

基于网络药理学的泽泻治疗高脂血症不同配伍规律及药效作用机制研究

梁芸慧^{1,2}, 焦马静¹, 田惠玲^{1,2}, 雷红媛^{1,2}, 吴志政^{1,2}, 任永申^{2*}

¹中南民族大学药学院, 湖北 武汉

²海南大学药学院, 海南 海口

收稿日期: 2024年3月1日; 录用日期: 2024年4月19日; 发布日期: 2024年4月30日

摘要

目的: 本文基于网络药理学方法探究泽泻治疗高脂血症不同配伍规律及其内在的药效作用机制。方法: 利用中国知网等平台收集泽泻治疗高脂血症的复方, 并通过中医传承计算机平台V3.0分析数据, 最终筛选出治疗高脂血症配方中与泽泻高频配伍的中药材。使用TCMSP、SymMap、SwissTargetPrediction数据库检索泽泻及其高配伍药材的作用靶点。使用GeneCards、Disgenet、OMIM数据库获取高脂血症的疾病靶点。采用Venny 2.1.0获取药物-疾病交集靶点, 使用网站STRING和软件Cytoscape3.9.1进行分析, 绘制泽泻及其配伍药材-高脂血症的PPI网络图, 以识别核心靶标。利用网站Metascape对共有靶点进行GO和KEGG富集分析, 并利用插件Cluego分析泽泻配伍治疗高脂血症核心通路。结果: 在泽泻治疗高脂血症的配方中选取了14个与泽泻高频配伍的中药材, 其分别为丹参、山楂、茯苓、白术、陈皮、决明子、黄芪、川芎、半夏、荷叶、党参、柴胡、何首乌、甘草。尽管这些不同配伍药材在成分上存在较大差异, 但与泽泻配伍后和高脂血症的交集靶点及KEGG信号通路高度重叠。靶点RXRA、NCOA1、IL6、IL1B、TNF、PPARG在各个配伍药材中高频出现且degree值较高, 推测其是增强泽泻治疗高脂血症疗效的核心靶点。KEGG通路涉及AGE-RAGE信号通路与糖尿病并发症、胰岛素抵抗、血脂与动脉粥样硬化、癌症、流体剪切应力与动脉粥样硬化。结论: 本研究通过网络药理学探究泽泻治疗高脂血症的潜在机理及不同配伍关系对泽泻治疗高脂血症的影响, 为高脂血症治疗和基础研究提供新思路。

关键词

泽泻, 配伍关系, 高脂血症, 网络药理学, 作用机理

Study on Different Compatibility Rules and Pharmacodynamic Mechanisms of *Alismatis Rhizoma* in the Treatment of Hyperlipidemia Based on Network Pharmacology

*通讯作者。

文章引用: 梁芸慧, 焦马静, 田惠玲, 雷红媛, 吴志政, 任永申. 基于网络药理学的泽泻治疗高脂血症不同配伍规律及药效作用机制研究[J]. 中医学, 2024, 13(4): 863-879. DOI: 10.12677/tcm.2024.134134

Yunhui Liang^{1,2}, Majing Jiao¹, Huiling Tian^{1,2}, Hongyuan Lei^{1,2}, Zhizheng Wu^{1,2}, Yongshen Ren^{2*}

¹School of Pharmaceutical Science, South-Central Minzu University, Wuhan Hubei

²School of Pharmaceutical Science, Hainan University, Haikou Hainan

Received: Mar. 1st, 2024; accepted: Apr. 19th, 2024; published: Apr. 30th, 2024

Abstract

Objective: This article is based on network pharmacology to explore the different compatibility patterns and internal pharmacological mechanisms of *Alismatis Rhizoma* in the treatment of hyperlipidemia. **Methods:** This study collected formulas containing *Alismatis Rhizoma* in treating Hyperlipidemia on the CNKI. It analyzed data using the traditional Chinese medicine inheritance computing platform V3.0 and selected Chinese medicinal herbs with higher compatibility with *Alismatis Rhizoma* in the formulas for treating Hyperlipidemia. This paper retrieved the action targets of *Alismatis Rhizoma* and its highly compatible medicinal herbs using TCMSP, SymMap, and SwissTargetPrediction databases; obtained disease targets of hyperlipidemia using GeneCards, Disgenet, and OMIM databases; used Venny 2.1.0 to acquire the intersection targets of drugs-diseases; performed analysis using the STRING website and Cytoscape 3.9.1 software to draw the PPI network diagram of *Alismatis Rhizoma* and its compatible medicinal herbs with hyperlipidemia to identify core targets; conducted GO and KEGG enrichment analysis of shared targets using the Metascape website; and analyzed core pathways for treating hyperlipidemia with *Alismatis Rhizoma* using the Cluego plugin. **Results:** 14 Chinese medicinal herbs with high-frequency compatibility with *Alismatis Rhizoma* were selected in the formula for treating Hyperlipidemia, including Danshen, Hawthorn, Fuling, Baizhu, Chenpi, Jueyingzi, Huangqi, Chuanxiong, Banxia, Heye, Dangshen, Chaihu, Heshouwu, and Gancao. Although there are significant differences in composition among different compatibility medicinal herbs, their intersection targets and KEGG signalling pathways with *Alismatis Rhizoma* and Hyperlipidemia after compatibility are highly overlapping. The targets RXRA, NCOA1, IL6, IL1B, TNF, and PPARG are frequently present in various compatible medicinal herbs and rank high in degree values. Presumably, it is the core target for enhancing the efficacy of *Alismatis Rhizoma* in treating Hyperlipidemia through compatibility. The KEGG pathway involves the AGE-RAGE signaling pathway in diabetes complications, insulin resistance, lipids and atherosclerosis, pathways in cancer, fluid shear stress and atherosclerosis. **Conclusion:** This study explores the potential mechanism of *Alismatis Rhizoma* in treating Hyperlipidemia through network pharmacology and the impact of different compatibility relationships on *Alismatis Rhizoma* in treating Hyperlipidemia, providing new ideas for the treatment and basic research of Hyperlipidemia.

Keywords

Alismatis Rhizoma, Compatibility Relationship, Hyperlipidemia, Network Pharmacology, Function Mechanism

Copyright © 2024 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

高脂血症(Hyperlipidemia, HLP)是一种由脂肪代谢或转运异常引发的血脂异常疾病,该病症的过程十分复杂,涉及炎症反应、脂质代谢紊乱、动脉粥样硬化形成以及细胞凋亡等多个病理过程[1] [2]。高脂血症并非单一疾病,而是多种心脑血管疾病的高危因素,后续可能引发动脉粥样硬化、冠心病、胰腺炎、脂肪肝等多种疾病,已对人类的生活质量产生严重影响。目前,临床上常用的他汀类、贝特类、烟酸类、树脂类和胆固醇吸收抑制剂等药物主要通过升高或降低某个单一的指标治疗高脂血症[3] [4],虽然在一定程度上可以延缓病情,但是并不能解决其引起的并发症,且存在严重的不良反应。

泽泻为泽泻科植物东方泽泻 *Alisma orientale* (Sam.) Juzep.或泽泻 *Alisma plantago-aquatica* Linn.的干燥块茎[5]。其药性甘、淡,寒,归肾、膀胱经,具有利水渗湿、泄热、化浊降脂功效,是高脂血症治疗配方中最常用药之一[6] [7]。中药常以复方形式在治疗疾病,在治疗时具有多成分、多靶点、多途径的协同效果[8]。中药复方是指在辨证论治的基础上依据病情的需要,有选择地将药物按照一定的配伍原则组合而成的用药形式[9]。在药物配伍中,不同药物相配会产生协同作用,功效倍增。本研究旨在通过网络药理学探究泽泻治疗高脂血症中的配伍规律及药效作用机制,为高脂血症临床用药配方的改进及简化提供新思路。

2. 实验方法

2.1. 泽泻治疗高脂血症配伍药材筛选

2.1.1. 文献来源

在中国知网平台(<https://www.cnki.net>)、维普资讯中文期刊服务平台(<https://qikan.cqvip.com>)、万方数据库(<https://c.wanfangdata.com.cn/periodical>)以“血脂异常”,“高脂血症”“高血脂”为关键词进行初步检索,再以“泽泻”为关键词在结果中检索,收集 2013 年至 2023 年含泽泻用于治疗高脂血症的中药方剂的名称、组成等信息。将相关信息录入 Excel 表格中,整理成数据集并将其上传至中医传承计算机平台 V3.0 分析数据,筛选出治疗高脂血症中与泽泻高频配伍的中药材。

2.1.2. 方剂纳入标准

① 具备完整的配方;② 经临床或实验验证具备有效性;③ 仅将实验研究中重复出现的相同配方纳入一次统计。

2.1.3. 排除标准

① 综述类文献;② 处方信息不完整的文献;③ 患者经治疗无效的文献。

2.1.4. 数据的规范化

参照《中国药典》对中药名进行规范化处理,“山茱萸肉”“山萸肉”统一为“山茱萸”,“生山楂”“焦山楂”“炒山楂”统一为“山楂”,“生甘草”“炙甘草”统一为“甘草”,“法半夏”“清半夏”“制半夏”“姜半夏”统一为“半夏”等。

2.2. 预测泽泻及其配伍药材的化学成分及其基因靶点

在中药网络药理学数据库 TCMSP (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)中分别搜索泽泻及其相关配伍药材,找出其含有的化合物,使用口服利用度 $OB \geq 30\%$,类药性 $DL \geq 0.18$ 为筛选条件,筛出主要成分及其对应的潜在作用靶点。何首乌成分来源于数据库 SymMap (<https://www.symmap.org>),设置口服利用度 $OB \geq 30\%$,筛选主要化学成分。在蛋白质分析数据库 Uniprot (<https://www.uniprot.org/>)中将蛋白名转化为

已被验证过的人源性的标准靶点基因名称。利用 SwissTargetPrediction 数据库[10][11] (<http://swisstargetprediction.ch/>)扩大检索范围,获取数据库中与药物相关可能度大于 0 的靶蛋白,删除重复项。

2.3. 筛选高脂血症相关靶点基因

在 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)中检索“Hyperlipidemia”,并删除 AS 相关得分 (Relevance scored) ≤ 0.5 的靶基因。同样以“Hyperlipidemia”为检索词在 Disgenet [12] (<https://www.disgenet.org/home/>)和 OMIM (<https://www.omim.org/>)疾病数据库中检索。在 Disgenet 数据库保留相关得分 ≥ 0.1 的靶点基因。合并几个数据库的靶基因并删除重复项。

2.4. 获得交集靶点基因

利用 Venny 2.1.0 在线平台(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)分别绘制不同配伍中药材和泽泻主要成分的靶基因与高脂血症靶基因的交集图,并获得其交集的靶点基因。

2.5. 靶点网络构建

将交集靶点基因以及活性成分导入 Cytoscape3.9.1 软件中,构建配伍关系-活性成分-高脂血症靶点网络图。

2.6. 蛋白-蛋白相互作用(PPI)的网络构建

将交集靶点基因上传至 STRING (<https://cn.string-db.org/>)数据库,以 minimum required interaction score = 0.9 为标准进行筛选,网络集群为 3,构建蛋白-蛋白相互作用网络图。将网络图上传到 Cytoscape3.9.1 中对交集靶点进行 degree 值分析。

2.7. GO 和 KEGG 通路富集分析

将 STRING 数据库(<https://www.string-db.org/>)中筛选到的靶点导入 Metascape [13] (<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)网站进行 GO 和 KEGG 通路富集分析,筛选出 KEGG 通路中 $P \leq 0.05$ 的信号通路,将相关配伍通路逐层取交集。

2.8. 泽泻配伍治疗高脂血症核心通路筛选

针对不同配伍关系的 KEGG 通路相关数据,使用 Cytoscape3.9.1 软件中的插件 ClueGO 进行分析。设定网络特异性为 detail,分数 kappa score = 0.15,以筛选出泽泻配伍治疗高脂血症的各个核心蛋白通路。

3. 实验结果

3.1. 泽泻治疗高脂血症配伍药物的分析及筛选

经过对数据库中重复内容的处理,共整理出 518 个包含泽泻的方剂,其中涉及 295 种中药。针对这些中药所具备的功效,进行了详细的分类和统计分析。结果显示,补虚类(1581 次)、利水渗湿类(1393 次)、活血化瘀类(1077 次)药物在泽泻治疗高脂血症的配方中常使用(见表 1)。对治疗药方进行关联规则分析,应用“数据分析”中的“组方规律分析”,将最低参数支持度设置为 130,置信度设为 1,挖掘在方剂中紧密出现的药物组合,发现 21 种泽泻的高频药物组合(见表 2),共包含 15 种药物(见图 1),本实验以除泽泻外的其他 14 种中药作为泽泻配伍治疗高脂血症的研究目标,其分别为:丹参、山楂、茯苓、白术、陈皮、决明子、黄芪、川芎、半夏、荷叶、党参、柴胡、何首乌、甘草。

Table 1. Statistical analysis of the efficacy of traditional Chinese patent medicines and simple preparations in prescriptions
表 1. 方剂中中成药药物功效统计分析

序号	中药功效分类	使用频次
1	补虚类	1581
2	利水渗湿类	1393
3	活血化瘀类	1077
4	清热类	672
5	消食类	483
6	理气类	429
7	解表类	333
8	化痰止咳平喘类	327
9	止血类	156
10	化湿类	144
11	泻下类	87
12	平肝息风类	66
13	收涩类	48
14	温里类	48
15	祛风湿类	33
16	安神类	21
17	开窍类	18

Table 2. The compatibility law between traditional Chinese medicine and *Alismatis Rhizoma* in prescriptions
表 2. 方剂中中药与泽泻的配伍规律

序号	中药配伍	序号	中药配伍
1	丹参，山楂 - 泽泻	12	丹参，黄芪 - 泽泻
2	川芎 - 泽泻	13	党参 - 泽泻
3	山楂，陈皮 - 泽泻	14	决明子 - 泽泻
4	何首乌 - 泽泻	15	茯苓 - 泽泻
5	丹参，山楂，茯苓 - 泽泻	16	半夏 - 泽泻
6	丹参，茯苓 - 泽泻	17	柴胡 - 泽泻
7	甘草 - 泽泻	18	茯苓，白术 - 泽泻
8	丹参，川芎 - 泽泻	19	茯苓，陈皮 - 泽泻
9	丹参，白术 - 泽泻	20	荷叶 - 泽泻
10	丹参，茯苓，陈皮 - 泽泻	21	丹参，决明子 - 泽泻
11	山楂，茯苓 - 泽泻		

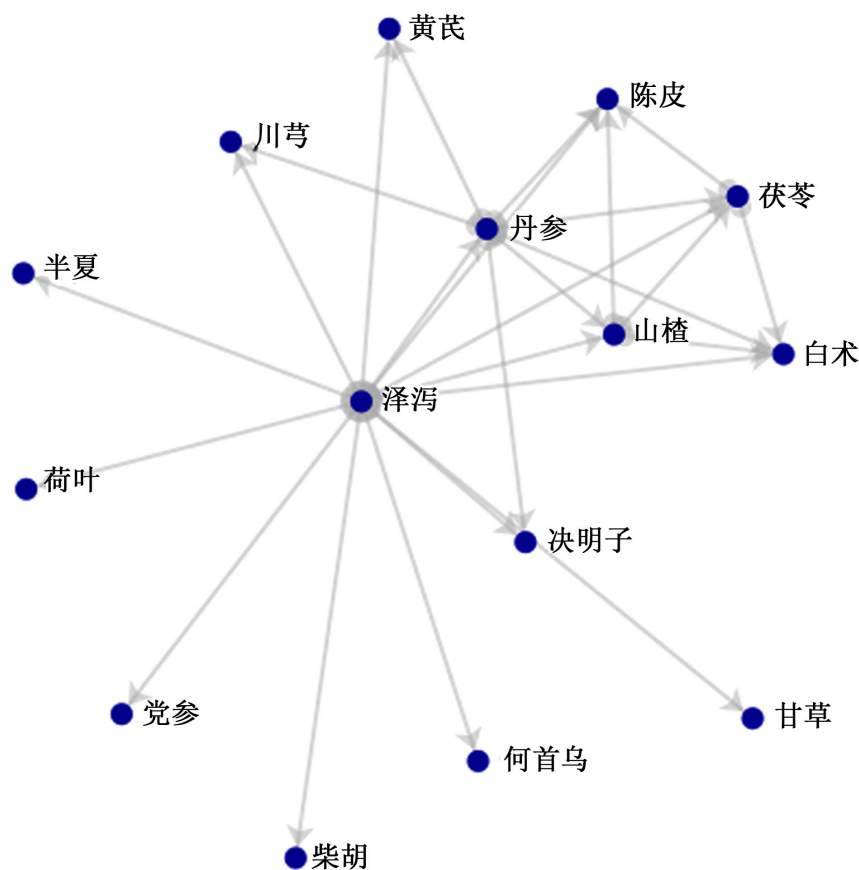


Figure 1. High frequency traditional Chinese medicine compatibility network diagram of *Alismatis Rhizoma* in treating hyperlipidemia

图 1. 泽泻治疗高脂血症的高频中药配伍网络图

3.2. 泽泻及其配伍药材的化学成分及其基因靶点预测

根据特定条件筛选, 泽泻具备 13 种有效成分, 何首乌、山楂、丹参、泽明子、茯苓、白术、陈皮、黄芪、半夏、荷叶、柴胡、甘草、川芎、党参有效化学成分分别为 10 种、6 种、65 种、14 种、15 种、7 种、5 种、20 种、13 种、15 种、17 种、92 种、7 种、21 种。删除重复化学成分后获得共有化学成分 274 种。用 TCMSP 数据库及 SwissTargetPrediction 数据库预测潜在靶点, 除去重复项, 包含泽泻在内最终获得潜在靶点分别为 256 个、439 个、241 个、684 个、197 个、279 个、81 个、217 个、540 个、473 个、410 个、461 个、880 个、278 个、420 个。

3.3. 高脂血症靶点蛋白预测

根据相关要求筛选后, 在网站 genecard 中确定了 1285 个相关靶点, 并在 disease 网站中检索到 69 个靶点蛋白。此外, 在 OMIM 中获得 6 个靶蛋白。在删除 62 个重复项后, 最终共获得靶蛋白 1298 个。

3.4. 交集靶点

泽泻与高脂血症有个 57 个交集靶点, 泽泻和药材何首乌、山楂、丹参、决明子、茯苓、白术、陈皮、黄芪、半夏、荷叶、柴胡、甘草、川芎、党参配伍使用后与高脂血症分别有 133、117、145、150、81、67、93、139、112、129、135、181、91、116 个靶蛋白(见表 3)。

Table 3. The number of intersection targets between *Alismatis Rhizoma* and hyperlipidemia after compatibility with different medicinal herbs
表 3. 泽泻配伍不同药材后与高脂血症交集靶点数

配伍药材	交集靶点	配伍药材	交集靶点
何首乌	133	黄芪	139
山楂	117	半夏	112
丹参	145	荷叶	129
决明子	150	柴胡	135
茯苓	81	甘草	181
白术	67	川芎	91
陈皮	93	党参	116
泽泻(单)	57		

3.5. 复合靶点网络的构建与分析

基于中药多组分多靶点的特性构建了泽泻及其配伍药材成分 - 靶点图(见图 2)。图中，中间浅蓝色方框代表药物对高脂血症的作用潜在靶点，周围则为药材及其有效成分，不同颜色区分不同药材的成分。

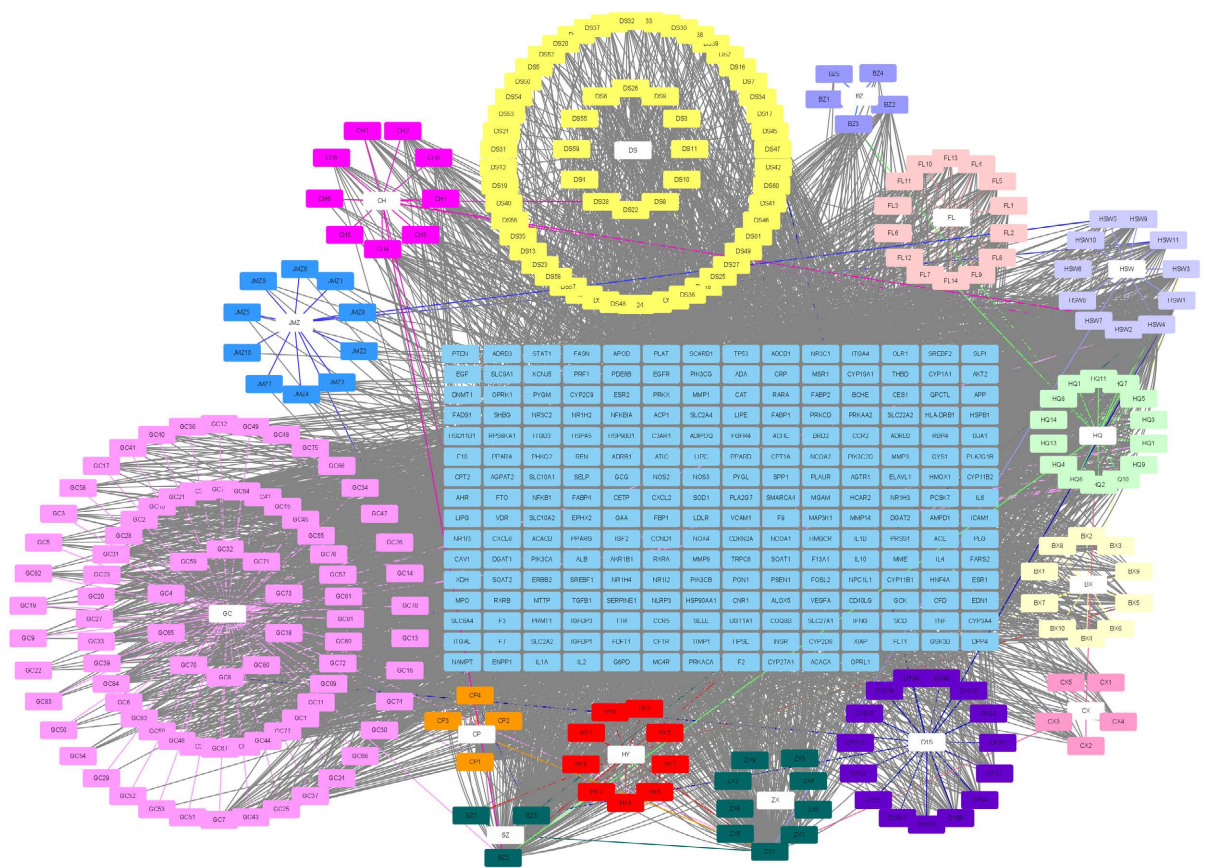


Figure 2. *Alismatis Rhizoma* and high-frequency compatibility medicinal materials - Components - Hyperlipidemia target map
图 2. 泽泻与高频配伍药材 - 成分 - 高脂血症靶点图

3.6. PPI 网络分析

将蛋白上传到网站 String 分析蛋白之间的相互作用，并下载相关数据后导入软件 Cytoscape3.9.1，借助插件 CytoNCA 进行分析。分析过程中，根据 Degree 和 Betweenness 值进行排序，筛选出泽泻配伍各药材排名前十的靶点蛋白并对这些靶点蛋白进行统计分析(见表 4)。在各配伍关系中，靶蛋白 RXRA、ESR1、HSP90AA、TP53、NCOA1、IL6、EGFR 均具有重要地位，特别是 NCOA1、IL6、RXRA 等蛋白，在各配伍中的 degree 值较高(见图 3)。

Table 4. Top ten target proteins with degree values in the compatibility relationship of *Alismatis Rhizoma*
表 4. 泽泻配伍关系中 degree 值排名前十的靶蛋白

排名	白术	半夏	柴胡	陈皮	川芎	丹参	党参	茯苓	甘草	何首乌	荷叶	黄芪	决明子	山楂
1	NCOA1	NCOA1	IL6	NCOA1	NCOA1	NCOA1	NCOA1	RXRA	TP53	IL6	TP53	IL6	NCOA1	IL6
2	RXRA	RXRA	TP53	TP53	RXRA	TP53	TP53	NCOA2	IL6	TNF	IL6	TNF	TP53	TP53
3	NCOA2	NCOA2	TNF	RXRA	ESR1	ESR1	ESR1	ESR1	TNF	TP53	TNF	TP53	ESR1	TNF
4	ESR1	ESR1	NCOA1	ESR1	NCOA2	TNF	RXRA	HSP90AA1	NCOA1	EGFR	NCOA1	NCOA1	TNF	EGFR
5	HSP90AA1	TP53	EGFR	NCOA2	HSP90AA1	RXRA	TNF	EGFR	ESR1	ESR1	EGFR	EGFR	RXRA	ESR1
6	PPARG	PPARG	ESR1	PPARG	PRKACA	IL6	NCOA2	MMP9	RXRA	IL1B	ESR1	ESR1	IL6	IL1B
7	NR3C1	HSP90AA1	RXRA	CYP3A4	PIK3CA	NCOA2	IL6	PPARG	IL1B	IFNG	RXRA	RXRA	NCOA2	RXRA
8	PIK3CA	RXRB	IL1B	PIK3CA	PIK3CB	IFNG	IFNG	IL6	NFKB1	RXRA	IL1B	IL1B	HSP90AA1	IFNG
9	EGFR	PIK3CA	IFNG	EGFR	ERBB2	EGFR	HSP90AA1	PIK3CA	EGFR	HSP90AA1	IFNG	IFNG	IFNG	CAV1
10	PIK3CB	MMP9	HSP90AA1	SREBF1	PPARG	PRKACA	NFKB1	PIK3CB	HSP90AA1	CAV1	HSP90AA1	HSP90AA1	PRKACA	HSP90AA1

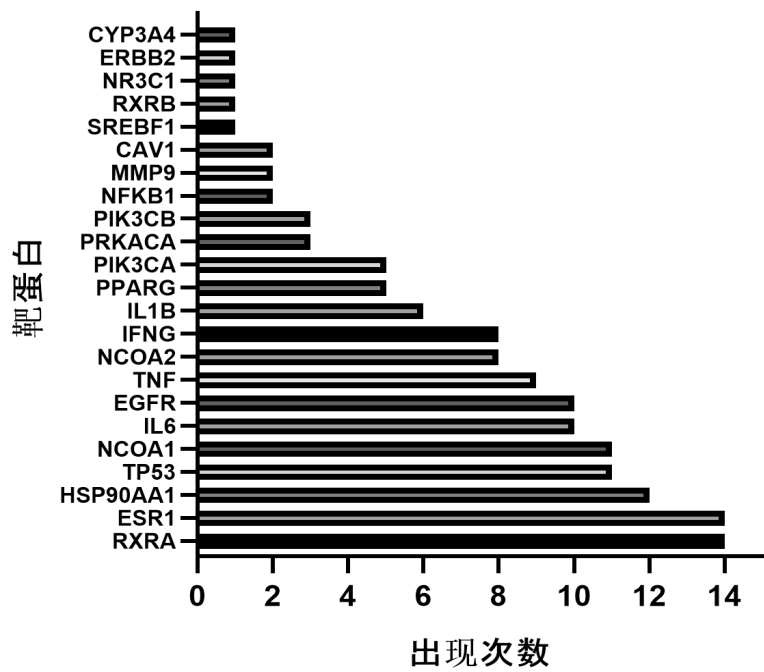


Figure 3. The frequency of appearance of the top ten target proteins in the degree of *Alismatis Rhizoma* compatibility
图 3. 泽泻配伍中 degree 前十的靶蛋白出现频率

3.7. GO 与 KEGG 分析

泽泻与 14 种中药配伍治疗高脂血症时,所涉及的通路大致相似,占比相当高。特别是与药材何首乌、山楂、丹参、决明子、黄芪、荷叶、柴胡、甘草、党参配伍时,KEGG 富集通路广泛,且约有 80%的通路重叠(见表 5)。通路糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路(AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、胰岛素抵抗(Insulin resistance)、脂质与动脉粥样硬化(Lipid and atherosclerosis)、癌症的途径(Pathways in cancer)、流体剪切应力与动脉粥样硬化(Fluid shear stress and atherosclerosis)、化学致癌 - 受体激活(Chemical carcinogenesis - receptor activation)几乎在所有配伍中都出现且为主要通路,下图 4 展示了以胰岛素抵抗信号通路为例的泽泻治疗高脂血症的作用机制。选取泽泻配伍各个药材治疗高脂血症的 GO 分析,从生物过程(BP)、细胞成分(CC)和分子功能(MF)中选取 P 值最低,排名前 10 的元素进行视觉分析,统计每个元素在这 14 个配伍关系中出现的总次数(图 5)。在 BP 中,发现泽泻及其配伍药材治疗高脂血症主要作用于 RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、蛋白激酶 B 信号传导的正调控、基因表达的正调控、MAP 激酶活性的正调控等。MF 主要包括 RNA 聚合酶 II 转录因子活性,配体激活的序列特异性 DNA 结合、类固醇结合、酶结合、丝氨酸型内肽酶活性、序列特异性 DNA 结合、相同蛋白质结合、类固醇激素受体、转录因子活性,序列特异性 DNA 结合。

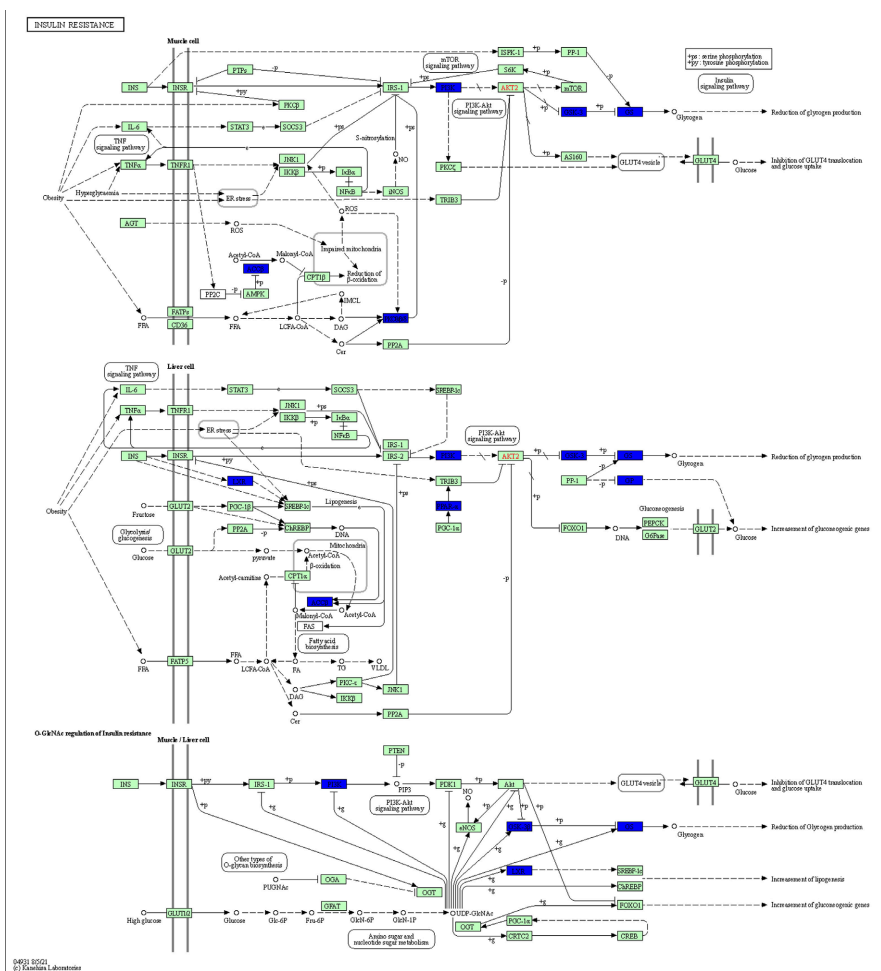
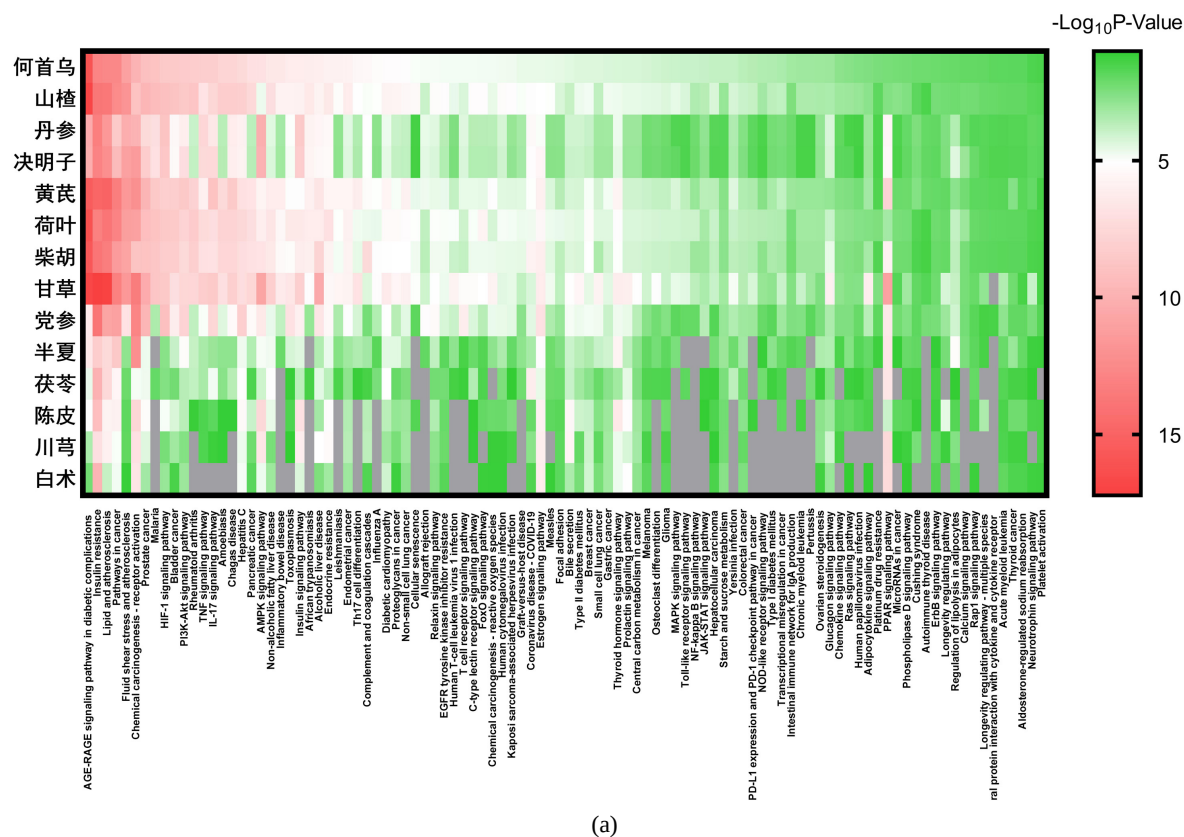


Figure 4. The mechanism of Alismatis Rhizoma in treating hyperlipidemia: Taking the insulin resistance signaling pathway as an example
图 4. 泽泻治疗高脂血症的机制：以胰岛素抵抗信号通路为例

表 5. 泽泻配伍不同药材治疗高脂血症 KEGG 通路交集

泽泻 + 配伍药材	交集 KEGG 通路数	总通路($P \leq 0.05$)	交集/总通路(%)
何首乌	100	126	79%
山楂	100	122	82%
丹参	100	120	83%
决明子	100	118	85%
黄芪	100	128	78%
荷叶	100	123	81%
柴胡	100	120	83%
甘草	100	140	71%
党参	100	122	82%
半夏	53	97	55%
茯苓	53	88	60%
陈皮	53	82	65%
川芎	40	57	70%
白术	40	47	85%
泽泻(单)	26	26	100%



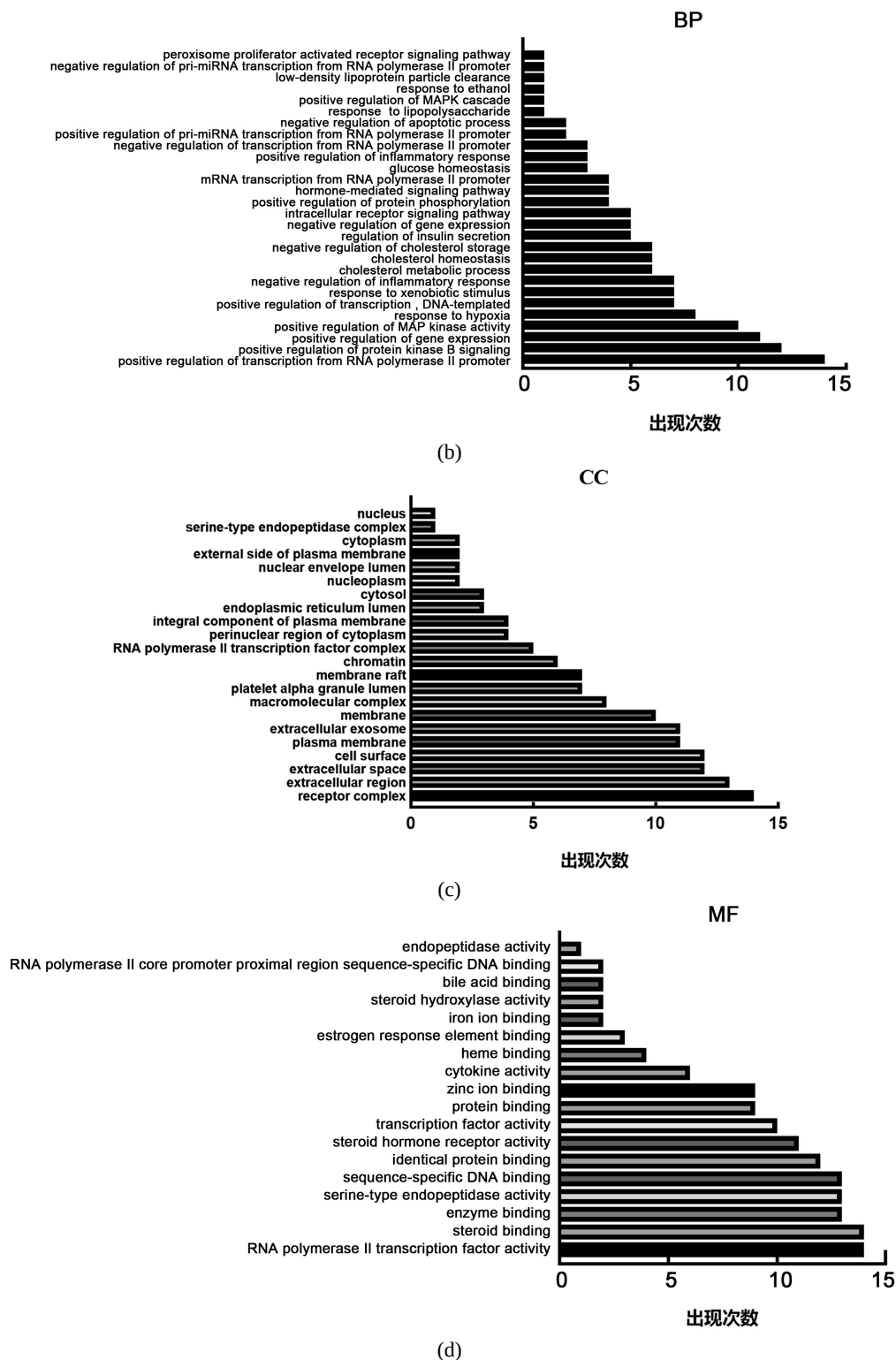


Figure 5. KEGG heatmap and GO analysis of the compatibility of *Alismatis Rhizoma*. In the heat map, gray represents empty values, and the GO analysis chart shows the total number of times the top 10 elements in each compatibility relationship appear

图 5. 泽泻配伍 KEGG 热图及 GO 分析。热图中灰色代表空值，GO 分析图各配伍关系中排名前 10 元素出现的总次数

3.8. 核心通路分析

将泽泻以及泽泻与各个配伍药材治疗高脂血症涉及到的 KEGG 通路利用 Cluego 插件中的 preselected functions 功能对其进行富集结果可视化分析(图 6 和图 7)。结果显示,泽泻治疗高脂血症涉及胰岛素抵抗(insulin resistance)、化学致癌作用(chemical carcinogenesis)、癌症发病途径(pathways in cancer)、淀粉与蔗糖代谢(starch and sucrose metabolism)、PPAR 信号通路(PPAR signaling pathway)、补体与凝血级联(complement and coagulation cascades)等。泽泻与高频中药材配伍后治疗高脂血症涉及到的通路增加,且增加部分高度重叠。

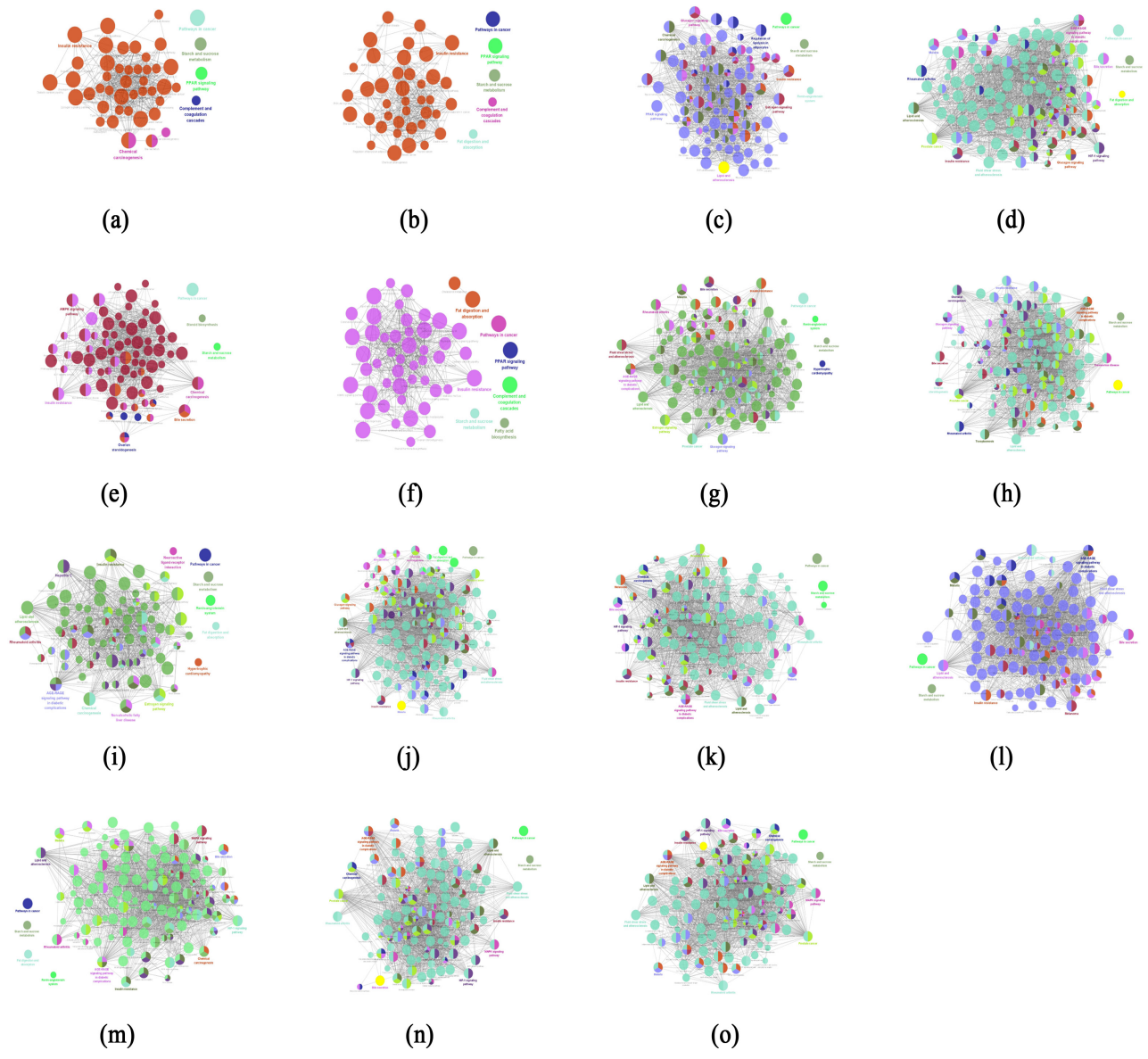


Figure 6. Cluego analysis of KEGG pathway in the treatment of hyperlipidemia with the combination of Zexie and various medicinal herbs. (a)~(o) sequence is *Alismatis Rhizoma*, *Alismatis Rhizoma* combined with Baizhu, Banxia, Chaihu, Chenpi, Chuanxiong, Danshen, Dangshen, Fuling, Ganciao, Heshouw, Heye, Huangqi, Juemingzi, and Hawthorn

图 6. 泽泻配伍各药材治疗高脂血症 KEGG 通路 Cluego 分析。(a)~(o)依次为泽泻、泽泻配伍白术、半夏、柴胡、陈皮、川芎、丹参、党参、茯苓、甘草、何首乌、荷叶、黄芪、决明子、山楂

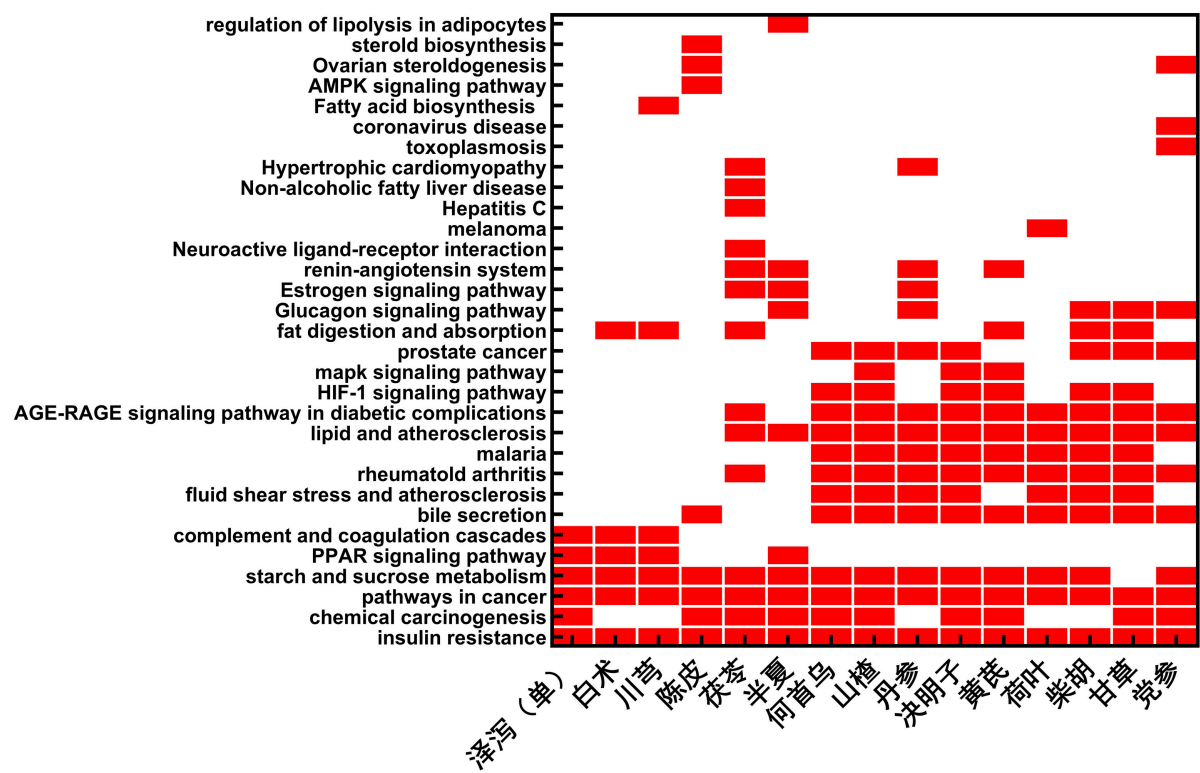


Figure 7. Cluster analysis of KEGG pathway enrichment results in the treatment of hyperlipidemia with the combination of *Alismatis Rhizoma* and various medicinal herbs
图 7. 泽泻配伍各药材治疗高脂血症 KEGG 通路富集结果聚类分析

4. 讨论

本研究的主要目的是探讨泽泻治疗高脂血症的配伍规律及潜在作用机制。中医将高脂血症纳入“血瘀”“痰湿”“脂膏”等范畴，认为其是由内外因素共同造成。外因在于饮食不节、嗜食肥甘厚味等，造成脏腑功能失调，形成瘀血、湿浊、痰凝等病理产物，造成水液代谢失常，最终致病；内因在于肝、脾、肾三脏功能失调，在治疗上以柔肝、健脾、补肾以扶正，理气、化痰、活血以祛邪。在本研究中补虚类、利水渗湿类、活血化瘀类、清热类、消食类药物在泽泻治疗高脂血症的配方中最常使用，本研究筛选出了 14 个与泽泻配伍使用的高频中药材分别为丹参、山楂、茯苓、白术、陈皮、决明子、黄芪、川芎、半夏、荷叶、党参、柴胡、何首乌、甘草。山楂、白术、陈皮、黄芪、丹参常不是单独与泽泻配成药对，陈皮、白术、黄芪与泽泻配伍时常伴药材茯苓、丹参或者山楂。白术、甘草、党参、黄芪补气，何首乌补气血，其都属于补虚类药，气能生血，血能承气，气血相互作用，益气则活血。现有研究证明何首乌具有降低胆固醇[14] [15]及抗动脉硬化作用[16] [17]。罗玲等通过高脂饲料喂养，诱导建立高脂血症模型，发现何首乌提取液高浓度组 TC、TG 和 LDL-C 水平显著降低，而 HDL-C 水平明显升高(P < 0.05) [14]，何首乌的抗动脉粥样硬化的具体机制尚未完全明确，大黄素可能是其主要的药效成分[18] [19]。黄芪多糖可以改变脂肪变性，控制高脂血症[20] [21]；茯苓作为利水渗湿类药可以通过调节血脂影响高脂血症[22]；活血化瘀类药物可以通畅血脉、消散瘀滞，一般有此功效的药物如川芎[23]、丹参[24]等可以降低血脂及血液粘稠度，使得血液畅通；决明子[25]和荷叶[26]作为清热类药物可以降低大鼠血清中 TC、TG、LDL-C 含量的同时有利于改善肝组织脂质沉积，荷叶的抗高脂血症作用可能与水通道蛋白的调节有关。从中药功效上，泽泻具有利水渗湿，化浊降脂功效用于治疗高脂血症，利水渗湿类、活血化瘀类、

补虚类等药材与泽泻配伍后通过理气活血, 利水祛湿, 调节脏腑功能, 以达到更好的化浊降脂疗效。泽泻汤、五苓散等是伤寒杂病论的经典方剂, 在这些方剂中泽泻作为君药, 白术、茯苓、猪苓等利水、补气类药为臣药, 与泽泻配伍使用, 在高脂血症的临床治疗上具有显著效果[27] [28]。

高脂血症通常指血浆中的总胆固醇(TC)和(或)甘油三酯(TG)偏高, 也包括低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)升高和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)降低。本文通过 TCMSP 数据库, 收集了泽泻的 13 个化学成分, 14 种配伍药材中甘草(92 个)、丹参(65 个)的化学成分较多。其中, 谷甾醇(sitosterol)、槲皮素(Quercetin)、芦荟大黄素(Aloe-Emodin)、豆甾醇(Stigmasterol)在多个配伍药材中均有出现。现有研究证实, 植物甾醇具有降血脂的作用[29], 尤其在谷甾醇这一种类中, 可有效降低血浆中胆固醇浓度[30]; 槲皮素[31] [32] [33] 可以显著降低高脂血症小鼠的血清 TC、TG 和 LDL-C 水平, 同时升高血清 HDL-C 水平, 以达到降血脂和抗动脉粥样硬化[34]。另外, 芦荟大黄素也被证明可降低总胆固醇含量达到调节血脂的效果[35]。因此, 谷甾醇、槲皮素、芦荟大黄素、豆甾醇可能是泽泻配伍治疗高脂血症的核心成分。

泽泻与高脂血症有 57 个交集靶点, 泽泻与各种高频中药材配伍后与高脂血症的共有靶点显著升高, 其与甘草配伍的共有靶点最高, 有 181 个靶点; 其次为决明子、丹参, 分别有 150、145 个交集靶点。PPI 网络结果显示, 泽泻与高脂血症共有靶点中, 靶蛋白 NCOA2、ESR1、EGFR、PIK3CA、PIK3CB、HSP90AA1 等的 degree 值排名靠前, 不同药材与泽泻配伍后靶蛋白 RXRA、ESR1、HSP90AA1、TP53、NCOA1、IL6、EGFR、TNF、NCOA2、IFNG、IL1B、PPARG 在不同配伍关系中均出现, 且 degree 值较高, 可能是高脂血症的核心治疗靶点。炎症作为预防动脉粥样硬化性心血管疾病(ASCVD)的靶标备受关注, IL-6 介导的炎症最有可能引起 ASCVD [36]。众多研究表明, 细胞因子在诱导高脂血症过程中也起了一定的作用[37], IL6、IL1、TNF 等细胞因子可增加肝脏新生脂肪酸的合成, 导致肝脏中 VLDL 和甘油三酯分泌增加。其中, TNF α 阻碍胰岛素受体及底物的磷酸化容易导致胰岛素抵抗。脂肪组织在高脂血症中发挥巨大的作用, PPAR 是脂质传感器, 调节参与脂质和葡萄糖代谢和炎症的基因的表达。其中过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)可以被许多天然或者合成的 PPARG 受体激活, 并与类视黄醇 X 受体(RXR)形成异二聚体, 经过后续一系列反应参与脂质和葡萄糖代谢、炎症和癌症基因转录的调节。PPARG 可以促进外周脂肪和肌肉对葡萄糖的摄取和利用, 从而改善胰岛素抵抗, 其已经成为用于治疗 2 型糖尿病的有效胰岛素增敏剂[38] [39]。NCOA1、NCOA2 是核受体共激活因子家族(NCOAs 或 SRCs)的一员, SRCs 能够调节大约 75%的基因的表达, 这些基因大多和饮食相关[40]; 并可以与多种核受体相互结合包括雌激素受体和孕激素受体等, 雌激素不足与血脂异常的潜在机制密切相关[41]。

为探究不同配伍关系对泽泻治疗高脂血症的作用机制, 本研究进行了 GO 分析和 KEGG 富集分析。不同的配伍药材 GO 与 KEGG 的富集结果表现出一定的共性。GO 分析结果表明基因主要富集在 RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、蛋白激酶 B 信号传导的正调控、基因表达的正调控、MAP 激酶活性的正调控等生物过程中, 其中蛋白激酶 B 信号传导与葡萄糖代谢密切相关。KEGG 富集结果表明, 泽泻治疗高脂血症涉及多条通路, 与不同药物配伍后涉及的通路数增加, AGE-RAGE 信号通路与糖尿病并发症、胰岛素抵抗、血脂与动脉粥样硬化、癌症、流体剪切应力与动脉粥样硬化、化学致癌 - 受体激活在每种配伍关系中几乎都出现, 其中 AGE-RAGE 信号通路与糖尿病并发症以及流体剪切应力与动脉粥样硬化通路是泽泻单味药治疗高脂血症中未出现的信号通路, 血脂与动脉粥样硬化通路在配伍关系中 P 值显著降低, 这些通路推测是配伍关系增强泽泻治疗高脂血症疗效的关键通路。一些代谢缺陷例如脂肪组织功能障碍, 肝脏脂肪堆积以及胰岛素抵抗等是产生高脂血症的重要原因。胰岛素抵抗是高脂血症的另一个特征, 与脂质表型相关, 胰岛素敏感性受损可导致脂质代谢异常[42]。

为深入探究配伍关系对泽泻在高脂血症治疗中的作用影响, 本研究采用插件 Cluego 中的 preselected functions 功能, 对不同配伍关系所得的 KEGG 通路进行聚类分析。分析结果显示, 胰岛素抵抗、化学致

癌作用、癌症的发病途径、淀粉与蔗糖代谢通路等均为泽泻单味药以及泽泻与各种配伍关系治疗高脂血症的共有通路。同时,胆汁分泌、流体剪切应力与动脉粥样硬化、风湿性关节炎、疟疾、脂质与动脉粥样硬化、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、HIF-1 信号通路在绝大部分配伍关系中具有显著性,这些通路可能为配伍关系影响泽泻治疗高脂血症的主要作用途径。

综上所述,本研究通过网络药理学手段,探究了中药配伍在泽泻治疗高脂血症中的作用机制,并预测其潜在作用靶点。研究结果显示,与泽泻配伍的 14 种高频药材虽然在中药药效和成分上存在较大差异,但其最终作用靶点与通路高度重叠。核心靶点 RXRA、ESR1、HSP90AA1、TP53、NCOA1、IL6、EGFR、TNF、NCOA2、IFNG、IL1B、PPARG 等可能参与高脂血症的治疗,而 RXRA、NCOA1、IL6、IL1B、TNF、PPARG 等可能是不同配伍药材增强泽泻治疗高脂血症疗效的主要靶标。此外,胰岛素抵抗、化学致癌作用、癌症的发病途径、淀粉与蔗糖代谢通路可能是泽泻及配伍关系治疗高脂血症的核心通路。在强化泽泻的原有作用效果的基础上,各种配伍关系新增入了 AGE-RAGE 信号通路与糖尿病并发症、流体剪切应力与动脉粥样硬化通路,这些通路可能是配伍增强泽泻治疗高脂血症疗效的关键通路。

致 谢

感谢国家自然科学基金项目(No.81773893)对本研究的资助。

参考文献

- [1] Holven, K.B., Ulven, S.M. and Bogsrud, M.P. (2017) Hyperlipidemia and Cardiovascular Disease with Focus on Familial Hypercholesterolemia. *Current Opinion in Lipidology*, **28**, 445-447. <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000449>
- [2] Yao, Y.S., Li, T.D. and Zeng, Z.H. (2020) Mechanisms Underlying Direct Actions of Hyperlipidemia on Myocardium: An Updated Review. *Lipids in Health and Disease*, **19**, Article No. 23. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1171-8>
- [3] Sontheimer, D.L. (2010) For Hyperlipidemia, Go Where the Evidence Takes You: Give a Statin and Nothing Else. *American Family Physician*, **82**, 1063-1064.
- [4] Kreisberg, R.A. and Oberman, A. (2003) Medical Management of Hyperlipidemia/Dyslipidemia. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **88**, 2445-2461. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030388>
- [5] 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, 2020: 239.
- [6] 赵媛媛. 基于数据挖掘探索中药治疗高脂血症的临床用药规律[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2022.
- [7] 李思博. 基于数据挖掘的从脾胃论治高脂血症的处方用药规律研究[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2021.
- [8] 郑雁雪, 王圆圆, 王琳, 等. 中药配伍减毒增效的现代研究及思考[J]. 中草药, 2023, 54(2): 386-395.
- [9] 字磊, 李艳娟, 李艳芹, 等. 中药复方配伍机制研究方法/策略进展[J]. 中国药房, 2023, 34(11): 1393-1398.
- [10] Gfeller, D., Michielin, O. and Zoete, V. (2013) Shaping the Interaction Landscape of Bioactive Molecules. *Bioinformatics*, **29**, 3073-3079. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt540>
- [11] Daina, A., Michielin, O. and Zoete, V. (2019) Swiss Target Prediction: Updated Data and New Features for Efficient Prediction of Protein Targets of Small Molecules. *Nucleic Acids Research*, **47**, W357-W364. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>
- [12] Piero, J., Josep, S., Sanz, F., et al. (2021) The DisGeNET Cytoscape App: Exploring and Visualizing Disease Genomics Data. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, **19**, 2960-2967. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.05.015>
- [13] Zhou, Y., Zhou, B., Pache, L., et al. (2019) Metascape Provides a Biologist-Oriented Resource for the Analysis of Systems-Level Datasets. *Nature Communications*, **10**, Article No. 1523. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09234-6>
- [14] 罗玲, 唐文婷, 易睿, 等. 何首乌对高脂小鼠的降脂作用及转录组学研究[J]. 特产研究, 2023, 45(6): 116-123.
- [15] 张磊, 王世娇, 王和生, 等. 何首乌有效组分对调节胆固醇代谢作用的配伍研究[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(1): 37-39.

- [16] 赵健雄, 赖陈岑, 王和生, 等. 何首乌游离蒽醌对兔颈动脉粥样硬化斑块及基质金属蛋白酶-9 的影响[J]. 贵阳医学院学报, 2015, 40(8): 797-800.
- [17] 魏雪梅, 李丽英, 朱洁莹, 等. 何首乌总苷对载脂蛋白 E 基因缺陷小鼠动脉粥样硬化斑块部位核转录因子- κ B 蛋白表达的影响[J]. 河北中医, 2010, 32(5): 754-756, 801.
- [18] 张磊, 田维毅, 王和生, 等. 基于 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的制首乌大黄素有效成分抗 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(13): 2769-2773.
- [19] 李妹娟, 王和生, 王通渤, 等. 制何首乌中大黄素对 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化模型中 JAK2/STAT3 通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(18): 101-106.
- [20] 杨波, 许智莹, 林程程, 等. 五味子、黄芪混合多糖对大鼠高脂血症的降脂作用[J]. 食品工业科技, 2020, 41(16): 314-317, 325.
- [21] 袁前发. 基于 miR-128-3p/NRF2/抗氧化通路介导的黄芪多糖治疗高脂血症大鼠的作用机制研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 广东药科大学, 2018.
- [22] 苗华, 张旭, 冯亚龙, 等. UPLC-代谢组学技术应用于茯苓皮与有氧运动对高脂血大鼠改善作用[J]. 西安体育学院学报, 2013, 30(6): 719-724.
- [23] 梅家俊, 蔡大勇, 赵婷秀, 等. 川芎调节家兔高脂血症有效部位的实验研究[C]//中国中西医结合学会心血管病专业委员会, 中国中西医结合学会活血化瘀专业委员会, 中国中西医结合学会. 全国中西医结合治疗心血管病及血瘀证高级论坛和研修班论文汇编. 北京: 中国中西医结合学会, 2004: 166-170.
- [24] 李春梅. 丹参、川芎提取物对高脂喂养去卵巢大鼠血脂和骨的作用及机制研究[D]: [博士学位论文]. 广州: 华南理工大学, 2013.
- [25] 綦振亮, 卞宇, 蔡胡强, 等. 决明子提取物对高脂血症大鼠血脂的调节作用[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2018, 52(1): 19-23.
- [26] 朱发伟, 叶合, 楼招欢, 等. 荷叶调节水通道蛋白拮抗高脂血症的作用机制研究[J]. 上海中医药杂志, 2023, 57(2): 66-71.
- [27] 吴俊. 五苓散加减治疗高脂血症临床疗效观察[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2018, 6(2): 174.
- [28] 吕少锋, 曹克强, 王培杨. 泽泻汤加味治疗高脂血症 120 例临床观察[J]. 中医药临床杂志, 2005, 17(5): 454-455.
- [29] 胡叶梅, 韩军花, 王素芳, 等. 中药降血脂类有效成分——植物甾醇的含量及分布研究[J]. 卫生研究, 2011, 40(3): 388-390.
- [30] 肖志彬, 贾韩学, 刘小雷. β -谷甾醇药理活性的研究现状[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(8): 66-68.
- [31] 张敏. 槲皮素调节胆固醇代谢作用的途径分析[D]: [博士学位论文]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2016.
- [32] 刘超. 分蘖葱头槲皮素对高血脂小鼠血脂影响[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(17): 19-23.
- [33] 朱开梅, 唐丽霞, 赵文鹏, 等. 槲皮素脂质体对糖尿病肾病氧化应激和 TGF- β 1/Smad7 通路的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(3): 319-323.
- [34] 吕丽. 基于 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路槲皮素抗动脉粥样硬化作用研究[D]: [博士学位论文]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [35] 武晓玉, 段文达, 夏鹏飞, 等. L02 肝脂肪变性细胞膜快速筛选大黄调血脂活性成分[J]. 中草药, 2022, 53(3): 735-742.
- [36] Wadström, B.N., Pedersen, K.M., Wulff, A.B., et al. (2023) Inflammation Compared to Low-Density Lipoprotein Cholesterol: Two Different Causes of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Current Opinion in Lipidology*, **34**, 96-104. <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000867>
- [37] Feingold, K.R. and Grunfeld, C. (1992) Role of Cytokines in Inducing Hyperlipidemia. *Diabetes*, **41**, 97-101. <https://doi.org/10.2337/diab.41.2.S97>
- [38] Marion-Letellier, R., Savoye, G. and Ghosh, S. (2016) Fatty Acids, Eicosanoids and PPAR Gamma. *European Journal of Pharmacology*, **785**, 44-49. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.11.004>
- [39] Janani, C. and Ranjitha Kumari, B.D. (2015) PPAR Gamma Gene—A Review. *Diabetes & Metabolic Syndrome*, **9**, 46-50. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2014.09.015>
- [40] Yang, Y., He, Y., Liu, H., et al. (2021) Hypothalamic Steroid Receptor Coactivator-2 Regulates Adaptations to Fasting and Overnutrition. *Cell Reports*, **37**, Article 110075. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.110075>
- [41] Rossouw, J.E., Anderson, G.L., Prentice, R.L., et al. (2002) Risks and Benefits of Estrogen Plus Progestin in Healthy

-
- Postmenopausal Women: Principal Results from the Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial. *JAMA*, **288**, 321-333. <https://doi.org/10.1001/jama.288.3.321>
- [42] Taghizadeh, E., Esfehani, R.J., Sahebkar, A., *et al.* (2019) Familial Combined Hyperlipidemia: An Overview of the Underlying Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies. *IUBMB Life*, **71**, 1221-1229. <https://doi.org/10.1002/iub.2073>