

# 基于网络药理学与分子对接探讨桑杞清眩颗粒治疗高脂血症的机制

吴佳芸<sup>1</sup>, 李玲玲<sup>1</sup>, 李瑞菡<sup>1</sup>, 黄力<sup>2</sup>(1. 北京中医药大学研究生院, 北京 100029; 2. 中日友好医院, 北京 100029)

**摘要:** **目的** 基于网络药理学和分子对接技术研究桑杞清眩颗粒干预高脂血症的作用机制。**方法** 通过 TCMSp 数据库筛选桑杞清眩颗粒主要活性成分和靶点信息, 采用 GeneCards、OMIM、DisGeNET、TTD 数据库确定高脂血症相关的靶点, 取活性成分作用靶点和疾病靶点交集, 通过 STRING 构建 PPI 网络, 并基于 Cytoscape MCODE 插件提取核心 Module 进行分析。利用 Metascape 对药物-成分-靶点网络及相关生物学过程、分子功能、信号通路进行分析, 通过 Cytoscape 3.8.0 构建“成分-靶点-信号通路”网络, 最后通过 Autodock 完成分子对接验证。**结果** 共筛选出桑杞清眩颗粒的主要活性成分有 132 种, 共同成分 7 种, 包括豆甾醇、 $\beta$ -谷甾醇、胆甾醇、槲皮素、谷甾醇、木犀草素、3-羟基亚甲基丹参醌, 其作用于高脂血症的主要靶点有 STAT3、AKT1、TNF、IL-6、VEGFA 等, 主要集中于 AGE-RAGE 信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化途径、TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路等参与调节血脂异常。分子对接结果显示, 桑杞清眩颗粒关键活性成分与核心靶点的结合潜能和活性较好。**结论** 本研究初步探讨了桑杞清眩颗粒对高脂血症的多维网络调控机制, 揭示了其主要潜在的效应靶点和途径。

**关键词:** 桑杞清眩颗粒; 高脂血症; 网络药理学; 分子对接; 靶点与通路

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)07-0969-10

**doi:** 10.19378/j. issn. 1003-9783.2021.07.010

## Exploring the Mechanisms of *Sangqi Qingxuan* Granules on Hyperlipidemia via Network Pharmacology and Molecular Docking

WU Jiayun<sup>1</sup>, LI Lingling<sup>1</sup>, LI Ruihan<sup>1</sup>, HUANG Li<sup>2</sup>(1. Graduate school of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

**Abstract:** **Objective** To reveal mechanisms of *Sangqi Qingxuan* (SQX) granules on hyperlipidemia by network pharmacology and molecular docking. **Methods** By integrating information about effective chemical components and their targets in TCMSp and using GeneCards, OMIM, DisGeNET, TTD databases to find out targets related to hyperlipidemia, we listed out key elements, common targets and input them into STRING platform to perform PPI network analysis, along with extracting essential modules by Cytoscape MCODE. Metascape was used to conduct GO and KEGG analysis, and Cytoscape3.8.0 software was utilized to build a component-target-pathway network. Finally, molecular docking was completed by Autodock tools. **Results** A total of 132 kinds of main effective components were screened out and 7 components including stigmasterol, beta-sitosterol, cholesterol, quercetin, sitosterol, luteolin and 3-beta-hydroxymethylenetanshiquinone were found as shared components, which primarily acted on targets such as STAT3, AKT1, TNF, IL6, VEGFA, etc. Pathways involved were mainly focused on AGE-RAGE signaling pathway, fluid shear stress and atherosclerosis, TNF and PI3K-Akt signaling pathways. And molecular docking results proved a good combination of main effective component of SQX granules and its most important targets. **Conclusion** This study preliminarily explored SQX granules' effect on hyperlipidemia and revealed the main potential targets and pathways.

**Keywords:** *Sangqi Qingxuan* (SQX) granules; hyperlipidemia; network pharmacology; molecular docking; targets and pathways

收稿日期: 2020-11-04

作者简介: 吴佳芸, 女, 博士研究生, 研究方向: 中西医结合治疗心血管疾病。Email: nggaiwen@163.com。通信作者: 黄力, 女, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 中西医结合治疗高血压、冠心病、心衰等。Email: lihstrong@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81774105)。

高脂血症是以空腹时胆固醇上升, 伴或不伴甘油三酯升高为表现的一种临床常见代谢紊乱, 是仅次于高血压的心血管病重要危险因素。高脂血症患者发生心血管疾病的风险约为总胆固醇水平正常人群的 2 倍<sup>[1]</sup>, 对其进行早期诊断和管理的意义不容忽视<sup>[2]</sup>。目前, 他汀类是指南推荐的一线治疗药物<sup>[3]</sup>, 但其存在耐药性和肝功能异常、肌痛、肌酶升高等诸多不良反应<sup>[4-5]</sup>, 且治疗靶点单一, 因此常须多药联用<sup>[6]</sup>, 而这往往又进一步增加了副作用风险。中医药治疗高脂血症在这方面则具有显著优势, 不仅基本无副作用, 且能多层面、多靶点、多效应地改善血脂状况和患者整体症状<sup>[7]</sup>。

桑杞清眩颗粒是中日友好医院黄力教授根据近 30 年临床经验凝练而成的中药复方制剂, 由桑寄生、枸杞、杜仲、葛根、野菊花、丹参、泽泻和决明子组成<sup>[8]</sup>, 旨在“调肝益肾健脾”以治其本, “化痰消瘀通络”以治其标。本课题组前期研究发现, 其不仅能有效降低血压、血糖<sup>[9]</sup>; 更能明显降低总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL-C) 和甘油三酯 (triglycerides, TG) 水平, 升高高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein, HDL-C), 还能进一步改善患者血管内皮功能和全身症状, 减少远期并发症<sup>[10-11]</sup>。但桑杞清眩颗粒调控血脂异常的机制目前却尚未明确。

网络药理学是综合医学、计算机和生物信息科学等于一体的用于反映药物对疾病治疗机制的重要手段, 其研究思路与中医整体观和多维度的作用特点具有高度一致性, 对于揭示中药复方作用机制和靶点、研发新药具有巨大指导意义<sup>[12]</sup>。因此, 本研究采用网络药理学的方法, 从系统的角度初步探索桑杞清眩颗粒治疗高脂血症的分子机制, 为日后的深入研究提供基础和方向。

## 1 材料与方法

**1.1 确定桑杞清眩颗粒有效成分及靶点** 基于中药系统药理学数据库及分析平台 (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP) (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 对桑杞清眩颗粒处方中的 8 味中药 (桑寄生、杜仲、枸杞、野菊花、泽泻、葛根、决明子、丹参) 依次进行检索。由于中药口服后在体内须经过吸收、分布、代谢、排泄 (ADME) 等药物代谢动力学过程方可发挥效用, 故将口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) 设置为  $\geq 30\%$ , 将类药性 (drug likeness, DL) 设为  $\geq$

0.18 对检索结果进行筛选。同时, 通过查阅 PubMed、中国知网等数据库的相关文献, 补充收集经临床验证有效的成分。根据筛选后的药物成分名称或 Mol ID, 在 TCMSP 库中找到其对应的蛋白作用靶点 (related targets), 筛选后的蛋白靶点统一经 Uniprot KB 平台进行信息规范, 其后建立桑杞清眩颗粒有效成分与靶点数据库。

**1.2 获取高脂血症疾病相关靶点** 分别通过在线搜索以下数据库: GeneCards (<https://www.genecards.org>)、OMIM (<http://www.omim.org>)、DisGeNET (<https://www.disgenet.org>)、TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>), 以“hypercholesterolemia”“hyperlipidemia”“hypertriglyceridemia”检索高脂血症疾病相关靶点。在 GeneCards 和 DisGeNET 数据中, Score 值大小是反映靶点与疾病相关性的重要指标, 故根据 Score 大于中位数作为筛选标准找出与血脂异常联系较为密切的靶点。合并 4 个数据库中所得靶点并删去重复值, 得到疾病靶点库。

### 1.3 构建蛋白质互作 (PPI) 网络和分析核心模块

将获得的有效成分作用靶点和高脂血症疾病靶点取交集, 通过 <https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html> 绘制韦恩图, 得到共同靶点。基于 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>), 得到 PPI 网络图, 物种设置为“Homo Sapiens”, 并以 TSV 格式导出结果。利用 Cytoscape 3.8.0 软件计算网络拓扑参数, 根据度 (Degree) 值进行排序构图, 同时通过内置的 MCODE 插件对主要蛋白功能模块进行分析, 依据度值大小设置节点的大小进而在图中突出关键靶点的作用。此外, 利用 CytoNCA 插件找出桑杞清眩颗粒的主要活性成分。

**1.4 GO 和 KEGG 分析关键基因功能** 对桑杞清眩颗粒中主要成分干预高脂血症的潜在靶点的 GO 分析和 KEGG 通路富集分析是基于 Metascape 在线平台来完成的 (<http://metascape.org/gp/index.html>)。设置  $P < 0.01$ , 并通过在线绘图软件 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 进行柱状图和气泡图的绘制实现信息可视化。

**1.5 构建桑杞清眩颗粒活性成分-高脂血症靶点-信号通路网络图** 桑杞清眩颗粒干预血脂异常的成分-靶点-通路图采用 Cytoscape 3.8.0 软件进行构建, 根据度值、Betweenness Centrality (介值)、Closeness (紧密度) 等参数判断主要发挥作用的靶点、核心成分以及参与调节的重要信号传导途径。

**1.6 分子对接验证** 通过 Autodock 软件对桑杞清眩

颗粒最为核心的 4 种活性成分与关键靶点进行分子的空间和能量匹配。注意事先从 TCMSP 数据库中下载桑杞清眩颗粒主要活性成分 mol2 格式文件，在 PDB 数据库中(<https://www.rcsb.org/>)中找到靶蛋白的 ID 和 3D 结构，以 PDB 格式导出。经 Pymol 软件除去水和小分子配体后再通过 Autodock Tools 进行加氢和计算电荷，并完成分子对接，最后以结合能大小初步评价对接效果。

## 2 结果

**2.1 桑杞清眩颗粒有效成分及靶点** 经 ADME 筛选后共得到 132 种有效成分，其中桑寄生活性成分 2 种、杜仲 21 种、枸杞 23 种、野菊花 7 种、泽泻 9 种、葛根 3 种、决明子 11 种、丹参 56 种，分布见图 1。各中药共同有效成分有豆甾醇、β-谷甾醇、胆甾醇、槲皮素、谷甾醇、木犀草素、3-羟基亚甲基丹参醌 7 种，见表 1。而在所得的各成分相应作用靶点中，桑寄生的成分作用靶点数目为 156 个，杜仲

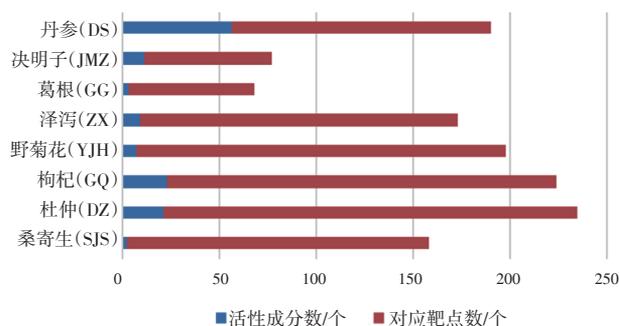


图 1 桑杞清眩(SQQX)颗粒活性成分与对应靶点分布

Figure 1 Distribution of active components and targets of SQQX granule

214 个，枸杞 201 个，野菊花 191 个，泽泻 164 个，葛根 65 个，决明子 66 个，丹参 134 个，合并并删去重复值后共得到 373 个靶点，见图 1 和表 2。此外，桑杞清眩颗粒中 8 味中药的主要活性成分可同时作用于多个靶点发挥相应的靶调节效应，其中排名前 30 位的靶点详见表 3。

表 1 桑杞清眩(SQQX)颗粒中各中药共同活性成分

Table 1 Common effective ingredients in the individual herbs comprising SQQX granule

序号	代称	Mol	共同成分	中药名称
1	A	Mol000449	Stigmasterol(豆甾醇)	枸杞、决明子
2	B	Mol000358	beta-sitosterol(β-谷甾醇)	枸杞、野菊花、葛根、杜仲
3	C	Mol000953	CLR(胆甾醇)	枸杞、决明子
4	SJS2	Mol000098	Quercetin(槲皮素)	枸杞、野菊花、桑寄生、杜仲
5	SJS1	Mol000359	Sitosterol(谷甾醇)	野菊花、泽泻、桑寄生
6	D	Mol000006	Luteolin(木犀草素)	野菊花、丹参
7	E	Mol007059	3-beta-Hydroxymethylene-tanshinone(3-羟基亚甲基丹参醌)	丹参、杜仲

表 2 桑杞清眩(SQQX)颗粒各中药主要活性成分间交集靶点数

Table 2 Overlapping targets of the individual herbs comprising SQQX granules

序号	药名	靶点数/个							
		桑寄生	杜仲	枸杞	野菊花	泽泻	葛根	决明子	丹参
1	桑寄生	156	156	156	156	22	34	36	69
2	丹参	69	109	105	101	31	52	50	134
3	枸杞	156	192	201	175	35	57	59	105
4	野菊花	156	175	175	191	32	32	49	101
5	泽泻	22	40	35	32	164	19	22	31
6	葛根	34	58	57	32	19	65	38	52
7	决明子	36	56	59	49	22	38	66	50
8	杜仲	156	214	192	175	40	58	56	109

表 3 桑杞清眩(SQQX)颗粒中各中药的作用靶点(前 30 位)

Table 3 Top30 action targets of the individual herbs comprising SQQX granules

序号	药名	前 30 位作用靶点
1	桑寄生	PGR、NCOA2、NR3C2、PTGS1、AR、PPARG、PTGS2、HSP90A、PIK3CG、DPP4、AKR1、PRSS1、TOP2A、KCNH2、SCN5A、F10、ADRB2、MMP3、PRKACA、F7、NOS3、RXRA、ACHE、GABRA1、MAOB、RELA、EGFR、AKT1、VEGFA、CCND1
2	杜仲	KCNH2、SCN5A、F10、PTGS2、TOP2A、CALM、PTGS1、NOS3、HSP90A、NCOA2、F7、NOS2、AR、PPARG、PIK3CG、PRKACA、DPP4、PRSS1、PGR、CHRM1、GABRA2、ACHE、SLC6A2、CHRM2、ADRA1B、GABRA1、RELA、IKBKB、AKT1、BCL2
3	枸杞	NR3C2、PTGS1、PTGS2、NCOA2、PGR、ADH1C、IGHG1、RXRA、NCOA1、ADRA2A、SLC6A2、SLC6A3、ADRB2、AKR1、PLAU、LTA4H、MAOB、MAOA、PRKACA、CTRB1、CHRM3、CHRM1、ADRB1、SCN5A、HTR2A、ADRA1A、GABRA3、CHRM2、ADRA1B、GABRA1
4	野菊花	CASP3、TP53、CASP8、FASN、FASLG、CYP19A1、PGR、NCOA2、PTGS1、PTGS2、HSP90A、PIK3CG、KCNH2、PRKACA、DRD1、CHRM3、CHRM1、SCN5A、GABRA2、CHRM4、PDE3A、HTR2A、GABRA5、ADRA1A、GABRA3、CHRM2、ADRA1B、ADRB2、CHRNA2、SLC6A4
5	泽泻	PGR、NCOA2、NR3C2、NR3C1、CES2、HSD11B1、CYP19A1、PTPN1、CCR1、HMGCR、GSK3B、P2RX3、NOS2、MDM2、TRPV4、PRKCD、ROCK2、CDK8、CCNC、PIK3CB、PRKCB、PRKCA、CDK2、MAPK1、LIMK2、GSK3A、AR、NAMPT、PDGFRB、KIT
6	葛根	NOS2、PTGS1、CHRM1、ESR1、AR、PPARG、PTGS2、RXRA、PDE3A、ADRA1A、SLC6A3、ADRB2、SLC6A4、ESR2、DPP4、MAPK14、GSK3B、HSP90A、CDK2、MAOB、CHEK1、PRKACA、PRSS1、PIM1、CCNA2、CALM、PKIA、NOS3、ACHE、DPEP1
7	决明子	PTGS1、SCN5A、PTGS2、HSP90A、PIK3CG、MAOB、NOS2、ESR1、ESR2、CHEK1、PRKACA、PDE3A、PTPN1、MAPK14、GSK3B、CDK2、PIM1、CCNA2、NCOA2、PKIA、AKR1、IGHG1、CDKN1A、EIF6、BAX、TNF、CASP3、TP53、FASN、PRKCA
8	丹参	PTGS1、CHRM3、CHRM1、SCN5A、CHRM5、PTGS2、HTR3A、CA2、CHRM4、RXRA、OPRD1、PDE3A、ADRA1A、CHRM2、ADRA1B、SLC6A3、ADRB2、ADRA1D、TOP2A、OPRM1、GABRA1、HSP90A、CHRNA7、NCOA2、NCOA1、DRD1、HTR2A、SLC6A4、IGHG1、PGR

**2.2 高脂血症疾病相关靶点** 分别以下列 3 个主题词：“hypercholesterolemia” “hypertriglyceridemia” “hyperlipidemia” 在 DisGeNET、OMIM、TTD 与 GeneCards 数据库中搜索与高脂血症相关的基因。其中，在 DisGeNET 数据库中，这 3 个主题词检索结果 Score 中位数均为 0.01，而在 GeneCards 数据库这 3 个关键词检索结果 Score 中位数则分别为 2.58、2.55 和 1.57，统一按 Score 大于中位数的条件筛选出关键基因并去除重复值。最终综合 4 个数据库的结果，得到 1 290 个靶点。

**2.3 桑杞清眩颗粒调节血脂异常的 PPI 网络和核心模块分析** 取桑杞清眩颗粒主要活性成分作用靶点与高脂血症疾病靶点的交集，并绘制韦恩图(图 2)，发现共同靶点有 112 个。利用 STRING 平台对这些共同靶点进行 PPI 网络构建，参数设置为“high confidence(0.900)”，并隐藏游离节点，得到 99 个节点，375 条连线，见图 3。为进一步凸显重要节点，将所得节点按照度值排序构图，见图 4。利用 Cytoscape 3.8.0 计算桑杞清眩颗粒治疗高脂血症 PPI 网络中各个节点的度值、介值和紧密度并降序排列，找出这 3 个参数排名前 30 位的靶点并取交集，得到 19 个关键靶点，见表 4。此外，通过 MCODE 插件提取关键的蛋白模块进行描述分析，结果如图 5；并利用 CytoNCA 插件寻找桑杞清眩颗粒中排前

15 位的主要的活性成分，包括槲皮素(querceetin)、β-谷甾醇(beta-sitosterol)、木犀草素(luteolin)、泽泻醇 C(alisol C)、泽泻醇 B23-乙酸酯(alisol B23- acetate)、豆甾醇(stigmasterol)、山柰酚(kaempferol)、烟碱大黄素[(-)-Tabernemontanine]、丹参酮 IIA(tanshinone IIA)、奎尼丁(epiquinidine)、刺芒柄花素(formononetin)、鼠尾草酚酮(salviolone)、二氢丹参内酯(dihydrotanshinlactone)、2-异丙基-8-甲基菲-3, 4-二酮(2-isopropyl-8-methylphenanthrene-3, 4-dione)、4-亚甲丹参新酮(4-methylenemiltirone)，见表 5。以上结果显示，桑杞清眩颗粒可通过调控信号转导与转录活化因子 3(STAT3)、蛋白激酶 B(AKT1)、肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素(IL)-6、血管内皮生长因子 A(VEGFA)等因子的表达作用于高脂血症。

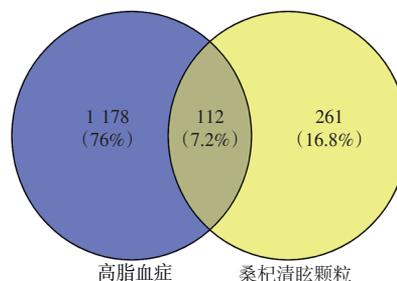


图 2 桑杞清眩(SQQX)颗粒调节血脂异常的作用靶点  
Figure 2 Action targets regarding SQQX granules' effect on regulating hyperlipidemia

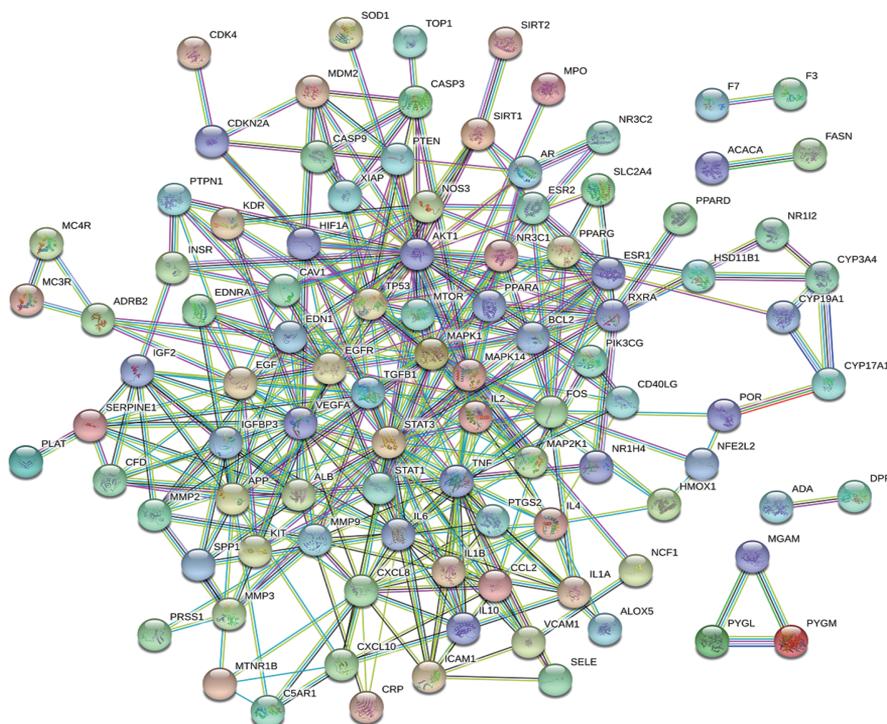
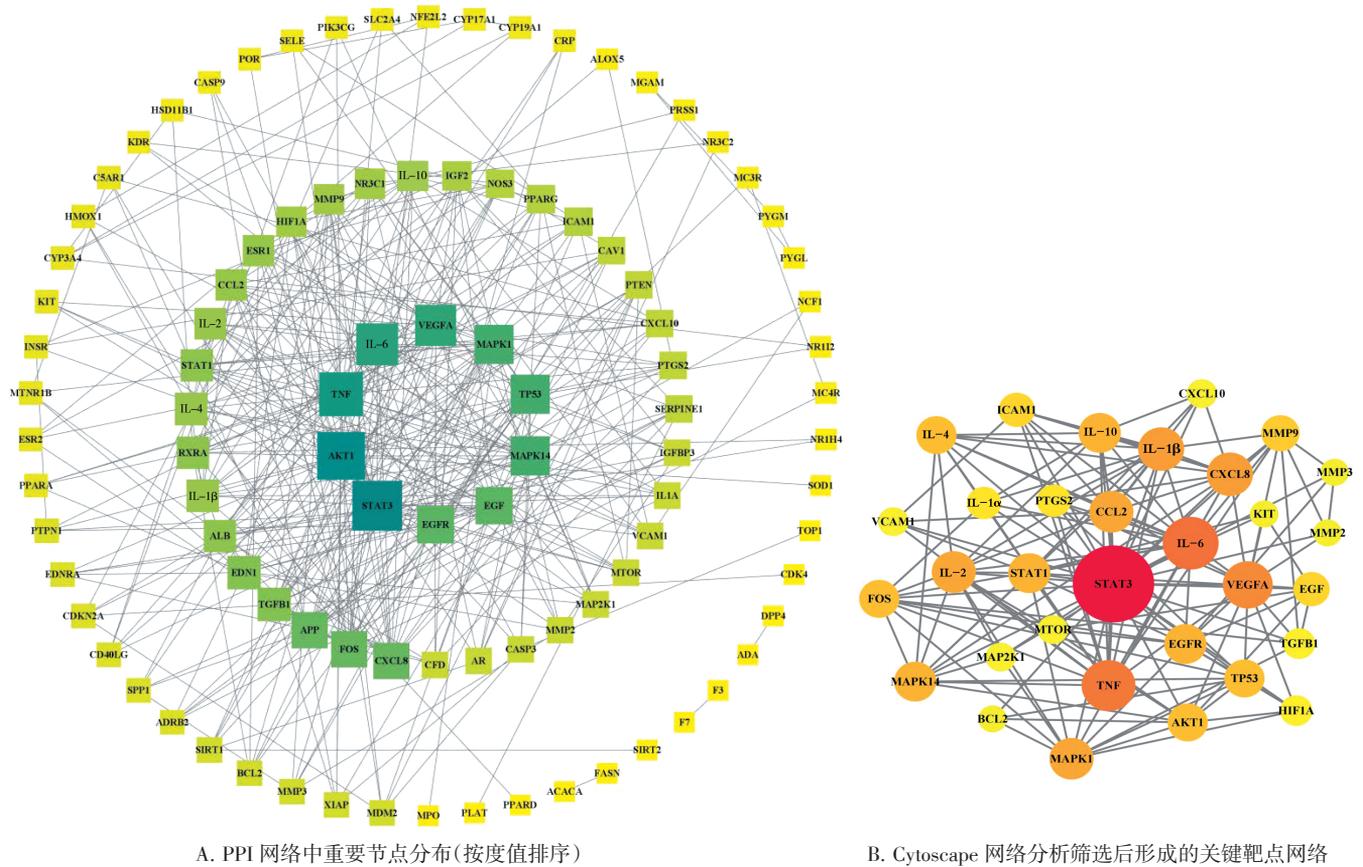


图 3 桑杞清眩(SQQX)颗粒调节血脂异常相关靶点的 PPI 网络  
Figure 3 PPI network of SQQX granules' effect on regulating hyperlipidemia



A. PPI 网络中重要节点分布(按度值排序)

B. Cytoscape 网络分析筛选后形成的关键靶点网络

图 4 按度值大小分布的桑杞清眩(SQQX)颗粒调节血脂异常相关靶点

Figure 4 Distribution of targets regarding SQQX granules' effect on regulating hyperlipidemia by degree

表 4 桑杞清眩(SQQX)颗粒作用于高脂血症的关键靶点

Table 4 Core targets related to SQQX granules' effect on hyperlipidemia

编号	靶点名称	度值	介值	紧密度
1	STAT3	31	0.106 7	0.549 4
2	AKT1	29	0.166 4	0.542 7
3	TNF	25	0.091 5	0.520 5
4	IL-6	23	0.049 0	0.489 0
5	VEGFA	22	0.067 5	0.508 6
6	TP53	20	0.078 3	0.520 5
7	MAPK1	20	0.063 3	0.520 5
8	MAPK14	20	0.073 6	0.502 8
9	EGFR	18	0.054 9	0.491 7
10	EGF	18	0.047 1	0.486 3
11	CXCL8	17	0.031 5	0.454 1
12	FOS	17	0.077 3	0.497 2
13	APP	17	0.038 2	0.451 8
14	EDN1	14	0.035 8	0.468 4
15	TGFB1	14	0.029 0	0.481 1
16	RXRA	13	0.085 0	0.466 0
17	STAT1	13	0.016 0	0.466 0
18	ESR1	12	0.042 3	0.463 5
19	HIF1A	11	0.018 2	0.463 5

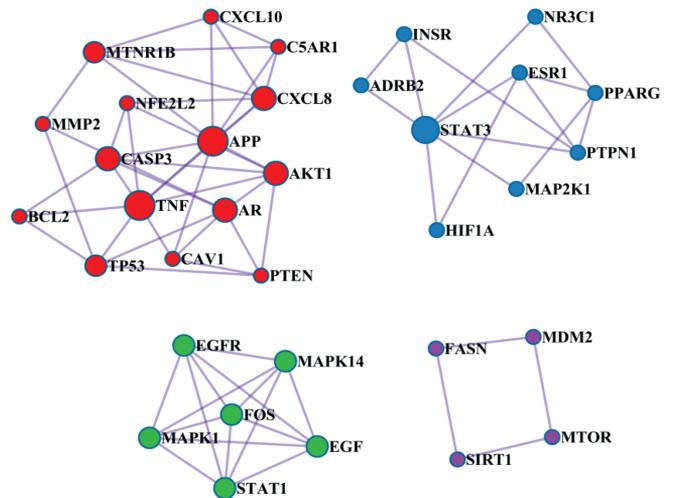


图 5 桑杞清眩(SQQX)颗粒调节血脂异常的核心模块

Figure 5 Key modules regarding SQQX granules' effect on regulating hyperlipidemia

**2.4 桑杞清眩颗粒调节血脂异常靶点的 GO 和 KEGG 分析** 将桑杞清眩颗粒调节血脂异常的活性成分作用靶点上传至 Metascape 平台进行 GO 和 KEGG 分析, 设置 Min overlap 为 3, Min Enrichment 为 1.5,  $P < 0.01$ , 最后取富集倍数排名前 10 位的生

表 5 桑杞清眩(SQX)颗粒作用于高脂血症排名前 15 位的活性成分

Table 5 Top15 active components of SQX granules regarding its action on hyperlipidemia

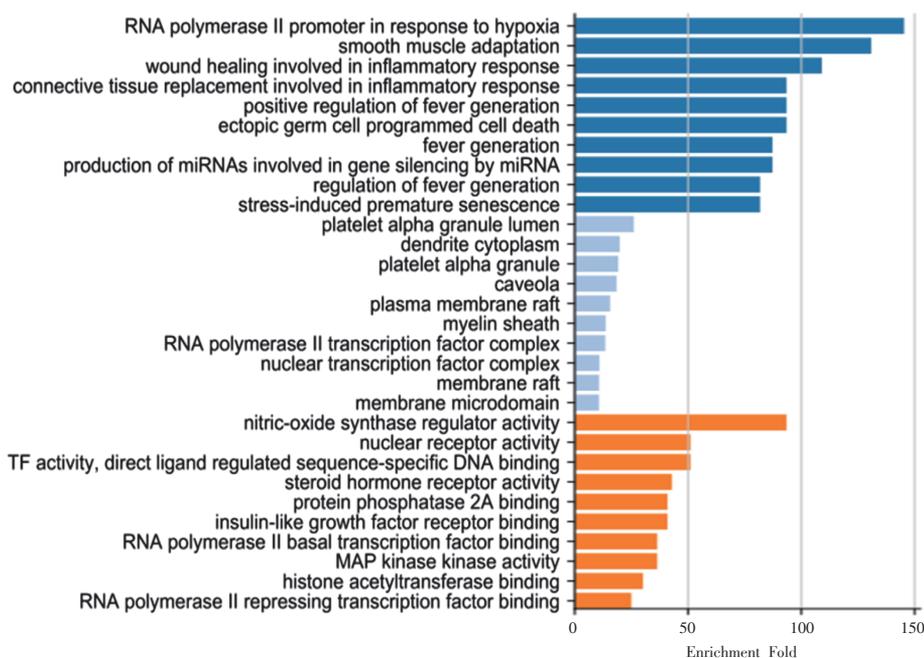
序号	编号	Mol	名称	度值	介值	紧密度
1	SJS2	Mol000098	槲皮素	692	0.347 1	0.465 5
2	B	Mol000358	β-谷甾醇	151	0.021 9	0.379 8
3	D	Mol000006	木犀草素	116	0.066 3	0.388 0
4	ZX6	Mol000854	泽泻醇 C	115	0.249 4	0.426 5
5	ZX7	Mol000832	泽泻醇 B23-乙酸酯	105	0.227 5	0.422 9
6	A	Mol000449	豆甾醇	64	0.027 4	0.375 2
7	DZ2	Mol000422	山柰酚	61	0.053 9	0.391 7
8	DZ9	Mol009015	烟碱大黄素	42	0.023 7	0.372 9
9	DS52	Mol007154	丹参酮 IIA	41	0.037 4	0.373 5
10	DZ12	Mol009031	表奎尼丁	39	0.014 6	0.370 7
11	GG1	Mol000392	刺芒柄花素	38	0.030 9	0.369 6
12	DS48	Mol007145	鼠尾草酚酮	37	0.020 1	0.371 3
13	DS31	Mol007100	二氢丹参内酯	36	0.007 2	0.371 3
14	DS9	Mol007041	2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮	34	0.005 6	0.374 1
15	DS12	Mol007049	4-亚甲丹参新酮	34	0.006 5	0.374 1

物学过程(biological process, BP)、细胞组件(cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF)和排名前 20 位的信号通路进行可视化。结果发现,桑杞清眩颗粒主要参与的生物学过程有:缺氧下 RNA 聚合酶 II 启动子调节反应、平滑肌可塑性、创伤愈合中的炎症反应、结缔组织更新过程中的炎症

修复、正向调节产热等;关键涉及的细胞组分有血小板 α 颗粒、树突细胞质、胞吐小泡、浆膜筏、核转录因子复合体等;参与的重要分子功能有调节一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)活性、核受体活性、转录调控 DNA 结合、类固醇受体活性、MAPK 激酶活性、与磷酸酶 2A 结合等有关,见图 6。而这些相关的靶点最终集中于 AGE-RAGE 信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化途径、TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、IL-17 以及 HIF-1 信号通路等,结果如图 7。

**2.5 桑杞清眩颗粒活性成分-高脂血症靶点-信号通路图** 运用 CytoScape 3.8.0 构建桑杞清眩颗粒活性成分-血脂异常靶点-通路网络,图中八边形节点为前文中筛选出的桑杞清眩颗粒调治高脂血症最为关键的活性成分,菱形为靶点,倒三角形为信号通路;节点的面积和颜色深浅代表其 degree 值,面积越大、颜色越深说明该节点重要性越大。结果显示,槲皮素(SJSZ)、泽泻醇 C(ZX6)、泽泻醇 B23-乙酸酯(ZX7)、山柰酚(DZ2)、木犀草素(D)、丹参酮 IIA(DS52)等成分,PGST2、MAPK1、AKT1、PGST1、BCL2、CASP3 等靶点以及共同作用的 AGE-RAGE 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化途径、TNF 信号通路是意义较为突出的,见图 8。

**2.6 分子对接结果** 通过 Autodock 软件对桑杞清眩



注: BP: 生物学过程; CC: 细胞组件; MF: 分子功能

图 6 桑杞清眩(SQX)颗粒调节血脂异常靶点的 GO 分析

Figure 6 GO analysis of targets regarding SQX granules' effect on regulating hyperlipidemia

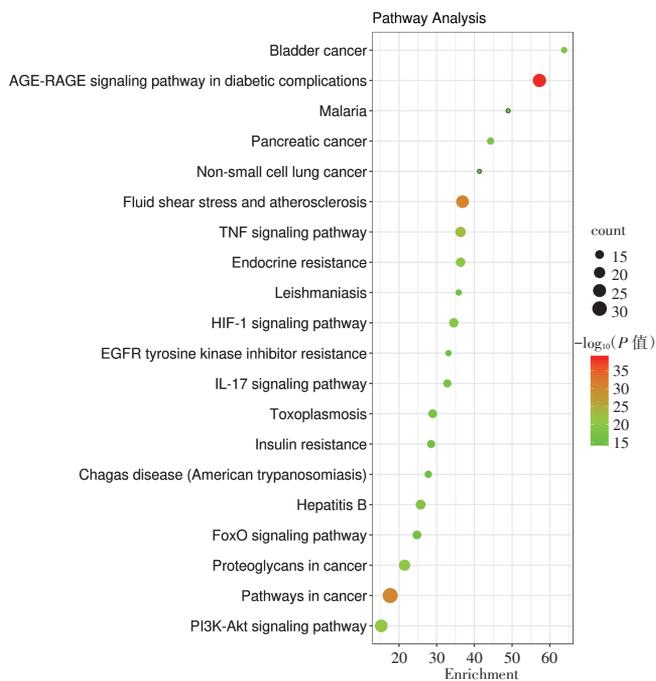


图 7 桑杞清眩(SQQX)颗粒调节血脂异常靶点的 KEGG 通路富集

Figure 7 KEGG enrichment analysis of targets regarding SQQX granules' effect on regulating hyperlipidemia

颗粒最重要的 4 种活性成分与 Degree 值排名靠前的靶点 AKT1 和 TNF 靶点进行分子对接验证, 结果见表 6、图 9。结合文献, 一般认为结合能  $< -4.25 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$  者有一定的结合活性, 而  $< -5.0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$  则体现有较好的结合活性<sup>[13]</sup>。本研究发现, TNF 与木犀草素、槲皮素以及 AKT1 与  $\beta$ -谷甾醇、木犀草素结合能均  $< -4.25 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 且 TNF 与槲皮素、AKT1 与木犀草素的结合能更是小于  $-5.0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 见表 6。TNF 分别与  $\beta$ -谷甾醇、木犀草素、槲皮素、泽泻醇 C 在 TYR-115、GLY-40、PHE-144 以及 ALA-35 位置处形成连接; 而 AKT1 则分别在 THR-291、ARG-328、GLN-428 以及 HIS-207 残基末端与前述活性成分一一对应形成氢键, 见图 9。

### 3 讨论

随着生活水平和饮食结构的改变, 近些年来我国人群血脂水平明显上升。2012 年全国调查结果显示成人血脂异常发病率高达 40.4%<sup>[14]</sup>, 预计 2010~2030 年间我国因血脂升高增加的心血管事件将高达 920 万<sup>[15]</sup>。

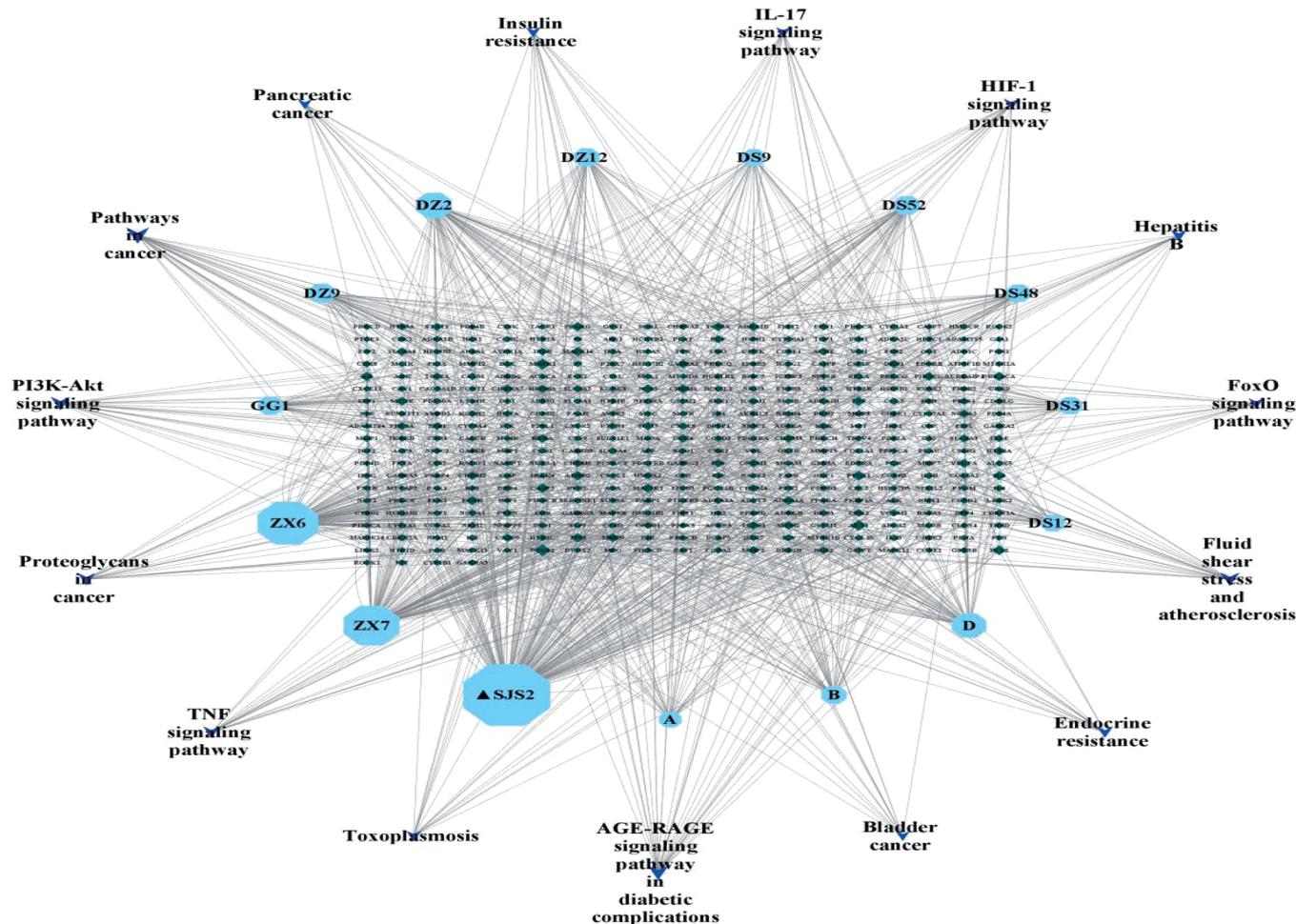


图 8 桑杞清眩(SQQX)颗粒调节血脂异常的成分-靶点-通路网络图

Figure 8 Component-target-pathway network map of SQQX granules' effect on regulating hyperlipidemia

表 6 桑杞清眩(SQQX)颗粒主要药物活性成分与关键靶点的结合能

Table 6 Binding energy between major effective components of SQQX granules and key targets

序号	活性成分	结合靶点与能量/(kcal·mol <sup>-1</sup> )	
		TNF	AKT1
1	β-谷甾醇	-3.83	-4.79
2	槲皮素	-5.25	-3.66
3	木犀草素	-4.59	-5.34
4	泽泻醇 C	-4.23	-3.96

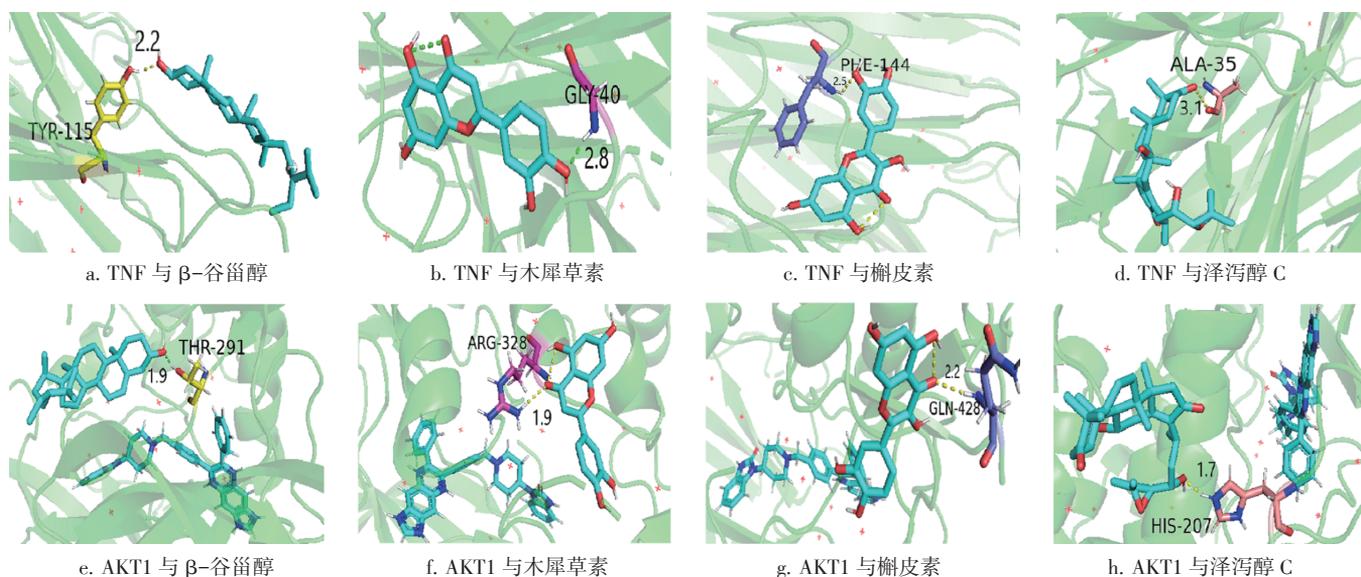


图 9 桑杞清眩(SQQX)颗粒主要药物活性成分与关键靶点的分子对接效果图

Figure 9 Schema of molecular docking of major effective components of SQQX granules and key targets

参、决明子等)可奏益气健脾、活血祛邪之功,能有效用于高脂血症和脂肪肝等的治疗<sup>[17]</sup>;代谢方(含泽泻、野菊花等)也能有效降低代谢综合征患者血清TG、TC、LDL-C水平,同时升高HDL-C水平,改善患者的中医证候和胰岛素抵抗<sup>[18]</sup>。此外,动物实验证实主要由桑寄生、葛根、丹参、泽泻等组成的桑葛丹能降低家兔血脂水平,清除肝脏脂质并缩短ELT,恢复凝血机制<sup>[19]</sup>;而以杜仲油、杜仲皮提取物及丹参等组成的杜仲油软胶囊也能明显改善高脂饮食大鼠血清中TC和TG的含量,尤其降低TG含量<sup>[20]</sup>。结合上述复方应用经验来看,桑杞清眩颗粒中的每一味组成药物均对改善血脂异常有一定作用,现代药理证据亦极为充分,组方用药具有高度的科学性与合理性;而结合中医理论分析,血脂异常的根本病机是本虚标实,虚者多以气虚、脾虚、肾虚,实者则多为气滞、痰浊、瘀阻<sup>[21]</sup>。薛洁等<sup>[22]</sup>对44篇文献中8654例高脂血症患者展开证型分析发现,与痰浊相关的有2237例(25.98%),与血瘀相关的有

而在美国,超1亿人(约占成年人口的53%)LDL-C水平明显升高,其中约3100万成年人的总胆固醇水平超13mmol·L<sup>-1</sup>,心血管事件风险翻番,并且数据显示,接受降脂治疗的高LDL-C患者仅不到一半,而其中仅不足35%患者达到有效控制<sup>[16]</sup>。可见,血脂异常已成为严重影响社会公众健康的问题,如何对其早期防治亟待解决。中医药调治血脂异常临床疗效不亚于西药,具有明显优势和巨大潜力。

文献研究显示,降脂方(含桑寄生、枸杞、丹

1887例(21.92%),与气滞相关的有1471例(17.08%);而肾之气、阴、阳虚损2195例(25.49%),脾之气、阴、阳虚损1545例(17.94%)。可见“虚、痰、瘀”是贯穿血脂异常发生发展过程的核心,而桑杞清眩颗粒正是着眼于调补肝肾、健脾益气兼以化痰活血、祛瘀通络的复方制剂,方中以桑寄生为君,以枸杞、决明子、杜仲为臣,以平补肝肾、调和阴阳、滋阴补虚,佐以丹参、葛根活血化瘀,使以泽泻、野菊花化痰降浊,诸药合用共生补虚、化痰、消瘀之效,虚实同治,补益之余移除病理实邪,标本兼顾,攻补兼施。多项前期实验<sup>[10-11,23-24]</sup>发现,桑杞清眩颗粒对高脂饮食自发性高血压大鼠和高血压患者均有明显降脂作用,但具体机制有待阐明。

本研究通过网络药理学的方法筛选出了桑杞清眩颗粒治疗高脂血症的重要活性成分,主要包括槲皮素、β-谷甾醇、木犀草素、泽泻醇C、泽泻醇B23-乙酸酯、山柰酚、丹参酮IIA等。槲皮素是一种类黄酮物质,可有效降低高脂饮食兔模型和ApoE<sup>-/-</sup>小鼠

血清 TC 和 LDL-C 水平<sup>[25]</sup>, 并能减低主动脉和肝组织中的脂质水平, 具有抗动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)和心血管保护作用<sup>[26]</sup>, 其可通过上调 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$  和 ABCA1 基因表达促进巨噬细胞中胆固醇的流出而发挥抗 AS 作用<sup>[27]</sup>。 $\beta$ -谷甾醇是常用于高脂血症辅助治疗的植物甾醇类保健品, 研究发现其可降低仓鼠肝脏胆固醇浓度并同时增加粪便中总甾醇的排泄, 通过下调 NPC1L1、ACAT2 和 MTP mRNA 水平抑制胆固醇的吸收<sup>[28]</sup>。木犀草素能减轻高脂饮食 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠 AS 进展, 并能抑制信号转导和转录激活因子 3(STAT3)介导的炎症反应减少 oxLDL 产生, 进而减轻 AS<sup>[29]</sup>; 泽泻醇 C 和泽泻醇 B23-乙酸酯均能明显降低高脂小鼠 TC 水平, 而后者可通过直接与 HMG-CoA 还原酶竞争性结合抑制其活性发挥降脂作用<sup>[30]</sup>。山柰酚可通过多种机制抑制 Akt 活性, 降低 TG 水平, 并能通过减弱 Akt/mTOR 途径, 激活 PPARs 进而诱导肝细胞自噬并减少小鼠肝脏中脂质滴的形成<sup>[31]</sup>; 而丹参酮 IIA 则可抑制 TGF- $\beta$ /PI3K/Akt/eNOS 信号激活, 减轻 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠内膜斑块和脂质沉积, 降低其血清 LDL-C、TG 水平, 并升高 HDL-C 水平<sup>[32]</sup>。分子对接结果显示, 木犀草素与主要靶点 TNF 和 AKT1、槲皮素与 TNF 以及  $\beta$ -谷甾醇与 AKT1 的结合活性较好, 提示桑杞清眩颗粒可能主要是通过通过这些成分来调控血脂的。

本研究中, AKT1、TNF、IL-6 是桑杞清眩颗粒调节血脂异常主要作用的靶点。AKT1 活化可促进下游蛋白如 GSK3 $\beta$  等的磷酸化继而调节脂代谢紊乱<sup>[33]</sup>, 而 TNF- $\alpha$ 、IL-6 等炎症因子激活可诱导肝脏脂肪酸合成的刺激和脂解作用的增加, 升高血脂水平<sup>[34]</sup>。桑杞清眩颗粒作用于高脂血症的通路主要富集于 AGE-RAGE 信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化途径和 TNF 信号通路。研究显示, AGE-RAGE 可介导高脂血症引起的 AS 等多个病理过程<sup>[35]</sup>, 晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)的产生更与 AS 的进展直接相关, 其可通过激活 RAGE 进而启动包括 NADPH、MAPK、ERK、p38 和蛋白激酶 C 等引起的信号转导级联反应, 诱导细胞损伤和炎症反应, 造成 AS 加速<sup>[36]</sup>。血液流体剪切应力是指作用在血管内皮细胞上的摩擦力, 对于维持生理状态下的内皮稳态是至关重要的, 稳定的层流剪应力具有抗 AS 的作用, 则层流的扰动为 AS 提供了有利环境。层流扰动下, PECAM-1/VE-钙黏蛋白/VEGFR2 信号传导的激活严重加剧血管内皮炎

症, 进一步恶化 AS<sup>[37]</sup>。TNF 信号通路在高脂血症和 AS 中具有重要作用, TNF- $\alpha$  已明确是促 AS 因子, 其能显著促进细胞对 LDL 的胞吞作用, 引起 LDL 在内皮下滞留增加<sup>[38]</sup>。值得注意的是, 血液流体剪切应力参与调节 RAGE 的表达激活和内皮中的炎症反应, 其受扰动可引起大量产生活性氧, 上调炎症因子、细胞黏附分子和白细胞趋化因子水平; 而循环炎症介质如 TNF- $\alpha$  的上调可导致 AGEs 的大量生成, AGE/RAGE 和 TNF- $\alpha$  信号相互作用引起的活性氧增加可引起一氧化氮依赖的内皮舒张功能受损, 三者共同参与 AS 的发生发展<sup>[39-40]</sup>。

综上所述, 桑杞清眩颗粒可通过多个活性成分干预血脂异常中的多个靶点、多个环节, 从多维、系统的层面参与调控血脂和 AS 的发生发展过程。本文利用网络药理学预测了桑杞清眩颗粒治疗高脂血症的作用靶点和可能机制, 为后期临床和科研实验提供了参考。尽管本研究事先已尽可能纳入所有有关的有效活性成分, 但未考虑复方中药经煎煮后活性成分可能出现的改变, 因而存在一定局限性, 这有待日后进一步实验加以验证。

## 参考文献:

- [1] MOZAFFARIAN D, BENJAMIN E J, GO A S, et al. Heart disease and stroke statistics-2016 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2016, 133(4): e38-e360.
- [2] NELSON R H. Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease[J]. *Prim Care*, 2013, 40(1): 195-211.
- [3] GRUNDY S M, STONE N J, BAILEY A L, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APHA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the management of blood cholesterol: a report of the American college of cardiology/American heart association task force on clinical practice guidelines[J]. *Circulation*, 2019, 139(25): e1082-e1143.
- [4] JACOBSON T A, CHEELEY M K, COHEN J D. The statin adverse treatment experience survey: experience of patients reporting side effects of statin therapy[J]. *J Clin Lipidol*, 2019, 13(3): 415-424.
- [5] 袁成莹, 侯原平, 常晶, 等. 他汀类药物在临床应用中的主要不良反应及防治策略[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2018, 17(12): 949-951.
- [6] KARR S. Epidemiology and management of hyperlipidemia[J]. *Am J Manag Care*, 2017, 23(9 Suppl): S139-S148.
- [7] 马贵萍, 章怡祎. 高脂血症的中医药治疗研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2019, 17(14): 2116-2119.
- [8] 李琳, 冯润, 黄力. 桑杞清眩颗粒干预自发性高血压大鼠心肌细胞凋亡的实验研究[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2015, 13(6): 743-745.
- [9] CHEN L Y, PAN C S, WEI X H, et al. Sang-qi granula reduces

- blood pressure and myocardial fibrosis by suppressing inflammatory responses associated with the peroxisome proliferator-activated receptors and nuclear factor  $\kappa$ b protein in spontaneously hypertensive rats[J]. *Evid Based Complementary Alterna Med*, 2013, 2013: 721729.
- [10] 黄力, 史载祥, 张久亮, 等. 降压脉净液对高脂饮食自发性高血压大鼠的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2002(7): 528-530.
- [11] 李艳君. 桑杞清眩颗粒治疗原发性高血压及对血管内皮功能影响的临床观察[D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [12] LI S, ZHANG B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: theory, methodology and application[J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(2): 110-120.
- [13] HSIN K, GHOSH S, KITANO H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83922.
- [14] 国家卫生和计划生育委员会疾病预防控制局. 中国居民营养与慢性病状况报告[G]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [15] MORAN A, GU D, ZHAO D, et al. Future cardiovascular disease in China: markov model and risk factor scenario projections from the coronary heart disease policy model- China[J]. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2010, 3: 243-252.
- [16] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vital signs: prevalence, treatment, and control of high levels of low-density lipoprotein cholesterol-United States, 1999-2002 and 2005-2008 [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2011, 60(4): 109-114.
- [17] 展文国. 降脂方治疗高脂血症[N]. *中国中医药报*, 2015-06-15(005).
- [18] 李琛瑛, 陈兆善, 胡坚文, 等. 代谢方对代谢综合征患者血脂异常、胰岛素抵抗的疗效观察[J]. *天津中医药大学学报*, 2017, 36(4): 258-262.
- [19] 余培文, 李红军, 杨晓顺, 等. 桑葛丹与三味丸治疗高脂血症对比实验研究[J]. *西南国防医药*, 1999, 9(S1): 3-5.
- [20] 王宏涛, 卫聪, 苏鹏, 等. 杜仲油软胶囊对模型大鼠血脂水平的调节作用[J]. *中国药业*, 2019, 28(16): 20-22.
- [21] 吴海芳, 何庆勇, 刘旭东, 等. 1019例血脂异常患者的中医证候分布规律研究[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(6): 2672-2675.
- [22] 薛洁, 韩荣, 周光. 高脂血症证候规律与基本病机特点的系统文献学研究[J]. *新疆中医药*, 2009, 27(1): 77-78.
- [23] 黄力, 杨学青, 毛建生, 等. 降压脉净液治疗高血压病的临床观察[J]. *北京中医药大学学报(中医临床版)*, 2006, 13(2): 16-18.
- [24] 杨学青. 降压脉净冲剂治疗高血压的临床研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2003.
- [25] JUŹWIAL S, WÓJCICKI J, MOKRZYCKI K, et al. Effect of quercetin on experimental hyperlipidemia and atherosclerosis in rabbits[J]. *Pharmacol Rep*, 2005, 57(5): 604-609.
- [26] JIA Q, CAO H, SHEN D, et al. Quercetin protects against atherosclerosis by regulating the expression of PCSK9, CD36, PPAR $\gamma$ , LXR $\alpha$  and ABCA1[J]. *Int J Mol Med*, 2019, 44(3): 893-902.
- [27] LARA G O J, TABARES G J H, LEON V Y M, et al. Proatherogenic macrophage activities are targeted by the flavonoid quercetin[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, 343(2): 296-306.
- [28] LEI L, ZHU H, ZHANG C, et al. Dietary  $\beta$ -sitosterol is more potent in reducing plasma cholesterol than sesamin in hypercholesterolemia hamsters[J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2016, 119(7): 1600349.
- [29] DING X, ZHENG L, YANG B, et al. Luteolin attenuates atherosclerosis via modulating signal transducer and activator of transcription 3-mediated inflammatory response[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 3899-3911.
- [30] XU F, YU H, LU C, et al. The Cholesterol-Lowering effect of alisol acetates based on hmg-coa reductase and its molecular mechanism[J]. *Evid Based Complementary Alterna Med*, 2016, 2016: 4753852.
- [31] HOANG M H, JIA Y, LEE J H, et al. Kaempferol reduces hepatic triglyceride accumulation by inhibiting Akt[J]. *J Food Biochem*, 2019, 43(11): e13034.
- [32] WANG J, HE X, CHEN W, et al. Tanshinone IIA protects mice against atherosclerotic injury by activating the TGF- $\beta$ /PI3K/Akt/eNOS pathway[J]. *Cornary Artery Dis*, 2020, 31(4): 385-392.
- [33] YANG S, SHEN Y, HU X, et al. Natural product puerarin activates Akt and ameliorates glucose and lipid metabolism dysfunction in hepatic cells[J]. *J Funct Foods*, 2019, 55: 296-304.
- [34] SIASOS G, TOUSOULIS D, OIKONOMOU E, et al. Inflammatory markers in hyperlipidemia: from experimental models to clinical practice[J]. *Curr Pharm Des*, 2011, 17(17): 4132-4146.
- [35] MCNAIR E, QURESHI M, PRASAD K, et al. Atherosclerosis and the hypercholesterolemic AGE-RAGE axis[J]. *Int J Angiol*, 2016, 25(2): 110-116.
- [36] CHEN Y, CHEN Z, LI H, et al. AGE/RAGE-Induced EMP release via the nox-derived ROS pathway[J]. *J Diabetes Res*, 2018, 2018: 6823058.
- [37] HEO K, FUJIWARA K, ABE J. Shear stress and atherosclerosis[J]. *Mol Cells*, 2014, 37(6): 435-440.
- [38] ZHANG Y, YANG X, BIAN F, et al. TNF- $\alpha$  promotes early atherosclerosis by increasing transcytosis of LDL across endothelial cells: crosstalk between NF- $\kappa$ B and PPAR- $\gamma$ [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, (72): 85-94.
- [39] DEVERSE J S, BAILEY K A, JACKSON K N, et al. Shear stress modulates RAGE-mediated inflammation in a model of diabetes-induced metabolic stress[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 302(12): H2498-H2508.
- [40] CSISZAR A, UNGVARI Z. Endothelial dysfunction and vascular inflammation in Type 2 diabetes: interaction of AGE/RAGE and TNF- $\alpha$  signaling[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 295(2): H475-H476.

(编辑: 修春)