



To Explore the Mechanism of Buyang Huanwu Tang in the Treatment of Hypertension Based on Network Pharmacology

Xiaoqin Hu¹, Zhao Wei², Meng Dan², Tao Xin², Fu Rong², Xuexia Zeng², Meilin Tao²,
Xuewen Zeng^{1,*}

¹Rehabilitation Institute of Traditional Chinese Medicine, Jinhua Advanced Research Institute, Jinhua, China

²Department of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, China

Email address:

hxqok6905@163.com (Xiaoqin Hu), 1972320967@qq.com (Zhao Wei), 1833014164@qq.com (Meng Dan),

1014726239@qq.com (Tao Xin), 1842791766@qq.com (Fu Rong), 2837780449@qq.com (Xuexia Zeng), 852368560@qq.com (Meilin Tao)

15907813718@163.com (Xuewen Zeng)

*Corresponding author

To cite this article:

Xiaoqin Hu, Zhao Wei, Meng Dan, Tao Xin, Fu Rong, Xuexia Zeng, Meilin Tao, Xuewen Zeng. To Explore the Mechanism of Buyang Huanwu Tang in the Treatment of Hypertension Based on Network Pharmacology. *Science Discovery*. Vol. 11, No. 2, 2023, pp. 35-40.

doi: 10.11648/j.sd.20231102.12

Received: February 24, 2023; Accepted: March 28, 2023; Published: March 31, 2023

Abstract: Background: Hypertension is a cardiovascular disease with high incidence. Syndrome of qi stagnation and blood stasis is a common symptom of traditional Chinese medicine in hypertension, manifested as dizziness, palpitation, chest tightness and so on. Buyang Huanwu Tang has the effect of activating blood circulation and regulating collaterals, removing blood stasis and regulating qi, which is widely used in clinical treatment of hypertension. Compared with Western medicine, Chinese medicine has different antihypertensive targets in the treatment of diseases, which can play a better antihypertensive effect. Purpose: To explore the molecular mechanism of buyang huanwu tang in the treatment of hypertension based on network pharmacology. Methods: the active components of buyang huanwu decoction were screened by TCMSP database. Prediction of relevant targets by Drugbank, GeneCards and OMIM databases; The PPI network control chart was constructed by using Cytoscape3.6.0 software. Enrichment analysis of GO and KEGG was carried out through DAVID database, and mapping was carried out by using Cytoscape. Results: a total of 97 active components, 34 disease targets and 59 pathways were screened. Conclusion: buyang huanwu decoction has the characteristics of multi-component, multi-target and multi-pathway in the treatment of hypertension. This study provides an idea for further research on the effect and mechanism of buyang huanwu decoction in the treatment of hypertension.

Keywords: Network Pharmacology, Buyang Huanwu Tang, Hypertension, Mechanism of Action

基于网络药理学的补阳还五汤治疗高血压病作用机制

胡小勤¹, 赵威², 蒙丹², 陶鑫², 付蓉², 曾雪霞², 陶美霖², 曾学文^{1*}

¹金华高等研究院中医康复所, 金华, 中国

²广西中医药大学药学院, 南宁, 中国

邮箱

hxqok6905@163.com (胡小勤), 1972320967@qq.com (赵威), 1833014164@qq.com (蒙丹), 1014726239@qq.com (陶鑫),

1842791766@qq.com (付蓉), 2837780449@qq.com (曾雪霞), 852368560@qq.com (陶美霖), 15907813718@163.com (曾学文)

摘要：研究背景：高血压是一种发病率高的心血管疾病，气滞血瘀证是高血压中常见的中医症状，表现为头晕、心悸、胸闷等。补阳还五汤具有活血通络、化瘀理气的功效，被广泛用于临床高血压疾病的治疗，与西医的药物治疗相比，中医治疗疾病有不同的降压靶点，能够起到更好的降压作用。目的：基于网络药理学方法探讨补阳还五汤治疗高血压病分子作用机制。方法：通过中药系统药理学分析平台（TCMSP）数据库，筛选补阳还五汤的活性成分；利用Drugbank、GeneCards、OMIM数据库预测相关靶点；采用Cytoscape3.6.0软件构建PPI网络调控图；通过DAVID数据库，进行GO与KEGG富集分析，利用Cytoscape进行绘图。结论：筛选得到共97个活性成分、疾病靶点34个和59条通路。得到了补阳还五汤治疗高血压病具有多成分-多靶点-多途径的作用特点，本研究为进一步深入研究补阳还五汤治疗高血压病的作用及机制提供思路。

关键词：网络药理学，补阳还五汤，高血压病，作用机制

1. 引言

高血压病是一种发病率高、死亡率高的疾病，也是一种常见的心血管疾病[1]。气滞血瘀证是高血压病常见的中医症状，症状表现为头晕，心悸，胸闷等[2]。与西医的治疗相比，中医治疗疾病有不同的降压靶点[3]。

补阳还五汤是由黄芪、红花、赤芍、桃仁、川芎、地龙、当归等中药组成的组方，具有活血通络，化瘀理气的功效，方中黄芪为君药，具有补气固表，利尿等功效，现代药理学认为黄芪可以增加血液循环，具有降压，增强机体的免疫力的作用。当归作为臣药，具有补活血的功效，黄芪和当归合用可以增强补气补血的功效，赤芍、地龙、川芎、红花、桃仁为佐药，赤芍、桃仁、川芎三者均有活血化瘀的功效，红花可以活血通络止痛，地龙具有通经活络功效[4]。现代药理学认为补阳还五汤可以增加血液的流动，保护细胞，降低血压，其中黄芪可以增强免疫力，红花、桃仁可以舒张血管，加快血液的流动[5]。

临床上补阳还五汤被广泛应用于高血压疾病的治疗，如林茂晖等研究发现补阳还五汤对部分高血压脑出血患者的治疗具有明显的效果，但其治疗的机制尚不明确[6]；何郁鹏等对H型高血压合并急性脑梗死患者进行研究，提示补阳还五汤可能通过影响患者血浆Hcy水平，血液的流动，血液粘稠度，改善神经功能，来改善患者高血压的症状[4]。庾剑鸿[5]研究发现补阳还五汤可以降低高血压患者的舒张压和收缩压指标，但降压的机制尚不清楚。曲怡等研究发现补阳还五汤可以通过抑制炎症反应达到治疗高血压患者的早期临床症状，其机制可能是通过减少TNF- α 含量，抑制NF- κ B通路，降低TRAF-6、IKK β 、NF- κ B mRNA等因子的含量[7]。以上研究发现补阳还五汤可以有效治疗高血压疾病，但是，关于补阳还五汤治疗高血压病的机制尚不十分清楚。所以，本课题拟通过网络药理学的方法，用高通量的方法，初步筛选相关基因和通路，为进一步深入的实验研究提供思路。

2. 材料与方法

2.1. 药物有效成分的筛选及靶点的获得

补阳还五汤是由黄芪、当归、赤芍、地龙、桃仁、红花、川芎7味中药组成，以这7味药为关键词，应用中药系

统药理学分析平台（The traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSP）检索7味中药的化学成分，根据口服吸收利用度（OB）大于30%，药物相似性（DL）大于0.18 为筛选参数，筛选7味中药的主要活性成分。再根据TCMSP分析平台查询药物有效成分的靶点，通过perl脚本进行靶点的筛选，利用Uniport数据库使其标准化，建立药物有效成分靶点的数据集。

2.2. 高血压靶点的预测及药物与疾病共同靶点的获得

以“hypertension”为关键词，利用Genecards数据库和OMIM数据库两个数据库进行检索疾病的相关靶基因，两个数据库数据合并整理得到疾病相关靶基因的数据集。采用 Draw Venny Diagram 在线程序（<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>），将疾病靶基因和药物靶基因取交集获得单味药与疾病的共同靶点，建立药物与疾病共同靶点的数据库。

2.3. 药物-疾病-靶点网络图的构建

采用Cytoscape软件绘制药物、疾病、靶基因网络图。

2.4. 蛋白质-蛋白质相互作用（Protein-protein Interaction, PPI）网络的构建

将药物和疾病共同靶基因在全球蛋白资源数据库 Uni Prot（<https://www.Uniprot.org/>）中进行基因名转换，利用String（<https://string-db.org/cgi/input.pl>）数据库，物种设置为“人”（“homosapience”），最低相互作用评分设置为最高置信度“highest confidence（0.900）”构建PPI网络图。

2.5. 基因本体（Gene Ontology, GO）功能富集分析和京都基因与基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG）通路富集分析

利用R3.6.0软件，安装RSQLite包及org.Hs.eg.db包，对PPI网络中的蛋白靶基因名称转化为基因ID，建立基因ID的文件，在利用R3.6.0软件，安装Bioconductor的colorspace、stringi、DOSE、clusterProfiler、pathview、ggplot2等程集包，对基因ID进行GO富集分析和KEGG分析。

3. 结果与讨论

3.1. 补阳还五汤的有效成分的筛选

应用TCMSP平台检索，根据OB大于30%，DL大于0.18条件进行筛选，共得到补阳还五汤中黄芪20个活性成分、

当归2个活性成分、赤芍13个活性成分、地龙10个活性成分、桃仁23个活性成分、红花22个活性成分、川芎7个活性成分，共计85个活性成分，化合物主要包括：异黄酮（isoflavanone）、丝氨酸（serine）、丙氨酸（alanine）等，见下表1。

表1 药物有效成分靶点。

Mol ID	Molecule Name	OB (%)	DL
MOL000398	isoflavanone	109.99	0.3
MOL001371	Populoside_qt	108.89	0.2
MOL001351	Gibberellin A44	101.61	0.54
MOL001348	gibberellin 17	94.64	0.49
MOL001353	GA60	93.17	0.53
MOL001349	4a-formyl-7alpha-hydroxy-1-methyl-8-methylidene-4aalpha,4bbeta-gibbane-1alpha,10beta-dicarboxylic acid	88.6	0.46
MOL001344	GA122-isolactone	88.11	0.54
MOL001329	2,3-didehydro GA77	88.08	0.53
MOL001360	GA77	87.89	0.53
MOL001918	paeoniflorgenone	87.59	0.37
MOL001340	GA120	84.85	0.45
MOL001339	GA119	76.36	0.49
MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.3
MOL001358	gibberellin 7	73.8	0.5
MOL001342	GA121-isolactone	72.7	0.54
MOL000392	formononetin	69.67	0.21
MOL000433	FA	68.96	0.71
MOL001361	GA87	68.85	0.57
MOL001925	paeoniflorin_qt	68.18	0.4
MOL000438	(3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol	67.67	0.26
MOL001928	albiflorin_qt	66.64	0.33
MOL002140	Perlolyrine	65.95	0.27
MOL001355	GA63	65.54	0.54
MOL001343	GA122	64.79	0.5
MOL001910	11alpha,12alpha-epoxy-3beta-23-dihydroxy-30-norolean-20-en-28,12beta-olide	64.77	0.38

注：仅显示前25个。

3.2. 疾病相关靶点预测和药物与疾病相同靶点筛选

通过GeneCards及OMIM数据库两个数据库进行检索整合，获得高血压作用相关的靶点有6453个，利用Draw Venny Diagram在线程序将补阳还五汤活性成分与高血压病相关靶点取交集得到34个药物有效成分-疾病相关靶点（见图1）。

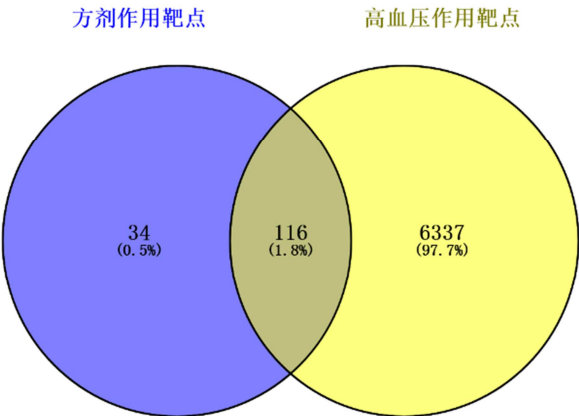


图1 补阳还五汤与高血压病相关靶点图。

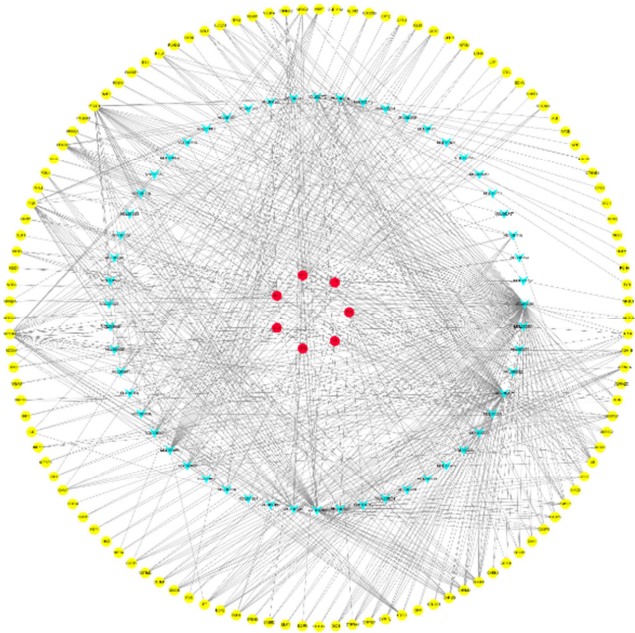


图2 药物-成分-疾病-靶点网络图。

3.3. 通过网络构建及分析结果

运用Cytoscape3.2.1软件将上述的预测和筛选结果，构建网络图，如图2、3。

注:黄色代表药物成分，蓝色代表补阳还五汤—高血压病共同靶标。

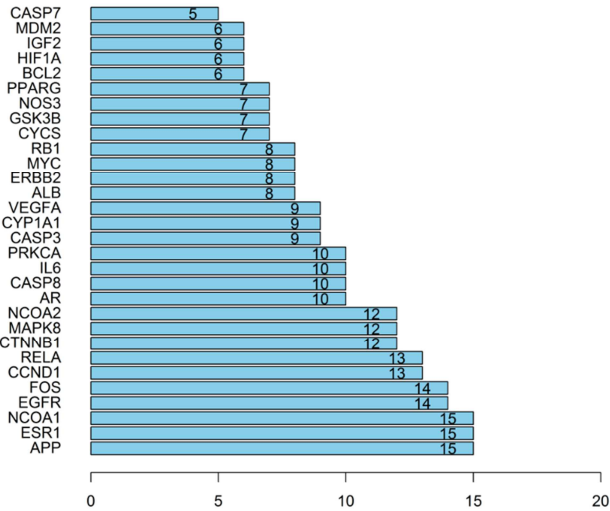


图3 补阳还五汤治疗高血压疾病的重要靶点柱状图。

根据图3可知补阳还五汤治疗高血压疾病的核心靶点为APP、ESR1、NCOA1、FOS、CCND1、RELA等。

3.4. GO分类富集分析

GO属于基因功能分类体系，包括三个分支即生物过程、分子功能、细胞组分。通过DAVID软件进行富集分析，结果得到319个BP，42个CC，29个MF。筛选P值排名前15的做GO分类富集分析，结果显示生物过程包括：RNA聚合酶II启动子转录的正调控、凋亡过程负调控、转录的正调控和DNA模板化、药物反应、细胞增殖的积极调节、基因表达的正调控等；细胞定位包括：细胞核、细胞质、胞质、核浆、细胞外的外来体等；分子功能包括：蛋白结合、相同的蛋白结合、酶结合、转录因子活性，序列特异性DNA结合、特定DNA序列绑定等，见图4、5、6。

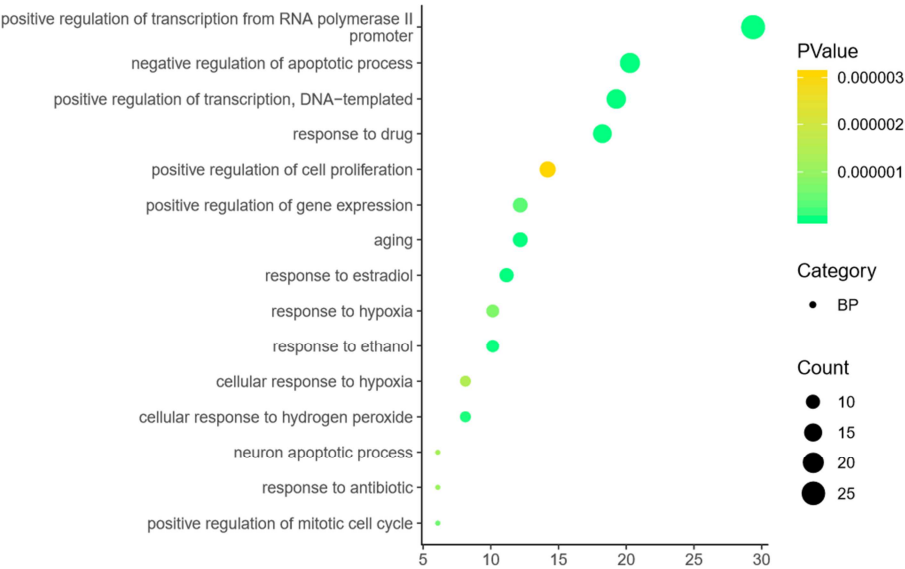


图4 补阳还五汤治疗高血压疾病BP富集分析图（前15）。

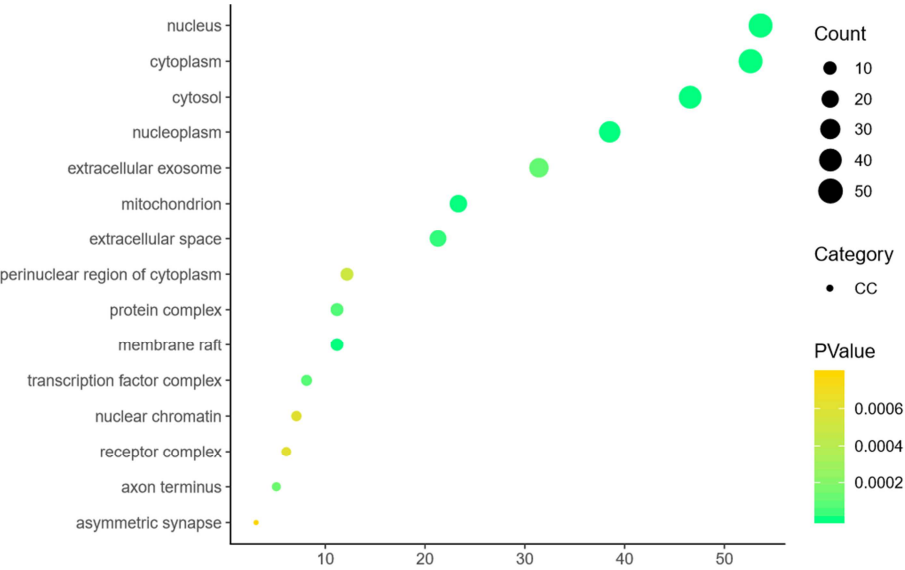


图5 补阳还五汤治疗高血压疾病CC富集分析图（前15）。

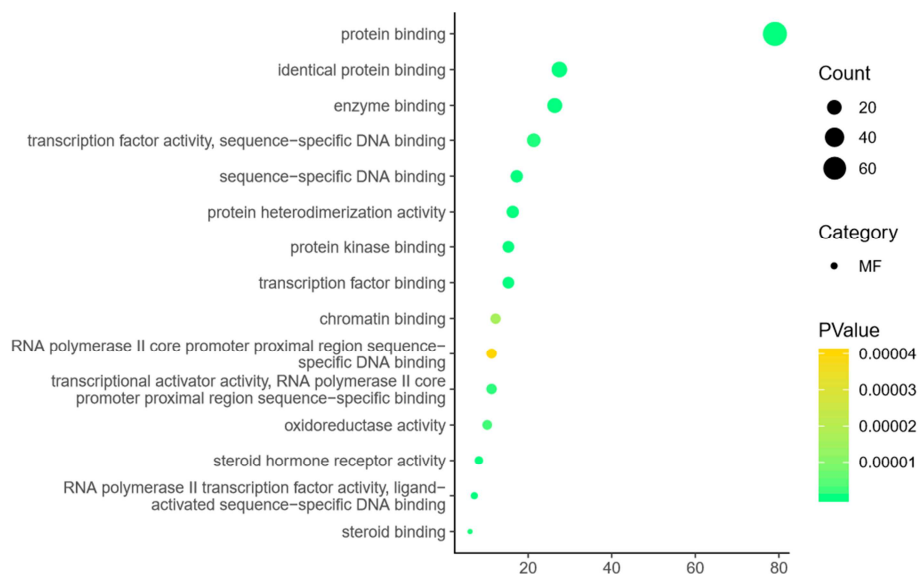


图6 补阳还五汤治疗高血压疾病MF富集分析图（前15）。

3.5. KEGG分类富集分析

在得到补阳还五汤化合物和高血压交集靶点PPI网络的基础上，根据DAVID数据库对得到的34个蛋白进行KEGG通路富集分析，共获得59条通路，筛选前20条作为富集结果，其结果主要为PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、TNF信号通路、甲状腺激素信号通路、肾素-血管紧张素系统等，见图7。

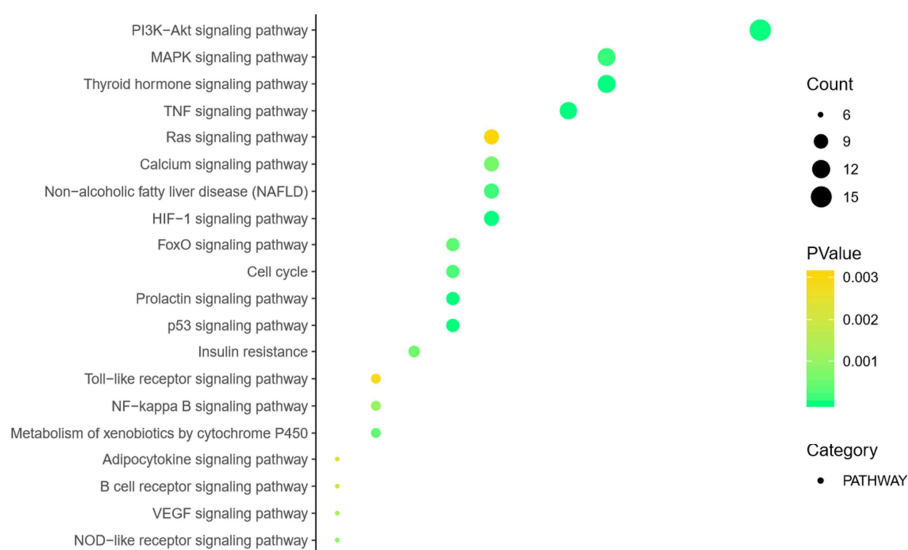


图7 补阳还五汤治疗高血压疾病KEGG气泡图。

4. 结论

本研究通过网络药理学技术，结合对应的数据库和软件，对补阳还五汤的作用机制进行研究，经过从全方黄芪、红花、赤芍、桃仁、川芎、地龙、当归中筛选，共获得97个活性成分，得到补阳还五汤与高血压病相关靶点34个和59条通路，说明补阳还五汤治疗高血压病是多成分多靶点共同作用的结果。

靶蛋白APP、ESR1、NCOA1、FOS、CCND1、RELA在蛋白相互作用网络中Degree值较高，表明这可能是补阳

还五汤治疗高血压疾病的核心靶点蛋白。杨州帆等[8]报道CCND1是一种细胞周期蛋白，可以调控细胞的生长和增值，与细胞的凋亡有关；RELA是NF-κB家族中的一员，是一种转录因子炎症反应基因的激活物，可以调控中性粒细胞的凋亡而抑制炎症反应，保护细胞，故补阳还五汤可能通过调控RELA治疗高血压疾病[9]。

GO分类富集分析显示，补阳还五汤治疗高血压疾病涉及RNA聚合酶II启动子转录的正调控、凋亡过程负调控、转录的正调控、细胞增殖的积极调节等生物过程，与蛋白结合、序列特异性DNA结合等有关。KEGG通路富集分析显示，补阳还五汤治疗高血压涉及PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、甲状腺激素信号通路、TNF信号通路和

肾素-血管紧张素系统等。研究报道PI3K-Akt信号通路参与细胞新陈代谢、增殖等调节过程, PI3K-Akt信号通路的活化可以促进高血压平滑肌细胞增殖, 改善血管重构, 从而达到治疗高血压疾病的效果[10]。补阳还五汤可能通过增加细胞增殖, 改善细胞的损伤达到治疗效果与GO生物过程中平滑肌细胞增殖的积极调节相佐证。

PI3K-Akt信号通路是细胞生存的通路之一, 高血压疾病会产生一些活性物质, 这些活性物质与PI3K结合, 进而激活PI3K结合AKT, AKT位点发生磷酸化由抑制转为激活状态, 产生抗凋亡作用[11]。肾素-血管紧张素系统是心血管系统体液调节系统之一, 可以有效的调节血压和体液平衡。机体内存在着血管紧张素转化酶, 其可以酶解AngI, 继而生AngII, 而过量的AngII可以激活AT1受体, 导致血管收缩, 水盐平衡失调, 促使血压升高, 因此抑制肾素-血管紧张素系统可有效治疗高血压[12]。甲状腺激素降低或者甲状腺功能低下会导致肾血管收缩, 肾血流量减少, 进而引起肾小球滤过率降低促使血压升高, T3能够降低血管紧张素II受体的表达, 从而降低Ca²⁺细胞内流, 促进血管平滑肌细胞的松弛, 促使血压降低[13]。高血压过程会伴随有组织器官的损害和炎症反应, 抑制炎症细胞因子生成可以缓解高血压患者的炎症反应, TNF- α 可以诱导诱导白介素(IL)介质的产生, 促进炎症的发展, TNF- α 还可以刺激细胞间粘附分子(ICAM)的高表达, 加重病理改变[14]。MAPK与细胞的发生、分化、增殖、凋亡密切相关, p38MAPK酶作为MAPK通路之一, p38MAPK信号通路可以诱导内皮细胞损伤, 参与血管VSMC增殖等病理过程, 从而参与了高血压病发展的过程, 抑制p38MAPK心肌细胞功能[15]。以上的研究和本实验的结果基本一致, 补阳还五汤可能是通过影响以上的通路来治疗高血压疾病。

综上, 补阳还五汤治疗高血压涉及多种活性成分、作用靶点及信号通路。本研究从数据网络的角度分析补阳还五汤治疗高血压的作用机制, 为以后探究补阳还五汤治疗高血压提供思路方向, 为其进一步的实验研究提供基础, 但是其具体的实验机制研究还需进一步的研究与验证。

参考文献

- [1] Yang Qing, Yu Xiao-Jing, Su Qing, et al. Blockade of c-Src Within the Paraventricular Nucleus Attenuates Inflammatory Cytokines and Oxidative Stress in the Mechanism of the TLR4 Signal Pathway in Salt-Induced Hypertension [J]. Neuroscience bulletin, 2020, 36 (04): 385-395.
- [2] 刘莹, 韩雪梅. 从气虚血瘀论治高血压的疗效分析 [J]. 中国医药指南, 2019, 17 (27): 218-219.
- [3] Kim SK, Lee S, Lee MK, et al. A systems pharmacology approach to investigate the mechanism of Oryeong-san formula for the treatment of hypertension [J]. Journal of ethnopharmacology, 2019, 244: 112-129.
- [4] 何郁鹏, 文志梅. 补阳还五汤对H型高血压合并急性脑梗死患者同型半胱氨酸、血液流变学及神经功能的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2020, 37 (01): 25-30.
- [5] 庾剑鸿. 补阳还五汤对高血压患者血压控制达标率的影响 [J]. 中国现代药物应用, 2019, 13 (09): 135-136.
- [6] 林茂晖, 郑霖飞, 刘水源. 高血压脑出血保守治疗早期应用补阳还五汤的效果观察 [J]. 中外医学研究, 2020, 18 (11): 1-3.
- [7] 曲怡, 勇入琳, 李阳等. 补阳还五汤对高血压前期大鼠血管炎症保护机制研究[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35 (02): 290-292.
- [8] 杨州帆, 吴鹏波, 刘其林, 等. CCND1 G/A位点基因多态性与肝细胞癌发生风险相关性的Meta分析[J]. 实用癌症杂志, 2020, 35 (01): 16-19+27.
- [9] Ngo KA, Kishimoto K, Davis-Turak J, et al. Dissecting the Regulatory Strategies of NF- κ B RelA Target Genes in the Inflammatory Response Reveals Differential Transactivation Logics [J]. Cell Reports, 2020, 30 (8): 2758-2775.
- [10] Beilin Zhang, Ying Zhang, Fang Deng, et al. Ligustrazine prevents basilar artery remodeling in two-kidney-two-clip renovascular hypertension rats via suppressing PI3K/Akt signaling [J]. Microvascular Research, 2020, 128: 103938.
- [11] 冉希, 张天阳, 秦红霞等. 补阳还五汤对气虚血瘀型高血压脑出血恢复期患者血清PI3K/AKT信号通路的影响 [J]. 世界中医药, 2019, 14 (08): 2053-2057.
- [12] 曲怡, 刘路, 勇入琳等. 补阳还五汤对高血压模型大鼠肾脏组织RAS系统平衡作用机制研究 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37 (07): 1729-1733.
- [13] 崔赛, 商丽华. 冠状动脉粥样硬化性心脏病和甲状腺功能减低的综述 [J]. 系统医学, 2019, 4 (22): 196-198.
- [14] 王怀. 基于MCP-1/CCR2信号通路研究清达颗粒对自发性高血压大鼠心脏炎症的影响及作用机制 [D]. 福州: 福建中医药大学, 2019.
- [15] 童晓云, 周敏, 余茂强等. 石决牡蛎汤通过p38MAPK通路改善自发性高血压大鼠血管重构的机制研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2016, 33 (6): 846-851.