

基于网络药理学的黄连解毒汤治疗高血压潜在机制研究

张晓因¹, 张军平^{2*}, 徐士欣^{2*}, 朱亚萍², 刘璐¹, 谢盈彧¹, 贾秋瑾¹

1. 天津中医药大学, 天津 300073

2. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300112

摘要: **目的** 利用网络药理学技术预测黄连解毒汤治疗高血压的作用机制。**方法** 从中药系统药理学分析平台(TCMSP)中寻找与黄连解毒汤中4味中药相关的所有化学成分和作用靶点,构建化合物靶点相互作用网络图;通过OMIM数据库、TTD数据库以及PharmGkb数据库筛选高血压疾病相关的靶标;PPI数据库构建黄连解毒汤和高血压的交互靶标;筛选药物靶点和疾病靶点相互作用的核心靶点,采用David 6.8数据库对核心靶点进行Gene Ontology(GO)分析,利用KEGG数据库对核心靶点进行相关通路富集。**结果** 选择口服利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18作为化合物分子的筛选条件,并通过文献查找加以补充,共筛选出黄连解毒汤的61个潜在活性成分和154个潜在靶点;通过度、介度中心度、接近中心度等网络拓扑特征评价筛选出与黄连解毒汤在高血压方面作用核心靶点228个,GO分析共包含118条富集结果,其中生物过程59条,分子功能31条,细胞组成28条。利用KEGG数据库对入选靶标进行相关通路富集,筛选出45条通路在高血压疾病方面具有作用。**结论** 黄连解毒汤具有多成分、多途径、多靶点协同作用的作用特点,预测了黄连解毒汤治疗高血压疾病的可能作用机制,为寻找其有效成分和作用机制及临床应用奠定基础。

关键词: 网络药理学; 黄连解毒汤; 高血压; 作用机制; 靶点

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)24-5865-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.24.020

Potential mechanism of Huanglian Jiedu Decoction for treatment of hypertension based on network pharmacology

ZHANG Xiao-nan¹, ZHANG Jun-ping², XU Shi-xin², ZHU Ya-ping², LIU Lu¹, XIE Ying-yu¹, JIA Qiu-jin¹

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300073, China

2. First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300112, China

Abstract: **Objective** To study the mechanism of Huanglian Jiedu Decoction (HJD) in the treatment of hypertension by using network pharmacology. **Methods** Chemical components and targets related to the four herbs of Chinese materia medica in HJD were searched through the traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform (TCMSP) to construct the interaction network diagram of the target point of the compounds. The hypertension related targets were screened through OMIM, TTD, and PharmGkb databases; The interactive target of HJD and hypertension was constructed in PPI database; GO analysis of screened core targets between drug target and disease target was carried out using David 6.8 database, and the related pathways of core targets were enriched using KEGG database. **Results** Using the oral bioavailability (OB) ≥ 30% and drug likeness (DL) ≥ 0.18 as screening condition for the compounds, combined with supplement literatures searched, 61 active components and 154 corresponding protein targets of HJD were screened out. A total of 118 enrichment results were obtained from 228 core targets of HJD in hypertension, including 59 biological processes, 31 molecular functions, and 28 cell compositions. The selected targets were enriched by KEGG database and 45 pathways playing an important role in hypertension were screen out. **Conclusion** The synergetic effect of HJD with multi-components and multi-pathway was confirmed by network pharmacology, and the main possible mechanism of HJD in treating hypertension was predicted, which lay a foundation for the identification of effective components, the mechanism of action, and clinical application.

Key words: network pharmacology; Huanglian Jiedu Decoction; hypertension; mechanism; target

收稿日期: 2018-05-03

基金项目: 第二批国家“万人计划”百千万工程领军人才项目资助

作者简介: 张晓因(1993—),女,硕士研究生,主要从事中医药防治心血管疾病的研究工作。Tel: 15303237553 E-mail: 1073341767@qq.com

*通信作者 张军平(1965—),男,博士生导师,教授,主要从事中医药防治心血管疾病的研究工作。Tel: (022)27432016 E-mail: tjzhtcm@163.com

徐士欣(1973—),女,硕士生导师,副教授,主要从事中医药防治心血管疾病的研究工作。Tel: (022)27987795 E-mail: xushixintj@163.com

高血压是我国最常见的心血管疾病之一, 长期持续的高血压会使心、脑、肾等全身重要器官出现损伤。根据 2014 年流行病学调查结果, 我国目前成年人高血压患病率为 29.6%^[1], 世界卫生组织预计到 2020 年全球高血压病患者将上升至 1.5 亿人^[2]。而高血压病属于中医“眩晕”“头痛”“目眩”等范畴, 病因包括“风、火、痰、瘀、虚”。古代医家对此亦有论述, 张仲景在《金匱要略》中最早从病因病机、治法方药方面对痰饮致眩进行论述, 提出“病痰饮者, 当以温药和之”。宋代杨士瀛在《仁斋直指方》中指出: “眩言其黑, 晕言其转, 冒言其昏”, 其状“目闭眼暗, 身转耳聋, 如立舟舡之上, 起则欲倒”, 提出瘀血致眩的观点。近代研究中以“痰瘀互结”症为多见。然而研究发现, 由于高血压患者多伴有高血脂、高血糖、高尿毒等症, 这些物质在体内的沉积应属中医“毒”邪的范畴^[3], 在整个高血压病的发展过程中起着重要作用。

黄连解毒汤为唐代王焘所著《外台秘要》中所载的名方, 由黄连、黄柏、黄芩、栀子组成, 功能为清热燥湿、泻火解毒, 主治三焦火毒热盛证, 症见大热烦躁、口燥咽干、错语不眠; 或热病吐血、衄血; 或热甚发斑、或身热下痢、湿热黄疸; 或外科痈疡疔毒、小便黄赤、舌红苔黄、脉数有力。方中以黄连为君, 既入上焦以清泻心火, 盖因心为君火之脏, 泻火必先清心, 心火宁, 则诸经之火自降; 又入中焦, 泻中焦之火。臣以黄芩清上焦之火, 黄柏泻下焦之火。栀子清泻三焦之火, 导热下行, 用为佐使。诸药相伍, 共奏泻火解毒之效。

近年研究发现, 高血压是一种炎性反应性疾病, 主要表现在炎性因子对血管内皮功能的影响。血管内皮作为循环血液与血管平滑肌间的机械屏障, 具有促进血管收缩舒张、分泌血管活性物质及接受、传递信息等功能。其功能障碍是高血压发生、发展过程中“内皮-高血压-心血管事件链”的始动因子和载体。高血压是多因素、多通路、多机制引发的涉及局部血管和中枢神经调节的复杂病症^[4]。临床上黄连解毒汤对高血压具有较好的疗效, 且现代药理学研究证实黄连解毒汤具有抗菌、抗炎、提高免疫功能等作用^[5]。中医药防治高血压病的机制研究日益加深, 优势突出, 主要涉及肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)、钙拮抗剂作用、舒张血管、改善内皮功能、影响血液流变学、改善胰岛素抵抗、利尿、调节血脂、减轻体质量等方面, 但仍有许多

方面未阐述清楚^[6]。

中药及其复方具有多成分、多途径、多靶点协同作用的特点, 这种复杂性使得中药药效物质基础不明确、作用机制不清楚、中药和中药材质量难以控制、缺乏科学合理有效的药效和安全性评价体系, 从整体到组织器官、细胞和分子水平都很难进行全面系统地研究^[7]。近年来网络药理学在国际上兴起, 它融合系统生物学、多向药理学、计算生物学、网络分析等多学科的技术和内容, 进行多层次网络的构建, 从整体角度探索药物与疾病间的关联性^[8-10], 提供了一种从系统水平研究中复方潜在活性成分和作用靶点的新策略, 特别适用于反映及阐释中药多成分-多靶点的作用关系, 与中药能从整体水平调控机体、发挥治疗作用的观点相吻合。为此, 本研究采用网络药理学方法, 分析黄连解毒汤治疗高血压的药效物质基础和可能的分子作用机制, 建立“药效成分-靶标-通路”之间的关系, 探究该方治疗高血压的多成分、多靶点和多途径作用机制, 以期对高血压相关的基础实验研究及黄连解毒汤的临床合理应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 黄连解毒汤的活性成分分析

本研究依托中药系统药理学分析平台(TCMSP, <http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>)检索黄连解毒汤全方中 4 味中药黄连、黄芩、黄柏、栀子所有化学成分, 共搜集了 168 个化合物, 其中黄连 33 个、黄芩 58 个、黄柏 58 个、栀子 19 个。

1.2 口服生物利用度(OB)和类药性(DL)筛选

本研究中黄连、黄芩、黄柏、栀子中化合物的 OB 和 DL 筛选阈值分别为 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 。通过筛选, 168 个化合物中有 66 个符合条件。另外, 通过文献检索发现 4 味中药可能含有一些药效成分, 其 OB 值与 DL 值小于筛选条件而被系统删除, 考虑其潜在意义, 故也将其中 11 个化合物纳入, 共 77 个作为候选化合物。

1.3 化合物-靶点网络和靶点-疾病网络的构建

为了更合理地阐明黄连解毒汤中化学成分与高血压靶点之间的关系, 通过 TCMSP 平台寻找与 77 个候选化合物相关的潜在靶点, 将候选化合物与其潜在的靶点蛋白上传至 Cytoscape 3.2.1 软件(<http://www.cytoscape.org/>)生成体现药物靶点相互作用的网络图, 以探究黄连解毒汤的药理作用机制。再通过 Mendelian 人类基因和基因表型综合数据库

(OMIM, <http://www.omim.org/>) 筛选得到治疗高血压的基因和蛋白靶点 289 个; 治疗靶点数据库 (TTD, <http://bidd.nus.edu.sg/BIDD-Databases/TTD/TTD.asp>) 筛选得到靶点 53 个; PharmGkb 数据库 (<https://www.pharmgkb.org/>) 筛选得到靶点 140 个, 去重后共 402 个高血压相关靶点。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络的构建

为了说明靶点蛋白在系统水平上的作用, 利用 Cytoscape 3.2.1 软件 (<http://www.cytoscape.org/>) 中 Bisogenet 插件, 分别构建成分靶点 PPI 和疾病靶点 PPI, 并对二者进行拓扑分析筛选核心靶点。

1.5 基因本体 (Gene Ontology, GO) 分类富集分析

采用 David 6.8 数据库 (<https://david-d.ncifcrf.gov/home.jsp>) 对 PPI 网络中的蛋白进行 GO 富集分析。GO 是为了统一表征所有物种的基因及基因产物的性质而发起的生物信息学计划, 旨在建立一套适用于所用物种的、对基因和蛋白质功能进行限定和描述并能随着研究不断深入而更新的语义词汇标准。GO 有 3 个分类: (1) 分子功能 (MF), 描述基因产物在分子生物学上的活性, 如催化活性或结合活性; (2) 生物学过程 (BP), 指由分子功能有序组成的, 具有多个步骤的过程; (3) 细胞组分 (CC), 指基因产物位于何种细胞器或基因产物组中 (如内质网、核糖体及蛋白酶等), 表明基因产物在什么地方起作用。

1.6 KEGG 通路富集分析

利用 DAVID 6.8 数据库 (<https://david-d.ncifcrf.gov/home.jsp>) 进行通路富集分析。在 DAVID 的基因列表通用管理面板中复制粘贴基因列表, 选择基因名称对应的基因标示符 “OFFICIAL_GENE_SYMBOL”, 提交基因列表; 为所提交的基因列表选择对应的物种 “Homo Sapiens”, 背景也选择 “Homo Sapiens”, 即以人类全基因组为背景基因和参照集合, 获得通路富集结果, 点击链接可以查看 KEGG 数据库 (<http://www.Genome.jp/kegg/pathway.html>) 中对应的通路图及其详情, 通过 Omicshare (<http://www.omicshare.com/tools/index.php/>) 对富集分析结果进行可视化处理。

2 结果

2.1 黄连解毒汤潜在活性成分筛选

为了提供更准确的结果, 本研究除纳入挑选 TCMSP 平台中 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 的 66 个活性化合物。另外, 发现其 4 味中药可能含有一些药效

成分, 其 OB 值与 DL 值小于筛选条件而被系统删除。根据已有文献报道进一步分析, 发现黄柏中黄柏碱及木兰花碱具有抗氧化、清热解毒、抗炎、诱导特异性免疫耐受等作用^[11]; 黄连中药根碱、非洲防己碱及格陵兰碱 (groenlandicine) 具有抗氧化活性, 起到了抗菌、抗炎、降压的作用^[12], 此外黄连中阿魏酸对内皮细胞及炎症反应有干预作用^[13-14]; 黄芩中芹菜素具有抗炎、降压、抗过敏等多种生物学作用, 白杨素、野黄芩苷具有抗氧化及调脂活性^[15-17]; 梔子中熊果酸能抑制高血压大鼠心肌纤维化^[18-19], 丁二酸^[20]能降低血压且保护肾组织及血管免受损伤。故纳入了黄柏碱、白杨素、野黄芩苷、芹菜素、阿魏酸、丁二酸、熊果酸、木兰花碱、药根碱、非洲防己碱、格陵兰碱 11 个活性化合物。纳入的黄连解毒汤 77 个活性化合物基本信息见表 1。

2.2 黄连解毒汤化合物-靶点相互作用网络

利用 77 个化合物与靶点的关系构建化合物-靶点网络 (图 1)。在化合物-靶点相互作用网络中, 共包括 215 个节点 (61 个化合物节点和 154 个靶点节点) 和 1 367 条边, 其中, 黄色节点表示黄连化合物分子, 紫色节点表示黄芩化合物分子, 绿色节点表示黄柏化合物分子, 红色节点表示梔子化合物分子, 蓝色节点表示药物靶点, 每条边则表示化合物分子与靶点之间的相互作用关系。在网络中, 1 个节点的度 (degree) 表示网络中和节点相连的路线的条数, 观察节点度的分布可以发现参与互动连接的高度连接的蛋白或者分子, 这些分子以及蛋白在分子-靶点相互作用网络中起到关键的作用。表 1 中列出了化合物-靶点网络中化合物的度值。从表 1 可以看出, 分子 M00358 (β -谷甾醇) 有最多的潜在靶标 (84 个), 其次是 M00098 (槲皮素) 有 78 个潜在靶标, M00785 (巴马亭)、M00790 (异紫堇杷明) 各有 46 个潜在靶标。这些度值较高的药物分子有可能在黄连解毒汤的药理功能中发挥着相对重要的作用。另外, 在网络中, 靶点雌激素受体蛋白 (ESR1)、雄激素受体 (AR)、二肽基肽酶 IV (DPP4)、前列腺素 G/H 合酶 2 (PTGS2)、一氧化氮合酶 2 (NOS2) 拥有最多的相互作用配体, 分别为 60、59、53、53、53 个。而且在 154 个潜在靶标中, 有 104 个靶点至少与 2 个化合物分子连接, 即 67.5% 左右的蛋白质与其他蛋白享有共同的配体。而且根据表 1 中候选化合物分子的度值可以发现, 网络中每个候选化合物都至少与 2 个蛋白质靶点连接, 也说明

表 1 黄连解毒汤中含有的 77 个活性化合物基本信息

Table 1 Information for 77 active compounds of Huanglian Jiedu Decoction

分子 ID	化合物	OB/%	DL	度	来源
M00098	槲皮素 (quercetin)	46.43	0.28	78	栀子
M01406	西红花酸 (crocetin)	35.30	0.26	20	栀子
M01663	(4a <i>S</i> ,6a <i>R</i> ,6a <i>S</i> ,6b <i>R</i> ,8a <i>R</i> ,10 <i>R</i> ,12a <i>R</i> ,14b <i>S</i>)-10-hydroxy-2,2,6a,6b,9,9,12a-heptamethyl-1,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahydronicene-4a-carboxylic acid	32.03	0.76	3	栀子
M01941	欧前胡素 (ammidin)	34.55	0.22	16	栀子
M04561	苏丹 III (sudan III)	84.07	0.59	12	栀子
M00173	汉黄芩素 (wogonin)	30.68	0.23	30	黄芩
M00228	(2 <i>R</i>)-7-hydroxy-5-methoxy-2-phenylchroman-4-one	55.23	0.20	30	黄芩
M00358	β -谷甾醇 (beta-sitosterol)	36.91	0.75	84	黄芩
M00359	谷甾醇 (sitosterol)	36.91	0.75	6	黄芩
M00525	去甲汉黄芩素 (norwogonin)	39.40	0.21	15	黄芩
M00552	5,2'-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone	31.71	0.35	24	黄芩
M01689	刺槐黄素 (acacetin)	34.97	0.24	23	黄芩
M02714	黄芩素 (baicalein)	33.52	0.21	26	黄芩
M02908	5,8,2'-trihydroxy-7-methoxyflavone	37.01	0.27	0	黄芩
M02909	5,7,2,5-tetrahydroxy-8,6-dimethoxyflavone	33.82	0.45	14	黄芩
M02910	红花素 (carthamidin)	41.15	0.24	13	黄芩
M02911	2,6,2',4'-tetrahydroxy-6'-methoxychalcone	69.04	0.22	0	黄芩
M02913	dihydrobaicalin_qt	40.04	0.21	14	黄芩
M02914	eriodictiol (flavanone)	41.35	0.24	17	黄芩
M02915	鼠尾草素 (salvigenin)	49.07	0.33	23	黄芩
M02917	5,2',6'-trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone	45.05	0.33	19	黄芩
M02925	5,7,2',6'-tetrahydroxyflavone	37.01	0.24	11	黄芩
M02926	二氢木蝴蝶素 A (dihydrooroxylin A)	38.72	0.23	0	黄芩
M02927	黄芩黄酮 II (skullcapflavone II)	69.51	0.44	23	黄芩
M02928	木蝴蝶素 A (oroxylin A)	41.37	0.23	29	黄芩
M02932	羟基甲氧基黄酮 (panicolin)	76.26	0.29	18	黄芩
M02933	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone	36.56	0.27	18	黄芩
M02934	黄芩新素 (neobaicalein)	104.34	0.44	19	黄芩
M02937	二氢木蝴蝶素 (dihydrooroxylin)	66.06	0.23	21	黄芩
M00622	magnograndiolide	63.71	0.19	10	黄连
M00762	棕榈素 A (palmidin A)	35.36	0.65	10	黄连
M00785	巴马亭 (palmatine)	64.60	0.65	46	黄连
M01454	黄连素 (berberine)	36.86	0.78	45	黄连
M02894	9-去甲小檗碱 (berberrubine)	35.74	0.73	21	黄连
M02897	表小檗碱 (epiberberine)	43.09	0.78	19	黄连
M02903	(<i>R</i>)-氢化小檗碱 [(<i>R</i>)-canadine]	55.37	0.77	41	黄连
M02904	小檗浸碱 (berlambine)	36.68	0.82	27	黄连
M02907	corchoroside A_qt	104.95	0.78	6	黄连
M13352	黄柏酮 (obacunone)	43.28	0.77	0	黄连
M00358	β -谷甾醇 (beta-sitosterol)	36.91	0.75	84	黄柏

续表 1

分子 ID	化合物	OB/%	DL	度	来源
M00449	豆甾醇 (stigmasterol)	43.83	0.76	38	黄柏
M00622	magnograndiolide	63.71	0.19	10	黄柏
M00762	棕榈素 A (palmidin A)	35.36	0.65	0	黄柏
M00785	巴马亭 (palmatine)	64.60	0.65	46	黄柏
M00787	延胡索乙素 (fumarine)	59.26	0.83	35	黄柏
M00790	异紫堇杷明 (isocorypalmine)	35.77	0.59	46	黄柏
M01454	小檗碱 (berberine)	36.86	0.78	45	黄柏
M01458	黄连碱 (coptisine)	30.67	0.86	18	黄柏
M02636	苦参内酯 A (kihadalactone A)	34.21	0.82	0	黄柏
M02641	phellavin_qt	35.86	0.44	11	黄柏
M02643	δ -7-豆甾醇 (δ 7-stigmastenol)	37.42	0.75	3	黄柏
M02644	珊瑚菜内脂 (phellopterin)	40.19	0.28	19	黄柏
M02651	去氢丹参酮 II _A (dehydrotanshinone II _A)	43.76	0.40	26	黄柏
M02652	δ -7-脱氢槐胺碱 (δ 7-dehydrosophoramine)	54.45	0.25	0	黄柏
M02656	双氢青霉素 (dihydroniloticin)	36.43	0.81	2	黄柏
M02659	基哈丹昔 A (kihadanin A)	31.60	0.70	0	黄柏
M02660	niloticin	41.41	0.82	2	黄柏
M02662	吴茱萸次碱 (rutaecarpine)	40.30	0.60	26	黄柏
M02663	茵芋碱 (skimmianin)	40.14	0.20	13	黄柏
M02666	白屈菜赤碱 (chelerythrine)	34.18	0.78	16	黄柏
M02668	甲基黄连碱 (worenine)	45.83	0.87	13	黄柏
M02670	咖维定 (cavidine)	35.64	0.81	38	黄柏
M02671	candletoxin A	31.81	0.69	0	黄柏
M02672	雌烯酮 H (hericenone H)	39.00	0.63	0	黄柏
M02673	西吡啶酮 (hispidone)	36.18	0.83	3	黄柏
M13352	黄柏酮 (obacunone)	43.29	0.77	0	黄柏
M04554	丁二酸 (succinic acid)	29.62	0.01	4	栀子
M00511	熊果酸 (ursolic acid)	16.77	0.75	27	栀子
M00764	木兰花碱 (magnoflorine)	26.69	0.55	23	黄柏
M02642	黄柏碱 (phellodendrine)	2.61	0.58	31	黄柏
M02560	白杨素 (chrysin)	22.61	0.18	21	黄芩
M02931	野黄芩苷 (scutellarin)	2.64	0.79	2	黄芩
M00008	芹菜素 (pelargidenon)	23.06	0.21	39	黄芩
M00360	阿魏酸 (ferulic acid)	39.56	0.06	19	黄连
M00789	药根碱 (jatrorrhizine)	64.60	0.65	22	黄连
M01457	非洲防己碱 (columbamine)	26.94	0.59	26	黄连
M02898	格陵兰碱 (groenlandicine)	28.42	0.72	23	黄连

黄连解毒汤中含有的候选化合物分子可能作用于整个生物网络系统,体现了黄连解毒汤多成分与多靶点之间共同作用的机制,同时也符合中药复方的特点。

2.3 PPI 网络

为了进一步揭示黄连解毒汤对高血压的药理机制,需利用 Cytoscape 3.2.1 软件 (<http://www.cytoscape.org/>) 中 Bisogenet 插件,将由 4 947 个节点和 124 882 个边组成的化合物 PPI 与由 6 397 个节点和 152 699 个边组成的疾病 PPI 相交,得到 1 个由 3 487 个节点和 99 335 个边组成的网络(图 2)

Bisogenet 插件对网络中所有点的拓扑参数(度、介度中心度和接近中心度)进行分析,选择靶点中每个靶点的度拓扑参数值大于中位数 2 倍作为筛选核

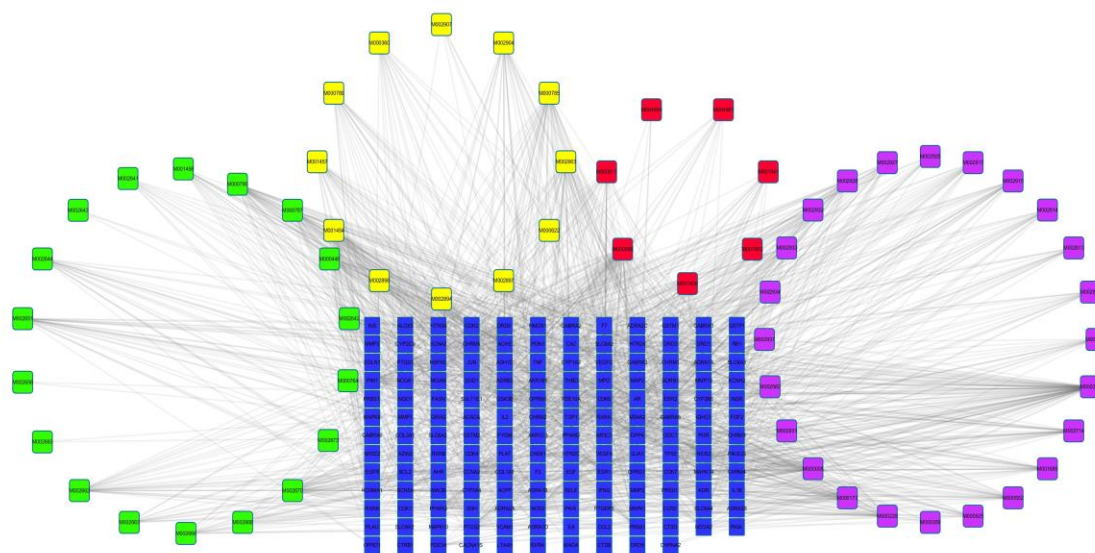


图 1 黄连解毒汤化合物-靶点网络

Fig. 1 Compound-target network of Huanglian Jiedu Decoction

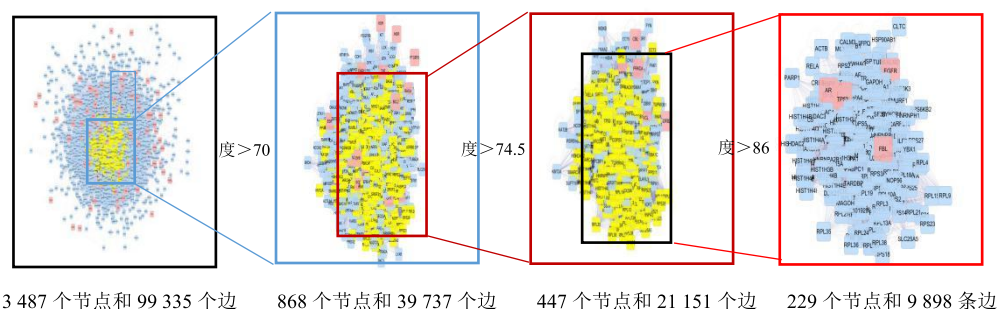


图 2 网络拓扑分析

Fig. 2 Network topology analysis

心靶点的条件,初步得到 868 个节点和 39 737 个边组成的网络,二次筛选以中位度 >74.5 得到 447 个节点和 21 151 个边组成的网络,最后以中位度 >86 进一步筛选,构建了 1 个具有 229 个节点和 9 898 条边的黄连解毒汤与高血压靶点网络。

2.4 GO 功能富集分析

利用 DAVID 平台进行 GO 功能富集分析,对黄连解毒汤 PPI 网络中涉及的 229 个核心靶点(表 2)在基因功能中的作用进行了研究。根据错误发现率(FDR)确定了 118 个 GO 条目(FDR <0.05),其中生物过程相关的条目最多,有 59 个,主要涉及对靶向膜的蛋白翻译、核转录 mRNA 分解过程、RNA 聚合酶 II 启动子对转录的调节作用、信号转导的调节作用、细胞质翻译、基因沉默调控、调节细胞反应等方面;分子功能相关的条目 31 个,主要涉及受体活性、蛋白结合、聚(A) RNA 结合、神

经递质结合等方面;细胞组成相关的条目 28 个,主要涉及细胞组分、细胞质膜等方面。表 3 根据 FDR 列出前 20 个。

2.5 KEGG 分析

利用 David 平台(<https://david-d.ncifcrf.gov/home.jsp>)对筛选出的核心靶点蛋白进行 KEGG 通路富集分析,共获得 45 条富集结果。其中 $P<0.05$,FDR <0.05 的前 20 条通路主要包括核糖体通路(ribosome)、乙醇代谢通路(alcoholism)、病毒致癌通路(viral carcinogenesis)、系统性红斑狼疮通路(systemic lupus erythematosus)、EB 病毒感染通路(epstein-barr virus infection)、肿瘤转录调控通路(transcriptional misregulation in cancer)、细胞循环通路(cell cycle)、前列腺癌通路(prostate cancer)、泛素介导的蛋白水解通路(ubiquitin mediated proteolysis)、剪接体通路(spliceosome)、雌激素信

表 2 拓扑分析 229 个核心靶点信息

Table 2 Information for 229 core targets of topological analysis

基因	度	介度中 心度	接近中 心度	基因	度	介度中 心度	接近中 心度	基因	度	介度中 心度	接近中 心度
SFPQ	52	0.001	0.562	XRCC5	63	0.002	0.577	NOP56	80	0.002	0.606
HIST1H4I	67	0.002	0.586	XPO1	81	0.003	0.605	VHL	94	0.005	0.626
CAND1	140	0.008	0.717	RPL14	114	0.003	0.667	CUL4B	86	0.003	0.616
H2AFX	76	0.003	0.597	CDC5L	69	0.002	0.586	MYC	54	0.002	0.564
CSNK2A1	59	0.002	0.571	CD81	67	0.002	0.583	PARP1	80	0.003	0.603
RPS27A	89	0.003	0.618	SNW1	56	0.001	0.567	DDX5	79	0.003	0.602
RPS27	80	0.001	0.603	MAP3K14	74	0.002	0.594	DDX3X	64	0.002	0.582
RPS26	91	0.001	0.625	HIST1H3F	90	0.003	0.620	NTRK1	132	0.008	0.699
RPS25	100	0.001	0.640	U2AF2	76	0.002	0.597	CSNK2A3	59	0.002	0.571
RPS24	95	0.001	0.632	MAP3K1	69	0.002	0.586	RPL36	91	0.002	0.625
RPS18	107	0.002	0.653	RPL35	96	0.002	0.633	CUL7	121	0.007	0.677
RPS20	105	0.002	0.650	MAP3K3	51	0.001	0.560	PRKDC	70	0.002	0.588
NEDD8	75	0.002	0.595	MDM2	68	0.002	0.585	EIF4A3	89	0.003	0.618
RPS23	98	0.001	0.637	MCM7	58	0.001	0.570	AURKA	63	0.002	0.577
RPS21	81	0.001	0.608	CEP250	91	0.003	0.625	STAU1	85	0.003	0.611
RUVBL2	60	0.002	0.573	HDAC3	53	0.001	0.562	BRCA1	71	0.003	0.589
RPL23	101	0.002	0.642	SLC25A5	66	0.001	0.585	BMI1	55	0.001	0.566
RPS19	102	0.002	0.640	MCM5	73	0.002	0.595	DDX21	65	0.002	0.583
RPS15A	105	0.002	0.646	MCM2	161	0.013	0.768	SMARCA4	56	0.001	0.567
RPS11	106	0.002	0.651	EZH2	62	0.002	0.576	COMMD3- BMI1	55	0.001	0.566
RPS14	121	0.004	0.681	RPL21	101	0.001	0.642	SRRM2	70	0.002	0.591
RPS16	114	0.003	0.667	EWSR1	68	0.002	0.585	APP	79	0.003	0.602
RPS12	91	0.001	0.625	RPL22	104	0.002	0.648	AR	42	0.001	0.548
RPS7	110	0.003	0.659	RPL19	115	0.003	0.669	HIST2H4A	67	0.002	0.586
RPS10	107	0.003	0.653	RPL18A	95	0.001	0.632	HIST1H4E	67	0.002	0.586
RPS13	102	0.001	0.644	RPL18	110	0.002	0.659	SUZ12	61	0.002	0.574
RPS8	127	0.004	0.693	RPL17	98	0.002	0.637	GAPDH	57	0.001	0.569
CREBBP	53	0.001	0.562	RPL15	106	0.002	0.651	RPL13A	92	0.001	0.626
RPS6KB2	50	0.001	0.562	RPL13	106	0.003	0.651	TUBB	69	0.002	0.589
RPS9	106	0.002	0.651	ESR1	131	0.010	0.697	HIST1H4J	67	0.002	0.586
RPS6	117	0.003	0.673	RPL10A	106	0.002	0.651	HIST1H4K	67	0.002	0.586
RPS5	101	0.002	0.642	RPL12	100	0.001	0.640	XRCC6	67	0.002	0.583
RPS4X	119	0.003	0.677	RPL11	109	0.002	0.657	HIST1H4B	67	0.002	0.586
RPS3A	123	0.004	0.685	RPL10	98	0.002	0.637	HIST1H4L	67	0.002	0.586
RPS3	125	0.004	0.689	FBL	73	0.002	0.595	HIST1H4A	67	0.002	0.586
RPLP1	80	0.001	0.603	RPL9	103	0.001	0.646	FUS	93	0.004	0.625
RPLP0	119	0.003	0.677	RPL8	102	0.002	0.644	SF3B1	64	0.002	0.582
RPS2	118	0.003	0.675	RPL7A	118	0.003	0.675	HIST1H3B	90	0.003	0.620
GRB2	76	0.003	0.597	RPL6	124	0.004	0.687	HIST1H4H	67	0.002	0.586
RPL37A	93	0.001	0.628	RPL3	106	0.002	0.651	HIST1H4C	67	0.002	0.586
PARK2	80	0.003	0.603	RPL5	116	0.002	0.667	YBX1	71	0.002	0.589
RPL38	79	0.001	0.602	RPL7	118	0.003	0.671	HIST1H3G	90	0.003	0.620
CUL5	107	0.004	0.653	RPA1	75	0.002	0.595	HIST1H3I	90	0.003	0.620
RPLP2	96	0.002	0.630	IKBKG	58	0.002	0.570	HIST1H4F	67	0.002	0.586
RPL31	110	0.003	0.659	RPL4	111	0.002	0.661	TARDBP	104	0.004	0.644
YWHAZ	109	0.005	0.653	RPA2	69	0.002	0.589	HIST1H4D	67	0.002	0.586
RPL27A	102	0.002	0.644	RPA3	65	0.001	0.580	HIST1H3D	90	0.003	0.620
RPL30	89	0.001	0.621	RNF2	107	0.007	0.650	HIST1H3A	90	0.003	0.620
RPL27	96	0.002	0.633	NCL	97	0.004	0.632	HIST1H3H	90	0.003	0.620
FLNA	60	0.002	0.573	HNRNPM	91	0.003	0.625	HIST1H3J	90	0.003	0.620
YWHAH	81	0.003	0.605	CUL1	147	0.010	0.733	COPS5	146	0.010	0.731
RPL23A	107	0.002	0.653	DHX9	90	0.003	0.620				

续表 2

基因	度	介度中 心度	接近中 心度	基因	度	介度中 心度	接近中 心度	基因	度	介度中 心度	接近中 心度
RPL24	124	0.005	0.687	CUL2	113	0.006	0.665	HDAC2	62	0.002	0.576
YWHAG	63	0.001	0.577	CUL3	157	0.012	0.757	SMURF1	66	0.002	0.582
CDK2	125	0.007	0.685	CUL4A	68	0.002	0.585	HIST1H3E	90	0.003	0.620
HDAC1	61	0.002	0.574	HDAC5	93	0.004	0.625	HSPA1A	61	0.002	0.577
YWHAQ	80	0.003	0.603	EED	113	0.007	0.661	HSPA1B	61	0.002	0.577
NPM1	160	0.012	0.765	ILF3	112	0.005	0.663	RELA	42	0.001	0.548
HIST1H3C	90	0.003	0.620	ILF2	98	0.004	0.637	TRAF6	47	0.001	0.555
EP300	72	0.003	0.591	DDX17	65	0.002	0.580	RPSA	104	0.003	0.648
MAGOH	69	0.002	0.586	SYNCRIP	63	0.001	0.580	HIST2H4B	67	0.002	0.586
VCP	78	0.002	0.600	LOC101929876	91	0.001	0.625	TP53	128	0.009	0.691
VCAM1	122	0.006	0.679	ARRB1	61	0.002	0.577	CALM3	52	0.001	0.562
ACTB	56	0.001	0.567	RACK1	93	0.004	0.625	IKBKE	45	0.001	0.552
SIRT7	100	0.005	0.640	PABPC1	95	0.003	0.628	CALM1	52	0.001	0.562
CTNNB1	45	0.001	0.555	ARRB2	85	0.004	0.615	RAD21	76	0.003	0.600
HNRNPR	63	0.001	0.580	ICAM1	75	0.002	0.595	CALM2	52	0.001	0.562
UBE2I	55	0.002	0.566	HSP90AB1	87	0.003	0.615	EGFR	71	0.003	0.589
CLTC	51	0.001	0.560	HSP90AA1	89	0.003	0.618	FBXO6	82	0.003	0.610
TRIM28	65	0.002	0.580	HSPD1	68	0.002	0.585	HNRNPU	135	0.006	0.710
HIST4H4	67	0.002	0.586	HSPA9	59	0.001	0.574	EEF1A1	114	0.005	0.663
UBC	91	0.004	0.621	HSPA8	87	0.003	0.615	HNRNPK	84	0.003	0.610
TUBG1	82	0.003	0.606	CCDC8	95	0.004	0.628	HNRNPH1	63	0.001	0.580
ITGA4	128	0.007	0.691	HSPA5	97	0.004	0.632	HNRNPA2B1	65	0.001	0.580
HUWE1	88	0.003	0.616	PAN2	110	0.006	0.659	HNRNPD	62	0.001	0.576
HDAC6	49	0.001	0.557	HSPA4	60	0.002	0.576	HNRNPA1	107	0.004	0.650
FN1	145	0.010	0.728	OBSL1	102	0.005	0.640				

表 3 黄连解毒汤 PPI 网络中的 GO 条目 (FDR<0.05)

Table 3 GO entries in PPI network of Huanglian Jiedu Decoction (FDR < 0.05)

类别	GO 编号	名称	基因数	FDR
生物过程	0006614	SRP-dependent cotranslational protein targeting to membrane	64	1.65×10^{-94}
生物过程	0000184	nuclear-transcribed mRNA catabolic process, nonsense-mediated decay	67	4.53×10^{-91}
分子功能	0044822	poly(A)RNA binding	131	1.13×10^{-89}
生物过程	0019083	viral transcription	64	3.39×10^{-87}
生物过程	0006413	translational initiation	66	1.59×10^{-83}
生物过程	0006364	rRNA processing	68	2.52×10^{-71}
细胞组成	0005840	ribosome	59	1.82×10^{-66}
生物过程	0006412	translation	68	9.31×10^{-66}
分子功能	0003735	structural constituent of ribosome	64	8.02×10^{-64}
细胞组成	0005654	nucleoplasm	150	7.85×10^{-64}
细胞组成	0016020	membrane	133	1.33×10^{-59}
细胞组成	0022625	cytosolic large ribosomal subunit	36	3.79×10^{-46}
细胞组成	0031012	extracellular matrix	53	7.48×10^{-42}
细胞组成	0005925	focal adhesion	58	1.49×10^{-41}
细胞组成	0005829	cytosol	136	5.89×10^{-41}
细胞组成	0022627	cytosolic small ribosomal subunit	29	1.55×10^{-38}
分子功能	0005515	protein binding	211	5.48×10^{-37}
生物过程	0032200	telomere organization	24	1.02×10^{-36}
生物过程	0045814	negative regulation of gene expression, epigenetic	29	1.09×10^{-36}
细胞组成	0070062	extracellular exosome	120	9.33×10^{-36}

号转导通路 (estrogen signaling pathway)、乙型肝炎 (hepatitis B)、卵母细胞减数分裂通路 (oocyte meiosis)、甲状腺激素通路 (thyroid hormone signaling pathway)、神经营养素信号转导通路 (neurotrophin signaling pathway)、MAPK 信号通路 (MAPK signaling pathway)、DNA 复制通路 (DNA replication)、军团杆菌病通路 (legionellosis)、慢性骨髓白细胞血症 (chronic myeloid leukemia)、HIF-1 信号通路 (HIF-1 signaling pathway)。表明黄连解毒

汤的有效成分可能通过作用于这些信号通路达到治疗疾病的目的。并通过 Omicshare (<http://www.omicshare.com/tools/index.php/>) 对富集分析结果进行可视化处理 (图 3)。其中, Y 轴代表 pathway 名称, X 轴代表富集因子 (richfactor, 即目标基因中属于这个 pathway 的基因的数量/背景基因集中这个 pathway 所有基因的数量), 气泡面积大小代表目标基因集中属于这个 pathway 的基因数量, 气泡颜色代表富集显著性, 即 P 值的大小。

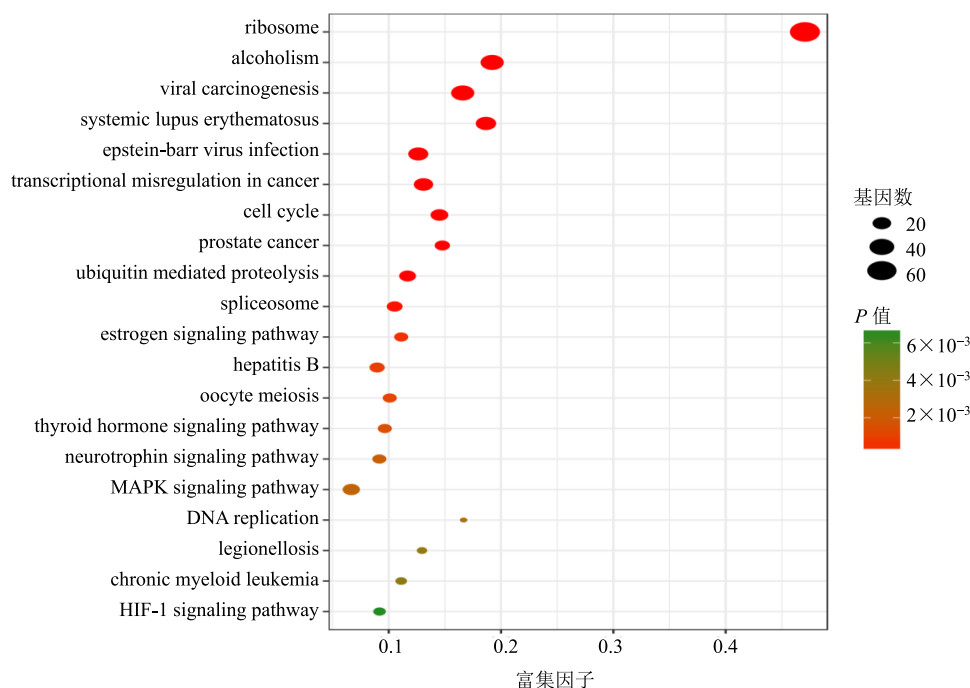


图 3 KEGG 机制分析

Fig. 3 Mechanism analysis by KEGG

3 讨论

中药复方药味多, 成分复杂, 具有多成分、多靶点、协同作用的特点, 复方作用机制和配伍机制较难分析, 网络药理学提供了一种系统层次的方法来了解疾病的发病机制, 其研究策略的整体性和系统性的特点与中医药整体观与辨证论治的原则不谋而合, 可用于发现先导化合物、识别靶标和预测适应症^[21]。黄连解毒汤为泻火解毒名方, 临床应用历史悠久。本研究采用网络药理学方法, 构建了“成分-靶点与疾病-靶点”交互网络图, 筛选出黄连解毒汤的 61 个潜在活性成分和 228 个共同作用蛋白, 45 条通路与高血压有关, 这些结果反映了黄连解毒汤在高血压方面的作用机制。

通过网络拓扑学分析网络中存在的关键节点, 表明黄连解毒汤中的活性成分可能通过调控某些关

键靶标而对高血压疾病发挥治疗作用。其中栀子、黄芩、黄柏中均含有 M000358 (β -谷甾醇), 其有最多的潜在靶标 (84 个), 动物实验表明 β -谷甾醇能够降低高血脂大鼠血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG), 抑制脂质过氧化, 调节脂质代谢, 预防动脉粥样硬化, 其对渗出也有一定的抑制作用^[22], 其抗炎作用机制可能是抑制前列腺素 E_2 (PGE_2)、缓激肽、组胺、5-羟色胺 (5-HT) 等炎症介质的活性, 抑制游离细胞游走^[23]。栀子中含有 M000098 (槲皮素), 有 78 个潜在靶标, 槲皮素能通过激活血管平滑肌细胞钙激活钾通道, 引起平滑肌细胞内 K^+ 外流以及胞膜超极化, 抑制血管平滑肌细胞 Ca^{2+} 内流及细胞内 Ca^{2+} 库的释放, 实现舒张血管、降低血压效应的途径^[24]。黄连、黄柏中成分 M000785 (巴马汀) 与抑制炎症反应密切相关, 抑制疾病发生期间病变

部位的炎症因子表达,减少炎症细胞的浸润^[25]。

在网络中,化合物靶点雌激素受体蛋白(ESR1)拥有60个相互作用配体。雌激素对心血管功能取决于编码雌激素受体(ER)的基因ESR1和ESR2,分别编码了ER α 和ER β 。ER α 参与血管舒张、刺激新血管的形成、心肌细胞凋亡,在对心脏的保护上发挥了比ER β 更为重要的作用^[26-27]。性激素受体包括雄激素受体(AR)和雌激素受体(ER) α 和 β ,均在重要的血管组织如血管内皮细胞和血管平滑肌细胞中表达。AR拥有59个相互作用配体,是雄激素作用的中介物质,雄激素通过与AR结合而发挥其功能,若无AR,则雄激素对组织无刺激反应。王晓慧等^[28]的研究显示雄激素水平升高可促进高盐饲喂的雄性大鼠血压升高和内皮功能受损,而低水平雄激素的作用相反,这种作用可能是通过AR途径进行的。二肽基肽酶IV(DPP4)拥有53个相互作用的配体,DPP4抑制剂可以保护心血管系统。有研究表明,造血干细胞(HSC)的激活与慢性压力与脑和心血管疾病的发生有密切关系,DPP4抑制剂是通过对ADRB3/CXCL12依赖介导的GLP-1/GLP-1R轴的抑制,而抑制HSC的活化,从而减轻外周血炎症因子的聚集引起的炎症反应^[29]。前列腺素G/H合酶2(PTGS2)拥有53个相互作用配体,PTGS2又称为环氧化酶(COX-2),COX-2是花生四烯酸代谢过程中调节前列腺素合成的限速酶,主要引起炎症反应^[21]。一氧化氮合酶2(NOS2)拥有53个相互作用配体,而一氧化氮合酶(NOS)是一氧化氮(NO)生物合成的关键酶,主要分布于血管内皮细胞、神经细胞、血管平滑肌细胞和血小板。NO作为内皮源性的血管扩张因子,可能是脑过度灌注综合征中导致自主调节机制受损的调节物,其能使血管扩张并能提高脑血管的渗透性,从而使脑血管的自主调节受损或功能储备缺失,使脑血流随着血压的改变而改变,即出现了过度灌注现象^[30]。

黄连解毒汤的KEGG通路富集结果表明,其绝大部分基因富集在核糖体通路、乙醇代谢通路、细胞循环通路、前列腺癌通路、雌激素信号转导通路、卵母细胞减数分裂通路、甲状腺激素通路、神经营养素信号转导通路、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路、DNA复制等通路。表明黄连解毒汤的可能通过上述信号通路在高血压疾病中发挥治疗作用,值得进一步研究。初步揭示了其在高血压疾病方面的多成分、多途径、多靶点协同作用的复杂机

制过程,以期为其有效成分和作用机制及临床应用奠定基础。

参考文献

- [1] 刘龙珠,贺熙,徐曼,等. 高血压免疫机制的研究进展[J]. 生理科学进展, 2016, 47(4): 255-259.
- [2] Kearney P M, Whelton M, Reynolds K, et al. Global burden of hypertension: Analysis of worldwide data [J]. *Lancet*, 2005, 365(9455): 217-223.
- [3] 韩学杰,朱妍,陈捷,等. 原发性高血压痰瘀互结、毒损心络中医证类的临床流行病学调查研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2008, 14(6): 453-455.
- [4] 张志伟,岳桂华,张爱珍. 黄连解毒汤对自发性高血压大鼠血压和炎症因子的影响[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(7): 1627-1629.
- [5] 刘磊,姜鹏,窦圣姗,等. 黄连解毒汤的化学及药理学研究进展[J]. 中草药, 2008, 39(6): 935-938.
- [6] 刘磊,姜鹏,窦圣姗,等. 黄连解毒汤的化学及药理学研究进展[J]. 中草药, 2008, 39(6): 935-938.
- [7] 邓冬,王伟,李雪丽,等. 中药复方治疗高血压机制的研究进展[J]. 中草药, 2017, 48(21): 4565-4570.
- [8] 鄢丹,肖小河. 基于道地药材和生物测定的中药质量控制模式与方法研究—黄连质量生物测定[J]. 药学报, 2011, 46(5): 568-572.
- [9] Zhang Y Q, Mao X, Guo Q Y, et al. Network pharmacology-based approaches capture essence of Chinese herbal medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8(2): 107-116.
- [10] Liu C X, Liu R, Fan H R, et al. Network pharmacology bridges traditional application and modern development of traditional Chinese medicine [J]. *Chin Herb Med*, 2015, 7(1): 3-17.
- [11] 刘志华,孙晓波. 网络药理学: 中医药现代化的新机遇[J]. 药学报, 2012, 47(6): 696-703.
- [12] 陈瑶. 关黄柏药材化学特性与环境因子的相关性研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2017.
- [13] 陈红英. 黄连化学成分分离及其降糖活性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2012.
- [14] 魏世超,徐丽君,邹欣,等. 黄连有效成分及其组合对荷糖小鼠胰岛素和胰高血糖素样肽1(GLP-1)分泌影响的初步研究[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(14): 1343-1347.
- [15] 周英. 绿原酸、咖啡酸、阿魏酸干预补体旁路激活致内皮细胞炎症反应的研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2016.
- [16] 刘玉,柴俊雯,张亚亚,等. 四倍体黄芩新品系D20和二倍体黄芩化学成分的比较研究[J]. 中药材, 2017, 40(2): 284-289.

- [17] 刘海鸥. 滇黄芩化学成分及药理活性研究 [D]. 昆明: 云南中医学院, 2016.
- [18] 隋海霞. 芹菜素安全性和降血压作用及其机制的实验研究 [D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2009.
- [19] 刘素娟, 张现涛, 王文明, 等. 水栀子化学成分的研究 [J]. 中草药, 2012, 43(2): 238-241.
- [20] 刘 双, 毛汉文, 刘佩文, 等. 熊果酸对高血压大鼠心肌纤维化及 p38 活化的影响 [J]. 内科急危重症杂志, 2016, 22(1): 64-67.
- [21] 覃芳敏. 水栀子化学成分研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2014.
- [22] 刘鑫馗, 吴嘉瑞, 蔺梦娟, 等. 基于网络药理学的四君子汤作用机制分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(16): 194-202.
- [23] Li M, Zhou L, Yang D, *et al.* Biochemical composition and antioxidant capacity of extracts from *Podophyllum hexandrum* rhizome [J]. *BMC Compl Alter Med*, 2012, doi: 10.1186/1472-6882-12-263.
- [24] Li W H, Chang S T, Chang S C, *et al.* Isolation of antibacterial diterpenoids from *Cryptomeria japonica* bark [J]. *Nat Prod Res*, 2008, 22(12): 1085-1093.
- [25] 陈 辉, 赵文强, 刘应才, 等. 槲皮素对原发性高血压患者肠系膜动脉平滑肌细胞钙激活钾通道活性的影响 [J]. 中华高血压杂志, 2008, 16(8): 707-711.
- [26] 余秀婷. 广藿香和黄连主要活性成分抗炎症性肠病的作用和机制探讨 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.
- [27] 马波江, 曹 晔, 朱 艳. 雌激素受体基因与微小RNA在冠心病中的相关性 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(16): 4481-4483.
- [28] 王晓慧. 雄激素对高盐饮食下大鼠血管内皮的影响及相关机制的探讨 [D]. 苏州: 苏州大学, 2013.
- [29] 朱恩波. 二肽基肽酶-4 抑制剂在慢性压力诱导下对造血干细胞的影响 [D]. 延吉: 延边大学, 2016.
- [30] 贾 宾, 肖 玮, 王天龙, 等. 一氧化氮合酶在大鼠脑过度灌注损伤中不同部位的表达及机制 [J]. 中华医学杂志, 2016, 96(6): 468-471.