5 成员 2; PTPN2: 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 2 型; AGTR1: 血管紧张素 II 受体 1 型; ALB: 白蛋白; PNP: 嘌呤核苷磷酸化酶; CASP1: 胱天蛋白酶 1; GSR: 谷胱甘肽二硫键还原酶; ALDH2: 乙醛脱氢酶 2 家族成员; MIF: 巨噬细胞移动抑制因子; NFKB1: 核因子 κ B 亚基 1; PONI: 对氧磷酶 1; SIRT1: 去乙酰化酶 1; AKT2: AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶 2; PRKCD: 蛋白激酶 C δ ; AKR1B1: 醛酮还原酶家族 1 成员 B; PRKCB: 蛋白激酶 C β ; FTO: α -酮戊二酸依赖性双加氧酶; F3: 凝血因子 III (组织因子); HNF4A: 肝细胞核因子 4 α ; HMGCR: 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶。

图 4 靶点相互作用网络

Fig.4 Network diagram of target interaction

表 2 苏芡及刺芡干预糖尿病的核心靶点

Table 2 Core targets of intervention for diabetes by South Euryale and North Euryale

品种	序号	靶点	度值
苏芡	1	<i>AKT1</i>	126
	2	ALB	120
	3	PPARG	116
	4	<i>PTGS2</i>	88
	5	NFKB1	86
	6	HIF1A	86
	7	<i>MMP9</i>	84
	8	ESR1	80
	9	<i>SIRT1</i>	78
刺芡	10	ALB	64
	11	AKT1	64
	12	PPARG	60

AKT1: 丝氨酸/苏氨酸激酶 1; ALB: 白蛋白; PPARG: 过氧化物酶体增殖物活化受体 γ ; *PTGS2*: 前列腺素内过氧化物合酶 2; NFKB1: 核因子 κ B 亚基 1; HIF1A: 缺氧诱导因子 1 亚基 α ; *MMP9*: 基质金属蛋白酶 9; ESR1: 雌激素受体 1; *SIRT1*: 去乙酰化酶 1。

2.4 GO、KEGG 富集结果分析

在苏芡关键靶点 GO 富集中,生物过程(BP)有 20 条功能途径;细胞定位(CC)有 47 条功能途径;分子功能(MF)有 107 条功能途径。因此苏芡成分中的 12 个关键靶点通过 GO 富集共获得 174 条功能途径。同样在刺芡关键靶点 GO 富集中,BP、CC、MF 分别有 168 条、23 条、54 条功能途径。刺芡成分中 3 个关键靶点共有 245 条 GO 富集功能途径。分别选择苏芡、刺芡中 BP、CC、MF 的 P 值较小的前 10 个($P < 0.01$)绘制气泡图和 GO 富集分析图。苏芡干预糖尿病靶点基因富集分析结果见图 5,刺芡干预糖尿病靶点基因富集分析结果见图 6。

由图 5A 可知,苏芡成分干预糖尿病的靶点主要参与了对细胞凋亡过程的负调控、基因表达的负调控过程,以及积极调节细胞增殖,其次也参与了对缺氧的反应、血管生成、葡萄糖稳态、肽基丝氨酸磷酸化等生物过程。这些靶点主要集中在细胞膜、细胞质、细胞核、外泌体、细胞外区、线粒体、大分子复合物、胞膜窖等部位,具有相同的蛋白质结合、蛋白质丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、酶结合、蛋白激酶结合、蛋白激酶活性、转录辅激活因子结合、类固醇结合、胰岛素受体底物结合、四氢生物蝶呤结合等功能。由图 5B 可知,苏芡成分干预糖尿病的靶点

主要集中在糖尿病性心肌病、胰岛素抵抗、糖尿病并发症中的高级糖基化终末产物-受体信号通路、癌症中的通路、缺氧诱导因子 1 信号通路、前列腺癌、松弛素信号等通路。由图 6A 可知,刺芡成分干预糖尿病的靶点参与了丝裂原活化蛋白激酶级联的正向调控、蛋白激酶 B 信号的正向调节过程,以及参与血管生成、基因表达的负调控、胰岛素受体信号通路、葡萄糖稳态等过程,这些靶点主要集中在细胞膜、细胞外区、外泌体等,具有蛋白质结合、蛋白质同源二聚作用、蛋白质丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、酶结合、丝氨酸型内切肽酶活性、激酶活性、蛋白激酶结合、胰岛素受体底物结合、胰岛素样生长因子 I 结合等功能。图 6B 显示,这些靶点主要富集在癌症通路、磷酸腺苷活化蛋白激酶信号通路、脂肪细胞的脂肪分解的调节信号通路、糖尿病性心肌病信号通路、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路等。

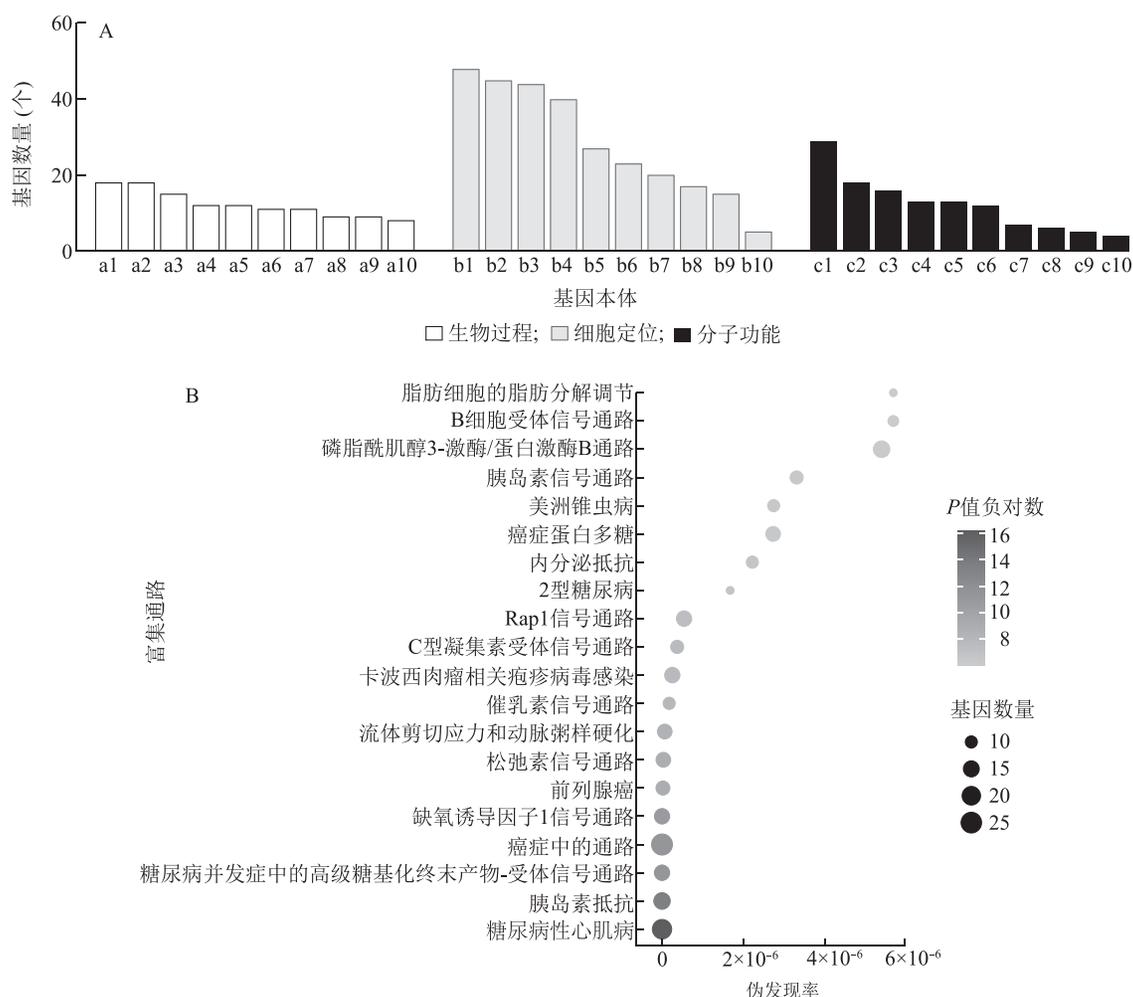
2.5 分子对接验证

成分-靶点网络图显示,苏芡中有 9 个关键靶点,但是由于 1 个成分对应多个靶点,因此选择所对应的成分为硫胺素、瓜氨酸、丹参酮 II A、北美圣草素、甘草苷、鞣花酸、葫芦巴碱,选择这些成分对应的靶点进行分子对接验证,分别为过氧化物酶体增殖物活化受体 γ (PPARG)、蛋白激酶 B(*AKT1*)、白蛋白(ALB)以及基质金属蛋白酶-9(*MMP9*)。同理在刺芡成分 PPI 网络中,我们选择 ALB、PPARG 以及 *AKT1* 所对应的没食子酸、柚皮素、东莨菪亭进行分子对接验证。所有分子对接的能量均为负值,同时每个成分都结合在靶点蛋白质的凹陷处(图 7),说明芡实成分与靶点蛋白质可以自发结合,推测每个组分在细胞内都可以与靶点自发结合形成二元复合物。

3 讨论

对苏芡和刺芡的成分进行代谢组学分析,结果显示,苏芡与刺芡中存在 153 种含量有显著差异的代谢物,在苏芡、刺芡中与干预糖尿病有关的成分含量分别有 12 种和 3 种存在显著差异。正是这些含量差异的代谢物使苏芡和刺芡在外观及功效方面存在差异,在降血糖方面效果不同。

在 S1 中,左旋肉碱的含量更高,左旋肉碱具有多种功能,包括降脂^[44]、益精^[45]、保护脊髓^[46]等作用。与 S2 相比,S1 具有含量更高的没食子酸和七叶苷。没食子酸具有抗肿瘤^[47]、抗氧化^[48]等作用;



A、B 分别为苏芡干预糖尿病靶点的 GO、KEGG 富集分析。a1:对细胞凋亡过程的负调控;a2:积极调节细胞增殖;a3:基因表达的负调控;a4:对缺氧的反应;a5:血管生成;a6:葡萄糖稳态;a7:肽基丝氨酸磷酸化;a8:胰岛素受体信号通路;a9:细胞对胰岛素刺激的反应;a10:磷脂酰肌醇3-激酶信号的正向调节;b1:细胞膜;b2:细胞质;b3:细胞质基质;b4:细胞核;b5:外泌体;b6:细胞外区;b7:细胞外空间;b8:线粒体;b9:大分子复合物;b10:胞膜窗;c1:相同的蛋白质结合;c2:蛋白质酪氨酸/苏氨酸/丝氨酸激酶活性;c3:酶结合;c4:蛋白质苏氨酸/丝氨酸激酶活性;c5:蛋白激酶结合;c6:蛋白激酶活性;c7:转录辅激活因子结合;c8:类固醇结合;c9:胰岛素受体底物结合;c10:四氢生物蝶呤结合。

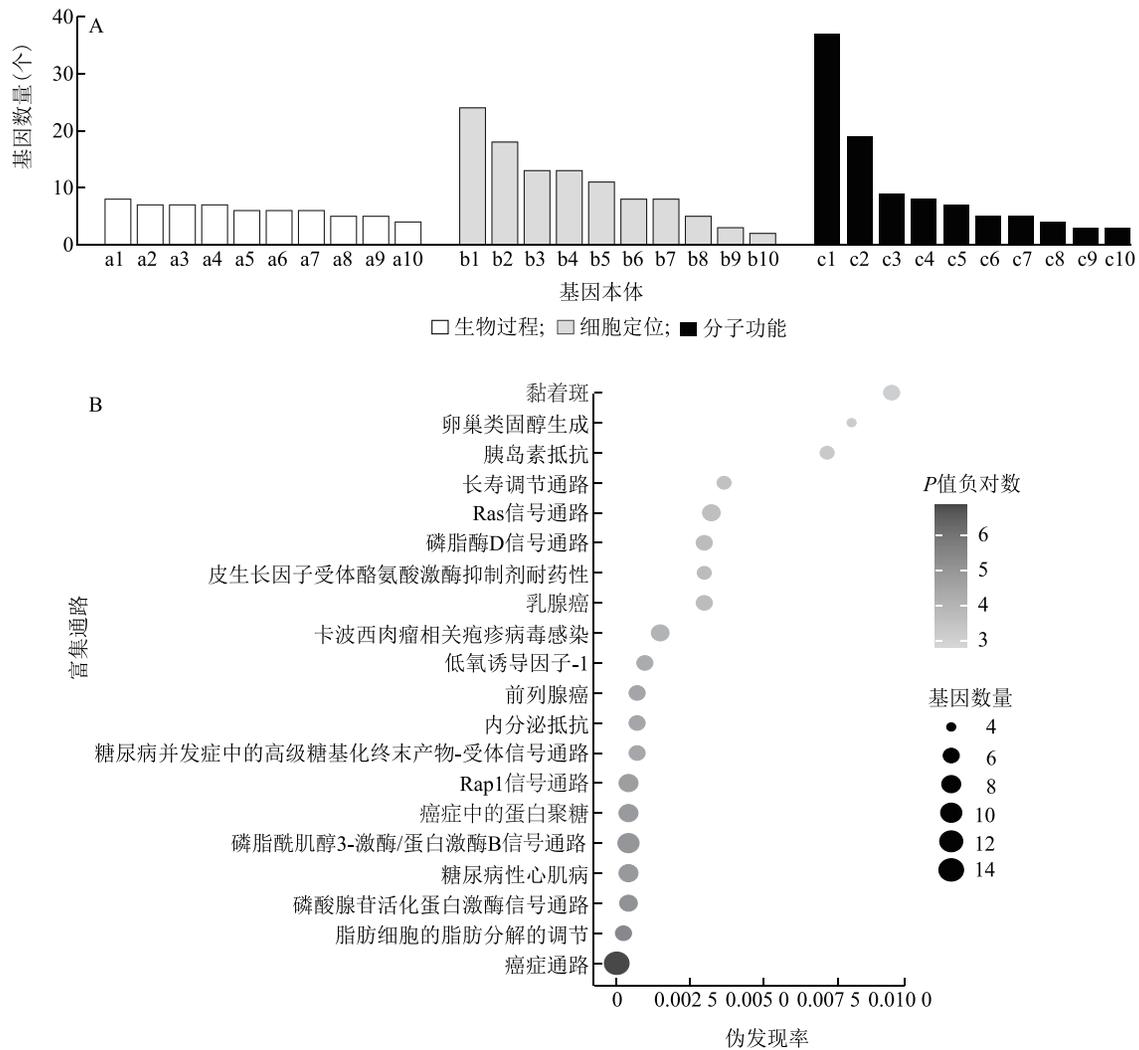
图5 苏芡的 GO 富集及 KEGG 富集柱状图和条形图

Fig.5 GO enrichment and KEGG enrichment bar charts and histograms of South *Euryale*

七叶苷具有抗氧化^[49]、抗肿瘤^[50]等作用。尽管 S1 中含有多种对人体健康有益的活性成分,但其含有的三甲胺-N-氧化物会对机体产生严重的危害,研究表明三甲胺-N-氧化物与心血管疾病有关^[51],甚至与心肌梗死有较强的临床相关性^[52]。这可能是由于三甲胺-N-氧化物主要是由芡实内部生长的微生物产生的,它们分解芡实中的氮化合物时会产生三甲胺-N-氧化物^[53]。由于芡实表皮与外界接触面积大,同时也是芡实中微生物生长的场所,所以芡实表皮中的三甲胺-N-氧化物的含量相对较高。而去皮后,芡实的表皮被去除,其中的微生物也被去

除,因此去皮芡实中的三甲胺-N-氧化物含量相对较低。

通过查阅文献及检索数据库对含量差异显著的成分进行功能性比较,结果表明,苏芡具有更好的降血糖效果。在苏芡中甘草苷、北美圣草素、鞣花酸、硫酸素存在较多靶点,在关键靶点筛选中,关键靶点所对应的成分为丹参酮 II A、北美圣草素、鞣花酸、甘草苷、瓜氨酸等,因此丹参酮 II A、北美圣草素、鞣花酸、甘草苷、瓜氨酸等在调节血糖中起到主要作用。北美圣草素可以刺激小鼠胰岛和 MIN6 细胞分泌胰岛素,从而在治疗糖尿病及相关并发症的药物



A、B 分别为刺芡干预糖尿病靶点的 GO、KEGG 富集分析。a1: 丝裂原活化蛋白激酶级联的正向调控; a2: 蛋白激酶 B 信号转导的正向调节; a3: 血管生成; a4: 基因表达的负调控; a5: 胰岛素受体信号通路; a6: 葡萄糖稳态; a7: 蛋白质自身磷酸化; a8: 磷脂酰肌醇 3-激酶信号转导的过时代正向调节; a9: 细胞对胰岛素刺激的反应; a10: 磷脂酰肌醇 3-激酶信号转导; b1: 细胞膜; b2: 膜; b3: 细胞外区; b4: 外泌体; b5: 细胞外空间; b6: 大分子复合物; b7: 内质网; b8: 受体复合物; b9: 血小板 α 颗粒腔; b10: 磷脂酰肌醇 3-激酶复合物, IB 类; c1: 蛋白质结合; c2: 相同蛋白质结合; c3: 蛋白质同源二聚作用; c4: 蛋白质酪氨酸/苏氨酸/丝氨酸激酶活性; c5: 酶结合; c6: 丝氨酸型内切肽酶活性; c7: 激酶活性; c8: 蛋白酶结合; c9: 胰岛素受体底物结合; c10: 胰岛素样生长因子 I 结合。

图 6 刺芡的 GO 富集及 KEGG 富集柱状图和条形图

Fig.6 GO enrichment and KEGG enrichment bar charts and histograms of North Euryale

中作为组成成分发挥重要作用。丹参酮 II A 的抗氧化和神经保护特性可用于缓解糖尿病最常见的并发症神经病变, 治疗糖尿病引起的神经功能障碍以及修复对热和机械损伤的感知能力^[54]; Amin 等^[27]通过研究经高脂高糖诱导的 2 型糖尿病大鼠发现, 鞣花酸显著改善了大鼠血糖平衡, 增强了胰岛素信号传导; Zhang 等^[55]研究发现, 甘草苷可以有效降低小鼠被喂养果糖后引起的脂质积累和胰岛素抵抗, 并且甘草苷通过抑制核因子活化 B 细胞 κ 轻链增

强子和丝裂原活化蛋白激酶信号通路对高果糖诱导的心肌纤维化具有保护作用。另外, 苏芡中的含量差异显著的成分还起到抑制神经损伤、抗肿瘤、抗氧化、抗炎等作用。在刺芡中, 柚皮素存在较多的靶点, 在关键靶点筛选中, 最关键靶点 ALB 对应的成分为没食子酸。研究表明, 没食子酸和对香豆酸具有明显的抗糖尿病作用, 通过调节肿瘤坏死因子- α 和脂肪细胞因子分泌以及上调过氧化物酶体增殖物活化受体 γ mRNA 表达从而表现出显著的抗

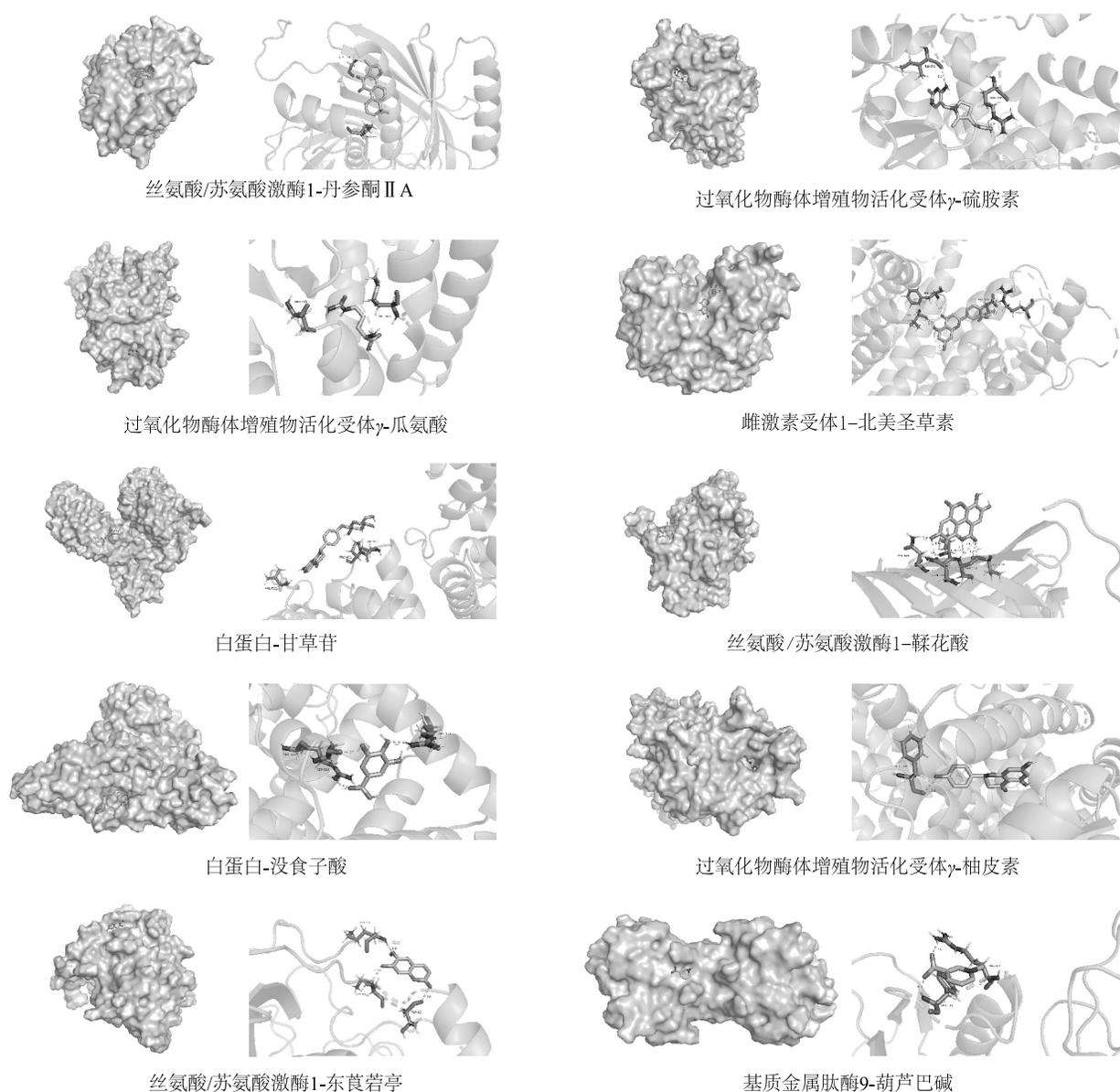


图7 芡实成分与关键靶点蛋白质分子对接模型

Fig.7 Docking model diagram of the interaction between the components of *Euryale ferox* and key target protein molecules

糖尿病作用^[56]。值得注意的是东莨菪亭可以通过抑制 α -葡萄糖苷酶从而达到辅助调节血糖的效果。

PPI网络构建结果显示,苏芡和刺芡与糖尿病作用的关键靶点都包含PPARG,PPARG是脂肪细胞分化和葡萄糖稳态的关键调节因子。PPARG是PPAR的3种亚型之一,与许多疾病病理有关,包括肥胖症、糖尿病、动脉粥样硬化和癌症病理^[57]。PPARG已被证实与2型糖尿病有关,研究结果表明,PPARG H449L突变与胰岛素抵抗、高甘油三酯血症和非酒精性脂肪肝等疾病相关^[58],发生突变个体更易罹患显性糖尿病。有研究人员认为,通过

PPARG编码基因中的变异可以预测个体患2型糖尿病的风险^[59]。在苏芡中PPARG对应4种成分,分别为硫胺素、瓜氨酸、北美圣草素、甘草苷;在刺芡中对应柚皮素。苏芡中包含更多PPARG靶点结合成分。另外苏芡中AKT1靶点由胰岛素和多种生长存活因子激活,在调节细胞生长、分裂和抑制细胞凋亡等多种过程中发挥着关键作用。

在GO富集以及KEGG富集中,苏芡中的靶点主要富集在糖尿病性心肌病、胰岛素抵抗等信号通路,刺芡中的靶点主要富集在癌症的发病途径、脂肪细胞脂解的调控、磷酸腺苷活化蛋白激酶信号通路。

因此苏茨中不仅存在更多能显著降低血糖的成分,其靶点集中性也与治疗糖尿病的需求更贴近。

综上所述,本研究基于代谢组学研究不同品种茨实中的差异显著的成分,基于网络药理学筛选功能性成分并进行分子对接技术验证,结果表明,干预糖尿病的含量差异显著的成分数量在苏茨中更多。本研究结果为茨实干预糖尿病的研究提供了新的思路。

参考文献:

- [1] 徐君,尹渝来,薛博文,等. 基于 SSR 标记的茨实遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. 中国蔬菜,2023(12):79-85.
- [2] ONG K L, STAFFORD L K, MCLAUGHLIN S A, et al. Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021 [J]. The Lancet, 2023, 402 (10397):203-234.
- [3] GONG Q H, ZHANG P, WANG J P, et al. Morbidity and mortality after lifestyle intervention for people with impaired glucose tolerance: 30-year results of the Da Qing diabetes prevention outcome study [J]. The Lancet Diabetes & Endocrinology, 2019, 7 (6): 452-461.
- [4] 王盈蕴,吉红玉,朱向东. 茨实的临床应用及其用量探究[J]. 吉林中医药,2021,41(5):664-667.
- [5] 王华昆. 黄精茨实汤联合揸针疗法对轻型糖尿病患者的临床疗效分析[J]. 糖尿病新世界,2021,24(20):98-100,104.
- [6] XU L, ZUO S M, LIU M, et al. Integrated analysis of metabolomics combined with network pharmacology and molecular docking reveals the effects of processing on metabolites of *Dendrobium officinale* [J]. Metabolites, 2023, 13 (8): 886.
- [7] 朱和权,李勇,李春阳,等. 基于代谢组学及网络药理学分析天麻熟制过程中生物学活性变化[J]. 食品工业科技,2023,44(3):29-39.
- [8] MU Q E, ZHANG M X, LI Y, et al. Metabolomic analysis reveals the effect of insecticide chlorpyrifos on rice plant metabolism [J]. Metabolites, 2022, 12 (12): 1289.
- [9] 张丽,曾嘉程,王梦,等. 不同产地茨实的品质特性评价[J]. 食品工业科技,2019,40(11):70-78.
- [10] LIN Y R, ZHENG F T, XIONG B J, et al. Koumine alleviates rheumatoid arthritis by regulating macrophage polarization [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 311: 116474.
- [11] LU J S, YANG L, CHEN J, et al. Basolateral amygdala astrocytes modulate diabetic neuropathic pain and may be a potential therapeutic target for koumine [J]. British Journal of Pharmacology, 2023, 180 (10): 1408-1428.
- [12] YUAN Z H, YANG M R, LIANG Z, et al. PI3K/AKT/mTOR, NF- κ B and ERS pathway participated in the attenuation of H₂O₂-induced IPEC-J2 cell injury by koumine [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 304: 116028.
- [13] XUE H, XING H J, WANG B, et al. Cinchonine, a potential oral small-molecule glucagon-like peptide-1 receptor agonist, lowers blood glucose and ameliorates non-alcoholic steatohepatitis [J]. Drug Design, Development and Therapy, 2023, 17: 1417-1432.
- [14] WANG H, SHI Y T, MA D N, et al. Cinchonine exerts anti-tumor and immunotherapy sensitizing effects in lung cancer by impairing autophagic-lysosomal degradation [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023, 164: 114980.
- [15] WANG Q L, WEI C M, WENG W, et al. Enhancement of oral bioavailability and hypoglycemic activity of liquiritin-loaded precursor liposome [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2021, 592: 120036.
- [16] WANG Q L, ZHANG K Y, WENG W, et al. Liquiritin-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin inclusion complex: preparation, characterization, bioavailability and antitumor activity evaluation [J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2022, 111 (7): 2083-2092.
- [17] BAI D D, XIAO W H. Regulatory effects and mechanisms of branched chain amino acids and metabolic intermediates on insulin resistance [J]. Acta Physiologica Sinica, 2023, 75 (2): 291-302.
- [18] PANGHAL A, KUMAR V, JENA G. Melphalan induced germ cell toxicity and dose-dependent effects of β -aminoisobutyric acid in experimental rat model: role of oxidative stress, inflammation and apoptosis [J]. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 2023, 37 (8): e23374.
- [19] GHAIAD H R, ALI S O, AL-MOKADDEM A K, et al. Regulation of PKC/TLR-4/NF- κ B signaling by sulbutiamine improves diabetic nephropathy in rats [J]. Chemico-Biological Interactions, 2023, 381: 110544.
- [20] MROWICKA M, MROWICKI J, DRAGAN G, et al. The importance of thiamine (Vitamin B₁) in humans [J]. Bioscience Reports, 2023, 43 (10): BSR20230374.
- [21] MOSKOWITZ A, BERG K M, GROSSESTREUER A V, et al. Thiamine for renal protection in septic shock (TRPSS): a randomized, placebo-controlled trial [J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2023, 208 (5): 570-578.
- [22] LIANG Y D, DAI X L, CAO Y, et al. The neuroprotective and antidiabetic effects of trigonelline: a review of signaling pathways and molecular mechanisms [J]. Biochimie, 2023, 206: 93-104.
- [23] ZIA S R, WASIM M, AHMAD S. Unlocking therapeutic potential of trigonelline through molecular docking as a promising approach for treating diverse neurological disorders [J]. Metabolic Brain Disease, 2023, 38 (8): 2721-2733.
- [24] WU Q, GUAN Y B, ZHANG K J, et al. Tanshinone II A mediates protection from diabetes kidney disease by inhibiting oxidative stress induced pyroptosis [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 316: 116667.
- [25] SI J C, LIU B B, QI K R, et al. Tanshinone II A inhibited intermittent hypoxia induced neuronal injury through promoting autophagy via AMPK-mTOR signaling pathway [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 315: 116677.

- [26] ZHANG W W, LIU M H, JI Y R, et al. Tanshinone II A inhibits endometrial carcinoma growth through the MAPK/ERK/TRIB3 pathway[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2023, 743: 109655.
- [27] AMIN M M, ARBID M S. Estimation of ellagic acid and/or repaglinide effects on insulin signaling, oxidative stress, and inflammatory mediators of liver, pancreas, adipose tissue, and brain in insulin resistant/type 2 diabetic rats [J]. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism, 2017, 42(2): 181-192.
- [28] LU G Y, WANG X Z, CHENG M, et al. The multifaceted mechanisms of ellagic acid in the treatment of tumors; state-of-the-art[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023, 165: 115132.
- [29] SZKUDELKA K, SZKUDELSKI T. The anti-diabetic potential of betaine. Mechanisms of action in rodent models of type 2 diabetes [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 150: 112946.
- [30] ZHANG Y, JIA J P. Betaine mitigates amyloid- β -associated neuroinflammation by suppressing the NLRP3 and NF- κ B signaling pathways in microglial cells[J]. Journal of Alzheimer's Disease, 2023, 94(S1): 9-19.
- [31] ZHENG L, LEE J, YUE L M, et al. Inhibitory effect of pyrogallol on α -glucosidase; integrating docking simulations with inhibition kinetics[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 112: 686-693.
- [32] OZTURK SARIKAYA S B. Acetylcholinesterase inhibitory potential and antioxidant properties of pyrogallol[J]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2015, 30(5): 761-766.
- [33] PATEL D K, PATEL K. Therapeutic importance of eriodictyol in the medicine for the treatment of diabetes and associated complication through its insulin secretagogue properties [J]. Metabolism, 2022, 128: 155056.
- [34] AZIZI S, MAHDAVI R, VAGHEF-MEHRABANY E, et al. Potential roles of citrulline and watermelon extract on metabolic and inflammatory variables in diabetes mellitus, current evidence and future directions; a systematic review[J]. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 2020, 47(2): 187-198.
- [35] IVANOVSKI N, WANG H H, TRAN H, et al. L-citrulline attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory lung injury in neonatal rats[J]. Pediatric Research, 2023, 94(5): 1684-1695.
- [36] PARK H Y, KIM S W, SEO J, et al. Dietary arginine and citrulline supplements for cardiovascular health and athletic performance; a narrative review[J]. Nutrients, 2023, 15(5): 1268.
- [37] LIN P B, ZHANG X J, ZHU B Y, et al. Naringenin protects pancreatic β cells in diabetic rat through activation of estrogen receptor β [J]. European Journal of Pharmacology, 2023, 960: 176115.
- [38] CAI J, WEN H L, ZHOU H, et al. Naringenin; a flavanone with anti-inflammatory and anti-infective properties[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023, 164: 114990.
- [39] PUNITHAVATHI V R, PRINCE P S M, KUMAR R, et al. Anti-hyperglycaemic, antilipid peroxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats[J]. European Journal of Pharmacology, 2011, 650(1): 465-471.
- [40] JANG J H, PARK J E, HAN J S. Scopoletin inhibits α -glucosidase *in vitro* and alleviates postprandial hyperglycemia in mice with diabetes[J]. European Journal of Pharmacology, 2018, 834: 152-156.
- [41] LEE S G, KIM M M. Anti-inflammatory effect of scopoletin in RAW264. 7 macrophages [J]. Journal of Life Science, 2015, 25(12): 1377-1383.
- [42] 陈吉刚, 庞琦, 曾薇等. 甜菜碱对糖尿病肾病小鼠的治疗作用及其机制[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(11): 1040-1043.
- [43] JEONG H, MASON S P, BARABÁSI A L, et al. Lethality and centrality in protein networks [J]. Nature, 2001, 411(6833): 41-42.
- [44] 芦宇婷, 周仙杰, 雷雨, 等. 白芸豆提取物联合左旋肉碱对肥胖小鼠的减脂作用[J]. 卫生研究, 2022, 51(6): 1015-1018.
- [45] 李焕, 邓浩, 刘晃, 等. 左旋肉碱虾青素复合营养素治疗特发性少精子症和弱精子症的多中心临床观察[J]. 中华男科学杂志, 2021, 27(4): 334-339.
- [46] 张梦洁, 郭焱辉, 任彬, 等. 乙酰左旋肉碱对大鼠脊髓损伤保护作用的实验研究[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2020, 23(17): 1479-1483.
- [47] JIANG Y, PEI J, ZHENG Y, et al. Gallic acid; a potential anti-cancer agent [J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2022, 28(7): 661-671.
- [48] BHATTACHARYYA S, AHAMMED S M, SAHA B P, et al. The gallic acid-phospholipid complex improved the antioxidant potential of gallic acid by enhancing its bioavailability [J]. AAPS PharmSciTech, 2013, 14(3): 1025-1033.
- [49] LIN W L, WANG C J, TSAI Y Y, et al. Inhibitory effect of esculetin on oxidative damage induced by t-butyl hydroperoxide in rat liver [J]. Archives of Toxicology, 2000, 74(8): 467-472.
- [50] WANG K, ZHANG Y, EKUNWE S I N, et al. Antioxidant activity and inhibition effect on the growth of human colon carcinoma (HT-29) cells of esculetin from Cortex Fraxini [J]. Medicinal Chemistry Research, 2011, 20(7): 968-974.
- [51] KANITSORAPHAN C, RATTANAWONG P, CHAROENSRI S, et al. Trimethylamine N-oxide and risk of cardiovascular disease and mortality [J]. Current Nutrition Reports, 2018, 7(4): 207-213.
- [52] 陈艳, 许丽丽, 王丽曼, 等. 血浆三甲胺 N-氧化物与心肌梗死关系的研究进展[J]. 医药导报, 2023, 42(4): 524-528.
- [53] 赵霄潇, 颜红兵. 三甲胺-N-氧化物在心血管相关疾病发病机制中的研究进展[J]. 心血管病学进展, 2020, 41(11): 1123-1125, 1136.
- [54] LIU Y W, WANG L J, LI X K, et al. Tanshinone II A improves impaired nerve functions in experimental diabetic rats [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2010, 399(1): 49-54.
- [55] ZHANG Y, ZHANG L, ZHANG Y, et al. The protective role of liquiritin in high fructose-induced myocardial fibrosis via inhibiting NF- κ B and MAPK signaling pathway [J]. Biomedicine & Pharma-

- cotherapy, 2016, 84:1337-1349.
- [56] ABDEL-MONEIM A, EL-TWAB S M A, YOUSEF A I, et al. Modulation of hyperglycemia and dyslipidemia in experimental type 2 diabetes by gallic acid and p-coumaric acid; the role of adipocytokines and PPAR γ [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 105:1091-1097.
- [57] MUSTAFA H A, ALBKRYE A M S, ABDALLA B M, et al. Computational determination of human PPARG gene; SNPs and prediction of their effect on protein functions of diabetic patients [J]. *Clinical and Translational Medicine*, 2020, 9(1):7.
- [58] DEMIR T, ONAY H, SAVAGE D B, et al. Familial partial lipodystrophy linked to a novel peroxisome proliferator activator receptor- γ (PPARG) mutation, H449L; a comparison of people with this mutation and those with classic codon 482 Lamin A/C (LMNA) mutations [J]. *Diabetic Medicine*, 2016, 33(10):1445-1450.
- [59] LYSSENKO V, ALMGREN P, ANEVSKI D, et al. Genetic prediction of future type 2 diabetes [J]. *PLoS Medicine*, 2005, 2(12):e345.

(责任编辑:陈海霞)