

基于网络药理学和分子对接探讨心可舒片治疗高血压的作用机制

于钊瑞¹, 王冠然²

1. 天津市第一中心医院 药学部, 天津 300192

2. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300381

摘要: **目的** 基于网络药理学方法和分子对接技术探究心可舒片治疗高血压的作用机制。**方法** 利用 TCMSP、HERB、ETCM 数据库和 Swiss Target Prediction 平台检索心可舒片的活性成分及作用靶点;通过 OMIM、GeneCards、TTD 和 DrugBank 数据库获取高血压的相关靶点。筛选出药物与疾病的交集靶点,通过 Cytoscape 3.7.2 软件和 STRING 数据库分别构建“中药-活性成分-靶点-疾病”及蛋白相互作用(PPI)网络并筛选出关键活性成分和核心靶点。运用 DAVID 数据库进行基因本体(GO)及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,利用 AutoDockTools 软件进行分子对接验证。**结果** 共获得心可舒片活性成分 147 个,药物与疾病的交集靶点 262 个。心可舒片治疗高血压的关键活性成分为丹参醇 A、香紫苏醇、三裂鼠尾草素等;核心靶点为原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Src (SRC)、肿瘤坏死因子(TNF)、信号转导和转录激活因子 3 (STAT3) 等。GO 富集分析涉及 238 个生物学过程,41 个细胞组分,81 个分子功能。KEGG 富集分析涉及 131 条信号通路,包括钙信号通路、神经活性配体-受体相互作用、糖尿病并发症晚期糖基化终产物(AGE)及其受体(RAGE)信号通路等。分子对接显示关键活性成分与核心靶点之间有良好的结合活性。**结论** 心可舒片可通过多成分、多靶点、多途径发挥对高血压的治疗作用,为临床应用提供依据。

关键词: 心可舒片; 高血压; 网络药理学; 分子对接; 丹参醇 A; 香紫苏醇; 三裂鼠尾草素

中图分类号: R285; R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2024)05-1134-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.05.007

Mechanism of Xinkeshu Tablets in treatment of hypertension based on network pharmacology and molecular docking

YU Zhaorui¹, WANG Guanran²

1. Department of Pharmacy, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China

2. First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300381, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of Xinkeshu Tablets in treatment of hypertension based on network pharmacology and molecular docking. **Methods** The active ingredients and targets of Xinkeshu Tablets were retrieved by TCMSP, HERB, ETCM Database and Swiss Target Prediction Platform. The relevant targets of hypertension were obtained from OMIM, GeneCards, TTD and DrugBank database. Screening out the common targets of drug and disease, the “traditional Chinese medicine - active ingredient - target - disease” and protein-protein interaction (PPI) network was constructed through Cytoscape 3.7.2 software and STRING database respectively, then the key active ingredients and core targets were screened out. Gene ontology (GO) analysis and kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis was carried out with the help of DAVID database, molecular docking verification was performed by using AutoDockTools software. **Results** A total of 147 active ingredients of Xinkeshu Tablets were collected, 262 common targets between drug and disease were obtained. Among them, the key active ingredients of Xinkeshu Tablets in treatment of hypertension were danshenol, sclareol, salvigenin etc. The core targets were SRC, TNF, STAT3 etc. GO enrichment analysis involved 238 biological processes, 41 cellular components and 81 molecular functions. KEGG enrichment analysis involved 131 signaling pathways including calcium signaling pathway, neuroactive ligand-receptor interaction, AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications etc. The molecular docking results showed that the key active ingredients exhibit good binding activity with core targets. **Conclusion** Xinkeshu Tablets may exert therapeutic effect on hypertension through multiple components,

收稿日期: 2023-12-15

作者简介: 于钊瑞, 男, 中药师, 研究方向为中药及天然药物药效物质基础及作用机制。E-mail: jerryyu96@outlook.com

multiple targets and multiple pathways, providing a basis for clinical application.

Key words: Xinkeshu Tablets; hypertension; network pharmacology; molecular docking; danshenol A; sclareol; salvigenin

高血压是一种以体循环动脉血压升高为主要特征的临床综合征,是导致脑卒中、冠心病、心力衰竭、肾功能不全等多种重大疾病发生的主要危险因素,具有发病率高、病死率高、致残率高的特点^[1]。目前,临床上使用的降压药物虽然可以在短期内有效控制血压,但长期用药容易产生药物不良反应,极大影响治疗的依从性^[2]。因此,寻找新的安全有效的降压药物具有重要意义。近年来,中药在控制血压,缓解临床症状,减轻心、脑、肾等靶器官损害等方面展现出独特的优势,受到了人们的广泛关注。心可舒片是由丹参、葛根、三七、山楂、木香组成的中药复方制剂,具有活血化瘀、行气止痛的功效,临床上用于治疗高血压,能够有效改善患者血压水平,减轻炎症反应并促进血管内皮功能恢复,疗效显著,安全性高^[3-4]。

网络药理学是一门结合了系统生物学和网络信息学的综合性学科,它能够从多组分、多靶点、多途径的角度阐明中药治疗复杂疾病的分子机制^[5]。分子对接是一种计算机模拟技术,可以在原子水平上模拟分子与蛋白质之间的相互作用,预测治疗分子和靶分子之间的亲和力和结合模式^[6]。因此,本研究利用网络药理学和分子对接的研究方法,分析心可舒片治疗高血压的有效成分、作用靶点和分子机制,为进一步研究和临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 心可舒片活性成分、作用靶点的收集与筛选

通过 TCMSP、HERB、ETCM 数据库,以口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$,类药性 (DL) ≥ 0.18 为条件检索筛选心可舒片中丹参、葛根、三七、山楂、木香 5 味中药的活性成分,并结合《中国药典》2020 年版^[7]及文献报道^[8-12]补充。利用 PubChem 数据库获取活性成分 SMILES 结构式,将其导入 SwissTargetPrediction 数据库,以 probability > 0 为筛选条件,预测活性成分的作用靶点。

1.2 高血压疾病靶点的获取

通过 OMIM、GeneCards、TTD、DrugBank 数据库,以“hypertension”为关键词搜集疾病靶点,将检索结果合并去重后得到高血压相关靶点。借助微生信平台获取药物活性成分与疾病的交集靶点,即得到心可舒片治疗高血压的潜在作用靶点。

1.3 “中药-活性成分-靶点-疾病”网络的构建

将交集靶点及其对应的活性成分导入 Cytoscape 3.7.2 构建“中药-活性成分-靶点-疾病”网络,利用 Network Analyer 插件对网络进行拓扑分析并筛选关键活性成分。

1.4 蛋白相互作用 (PPI) 网络的构建

通过 STRING 数据库构建交集靶点的 PPI 网络。物种及最小相互作用阈值分别设置为“homo sapiens”和“high confidence (> 0.7)”。利用 Cytoscape 3.7.2 软件对 PPI 网络进行可视化处理,使用插件“CytoNCA”对网络进行拓扑分析并筛选核心靶点。

1.5 基因本体 (GO) 功能及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析

利用 DAVID 数据库对交集靶点进行 GO 与 KEGG 富集分析,以 $P < 0.01$ 为条件筛选出主要的生物学过程和具有显著性差异的信号通路,并对结果进行可视化处理。最后运用 Cytoscape 3.7.2 构建“活性成分-靶点-通路”网络。

1.6 分子对接验证

将“中药-活性成分-靶点-疾病”网络中排名前 10 位的关键活性成分与 PPI 网络中排名前 6 位的核心靶点进行分子对接。通过 PubChem 和 RCSB PDB 数据库获取关键活性成分及核心靶点蛋白 3D 结构,运用 Chem3D pro 14.0 软件对关键活性成分 3D 结构进行能量最小化处理。利用 Pymol 和 AutoDock Tools 1.5.7 软件分别对小分子和靶点蛋白进行去除水分子、移除配体、增加氢原子、计算电荷以及调整力场参数等操作。最后,使用 AutoDock Vina 软件进行分子对接,利用 Pymol 软件将对接结果进行可视化展示。

2 结果

2.1 心可舒片活性成分及作用靶点信息

经数据库检索筛选并结合文献报道和药典补充,同时剔除 Swiss Target Prediction 数据库中无靶点的成分后,获得丹参 70 个活性成分,773 个作用靶点;葛根 17 个活性成分,189 个作用靶点;木香 17 个活性成分,410 个作用靶点;三七 39 个活性成分,675 个作用靶点;山楂 22 个活性成分,403 个作用靶点。汇总去重后,最终获得心可舒片 147 个活性成分 (表 1) 和 1 011 个作用靶点。

表 1 心可舒片中活性成分
Table 1 Active ingredients of Xinkeshu Tablets

编号	MOL ID	活性成分	OB/%	DL	来源
DS1	MOL001601	1,2,5,6-tetrahydrotanshinone	38.75	0.36	丹参
DS2	MOL001942	isoimperatorin	45.46	0.23	丹参
DS3	MOL002222	sugiol	36.11	0.28	丹参
DS4	MOL002651	dehydrotanshinone II _A	43.76	0.40	丹参
DS5	MOL002776	baicalin	40.12	0.75	丹参
DS6	MOL000569	digallate	61.85	0.26	丹参
DS7	MOL006824	α -amyrin	39.51	0.76	丹参
DS8	MOL007036	arucadiol	33.77	0.29	丹参
DS9	MOL007041	2-isopropyl-8-methylphenanthrene-3,4-dione	40.86	0.23	丹参
DS10	MOL007048	(<i>E</i>)-3-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxy-benzofuran-4-yl] acrylic acid	48.24	0.31	丹参
DS11	MOL007049	4-methylenemiltirone	34.35	0.23	丹参
DS12	MOL007050	2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-3-benzofurancarboxaldehyde	62.78	0.40	丹参
DS13	MOL007051	6- <i>O</i> -syringyl-8- <i>O</i> -acetyl shanzhiside methyl ester	46.69	0.71	丹参
DS14	MOL007058	formyltanshinone	73.44	0.42	丹参
DS15	MOL007061	methylenetanshinquinone	37.07	0.36	丹参
DS16	MOL007064	przewalskin B	110.32	0.44	丹参
DS17	MOL007069	przewaquinone C	55.74	0.40	丹参
DS18	MOL007077	sclareol	43.67	0.21	丹参
DS19	MOL007079	tanshinaldehyde	52.47	0.45	丹参
DS20	MOL007081	danshenol B	57.95	0.56	丹参
DS21	MOL007082	danshenol A	56.97	0.52	丹参
DS22	MOL007085	salvileneone	30.38	0.38	丹参
DS23	MOL007088	cryptotanshinone	52.34	0.40	丹参
DS24	MOL007093	dan-shexinkum D	38.88	0.55	丹参
DS25	MOL007094	danshenspiroketalactone	50.43	0.31	丹参
DS26	MOL007098	deoxyneocryptotanshinone	49.40	0.29	丹参
DS27	MOL007100	dihydrotanshinlactone	38.68	0.32	丹参
DS28	MOL007101	dihydrotanshinone I	45.04	0.36	丹参
DS29	MOL007105	epidanshenspiroketalactone	68.27	0.31	丹参
DS30	MOL007107	ferruginol	36.07	0.25	丹参
DS31	MOL007108	isocryptotanshinone	54.98	0.39	丹参
DS32	MOL007111	isotanshinone II	49.92	0.40	丹参
DS33	MOL007115	manool	45.04	0.20	丹参
DS34	MOL007118	microstegiol	39.61	0.28	丹参
DS35	MOL007119	miltionone I	49.68	0.32	丹参
DS36	MOL007120	miltionone II	71.03	0.44	丹参
DS37	MOL007121	multipolone	36.56	0.37	丹参
DS38	MOL007122	miltirone	38.76	0.25	丹参
DS39	MOL007123	miltirone II	44.95	0.24	丹参
DS40	MOL007124	neocryptotanshinone II	39.46	0.23	丹参
DS41	MOL007125	neocryptotanshinone	52.49	0.32	丹参
DS42	MOL007127	1-methyl-8,9-dihydro-7 <i>H</i> -naphtho[5,6- <i>g</i>]benzofuran-6,10,11-trione	34.72	0.37	丹参
DS43	MOL007130	prolithospermic acid	64.37	0.31	丹参
DS44	MOL007132	(2 <i>R</i>)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(<i>Z</i>)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)acryloyl]oxy-propionic acid	109.38	0.35	丹参
DS45	MOL007140	(<i>Z</i>)-3-[2-[(<i>E</i>)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)vinyl]-3,4-dihydroxyphenyl]acrylic acid	88.54	0.26	丹参
DS46	MOL007141	salvianolic acid G	45.56	0.61	丹参
DS47	MOL007142	salvianolic acid J	43.38	0.72	丹参
DS48	MOL007143	salvileneone I	32.43	0.23	丹参
DS49	MOL007145	salviolone	31.72	0.24	丹参
DS50	MOL007154	tanshinone II _A	49.89	0.40	丹参

表 1 (续)

编号	MOL ID	活性成分	OB/%	DL	来源
DS51	MOL007155	(6S)-6-(hydroxymethyl)-1,6-dimethyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-dione	65.26	0.45	丹参
DS52	MOL007156	tanshinone VI	45.64	0.30	丹参
DS53	MOL008204	5-hydroxy-2',3',7,8-tetramethoxyflavone	103.11	0.40	丹参
DS54	MOL008519	neotigogenin	80.98	0.81	丹参
DS55	MOL002268	rhein	47.07	0.28	丹参
DS56	MOL002915	salvigenin	49.07	0.33	丹参
DS57	MOL010025	taraxanthin	38.30	0.55	丹参
DS58	MOL002813	aucubin	35.56	0.33	丹参
DS59*	MOL007134	danshensu	36.91	0.06	丹参
DS60*	MOL007136	salvianolic acid A	2.96	0.70	丹参
DS61*	MOL007074	salvianolic acid B	3.01	0.41	丹参
DS62*	MOL001452	protocatechualdehyde	38.35	0.03	丹参
DS63*	MOL007157	tanshinone I	29.27	0.36	丹参
GG1	MOL000392	formononetin	69.67	0.21	葛根
GG2	MOL002959	3'-methoxydaidzein	48.57	0.24	葛根
GG3	MOL003629	daidzein-4,7-diglucoside	47.27	0.67	葛根
GG4	MOL012976	coumestrol	32.49	0.34	葛根
GG5*	MOL012297	puerarin	24.03	0.69	葛根
GG6*	MOL000417	calycosin	47.75	0.24	葛根
GG7*	MOL011791	kakkalide	46.91	0.67	葛根
GG8*	MOL004525	chinoinin	13.71	0.75	葛根
GG9*	MOL009720	daidzin	14.32	0.73	葛根
GG10*	MOL000390	daidzein	19.44	0.19	葛根
GG11*	MOL000356	lupeol	12.12	0.78	葛根
GG12*	MOL000441	lupenone	11.66	0.78	葛根
GG13*	MOL000481	genistein	17.93	0.21	葛根
GG14*	MOL003767	tectorigenin	28.41	0.27	葛根
GG15*	MOL000480	genistin	13.35	0.75	葛根
MX1	MOL010813	benzo[a]carbazole	35.22	0.22	木香
MX2	MOL010839	lappadilactone	38.56	0.73	木香
MX3	MOL000211	mairin	55.38	0.78	木香
MX4	MOL005314	celabenzine	101.88	0.49	木香
MX5	MOL008400	glycitein	50.48	0.24	木香
MX6	MOL001389	heptanal	79.74	0.59	木香
MX7	MOL007742	istanbulin A	80.10	0.20	木香
MX8*	MOL010825	costunolide	29.07	0.11	木香
MX9*	MOL001298	dehydrocostus lactone	58.57	0.14	木香
MX10*	MOL007316	3,5-di-O-caffeoylquinic acid	1.79	0.68	木香
MX11*	MOL010836	isoalantolactone	53.43	0.15	木香
MX12*	MOL010820	methyl betulinat	16.81	0.76	木香
MX13*	MOL010824	costic acid	30.83	0.11	木香
MX14*	MOL010830	dihydrocostus lactone	62.30	0.11	木香
SQ1	MOL001494	mandenol	42.00	0.19	三七
SQ2	MOL002879	diop	43.59	0.39	三七
SQ3	MOL005344	ginsenoside Rh ₂	36.32	0.56	三七
SQ4	MOL007475	ginsenoside F ₂	36.43	0.25	三七
SQ5	MOL004025	N-(2-methylaminobenzoyl)tryptamine	56.96	0.26	三七
SQ6	MOL005376	panaxadiol	33.09	0.79	三七
SQ7	MOL003994	24-methyl-31-norlanost-9(11)-enol	38.00	0.75	三七
SQ8	MOL003988	2-hydroxy-3-formyl-7-methoxycarbazole	83.08	0.18	三七
SQ9	MOL009653	cycloeucalenol	39.73	0.79	三七
SQ10	MOL003956	dihydrotutaecarpine	42.27	0.60	三七
SQ11	MOL003974	evocarpine	48.66	0.36	三七
SQ12	MOL004014	evodiamide	73.77	0.28	三七
SQ13	MOL004017	fordimine	55.11	0.26	三七

表 1 (续)

编号	MOL ID	活性成分	OB/%	DL	来源
SQ14	MOL004018	goshuyuamide I	83.19	0.39	三七
SQ15	MOL004020	gossypetin	35.00	0.31	三七
SQ16	MOL004021	gravacridoneshlirine	63.73	0.54	三七
SQ17	MOL003963	hydroxyevodiamine	72.11	0.71	三七
SQ18	MOL002662	rutaecarpine	40.30	0.60	三七
SQ19	MOL003943	rutalinidine	40.89	0.22	三七
SQ20	MOL003958	evodiamine	86.02	0.64	三七
SQ21	MOL003972	1-methyl-2-nonyl-4-quinolone	48.42	0.20	三七
SQ22	MOL003957	1-methyl-2-pentadecyl-4-quinolone	44.52	0.46	三七
SQ23	MOL003964	1-methyl-2-undecyl-4-quinolone	47.59	0.27	三七
SQ24	MOL003947	1-methyl-2-[(Z)-pentadec-10-enyl]-4-quinolone	48.45	0.46	三七
SQ25	MOL003950	1-methyl-2-[(Z)-undec-6-enyl]-4-quinolone	48.48	0.27	三七
SQ26	MOL003960	evodione	30.39	0.18	三七
SQ27*	MOL007484	ginsenoside Rh ₁	3.86	0.57	三七
SQ28*	MOL011401	ginsenoside Rg ₁	9.03	0.28	三七
SQ29*	MOL005331	ginsenoside Rb ₁	6.24	0.04	三七
SQ30*	MOL012851	notoginsenoside R ₁	4.27	0.13	三七
SQ31*	MOL005338	ginsenoside Re	4.27	0.12	三七
SZ1	MOL001645	linoleyl acetate	42.10	0.20	山楂
SZ2	MOL005384	suchilactone	57.52	0.56	山楂
SZ3	MOL002322	isovitexin	31.29	0.72	山楂
SZ4	MOL010489	resivit	30.84	0.27	山楂
SZ5	MOL002588	eburicol	42.37	0.77	山楂
SZ6	MOL003578	cycloartenol	38.69	0.78	山楂
SZ7*	MOL001456	citric acid	56.22	0.05	山楂
SZ8*	MOL003352	procyanidin	23.33	0.73	山楂
SZ9*	MOL000008	apigenin	23.06	0.21	山楂
SZ10*	MOL004925	vitexin	3.05	0.71	山楂
SZ11*	MOL000415	rutin	3.20	0.68	山楂
SZ12*	MOL004368	hyperin	6.94	0.77	山楂
SZ13*	MOL004328	naringenin	59.29	0.21	山楂
SZ14*	MOL004178	orientin	1.79	0.75	山楂
SZ15*	MOL000498	isoorientin	23.30	0.76	山楂
A1	MOL001659	poriferasterol	43.83	0.76	丹参、三七、山楂
A2	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	丹参、三七、山楂
A3	MOL000098	quercetin	46.43	0.28	丹参、三七、山楂
B1	MOL001792	liquiritigenin	32.76	0.18	三七、山楂
B2	MOL002032	dioctyl phthalate	40.59	0.40	三七、山楂
C	MOL000006	luteolin	36.16	0.25	丹参、山楂
D	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76	丹参、木香、三七
E	MOL001771	poriferast-5-en-3-beta-ol	36.91	0.75	丹参、葛根、木香、三七
F	MOL000359	beta-sitosterol	36.91	0.75	丹参、葛根、木香、三七、山楂

*: 通过文献及药典补充的活性成分。
 *: active ingredients supplemented by literature and pharmacopoeia.

2.2 高血压疾病靶点信息

通过 GeneCards (relevance score ≥ 5.43)、OMIM、TTD 和 DrugBank 数据库检索, 最终得到 948 个高血压疾病相关靶点。借助微生信平台获得 262 个心可舒片与高血压的交集靶点并绘制韦恩图, 见图 1。

2.3 “中药 - 活性成分 - 靶点 - 疾病”网络的构建与分析

通过 Cytoscape 3.7.2 软件构建心可舒片治疗高血压的“中药 - 活性成分 - 靶点 - 疾病”网络, 见图 2, 该网络包括 415 个节点, 3 187 条边。利用“Network Analyzer”插件, 以 degree 值、中介中心

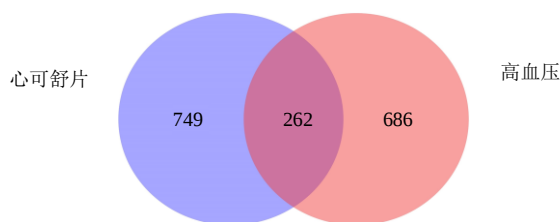


图 1 心可舒片与高血压交集靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of Xinkeshu Tablets and hypertension targets

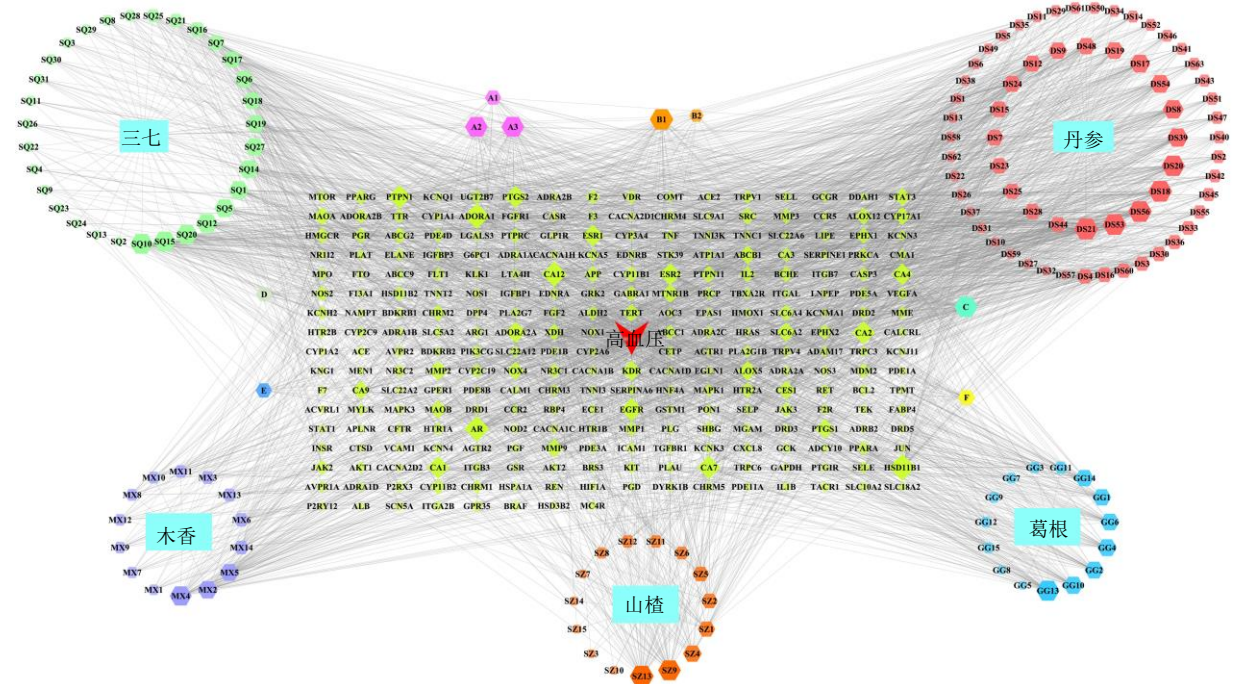


图 2 “中药 - 活性成分 - 靶点 - 疾病”网络图

Fig. 2 Network diagram of “traditional Chinese medicine - active ingredient - target - disease”

表 2 心可舒片关键活性成分拓扑信息

Table 2 Topological information of key active ingredients of Xinkeshu Tablets

编号	活性成分	degree	值中介中心性	紧密中心性
DS21	danshenol A	45	0.010	0.402
DS18	sclareol	44	0.009	0.402
DS53	5-hydroxy-2',3',7,8-tetramethoxy flavone	44	0.008	0.406
DS56	salvigenin	44	0.006	0.402
SZ13	naringenin	44	0.008	0.406
B1	liquiritigenin	43	0.009	0.408
DS20	danshenol B	43	0.008	0.401
C	luteolin	42	0.006	0.409
GG13	genistein	42	0.006	0.403
A2	kaempferol	41	0.005	0.409
A3	quercetin	41	0.006	0.409
SQ10	dihydronrtaecarpine	41	0.008	0.401
SQ20	evodiamine	38	0.006	0.395
DS8	arucadiol	36	0.007	0.398
DS54	neotigogenin	34	0.007	0.397

性、紧密中心性大于平均值为条件进行筛选，最终获得 15 个关键活性成分，见表 2。其中 degree 值排名前 10 位的是丹参醇 A、香紫苏醇、5-羟基-2',3',7,8-四甲氧基黄酮、三裂鼠尾草素、柚皮素、甘草素、丹参醇 B、木犀草素、染料木素和山柰酚，这些成分可能在心可舒片治疗高血压的过程中发挥了重要作用。

2.4 PPI 网络的构建与分析

通过 STRING 数据库和 Cytoscape 3.7.2 构建

PPI 网络，该网络包括 251 个节点和 1254 条边。利用 CytoNCA 插件，以中介中心性、紧密中心性、degree 值、特征向量中心性、网络中心性和局部边连通性大于中位数为条件进行筛选，最终获得 17 个核心靶点，根据 degree 值进行排序，各节点大小及颜色与 degree 值呈正比，见图 3，其中 degree 值排名前 6 位的靶点分别为原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Src (SRC)、肿瘤坏死因子 (TNF)、信号转导和转录激活因子 3 (STAT3)、蛋白激酶 B (Akt1)、表皮生长因子受体 (EGFR) 和白细胞介素 (IL)-1 β 。

2.5 GO 与 KEGG 富集分析结果

GO 富集分析获得 360 个条目 ($P < 0.01$)，其中 238 个与生物学过程 (BP) 相关，涉及对缺氧的反应、外源性刺激反应、胞浆钙离子浓度的正调控、映射激酶活性的正调控等；41 个与细胞组分 (CC)

相关, 涉及质膜组成成分、细胞质膜、细胞表面、膜筏等; 81 个与分子功能 (MF) 相关, 涉及酶结合、类固醇结合、血红素结合、相同蛋白结合等。

根据 P 值选取 BP、CC、MF 中排名前 10 位的条目进行可视化展示, 见图 4。

KEGG 富集分析获得 131 条信号通路 ($P <$

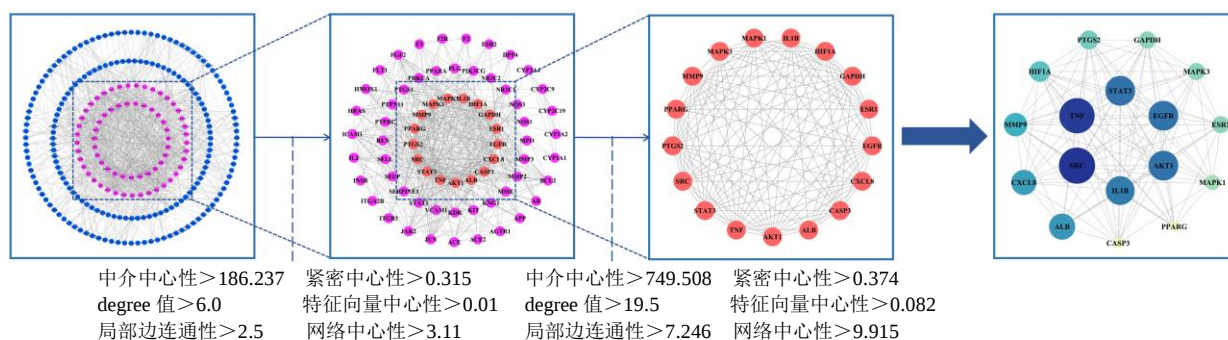


图 3 PPI 网络的构建与核心靶点的筛选

Fig. 3 Construction of PPI network and screening of core targets

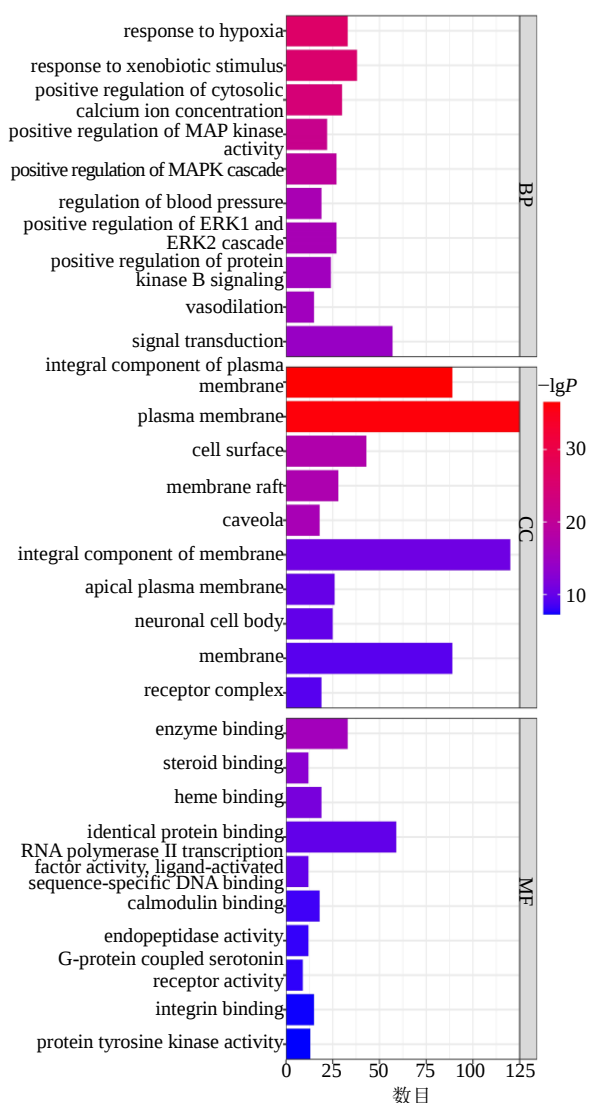


图 4 GO 功能分析

Fig. 4 GO function analysis

0.01), 主要涉及钙信号通路、神经活性配体-受体相互作用、糖尿病并发症晚期糖基化终产物 (AGE) 及其受体 (RAGE) 信号通路、环磷酸鸟苷 (cGMP) - 蛋白激酶 G (PKG) 信号通路、环磷酸腺苷 (cAMP) 信号通路等。选取前 20 条与疾病相关信号通路进行可视化处理, 见图 5。

通过 Cytoscape 3.7.2 构建“活性成分-靶点-通路”网络, 见图 6, 该网络包含 317 个节点和 2 106 条边, 涉及 20 条信号通路、138 种活性成分和 159 个靶点, 表明心可舒片可通过多成分、多靶点、多途径发挥对高血压治疗作用。

2.6 分子对接结果分析

将“中药-活性成分-靶点-疾病”网络中排名前 10 位的关键活性成分 (丹参醇 A、香紫苏醇、5-羟基-2',3',7,8-四甲氧基黄酮、三裂鼠尾草素、柚皮素、甘草素、丹参醇 B、木犀草素、染料木素、山柰酚) 与 PPI 网络中排名前 6 位的核心靶点 (SRC、TNF、STAT3、Akt1、EGFR、IL-1 β) 进行分子对接, 见图 7。结果显示, 关键活性成分与核心靶点的结合能均小于 -5.0 kcal/mol (1 cal=4.2 J), 多数结果的结合能小于 -7.0 kcal/mol, 表明关键活性成分与核心靶点间均有较好的结合能力, 且大部分具有较强的结合能力^[13]。以上结果表明, 心可舒片中的活性成分均可自发地与核心靶点蛋白结合, 进而发挥对高血压的治疗作用。使用 Pymol 软件将部分结果进行可视化展示, 见图 8。

3 结论

高血压属于中医学理论中“眩晕”“头痛”的范畴, 其病因与痰湿中阻、气血瘀滞、清窍失养所致

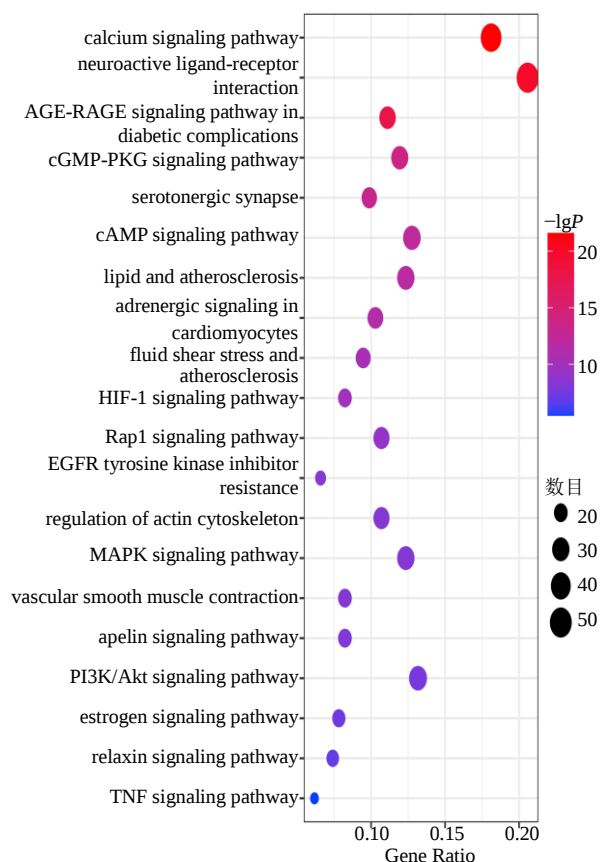


图 5 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis

的气血阴阳失调有关^[14]。心可舒片具有活血化瘀、行气止痛的功效，临床上用于治疗高血压，疗效确切，作用显著。本研究运用网络药理学的方法对心可舒片治疗高血压的潜在活性成分及靶点进行挖掘，探讨其可能的作用机制，并采用分子对接技术进行验证。

“中药 - 活性成分 - 靶点 - 疾病”网络拓扑分析结果表明，丹参醇 A、香紫苏醇、5-羟基-2',3',7,8-四甲氧基黄酮、三裂鼠尾草素、柚皮素、甘草素等可能是心可舒片发挥降压作用的关键活性成分，研究表明，丹参醇 A 能够显著改善自发性高血压大鼠的血压水平和心脏功能^[15]。香紫苏醇和三裂鼠尾草素能够舒张血管并改善血压^[16-17]。柚皮素能够通过抑制肾损伤分子、盐皮质激素受体和血管紧张素转换酶的表达进而发挥降压作用^[18]。甘草素可通过调节氧化应激水平和钙离子通道活性发挥保护心血管的作用^[19]。

PPI 网络分析发现，SRC、TNF、STAT3、Akt1、EGFR、IL-1 β 等可能是心可舒片治疗高血压的核心靶点。SRC 是一种非受体酪氨酸激酶，其能够激活烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶（NOX）产生活性氧（ROS）并引发氧化应激反应，最终导致高血

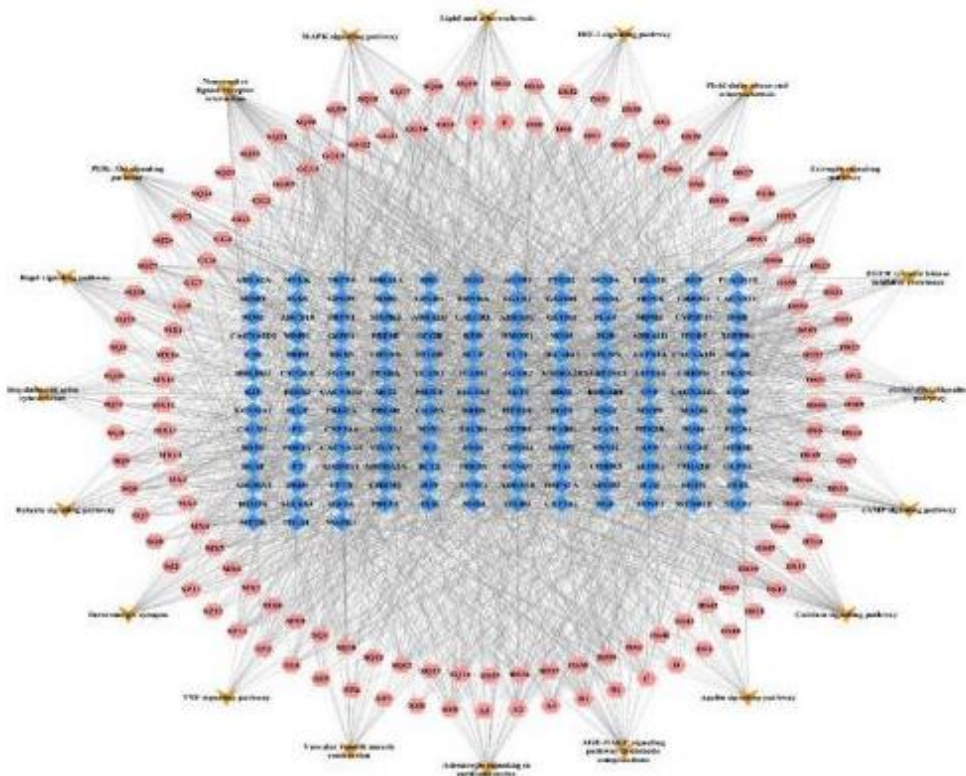


图 6 “活性成分 - 靶点 - 通路”网络图

Fig. 6 Network diagram of “active ingredient - target - pathway”

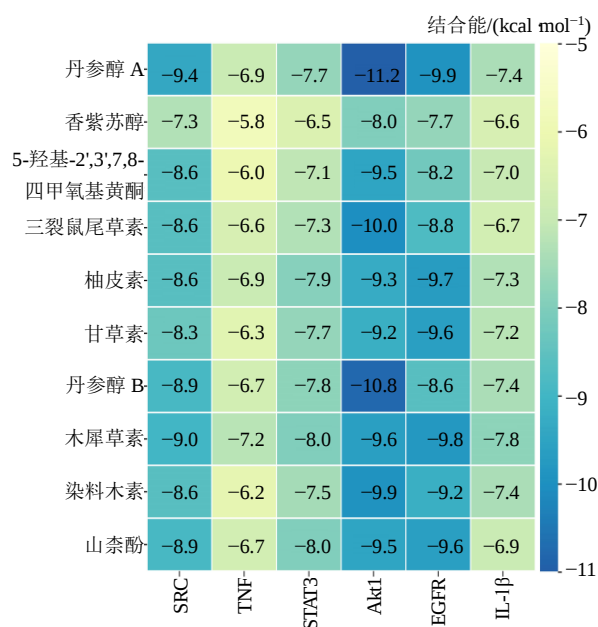


图 7 分子对接结合能热图

Fig. 7 Molecular docking binding energy heat map

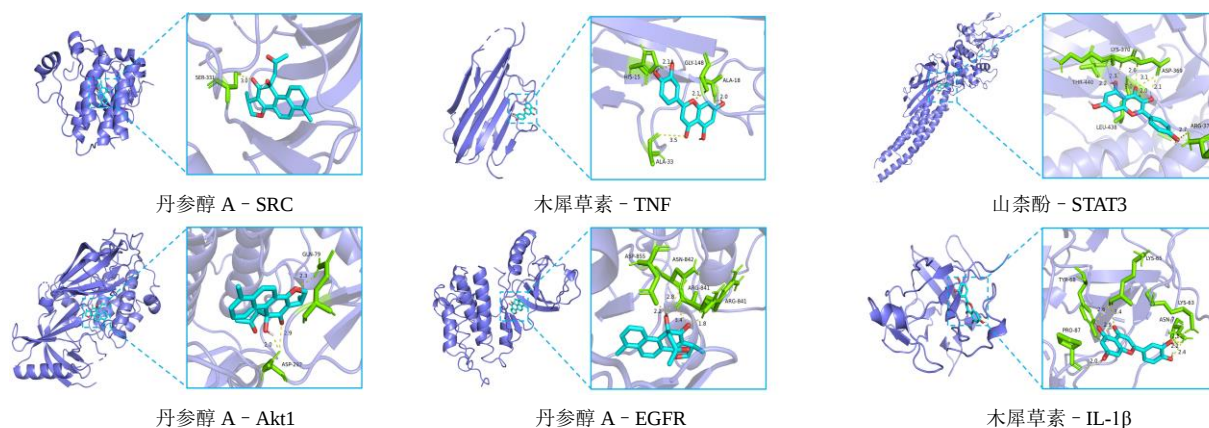


图 8 分子对接模型图

Fig. 8 Molecular docking model diagram

度的正调控、映射激酶活性的正调控等生物过程发挥治疗高血压的作用。KEGG 通路富集结果表明，心可舒片治疗高血压与钙信号通路、神经活性配体 - 受体相互作用、AGE-RAGE 信号通路、cGMP-PKA 信号通路、cAMP 信号通路等密切相关。钙信号通路在高血压的形成和发展中发挥着重要的作用，研究发现，钙信号通路异常会导致细胞内钙离子浓度增加，进而引发血管平滑肌收缩和血管外周阻力增大，最终引起血压升高^[26]。神经活性配体 - 受体相互作用与神经系统功能密切相关，而自主神经的失衡，特别是交感神经系统的异常激活被认为是高血压的主要发病机制之一^[27]。AGE-RAGE 信号通路中

压等心血管疾病发生发展^[20]。TNF 是一种炎性细胞因子，其表达水平与高血压的发生和严重程度密切相关，此外，TNF 抑制剂已被证明可有效降低高血压患者的血压^[21]。STAT3 在高血压发展进程中发挥着重要的作用，其能够通过多种机制引发血管壁炎症、血管平滑肌细胞 (VSMC) 表型转化、血管重构等病理变化进而加重高血压进展^[22]。Akt1 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，其能够通过调控内皮一氧化氮合成酶 (eNOS) 活性并促进一氧化氮的生成，从而发挥舒张血管、调节血压的作用^[23]。EGFR 是一种跨膜受体酪氨酸激酶，其能够诱导血管收缩并增加外周血管张力，最终导致血压升高^[24]。IL-1β 作为一种重要促炎因子，其可通过介导炎症信号传导、调节 VSMC 功能和细胞外基质 (ECM) 重塑等途径促使高血压的发生^[25]。

GO 功能富集结果显示，心可舒片主要通过对缺氧的反应、对外源性刺激的反应、胞浆钙离子浓

的 AGE 是一种由蛋白质、核酸和脂质与还原糖进行非酶促反应形成的稳定化合物，其与 RAGE 结合后可通过产生 ROS、激活核因子 κB (NF-κB) 以及增加促炎细胞因子表达等多种机制诱发高血压^[28]。cGMP-PKA 信号通路能够通过多种途径调节 VSMC 中的钙离子水平进而发挥舒张血管、稳定血压的作用^[29]。cAMP 信号通路能够通过抑制 Ras 同源基因家族蛋白 A (RhoA) /Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶 (ROCK) 信号传导、激活肌球蛋白轻链磷酸酶 (MLCP) 并减少肌球蛋白磷酸酶靶向亚基 (MYPT1) 抑制性磷酸化来诱导血管舒张，进而发挥降压效果^[30]。分子对接结果显示，关键活性成分

与核心靶点间具有良好的结合能力,提示心可舒片可能通过调节 SRC、TNF、STAT3、Akt1、EGFR、IL-1 β 等靶点发挥降压作用,进一步验证网络预测结果的可靠性。

综上所述,本研究通过网络药理学的方法和分子对接技术初步揭示了心可舒片可能通过丹参醇 A、香紫苏醇、5-羟基-2',3',7,8-四甲氧基黄酮、三裂鼠尾草素、柚皮素等活性成分,作用于 STAT3、TNF、SRC、Akt1、EGFR、IL-1 β 等靶点,调控钙信号通路、AGE-RAGE 信号通路、cGMP-PKG 信号通路、神经活性配体-受体相互作用等信号通路,进而舒张血管、减轻炎症反应、改善血管内皮功能,起到治疗高血压的作用,体现了其多成分、多靶点、多途径的治疗特点,为后续研究及临床应用提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhou B, Perel P, Mensah G A, *et al.* Global epidemiology, health burden and effective interventions for elevated blood pressure and hypertension [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(11): 785-802.
- [2] Laurent S. Antihypertensive drugs [J]. *Pharmacol Res*, 2017, 124: 116-125.
- [3] 陈刚, 宋敏, 孙小东. 苯磺酸氨氯地平联合心可舒治疗高血压的临床观察 [J]. *中国药房*, 2016, 27(15): 2054-2056.
- [4] 管晶晶, 曹季平, 朱倩, 等. 心可舒片联合缬沙坦治疗原发性高血压的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2019, 34(9): 2622-2626.
- [5] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [6] Meng X Y, Zhang H X, Mezei M, *et al.* Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery [J]. *Curr Comput Aided Drug Des*, 2011, 7(2): 146-157.
- [7] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 751-752.
- [8] 冯科冉, 李伟霞, 王晓艳, 等. 丹参化学成分、药理作用及其质量标志物 (Q-Marker) 的预测分析 [J]. *中草药*, 2022, 53(2): 609-618.
- [9] 史晨旭, 杜佳蓉, 吴威, 等. 葛根化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中国现代中药*, 2021, 23(12): 2177-2195.
- [10] 郑加梅, 尚明越, 王嘉乐, 等. 木香的化学成分、药理作用、临床应用研究进展及质量标志物预测 [J]. *中草药*, 2022, 53(13): 4198-4213.
- [11] 刘耀晨, 张铁军, 郭海彪, 等. 三七的研究进展及其质量标志物预测分析 [J]. *中草药*, 2021, 52(9): 2733-2745.
- [12] 拓文娟, 刘永琦, 修明慧, 等. 山楂及其有效成分治疗代谢综合征的研究 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2022, 28(5): 831-838.
- [13] Hsin K Y, 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] 张硕, 陈霖霖, 唐于平. 中医药辨治高血压的认识与发展 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2020, 22(12): 4139-4146.
- [15] Chen K, Guan Y Q, Ma Y C, *et al.* Danshenol A alleviates hypertension-induced cardiac remodeling by ameliorating mitochondrial dysfunction and suppressing reactive oxygen species production [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 2580409.
- [16] Campos D R, Celotto A C, Albuquerque A A S, *et al.* The diterpene sclareol vascular effect in normotensive and hypertensive rats [J]. *Arq Bras Cardiol*, 2017, 109(2): 117-123.
- [17] Uydeş-Doğan B S, Takir S, Ozdemir O, *et al.* The comparison of the relaxant effects of two methoxylated flavones in rat aortic rings [J]. *Vascul Pharmacol*, 2005, 43(4): 220-226.
- [18] Oyagbemi A A, Omobowale T O, Adejumbi O A, *et al.* Antihypertensive power of Naringenin is mediated via attenuation of mineralocorticoid receptor (MCR)/angiotensin converting enzyme (ACE)/kidney injury molecule (Kim-1) signaling pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 880: 173142.
- [19] Zhang M Q, Qi J Y, He Q Q, *et al.* Liquiritigenin protects against myocardial ischemic by inhibiting oxidative stress, apoptosis, and L-type Ca²⁺ channels [J]. *Phytother Res*, 2022, 36(9): 3619-3631.
- [20] Hussain M, Ikram W, Ikram U. Role of c-Src and reactive oxygen species in cardiovascular diseases [J]. *Mol Genet Genomics*, 2023, 298(2): 315-328.
- [21] Souders C L, Zubcevic J, Martyniuk C J. Tumor necrosis factor alpha and the gastrointestinal epithelium: Implications for the gut-brain axis and hypertension [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2022, 42(2): 419-437.
- [22] 朱瑞松, 石静, 薛红杰, 等. JAK2/STAT3 通路介导原发性高血压发病机制的研究进展 [J]. *心血管康复医学杂志*, 2023, 32(3): 244-247.
- [23] Ha J M, Kim Y W, Lee D H, *et al.* Regulation of arterial blood pressure by Akt1-dependent vascular relaxation [J]. *J Mol Med*, 2011, 89(12): 1253-1260.
- [24] 卢文, 胡克. 表皮生长因子受体的反式激活及其与高血压关系的研究进展 [J]. *疑难病杂志*, 2015, 14(3): 316-318.

- [25] Melton E, Qiu H Y. Interleukin-1 β in multifactorial hypertension: inflammation, vascular smooth muscle cell and extracellular matrix remodeling, and non-coding RNA regulation [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(16): 8639.
- [26] Ma J, Li Y N, Yang X Y, *et al.* Signaling pathways in vascular function and hypertension: Molecular mechanisms and therapeutic interventions [J]. *Signal Transduct Tar*, 2023, 8(1): 168.
- [27] 唐若天, 殷跃辉. 自主神经系统再平衡: 高血压器械治疗的靶点 [J]. 中华高血压杂志, 2021, 29(9): 880-885.
- [28] Prasad K. Involvement of AGE and its receptors in the pathogenesis of hypertension in elderly people and its treatment [J]. *Int J Angiol*, 2022, 31(4): 213-221.
- [29] Fellner S K, Arendshorst W J. Complex interactions of NO/cGMP/PKG systems on Ca²⁺ signaling in afferent arteriolar vascular smooth muscle [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 298(1): H144-H151.
- [30] Wehbe N, Nasser S A, Al-Dhaheri Y, *et al.* EPAC in vascular smooth muscle cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(14): 5160.

[责任编辑 高源]