

基于网络药理学的济脉通片降压机制研究

李波¹, 雷珊珊¹, 李贺¹, 陈烨辉¹, 郑祥³, 陈奕公¹, 钱柳青¹, 吕圭源^{2,1*}, 陈素红^{1,3*} (1.浙江工业大学, 杭州 310014; 2.浙江中医药大学, 杭州 310053; 3.温州医科大学, 浙江 温州 325035)

摘要: 目的 采用网络药理学阐明济脉通片多成分-多靶点-多途径的作用理念, 为进一步研究济脉通片降压药效物质基础和机制提供一定理论参考。方法 通过 TCMSP 数据库, 结合口服利用度($\geq 30\%$)和类药性分析(≥ 0.18)参数, 筛选济脉通片的活性成分; 通过 Drugbank 和 TCMSP 数据库进行靶点预测分析; 通过 GENCARD 数据库筛选出高血压疾病相关基因; 结合 DAVID 和 KEGG 数据库进行 GO 分析和通路分析; 使用 Cystoscape 软件构建“化合物-靶点-作用通路”网络图。结果 经筛选后得到济脉通片的 33 个化合物, 148 个潜在靶基因并映射到了 223 条信号通路, 其中 31 条信号通路与高血压的发生发展密切相关, 其中 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications、PI3K-Akt signaling pathway、TNF signaling pathway、Adrenergic signaling in cardiomyocytes 和 Focal adhesion 为重要的通路枢纽。结论 济脉通片主要通过多成分、多靶点、多通路调节血管内皮功能、炎症反应、钙钠离子转运、糖脂代谢等参与血管舒张、改善炎症、调节机体代谢、调节离子转运等而产生降压作用。

关键词: 济脉通片; 网络药理学; 高血压; 血管内皮功能; 糖脂代谢

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)01-0049-09

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.01.011

引用本文: 李波, 雷珊珊, 李贺, 等. 基于网络药理学的济脉通片降压机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(1): 49-57.

Systematic Understanding the Mechanisms of Ji Mai Tong Tablet Treatment on Hypertension

LI Bo¹, LEI Shanshan¹, LI He¹, CHEN Yehui¹, ZHENG Xiang³, CHEN Yigong¹, QIAN Liuqing¹, LYU Guiyuan^{2,1*}, CHEN Suhong^{1,3*} (1.Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2.Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China; 3.Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To elucidate multicomponent-multi-target-multi-channel analysis by network pharmacology, so as to provide a theoretical reference for further study of the mechanism of antihypertensive action of Ji Mai Tong tablet. **METHODS** By the TCMSP database, combined with oral bioavailability ($\geq 30\%$) analysis and resistance (≥ 0.18), screening of active ingredients in Ji Mai Tong tablet. Target prediction analysis was carried out by Drugbank and TCMSP database, and the related genes of hypertension disease were screened through GENCARD database. DAVID and KEGG database were combined to carry out GO analysis and path analysis, and Cystoscape software was used to construct the network of compound-target-path. **RESULTS** The 33 compounds were obtained and 148 number of related potential target genes, which could map to 223 signalling pathways. Among these pathways, 31 pathways were closely related to the development of hypertension. AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications, PI3K-Akt signaling pathway, TNF signaling pathway, Adrenergic signaling in cardiomyocytes and Focal adhesion were the hinge of the whole hypotensive mechanism of Ji Mai Tong tablet. **CONCLUSION** It is indicated that Ji Mai Tong tablets could regulate vascular endothelial function, inflammatory reaction, calcium and sodium transport, glucose and lipid metabolism and other involved in vasodilation, and then improve inflammation, regulate the body's metabolism, medulating the transport of ions and so on, resulting in antihypertensive effect.

KEYWORDS: Ji Mai Tong; network pharmacology; hypertension; vascular endothelial function; glycolipid metabolism

高血压是一种体循环血压持续升高的心血管疾病, 长期高血压会导致心、脑、肾、眼等靶器官损伤。2017 年美国心脏协会将高血压标准下调

为 $\geq 130/80$ mmHg, 按照此标准, 我国成人高血压的患病率或将翻倍达到 46.4%, 人数可能超过 5 亿^[1], 其防治需求巨大。中医将高血压归属于“眩

基金项目: “重大新药创制”国家科技重大专项(2011ZX09101-002-07); 浙江省重点研发计划(2017C03052); 国家自然科学基金面上项目(81673638, 81873036); 国家自然科学基金青年项目(81803760); 中国博士后科学基金(2018M632508)

作者简介: 李波, 男, 博士 Tel: (0571)88871265 E-mail: boli19861023@163.com *通信作者: 陈素红, 女, 博士, 研究员 Tel: (0571)88871593 E-mail: chensuhong@aliyun.com 吕圭源, 男, 博士, 教授 Tel: (0571)88871593 E-mail: lv.gy@263.net

晕”“头痛”范畴，临床上高血压多从肝肾论治。济脉通片是笔者团队自主研发的中药复方新药，是由夏枯草、野菊花和决明子 3 味中药制成的复方制剂，具有清肝热、平肝阳、养肝肾之功效，主治肝火亢盛型高血压。已获国家药品监督管理局颁发的药物临床试验批件(2007L05068)，并获“重大新药创制”国家科技重大专项资助进行临床研究。临床前药理学研究表明，济脉通片可通过升高降钙素基因相关肽、一氧化氮含量，降低内皮素、血管紧张素 II、醛固酮、血栓素 B2 水平等，从而显著降低自发性高血压大鼠(spontaneous hypertension rat, SHR)、肾性高血压(renal hypertension rat, RHR)大鼠和长期饮酒生活性高血压大鼠的血压水平^[2-8]。前期已对济脉通片中夏枯草、野菊花和决明子单味中药的抗高血压化学成分和药效机制进行了初步的研究^[7-10]，但全方治疗高血压的药效物质基础和作用机制尚有待进一步研究。

本研究采用网络药理学方法，探讨济脉通片的药效物质基础及其在治疗高血压中的多靶点作用机制，阐明其多成分-多靶点-多途径的系统作用理念，为进一步研究济脉通片降压机制提供一定理论参考。

1 材料与方法

1.1 网站数据库和分析软件

TCMSP 数据库 (<http://lsp.nwu.edu.cn/index.php>)；Drugbank 数据库(<https://www.drugbank.ca/>)；UniProt KB 数据库 (<http://www.uniprot.org/>)；Genecards 数据库 (<http://www.genecards.org/>)；String 数据库(<https://string-db.org/>)；DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/>)；KEGG(<http://www.genome.jp/kegg/>)，Cytoscape 软件及其插件 cytoHubba。

1.2 济脉通片活性化学成分收集与筛选

济脉通片(下称“济脉通”)是由野菊花、决明子、夏枯草 3 味中药组成的复方提取物制剂。本研究主要依托西北农林科技大学生命科学院创建的中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)对济脉通化学成分进行查询汇总。再通过 TCMSP 数据库中 ADME 模块，设置参数 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 进行化合物潜在活性成分筛选。

1.3 靶标蛋白筛选及网络构建

通过 Drugbank 数据库已知的包含生物活性及

靶点注释信息的药物分子，再应用三维分子相似性方法预测查询分子的潜在靶点。同时，通过 Genecards 寻找高血压疾病相关靶基因。整合两者的筛选结果，进一步得到不同的活性化学成分所对应高血压靶标，从而建立济脉通活性成分-靶标蛋白对应关系，并构建化合物-靶标网络图(C-P network)。Cytoscape 3.3 软件构建中药-成分-靶标的相互作用网络，其中药材、成分和靶标用节点(node)表示，节点之间的相互作用用边(edge)表示，再利用 Network Aalyzer 插件分析网络拓扑性质的度(degree)，度越高说明化合物或靶点越重要，在治疗疾病中发挥关键作用。

1.4 蛋白-蛋白相互作用及 Hub 基因分析

已知活性化学成分对应的靶蛋白后，运用 Uniprot 数据库(<http://www.uniprot.org/>)寻找到靶蛋白对应的基因名称。将得到的靶标蛋白导入到 String 数据库，进行蛋白相互作用分析，并建立 PPI 网络图。将得到的 PPI 数据导入到 cytoscape 进行可视化分析，并利用 cytoHubba 插件寻找到济脉通映射到高血压发病的关键基因。

1.5 靶基因功能富集和通路分析，建立化合物-靶点-通路网络图

基因本体论(GO)是一个广泛用于基因功能分类的系统。DAVID 是一种可以直观观测到基因的富集通路、目标基因对应蛋白及其相互关系的在线分析工具。本研究采用 DAVID 对济脉通作用靶标进行 GO 分析，进行生物功能富集分析。采用 KEGG 数据库对济脉通治疗高血压相关靶点进行基因功能及代谢通路分析。

2 结果

2.1 济脉通主要活性成分筛选

基于 TCMSP 数据库搜索济脉通中 3 味中药化合物，共得到 158 种化学成分，其中，野菊花含 30 种、决明子 68 种、夏枯草 60 种。进一步通过 $OB \geq 30\%$ 及 $DL \geq 0.18$ 条件筛选，得到 33 种 ADME 性质较好的化合物进行后续研究，其中野菊花符合要求的有 12 种、决明子 14 种、夏枯草 11 种，见表 1。其中，M0449(豆甾醇)是决明子和夏枯草中共有的潜在活性成分；M0358(β -谷甾醇)、M0006(木犀草素)及 M0098(槲皮素)是野菊花和夏枯草共有的潜在活性成分。

表 1 济脉通主要活性物质参数

Tab. 1 The main active material parameters of the Ji Mai Tong tablet

中药名称	Mol ID	活性成分	分子量	OB/%	DL
野菊花、夏枯草	M0006	Luteolin(木犀草素)	286.25	36.16	0.25
野菊花、夏枯草	M0098	Quercetin(槲皮素)	302.25	46.43	0.28
野菊花、夏枯草	M0358	Beta-Sitosterol(β -谷甾醇)	414.79	36.91	0.75
野菊花	M0359	Sitosterol(谷甾醇)	414.79	36.91	0.75
夏枯草	M0422	Kaempferol(山奈酚)	286.25	41.88	0.24
决明子、夏枯草	M0449	Stigmasterol(豆甾醇)	412.77	43.83	0.76
决明子	M0471	Aloe-Emodin(芦荟大黄素)	270.25	83.38	0.24
夏枯草	M0737	Morin(桑色素)	302.25	46.23	0.27
决明子	M0953	CLR	386.73	37.87	0.68
野菊花	M1689	Acacetin(金合欢素)	284.28	34.97	0.24
野菊花	M1790	Linarin(蒙花苷)	592.6	39.84	0.71
决明子	M2268	Rhein(大黄酸)	284.23	47.07	0.28
决明子	M2281	Toralactone(决明内酯)	272.27	46.46	0.24
夏枯草	M4355	Spinasterol	412.77	42.98	0.76
夏枯草	M4798	Delphinidin	303.26	40.63	0.28
决明子	M5043	Campest-5-en-3beta-ol	400.76	37.58	0.71
决明子	M6465	Rubrofusarin-6-beta-gentiobioside	596.59	40.12	0.67
决明子	M6466	Rubrofusarin	272.27	45.55	0.24
决明子	M6472	Aurantio-obtusin	330.31	31.55	0.37
决明子	M6475	Obtusin	344.34	81.43	0.4
决明子	M6481	Gluco-obtusifolin	446.44	42.41	0.81
决明子	M6482	9,10-dihydroxy-7-methoxy-3-methylene-4H-benzo[g]isochromen-1-one	272.27	63.25	0.24
决明子	M6486	Obtusin	344.34	31.24	0.4
决明子	M6489	Quinizarin	240.22	47.34	0.19
夏枯草	M6767	Vulgaxanthin-I	339.34	56.14	0.26
夏枯草	M6772	Poriferasterol monoglucoside_qt	412.77	43.83	0.76
夏枯草	M6774	Stigmast-7-enol	414.79	37.42	0.75
野菊花	M8173	Daucosterol_qt	414.79	36.91	0.75
野菊花	M8915	Acacetin-7-O- β -D-galactopyranoside	446.44	50.19	0.77
野菊花	M8918	Arteglasin A	304.37	52.45	0.33
野菊花	M8919	(2S,6S,7ar)-2-[(1E,3E,5E,7E,9E,11E,13E,15E)-16-[(4S)-4-hydroxy-2,6,6-trimethyl-1-cyclohexenyl]-1,5,10,14-tetramethylhexadeca-1,3,5,7,9,11,13,15-octaenyl]-4,4,7a-trimethyl-2,5,6,7-tetrahydrobenzofuran-6-ol	584.96	59.52	0.55
野菊花	M8924	Azuleno(4,5-b)furan-2(3H)-one,4-(acetyloxy)-3a,4,5,6,6a,7,9a,9b-octahydro-6-hydroxy-6,9-dimethyl-3-methylene-,(3ar-(3aalpha,4alpha,6alpha,6aalpha,9aalpha,9bbeta))-	306.39	68.44	0.27
野菊花	M8925	(3ar,4S,6R,6ar,9ar,9br)-4,6-dihydroxy-6,9-dimethyl-3-methylene-4,5,6a,7,9a,9b-hexahydro-3ah-azuleno[5,4-d]furan-2-one	264.35	40.08	0.19

2.2 构建活性成分对应高血压疾病相关靶标网络图

进一步通过活性成分靶标筛选及高血压疾病相关的靶标预测，剔除未找到对应靶标和对应靶标在 Uniprot 中无对应人类靶基因的化合物，最终

得到 27 个化合物对应的 199 个靶标；GeneCard 数据库中共找到高血压疾病相关基因 3 138 个，化合物对应靶点与高血压疾病相关靶点取交集，共得到 148 个共有靶基因，见表 2。

表 2 化合物对应靶点与高血压疾病相关靶点共有交集

Tab. 2 Compounds correspond to targets associated with hypertension

编号	靶标	编号	靶标	编号	靶标	编号	靶标
1	ABCB1	38	DRD1	75	MAPK8	112	SLC6A3
2	ABCG2	39	DUOX2	76	MCL1	113	SLC6A4
3	ACACA	40	EDN1	77	MET	114	SOD1
4	ACHE	41	EGF	78	MGAM	115	SPP1
5	ADH1C	42	EGFR	79	MMP1	116	STAT1
6	ADRA1B	43	ELK1	80	MMP2	117	TGFB1
7	ADRA2A	44	ERBB3	81	MMP3	118	THBD
8	ADRB1	45	ESR1	82	MMP9	119	TNF
9	AKR1B1	46	ESR2	83	MPO	120	TOP1
10	AKT1	47	F10	84	MYC	121	TOP2A
11	ALOX5	48	F7	85	NOS2	122	TP53
12	APP	49	FAS	86	NOS3	123	SLPI
13	AR	50	FOS	87	NQO1	124	VEGFA
14	BAX	51	GJA1	88	NR3C2	125	SULT1E1
15	BCL2	52	GSK3B	89	NUF2	126	CYP1A1
16	BCL2L1	53	GSR	90	PARP1	127	CYP1A2
17	BIRC5	54	GSTM1	91	PCNA	128	CYP1B1
18	CA2	55	GSTM2	92	PDE3A	129	JUN
19	CASP3	56	GSTP1	93	PGR	130	KCNH2
20	CASP8	57	HAS2	94	PIK3CG	131	KCNMA1
21	CASP9	58	HIF1A	95	PLAT	132	RAF1
22	CAV1	59	HK2	96	PLAU	133	RASA1
23	CCL2	60	HMOX1	97	PON1	134	RASSF1
24	CCND1	61	ICAM1	98	POR	135	CXCL11
25	CD36	62	IFNG	99	PPARA	136	CXCL8
26	CD40LG	63	IGF2	100	PPARD	137	IL6
27	CDKN1B	64	IGFBP3	101	PPARG	138	INSR
28	CHRM3	65	IKBKKG	102	PPP3CA	139	PTGS1
29	CHUK	66	IL10	103	PRKCD	140	PTGS2
30	CLDN4	67	IL1A	104	PTGER3	141	ADRA1A
31	COL1A1	68	IL1B	105	PTGES	142	ADRB2
32	COL2A1	69	IL2	106	RELA	143	HTR2A
33	CRP	70	IL4	107	SCN5A	144	NR1H2
34	CTSD	71	MAOA	108	SELE	145	OPRM1
35	CXCL10	72	MAOB	109	SERPINE1	146	VCAM1
36	CYP3A4	73	MAPK1	110	SLC2A4	147	XDH
37	DPP4	74	MAPK14	111	SLC6A2	148	EIF6

进一步构建活性成分-疾病靶标网络图(C-P network)。C-P network 共有 175 个节点, 形成 336 个关系对, 多数活性化合物能够与多个靶标蛋白之间发生相互作用, 见图 1。例如中药夏枯草中山奈酚能够同时作用于数十个靶蛋白从而发挥生物学活性。决明子及夏枯草共有的活性物质豆甾醇(M0449)能够与 ADRB1、PTGS1、SCN5A、MAOA 等 29 个靶标蛋白相互作用。SCN5A 靶标分子能够同时与槲皮素、 β -谷甾醇、豆甾醇、quinizarin 等多个活性成分发生作用。

在预测的靶点中, 前列腺素 G/H 合酶 1 (PTGS1)、环氧合酶 2(PTGS2)、内皮型一氧化氮合酶 (NOS3)、血栓调节素 (THBD)与血管舒缩相关; VCAM1 和 ICAM1 与血管重构相关; 超敏反

应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子(TNF)、干扰素(IFNG)、白介素-6 (IL-6)、白介素-10(IL-10)等与炎症反应有关; β_1 肾上腺素能受体(ADRB1)、 β_2 肾上腺素能受体(ADRB2)、钙激活钾通道亚单位 α_1 (KCNMA1)参与钙离子通道调节; 钠依赖性去甲肾上腺素转运体(SLC6A2)、钠依赖性多巴胺转运体 (SLC6A3)、钠依赖性血清素转运体(SLC6A4)、钠通道蛋白 5 亚单位 α (SCN5A)参与钠离子转运; PIK3CG、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、过氧化物酶体增殖物激活受体 δ (PPARD)、维甲酸受体 α (RXRA)、INSR 等与糖脂代谢有关。提示, 济脉通降压作用可能与调节血管内皮功能、炎症反应、钙钠离子转运、糖脂代谢等相关。

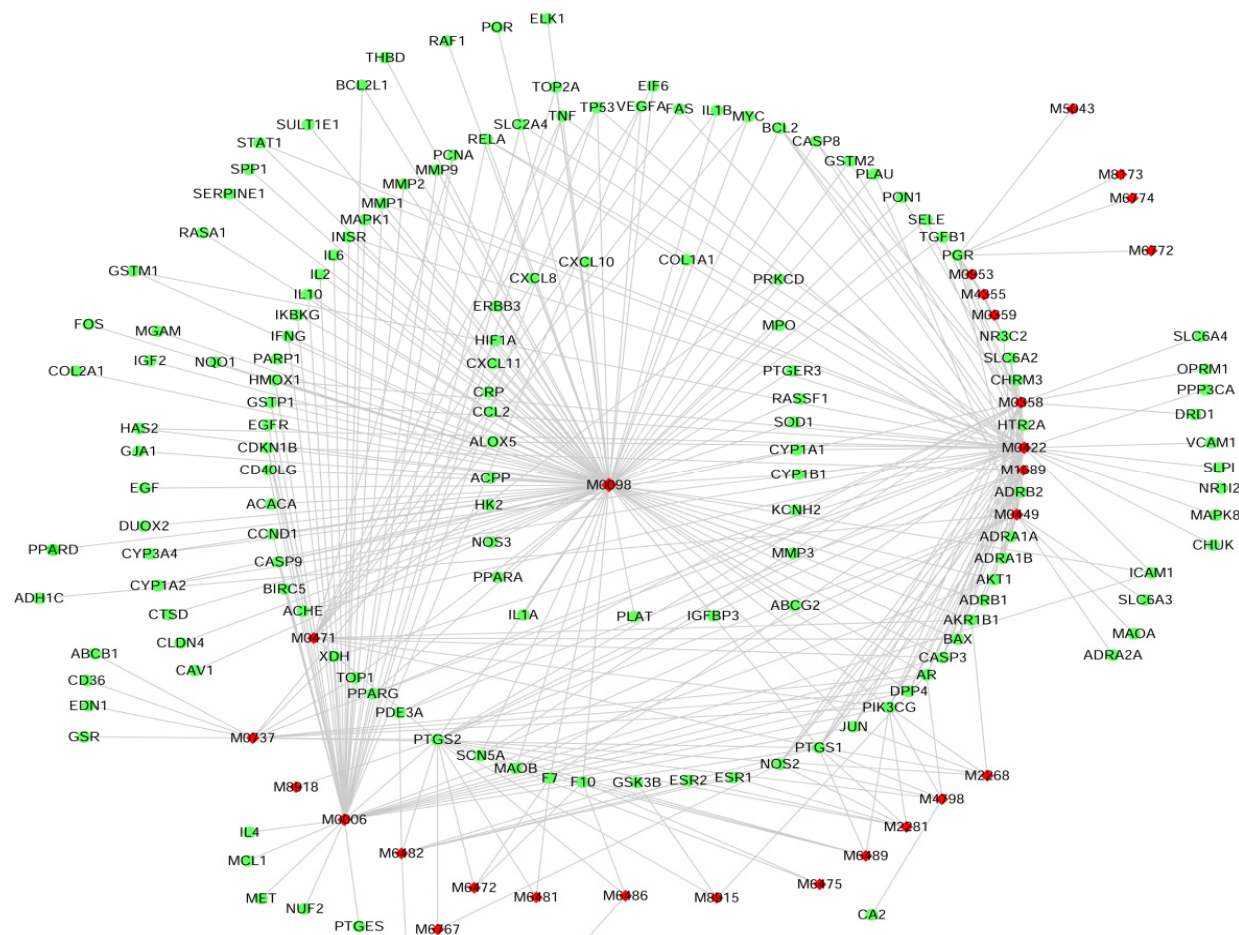


图 1 化合物-靶点网络图
 ● 表示靶标；◆ 表示化学活性成分；— 表示靶点与活性成分之间作用
Fig. 1 Compounds-Targets network
 ● Targets; ◆ Compounds; — the interaction between Targets and Compounds

2.3 蛋白-蛋白相互作用及 Hub 基因分析

对筛选出的靶点进行蛋白质相互作用分析，148 个靶点共形成 2 473 条蛋白互作关系，其中 558 条互作关系 ≥ 0.9 为置信度高的互作对。蛋白互作网络导入到 Cytospase 软件并利用 cytoHubba 插件分析得到排名前 50 的关键基因，见表 3。分析这些关键基因，大部分基因都参与炎症反应，如 IL6、IL10、TNF、IL2、IL4 等；而 NOS3、PTGS2 等主要参与血管的舒缩功能；还有一些参与脂质代谢和血管内皮细胞黏附等。提示，济脉通可能通过作用于这些关键靶基因，影响其参与的生物过程，达到降压作用。

2.4 GO 富集分析

通过 GO 功能富集分析发现，预测靶点在“生物过程”中，主要富集于调节细胞增殖和凋亡、RNA 信号转录、信号传导、炎症反应等；在“细胞组成”研究中，主要是影响细胞质和细胞核；

在“分子功能”中，主要富集于蛋白结合、酶结合、蛋白酶活性及细胞因子活性等方面。见图 2~4。

表 3 排名前 50 的关键基因
Tab. 3 The top 50 key genes

序号	基因名	序号	基因名	序号	基因名
1	VEGFA	18	IL10	35	MMP2
2	IL6	19	ICAM1	36	SPP1
3	JUN	20	CASP3	37	VCAM1
4	TNF	21	IL4	38	HMOX1
5	TP53	22	IFNG	39	EDN1
6	AKT1	23	MYC	40	SERPINE1
7	MAPK1	24	MAPK14	41	ESR1
8	PTGS2	25	IL2	42	CCND1
9	MAPK8	26	RELA	43	NOS2
10	PIK3CG	27	STAT1	44	BAX
11	IL8	28	BCL2L1	45	PARP1
12	MMP9	29	EGFR	46	MMP1
13	FOS	30	TGFB1	47	PCNA
14	BCL2	31	CASP8	48	CASP9
15	CCL2	32	CD40LG	49	FAS
16	EGF	33	PPARG	50	CDKN1B
17	IL1B	34	NOS3		

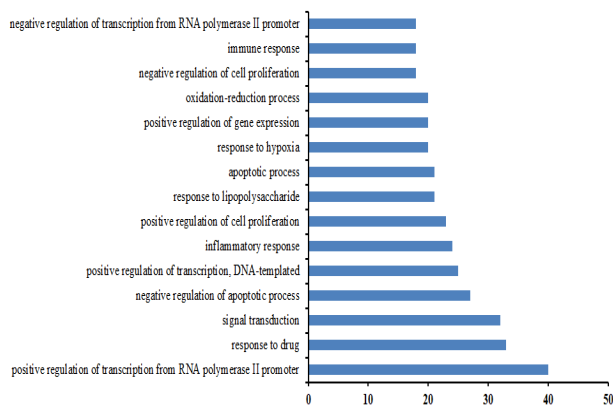


图2 预测靶点的 GO 富集分析“生物过程”
Fig. 2 Geno Ontology (GO) analysis of “Biological process”

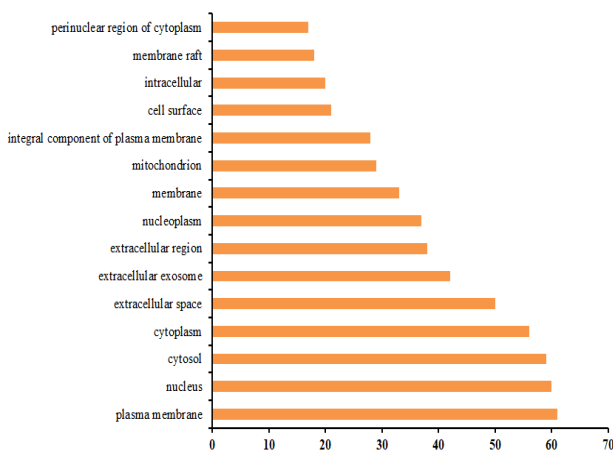


图3 预测靶点的 GO 富集分析“细胞组成”
Fig. 3 Geno Ontology (GO) analysis of “Cell composition”

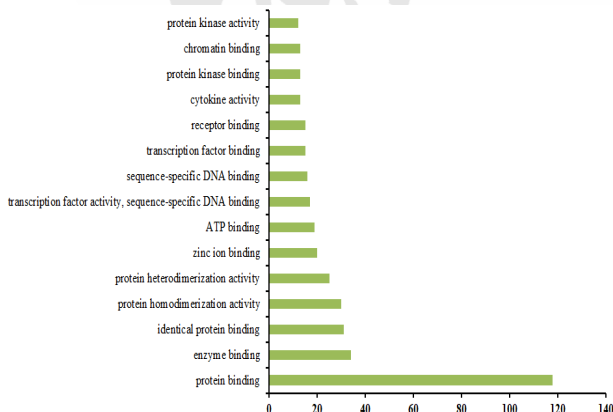


图4 预测靶点的 GO 富集分析“细胞功能”
Fig. 4 Geno Ontology (GO) analysis of “Cell function”

2.5 靶点-通路网络构建和分析

通过 KEGG 通路分析,利用 Cytoscape 软件建立靶点-通路网络图,148 个靶点可富集到 223 条信号通路中,并形成 371 个节点和 1 759 条边。利用网络拓扑学原理,分析出靶点的平均度为 11.88,

通路的平均度为 7.88。其中,MAPK1 的度为 127,最高;其次为 PIK3CG 和 RAF1 的度为 80;表现明显“一对多、多对一”的网络关系,见图 5。提示,济脉通可通过多途径发挥降压作用。

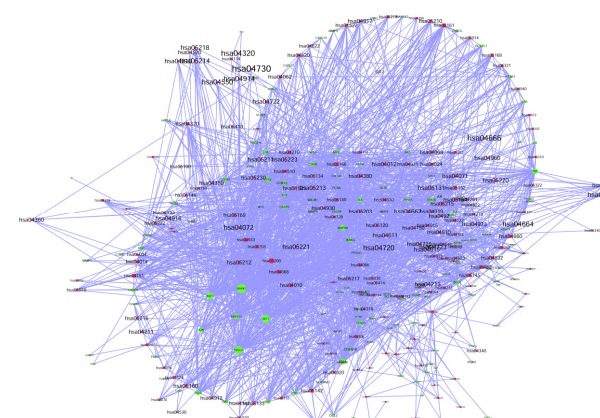


图5 靶点-通路网络图
● 表示靶标; ◆ 表示化学活性成分; — 表示靶点与活性成分之间作用。
Fig. 5 Targets-Pathways network
● Targets; ◆ Compounds; — the interaction between Targets and Compounds.

为了找到济脉通降压作用的关键通路,进一步分析发现 ≥ 10 个靶标共同富集的信号通路共有 86 条,其中 31 条直接或间接与高血压疾病有关,见表 4。其中有 7 条与炎症反应有关,包括 TNF signaling pathway, T cell receptor signaling pathway, Toll-like receptor signaling pathway, Focal adhesion, Cytokine-cytokine receptor interaction, NF-kappa B signaling pathway, Chemokine signaling pathway; 5 条与心脏血管功能有关,包括 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications, HIF-1 signaling pathway, cGMP-PKG signaling pathway, VEGF signaling pathway, Adrenergic signaling in cardiomyocytes; 11 条与细胞增殖、分化和凋亡有关,包括 PI3K-Akt signaling pathway, Apoptosis, MAPK signaling pathway, Ras signaling pathway, FoxO signaling pathway, EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance, Jak-STAT signaling pathway, ErbB signaling pathway, Neurotrophin signaling pathway, Sphingolipid signaling pathway, Rap1 signaling pathway; 4 条与糖脂代谢相关,包括 Metabolic pathways, cAMP signaling pathway, Insulin resistance, Insulin signaling pathway; 此外,还与钙信号途径及神经系统途径相关。

表4 济脉通降压作用相关通路

Tab.4 The related pathway of the antihypertensive effect of Ji Mai Tong tablet

通路	ID	靶点	P 值
AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	hsa04933	30	1.04×10^{-45}
PI3K-Akt signaling pathway	hsa04151	28	1.61×10^{-28}
TNF signaling pathway	hsa04668	25	1.31×10^{-35}
Apoptosis	hsa04210	23	6.56×10^{-30}
MAPK signaling pathway	hsa04010	23	2.00×10^{-24}
HIF-1 signaling pathway	hsa04066	19	1.02×10^{-25}
Metabolic pathways	hsa01100	18	1.01×10^{-6}
Endocrine resistance	hsa01522	18	1.86×10^{-24}
T cell receptor signaling pathway	hsa04660	18	6.72×10^{-24}
Toll-like receptor signaling pathway	hsa04620	18	7.84×10^{-24}
Focal adhesion	hsa04510	18	3.44×10^{-19}
Cytokine-cytokine receptor interaction	hsa04060	18	2.85×10^{-17}
Ras signaling pathway	hsa04014	17	5.28×10^{-17}
FoxO signaling pathway	hsa04068	16	4.47×10^{-19}
cAMP signaling pathway	hsa04024	14	7.06×10^{-14}
EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	hsa01521	14	7.11×10^{-19}
Jak-STAT signaling pathway	hsa04630	14	3.61×10^{-15}
cGMP-PKG signaling pathway	hsa04022	14	7.38×10^{-15}
Insulin resistance	hsa04931	13	1.04×10^{-15}
Calcium signaling pathway	hsa04020	13	4.16×10^{-13}
ErbB signaling pathway	hsa04012	13	8.26×10^{-17}
Neurotrophin signaling pathway	hsa04722	13	3.27×10^{-15}
Sphingolipid signaling pathway	hsa04071	13	3.61×10^{-15}
NF-kappa B signaling pathway	hsa04064	13	1.58×10^{-16}
Chemokine signaling pathway	hsa04062	13	6.56×10^{-13}
Insulin signaling pathway	hsa04910	11	1.11×10^{-11}
Serotonergic synapse	hsa04726	11	1.25×10^{-12}
Dopaminergic synapse	hsa04728	10	1.28×10^{-10}
Rap1 signaling pathway	hsa04015	10	1.08×10^{-8}
Adrenergic signaling in cardiomyocytes	hsa04261	10	4.51×10^{-10}
VEGF signaling pathway	hsa04370	10	1.28×10^{-13}

3 讨论

高血压的发病与遗传、饮食、应激、肥胖等多种因素相关。现代医学认为高血压主要发病机制与交感神经系统亢进、肾素-血管紧张素-醛固酮系统激活、水钠潴留、膜离子转运异常及血管内皮功能紊乱等直接相关，这些功能或系统长期异常，可引起血管舒缩功能失调、血管壁增厚、外周阻力增加等而造成血压升高。高血压病血压升高机制高度复杂，无法根治，后期或严重时需多药合用，且降低高血压并发症作用不显著^[11]。

研究还表明仅约 10%~20%为单纯高血压患者，绝大多数高血压患者合并有不同形式的代谢

紊乱，高血压伴血糖异常约占高血压患者的 55.3%，伴血脂异常约占 69.5%等^[11-12]；通过改善代谢危险因素有助于血压的控制^[12]。代谢性高血压已成为高血压的主体，而现有的一线抗高血压药多针对血压降低的具体环节，对代谢异常的调节作用较弱，使高血压治疗预后不佳^[11]。中药治疗高血压的研究日趋增多，降血压的同时还可改善代谢异常和靶器官损伤，系统、整体疗效特色优势明显^[11,13]。

中医将高血压归属为“眩晕”“头痛”范畴，其主要病机为肝火上炎、痰湿内阻、瘀血内阻、阴虚阳亢、肾精不足、气血两虚、冲任失调等^[14]；主要以清热泻火、平肝潜阳、活血化瘀、滋补肝肾等治则治疗高血压。济脉通是由夏枯草、野菊花和决明子组成的中药复方制剂；3味单药都有清火或清热之功效，夏枯草清肝泻火、野菊花泻火平肝、决明子清热明目，且三药均可主治头痛眩晕。三药合用具有清肝热、平肝阳、养肝肾之功效，主治肝火亢盛型高血压。中药尤其是复方中药化学成分复杂，通过多途径、多靶点、系统性发挥药效。网络药理学是基于“药物-靶点-基因-疾病”相互作用网络，系统综合地观察药物对疾病网络的干预与影响，可整体性、系统性揭示中药对机体协同作用的物质基础和效应机制。本研究采用网络药理学方法，进一步挖掘济脉通潜在降压机制和物质基础，为济脉通降压机制研究提供一定理论参考。

通过 ADME 分析筛选(OB ≥ 30%及 DL ≥ 0.18),得到 33 种性质较好的化合物(野菊花 12 种、决明子 14 种、夏枯草 11 种),其中木犀草素、蒙花苷、芦荟大黄素、槲皮素、山奈酚等具有抗高血压相关作用。前期研究表明木犀草素和蒙花苷对 SHR 大鼠具有协同降压作用^[7]；木犀草素还可抑制血管紧张素 II 导致的血管重构^[8]；蒙花苷能抑制 TNF-α 对血管内皮细胞的炎症损伤^[15]。另有研究表明，山奈酚可内皮依赖性舒张血管^[16]，并可抑制血管紧张素 II 导致的血管重构^[17]；芦荟大黄素能剂量依赖性降低血压^[18]。提示，济脉通中多成分降血压活性的协同作用，可能是济脉通降血压的物质基础；后期可进行更多济脉通抗高血压有效成分如山奈酚(源于夏枯草)、芦荟大黄素(源于决明子)等与木犀草素和蒙花苷等(源于野菊花)之间协同降血压的药效和机制研究，进一步探索

济脉通抗高血压药效机制和物质基础。

通过分析预测出的靶点和通路发现, 济脉通(得到 33 种性质较好的化合物)治疗高血压预测的靶点(148 个共有靶基因)、关键通路 31 条(≥ 10 个靶标共同富集)多数与调节钙钠离子转运、血管内皮功能、炎症反应、糖脂代谢等相关。钙钠离子转运异常是高血压发病的重要发病机制, 钙通道抑制剂(如地平等)是常用的一线降压药; 济脉通中活性成分槲皮素、金合欢素^[19]、豆甾醇可作用 β_1 AR、 β_2 AR 靶点, 影响钙离子转运; 研究也表明槲皮素是天然的 L 型钙通道抑制剂, 有利于血管平滑肌舒张^[20], 降低血压。血管内皮功能的紊乱不仅会导致血管舒缩失衡, 还会促进血管重构、增生等血管病变, 促进高血压的发生发展。内皮依赖性一氧化氮合酶(eNOS), 及其在内皮细胞介导生成的 NO 对保护血管内皮功能发挥最核心的作用; 病理性阻断 eNOS 会导致 eNOS/NO 信号途径紊乱, 机体血压升高、血管病变^[21]; 而外源性补充 NO(如硝酸甘油、硝普钠等)会迅速使血管舒张^[15], 血压降低。分析所得的野菊花和夏枯草共有成分槲皮素能作用于 NOS3(eNOS 的靶基因), 与槲皮素促进内皮细胞 eNOS 表达的研究结果相吻合^[22]。

高血糖和血脂异常均不仅可各自损伤血管, 还可与代谢性炎症交互作用进一步损伤血管; 血管局部的胰岛素抵抗, 可导致 NO/ET-1 分泌失衡, 导致血管损伤, 血压升高。分析所得的木犀草素(野菊花和夏枯草共有)、槲皮素(野菊花和夏枯草共有)、山奈酚等对 INSR(胰岛素受体 IRS 的靶基因)和 PPARG(PPAR γ 的靶基因)等与糖脂代谢相关的靶基因有作用。研究也表明木犀草素可通过抑制肝脏 PPAR γ 表达(促进脂肪 PPAR γ)及改善胰岛素抵抗, 改善高脂饮食致肥胖小鼠的糖脂代谢和脂肪肝病^[23]。槲皮素可使 IRS-1 丝氨酸/酪氨酸位点磷酸化, 促进胰岛素激活 Akt/eNOS/NO 通路, 改善血管胰岛素抵抗导致的血管内皮功能紊乱^[24]; 山奈酚可通过抑制 IKK/NF- κ B 炎症损伤 IRS-1 改善 II 型糖尿病大鼠的胰岛素抵抗, 并对其具有调血脂作用^[25]。另外分析所得槲皮素、木犀草素、山奈酚等可作用于多个炎症因子和黏附因子(如 CRP、TNF- α 、IL-1、VCAM-1 和 ICAM-1 等)改善血管稳态, 与研究报道相符^[26-29]。一个靶点会被多条通路影响, 如分析预测的济脉通影响的通路 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic

complications、PI3K-Akt signaling pathway 及 TNF signaling pathway 等都可影响胰岛素和 eNOS 活性^[26-27]。这些都说明济脉通可通过多成分、多靶点、多通路而产生协同降血压作用。

综上所述, 本研究通过网络药理学方法, 初步分析济脉通在防治高血压方面潜在“活性成分-靶点-通路”作用机制。通过对靶点和通路分析, 揭示济脉通主要通过调节血管内皮功能、炎症反应、钙钠离子转运、糖脂代谢等而产生多靶点、多通路的降压作用, 预测出的结果与实验研究大部分一致。另一方面, 网络药理学作为一种现代研究方法, 同代谢组学、谱效关系等方法一样, 可多层面、多角度寻找能够表征药品质量的化学标志物, 并以此作为药材或制剂的质量标准。本研究采用网络药理学方法, 针对济脉通, 结合 TCMSP 数据库和 ADME 分析筛选, 得到 33 种性质较好的化合物(野菊花 12 种、决明子 14 种、夏枯草 11 种)。该研究结果可结合课题组前期对济脉通 HPLC 指纹图谱、入血成分和抗高血压药效物质等分析, 进一步指导、完善济脉通制剂的整体质量控制。但由于数据库和已有实验数据构成的网络模型并不能完全揭示药物在生物体内状况, 因此分析出的结果还需相应的药效及机制实验进一步探索验证^[30]。

REFERENCES

- [1] WANG Z, CHEN Z, ZHANG L, et al. Status of hypertension in China: Results from the China hypertension survey, 2012-2015 [J]. *Circulation*, 2018, 137(22): 2344-2356.
- [2] PANG M X, YU F, LV G Y, et al. Effect of compound Flos Chrysanthemi Indici and Semen Cassiae in contracting isolated thoracic aorta rings in the rats [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*(中药药理与临床), 2013, 29(5): 118-121.
- [3] CHEN S H, LV G Y, SHI B, et al. Studies on mechanism of antihypertension effect of extracts from Compound Jueming [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2004, 35(2): 180-182.
- [4] ZHANG Y P, CHEN S H, LV G Y, et al. Effective composition of Flos Chrysanthemi on blood hemorheology effect in spontaneously hypertensive rats [J]. *J Zhejiang Chin Med Univ*(浙江中医药大学学报), 2013, 37(4): 370-374.
- [5] 吕良忠, 方晴霞, 余晟, 等. 济脉通和硝苯地平对清醒肾性高血压大鼠血压的影响[J]. *浙江中医药大学学报*, 2009, 33(6): 766-768.
- [6] CHEN S H, LIU X P, SU M X, et al. Effect of Jimaitong tablet on blood pressure and related active substances of rats with long-term drinking [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2014, 45(9): 1278-1283.
- [7] LV G Y, ZHANG Y P, GAO J L, et al. Combined antihypertensive effect of luteolin and buddleoside enriched extracts in spontaneously hypertensive rats [J]. *J*

- Ethnopharmacol, 2013, 150(2): 507-513.
- [8] SU J, XU H T, YU J J, et al. Luteolin ameliorates hypertensive vascular remodeling through inhibiting the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015, 2015(2): 364876.
 - [9] LOU Z H, LV G Y, YAN M Q, et al. Determination of chlorogenic acid in Xiakucuo Complex Prescription Tablet by HPLC [J]. Chine Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2011, 29(6): 1250-1252.
 - [10] YAN M Q, LOU Z H, YANG L P, et al. Study on absorbed components in serum after oral administration of Compound Jueming Extract in rats [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2016, 34(3): 575-578.
 - [11] LV G Y, SU J, Chen S H. Current situation and prospect of antihypertensive pharmacology of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Pharm Toxicol(中国药理学与毒理学杂志), 2016, 30(12): 1301-1311.
 - [12] ZHU Z, XIONG S, LIU D. The gastrointestinal tract: an Initial organ of metabolic hypertension? [J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 38(5): 1681-1694.
 - [13] LI B, YANG Z B, LEI S S, et al. Beneficial Effects of paeoniflorin enriched extract on blood pressure variability and target organ damage in spontaneously hypertensive rats [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2017, 2017(2): 5816960.
 - [14] WANG L Y, LIU X F, LIU M Y, et al. Interpretation of hypertension guidelines of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2015, 30(10): 3577-3579.
 - [15] WU Y J, SU J, HUANG P J, et al. Buddleoside prevents TNF- α -induced human aortic endothelial cells inflammatory injury through inhibiting TLR4/I κ B α /NF- κ B signaling pathway [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2017, 34(5): 637-643.
 - [16] XU Y C, LEUNG S W S, LEUNG G P H, et al. Kaempferol enhances endothelium-dependent relaxation in the porcine coronary artery through activation of large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels [J]. Br J Pharmacol, 2015, 172(12): 3003-3014.
 - [17] CHEN X, ZHANG L, WU G L, et al. Kaempferol attenuates angiotensin II-induced vascular fibrosis involving the jnk and ERK1/2 pathway [J]. Int J Clin Exp Med, 2016, 9(2): 2407-2414.
 - [18] LI M, DU Z M. Research progress on pharmacological effects of aloe-emodin [J]. Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志), 2015(9):765-768.
 - [19] WANG X, CHANG H, JIANG J, et al. Virtual screening research of high frequency antihypertensive traditional Chinese medicinal constituents worked on β 2-AR [J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2015, 17(11): 1151-1154.
 - [20] ZHOU X M, YAO H, XIA M L, et al. Comparison of vasodilatation effect between quercetin and rutin in the isolated rat thoracic aorta [J]. J Zhejiang Univ(Med Sci)(浙江大学学报: 医学版), 2006, 35(1): 29-33.
 - [21] HILGERS R H, KUNDUMANI-SRIDHARAN V, SUBRAMANI J, et al. Thioredoxin reverses age-related hypertension by chronically improving vascular redox and restoring eNOS function [J]. Sci Transl Med, 2017, 9(376): 1-14.
 - [22] YOU J J, ZHAO D Y. The Effect of quercetin on palmitic acid induced EA.hy926 cell eNOS synthesis effect [J]. Diabetes New World, 2016, 19(23): 1-3.
 - [23] KWON E Y, JUNG U J, PARK T, et al. Luteolin attenuates hepatic steatosis and insulin resistance through the interplay between the liver and adipose tissue in mice with diet-induced obesity [J]. Diabetes, 2015, 64(5):1658-1669.
 - [24] GUO X D, ZHANG D Y, GAO X J, et al. Quercetin and quercetin-3-O-glucuronide are equally effective in ameliorating endothelial insulin resistance through inhibition of reactive oxygen species-associated inflammation [J]. Mol Nutr Food Res, 2014, 57(6):1037-1045.
 - [25] LUO C, YANG H, TANG C, et al. Kaempferol alleviates insulin resistance via hepatic IKK/NF- κ B signal in type 2 diabetic rats [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 28(1): 744-750.
 - [26] BHASKAR S, SUDHAKARAN P R, HELEN A. Quercetin attenuates atherosclerotic inflammation and adhesion molecule expression by modulating TLR-NF- κ B signaling pathway [J]. Cell Immunol, 2016, 310:131-134.
 - [27] MAO Z, GAN C, ZHU J, et al. Anti-atherosclerotic activities of flavonoids from the flowers of *Helichrysum arenarium* L. MOENCH through the pathway of anti-inflammation [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2017, 27(12): 2812-2817.
 - [28] ZHOU Y J, WANG H, LI L, et al. Inhibitory effect of kaempferol on inflammatory response of lipopolysaccharide-stimulated human mast cells [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2015, 50(6): 702-707.
 - [29] PALACZ W M, BORKOWSKA P, PAUL S M, et al. Effect of apigenin, kaempferol and resveratrol on the gene expression and protein secretion of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interleukin-10 (IL-10) in RAW-264.7 macrophages [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 93: 1205-1212.
 - [30] ZHOU W X, CHENG X R, ZHANG Y X. Network pharmacology-a new philosophy for understanding of drug action and discovery of new drugs [J]. Chin J Pharm Toxicol(中国药理学与毒理学杂志), 2012, 26(1): 4-9.

收稿日期: 2018-03-30

(本文责编: 曹粤锋)