

基于网络药理学和动物实验探讨平潜补利汤对高血压的治疗作用

牛振超^{1,2}, 林文勇^{1,2}, 芦瑞霞^{1,2}, 李益萍^{1,2}, 王丹^{1,2}, 王肖龙^{1,2*}

(1. 上海中医药大学附属曙光医院, 国家中医心血管病临床医学研究中心分中心, 上海 201203; 2. 上海中医药大学附属曙光医院心血管病研究所, 上海 201203)

摘要: 目的 基于网络药理学和动物实验探讨平潜补利汤治疗高血压的作用机制。方法 通过药物靶点预测网站并查阅文献检索平潜补利汤的化学成分和作用靶点, 利用疾病数据库检索高血压靶点, 将两者靶点取交集, 构建中药-成分-靶点网络图、蛋白-蛋白互作网络 (PPI), 并进行 GO 功能、KEGG 通路富集分析, 最后通过分子对接验证。使用平潜补利汤干预自发性高血压大鼠以验证其疗效和机制。结果 平潜补利汤治疗高血压涉及 84 个药物靶点, 山柰酚、谷甾醇、槲皮素、β-胡萝卜素等成分作用最大, ALB、IL6、VEGFA、Myc、caspase-3 为关键靶点, 主要富集的通路中与高血压相关性较大的为 TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、凋亡信号通路等。平潜补利汤干预 12 周后, 自发性高血压大鼠血压降低, 心脏和胸主动脉病理形态学改善, 胸主动脉中 VEGFA、ALB mRNA 表达和 PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达升高 (P<0.05), IL6、caspase-3、Myc mRNA 表达降低 (P<0.05)。结论 平潜补利汤可以降低自发性高血压大鼠血压, 改善心肌和胸主动脉重构, 其机制可能是与上调 ALB、VEGFA mRNA 表达, 下调 IL6、Myc、caspase-3 mRNA 表达, 进而激活 PI3K-Akt 信号通路有关。

关键词: 平潜补利汤; 高血压; 网络药理学; 分子对接; PI3K-Akt 信号通路

中图分类号: R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)04-1345-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.055

高血压是过早死亡和致残的可控危险因素, 与心肌梗死、心力衰竭、缺血性或出血性中风以及终末期肾脏疾病的风险增加密切相关^[1-2]。2013 年至 2014 年我国流行病学调查显示, 27.8% 的成年人患有高血压, 较 2002 年的发病率 (18.8%) 增加 32%, 给我国医疗系统带来巨大的负担^[3]。平潜补利汤是上海中医药大学附属曙光医院心血管内科王肖龙教授的经验方, 在临床诊疗过程中发现具有良好的降压疗效。

本研究通过筛选平潜补利汤中的有效成分及高血压的治疗靶点, 建立中药-有效成分-靶点网络, 并进行 GO 功能、KEGG 通路富集分析, 再通过给予自发性高血压大鼠平潜补利汤验证相关作用机制。

1 材料与方法

1.1 网络药理学

1.1.1 有效成分收集与作用靶点筛选 平潜补利汤由白术、茯苓、钩藤、刺蒺藜、黄芪、牛膝、天麻、杜仲、夏枯草、泽泻 10 味药材配伍而成。利用 TCMSP 数据库 (<http://tcmsp.com>) 检索平潜补利汤的有效活性成分, 并筛选口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (DL) \geq

0.18 者及其作用靶点, 通过文献对具有较强活性 (但不能同时满足 OB、DL 筛选条件) 的成分进行补充。UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 将预测的靶点蛋白名转换为基因名。

1.1.2 高血压靶点筛选 以“hypertension”为检索词, 利用 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、人类孟德尔遗传 (OMIM) 数据库 (<http://www.omim.org/>) 检索疾病靶点, 剔除重复数据, 使用维恩图对中药活性成分靶点以及高血压靶点取交集。

1.1.3 中药-成分-靶点网络构建 将筛选出的中药活性成分、作用靶点、药物信息等通过 Cytoscape 3.7.1 软件构建中药-成分-靶点网络图, 依据“Network Analyzer”板块相关的度值、紧密度等拓扑数据进行网络拓扑学分析。

1.1.4 GO 功能、KEGG 通路富集分析 使用 R 包“ClusterProfiler”^[4]对交集基因进行功能注释, P 值、q 值均小于 0.05 的 GO、KEGG 富集通路被认为是显著性类别。

1.1.5 蛋白-蛋白互作网络 (PPI) 构建 PPI 数据来自 String 数据库 (<https://string-db.org/>), 物种限定为 “Homo sapiens”, 置信度 > 0.4 , 隐藏游离节点, 其余参数保

收稿日期: 2022-11-10

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81573647, 82074222); 上海市中医临床重点实验室项目 (14DZ2273200); 上海市科委引导类项目 (19401934300); 上海市卫健委中医药事业发展三年行动计划 [ZY (2018-2020) -CCCX-2003-07]; 上海市临床重点专科项目 (shslczdk05301)

作者简介: 牛振超 (1994—), 男, 博士生, 研究方向为中西医结合治疗心血管疾病。Tel: 19821727258, E-mail: 1143566264@qq.com
* 通信作者: 王肖龙 (1965—), 男, 硕士, 教授, 研究方向为中西医结合治疗心血管疾病。Tel: 13501991450, E-mail: wxlqy0214@

持不变,文件导出为TSV格式。将TSV文件导入Cytoscape 3.7.1,利用NetworkAnalyzer插件进行拓扑学分析,依据节点度值大小构建PPI网络,进行可视化分析。

1.1.6 分子对接验证 将中药-成分-靶点网络图中Degree值大于20的有效成分与PPI网络中Degree值位于前五的靶点进行分子对接,从Pubchem(pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)下载有效成分的3D结构,再使用ChemBio3D转换成.mol文件。通过PDB数据库(www1.Rcsb.org)得到核心靶点的pdb结构文件,再使用Pymol软件去除核心靶点的pdb结构文件中的水分子和小分子配体得到蛋白受体文件,接着导入AutoDockTools 1.5.6软件计算每对小分子配体和蛋白受体文件最佳结合的区域,通过AutoDock Vina软件进行半柔性分子对接计算得到每对小分子和作用靶点的亲和力值,使用Pymol软件绘制有效成分与靶点的结合构像图,并标注出结合位点。

1.2 动物实验

1.2.1 动物 8周龄SPF级自发性高血压大鼠12只,SD大鼠6只,雄性,体质量160~180g,均购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产证号SCXK(京)2020-0011,饲养于上海中医药大学动物实验中心,实验动物使用许可证号SYXK(沪)2020-0009,饲养环境为SPF级,温度20℃,相对湿度50%~65%,光暗循环12h/12h,实验前适应性喂养2周。所有实验方案均按照上海中医药大学实验动物伦理委员会的规定进行(伦理号PZSHTUCM220110013)。

1.2.2 试剂与药物 平潜补利汤中药配方颗粒(江阴天江药业有限公司,批号2109321)。BCA蛋白浓度检测试剂盒、SDS-PAGE凝胶快速配制试剂盒、蛋白Marker、Western一抗二抗洗脱液(上海碧云天生物技术有限公司,批号0701018181104、P0012AC、061418181119、P0025-250mL);RNA抽取试剂盒、HiScript III RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)试剂盒、Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix试剂盒(南京诺唯赞生物科技有限公司,批号RC112、R323-01、Q712-02/03);GAPDH(美国Proteintech公司,批号051201);PI3K、p-Akt(Ser473)、Akt抗体(美国CST公司,批号17366、4060、4691);二抗(合肥白鲨生物科技有限公司,批号69110200);RT-qPCR引物[生工生物工程(上海)股份有限公司,批号H001]。

1.2.3 仪器 VIVID彩色心脏多普勒超声仪(美国GE公司);SDS-PAGE电泳仪、湿转转膜仪(美国Bio-Rad公司);5430R型高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司);BP-2006A大鼠无创尾动脉血压计(北京软隆生物技术有限公司);StepOne Plus实时荧光定量PCR仪(美国Applied Biosystems公司)。

1.2.4 平潜补利汤制备和给药 本研究所使用的中药配方颗粒组成相当于中药汤剂剂量(天麻10g、钩藤12g、夏枯草15g、刺蒺藜10g、泽泻30g、牛膝12g、杜仲10g、黄芪20g、白术12g、茯苓12g),充分溶于96mL蒸馏水

中,得到1.5g/mL原液,按大鼠与人的给药剂量换算,大鼠给药剂量为15g/kg。各组大鼠适应性喂养2周后随机分为3组,平潜补利汤组、模型组为自发性高血压大鼠各6只,分别灌胃给予平潜补利汤原液、蒸馏水;空白组为SD大鼠6只,不予以任何处理。各组大鼠均于给药后12周处死。

1.2.5 大鼠尾动脉血压测量 参照课题组前期研究方案^[5],使用大鼠无创尾动脉血压计测量大鼠血压,固定每周的某天上午8:00至10:00进行,每周1次,每只5次,取平均值,连续12周,收缩压(SBP)≥140mmHg(1mmHg=0.133kPa)者符合实验要求。

1.2.6 心脏彩超检查 采用彩色心脏多普勒超声仪,通过二维和M型超声,Teich法测定连续3个以上心动周期的左室射血分数(LVEF)、舒张末期室间隔厚度(IVSd)、左室舒张末期内径(LVIDd)、左室收缩末期内径(LVIDs)、左后室壁舒张末期厚度(LVPWd)。

1.2.7 心脏和胸主动脉组织病理学形态观察 采用4%多聚甲醛固定各组大鼠的胸主动脉和心脏组织,经石蜡包埋、切片、HE染色后,在显微镜下观察各组大鼠胸主动脉和心脏组织病理学形态改变。

1.2.8 RT-qPCR法检测胸主动脉中相关基因mRNA表达 使用RNA抽取试剂盒分离胸主动脉中总RNA,HiScript III RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)试剂盒进行逆转录,反应体系为20μL;使用Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix试剂盒进行qPCR反应,重复3次,以GAPDH为内参,采用2^{-ΔΔCT}法进行相对定量分析。引物序列见表1。

表1 引物序列

基因	引物序列
ALB	正向5'-CGATACACCCAGAAAGCACCTCAG-3' 反向5'-TAGTCTTCCACACAGGGCAGTCTC-3'
IL6	正向5'-ACTTCCAGGCCAGTGCCTCTTG-3' 反向5'-TGGTCTGTTGTGGTGGTATCCTC-3'
caspase-3	正向5'-GCGGTATTGAGACAGACAGTGGAAC-3' 反向5'-AACCATGACCCGCTCCCTGAATTTC-3'
VEGFA	正向5'-CACAAAGCCAGCACATAGGAGAG-3' 反向5'-CTGCGGATCTTGGACAAACAAATGC-3'
Myc	正向5'-AGCAGCGACTCTGAAGAAGAACAAAG-3' 反向5'-GGATGACCTGACTCGGACCTC-3'

1.2.9 Western blot法检测胸主动脉组织PI3K、p-Akt、Akt蛋白表达 取100mg大鼠胸主动脉组织,用含PMSF的RIPA裂解液裂解,研磨机充分研碎组织,在4℃、12000r/min条件下离心20min,收集上清,使用BCA蛋白测定试剂盒测定总蛋白浓度。SDS-PAGE电泳分离50μg变性后的总蛋白,转移到硝化纤维素膜上,5%脱脂奶粉溶液封闭膜1h,然后与一抗在4℃下孵育过夜,洗膜后与二抗在室温下孵育1h,采用化学发光法检测免疫反应条带。

1.2.10 统计学分析 通过SPSS 22.0软件进行处理,数

据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 符合正态性及方差齐性, 组间比较采用单因素方差分析; 不符合正态性和(或)方差齐性, 则组间比较使用非参数检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 活性化合物筛选与靶标预测 共筛选出 138 个有效化

合物, 其中白术 3 个, 刺蒺藜 8 个, 杜仲 24 个, 茯苓 6 个, 钩藤 31 个, 黄芪 16 个, 牛膝 16 个, 天麻 17 个, 夏枯草 10 个, 泽泻 7 个, 删除重复数据后, 最终有 123 个纳入进一步分析。从 TCMSP 数据库中获取 122 个平潜补利汤活性靶标, Degree 值 ≥ 16 者见表 2。

表 2 部分活性成分信息

编号	有效成分	Degree	OB/%	DL	来源中药
MOL000098	槲皮素 (quercetin)	78	46.43	0.28	杜仲、钩藤、黄芪、牛膝、夏枯草
MOL000422	山柰酚 (kaempferol)	38	41.88	0.24	杜仲、钩藤、黄芪、夏枯草
MOL002773	β 胡萝卜素 (beta-carotene)	28	37.18	0.58	杜仲
MOL000358	β -谷甾醇 (beta-sitosterol)	21	36.91	0.75	杜仲、钩藤、牛膝、夏枯草
MOL002714	黄芩苷元 (baicalein)	20	33.52	0.21	牛膝
MOL000173	汉黄芩素 (wogonin)	20	30.68	0.23	牛膝
MOL000378	黄芪异黄烷苷 (7-O-methylisomucronulatol)	19	74.69	0.30	黄芪
MOL000354	异鼠李素 (isorhamnetin)	19	49.6	0.31	黄芪
MOL008488	育亨宾 (yohimbine)	16	46.42	0.81	钩藤

2.2 高血压靶点筛选 以“hypertension”为关键词, 检索 GeneCards、OMIM 数据库, 共获取疾病靶点 2 827 个。高血压靶点与活性成分靶点的交集靶点为 84 个, 通过 Venny2.1.0 绘制 Venn 图, 见图 1。

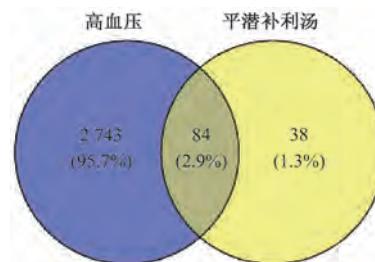


图 1 平潜补利汤活性成分靶点与高血压靶点交集 Venn 图

2.3 中药-成分-靶点网络构建 将 123 个活性化合物映射到 122 个对应的潜在靶标, 构建了中药-成分-靶点网络, 如图 2 所示, 网络由 339 个节点 (10 个中药节点、123 个有效化合物节点、122 个化合物相关目标节点) 和 1 417 个相互作用边组成。再筛选度值大于 20 的成分, 即山柰酚 (kaempferol)、 β -谷甾醇 (beta-sitosterol)、槲皮素 (quercetin)、 β -胡萝卜素 (beta-carotene)。

2.4 PPI 网络分析 通过 STRING 在线数据库分析 84 个交集靶点的蛋白互作关系, 并通过 Cytoscape 进行可视化, PPI 网络图见图 3。根据 Cytoscape 插件计算每个基因的平均连接度 (degree), 选取 degree 值排名前五的靶点作为关键靶点, 分别是白蛋白 (albumin, ALB)、白介素-6 (interleukin-6, IL6)、血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor, VEGFA)、原癌基因 (proto-oncogene, Myc)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (caspase-3)。

2.5 GO 功能、KEGG 通路富集分析 如图 4 所示, 主要的生物学过程为对类固醇激素的反应、氧化应激反应等, 主要的细胞组分为膜筏、膜微区等, 主要的分子功能为类固醇结合、RNA 聚合酶 II 转录因子结合等, 主要富集的 KEGG 通路包括 129 条信号通路。其中, 与高血压关联较大

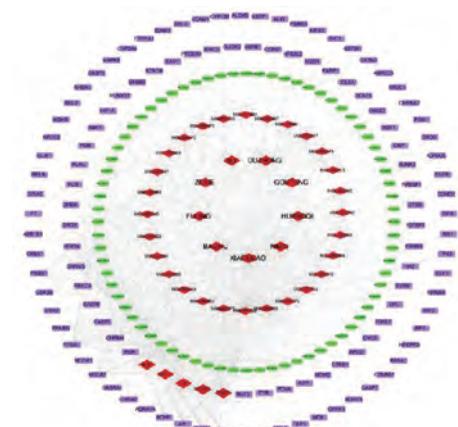


图 2 中药-成分-靶点网络图

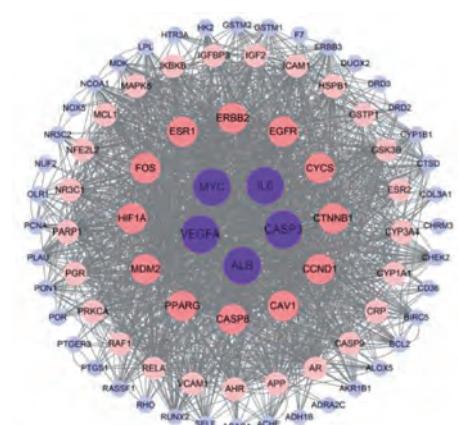


图 3 PPI 网络图

的为 TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、凋亡信号通路等。

2.6 分子对接分析 平潜补利汤中的核心有效成分山柰酚 (kaempferol)、 β -谷甾醇 (beta-sitosterol)、槲皮素 (quercetin)、 β -胡萝卜素 (beta-carotene) 等与 ALB、IL6、VEGFA、Myc、caspase3 等关键靶点的亲和力值大部分小于

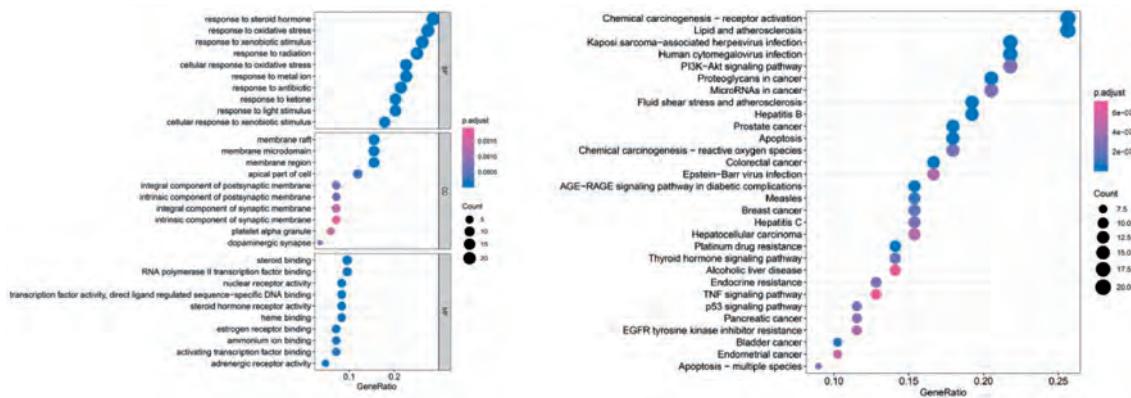


图4 GO功能、KEGG通路富集分析图

-5 kcal/mol, 说明这些有效成分与核心靶点结合稳固^[6], 能够改善或治疗高血压。选择亲和力值排名前六的关键蛋白

和活性分子绘制对接模式图, 见图5, 分子对接热图见图6。

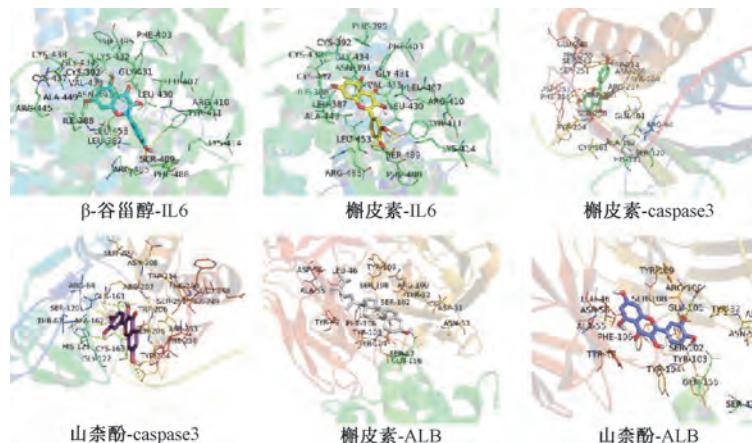


图5 平潜补利汤主要活性成分-关键靶标对接的可视化展示

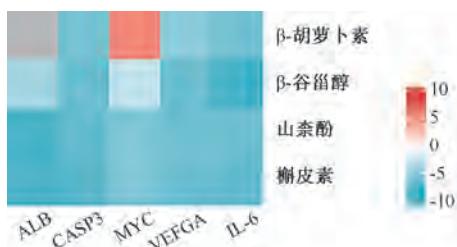
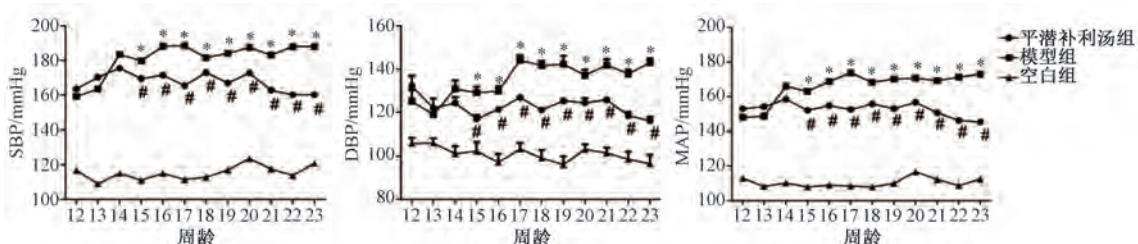


图6 分子对接热图



注: 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$ 。

图7 各组大鼠血压变化趋势图 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, $1 \text{ mmHg} = 0.133 \text{ kPa}$)

2.7.2 平潜补利汤对自发性高血压大鼠心功能的影响 如表3所示, 模型组 IVSd、LVIDd、LVPWd 均较空白组升高 ($P < 0.05$), 平潜补利汤组 IVSd、LVIDd 低于模型组 ($P <$

0.05), 3组 LVIDs 和 LVEF 无明显差异 ($P > 0.05$)。

2.7.3 平潜补利汤对自发性高血压大鼠心肌和胸主动脉组织病理学的影响 如图8A~8B所示, 与空白组比较, 模型

表3 各组大鼠心功能指标比较 ($\bar{x}\pm s$, n=6)

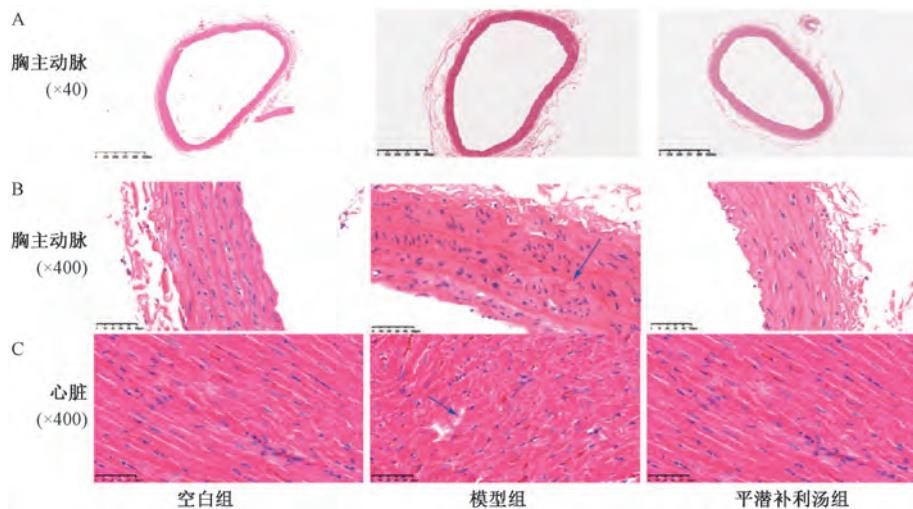
组别	LVEF/%	IVSd/mm	LVIDd/mm	LVIDs/mm	LVPWd/mm
空白组	94.67±2.80	1.67±0.17	5.48±0.34	2.40±0.61	4.69±0.50
模型组	91.17±3.97	2.29±0.33*	7.04±0.64*	2.81±0.81	6.61±0.93*
平潜补利汤组	90.80±1.30	1.89±0.20 [#]	6.36±0.25 [#]	2.63±0.24	6.11±0.32

注: 与空白组比较, *P<0.05; 与模型组比较, [#]P<0.05。

组大鼠胸主动脉内径增大, 中膜增厚, 弹力纤维走形不规则, 内膜不光滑, 内皮细胞不完整且排列无序, 胞体核小而深染、萎缩; 与模型组比较, 平潜补利汤干预后大鼠主动脉内径减小, 中膜厚度降低, 弹力纤维走行趋于规则, 内膜光滑, 细胞核基本恢复正常, 内皮细胞亦有不同程度

改善。

如图8C所示, 与空白组比较, 模型组大鼠心肌细胞细胞核深染、排列紊乱, 且部分心肌细胞水肿肥大; 平潜补利汤干预后, 大鼠心肌细胞形态趋于正常, 心肌形态学变化较模型组改善。

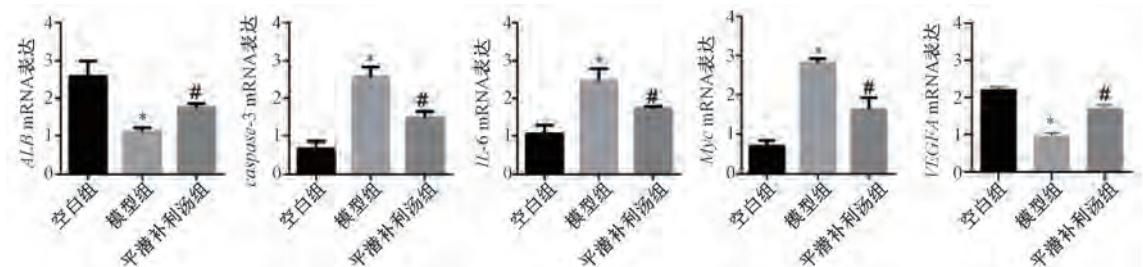


注: 黑色箭头代表弹力纤维走形不规则, 蓝色箭头代表心肌细胞排列紊乱伴见水肿。

图8 各组大鼠胸主动脉和心脏病理变化

2.7.4 平潜补利汤对自发性高血压大鼠胸主动脉 *ALB*、*caspase-3*、*IL-6*、*Myc*、*VEGFA* mRNA 表达的影响 如图9所示, 与空白组比较, 模型组 *ALB*、*VEGFA* mRNA 表达降低 ($P<0.05$), *caspase-3*、*IL-6*、*Myc* mRNA 表达升高 ($P<$

0.05); 与模型组比较, 平潜补利汤组 *ALB*、*VEGFA* mRNA 表达升高 ($P<0.05$), *caspase-3*、*IL-6*、*Myc* mRNA 表达降低 ($P<0.05$)。



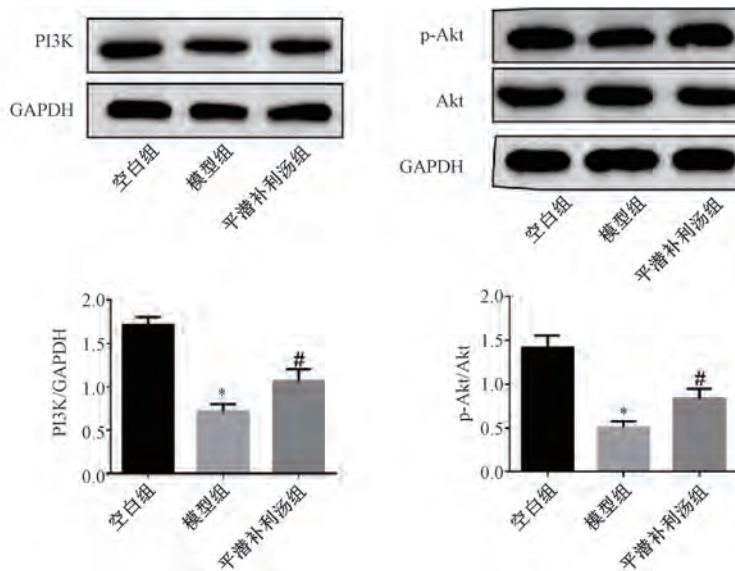
注: 与空白组比较, *P<0.05; 与模型组比较, [#]P<0.05。

图9 各组大鼠胸主动脉 *ALB*、*caspase-3*、*IL-6*、*Myc*、*VEGFA* mRNA 表达 ($\bar{x}\pm s$, n=3)

2.7.5 平潜补利汤对自发性高血压大鼠胸主动脉 PI3K-Akt 信号通路的影响 如图10所示, 与空白组比较, 模型组大鼠胸主动脉 PI3K 和 p-Akt/Akt 蛋白表达降低 ($P<0.05$), 表明 PI3K-Akt 信号通路可能处于抑制状态; 与模型组比较, 平潜补利汤组大鼠胸主动脉 PI3K 和 p-Akt/Akt 蛋白表达升高 ($P<0.05$), 表明平潜补利汤可以激活 PI3K-Akt 信号通路。

3 讨论

高血压是以体循环动脉血压增高, 伴或不伴有心、脑、肾等器官的功能或器质性损害的临床综合征^[7-8]。中医古籍中无“高血压”病名记载, 依据其症状可归为“眩晕”“头痛”范畴。经过长时间临床实践的中药方剂, 不仅可以降低血压、保护靶器官, 而且在提高生活质量和生存时间方面拥有较好的疗效^[9-10]。在过去的几十年里, 草药中的



注: 与空白组比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, # $P<0.05$ 。

图 10 各组大鼠胸主动脉 PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

天然化合物一直是新药研究和开发的主要方向之一, 特别是用于心血管疾病的预防和治疗^[11]。平潜补利汤由天麻钩藤饮化裁而来, 去除黄芩、栀子等清热泻火之药防止长期服用苦寒伤胃, 加用杜仲、黄芪等健脾补肾之药以补虚填髓。

本研究显示, 山柰酚、 β -谷甾醇、槲皮素、 β -胡萝卜素是平潜补利汤发挥药理作用的关键成分。山柰酚可以增加内皮细胞一氧化氮(NO)的释放、拮抗血管平滑肌中的钙离子通道, 进而降低血压^[12-16]。 β -谷甾醇具有抗炎、抗氧化应激的作用, 在抗高血压和保护靶器官过程中发挥关键作用^[17-19]。槲皮素在临幊上拥有确切的降压疗效, 可以改善内皮功能、抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)和调节血管平滑肌细胞(VSMC)的收缩^[20-23]。研究表明血清低水平的 β -胡萝卜素与高血压、冠状动脉疾病等发病相关, 超剂量 β -胡萝卜素治疗可以降低自发性高血压大鼠的血压^[24-25]。以上研究提示, 平潜补利汤治疗高血压的机制主要为抗炎、改善内皮功能、抑制RAAS系统等。

本研究发现 ALB、IL6、CASP3、VEGFA 和 Myc 可能是平潜补利汤治疗高血压的关键靶点。ALB 水平与血压呈正相关, 这可能来源于对 RAAS 系统的激活^[26-29]。IL-6 是一种促炎症因子, 介导炎症反应和内皮功能障碍, 在高血压及靶器官损害中发挥关键作用^[30-32]。caspase-3 是凋亡的关键酶, 在高血压的病理进程中同样扮演重要角色^[33-35]。VEGF 通过促进 NO 介导的血管舒张影响血压和靶器官, 血管紧张素转换酶抑制剂亦可以通过上调 VEGF 的表达发挥降压疗效^[36-38]。本研究还发现, 平潜补利汤可以上调大鼠胸主动脉 ALB、VEGFA mRNA 表达, 下调 IL6、caspase-3、Myc mRNA 表达, 说明平潜补利汤降低血压和改善重构的疗效源于抑制炎症反应和 RAAS 系统, 改善血管内皮功能,

减少心肌和血管内细胞凋亡等。

本研究通过网络药理学分析发现, PI3K-Akt 信号通路可能是平潜补利汤治疗高血压的潜在通路。有研究报道, PI3K-Akt 参与高血压所导致的内皮损伤、心肌重构和肾脏损伤等进程, 可调控一氧化氮合酶(NOS)活性, 促进 NO 的合成和释放, 达到调控血压的作用^[39-40]。验证试验发现, 平潜补利汤可以激活大鼠 PI3K-Akt 信号通路。IL-6、Myc、VEGF 等关键靶点均位于 PI3K-Akt 信号通路上, 说明这些靶点可能是平潜补利汤激活 PI3K-Akt 信号通路的媒介, 最终增加 NO 的合成和释放, 发挥降压疗效。但是, ALB、caspase-3 与 PI3K-Akt 的关系仍需要进一步验证。

综上所述, 平潜补利汤可以降低自发性高血压大鼠血压, 改善心肌和胸主动脉重构, 其机制可能与上调 ALB、VEGFA mRNA 表达, 下调 IL6、Myc、caspase-3 mRNA 表达, 进而激活 PI3K-Akt 信号通路有关, 验证了网络药理学的预测结果, 可为后续实验提供参考思路和方向。

参考文献:

- [1] Mills K T, Bundy J D, Kelly T N, et al. Global disparities of hypertension prevalence and control: A systematic analysis of population-based studies from 90 countries [J]. *Circulation*, 2016, 134(6): 441-450.
- [2] Jones D W, Clark D C. Hypertension (blood pressure) and lifetime risk of target organ damage [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2020, 22(10): 75.
- [3] Lu J P, Lu Y, Wang X C, et al. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in China: Data from 1.7 million adults in a population-based screening study (China PEACE Million Persons Project) [J]. *Lancet*, 2017, 390 (10112): 2549-2558.
- [4] Jin J Y, Chen B, Zhan X Y, et al. Network pharmacology and

- molecular docking study on the mechanism of colorectal cancer treatment using Xiao-Chai-Hu-Tang [J]. *PLoS One*, 2021, 16 (6): e252508.
- [5] Niu Z C, Qiang T T, Lin W Y, et al. Evaluation of potential herb-drug interactions between Shengmai Injection and losartan potassium in rat and *in vitro* [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 878526.
- [6] Naqvi A A T, Mohammad T, Hasan G M, et al. Advancements in docking and molecular dynamics simulations towards ligand-receptor interactions and structure-function relationships [J]. *Curr Top Med Chem*, 2018, 18(20): 1755-1768.
- [7] Wilkins K, Campbell N R C, Joffres M R, et al. Blood pressure in Canadian adults [J]. *Health Rep*, 2010, 21(1): 37-46.
- [8] Xiong X J, Yang X C, Liu Y M, et al. Chinese herbal formulas for treating hypertension in traditional Chinese medicine: Perspective of modern science [J]. *Hypertens Res*, 2013, 36(7): 570-579.
- [9] Xu H, Chen K J. Integrative medicine: the experience from China [J]. *J Altern Complement Med*, 2008, 14(1): 3-7.
- [10] Rastogi S, Pandey M M, Rawat A K. Traditional herbs: a remedy for cardiovascular disorders [J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(11): 1082-1089.
- [11] Wang S Y, Guo F, Sun X C, et al. Study on the potential mechanism of *Fructus Tribuli* in the treatment of hypertensive vascular remodeling based on network pharmacology and molecular docking [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 8862176.
- [12] Shaito A, Thuau D T B, Phu H T, et al. Herbal medicine for cardiovascular diseases: Efficacy, mechanisms, and safety [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 422.
- [13] Olszanecki R, Bujak-Gizycka B, Madej J, et al. Kaempferol, but not resveratrol inhibits angiotensin converting enzyme [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2008, 59(2): 387-392.
- [14] Feng H, Cao J L, Zhang G Y, et al. Kaempferol attenuates cardiac hypertrophy via regulation of ASK1/MAPK signaling pathway and oxidative stress [J]. *Planta Med*, 2017, 83(10): 837-845.
- [15] Shaukat B, Mehmood M H, Shahid S, et al. *Ziziphus Oxyphylla* hydro-methanolic extract ameliorates hypertension in L-NAME induced hypertensive rats through NO/cGMP pathway and suppression of oxidative stress related inflammatory biomarkers [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 285: 114825.
- [16] Liu Y, Gao L, Guo S, et al. Kaempferol alleviates angiotensin II -Induced cardiac dysfunction and interstitial fibrosis in mice [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(6): 2253-2263.
- [17] Loizou S, Lekakis I, Chrousos G P, et al. β -Sitosterol exhibits anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2010, 54(4): 551-558.
- [18] Olaiya C O, Esan A M, Alabi T D. Ameliorative effects of beta-sitosterol on some biochemical indices of hypertension in wistar albino rats [J]. *Afr J Med Med Sci*, 2014, 43(Suppl 1): 157-166.
- [19] Wong H S, Chen N, Leong P K, et al. β -Sitosterol enhances cellular glutathione redox cycling by reactive oxygen species generated from mitochondrial respiration: Protection against oxidant injury in H9c2 cells and rat hearts [J]. *Phytother Res*, 2014, 28(7): 999-1006.
- [20] Wang L, Tan A P, An X B, et al. Quercetin dihydrate inhibition of cardiac fibrosis induced by angiotensin II *in vivo* and *in vitro* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127: 110205.
- [21] Maaliki D, Shaito A A, Pintus G, et al. Flavonoids in hypertension: a brief review of the underlying mechanisms [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2019, 45: 57-65.
- [22] Ishizawa K, Yoshizumi M, Kawai Y, et al. Pharmacology in health food: Metabolism of quercetin *in vivo* and its protective effect against arteriosclerosis [J]. *J Pharmacol Sci*, 2011, 115(4): 466-470.
- [23] Serban M C, Sahebkar A, Zanchetti A, et al. Effects of quercetin on blood pressure: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(7): e002713.
- [24] Fiorelli S K A, Vianna L M, Oliveira C A B D, et al. The effects of supraphysiological supplementation of b-carotene in spontaneously hypertensive rats (SHR and SHR-sp) [J]. *Rev Col Bras Cir*, 2014, 41(5): 351-355.
- [25] Utsugi M T, Ohkubo T, Kikuya M, et al. Fruit and vegetable consumption and the risk of hypertension determined by self measurement of blood pressure at home: the Ohasama study [J]. *Hypertens Res*, 2008, 31(7): 1435-1443.
- [26] Ding C C, Wang H, Huang X, et al. Association between serum albumin and peripheral arterial disease in hypertensive patients [J]. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, 2020, 22(12): 2250-2257.
- [27] Jiang C F, Wang B Y, Li Y B, et al. U-shaped association between serum albumin and development of chronic kidney disease in general hypertensive patients [J]. *Clin Nutr*, 2020, 39(1): 258-264.
- [28] Høstmark A T, Tomten S E, Berg J E. Serum albumin and blood pressure: a population-based, cross-sectional study [J]. *J Hypertens*, 2005, 23(4): 725-730.
- [29] Oda E. Albumin may prevent hypertension by inhibiting renin angiotensin aldosterone system [J]. *Int J Cardiol*, 2014, 176(3): 1023-1024.
- [30] Hashmat S, Rudemiller N, Lund H, et al. Interleukin-6 inhibition attenuates hypertension and associated renal damage in Dahl salt-sensitive rats [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2016, 311(3): F555-F561.
- [31] Kehler S, Rayens M K, Ashford K. Determining whether hypertensive status and stress level are associated with inflammatory markers [J]. *Biol Res Nurs*, 2019, 21(3): 245-252.
- [32] Brands M W, Banes-Berceli A K L, Inscho E W, et al. Interleukin 6 knockout prevents angiotensin II hypertension [J].

- Hypertension*, 2010, 56(5): 879-884.
- [33] Joseph E K, Levine J D. Caspase signalling in neuropathic and inflammatory pain in the rat [J]. *Eur J Neurosci*, 2004, 20(11): 2896-2902.
- [34] Hamet P, Richard L, Dam T V, et al. Apoptosis in target organs of hypertension [J]. *Hypertension*, 1995, 26(4): 642-648.
- [35] Wang Q L, Cui Y H, Lin N, et al. Correlation of cardiomyocyte apoptosis with duration of hypertension, severity of hypertension and caspase-3 expression in hypertensive rats [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(4): 2741-2745.
- [36] Forrester S J, Kawai T, O'Brien S, et al. Epidermal growth factor receptor transactivation: Mechanisms, pathophysiology, and potential therapies in the cardiovascular system [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2016, 56: 627-653.
- [37] Oliveira-Paula G H, Lacchini R, Fontana V, et al. Polymorphisms in VEGFA gene affect the antihypertensive responses to enalapril [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2015, 71(8): 949-957.
- [38] Pavlov T S, Levchenko V, O'Connor P M, et al. Deficiency of renal cortical EGF increases ENaC activity and contributes to salt-sensitive hypertension [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24(7): 1053-1062.
- [39] 邹连玉, 郑丽维. PI3K/Akt 信号通路在高血压疾病防治中的研究进展[J]. 中国医学创新, 2021, 18(34): 176-179.
- [40] 李赛赛, 李平, 康楠, 等. PI3K/Akt 信号通路与心血管疾病关系的研究进展[J]. 北京医学, 2021, 43(1): 66-69; 72.

基于网络药理学和细胞实验探究天参胶囊的抗炎机制

马进财¹, 赵陇和², 李睿², 石玉琪², 王欣^{2*}, 杨兰^{1,3*}

(1. 兰州大学口腔医学院, 甘肃兰州 730000; 2. 兰州大学药学院, 甘肃兰州 730000; 3. 兰州大学第二医院口腔科, 甘肃兰州 730030)

摘要: 目的 通过网络药理学预测天参胶囊可能发挥抗炎作用的机制, 并进行实验验证。方法 基于 TCMSP 等数据库查找筛选天参胶囊的活性成分并预测其作用靶点。使用 PPI、GO、KEGG 分析天参胶囊的“活性成分-靶点-通路”网络, Discovery Studio 对关键化合物和核心靶点进行分子对接。通过细胞实验验证关键靶点。结果 天参胶囊有效成分共 147 种, 对应 560 个靶点。PPI 分析显示, 天参胶囊主要作用于 STAT3、TP53、JUN、Akt1、SRC、MAKP1 等靶点。GO 分析显示, 它们主要作用于 DNA 结合转录因子、RNA 聚合酶 II 特异性 DNA 结合转录因子、泛素样蛋白连接酶等。KEGG 分析表明, 它们可能通过 PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、Toll 受体信号通路、JAK/STAT 信号通路等起到抗炎作用。分子对接显示, 4 种关键成分与核心蛋白均有很好的结合力。体外细胞实验证明, 天参胶囊水提物可降低 NO、TNF-α、IL-6 水平, 并抑制 JAK2/STAT3 信号通路。结论 天参胶囊可能通过调控 JAK2/STAT3 信号通路发挥抗炎作用, 具有多成分-多靶点-多途径的特点。

关键词: 天参胶囊; 炎症; 网络药理学; JAK2/STAT3 信号通路

中图分类号: R966; R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)04-1352-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.056

天参胶囊由沙棘、枸杞子、三七、丹参、红景天、川木香、小檗皮 7 味中药组成, 具有益气行滞、化瘀止痛的作用, 临幊上主要用于治疗气滞血瘀所致的冠心病。研究表明, 部分治疗心血管疾病的药物可能通过抗炎作用对心血管事件起到一级和二级预防作用^[1]。然而, 天参胶囊作为治疗冠心病的临幊药物是否具有抗炎作用及其具体机制均不明确。

中药普遍具有成分复杂、靶点众多等特点, 网络药理学基于系统生物学, 探究生物-药物-疾病之间的关系, 近年来被广泛应用于研究中药药理作用机制, 推动了中药的现代化研究和开发^[2]。本研究采用网络药理学分析天参胶囊所含化学成分-靶点-通路之间的关系, 预测天参胶囊的抗炎机制并通过体外实验进行验证。

1 材料与方法

收稿日期: 2022-02-25

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81403145); 甘肃省自然科学基金资助项目 (20JR10RA602); 兰州大学中央高校基金项目 (lzujbky-2018-136)

作者简介: 马进财 (1994—), 男 (回族), 硕士生, 研究方向为口腔颌面外科学。Tel: 18893840676, E-mail: majc19@lzu.edu.cn

* 通信作者: 王欣 (1984—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为生物制药。Tel: (0931) 8915686, E-mail: wx@lzu.edu.cn

杨兰 (1959—), 女, 博士, 教授, 研究方向为口腔颌面外科学。Tel: 13609303257, E-mail: ylan2005@163.com