

引用:孙布尔,陈秀红,周双宝,白春林.基于网络药理和动物实验探讨蒙药十三味乌兰汤对原发性高血压大鼠的作用机制[J].中医药导报,2026,32(4):55-66.

## 基于网络药理和动物实验探讨蒙药十三味 乌兰汤对原发性高血压大鼠的作用机制

孙布尔<sup>1</sup>,陈秀红<sup>2</sup>,周双宝<sup>3</sup>,白春林<sup>1</sup>

(1.内蒙古医科大学,呼和浩特 内蒙古 010110;

2.内蒙古医科大学内蒙古临床医学院/内蒙古自治区人民医院,呼和浩特 内蒙古 010010;

3.呼和浩特市中医蒙医医院,呼和浩特 内蒙古 010020)

**[摘要]** 目的:采用网络药理学、分子对接技术和动物实验,探讨蒙药十三味乌兰汤(Wulan Shisanwei Tang, WLSSWT)对原发性高血压(EH)大鼠的作用机制。方法:借助中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)、中药数据库(HERB)及相关文献,检索WLSSWT的活性成分及其作用靶点,利用在线孟德尔遗传人类数据库(OMIM)、基因卡片数据库(GeneCards)、DrugBank数据库和治疗靶点数据库(TTD)检索EH的相关靶点并取两者交集,构建“活性成分-靶点”网络图,对WLSSWT与EH共有靶点进行蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)分析、京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析及基因本体(GO)富集分析;运用AutodockTools 1.5.6软件完成活性成分同关键靶点的分子对接;利用PyMOLWin 2.4.0软件实现相关可视化。将60只SD大鼠随机分为空白组、模型组、WLSSWT低剂量(0.27 g/kg)组、WLSSWT中剂量(0.54 g/kg)组、WLSSWT高剂量(1.08 g/kg)组、缬沙坦(28.8 mg/kg)组,每组各10只;除空白组外,其余组采用N-硝基-L-精氨酸甲酯盐酸盐(L-NAME)溶液持续灌胃的方式建立高血压模型大鼠;造模成功后,空白组和模型组给予等量的生理盐水,其余组分别予以WLSSWT及缬沙坦治疗,治疗周期为4周;观察大鼠血压,苏木精-伊红(HE)染色观察心肌细胞的病理变化,蛋白质印迹(Western blotting)法检测心肌组织磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)、蛋白激酶B(Akt)蛋白表达,酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清中内皮素-1(ET-1)、一氧化氮(NO)含量。结果:WLSSWT的有效成分为表没食子儿茶素没食子酸酯、槲皮素、虫胶酸、山柰酚、木犀草素等;研究共获得362个交集靶点,关键靶点涉及PI3K调节亚基1(PIK3R1)、丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1)、表皮生长因子受体(EGFR)、雌激素受体1(ESR1)、丝氨酸/苏氨酸激酶1(Akt1)、热休克蛋白90 $\alpha$ 家族A类成员1(HSP90AA1)、细胞周期蛋白依赖性激酶4(CDK-4)、细胞周期蛋白依赖性激酶2(CDK-2)、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子1A(CDKN1A)、受体酪氨酸蛋白激酶2(ERBB2)、细胞周期蛋白D1(CCND1)、细胞周期蛋白A2(CCNA2)、肿瘤蛋白p53(TP53)、肉瘤病毒癌基因(SRC)、BCL2样蛋白1(BCL2L1)、保守螺旋环螺旋广泛存在激酶(CHUK)等;分子对接结果表明核心活性成分和关键靶点之间具有较高的结合亲和力。动物实验结果显示,造模后WLSSWT各组、缬沙坦组及模型组大鼠血压明显高于空白组( $P<0.01$ ),给药后WLSSWT各组、缬沙坦组大鼠血压明显低于模型组( $P<0.01$ )。与空白组比较,模型组大鼠心肌组织整体结构中重度异常,组织心肌纤维排列不规则,可见部分心肌纤维间隙增大,组织间质可见轻微淤血,组织可见少量炎症细胞浸润;模型组大鼠血清NO水平显著降低( $P<0.01$ ),ET-1水平显著升高( $P<0.01$ ),心肌组织Akt、PI3K表达量显著升高( $P<0.01$ )。与模型组比较,WLSSWT各组、缬沙坦组大鼠显著改善上述心脏结构异常,血清NO水平明显升高( $P<0.01$ ),ET-1水平明显降低,心肌组织Akt、PI3K表达量明显降低( $P<0.01$ )。结论:WLSSWT可能通过调控PI3K/Akt信号通路缓解高盐诱导的高血压及心肌肥厚,WLSSWT对EH发挥作用时,呈现出多成分、多靶点及多途径协同的特性。

**[关键词]** 原发性高血压;十三味乌兰汤;蒙药;作用机制;网络药理学;分子对接;大鼠

**[中图分类号]** R291.208 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2026)04-0055-012

**DOI:** 10.13862/j.cn43-1446/r.2026.04.010

Investigation of the Mechanism of Mongolian Medicine Wulan Shisanwei Tang (十三味乌兰汤) on Rats with Essential Hypertension Based on Network Pharmacology and Animal Experiments

SUN Buer<sup>1</sup>, CHEN Xiuhong<sup>2</sup>, ZHOU Shuangbao<sup>3</sup>, BAI Chunlin<sup>1</sup>

通信作者:陈秀红,女,主任医师,研究方向为蒙医临床基础研究

(1.Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia 010110, China; 2.Inner Mongolia Clinical Medical College, Inner Mongolia Medical University/Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot Inner Mongolia 010010, China; 3.Hohhot Hospital of Traditional Chinese Medicine and Mongolian Medicine, Hohhot Inner Mongolia 010020, China)

[Abstract] Objective: To investigate the mechanism of Mongolian medicine Wulan Shisanwei Tang (WLSSWT) on essential hypertension (EH) rats by network pharmacology, molecular docking technology, and animal experiments. Methods: Utilizing the Traditional Chinese Medicine System Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP), the Chinese Herbal Medicine Database (HERB), and related literature, the active components and their target sites of WLSSWT were identified. The online Mendelian Human Genetics Database (OMIM), GeneCards, DrugBank, and the Target to Drug (TTD) database were employed to search for EH-related target sites, and the intersection of the two was constructed to form an "active component-target" network diagram. Protein-protein interaction (PPI) analysis, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis, and Gene Ontology (GO) enrichment analysis were performed on the shared target sites between WLSSWT and EH. Molecular docking between active components and key targets was completed using AutodockTools 1.5.6 software. Visualization was achieved with PyMOLWin 2.4.0 software. A total of 60 rats were randomly divided into blank group, model group, WLSSWT low dose (0.27 g/kg) group, WLSSWT medium dose (0.54 g/kg) group, WLSSWT high dose (1.08 g/kg) group, and Valsartan (28.8 mg/kg) group, 10 rats in each. Except for the blank group, essential hypertension rat model was established in remaining groups by continuous intragastric administration of N-nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride (L-NAME) solution. After successful modeling, the blank group and the model group were given an equal amount of normal saline, while the remaining groups were treated with WLSSWT and valsartan, respectively, for a treatment period of 4 weeks. Blood pressure in rats was observed, and HE staining was performed to examine pathological changes in myocardial cells. Western blotting was used to detect the expression of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) and protein kinase B (Akt) in myocardial tissue. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was employed to measure the levels of endothelin-1 (ET-1) and nitric oxide (NO) in serum. Results: The active components of WLSSWT include epigallocatechin gallate, quercetin, gallic acid, kaempferol, and luteolin. A total of 362 intersecting targets were identified, with key targets involving phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit 1 (PIK3R1), mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1), epidermal growth factor receptor (EGFR), estrogen receptor 1 (ESR1), serine/threonine kinase 1 (Akt1), heat shock protein 90 $\alpha$  family member 1A (HSP90AA1), cyclin-dependent kinase 4 (CDK-4), cyclin-dependent kinase 2 (CDK-2), cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (CDKN1A), receptor tyrosine kinase 2 (ERBB2), cyclin D1 (CCND1), cyclin A2 (CCNA2), tumor protein p53 (TP53), sarcoma virus oncogene (SRC), BCL2-like protein 1 (BCL2L1), and conserved helical-loop-helical ubiquitous kinase (CHUK). Molecular docking results demonstrated high binding affinity between the core active components and key targets. Animal experiments showed that after modeling, blood pressure in the WLSSWT group, Valsartan group, and model group rats was significantly higher than that in the blank group ( $P<0.01$ ), while after administration, blood pressure in the WLSSWT group and Valsartan group rats was significantly lower than that in the model group ( $P<0.01$ ). Compared with the blank group, the model group exhibited moderate structural abnormalities in myocardial tissue, with irregular arrangement of myocardial fibers, increased interstitial spaces in some myocardial fibers, mild interstitial congestion, and minimal inflammatory cell infiltration. Serum NO levels were significantly reduced in model group ( $P<0.01$ ), while ET-1 levels were significantly elevated ( $P<0.01$ ), and the expression of Akt/PI3K in myocardial tissue was significantly increased in model group ( $P<0.01$ ). Compared with the model group, the WLSSWT group and the Valsartan group showed significant improvement in the aforementioned cardiac structural abnormalities, with markedly elevated serum NO levels ( $P<0.01$ ), significantly reduced ET-1 levels, and significantly decreased Akt/PI3K expression in myocardial tissue ( $P<0.01$ ). Conclusion: WLSSWT may alleviate high-salt-induced hypertension and myocardial hypertrophy by regulating the PI3K/Akt signaling pathway. When exerting its effects on EH, WLSSWT demonstrates a multi-component, multi-target, and multi-pathway synergistic characteristic.

[Keywords] essential hypertension; Wulan Shisanwei Tang; Mongolian medicine; mechanism of action; network pharmacology; molecular docking; rat

原发性高血压(essential hypertension, EH)旧称高血压病,是一种以全身动脉压显著升高为特征的临床反应综合征。其是当今社会危害人类健康的最常见的心血管疾病之一,长期高血压会产生严重的心、脑、肾等多器官及功能的损伤,产生相应的并发症,如心力衰竭、脑梗死、脑出血和心肌梗死等。《中国心血管健康与疾病报告2022》显示,我国高血压患病人数已达2.45亿<sup>[1]</sup>。预计到2030年,高血压每年导致约2350万人死亡<sup>[2]</sup>。当前全球数据显示,高血压相关死亡约940万例,占全部死亡17.8%,而我国该比例更升至24.6%<sup>[3]</sup>。据预测到2025年,全球高血压患病人数预计突破15.6亿<sup>[4-5]</sup>。尽管高血压诊疗技术日新月异,我国仍有近半数患者(48.4%)不知自己患病;确诊者中不足一半(45.8%)接受治疗,真正将血压控制在理想范围的仅占16.8%<sup>[6-7]</sup>。在高血压临床分型中, EH患者约占临床病例的99%,而继发性高血压患者仅占1%的病例<sup>[8]</sup>。由于EH起病隐匿,病程进展缓慢,缺乏特殊临床表现,导致诊断及治疗延迟,严重威胁我国居民生命安全,成为当今我国社会重要的公共卫生问题<sup>[9]</sup>。EH的病理机制具有高度复杂性,涉及神经调节异常及血管内皮功能障碍等多因素相互作用,其病理生理机制仍需要深入探究。目前临床实践主要以降血压为核心,旨在降低心血管事件及靶器官损害发生风险。

根据蒙医基础理论,高血压是由于体内“赫依”“琪素”相搏继而影响赫依、琪素循经,导致三根(“赫依”“希拉”“巴大千”)七素的平衡失调,引起消化三能(“腐熟巴大千”“消化希拉”“调火赫依”)紊乱,使得胃火逐渐衰退,脾虚不运,肝失疏泄,糟粕不消化症进一步加重,进而引起全身各部分热能衰竭,导致七素之分解吸收的一系列代谢活动障碍,精华变得浑浊,进入精华之脉道,痰浊滞留血脉,久而成瘀,血行不畅,赫依与血相搏,最终引发高血压及心血管疾病的一种具有血、希拉偏盛且热性等病理特征的黑脉病<sup>[10]</sup>。

十三味乌兰汤(Wulan Shisanwei Tang, WLSSWT)是蒙医临床常用治疗EH的蒙药复方制剂之一,具有清热凉血、促进血液循环消散瘀滞、降血压等功效。有研究结果显示, WLSSWT中活性成分最多的是黄酮类化合物,具有保护神经、预防心肌缺血、降压、抗炎症等作用,而WLSSWT中黄酮类化合物包括槲皮素、山柰酚、金合欢素、柳川鱼黄素等,它主要存在于WLSSWT组方药物苦参、土木香、悬钩子木、山柰、川楝子、枇杷叶和金莲花等多种单药中<sup>[11]</sup>,且在临床也取得明显疗效<sup>[12-14]</sup>。然而目前对于蒙药WLSSWT的各项研究仍处于探索阶段,缺乏基础方面研究。所以本研究通过WLSSWT对N-硝基-L-精氨酸甲酯盐酸盐(L-NAME)诱导的高血压大鼠的作用机制研究,旨在探讨WLSSWT治疗高血压的可能机制和新的研究思路。网络药理学是研究草药与疾病之间复杂关联的有效方法,故本研究拟通过整合网络药理学、分子对接技术及动物实验验证来探讨WLSSWT中多成分通过多靶点和多通路发挥协同作用的机制和治疗EH潜在的药效物质基础,为后续相关研究和临床应用提供理论依据<sup>[15]</sup>。

## 1 材料与方

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 选用60只SPF级雄性Sprague-Dawley(SD)大鼠,体质量(200±20)g,周龄6~8周,由斯备福(北京)生物技

术有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(京)2024-0001,动物质量合格证号:110324241101071415。大鼠饲养于内蒙古医科大学蒙医传统疗法实验中心清洁级动物室,动物使用许可证号:SYXK(蒙)2020-0003,室温22~25℃,湿度40%~60%,自由摄食饮水。本研究涉及的动物实验方案及操作规程已通过内蒙古自治区人民医院实验动物伦理委员会审批(批准号:202412411K)。

1.1.2 药物 蒙药十三味乌兰汤(药物组成:土木香、苦参、茜草、山柰、梔子、橡子、诃子、川楝子、枇杷叶、金莲花、紫草茸、悬钩子木及紫草)购自内蒙古蒙药股份有限公司(15g/袋,批号:231167);缙沙坦分散片购自山东益健药业有限公司(80mg/片,批号:231003);L-NAME购自上海源叶生物科技有限公司(批号:S20013)。

1.1.3 主要试剂与仪器 大鼠内皮素1(ET-1)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(批号:241107163R)、大鼠一氧化氮(NO)ELISA试剂盒(批号:240914146R)均购自江苏酶免实业有限公司;蛋白提取液(批号:250316)、蛋白酶抑制剂(批号:250115)、BCA蛋白浓度测定试剂盒(批号:250224)、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)预制胶套试剂盒(批号:241106)、二抗(批号:250106)均购自北京百奥思科生物医学技术有限公司;蛋白分子量marker(批号:250316)购自北京中生奥邦生物科技有限公司;蛋白裂解液(批号:7208142)购自碧云天生物技术有限公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(批号:20241213)购自江苏亲科生物研究中心有限公司;磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)抗体(批号:10004156)、蛋白激酶B(Akt)抗体(批号:10004247)均购自武汉三鹰生物技术有限公司。

微量加样器(大龙兴创实验仪器有限公司,型号:Top Pette);电热恒温水浴槽(上海一恒科学仪器有限公司,型号:HWS-24);脱色摇床(海门其林贝尔仪器制造有限公司,型号:TS-100);电泳仪(北京百晶生物技术有限公司,型号:BG-subMIDI);低温离心机(北京兰杰柯科技有限公司,型号:CF1524R);化学发光成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司,型号:ChemiScope 6100);生物组织摊烤片机(型号:YD-AB)全自动生物组织脱水机(型号:YD-12PS)均购自金华市益迪医疗设备有限公司;智能热板仪(成都秦盟软件有限公司,型号:RB-200);无创尾动脉血压测量分析系统(北京众实迪创生物科技有限公司,型号:ZS-Z)。

### 1.2 方法

1.2.1 WLSSWT活性成分及其可能作用靶点的筛选 蒙药WLSSWT由土木香、苦参、茜草、山柰、梔子、橡子、诃子、川楝子、枇杷叶、金莲花、紫草茸、悬钩子木及紫草等13种蒙药构成,通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)(<https://tcmsp.91medicine.cn/#/home>)和中药数据库(HERB)(<http://herb.ac.cn/>)查询以上蒙药活性成分。无法从TCMSP和HERB数据库中获得化学成分的单药,对相关材料文献进行查阅。基于TCMSP数据库建立蒙药特征性活性成分的筛选策略,设定口服生物利用度(OB≥30)与类药性(DL≥0.18)双重药代动力学参数作为纳入阈值。经筛选的活性成分借助简化分子线性输入规范系统(SMILE)完成结构转换,凭借所获

SMILE编码输入瑞士靶点预测数据库(Swiss Target Prediction Database)开展靶点预测,最终以概率阈值>0.1为标准确定潜在作用靶点。

1.2.2 EH疾病靶点获取 以“primary hypertension”为关键词,基于基因卡片数据库(GeneCards, <https://www.genecards.org/>)进行初步检索,设定筛选阈值为相关性评分(relevance score) ≥ 10;同时联合检索在线孟德尔遗传人类数据库(OMIM, <https://www.omim.org/>)、DrugBank 数据库 (<https://go.drugbank.com/>)及治疗靶点数据库(TTD, <https://db.idrblab.net/ttd/>)等多维度数据,通过交叉验证确定与EH具有关联的疾病作用靶点。

1.2.3 构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络 通过生物信息学方法构建确定关键靶点并构建PPI网络,将筛选出的共有靶点上传至STRING网络平台 (<https://cn.string-db.org/>),指定物种为人,将靶点高置信度相互作用阈值(interaction score)设为>0.9,并去除无连接的靶点,将分析结果以PNG图像和TSV结构化数据格式保存并导出。运用Cytoscape 3.8.0工具开展PPI网络可视化分析,运用软件内置的Cytoscape网络分析模块实施拓扑参数分析,基于“度值”评估算法对靶点进行重要性排序,选取拓扑参数较高的核心节点作为关键调控靶标。

1.2.4 京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析及基因本体(GO)富集分析 为进一步研究十三味乌兰汤治疗EH的分子机制,利用R语言软件包对十三味乌兰汤治疗EH的共同靶标进行KEGG和GO分析。根据KEGG信号通路数据库,针对基因富集显著性水平(以 $-\lg$ 转化P值表征),选取置信度最高的前20条通路生成气泡图。GO注释体系中,则从分子功能(MF)、生物学过程(BP)和细胞组分(CC)3个角度进行多维分析,分别提取各维度显著性排序前10的特征条目进行绘图。

1.2.5 分子对接验证 通过计算生物学手段验证核心活性成分与关键靶点的互作机制。PubChem数据库获取活性成分

2D结构(SDF格式),通过ChemBio3D优化为mol2格式,再通过AutodockTools 1.5.6转换为pdbqt格式保存。从通用UniProt数据库检索人源(homo sapiens)蛋白,获取唯一稳定的Entry标识符,选定靶点的Entry到蛋白质结构数据库(protein data bank, PDB)下载3D结构(pdb格式)。经PyMOLWin 2.4.0移除水分子及小分子配体,AutodockTools 1.5.6加全氢处理后,生成pdbqt格式文件。利用AutodockTools 1.5.6设定对接位点坐标参数并输出gpf文件,调用R语言包计算结合能。PyMOLWin 2.4.0对结果进行三维渲染,完成分子互作模式的可视化分析。

1.2.6 动物造模、分组及干预给药 根据人与SD大鼠等效剂量换算公式:蒙药WLSSWT临床最大剂量为3 g/d,缙沙坦成人最大剂量为320 mg/d。大鼠用药剂量=人用药剂量×W, W=6.3,成人体重按70 kg计算<sup>[6]</sup>,计算出蒙药WLSSWT低、中、高剂量分为0.27、0.54、1.08 g/kg,缙沙坦剂量为28.8 mg/kg。

实验大鼠适应性喂养7 d后,采用区组随机数字表法分为空白组、模型(L-NAME 18 mg/kg)<sup>[17-19]</sup>组、WLSSWT低剂量(L-NAME+WLSSWT 0.27 g/kg)组、WLSSWT中剂量(L-NAME+WLSSWT 0.54 g/kg)组、WLSSWT高剂量(L-NAME+WLSSWT 1.08 g/kg)组、缙沙坦(L-NAME+缙沙坦28.8 mg/kg)组,每组纳入10只。除空白组外,其余组采用L-NAME溶液持续口服灌胃的方式,连续5周诱导建立高血压模型大鼠。使用无创尾动脉血压监测系统对血压测定,若大鼠收缩压 ≥ 140 mm Hg<sup>[20]</sup>(1 mm Hg=0.133 kPa)或舒张压 ≥ 90 mm Hg<sup>[21]</sup>即表示造模成功。造模成功后,除模型组和空白组外,其余组分别予以WLSSWT及缙沙坦治疗,治疗周期为4周。与此同时,空白组和模型组每日则给予等量的生理盐水。

1.2.7 样本采集 末次干预结束后,大鼠禁食12 h后用戊巴比妥钠试剂(2.3 mg/kg)进行腹腔注射麻醉大鼠,待大鼠完全麻醉时,解剖大鼠,取腹主动脉血,4 °C下以3 000×g离心15 min。

表 1 TCMSMP 数据库中 WLSSWT 的重要化合物相关信息

蒙药名	MOL 编号	化合物	生物利用度/%	类药性
川楝子(Chinaberry Fruit)	MOL002056	(E)-3-[(2S,3R)-2-(4-羟基-3-甲氧基-苯基)-7-甲氧基-3-羟甲基-2,3-二氢苯并呋喃-5-基]丙烯醛(E)-3-[(2S,3R)-2-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-7-methoxy-3-methylol-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl]acrolein)	54.73	0.39
	MOL002058	皮树脂醇(Medioresil)	57.20	0.61
诃子(Medicine Terminalia)	MOL006826	诃子酸(Chebulic acid)	71.99	0.31
	MOL009136	霹雳萝芙辛碱(Peraksine)	82.58	0.78
苦参(Lightyellow Sophora Root)	MOL006596	大豆抗毒素(Glyceollin)	97.27	0.75
	MOL000456	菜豆素(Phaseolin)	78.20	0.72
	MOL001484	山槐素(Inermine)	75.18	0.53
枇杷叶(Loquat Leaf)	MOL012583	(2R,3R,4S)-2-(3,4-二羟基苯基)-4-(2,4,6-三羟基苯基)色满-3,5,7-三醇((2R,3R,4S)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-4-(2,4,6-trihydroxyphenyl)chroman-3,5,7-triol)	72.40	0.64
	MOL012577	2R,3R,10S)-2,10-双(3,4-二羟基苯基)-3,5-二羟基-3,4,9,10-四氢-2H-吡喃并[6,5-h]色烯-8-酮((2R,3R,10S)-2,10-bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5-dihydroxy-3,4,9,10-tetrahydro-2H-pyrano[6,5-h]chromen-8-one)	65.26	0.92
茜草(India Madder)	MOL006139	1,3-二甲氧基-2-羧基蒽醌(1,3-dimethoxy-2-carboxyanthraquinone)	102.89	0.26
	MOL006141	1,3-二羟基-2-羟基甲基蒽醌-3-O-木糖基(1→6)-糖苷_qt(1,3-dihydroxy-2-hydroxymethylanthraquinone-3-O-xylosyl(1→6)-glucoside_qt)	71.27	0.27
山柰(Galangal)	MOL004564	山柰酚(Kaempferid)	73.41	0.27
栀子(Gardenia)	MOL004561	苏丹Ⅲ(Sudan III)	84.06	0.59
	MOL007245	3-甲基枯否醇(3-methylkempferol)	60.16	0.26
紫草(Lithospermum)	MOL007728	千层纸素A(Lithospermidin A)	75.07	0.38
	MOL007714	1-甲氧基乙酰紫草素(1-methoxyacetylshikonin)	73.09	0.29
金莲花Globeflower	MOL005842	柳穿鱼黄素(Pectolarigenin)	41.16	0.30
	MOL000359	甾甾醇(Sitosterol)	36.91	0.75

用移液枪仔细收集上清液,放置在-80℃冰箱保存。之后基于快速减少动物痛苦的原则进行断头法处死,然后取心脏组织,经生理盐水洗净,迅速放入已预冷的EP管中,迅速将标本放入-80℃超低温冰箱保存。

1.2.8 血压监测 采用ZS-Z无创尾动脉血压监测系统实施大鼠血压参数周期性检测,每周采集收缩压(SBP)、舒张压(DBP)及平均动脉压(MAP)数据。所有测量均在标准化实验环境下完成,每只实验动物连续进行3次独立测量,严格遵循数据采集规范,最终以3次测量均值为有效观测值。

1.2.9 心脏组织病理学 取心脏组织,先用生理盐水洗净,再用4%多聚甲醛固定,随后进行石蜡包埋、切片。切片经苏木精-伊红(HE)染色后,在光学显微镜下拍摄图像并分析。

1.2.10 ELISA检测血清NO、ET-1水平 按试剂盒要求绘制标准曲线和计算剂量,实验所有操作步骤严格按照试剂盒说明书操作。

1.2.11 蛋白质印迹(Western blotting)法测验心脏组织PI3K和Akt蛋白表达量 心脏组织经裂解液提取总蛋白,BCA法测蛋白浓度。蛋白经SDS-PAGE分离后转PVDF膜,5% BSA室温封闭2h;一抗4℃孵育过夜,对应二抗室温孵育2h;洗膜后超敏发光液显影,Tanon-5200软件分析条带灰度。

1.2.12 统计学方法 实验结果使用IBM SPSS Statistics 20软件对原始数据进行统计学分析,计量资料使用“均数±标准差”( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析(ANOVA)结合LSD多重比较法。 $P < 0.05$ 时,表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 WLSWT的有效成分及潜在靶点 据TCMSP数据库,川楝子含9种有效成分,诃子含8种,苦参含45种,枇杷叶含18

种,茜草含19种,山柰含2种,栀子含15种,紫草含12种,金莲花含7种有效成分。在HERB数据库中检索到土木香有14个成分,悬钩子有2个成分,紫草草有1个成分。在结合文献和TCMSP筛选出橡子的有效成分有3个。(见表1~3)

表2 HERB数据库中WLSWT的关键化合物信息

蒙药名	HBIN编号	化合物
土木香(Elecampane)	HBIN015037	土木香内酯(Alantolactone)
	HBIN030386	异土木香内酯(Isolantolactone)
悬钩子(Raspberry)	HBIN042597	玉红黄素(Rubixanthin)
	HBIN042599	芦丁木糖苷(Rubricauloside)
紫草草(Lac)	HBIN015116	虫胶酸(Aleuritic acid)

表3 文献中WLSWT的主要化合物信息

蒙药名	MOL编号	化合物	口服利用率/%	药物相似性
橡子(Acom)	MOL000492	儿茶素(Catechin)	54.82	0.24
	MOL006821	表没食子儿茶素没食子酸酯(Epigallocatechin gallate)	55.08	0.77
	MOL012377	$\alpha$ -菠菜甾醇( $\alpha$ -Spinasterol)	42.97	0.75

2.2 WLSWT-EH的交集靶点 跨库检索获得EH疾病靶点8 527个,其中DrugBank数据库60个、TTD数据库17个、OMIM数据库196个、GeneCards数据库8 254个,经去重处理得8 260个EH疾病相关靶点。运用在线VENNY 2.1平台构建WLSWT-PH靶点多维韦恩交集模型,获得交集靶点362个。(见图1)

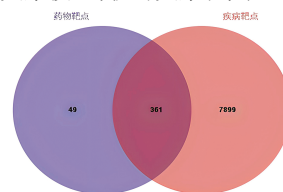
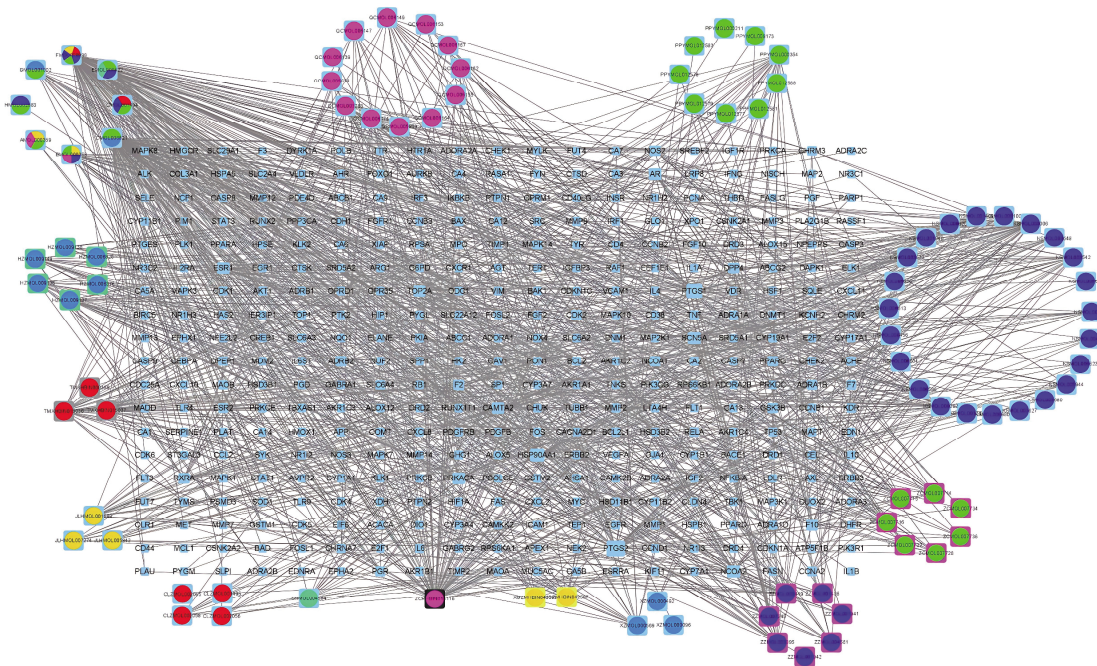


图1 药物-疾病共同靶点筛选及疾病靶点

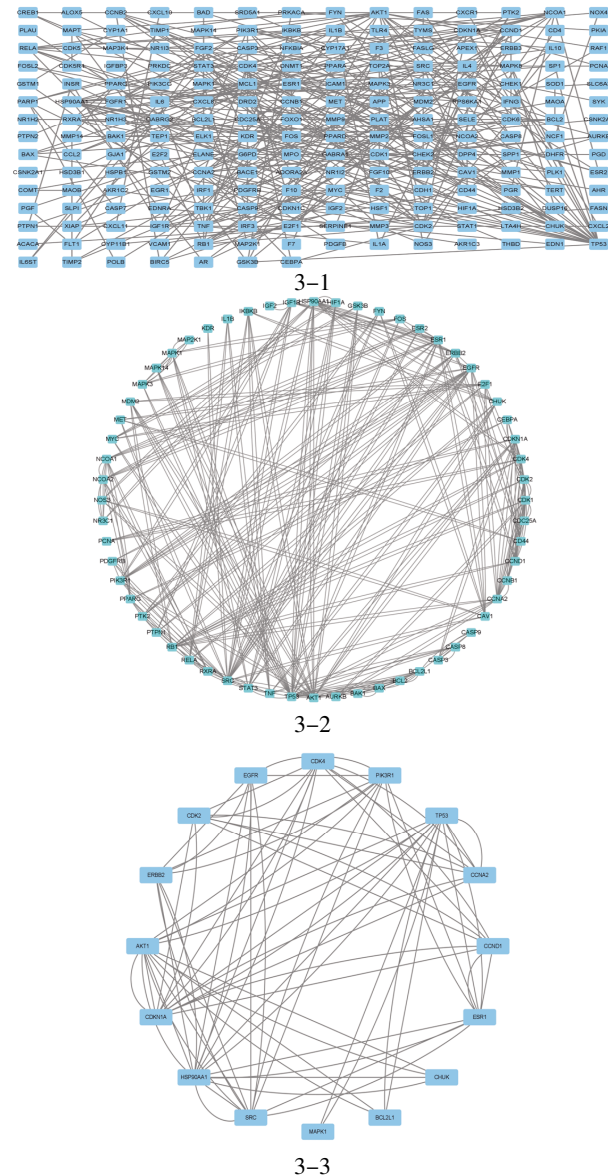


注:KS.苦参;ZZ.栀子;CLZ.川楝子;HZ.诃子;PPY.枇杷叶;XGZ.悬钩子;JLH.金莲花;TMX.土木香;XZ.橡子;ZC.紫草;ZCR.紫草草;SN.山柰;QC.茜草;A.紫草、金莲花和茜草3种蒙药共有成分;B.茜草、栀子、枇杷叶和金莲花4种蒙药共有成分;C.枇杷叶和橡子2种蒙药共有成分;D.栀子、诃子和川楝子3种蒙药共有成分;E.栀子、山柰和枇杷叶3种蒙药共有成分;F.栀子、苦参、枇杷叶、金莲花和川楝子5种蒙药共有成分;G.枇杷叶与诃子2种蒙药共有成分;H.紫草与栀子2种蒙药共有成分。

图2 蒙药WLSWT活性有效成分-靶点网络图

2.3 “蒙药活性成分-靶点”网络 蒙药活性成分-靶点网络图呈现于图2,按度值排序居于前5位的中药活性成分分别为MOL006821(表没食子儿茶素没食子酸酯)、MOL000098(槲皮素)、HBIN015116(虫胶酸)、MOL000422(山柰酚)、MOL000006(木犀草素)。

2.4 蛋白互作网络及其分析 根据Venny图分析结果,通过STRING数据库筛选后将交集靶点构建蛋白互作网络,通过Cytoscape 3.8.0软件对可视化网络进行拓扑参数分析,其中度值参数在核心靶点判定中具有优先参考价值。通过度值(degree)、介数中心性(betweenness centrality)、接近中心性(closeness centrality)、特征向量中心性(eigenvector centrality)、局部平均连通性(LAC)及网络(network)多维网络参数,使用R语言包筛选两次最终得到16个目标靶点。(见图3、表4)



注:图3-1通过STRING数据库筛选出203个靶点;图3.2通过R语言包筛选出60个靶点(deg>2、BC>9、CC>0.022、EC>0.013、LAC>0.400、network>0.830);图3.3通过R语言包筛选出16个核心靶点(deg>8、BC>33、CC>0.363、EC>0.091、LAC>3.400、network>4.630)。

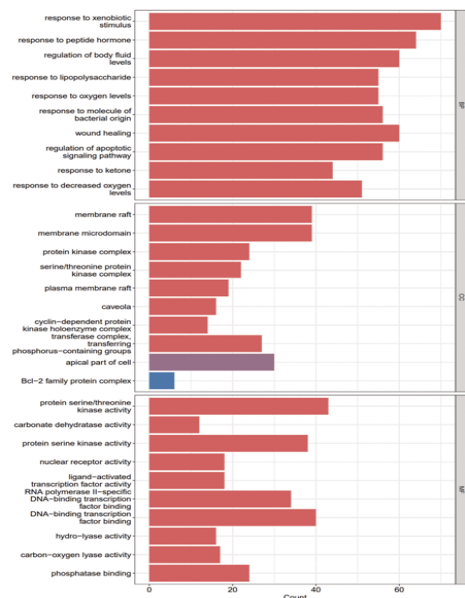
图3 蒙药 WLSWT 治疗 EH 的靶点蛋白网络

2.5 KEGG分析和GO分析结果 为进一步解析WLSWT调控EH的病理机制,采用Metascape数据库实施潜在靶点KEGG/GO富集分析。随后根据度值层级筛选KEGG前20通路及GO三模块Top 10条目输入微生物平台,通过气泡图/组合柱图实现可视化分析(见图4~5)。其中有PI3K/Akt、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、晚期糖基化终末产物(AGE)/晚期糖基化终末产物受体(RAGE)、肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素-17(IL-17)、缺氧诱导因子-1(HIF-1)等信号通路。GO分析结果如图5所示:(1)生物学过程中主要设计对外源性刺激的反应、肽激素反应、体液水平调节、对细菌来源分子的反应等;(2)在细胞组中显著富集于膜筏/微区结构域、磷酸基转移结构域及蛋白激酶复合物等;(3)核心功能调节因子主要参与丝氨酸/苏氨酸(Ser/Thr)激酶催化、DNA结合型转录因子互作及磷酸酶结合等功能模块。



注:各图气泡面积与基因富集量成正比,酒红色越深,表示富集的显著程度越高。

图4 蒙药 WLSWT 针对 EH 疾病靶点的 KEGG 富集分析



注:各图Y轴的富集分数,以柱状图长度体现,柱状图越长,富集程度越显著。

图5 WLSWT对EH作用靶点的GO分析

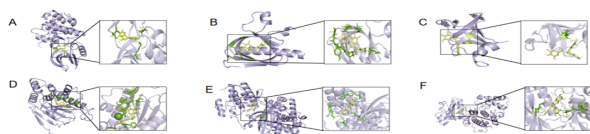
表4 蛋白互作网络筛选获得度值前16个核心靶点数据

靶点	度值(degree)	介数中心性(BC)	接近中心性(CC)	特征向量中心性(EC)	局部平均连通性(LAC)	网络(network)
BCL2L1	12	96	0.383	0.127	5.3	7.39
CDK2	20	156	0.373	0.162	7.6	13.2
SRC	30	554	0.460	0.301	6.1	15.9
CHUK	10	73	0.388	0.095	4.0	4.82
CDK4	16	208	0.404	0.159	5.0	7.35
MAPK1	12	94	0.388	0.102	4.0	6.80
ESR1	22	607	0.483	0.240	3.6	6.47
TP53	36	996	0.522	0.336	4.8	18.1
EGFR	22	221	0.398	0.213	5.1	11.1
Akt1	26	572	0.491	0.282	4.0	8.79
HSP90AA1	22	494	0.495	0.275	3.6	5.28
ERBB2	14	59	0.375	0.169	5.7	7.28
CCNA2	18	237	0.398	0.179	6.2	9.31
CCND1	12	148	0.390	0.138	5.3	5.81
PIK3R1	14	74	0.409	0.191	5.7	7.31
CDKN1A	18	316	0.430	0.199	4.9	6.88

2.6 分子对接结果 根据标准对接实验,结合能 $\leq -5$  kJ/mol表明分子间存在有效结合。表5数据展示了5种主要成分与16个关键靶点的结合强度。实验显示,除虫胶酸外,其余4种成分均与靶点呈现显著结合(结合能 $\leq -5$  kJ/mol)。结合能数值越小,说明两者结合越紧密。最终选取6组最佳对接结果进行立体展示(见图6),直观呈现分子间的结合模式。

表5 主要活性物质与重要靶标之间的结合能 (kJ/mol)

靶点	虫胶酸	槲皮素	表没食子儿茶素没食子酸酯	木犀草素	山柰酚
BCL2L1	-5.5	-8.8	-8.9	-8.5	-8.6
CDK2	-6.1	-9.9	-8.9	-10.1	-9.5
SRC	-4.9	-8.5	-9.1	-8.1	-8.0
CHUK	-5.6	-8.6	-7.9	-8.8	-7.4
CDK4	-4.9	-7.9	-8.7	-7.8	-7.7
MAPK1	-5.2	-8.5	-8.9	-8.8	-8.4
ESR1	-6.3	-8.1	-8.1	-8.4	-8.3
TP53	-6.0	-8.3	-9.1	-8.4	-8.2
EGFR	-4.9	-7.9	-8.7	-7.8	-7.7
Akt1	-4.6	-6.2	-7.4	-6.4	-6.0
HSP90AA1	-5.2	-7.4	-9.4	-7.7	-7.5
ERBB2	-5.1	-7.6	-7.8	-7.5	-7.5
CCNA2	-4.6	-8.1	-9.0	-8.7	-8.1
CCND1	-4.9	-9.2	-8.1	-9.0	-9.2
PIK3R1	-4.4	-7.1	-7.7	-7.1	-6.8
CDKN1A	-4.9	-6.9	-7.7	-7.1	-6.6

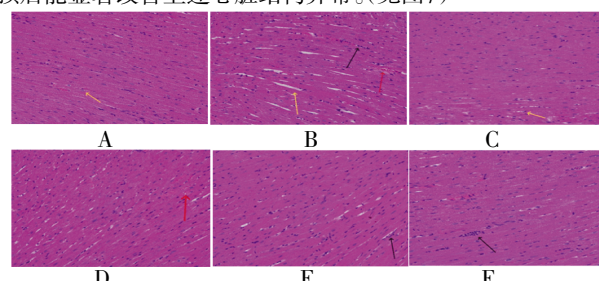


注:A.MOL000006和CDK2的分子模拟对接;B.MOL006821和Akt1的分子模拟对接;C.MOL006821和PIK3R1的分子模拟对接;D.MOL006821和HSP90AA1的分子模拟对接;E.MOL000422和CCND1的分子模拟对接;F.MOL006821和MAPK1的分子模拟对接。

图6 蒙药WLSSWT对于EH治疗的关键成分与核心靶点的分子对接模型

2.7 WLSSWT对EH模型大鼠动脉血压的影响 造模后,模型组大鼠的收缩压和舒张压显著高于空白组( $P<0.01$ ),其中收缩压 $\geq 140$  mm Hg,舒张压 $\geq 90$  mm Hg,表明EH大鼠模型制备成功;干预后,与模型组比较,缬沙坦组和WLSSWT各组大鼠动脉血压均明显降低( $P<0.01$ )。(见表6)

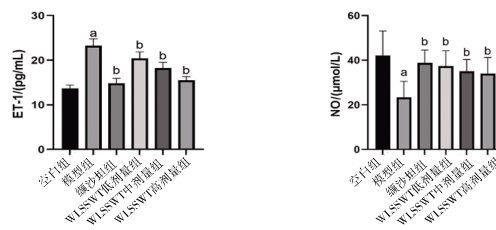
2.8 WLSSWT对EH模型大鼠心脏组织的影响 HE染色结果表明,L-NAME模型组大鼠心肌组织整体结构中重度异常,组织心肌纤维排列不规则,可见部分心肌纤维间隙增大,如图黄色箭头所示;组织间质可见轻微淤血,如同红色箭头所示;组织可见少量炎症细胞浸润,如图黑色箭头所示。而WLSSWT干预后能显著改善上述心脏结构异常。(见图7)



注:A.空白组;B.模型组;C.缬沙坦组;D.WLSSWT低剂量组;E.WLSSWT中剂量组;F.WLSSWT高剂量组。

图7 各组大鼠心脏组织病理图(HE染色,×200)

2.9 WLSSWT对EH模型大鼠血清NO和ET-1水平的影响 与空白组比较,模型组大鼠血清NO水平显著降低( $P<0.01$ ),ET-1水平显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,WLSSWT各组和缬沙坦组均明显改善NO、ET-1的异常变化,且缬沙坦组效果更为明显( $P<0.01$ )。



注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ 。

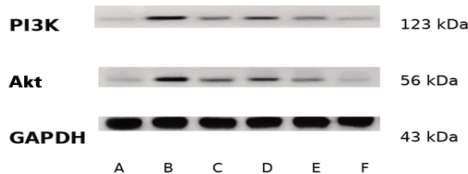
图8 各组大鼠血清NO(A)和ET-1(B)水平比较

表6 各组大鼠动脉血压比较 ( $\bar{x}\pm s$ , mmHg)

组别	n	收缩压			舒张压		
		造模前	造模后	干预后	造模前	造模后	干预后
空白组	10	104.15±4.37	114.85±8.25	112.44±3.23	83.26±1.71	87.16±6.00	83.26±1.71
模型组	10	105.80±4.82	152.75±13.89 <sup>a</sup>	147.14±4.61 <sup>a</sup>	85.88±6.12	116.58±11.02 <sup>a</sup>	115.82±5.38 <sup>a</sup>
缬沙坦组	10	112.71±8.27	153.52±8.81 <sup>a</sup>	131.01±5.47 <sup>b</sup>	83.90±3.29	126.60±11.50 <sup>a</sup>	104.72±5.42 <sup>b</sup>
WLSSWT低剂量组	10	111.10±14.70	152.92±18.86 <sup>a</sup>	132.91±7.39 <sup>b</sup>	81.40±6.15	116.99±21.02 <sup>a</sup>	106.27±6.99 <sup>b</sup>
WLSSWT中剂量组	10	114.34±6.25	146.87±10.60 <sup>a</sup>	138.48±5.72 <sup>b</sup>	86.72±6.27	121.28±9.76 <sup>a</sup>	104.61±5.48 <sup>b</sup>
WLSSWT高剂量组	10	118.05±3.91	147.65±8.09 <sup>a</sup>	133.58±5.16 <sup>b</sup>	86.82±8.71	123.48±8.71 <sup>a</sup>	106.82±7.30 <sup>b</sup>

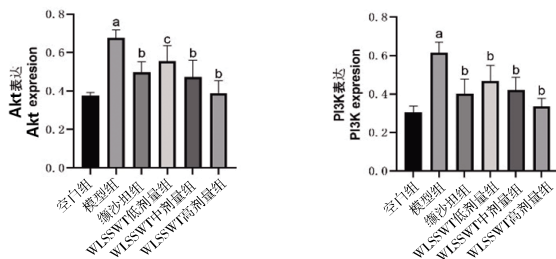
注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ 。

2.10 WLSSWT对EH模型大鼠关键信号蛋白的调控效应  
模型组大鼠心肌组织内PI3K/Akt信号轴关键效应分子表达量较空白组呈现显著上调趋势( $P<0.05$ )。与空白组比较,模型组大鼠心肌组织Akt、PI3K表达量显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,WLSSWT各组、缬沙坦组大鼠心肌组织Akt、PI3K表达量明显降低( $P<0.01$ )。(见图9、10)



注:A.空白组;B.模型组;C.缬沙坦组;D.WLSSWT低剂量组;E.WLSSWT中剂量组;F.WLSSWT高剂量组。

图9 各组大鼠关键蛋白表达水平 Western blotting 图



注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ ,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

图10 各组大鼠关键蛋白表达水平比较

### 3 讨论

EH导致全身动脉硬化,长期的高血压引起血管损害,进而影响心、脑、肾靶器官的功能,最终功能衰竭导致患者死亡。急性升高的血压也可能会引起高血压急症,脑出血危及生命。因此,EH的应对与治疗依然是一个难题。本研究针对蒙药复方WLSSWT在EH治疗中表现出的多组分协同作用特征展开机制解析。该制剂虽被证实含有与疾病靶标存在互作潜力的生物活性分子群,但其多层级药理作用网络尚未完全阐明。基于此,本研究构建了“计算预测-分子互作-体内验证”的多模态研究策略,通过整合网络拓扑分析、分子动力学模拟及实验药理学手段,系统追踪该复方中活性成分群与EH相关核心靶标间的动态调控关系,同时结合通路富集与功能模块分析,全面解析其跨尺度作用机制。据此,不仅阐明WLSSWT的“成分-靶点-通路”多维互作规律,更为揭示中药复方多靶

点协同治疗EH的分子逻辑提供实证依据。

从蒙药活性成分-靶点网络图上来看,表没食子儿茶素没食子酸酯、槲皮素、虫胶酸、山柰酚、木犀草素位于网络的核心位置,表明这些成分可能是WLSSWT治疗EH的关键成分。其中槲皮素是椴子、苦参、枇杷叶、金莲花和川楝子5种蒙药均含有的,作为一种黄酮类化合物,具有潜在的抗氧化、抗病毒、抗炎、抗癌和扩张血管的功能<sup>[22]</sup>。研究<sup>[23-24]</sup>发现槲皮素在临床上具有良好的降血压效果。山柰酚是椴子、山柰和枇杷叶3种蒙药均含有的,作为黄酮类化合物,其具有抗炎、抗氧化、抗癌等多种作用,能用于治疗癌症、心血管疾病、感染等。山柰酚通过抑制氧化应激、内质网应激和糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ )信号通路改善大鼠心肌缺血/再灌注损伤,具有保护心脏作用<sup>[25]</sup>。山柰酚还可以改善脂多糖(LPS)诱导的心脏成纤维细胞的炎症反应<sup>[26]</sup>。研究<sup>[27]</sup>发现,山柰酚可以降低Ang II输注或转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )诱导的上皮-间质转化(EMT),并且可以抑制心脏成纤维细胞的增殖和活化。木犀草素具有良好的抗炎活性,木犀草素可以通过抑制核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路抑制炎症,从而保护单核细胞不黏附到内皮细胞,可能是预防动脉粥样硬化的有效策略<sup>[28]</sup>。已有研究证明木犀草素可通过激活PI3K/Akt信号通路来减少缺血/再灌注(I/R)而发挥心脏保护作用<sup>[29]</sup>。表没食子儿茶素没食子酸酯是绿茶中的一种自然多酚类化合物,具有抗氧化、神经元保护、自由基清除等多种作用<sup>[30]</sup>。已有研究<sup>[31-32]</sup>表明表没食子儿茶素没食子酸酯可减轻左心室心肌纤维化程度,阻止心脏肥厚中的心肌细胞凋亡和氧化应激反应,介导一氧化氮引起的血管舒张。研究显示,WLSSWT可能经由关键活性成分对EH后的炎症反应和氧化应激产生抑制效果。

WLSSWT和PH靶点交集筛选出Akt1、PIK3R1、BCL2L1、CDK2SRC.CHUK.CDK4.MAPK1.ESR1.TP53.EGFR.HSP90AA1、ERBB2、CCNA2、CCND1、CDKN1A等关键靶点。其中作为PPI网络中重要的靶点Akt1和PIK3R1参与的PI3K/Akt信号通路是一种细胞内信号转导途径,在促进细胞增殖、黏附、侵袭、调节代谢及维持细胞存活等多样细胞活动中扮演着至关重要的角色<sup>[33]</sup>。HSP90AA1是热休克蛋白90的亚型,该蛋白是众多细胞信号通路的重要调节因子,研究表明,在动脉粥样硬化及心血管疾病中,HSP90抑制剂能够减轻炎症反应<sup>[34]</sup>。EH的发病过程中,血管壁张力的改变与MAPK信号通路的过度激活密切相关,研究发现,MAPK广泛分布于中枢神经系统中,参与细胞运动、增殖、分化和凋亡等生理过程,p38MAPK和

MAPK1是MAPK磷酸酶家族重要成员,是近些年研究治疗EH、调节血脂的有效通路<sup>[55]</sup>。有研究者<sup>[56]</sup>通过生物信息学研究发现,TP53是肥胖导致PH形成的关键靶点蛋白。EGFR则与高血压心肌梗大的发生发展密切相关。有研究<sup>[57]</sup>表明,EGFR是诱导高血压心肌梗大的重要机制,且其调控不依赖血压改变。Src是一类非受体酪氨酸激酶,通过催化ATP末端的磷酸基团转移到特定蛋白质底物上的酪氨酸残基来激活下游信号分子,转导生物信号<sup>[58]</sup>。在心血管系统中,Src可以激活Yes相关蛋白上Y357位点的磷酸化,进而调控Gp130蛋白促进心脏再生过程中心肌细胞的增殖<sup>[59]</sup>。ESR1是调节血管松弛和血管修复的重要靶点<sup>[60]</sup>。CCND1被证明参与了肺动脉高压的发病机制<sup>[61]</sup>,对抗CCND1可以改善大鼠的肺血管重塑,说明其可能是治疗肺血管重塑和肺动脉高压的潜在靶点<sup>[62]</sup>。通过实验动物模型对选定生物标志物实施药效学验证,发现3个关键信号节点的蛋白表达水平与前期预测模型呈现显著一致性,在体内研究有效佐证了靶标筛选体系的生物学可信度。值得注意的是,现有文献对EH病理进程中其他候选靶标的功能注释及机制研究尚显不足,这种研究空白提示该类分子可能构成调控EH病理重构的新型分子开关,值得通过组学整合分析及功能获得/缺失实验进行深入机制挖掘,为拓展EH治疗的靶向干预策略提供创新切入点。

基于GO功能注释分析,WLSSWT作用靶点显著富集于外界环境刺激响应、肽类激素调控、体液稳态维持及微生物相关分子识别等生物过程,提示其可能通过多维度调控机制干预EH病理进程,包括维持细胞增殖与凋亡动态平衡、改善能量代谢稳态、抑制过氧化损伤及协调免疫-炎症网络等功能模块。进一步通过KEGG通路富集解析发现,该复方治疗EH的分子机制与其对PI3K/Akt细胞生存信号轴、MAPK级联反应系统、AGE/RAGE晚期糖基化终产物识别通路、HIF-低氧诱导调控网络、IL-17介导的免疫炎症通路及TNF相关细胞因子信号转导途径的多靶点协同调控密切相关。这些发现系统揭示了WLSSWT通过多通路交互作用干预EH疾病进程的潜在药效网络。其中主要信号通路PI3K/Akt在EH的发生和发展中扮演了关键角色<sup>[63]</sup>。PI3K与Akt作为细胞内重要的信号传导分子,参与调控细胞的增殖、分化、存活及代谢等多种生理过程<sup>[64]</sup>。研究<sup>[65]</sup>表明,PI3K/Akt信号通路的异常激活与PH的病理过程紧密相关,通过合理调控该通路,有望实现降低血压、保护靶器官的目标。其中PI3K $\gamma$ 是Class I PI3K的重要亚型,主要表达于血管平滑肌细胞(VSMC)、巨噬细胞等,是高血压血管病变的关键驱动因子,一项研究<sup>[66]</sup>发现PI3K $\gamma$ 抑制可能是调节血管平滑肌细胞中钙流入的一种新工具,通过血管松弛剂Akt/L型钙通道机制降低血压。在3种Akt亚型(Akt1/Akt2/Akt3)中,Akt1是参与调节心血管功能的主要亚型,有学者<sup>[67]</sup>明确了Akt1/eNOS信号轴在完整内皮细胞中的重要性。MAPK家族中包含多个成员,参与细胞增殖、凋亡、炎症反应及纤维化等多种生物学过程,且MAPK信号通路的激活介导了EH引发的肾损伤过程,在肾损伤和肾纤维化中起关键作用<sup>[68]</sup>。黄铃格等<sup>[69]</sup>

研究发现钩藤降压解郁方具有降低SHR大鼠尾动脉收缩压,改善其抑郁样行为,以及改善海马神经元损伤的效果,这可能与通过抑制p38 MAPK信号分子,提高抗炎因子IL-4含量,降低促炎因子IL-1 $\beta$ 含量有关。在AGE/RAGE信号通路中,AGE是糖代谢产生的有害物质,而RAGE属于细胞表面的免疫球蛋白超家族成员,是一种参与信号传导的受体,在受体介导的机制中,AGE与RAGE的相互作用激活受体信号转导途径,进一步增加ROS的产生,进而激活NF- $\kappa$ B,导致促炎细胞因子和细胞黏附分子的表达和释放增加,从而参与EH的发生<sup>[50]</sup>。其HIF-1信号通路中,HIF-1可通过调节血管内皮细胞的存活、衰老、生长、侵袭、糖代谢等多种分子机制调控内皮结构和功能,是血管内皮细胞对缺氧、氧化应激、炎症等刺激的代偿反应<sup>[51]</sup>。IL-17信号通路中IL-17是由免疫系统细胞产生的促炎细胞因子,是心脏疾病的关键调控因子,在心肌炎症反应中具有显著的调节作用,与EH密切相关,可与促炎因子协同增强炎症,从而促进心脏损伤<sup>[52]</sup>。

大量研究表明,L-NAME已经广泛用于EH模型大鼠的制备,主要干预NO的生成与利用<sup>[53]</sup>。迄今为止,NO是发现的人体内最强的血管舒张因子,NO明显减少与血管内皮功能障碍密切相关<sup>[54]</sup>。ET是至今发现体内最强大,持续时间最长的血管收缩物质,在缺氧、血管切变应激等内皮功能受损的情况下,其合成和释放量增加<sup>[55]</sup>。在正常机体内,两者是保持相互平衡的,当血压上升,血管内皮细胞受损,NO减少合成,ET则增加合成,影响了NO和ET的平衡<sup>[56]</sup>。动物实验结果显示,经WLSSWT干预后,WLSSWT各组大鼠血清NO含量明显高于模型组,ET-1含量明显低于模型组。这表明WLSSWT可能调节EH模型大鼠血清NO及ET-1的异常水平回归正常,从而恢复二者的动态平衡,从而作用于外周血管,使血管外周阻力下降,实现有效降压。

PI3K/Akt信号通路在心血管系统中发挥广泛而复杂的作用,是心血管疾病研究的重要靶点。多项研究表明,抑制该通路的激活可产生心脏保护作用:异鼠李素通过抑制PI3K/Akt信号通路减轻病理性心肌肥厚<sup>[70]</sup>;4-羟基查尔通过抑制PI3K/Akt1/mTOR/ERK、TGF- $\beta$ /Smad2/3、NF- $\kappa$ B及NOX1信号通路改善心脏重塑和功能障碍<sup>[71]</sup>;铁死亡相关基因在特发性心脏病中主要富集于PI3K/Akt通路,提示抑制该通路可抑制铁死亡并改善心肌病<sup>[72]</sup>。此外,红景天苷<sup>[73]</sup>、芝麻素联合维生素E<sup>[74]</sup>均通过抑制PI3K/Akt信号通路改善心肌重塑和纤维化。在高血压方面,室旁核PI3K/Akt信号通路参与高盐诱导的血压升高<sup>[75]</sup>;miR-485-5p通过PI3K/Akt通路下调HIF3A表达,对阻塞性睡眠呼吸暂停综合征相关高血压具有治疗潜力<sup>[76]</sup>;生长激素释放肽则通过抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路降低氧化应激、改善心肌纤维化<sup>[77]</sup>。动物实验结果显示,干预后,WLSSWT各组大鼠心肌中PI3K和Akt的蛋白表达显著低于模型组,WLSSWT能显著改善心脏结构异常。这可能是WLSSWT通过抑制PI3K/Akt信号通路,从而达到保护心脏的作用。对于在此研究中PI3K/Akt信号通路与NO之间作用机制可能是因为PI3K/Akt信号通路的过度激活使得一氧化氮合酶(eNOS)解偶联,从而导致

NO的生物利用度下降,血管舒张功能减弱,从而血压上升<sup>[50]</sup>。而通过WLSSWT的干预可能使得恢复eNOS偶联,显著增加NO的生成和利用度,从而改善血管舒张功能实现降压。药理学评估显示,WLSSWT干预组有效的抑制上述信号通路的异常激活,其调控效应通过蛋白质印迹定量分析获得直观验证。研究结果从蛋白质组学层面证实,WLSSWT对EH的干预作用与其精准调控AKT1/PIK3R1等核心靶点的表达活性密切相关,这不仅完善了网络药理学预测模型的实验验证体系,更重要的是揭示了该复方通过PI3K/Akt通路稳态调节发挥治疗效应的分子药理学基础,为后续靶向药物开发提供了关键实验证据。本研究初步证实WLSSWT可能通过调控PI3K/Akt信号通路缓解高盐诱导的高血压及心肌肥厚,但尚未借助特异性激动剂或抑制剂验证该通路在降压中的必要性。后续实验拟在通路干预条件下检测PIP3、Akt等关键分子的表达动态,以明确PI3K/Akt是否介导WLSSWT的降压效应及减轻心肌肥厚,并为临床转化提供更直接的机制学依据。

本研究采用网络药理学整合分析策略,系统筛选了WLSSWT干预EH的潜在活性物质群及关键作用靶点,为EH病理机制解析及靶向药物设计提供新的研究路径。通过分子对接技术验证了核心成分与关键靶点的结合活性,并借助动物模型实验初步证实WLSSWT对EH病理进程具有调控效应。需要指出的是,本研究存在一定局限性:网络药理学筛选的活性成分及靶点可能存在假阳性,分子对接仅为静态模拟,与体内动态环境有差异;动物模型难以完全模拟人类EH的复杂病理过程。未来研究可结合高通量实验验证网络药理学结果,引入分子动力学模拟优化分子对接模型;建立更接近临床的疾病模型,扩大样本量并延长观察周期,深入探究蒙药复方的配伍规律及量效关系,同时开展临床转化研究,为蒙药治疗EH提供更坚实的理论依据和应用支撑。

参考文献

[1] 易依柳.加味半夏白术天麻汤对痰湿壅盛型自发性高血压大鼠血压及心肌纤维化的影响[D].长沙:湖南中医药大学,2023.

[2] 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.

[3] LI Y, THUIS L, ZHANG Z Y, et al. Opposing age-related trends in absolute and relative risk of adverse health outcomes associated with out-of-office blood pressure[J]. *Hypertension*,2019,74(6):1333-1342.

[4] LEIMENA C, QIU H Y. Non-coding RNA in the pathogenesis, progression and treatment of hypertension[J]. *Int J Mol Sci*, 2018,19(4):927.

[5] WANG Z W, CHEN Z, ZHANG L F, et al. Status of hypertension in China: Results from the China hypertension survey, 2012-2015[J]. *Circulation*,2018,137(22):2344-

2356.

[6] 刘明波,李镒冲,刘世炜,等.2010年中国人群高血压疾病负担[J].*中华流行病学杂志*,2014,35(6):680-683.

[7] 陈伟伟.中国心血管病报告2015[J].*中华医学信息导报*,2016(12):11.

[8] 韦碧柳,尹瑞兴.原发性高血压危险因素及防治的研究进展[J].*医学信息*,2024,37(14):170-173,178.

[9] 才让南加,多杰仁青.藏药组合用药治疗原发性高血压(查隆)的自身对照研究[J].*中医导报*,2023,29(7):86-90.

[10] 策·苏荣扎布.蒙医内科学[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2011:283

[11] 吴小花,彩霞,韩平安,等.中药发酵及乌兰十三味汤研究进展[J].*赤峰学院学报(自然科学版)*,2024,40(2):27-30.

[12] 筭布尔达来,阿拉腾苏布德.蒙药乌兰十三味汤散治疗高血压病的临床观察[J].*中国民族医药杂志*,2013,19(10):55.

[13] 木其尔.蒙药玛日沁-13味汤治疗原发性高血压30例[J].*中国民族医药杂志*,2000,6(3):6.

[14] 刘俊情.蒙药十三味乌兰汤联合瑞舒伐他汀治疗高血压合并冠心病的临床疗效[J].*中国民族医药杂志*,2022,28(2):12-14.

[15] 杨明,王朝平,雷志强,等.川芎挥发油治疗心绞痛的网络药理学研究及实验验证[J].*中国实验动物学报*,2024,32(7):867-878.

[16] 梅花.蒙药三臣丸对脂多糖诱导肺炎模型大鼠的抗炎作用研究[D].通辽:内蒙古民族大学,2023.

[17] 朴慧娟.针刺颈段夹脊穴对L-NAME诱导的高血压大鼠降压效应及其机理研究[D].延吉:延边大学,2021.

[18] 黄明玉.柿桃提取物对L-NAME诱导高血压大鼠的降压作用及相关机制的研究[D].南宁:广西医科大学,2019.

[19] 赵莹莹,王海慧,徐霁雪,等.吡啶帕胺和牛磺酸联用的降压作用及机制研究[J].*沈阳药科大学学报*,2018,35(12):1045-1051.

[20] 权赫秀,李巧巧,张普照,等.葛根和粉葛对L-NAME诱导高血压大鼠的作用比较及机制研究[J].*中药材*,2020,43(11):2773-2778.

[21] ROSSI M A, RAMOS S G, PRADO C M. Chronic inhibition of nitric oxide synthase induces hypertension and cardiomyocyte mitochondrial and myocardial collagen remodelling in the absence of hypertrophy [J]. *J Hypertens*,2003,21(5):993-1001.

[22] GRIFFITHS K, AGGARWAL B B, SINGH R B, et al. Food antioxidants and their anti-inflammatory properties: A potential role in cardiovascular diseases and cancer prevention[J]. *Diseases*,2016,4(3):28.

[23] EDWARDS R L, LYON T, LITWIN S E, et al. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects[J]. *J Nutr*,2007,137(11):2405-2411.

- [24] CONQUER J A, MAIANI G, AZZINI E, et al. Supplementation with quercetin markedly increases plasma quercetin concentration without effect on selected risk factors for heart disease in healthy subjects[J]. *J Nutr*, 1998, 128(3):593-597.
- [25] ZHOU M J, REN H H, HAN J C, et al. Protective effects of kaempferol against myocardial ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart via antioxidant activity and inhibition of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015:481405.
- [26] TANG X L, LIU J X, DONG W, et al. Protective effect of kaempferol on LPS plus ATP-induced inflammatory response in cardiac fibroblasts[J]. *Inflammation*, 2015, 38(1):94-101.
- [27] 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.
- [28] 王清岑,殷新,周罗慧,等.木犀草素心血管保护作用研究进展[J].*中国现代医学杂志*, 2020, 30(11):57-60.
- [29] ZHANG R Q, LI D Y, XU T D, et al. Antioxidative effect of luteolin pretreatment on simulated ischemia/reperfusion injury in cardiomyocyte and perfused rat heart[J]. *Chin J Integr Med*, 2017, 23(7):518-527.
- [30] LI J R, SONG D F, WANG S N, et al. Antiviral effect of epigallocatechin gallate via impairing porcine circovirus type 2 attachment to host cell receptor[J]. *Viruses*, 2020, 12(2):176.
- [31] HOU H M, YANG W L, BAO S Q, et al. Epigallocatechin gallate suppresses inflammatory responses by inhibiting toll-like receptor 4 signaling and alleviates insulin resistance in the livers of high-fat-diet rats[J]. *J Oleo Sci*, 2020, 69(5):479-486.
- [32] ALMATROODI S A, ALMATROUDI A, KHAN A A, et al. Potential therapeutic targets of epigallocatechin gallate (EGCG), the most abundant catechin in green tea, and its role in the therapy of various types of cancer[J]. *Molecules*, 2020, 25(14):3146.
- [33] 李志超,李念虎,薛海鹏,等.自噬及相关信号通路在脊髓损伤中的作用机制研究进展[J].*中国比较医学杂志*, 2022, 32(8):98-103.
- [34] POCKLEY A G. Heat shock proteins, inflammation, and cardiovascular disease[J]. *Circulation*, 2002, 105(8): 1012-1017.
- [35] 秦钦,时拥月,姚佳梅,等.天麻钩藤饮对自发性高血压大鼠p38 MAPK/HSP27通路影响的研究[J].*北京中医药大学学报*, 2023, 46(12):1694-1705.
- [36] 范吉林,朱婷婷,田晓玲,等.基于生物信息学探讨肥胖与高血压的关系[J].*中华高血压杂志*, 2022, 30(4):352-358.
- [37] 严秋江,范秀晶,杨妍,等.吴茱萸次碱通过调控表皮生长因子受体活化抑制高血压心肌肥大[J].*中南医学科学杂志*, 2020, 48(4):349-355.
- [38] THOMAS S M, BRUGGE J S. Cellular functions regulated by Src family kinases[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1997, 13:513-609.
- [39] LI Y D, FENG J, SONG S, et al. gp130 controls cardiomyocyte proliferation and heart regeneration [J]. *Circulation*, 2020, 142(10):967-982.
- [40] JIANG S L, YANG G L, ZHOU S, et al. Bisphenol A, S, and F exposure, ESR1/2, CAT, and ENOS genetic polymorphisms, and the risk of hypertension[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 224:112684.
- [41] YAN Y, JIANG R, YUAN P, et al. Implication of proliferation gene biomarkers in pulmonary hypertension[J]. *Animal Model Exp Med*, 2021, 4(4):369-380.
- [42] ZENG D X, XU G P, LEI W, et al. Suppression of cyclin D1 by plasmid-based short hairpin RNA ameliorated experimental pulmonary vascular remodeling [J]. *Microvasc Res*, 2013, 90:144-149.
- [43] SHI Y Q, LIU J, ZHANG R Y, et al. Targeting endothelial ENO1 (alpha-enolase)-PI3K-Akt-mTOR axis alleviates hypoxic pulmonary hypertension[J]. *Hypertension*, 2023, 80(5):1035-1047.
- [44] YIN Q, WANG S, YANG J, et al. Nobiletin attenuates monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension through PI3K/Akt/STAT3 pathway[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2023, 75(8):1100-1110.
- [45] 周朝霞,张骥,赵媛,等.芍药苷通过调控PI3K/AKT/mTOR信号通路对盐敏感性高血压大鼠血压和血管内皮功能的影响[J].*中西医结合心脑血管病杂志*, 2024, 22(8):1403-1408, 1432.
- [46] DANIELA C, CARMINE V, GIADA M, et al. PI3K $\gamma$  inhibition reduces blood pressure by a vasorelaxant Akt/L-type calcium channel mechanism[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 93(1):200-209.
- [47] NGUYEN T D, RAHMAN N T, SESSA W C, et al. Endothelial nitric oxide synthase (ENOS) S1176 phosphorylation status governs atherosclerotic lesion formation[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2023, 10:1279868.
- [48] GENG X Q, MA A, HE J Z, et al. Ganoderic acid hinders renal fibrosis via suppressing the TGF- $\beta$ /Smad and MAPK signaling pathways[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(5):670-677.
- [49] 黄铃格,赵红霞,冯敏,等.钩藤降压解郁方通过抑制p38 MAPK信号分子改善高血压并发抑郁症大鼠海马神经元损伤[J].*中医药导报*, 2025, 31(5):38-44.

- [50] 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.
- [51] ULLAH K, WU R X. Hypoxia-inducible factor regulates endothelial metabolism in cardiovascular disease [J]. *Front Physiol*, 2021,12:670653.
- [52] RODRIGUES-DIEZ R R, TEJERA-MUÑOZ A, OREJUDO M, et al. Interleukin-17A: Potential mediator and therapeutic target in hypertension[J]. *Nefrología Engl Ed*, 2021,41(3):244-257.
- [53] 侯燕琳,刘亚琪,徐源慧,等.大鼠高血压病理模型的制备及意义[J].*心血管病防治知识*,2023,13(10):53-56.
- [54] VIRDIS A, TADDEI S. Endothelial dysfunction in resistance arteries of hypertensive humans: Old and new conspirators[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*,2016,67(6):451-457.
- [55] TAN P S, KILLINGER S, HORIUCHI J, et al. Baroreceptor reflex modulation by circulating angiotensin II is mediated by AT1 receptors in the nucleus tractus solitarius[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007,293(6):R2267-R2278.
- [56] TRAN N, GARCIA T, ANIQA M, et al. Endothelial nitric oxide synthase (ENOS) and the cardiovascular system: In physiology and in disease states[J]. *Am J Biomed Sci Res*,2022,15(2):153-177.
- [57] GAO L, YAO R, LIU Y Z, et al. Isorhamnetin protects against cardiac hypertrophy through blocking PI3K-AKT pathway[J]. *Mol Cell Biochem*,2017,429(1-2):167-177.
- [58] HAN X, ZHU Q Q, LI Z, et al. 4-Hydroxychalcone attenuates AngII-induced cardiac remodeling and dysfunction via regulating PI3K/AKT pathway[J]. *Hypertens Res*,2025,48(3):1054-1067.
- [59] JIANG Y F, CHEN L, CHAO Z J, et al. Ferroptosis related genes in ischemic and idiopathic cardiomyopathy: Screening for potential pharmacological targets [J]. *Front Cell Dev Biol*,2022,10:817819.
- [60] LIU Q, LUO Q M, ZHONG B, et al. Salidroside attenuates myocardial remodeling in DOCA-salt-induced mice by inhibiting the endothelin 1 and PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *Eur J Pharmacol*,2024,962:176236.
- [61] ZHANG JX, SHEN YY, YANG J R, et al. Inhibition of PI3K/AKT signaling pathway by sesamin and vitamin E improves left ventricular fibrosis in spontaneously hypertensive rats[J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther*,2020,25(11):1214-1222.
- [62] 张东东,谷青芸,尤清欣,等.室旁核硫化氢对高盐诱导高血压模型大鼠PI3K/Akt通路及血压的影响[J].*中国组织工程研究*,2023,27(26):4168-4174.
- [63] XU Y, HU T, DING H Z, et al. miR-485-5p alleviates obstructive sleep apnea syndrome with hypertension by inhibiting PI3K/AKT signaling pathway via downregulating HIF3A expression[J]. *Schlaf Atmung*,2023,27(1):109-119.
- [64] GAO H L, YU X J, FENG Y Q, et al. Luteolin attenuates hypertension via inhibiting NF- $\kappa$ B-mediated inflammation and PI3K/Akt signaling pathway in the hypothalamic paraventricular nucleus[J]. *Nutrients*,2023,15(3):502.

(收稿日期:2025-05-07 编辑:刘国华)

(上接第29页)

- [18] 邓桃妹,彭代银,俞年军,等.茯苓化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J].*中草药*,2020,51(10):2703-2717.
- [19] 王雅,刘玉娟,代静,等.基于LPS/TLR4通路研究疏肝理脾汤治疗NASH大鼠的作用机制[J].*中西医结合肝病杂志*,2019,29(2):167-170,178.
- [20] 周晓棠.Tim-3参与调节NASH进展过程中肝脏巨噬细胞的动态演变[D].杭州:浙江大学,2018.
- [21] 白小洋,张旭,海龙,等.巨噬细胞极化在肝纤维化中的调控作用机制[J].*临床肝胆病杂志*,2024,40(3):611-615.
- [22] 石媛媛,王雅,郭丹,等.疏肝理脾汤对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肠道菌群的影响[J].*中国临床药理学杂志*,2024,40(17):2533-2537.
- [23] 孟瑶.Tim-3/Galectin-9调控腹腔巨噬细胞极化的作用及机制研究[D].大连:大连医科大学,2023.
- [24] 张璐.携带siRIPK3的M2巨噬细胞衍生的外泌体可减轻Con A诱导的免疫性肝炎[D].天津:天津医科大学,2021.

(收稿日期:2025-07-08 编辑:刘国华)