

# 基于网络药理学和分子对接探讨银杏叶 治疗高血压病潜在作用机制

刘翠翠<sup>1</sup>, 杨晨<sup>1</sup>, 杨涛<sup>2</sup>, 朱俊豪<sup>1</sup>, 庄钰金<sup>1</sup>, 颜军<sup>1\*</sup>, 余能<sup>3</sup>

<sup>1</sup>成都大学药学院 四川抗菌素工业研究所 药食同源植物资源开发四川省高校重点实验室, 成都 610052;

<sup>2</sup>成都农业科技职业学院, 成都 611130; <sup>3</sup>成都晶富医药科技有限公司, 成都 610041

**摘要:**通过网络药理学和分子对接技术探讨银杏叶治疗高血压的潜在作用机制。首先,通过TCMSP、Swiss Target Prediction、Uniprot等数据库获取银杏叶的化学成分与对应靶点;运用OMIM、DrugBank及Gencards疾病数据库搜索高血压相关靶点。然后,取银杏叶对应靶点与高血压相关靶点的交集即可得到银杏叶治疗高血压病的有效靶点,使用STRING数据库对交集靶点进行蛋白相互作用(PPI)网络预测,筛选发挥治疗作用的关键成分与关键靶点。最后利用DAVID数据库对关键靶点进行GO和KEGG富集分析,揭示银杏叶治疗高血压病的作用机制。对筛选出的关键成分与治疗高血压关键靶点进行分子对接验证。共筛选出银杏叶治疗高血压病的活性成分21个,靶点190个。PPI网络分析结果显示,银杏叶治疗高血压关键成分有槲皮素、山柰酚、木犀草素、异鼠李素、金圣草黄素5个,关键靶点有PTGS2、AKTI、EGFR、TNF等20个。GO和KEGG分析结果显示,银杏叶治疗高血压病的靶点显著富集于乙型肝炎、TNF信号通路、Toll样受体信号通路、HIF-1通路、MAPK信号通路等通路。分子作用结果显示,木犀草素、金圣草黄素、异鼠李素等与PTGS2、AKTI、EGFR具有较强的亲和力。该研究初步揭示了银杏叶具有多成分、多靶点、多通路治疗高血压的潜在作用机制,为银杏叶治疗高血压物质基础及作用机制的进一步研究奠定基础。

**关键词:**网络药理学;银杏叶;高血压;靶点;通路

中图分类号:R966

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)3-0468-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.3.015

## Exploring the potential mechanism of *Ginkgo biloba* leaves in the treatment of hypertension based on network pharmacology and molecular docking

LIU Cui-cui<sup>1</sup>, YANG Chen<sup>1</sup>, YANG Tao<sup>2</sup>, ZHU Jun-hao<sup>1</sup>, ZHUANG Yu-jin<sup>1</sup>, YAN Jun<sup>1\*</sup>, YU Neng<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Medicinal and Edible Plants Resources Development of Sichuan Education Department, Sichuan Industrial Institute of Antibiotics, School of Pharmacy, Chengdu University, Chengdu 610052, China;

<sup>2</sup>Chengdu Agriculture College, Chengdu 611130, China;

<sup>3</sup>Chengdu Jingfu Pharmaceutical Technology Co., Ltd, Chengdu 610041, China

**Abstract:** To explore the potential mechanism of *Ginkgo biloba* leaves (GBL) in the treatment of hypertension through network pharmacology and molecular docking technology. First, the chemical components and corresponding targets of GBL were obtained through TCMSP, Swiss Target Prediction, Uniprot and other databases; hypertension-related targets were found by using OMIM, DrugBank and Gencards disease databases. Then, the intersection of GBL corresponding targets and hypertension-related targets were taken to get GBL effective targets for the treatment of hypertension, and the STRING database was used to perform protein interaction (PPI) network prediction on the intersection targets, and screened for the key components and hub genes. Finally, the mechanism of GBL in the treatment of hypertension was revealed by using the DAVID database to perform GO and KEGG enrichment analysis. The key components and hub genes for the treatment of hypertension were verified by molecular docking. A total of 21 active ingredients and 190 targets of GBL for the treatment of hypertension were screened. The results of PPI network analysis show that the key components of GBL for the treatment of hypertension are quercetin,

收稿日期:2020-10-22 接受日期:2021-02-03

基金项目:四川省国际科技创新合作项目(2020YFH0205);四川省科技厅项目(2019YFH0054);成都市科技局项目(2016-XT00-00023-GX)

\* 通信作者 Tel:86-013438155513; E-mail:yj7102@cdu.edu.cn

kaempferol, luteolin, isorhamnetin, and chryseriol. 20 hub genes including PTGS2, AKT1, EGFR, TNF, etc are found. GO and KEGG analysis results show that the targets are significantly enriched in hepatitis B, TNF signaling pathway, Toll-like receptor signaling pathway, HIF-1 pathway, MAPK signaling pathway and other pathways. The results of molecular interactions show that luteolin, chryseriol, isorhamnetin, etc. have strong affinity with PTGS2, AKT1 and EGFR. The study initially reveals the potential mechanism of GBL for the treatment of hypertension with multiple components, multiple targets and multiple pathways, laying a foundation for further research on the material basis and mechanism of GBL for the treatment of hypertension.

**Key words:** network pharmacology; *Ginkgo biloba* leaves; hypertension; target; pathway

高血压是一种以体循环动脉压升高为特征的慢性心血管疾病,可导致心、脑、肾等器官损伤,同时,也将大幅增加人们患有冠心病、动脉粥样硬化等心脑血管疾病的概率<sup>[1]</sup>。随着人口老龄化加剧,我国高血压及其导致的心脑血管疾病的患病率不断增加,高血压防治已成为我国公共卫生的一项严峻挑战<sup>[2]</sup>。从高血压临床表现来看,中医学将其归属于“肝风”、“头痛”、“眩晕”等病症范畴<sup>[3]</sup>,并分为肝火亢盛、痰湿壅盛、阴虚阳亢、阴阳两虚4个证型,治疗时因人施治、辨证论治<sup>[4]</sup>。银杏叶作为银杏的药用部位之一,其主要有效成分有黄酮类、萜内脂类、银杏酸类化合物<sup>[5]</sup>,具有调节血脂、改善脑血流、抑制血小板活性、抗衰老、抗凋亡等多种药理作用<sup>[6]</sup>。目前,银杏叶制剂已成为治疗心脑血管疾病植物药品种之一<sup>[7]</sup>,已有多项银杏叶制剂(如:银杏叶片、银杏酮酯、舒血宁注射液、银杏达莫注射液等)应用于临床。同时,临床上使用西药和银杏叶制剂对高血压患者联合用药结果显示,两种药物的降压效果优于单纯服用降压药,但银杏叶制剂降压的成分和机制尚不明确<sup>[8]</sup>。运用“药物-靶点-通路-疾病”之间的相互作用网络来揭示多分子药物协同作用于疾病的机制的网络药理学与中医学的整体观以及中药及其复方多成分、多途径、多靶点协同作用的原理殊途同归<sup>[9]</sup>。由此,该文采用网络药理学方法对银杏叶治疗高血压的潜在机制与作用网络展开了研究,以便为银杏叶制剂的临床应用与研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 网站数据库和分析软件

中药系统药理学分析平台 TCMSp (<https://tcmsp.w.com/tcmsp.php>); 蛋白数据库 UniProt (<http://www.uniprot.org/>); 靶点预测平台 Swiss Target Prediction 平台 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>); OMIM 数据库 (<https://omim.org>); GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>); DrugBank 数据库 (<https://www.drugbank.ca/>); STRING 数据库 (<https://string-db.org/>); DAVID 平台 ([\[vid.ncicrf.gov/\]\(http://vid.ncicrf.gov/\)\); 微生信网络平台 \(<http://www.bioinformatics.com.cn/>\); PDB 数据库 \(<http://www.rcsb.org/>\); ZINC 数据库 \(<https://zinc.docking.org/>\); Cytoscape 3.7.2 软件; AutoDock 分子模拟软件及 Pymol。](https://da-</a></p></div><div data-bbox=)

### 1.2 主要化学成分及作用靶点的收集与筛选

银杏叶成分检索数据库选用 TCMSp (<https://tcmsp.w.com/tcmsp.php>); 候选化合物筛选条件为化合物药理学参数中类药性 (drug-like, DL)  $\geq 0.18$  且口服生物利用度 (oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$ ; 运用 TCMSp 数据库检索候选化合物靶点并通过蛋白质数据库 (UniProt) 将其转化为相应的基因; 运用 Swiss Target Prediction 平台 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 预测候选化合物潜在靶点。最后合并 TCMSp 与 Swiss Target Prediction 数据库检索到的化合物靶点并剔除重复基因, 即得药物作用的靶点基因。

### 1.3 高血压病相关基因的收集

将“hypertension”作为检索关键词, 在 OMIM 数据库 (<https://omim.org>)、GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、DrugBank 数据库 (<https://www.drugbank.ca/>) 中进行高血压病靶点的检索并删除重复基因。

### 1.4 网络的构建与分析

#### 1.4.1 成分靶点网络的构建

取化合物的预测靶点与高血压相关靶点的交集, 即得到银杏叶治疗高血压的预测靶点。然后, 在 Cytoscape 3.7.2 软件中构建其成分靶点网络, 并以节点表示化合物、靶蛋白, 边表示化合物-靶点的相互作用。运用 Cytoscape 软件的“Network Analyzer”功能分析成分靶点网络的拓扑属性, 计算节点的紧密度 (closeness)、介度 (betweenness)、连接度 (degree) 3 个重要参数并据此分析银杏叶治疗高血压的主要活性成分。

#### 1.4.2 构建靶蛋白相互作用网络

借助 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>)

构建靶蛋白相互作用网络(PPI),将“物种”设置为“Homo sapiens”、“最低相互作用阈值”设置为“中等置信度 $>0.4$ ”,其余参数均保持默认。然后,运用Cytoscape软件分析PPI网络拓扑属性,并筛选其中的关键靶点。

### 1.5 GO生物过程与KEGG通路富集分析

运用DAVID平台(<https://david.ncifcrf.gov/>)对银杏叶治疗高血压的关键靶点进行GO、KEGG分析,“物种”选择为“H. sapiens”,预测银杏叶治疗高血压病的潜在作用机制。筛选出 $P < 0.05$ 的生物过程与通路,并根据富集基因的多少排序,将前20位的通路导入微生信网络平台(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)绘制条形图和气泡图。

### 1.6 成分—靶点—通路网络构建

结合相关文献筛选、分析富集基因数排名前20的KEGG信号通路,得出可能与高血压相关的信号通路,并找出富集在这些通路上的抗高血压靶点,再与相应的活性成分配对,从而构建“成分—靶点—通路”网络。

### 1.7 分子对接验证

选取“成分—靶点—通路”网络中“degree”值排名

前3的靶点与对应的活性成分进行分子对接,同时以蛋白配体和一线降压药氢氯噻嗪(Hydrochlorothiazide)、呋塞米(Furosemide)为阳性对照,在PDB数据库(<http://www.rcsb.org/>)中下载靶点的3D结构“.pdb”格式文件,在ZINC数据库(<https://zinc.docking.org/>)中下载化合物3D结构的“.mol2”格式文件。在AutoDock Tools(v1.5.6)中导入靶点的3D结构经过去水、加氢、分配电荷等处理,运用Grid模块设置蛋白原配体为对接盒子中心,其格点盒子大小设定为 $40 \times 40 \times 40$ ,将准备好的蛋白文件、配体文件、化合物文件以及脚本放入相应文件夹,利用Autodock\_vina 1.1.2分子模拟软件进行分子对接。然后,用结合能(affinity)来评价化合物与受体的匹配情况,并使用Pymol绘制最佳匹配结果图。

## 2 结果

### 2.1 银杏叶主要活性成分的筛选

运用TCMSP数据库检索出307个银杏化学成分,再根据 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 的原则,筛选出27个化合物,主要含黄酮类如山柰酚(MOL000422)、槲皮素(MOL000098)、异鼠李素(MOL000354)及木犀草素(MOL000006)和银杏内酯等(见表1)。

表1 银杏叶活性成分及ADME参数

Table 1 Active components and ADME parameters of GBL

| TCMSP 编号<br>TCMSP Number | 成分名称<br>Name of ingredients   | OB(%) | DL   |
|--------------------------|---|-------|------|
| MOL011578                | 银杏内酯 Bilobalide   | 84.42 | 0.36 |
| MOL002680                | 毛茛黄素 Flavoxanthin   | 60.41 | 0.56 |
| MOL011586                | 银杏内酯 B Ginkgolide B   | 44.38 | 0.73 |
| MOL011587                | 银杏内酯 C Ginkgolide C   | 48.33 | 0.73 |
| MOL011588                | 银杏内酯 J Ginkgolide J   | 44.84 | 0.74 |
| MOL011589                | 银杏内酯 M Ginkgolide M   | 49.09 | 0.75 |
| MOL011594                | 异甘醇 Isogoycyrol   | 40.36 | 0.83 |
| MOL011597                | 木犀草素-4'-葡萄糖苷 Luteolin-4'-Glucoside  | 41.97 | 0.79 |
| MOL011604                | 丁香黄素 Syringetin   | 36.82 | 0.37 |
| MOL001490                | 双[(2S)-2-乙基己基]苯-1,2-二羧酸<br>Bis[(2S)-2-ethylhexyl] Benzene-1,2-Dicarboxylate | 43.59 | 0.35 |
| MOL001494                | 亚油酸乙酯 Mandenol  | 42.00 | 0.19 |
| MOL001558                | 芝麻素 Sesamin   | 56.55 | 0.83 |
| MOL002881                | 香叶木素 Diosmetin  | 31.14 | 0.27 |
| MOL003044                | 金圣草黄素 Chryseriol  | 35.85 | 0.27 |
| MOL000354                | 异鼠李素 Isorhamnetin   | 49.60 | 0.31 |
| MOL000358                | $\beta$ -谷甾醇 Beta-sitosterol  | 36.91 | 0.75 |
| MOL000422                | 山柰酚 Kaempferol  | 41.88 | 0.24 |

续表 1

| TCMSP 编号<br>TCMSP Number | 成分名称<br>Name of ingredients      | OB(%) | DL   |
|--------------------------|----------------------------------|-------|------|
| MOL000449                | 豆甾醇 Stigmasterol                 | 43.83 | 0.76 |
| MOL000492                | (+)-儿茶素 (+)-Catechin             | 54.83 | 0.24 |
| MOL005573                | 芫花素 Genkwanin                    | 37.13 | 0.24 |
| MOL000006                | 木犀草素 Luteolin                    | 36.16 | 0.25 |
| MOL007179                | 亚麻酸乙酯 Linolenic acid ethyl ester | 46.10 | 0.20 |
| MOL009278                | 西伯利亚落叶松黄酮 Laricitrin             | 35.38 | 0.34 |
| MOL000096                | (-)-儿茶素 (-)-Catechin             | 49.68 | 0.24 |
| MOL000098                | 槲皮素 Quercetin                    | 46.43 | 0.28 |
| MOL002883                | 油酸乙酯 Ethyl oleate (NF)           | 32.40 | 0.19 |
| MOL005043                | 菜油甾醇 Campest-5-en-3beta-ol       | 37.58 | 0.71 |

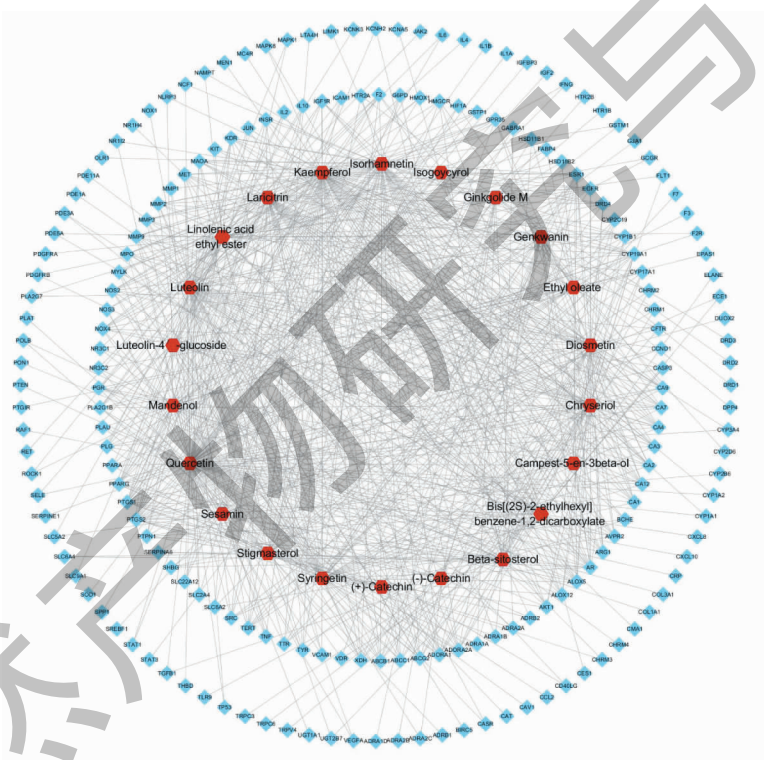


图 1 银杏叶活性成分与交集靶点相互作用网络图

Fig. 1 Interaction network between active components and intersection targets in GBL

注:六边形节点代表活性成分;菱形节点代表靶点。Note:The hexagonal node represents the active component;The rhombic node represents the target.

## 2.2 药物疾病靶点筛选结果

运用 TCMSP、Swiss Target Prediction 平台分别检索出 470、1 328 个潜在靶点,删除成分间重复靶点后分别获得 218、354 个潜在靶点,将其合并、剔除重复靶点后得到 480 个潜在靶点。然后,在 OMIM、DrugBank、GeneCards 三个在线数据库中挖掘出了 1 136 个高血压相关靶点。至此可知,两个数据集的

交集(190 个)即为银杏叶治疗高血压的潜在靶点。与筛选出的 27 个主要活性成分匹配后得到 22 个具有降压作用的活性成分。

## 2.3 网络图分析

### 2.3.1 成分靶点网络

将银杏叶中可能具有降压作用的 22 个活性成分及 190 个交集靶点数据导入 Cytoscape 3.7.2 软

件,构建成分靶点网络图,见图1。结果显示,共有212个节点,形成762个关系对。该成分靶点网络degree平均值为7.19,介值中心度(betweenness centrality, BC)平均值为0.0098,紧密中心度(closeness centrality, CC)平均值为0.34,这表明银杏叶中多成

分、多靶点相互作用。靶点数排名前5的成分分别为槲皮素( quercetin)、山柰酚( kaempferol)、木犀草素( luteolin)、异鼠李素( isorhamnetin)、金圣草(黄)素( chryseriol),揭示这些成分可能是银杏叶治疗高血压的有效成分,拓扑参数见表2。

表2 银杏叶-活性成分-关键靶点-疾病网络拓扑分析

Table 2 Topological analysis of GBL active components key target disease network

| 成分名称<br>Name of ingredients   | 度值<br>Degree | 介值中心度<br>BC  | 紧密中心度<br>CC  |
|---|--------------|--------------|--------------|
| 槲皮素 Quercetin   | 100          | 0.337 537 06 | 0.512 135 92 |
| 山柰酚 Kaempferol  | 72           | 0.119 401 61 | 0.450 854 7  |
| 木犀草素 Luteolin   | 65           | 0.092 260 24 | 0.437 759 34 |
| 异鼠李素 Isorhamnetin   | 52           | 0.044 974 07 | 0.415 354 33 |
| 金圣草黄素 Chryseriol  | 49           | 0.025 202 4  | 0.405 769 23 |
| 西伯利亚落叶松黄酮 Laricitrin  | 48           | 0.029 685 95 | 0.408 914 73 |
| 香叶木素 Diosmetin  | 44           | 0.024 419 49 | 0.402 671 76 |
| 丁香黄素 Syringetin   | 43           | 0.030 230 31 | 0.401 140 68 |
| 亚麻酸乙酯 Linolenic acid ethyl ester  | 38           | 0.130 933 25 | 0.379 496 4  |
| 豆甾醇 Stigmasterol  | 37           | 0.096 804 97 | 0.392 193 31 |
| $\beta$ -谷甾醇 Beta-sitosterol  | 37           | 0.095 143 92 | 0.390 740 74 |
| 芫花素 Genkwanin   | 29           | 0.013 812 6  | 0.380 866 43 |
| 双[(2S)-2-乙基己基]苯-1,2-二羧酸<br>Bis[(2s)-2-ethylhexyl] benzene-1,2-dicarboxylate | 29           | 0.142 333 12 | 0.367 595 82 |
| 亚油酸乙酯 Mandenol  | 27           | 0.038 940 62 | 0.360 068 26 |
| 银杏内酯 M Ginkgolide M   | 15           | 0.086 811 13 | 0.308 479 53 |
| 芝麻素 Sesamin   | 14           | 0.046 245 54 | 0.345 901 64 |
| 木犀草素-4'-葡萄糖苷 Luteolin-4'-glucoside  | 12           | 0.011 941 07 | 0.337 060 7  |
| 菜油甾醇 Campest-5-En-3beta-ol  | 9            | 0.002 377 29 | 0.335 987 26 |
| 异甘醇 Isogoycyrol   | 8            | 0.009 997 18 | 0.340 322 58 |
| (-)-儿茶素 (-)-Catechin  | 4            | 0.000 130 32 | 0.335 987 26 |
| (+)-儿茶素 (+)-Catechin  | 4            | 0.009 551 33 | 0.335 987 26 |

### 2.3.2 靶蛋白 PPI 网络分析

在 STRING 数据库中进行 PPI 网络分析,设置置信度 $\geq 0.4$ 得到187个靶点、形成3 093个蛋白互作关系对,且有3个无蛋白相互作用靶点,见图2。因网络节点“degree”中位数为25,故以“degree”大于等于2倍中位数的值为筛选条件,即“degree $\geq 50$ ”,筛选出44个候选靶点;然后对其进行 degree、betweenness 以及 closeness 计算分析,再筛选出大于中位数的靶点,得到20个关键的治疗高血压靶点(见图3)。将这20个靶点与对应成分进行匹配后,按照度值筛选前五位成分为槲皮素、木犀草素、山柰

酚、金圣草(黄)素、异鼠李素,与之前得到的靶点数前五的成分一致,说明这五个成分为银杏叶治疗高血压的关键成分。

### 2.4 GO 生物过程和 KEGG 通路富集分析

运用 DAVID 6.8 数据库对上文中得到的20个关键治疗高血压靶点进行 GO 分析,得到248个条目。并且,以 $P < 0.05$ 为筛选条件,筛选出208个有效条目。其中,182个生物过程条目、10个细胞组成条目、16个分子功能条目。图4所示的是筛选出的最低 $P$ 值的10个条目并将其升序排列的情况。结果显示,生物过程主要涉及一氧化氮生物合成过程



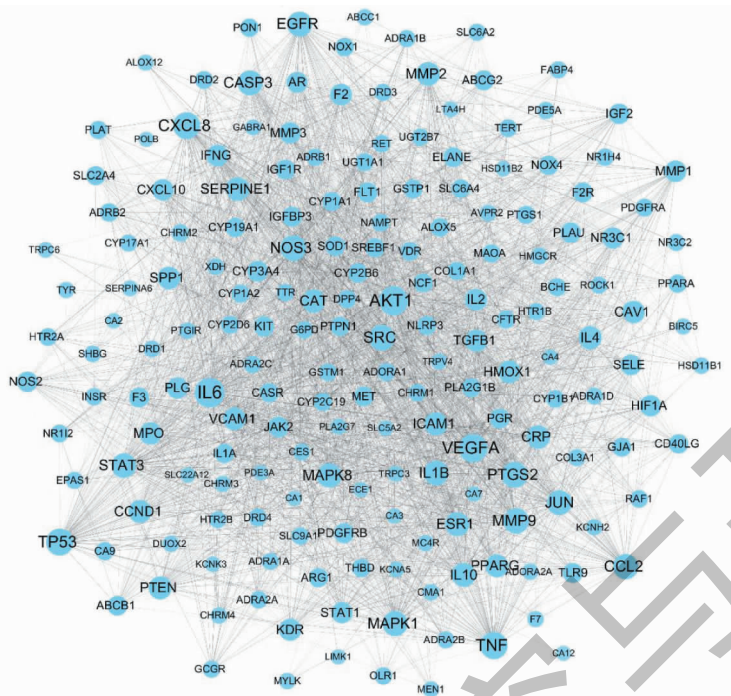


图2 银杏叶治疗高血压病靶点的蛋白质相互作用 (PPI) 网络图

Fig. 2 Protein protein interaction (PPI) network of GBL as a target for the treatment of hypertension

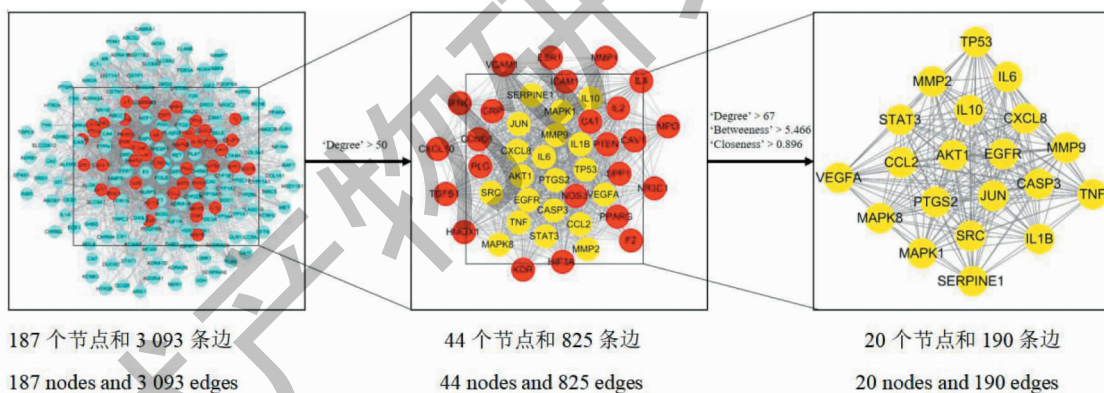


图3 PPI 网络筛选

Fig. 3 PPI network screening

注:蓝色代表度值小于50的靶点;红色代表度值大于50的靶点;黄色代表度值大于67、介度大于5.466、紧密度大于0.896的靶点。Note: The blue represents targets with degree value less than 50;The red represents targets with degree value greater than 50;The yellow represents targets with degree value greater than 67, betweenness greater than 5.466, and closeness greater than 0.896.

的正调控 (positive regulation of nitric oxide biosynthetic process)、药物反应(response to drug)、平滑肌细胞增殖的正调控(positive regulation of smooth muscle cell proliferation)及血管生成(angiogenesis)等,细胞组成中主要影响细胞外空间(extracellular space)、细胞外区域(extracellular region)、小窝(caveola)、蛋白质复合物(protein complex);分子功能主要包括相同蛋白结合(identical protein bind-

ing)、酶结合(enzyme binding)、蛋白质结合(protein binding)、细胞因子活性(cytokine activity)等方面。

再对这20个关键靶点进行KEGG信号通路分析并以 $P < 0.05$ 为筛选条件,得到90条信号通路。然后,按 $P$ 值大小升序排列,前20位的信号通路分别是乙型肝炎(Hepatitis B)、TNF信号通路(TNF signaling pathway)、Toll样受体信号通路(Toll-like receptorsignaling pathway)、HIF-1信号通路(HIF-1

signaling pathway)、MAPK 信号通路(MAPK signaling pathway)等(见图 5)。

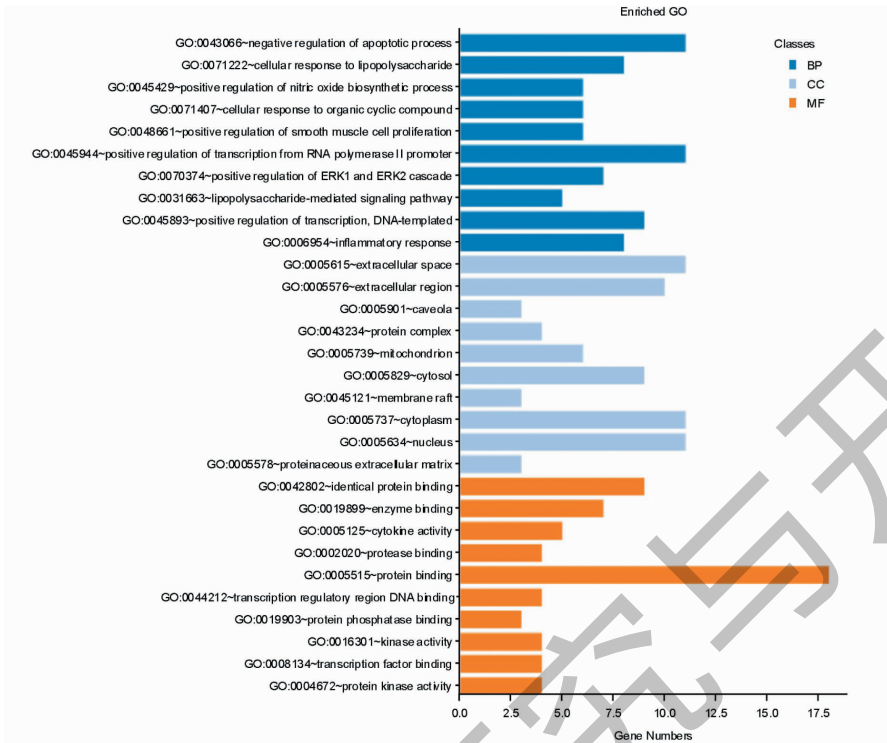


图 4 银杏叶活性成分 GO 生物过程分析

Fig. 4 Biological process analysis of active component go in GBL

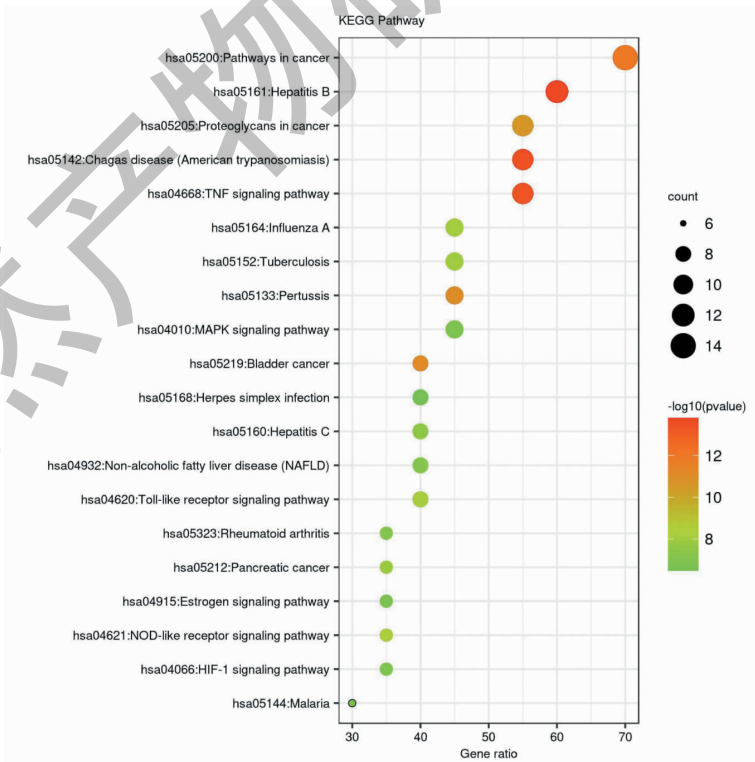


图 5 银杏叶活性成分-靶点 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 Enrichment analysis of active components target KEGG pathway in GBL





表 3 银杏叶活性成分与高血压潜在作用靶点的分子对接结果

Table 3 Molecular docking results of active components from GBL and potential targets of hypertension

| 化合物<br>Compound          | 结合能 Binding energy(kcal/mol) |       |      |
|--------------------------|------------------------------|-------|------|
|                          | PTGS2                        | AKT1  | EGFR |
| 配体 Ligand                | -10.3                        | -15.0 | -8.0 |
| 氢氯噻嗪 Hydrochlorothiazide | -6.4                         | -7.1  | -6.8 |
| 呋塞米 Furosemide           | -7.6                         | -7.3  | -6.8 |
| 槲皮素 Quercetin            | -5.5                         | -7.9  | -7.4 |
| 山柰酚 Kaempferol           | -5.5                         | -7.5  | -7.0 |
| 木犀草素 Luteolin            | -9.7                         | -9.2  | -9.0 |
| 金圣草黄素 Chryseriol         | -9.7                         | -8.9  | -8.2 |
| 异鼠李素 Isorhamnetin        | -9.7                         | -8.6  | -8.2 |

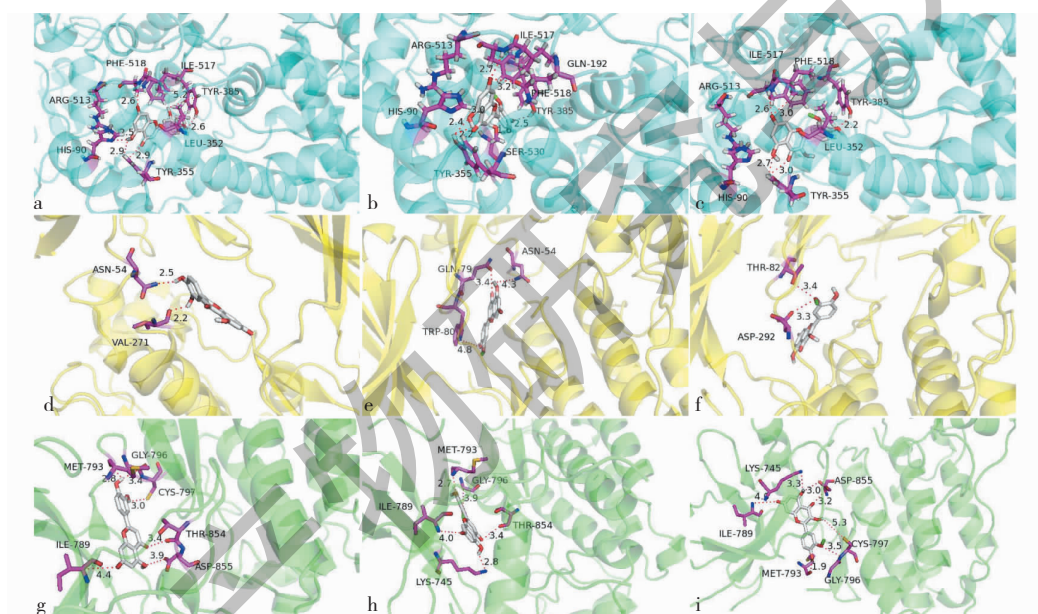


图 7 分子对接模式图

Fig. 7 Molecular docking pattern

注:a. PTGS2-木犀草素;b. PTGS2-金圣草黄素;c. PTGS2-异鼠李素;d. AKT1-木犀草素;e. AKT1-金圣草黄素;f. AKT1-异鼠李素;g. EGFR-木犀草素;h. EGFR-金圣草黄素;i. EGFR-异鼠李素。Note:a. PTGS2-Luteolin;b. PTGS2-Chryseriol;c. PTGS2-Isorhamnetin;d. AKT1-Luteolin;e. AKT1-Chryseriol;f. AKT1-Isorhamnetin;g. EGFR-Luteolin;h. EGFR-Chryseriol;i. EGFR-Isorhamnetin.

能长期紊乱,会破坏血管内稳态,使血管平滑肌细胞肥大、血管舒缩功能失调、外周阻力增加等而造成血压升高<sup>[11]</sup>。

对银杏叶治疗高血压的作用网络与潜在机制的研究结果表明:银杏叶中可能含有 21 个成分对治疗高血压有显著效果,其中槲皮素、山柰酚、木犀草素、异鼠李素、金圣草黄素为关键成分,银杏内酯等作为协同作用成分。槲皮素和山柰酚等具有显著的心脏相关益处,如抑制 LDL 氧化、非内皮依赖性血管扩

张剂的作用;减少粘附分子和其他炎症标记,在氧化应激条件下对一氧化氮和内皮功能的保护作用;还可预防神经元氧化和炎症损害以及血小板的抗凝集作用<sup>[12]</sup>。已有研究表明氧化应激是高血压的重要促成因素,并且在高血压肾损害中起着关键作用。银杏内酯具有抗氧化应激作用,提高高血压脑出血治疗效果,对高血压脑出血患者神经功能的恢复具有积极作用<sup>[13]</sup>,同时,银杏内酯还可协同作用银杏黄酮有效清除过量氧自由基<sup>[14]</sup>。此外,该文收集到

的银杏叶 190 个治疗高血压的靶点,表明银杏叶治疗高血压不是单一成分或靶点的作用,而是多成分、多靶点协同作用的结果。

从构建的 PPI 网络可知,银杏叶与高血压靶点存在密切相互作用,核心靶点有 20 个,主要与 PTGS2、AKT1、EGFR、TNF、MMP9、MAPK1、STAT3、EGFR、MMP2、IL6 等有关。研究表明,心血管疾病的病理生理和高血压炎症机制的发生与血管、肾脏和血管周围脂肪组织中免疫细胞的浸润息息相关<sup>[15]</sup>。其中,JUN 是 AP-1(激活子蛋白-1)的组成之一,而 AP-1 可诱导炎症因子白介素 6(IL6)、白介素 10(IL10)、肿瘤坏死因子(TNF)等的表达,引起血管内皮细胞及炎症细胞的增殖,血管阻力增大从而导致血压升高<sup>[16]</sup>。前列腺素内源性过氧化物合酶(PTGS2)能够激活分布在血小板和内皮细胞上的前列环素受体 G 蛋白,从而松弛血管平滑肌及抑制血小板聚集,降低血压<sup>[17]</sup>。VEGFA 为血管内皮细胞生长因子,可诱导新血管生成,调节血管张力,在调节病理性血管生成中起着核心作用<sup>[18]</sup>。血管内皮障碍相关基因 MAPK1、AKT1 等参与了 MAPK 信号通路,从而促进血管内皮细胞的增殖与血管生成,并与高血压的发生密切相关<sup>[19]</sup>。黄酮类成分能有效抑制炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  和 VCAM-1 的产生,并增强抗氧化能力<sup>[20]</sup>。同时,银杏叶中的银杏内酯也可降低 IL-6、TNF- $\alpha$ 、MMP9 等炎症因子水平,改善炎症反应<sup>[21]</sup>。那么,银杏叶极有可能是通过控制炎症反应、改善血管内皮功能障碍,进而起到治疗作用。

进一步对其进行 GO 分析和 KEGG 通路分析,GO 富集分析显示:银杏叶治疗高血压主要通过一氧化氮生物合成过程和平滑肌细胞增殖的正调控、血管生成等生物过程发挥作用。KEGG 通路富集结果显示,乙型肝炎、TNF 信号通路、Toll 样受体信号通路、HIF-1 通路、MAPK 信号通路等是银杏叶降压的主要通路。研究表明:HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 信号通路被认为是治疗与血管生成有关的疾病的重要靶标<sup>[22]</sup>;HIF 还可激活控制细胞氧稳态的基因,包括与耗氧、红细胞生成、血管生成和线粒体代谢有关的基因<sup>[23]</sup>。这正好佐证了 GO 富集分析结果中影响 NO 的生物合成与血管生成等生物过程。同时,槲皮素能显著抑制 TLR4-NF- $\kappa$ B 通路,减少炎症因子释放,从而改善心室重构<sup>[24]</sup>;木犀草素通过激活 Toll 样受体 4 (TLR4)、TNF 受体相关因子 6

(TRAF6)、核转录因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 信号通路,降低了脑出血诱发的细胞因子的释放<sup>[25]</sup>;银杏内酯可通过抑制 IL-1 $\beta$ 、TNF 等信号通路,从而控制炎症反应、抑制血管内皮细胞凋亡、改善组织血流量<sup>[26]</sup>。

综上所述,该文系统地分析了银杏叶治疗高血压的作用机制,揭示了银杏叶治疗高血压潜在的活性成分、作用网络和潜在作用机制,证明了银杏叶治疗高血压具有多成分、多靶点、多通路协同作用的特点,为进一步药效物质基础分析和作用机制研究提供方向,其后期需要实验进一步验证相关通路间的关系。

#### 参考文献

- 1 Chen XP, Cui ZQ, Lin JX, et al. Comment and key-points translation of International society of hypertension global hypertension practical guideline [J]. Chin J Front Med Sci; Elec 中国医学前沿杂志:电子版, 2020, 12(5): 54-60.
- 2 Hu SL, Wang J, Cheng C, et al. Epidemiological analysis of chronic diseases in Chinese residents [J]. Chin J Clinic H (中国临床保健杂志), 2020, 23: 289-294.
- 3 Tan YQ, Chen HW, Li J, et al. Clinical research progress of traditional Chinese medicine in treating high-normal blood pressure [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2020, 26(15): 224-228.
- 4 Li YY, Hu LL, Wang YQ, et al. Research progress in traditional Chinese medicine syndromes characteristics of normal high blood pressure [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志), 2019, 34: 4747-4749.
- 5 Yang Y, Zhou B, Zhao WJ. *Ginkgo biloba* leaves history: a model of research and development for Chinese materia medica/phytomedicine [J]. China Tradit Herb Drugs (中草药), 2016, 47: 2579-2591.
- 6 Li SJ, Geng JL, Zhang Y, et al. Advances in pharmacological research of *Ginkgo biloba* [J]. Drug Eval Res (药物评价研究), 2017, 40: 731-741.
- 7 Liu GL. The pharmacological effect and clinical application of the *Ginkgo biloba* extract [J]. Shanghai Med Pharm J (上海医药), 2016, 37(3): 8-22.
- 8 Zhao MJ, Ma LL, Li BH, et al. *Ginkgo* leaf dropping pills combined with antihypertensive drugs in the treatment of essential hypertension: a systemic review and meta-analysis [J]. Chin J Evid-Based Cardiovasc Med (中国循证心血管医学杂志), 2019, 11: 910-913.
- 9 Wang J, Chen YW, Zhao K, et al. Molecular mechanism of Zuojin pill in the treatment of hypertension based on network pharmacology [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2019, 41:

- 1976-1981.
- 10 Liu YD, Gao JH, Yang ZH, et al. Study on molecules mechanism of Bushen Yixin tablets for hypertension based on network pharmacology[J]. Chin J Inf Tradit Chin Med(中国中医药信息杂志), 2019, 26(8):104-109.
  - 11 Li B, Lei SS, Li H, et al. Systematic understanding the mechanisms of Ji Mai Tong tablet treatment on hypertension[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(1):49-57.
  - 12 Rolnik A, Zuchowski J, Stochmal A, et al. Quercetin and kaempferol derivatives isolated from aerial parts of *Lens culinaris* Medik as modulators of blood platelet functions[J]. Ind Crops Prod, 2020, 152:112536.
  - 13 Wang SY, A JY, Fei F, et al. Pharmacokinetics of the prototype and hydrolyzed carboxylic forms of ginkgolides A, B, and K administered as a *Ginkgo* diterpene lactones meglumine injection in beagle dogs[J]. Chin J Nat Med, 2017, 15:775-784.
  - 14 Peng CL, Zhang SM, Zhu Y. Differential inhibition effects of *Ginkgo* flavone and ginkgolide on the proliferation of vascular smooth muscle cell and the mechanism[J]. Central South Pharm(中南药理学), 2017, 15:1351-1356.
  - 15 Viridis A, Dell Agnello U, Taddei S. Impact of inflammation on vascular disease in hypertension[J]. Maturitas, 2014, 78:179-183.
  - 16 Ren WQ, Li H, Liu YQ, et al. Effects of compound Qishao Jiangya tablet on the levels of IL-8, IL-10 and the expression of AP-1 and MCP-1 in SHR rats[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2020, 42:1031-1034.
  - 17 Long HP, Lin XY, Wang YH, et al. Explore mechanism of Compound Uncaria Hypotensive Tablet for hypertension based on network pharmacology[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2018, 43:1360-1365.
  - 18 Chen Y, Liu Y, Wang XY, et al. Changes and clinical significance of serum levels of periostin, endothelin-1 and vascular endothelial growth factor in patients with essential hypertension[J]. Chin J Evid-Based Cardiovasc Med(中国循证心血管医学杂志), 2019, 11:455-457.
  - 19 Zhang XY, Huang NN, Sun KB, et al. Efficacy network and mechanism prediction of Chaihu Longgu Muli decoction in treatment of essential hypertension[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50:5162-5169.
  - 20 Lian YY, Xu J, Zhu TT, et al. The protective effect of *Polygonum perfoliatum* L. on acute liver injury in rats was studied based on the SIRT6/NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32:1818-1825.
  - 21 Chen J. Effects of *Ginkgolide* injection combined with batroxobin on cytokines and cerebral hemodynamics indexes in patients with acute cerebral infarction[J]. Clin Res Pract(临床医学研究与实践), 2020, 5(33):53-54.
  - 22 Li C, Wang Q, Shen S, et al. HIF-1 $\alpha$ /VEGF signaling-mediated epithelial-mesenchymal transition and angiogenesis is critically involved in anti-metastasis effect of luteolin in melanoma cells[J]. Phytother Res, 2019, 33:798-807.
  - 23 Choudhry H, Harris A L. Advances in hypoxia-inducible factor biology[J]. Cell Metab, 2018, 27:281-298.
  - 24 Zhou X, Liu J, Li JF. Effects and mechanism of quercetin on blood pressure, intestinal flora and ventricular remodeling in spontaneously hypertensive rats[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32:1449-1455.
  - 25 Yang Y, Tan X, Xu J, et al. Luteolin alleviates neuroinflammation via downregulating the TLR4/TRAF6/NF- $\kappa$ B pathway after intracerebral hemorrhage[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 126:110044.
  - 26 Zeng JB, Wang P, Gao XJ, et al. The effect of ginkgolides injections on hypertensive cerebral hemorrhage and neurological function[J]. Pharm Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2016, 32(6):217-220.