

基于网络药理学及分子对接技术探究地骨皮 - 葛根治疗高血压的作用机制

向海珠, 奚久山, 董莹

湖北中医药大学, 湖北 武汉

收稿日期: 2023年1月19日; 录用日期: 2023年2月13日; 发布日期: 2023年2月22日

摘要

目的: 运用网络药理学及分子对接技术探究地骨皮 - 葛根药对治疗高血压的作用机制。方法: 利用TCMSP数据库及Uniprot数据库筛选地骨皮 - 葛根的有效成分和作用靶点, 通过GeneCards、OMIM、TTD及DrugBank疾病数据库搜索高血压相关靶点。运用Venny数据库构建地骨皮 - 葛根药对和高血压靶点韦恩图, 获得交集靶点; 将获得的交集靶点上传至STRING数据库进行蛋白质 - 蛋白质相互作用(PPI)网络预测。利用Metascape数据库进行GO和KEGG富集分析。应用Cytoscape3.9.0软件制作“药物 - 成分 - 靶点”、蛋白质 - 蛋白质相互作用(PPI)、“成分 - 靶点 - 通路”网络图。最后采用AutoDockTools软件对主要活性成分和核心靶点进行分子对接验证。结果: 筛选出地骨皮 - 葛根有效化合物21个, 对应作用靶点169个, 药物与疾病共同作用靶点98个; 蛋白互作网络中核心基因为STAT3、AKT1、CAV1、ESR1、TP53; KEGG分析显示主要通路有神经活性配体 - 受体相互作用、脂质与动脉粥样硬化、cGMP-PKG信号通路等。分子对接结果显示, 地骨皮 - 葛根药对的主要活性成分与关键靶点具有较强的结合能力。结论: 地骨皮 - 葛根药对治疗高血压具有多成分、多靶点、多通路的特点, 为该药对的临床应用和高血压的治疗提供了基础。

关键词

高血压, 地骨皮, 葛根, 网络药理, 作用机制

Study on the Mechanism of Lycii Cortex-*Puerariae lobatae* Radix Herb Pair in the Treatment of Hypertension Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

Haizhu Xiang, Jiushan Huan, Ying Dong

文章引用: 向海珠, 奚久山, 董莹. 基于网络药理学及分子对接技术探究地骨皮-葛根治疗高血压的作用机制[J]. 中医学, 2023, 12(2): 443-454. DOI: 10.12677/tcm.2023.122067

Huber University of Chinese Medicine, Wuhan Huber

Received: Jan. 19th, 2023; accepted: Feb. 13th, 2023; published: Feb. 22nd, 2023

Abstract

Objective: To study the mechanism of lycii cortex-*Puerariae lobatae* radix herb pair in the treatment of hypertension based on network pharmacology and molecular docking technique. **Methods:** The effective components and targets of lycii cortex-*Puerariae lobatae* radix were screened by TCMSP database and Uniprot database, and the hypertension-related targets were searched by GeneCards, OMIM, TTD and DrugBank disease database. The Venn diagram of lycii cortex-*Puerariae lobatae* radix herb pair and hypertension target was constructed by Venny database, and the intersection target was obtained, and the intersection target was uploaded to STRING database for protein-protein interaction (PPI) network prediction. GO and KEGG enrichment analysis was carried out by using Metascape database. The network diagrams of “drug-component-target”, protein-protein interaction (PPI) and “component-target-pathway” were made by Cytoscape3.9.0 software. Finally, the AutoDockTools software was used to verify the molecular docking of the main active components and core targets. **Results:** A total of 21 effective compounds and 169 corresponding targets were selected from the lycii cortex-*Puerariae lobatae* radix herb pair, of which 98 were common targets of drugs and diseases. The key genes are STAT3, AKT1, CAV1, ESR1 and TP53 in PPI; KEGG showed that the main pathways were neuroactive ligand-receptor interaction, lipid and atherosclerosis, cGMP-PKG signal pathway and so on. The results of molecular docking showed that the main active components and key targets of lycii cortex-*Puerariae lobatae* radix had strong binding ability. **Conclusion:** Lycii cortex-*Puerariae lobatae* radix has the characteristics of multi-component, multi-target and multi-pathway in the treatment of hypertension, which provides a basis for its clinical application and the treatment of hypertension.

Keywords

Hypertension, Lycii Cortex, *Puerariae lobatae* Radix, Network Pharmacology, Action Mechanism

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

高血压(Hypertension)是指以体循环动脉压升高为主要表现的慢性心血管疾病，分为原发性高血压和继发性高血压两大类，其中以原发性高血压最为常见，可累及心、脑、肾等靶器官，同时也是人们患有脑卒中、冠心病、动脉粥样硬化的首要危险因素。据2012年至2015年高血压抽样调查数据显示，我国高血压患者的知晓率约51.6%，控制率仅16.8%，且人群高血压患病率仍呈升高趋势[1]。按照高血压的临床特征，归属于中医学“头痛”“眩晕”范畴，将其分为肝阳上亢、痰饮内停、肾阴亏虚等证型[2]。中医以辨证论治、整体观念为原则，强调从整体上抓病机，因人制宜，以恢复病人自身阴阳平衡，其副作用较少，因此中医治疗高血压有很大优势。

地骨皮性寒，味甘，归肝、肾、肺经，具有凉血止血、清肺降火、除骨蒸的功效。现代研究表明，

地骨皮的煎剂、水浸剂对麻醉后的犬、猫、兔均有降压作用[3]。实验研究表明地骨皮水提取液低、中、高剂量组均能降低大鼠收缩压和舒张压[4]。葛根性凉，味甘、辛，归肺、脾、胃经，具有退热解表、生津液、升阳止泻的功效。葛根素是葛根中的重要成分，现代研究证明葛根素可通过改善主动脉内皮舒张功能和内皮细胞增值迁移能力而降压[5]。本研究运用网络药理学及分子对接技术，探讨地骨皮 - 葛根配伍对高血压的治疗机制。

2. 材料与方法

2.1. 地骨皮、葛根化学成分筛选及作用靶点获取

利用 TCMSP 数据库(<http://tcmspw.com/tcmsp.php>)检索地骨皮、葛根的化学成分，以口服利用度(OB) $\geq 30\%$ ，药物相似性(DL) ≥ 0.18 作为条件筛选。另外，通过文献查阅获得葛根的一些化学成分信息，因其 OB 值或 DL 值不满足筛选条件而被系统删除，考虑其潜在有效性，故将其纳入。利用 Uniprot 数据库(<http://www.uniprot.org/>)将靶点转换为对应基因。

2.2. 构建“药物 - 成分 - 靶点”网络

通过 Cytoscape3.9.0 软件制作地骨皮 - 葛根药对的“药物 - 成分 - 靶点”网络图，药物有效成分及靶点以节点图标表示，线条连接表示相互间关联。节点大小反映活性成分与靶点间的相关性，节点越大，相关性越高。

2.3. 高血压相关基因获取

将“Hypertension”作为关键词，在 GeneCards 数据库(<http://www.genecards.org/>)、OMIM 数据库(<http://omim.org/>)、TTD 数据库(<http://db.idrblab.net/ttd/>)、DrugBank 数据库(<http://www.drugbank.ca/>)中进行疾病靶点的检索并剔除重复基因。

2.4. 构建药物与疾病交集基因的蛋白相互作用(PPI)网络分析

将药物的预测靶点与疾病相关靶点输入到 Venny2.1(<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)，获得的交集靶点作为地骨皮 - 葛根药对治疗高血压的作用靶点。随后将作用靶点上传到 STRING 数据库(<http://string-db.org/>)，限定物种为“*Homo sapiens*”，设置“最低交互分数 > 0.9 ”，并隐藏不存在任何互作的蛋白，得到可信度较强的蛋白互作网络。通过 Cytoscape3.8.0 软件调整网络整体布局，进行拓扑分析。

2.5. GO 生物过程与 KEGG 通路富集分析

为深入了解作用靶点基因功能和地骨皮、葛根治疗高血压的主要通路，运用 Metascape 数据库(<http://metascape.org/>)进行 GO 和 KEGG 富集分析，同时选定物种为“*H. sapiens*”，设置 $P < 0.01$ ，并利用微生信网站(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)进行可视化分析，最后构建“成分 - 靶点 - 通路”网络图。

2.6. 分子对接

将 PPI 网络图中获得的核心靶点与主要活性成分进行分子对接。通过 TCMSP 获得主要活性成份信息，于 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)中下载主要活性成份的 3D 结构，通过 Uniprot 获得靶基因蛋白名称，从 PDB 数据库(<http://www.rcsb.org>)中检索关键靶点的 3D 结构，通过 PyMOL2.5 软件去除关键靶点中的水及配体，将处理后的主要活性成份及关键靶点 3D 结构利用 AutoDock Tools 软件进行加氢处理，分别运行 AutoGrid、AutoDocking，得出结果后分析数据，记录最低结合能及其结构文件，将获得文件导入 PyMOL 进行分子对接可视化处理。

3. 结果

3.1. 地骨皮、葛根有效化合物及作用靶点获取结果

通过 TCSMP 数据库检索地骨皮、葛根，最初共获得地骨皮化学成分 37 种，葛根化学成分 18 种。现剔除掉未查到相关作用靶点的化学成分，再以 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 为条件筛选，并补充上文献查阅的化学成分，共计得到地骨皮、葛根活性成分 21 种(地骨皮 12 种，葛根 10 种，重复 1 种，见表 1)，得到有效化合物靶点 393 个，剔除重复值共得到靶点 169 个，再通过 Uniprot 数据库获得各靶点基因名。

3.2. 构建“药物 - 成分 - 靶点”网络结果

将所得的地骨皮 - 葛根药对有效成分和靶点整理成文件，再将文件导入 Cytoscape3.8.0，得到 192 个节点、413 条连线的网络(见图 1)。红色六边形代表地骨皮有效成分；绿色六边形代表葛根有效成分；浅蓝色六边形代表地骨皮、葛根共有成分；深蓝色菱形代表靶点。在网络中，度值(Degree)代表与该节点相连的边的条数，节点大小与度值呈正相关，节点越大表示该成分起到越关键的作用。化合物 GG08(大豆昔元, daidzein)、GG05(葛根素, puerarin)、A01(β -谷甾醇, beta-sitosterol)、GG01(芒柄花黄素, formononetin)、DGP10(豆甾醇, Stigmasterol)、DGP01(莨菪碱, OIN)等可能是地骨皮 - 葛根药对治疗高血压的关键有效成分。在作用靶点方面，PTGS2、PTGS1、ADRB2、NCOA2、CHRM1、CHRM3、ADRA1B、RXRA、AR、ESR1、PPARG 与较多化合物相连。根据表 1 度值可见，21 个化合物中有 17 个化合物都与 ≥ 3 个作用靶点相连，说明地骨皮与葛根药对具有多成分、多靶点的复杂性。

3.3. 高血压相关基因获取结果

利用 GeneCards 数据库检索，共得到高血压相关靶点 9408 个，以“Relevance score”大于或等于中位数为条件进行连续三次筛选，三次中位数分别为 0.51、1.04、2.48，最终以 $Relevance score \geq 2.48$ 的靶点作为疾病潜在靶点。同时收录 OMIM、TTD、DrugBank 数据库查到的靶点，剔除重复数据后获得 1538 个高血压相关靶点。

Table 1. Active components of lycii cortex-Puerariae lobatae radix herb pair

表 1. 地骨皮 - 葛根药对活性成分

药物	编号	Mol ID	成分名称	OB%	DL	Degree
地骨皮	DGP01	MOL001552	Hyoscyamine (莨菪碱)	45.97	0.19	26
	DGP02	MOL001645	Linoleyl acetate (乙酸亚油醇酯)	42.1	0.2	5
	DGP03	MOL001689	Acacetin (金合欢素)	34.97	0.24	24
	DGP04	MOL001790	Linarin (蒙花甙)	39.84	0.71	2
	DGP05	MOL002218	Scopolin (东莨菪苷)	56.45	0.39	2
	DGP06	MOL002219	Atropine (阿托品)	34.53	0.21	19
	DGP07	MOL002222	Sugiol (柳杉酚)	36.11	0.28	18
	DGP08	MOL002224	Aurantiamide acetate (橙黄酰胺乙酸酯)	58.38	0.59	2
	DGP09	MOL000296	Hederagenin (常春藤素)	36.91	0.75	23

Continued

	DGP10	MOL000449	Stigmasterol (豆甾醇)	43.83	0.76	31
	DGP11	MOL000953	CLR (胆甾醇)	37.87	0.68	4
	A01	MOL000358	Beta-sitosterol (β -谷甾醇)	36.91	0.75	36
葛根	GG01	MOL000392	Formononetin (芒柄花黄素)	69.67	0.21	34
	GG02	MOL000357	Sitogluside (西托糖昔)	20.63	0.62	15
	GG03	MOL002959	3'-Methoxydaidzein (3'-甲氧基大豆昔元)	48.57	0.24	17
	GG04	MOL003629	Daidzein-4,7-diglucoside (大豆昔元-4,7-二葡萄糖昔)	47.27	0.67	2
	GG05	MOL012297	Puerarin (葛根素)	24.03	0.69	53
	GG06	MOL004631	7,8,4'-Trihydroxyisoflavone (7,8,4'-三羟基异黄酮)	20.67	0.22	14
	GG07	MOL009720	Daidzin (大豆昔)	14.32	0.73	12
	GG08	MOL000390	Daidzein (大豆昔元)	19.44	0.19	65
	GG09	MOL000391	Ononin (芒柄花昔)	11.52	0.78	9
	A01	MOL000358	Beta-sitosterol (β -谷甾醇)	36.91	0.75	36

3.4. 构建药物与疾病交集基因的蛋白相互作用(PPI)网络分析结果

利用 Venny2.1 取得药物靶点和疾病靶点的交集, 共获得 98 个交集靶点(见图 2)。将得到的交集靶点上传 STRING 数据库(最低交互分数 ≥ 0.9), 得到可信度较强的 PPI 网络图。利用 Cytoscape3.9.0 软件调整网络整体布局, 得到 67 个节点、163 条连线的蛋白互作网络(见图 3)。按度值排序, 前 10 位分别为 STAT3、AKT1、CAV1、ESR1、TP53、MAPK14、STAT1、TNF、FOS、IL-6, 这些靶蛋白对应成分为金合欢素、芒柄花黄素、3'-甲氧基大豆昔元、葛根素、7,8,4'-三羟基异黄酮、大豆昔、大豆昔元、芒柄花昔。

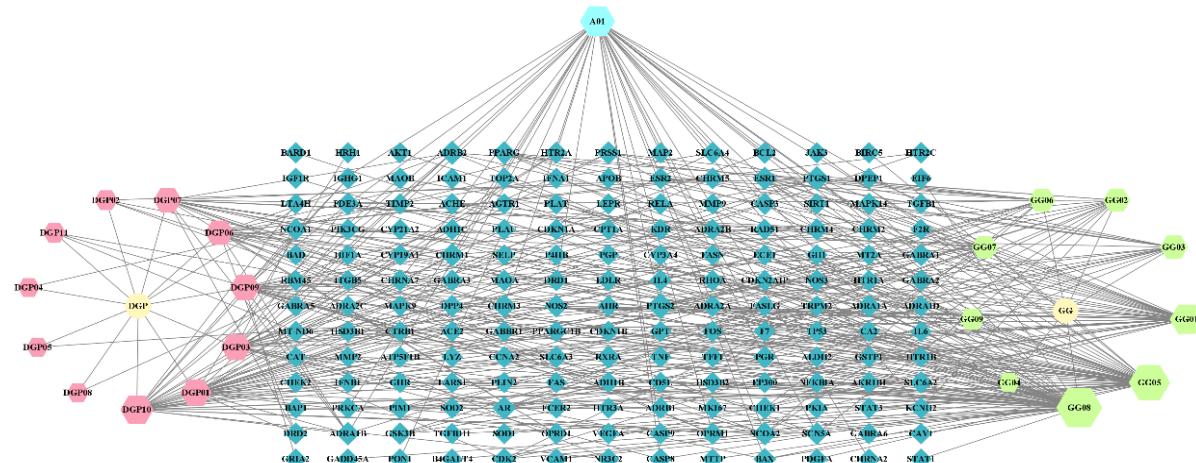


Figure 1. Drug-component-target network diagram

图 1. 药物 - 成分 - 靶点网络图

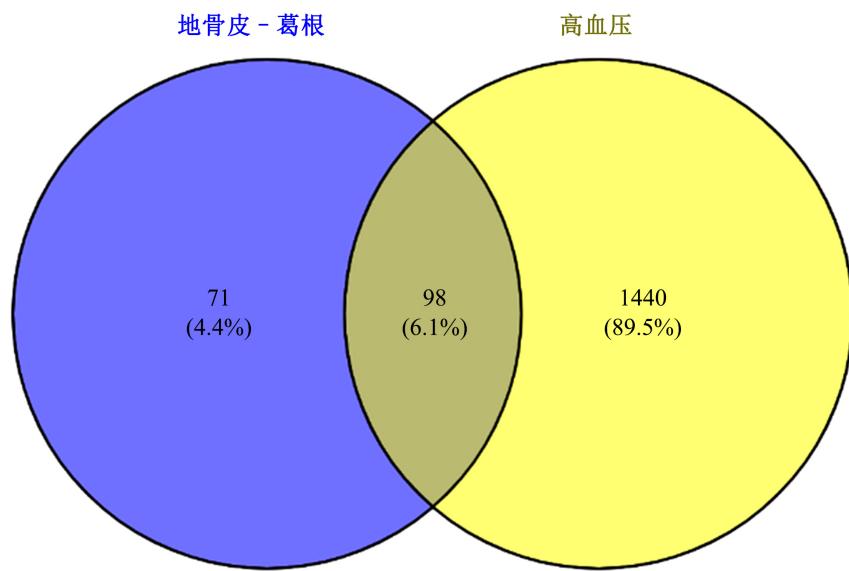


Figure 2. Venn diagram of drug targets and disease targets

图 2. 药物靶点与疾病靶点韦恩图

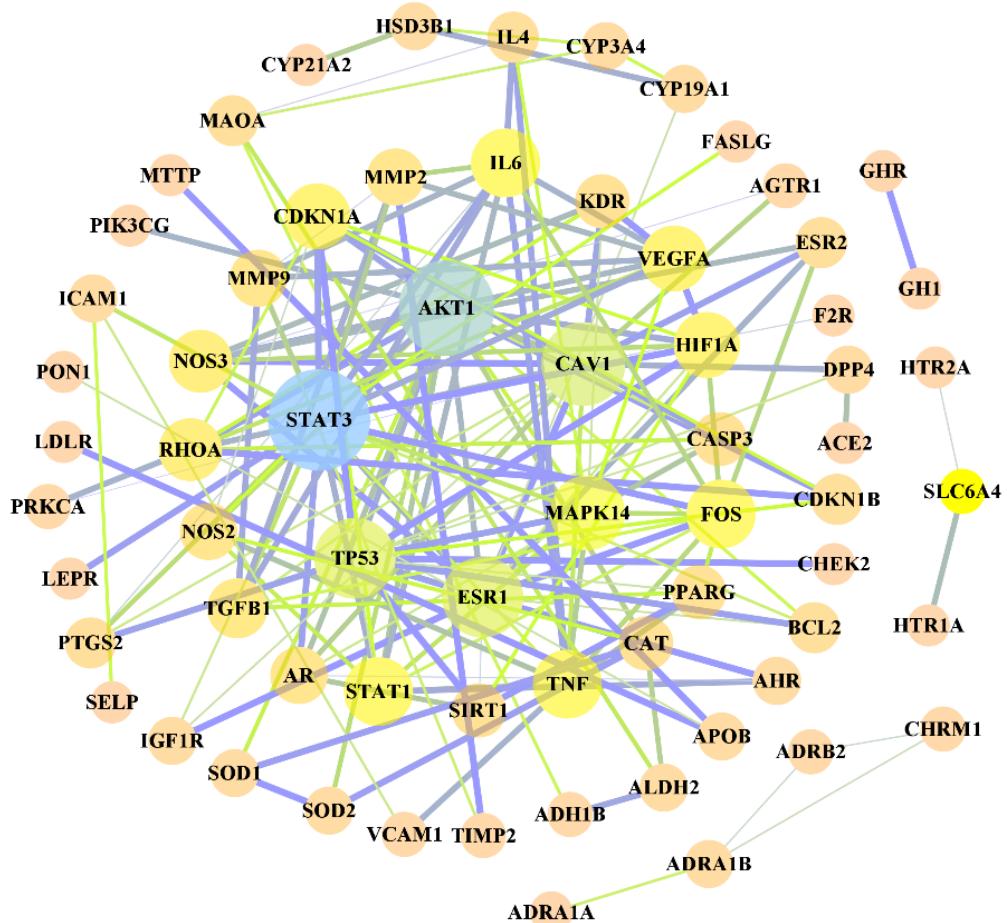


Figure 3. Protein interaction network

图 3. 蛋白互作网络

3.5. GO 生物过程与 KEGG 通路富集分析结果

在 Metascape 数据库进行 GO 分析后, 利用在线平台对结果进行可视化呈现(图 4)。其中, 参与的生物过程主要包括血液循环、细胞对有机氮化合物的反应、对激素的反应、对低氧水平的反应、对异物刺激的正向调节、对营养水平的正调节和蛋白质磷酸化的正调节等; 分子功能包括 G 蛋白偶联受体活性、神经递质受体活性、蛋白质二聚化、氧化还原酶活性、蛋白质异二聚活性和核受体活性等; 细胞组分主要包括膜筏、突触前膜整体、受体复合体、囊腔和胞内囊泡等方面。

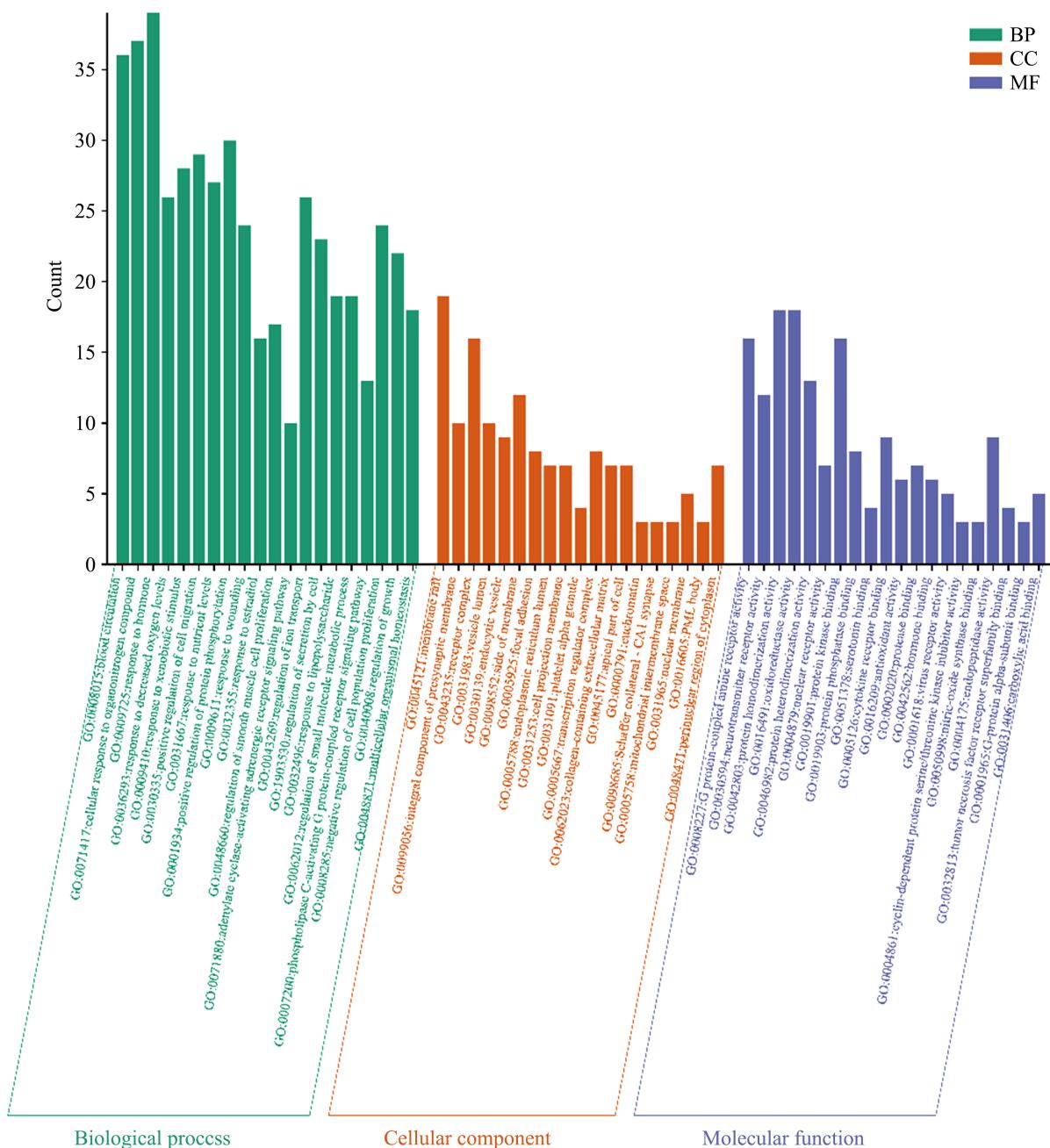


Figure 4. GO enrichment analysis of core targets
图 4. 核心靶点 GO 富集分析

KEGG 通路分析结果显示(见图 5)，地骨皮 - 葛根药对治疗高血压靶点涉及靠前的通路主要有癌症中的通路、神经活性配体 - 受体相互作用、脂质与动脉粥样硬化、乙型肝炎、cGMP-PKG 信号通路、前列腺癌和内分泌耐药等。将筛选出的 20 条与高血压相关的通路构建“成分 - 靶点 - 通路”多维网络(见图 6)。其节点大小与它们在网络中的度值有关。红色八边形代表成分；绿色菱形代表靶点；蓝色箭头代表通路。共涉及 17 个活性成分，包括大豆苷元、葛根素、 β -谷甾醇、豆甾醇、芒柄花黄素、金合欢素等。

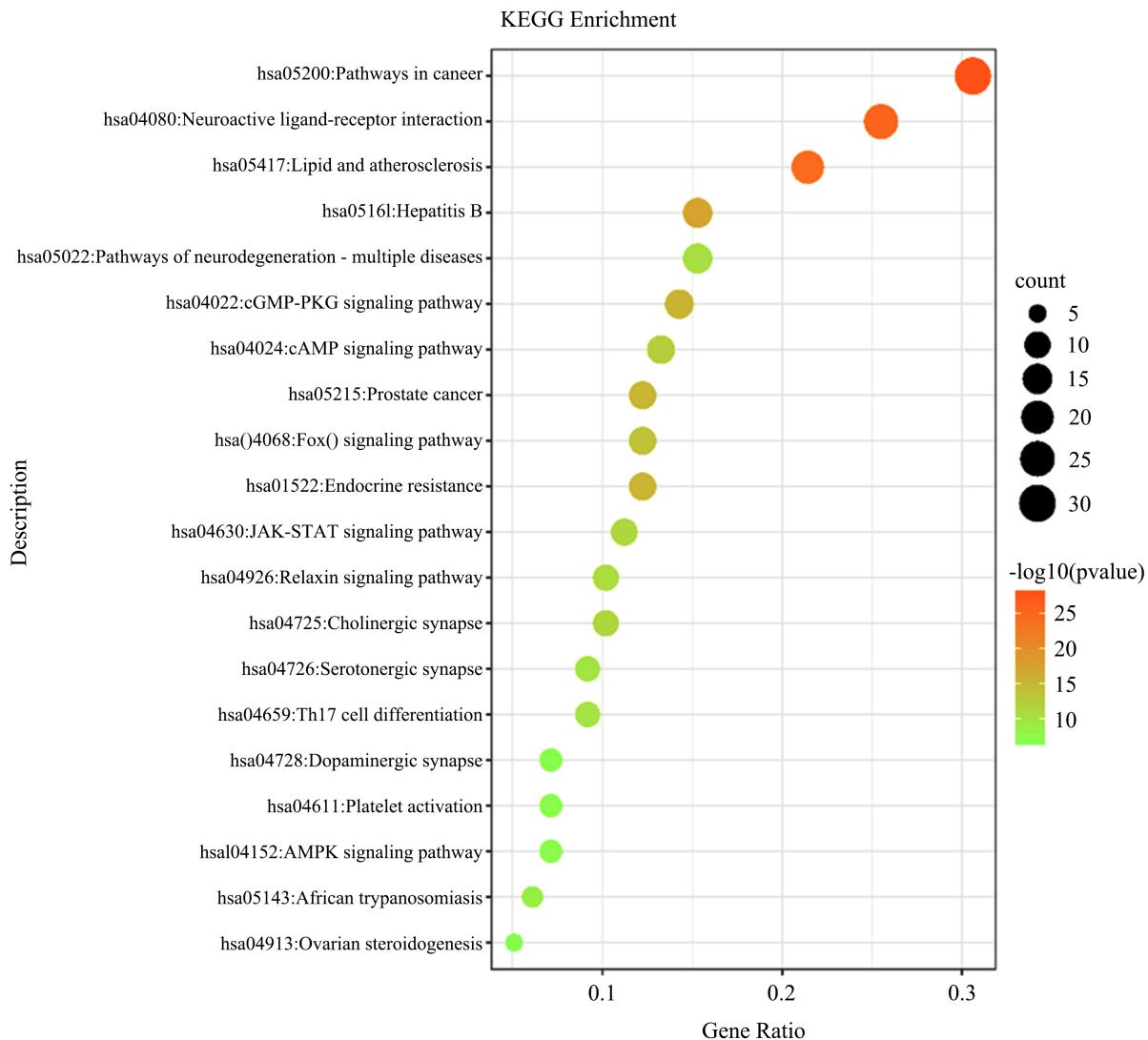
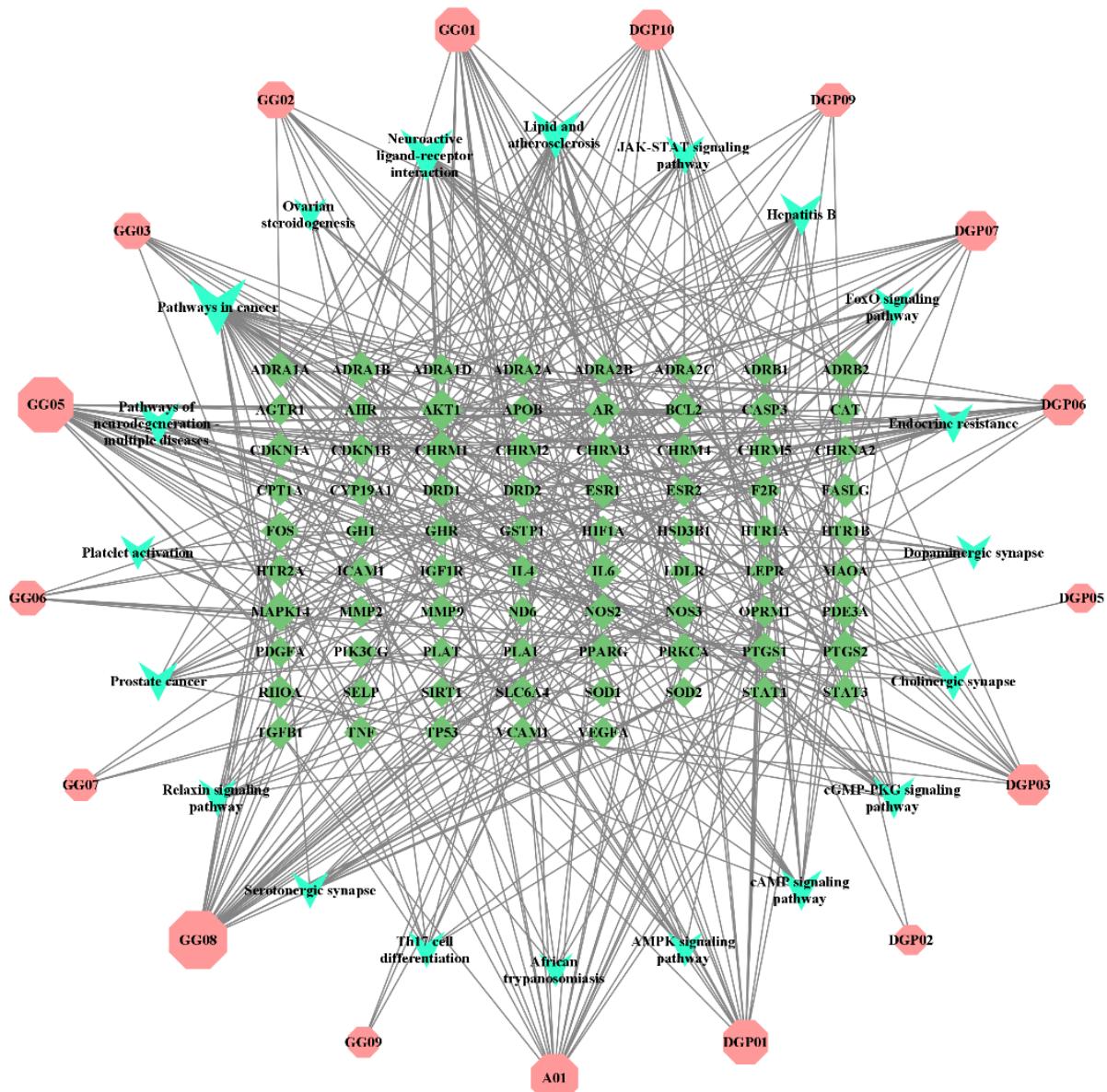


Figure 5. KEGG enrichment analysis of core targets
图 5. 核心靶点 KEGG 富集分析

3.6. 分子对接结果

分子对接结果显示，4 个主要活性成分(大豆苷元、葛根素、 β -谷甾醇 - 金合欢素)与 5 个关键靶点(STAT3、AKT1、CAV1、ESR1、TP53)均具有良好的结合能力，结合能力均 $\leq -5.0 \text{ KJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。结合能越低，表示分子对接效果越好(见表 2，见图 7)。

**Figure 6.** Component-target-pathway network diagram**图 6.** 成分 - 靶点 - 通路网络图**Table 2.** Binding energy of main active ingredients and key targets (unit: KJ·mol⁻¹)
表 2. 主要活性成分与关键靶点的结合能(单位: KJ·mol⁻¹)

活性成分	关键靶点				
	STAT3	TP53	CAV1	ESR1	AKT1
大豆昔元	-22.80	-22.51	-14.56	-16.36	-29.41
β-谷甾醇	-19.66	-29.41	-15.36	-21.88	-25.27
金合欢素	-14.81	-20.10	-12.38	-15.27	-27.74
葛根素	-12.05	-20.33	-5.98	-9.33	-25.02

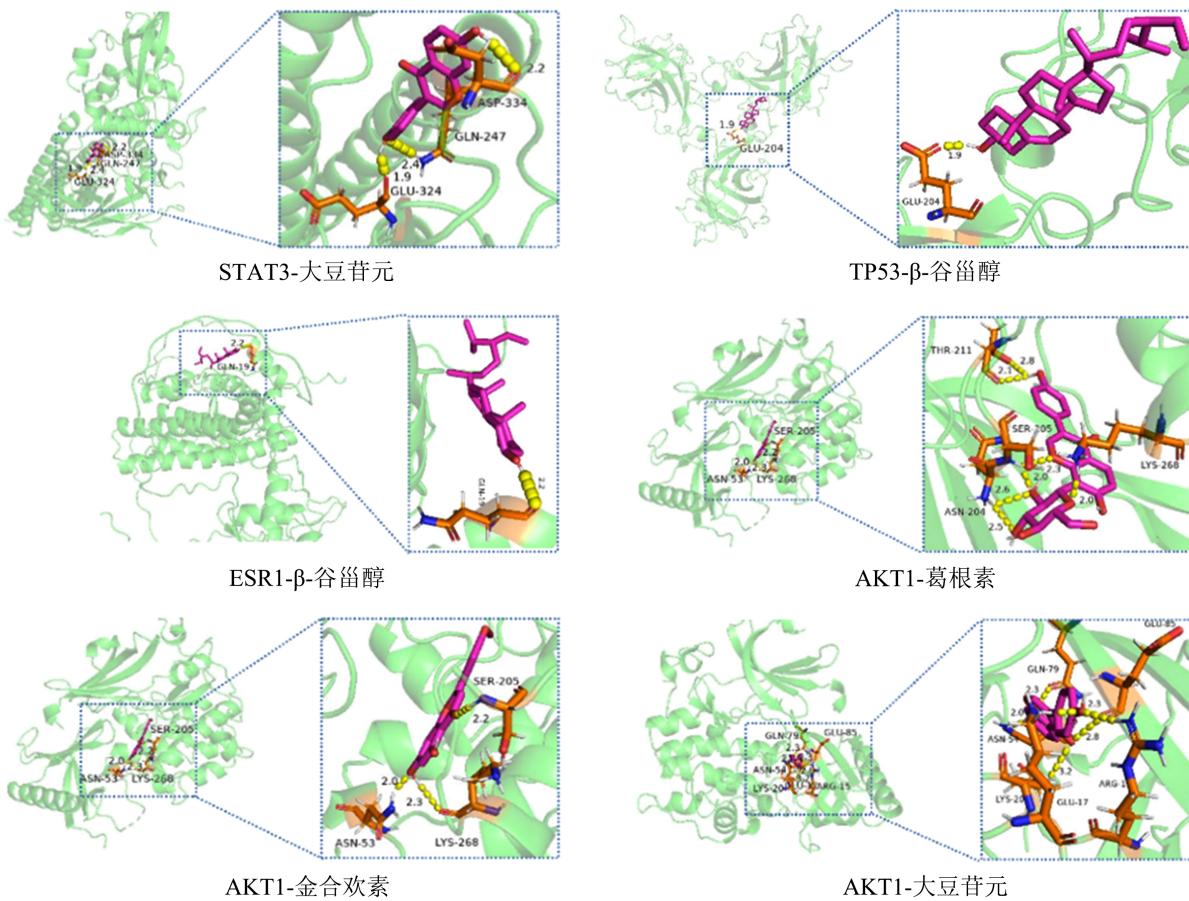


Figure 7. Molecular docking diagram of main active ingredients and key targets
图 7. 主要活性成分与关键靶点分子对接图

4. 讨论

中药治疗原发性高血压具有一定特色，在一些方面能起到补充治疗的作用。本研究以地骨皮 - 葛根药对入手探究其治疗高血压的潜在机制，整理得到了抗高血压作用的 21 个活性成分，98 个作用靶点。通过对地骨皮 - 葛根药对分析，其主要降压成分为大豆昔元、葛根素、 β -谷甾醇、豆甾醇、芒柄花黄素、金合欢素等。葛根素、芒柄花黄素和大豆昔元同属于异黄酮类物质，现有研究表明异黄酮具有保护血管内皮功能的作用[6]。葛根素和芒柄花黄素均具有血管松弛活性[7][8]。相关实验在研究葛根素降压作用中，对自发性高血压大鼠给与葛根素治疗 9 周后，大鼠收缩压和舒张压均下降，进一步研究发现大剂量葛根素可使大鼠体内 NO 和 cGMP 水平升高，增加 eNOS 蛋白的磷化水平，降低 AT1 和 Cav1 的水平，推测其降压机制中的关键为 eNOS [9]； β -谷甾醇和豆甾醇同属于植物甾醇类物质，其中 β -谷甾醇是地骨皮与葛根的共同成分，具有抗氧化、抗炎作用[10][11]。豆甾醇能够抗低密度脂蛋白氧化和抗血小板聚集[12]；内皮细胞线粒体功能障碍是心血管疾病的危险因素之一，金合欢素通过激活 AKT/eNOS 途径，并通过靶向 mPTP 和 DRP1/OPA1 依赖的动力学来调节线粒体功能，从而抑制高血压患者的内皮功能障碍[13]。金合欢素还具有减轻炎症因子释放，从而保护心血管活性的功能[14]。综上地骨皮 - 葛根药对通过抗炎、抗氧化、保护血管内皮及血管松弛活性等方面发挥降压作用。

从 PPI 网络图得到核心靶点 STAT3、AKT1、CAV1、ESR1、TP53。现代研究发现，肾氨酸酶可通过调节交感神经张力控制血压，而 STAT3 是调节肾氨酸酶基因表达的关键调控因子[15]；AKT1 蛋白在

高血压模型大鼠电容动脉的血管平滑肌细胞中高度表达，并且血管紧张素 II 会在 AKT1 基因的诱导下促进血管平滑肌细胞肥大，这表明 AKT1 蛋白与高血压发生发展密切关联[16]；醛固酮引起水钠潴留与高血压发病机制相关，研究发现 CAV1 基因会影响患者体内醛固酮含量[17]；雌激素可防止动脉粥样硬化，ESR1 序列变异会干扰雌激素对血管内皮保护作用，这表明 ESR1 与冠状动脉疾病的严重程度相关[18]；TP53 是 mir-31a-5P 的靶基因，mir-31a-5P 可抑制动脉平滑肌细胞的凋亡而参与高血压的发病机制[19]。

GO 富集分析结果显示，地骨皮 - 葛根的核心靶点通过影响血液循环、炎症反应、血管内皮功能及氧化应激等生物过程对高血压病进行调控。在 KEGG 分析中，筛选出 20 条信号通路与高血压相关，包括神经活性配体 - 受体相互作用、脂质与动脉粥样硬化、cGMP-PKG 信号通路等。神经活性配体 - 受体相互作用通路通过受体与配体在质膜上结合，从而参与细胞外向细胞内的信号传递，包括钙信号通路。钙通道阻滞剂可作用于动脉血管平滑肌细胞，阻滞细胞外钙离子内流，使平滑肌细胞松弛而降压[20]。通过 cGMP-PKG 信号通路促使心房肌细胞生成多肽 - 心钠素(ANPs)，该物质可促使肾脏排水、排钠，同时使血管平滑肌细胞松弛。一项关于 ANPs 参与高血压合并糖尿病的充血性心力衰竭的研究中，研究者认为肾基底膜 ANP 受体与心力衰竭的进展有关[21]。

综上可见，地骨皮 - 葛根药对的不同有效成分可调节原发性高血压的多个不同靶点，同一靶点也可作用于不同的通路发挥各自效应。中药治疗高血压的作用机制复杂，网络药理学可在基因、分子、通路等理论方面提供依据，但后续仍需动物或细胞实验加以验证，为该药对在临床应用中提供更多参考价值。

参考文献

- [1] 中国高血压防治指南 2018 年修订版[J]. 心脑血管病防治, 2019, 19(1): 1-44.
- [2] 孟醒, 熊兴江. 《高血压中医诊疗专家共识》解读[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(11): 192-205.
- [3] 地骨皮与荷叶的降压作用[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 1959(3): 255-259.
- [4] 袁媛, 甘雨, 黄赫, 等. 地骨皮对自发性高血压大鼠 VEGF、AT1R 和 AT2R mRNA 表达的初步探析[J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(10): 2220-2222.
- [5] 郭梦婷, 吕孝旺, 王志伟, 等. 葛根素对肥胖小鼠血压和主动脉内皮功能的影响[J]. 中国药理学通报, 2022, 28(10): 1492-1497.
- [6] 张宝荣, 谭颖颖, 张琪. 葛根异黄酮对去卵巢大鼠血管内皮功能的保护作用[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 13(3): 309-311.
- [7] Wu, X.D., Wang, C., Zhang, Z.Y., et al. (2014) Puerarin Attenuates Cerebral Damage by Improving Cerebral Microcirculation in Spontaneously Hypertensive Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 2014, Article ID: 408501. <https://doi.org/10.1155/2014/408501>
- [8] Cuong, N.M., Son, N.T., et al. (2022) Vietnamese *Dalbergia tonkinensis*: A Promising Source of Mono- and Bifunctional Vasodilators. *Molecules*, 27, 4505-4505. <https://doi.org/10.3390/molecules27144505>
- [9] Shi, W.L., Yuan, R., Chen, X., et al. (2019) Puerarin Reduces Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats by Targeting eNOS. *The American Journal of Chinese Medicine*, 47, 1-20. <https://doi.org/10.1142/S0192415X19500022>
- [10] Sergio, M.L.P., Ángeles, F.A., María, Á.M., et al. (2012) The Sterols Isolated from Evening Primrose Oil Modulate the Release of Proinflammatory Mediators. *Phytomedicine*, 19, 1072-1076. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.06.008>
- [11] Zhou, Y.X., Zhang, H. and Peng, C. (2014) Puerarin: A Review of Pharmacological Effects. *Phytotherapy Research: PTR*, 28, 961-975. <https://doi.org/10.1002/ptr.5083>
- [12] Dianita, R. and Jantan, I. (2019) Inhibition of Human Platelet Aggregation and Low-Density Lipoprotein Oxidation by Preminafoetida Extract and Its Major Compounds. *Molecules*, 24, 1469. <https://doi.org/10.3390/molecules24081469>
- [13] Li, Y., Dang, Q.Y., Li, Z.Y., et al. (2022) Restoration of Mitochondrial Function Is Essential in the Endothelium-Dependent Vasodilation Induced by Acacetin in Hypertensive Rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 11350. <https://doi.org/10.3390/ijms231911350>
- [14] Wei, Y.X., Yuan, P.P., Zhang, Q., et al. (2020) Acacetin Improves Endothelial Dysfunction and Aortic Fibrosis in In-

- sulin-Resistant SHR Rats by Estrogen Receptors. *Molecular Biology Reports*, **47**, 1-20.
<https://doi.org/10.1007/s11033-020-05746-3>
- [15] Vijayakumar, A. and Mahapatra, N.R. (2022) Renalase: A Novel Regulator of Cardiometabolic and Renal Diseases. *Hypertension Research: Official Journal of the Japanese Society of Hypertension*, **45**, 1582-1598.
<https://doi.org/10.1038/s41440-022-00986-1>
- [16] Hixon, M.L., MuroCacho, C., Wagner, M.W., et al. (2000) Akt1/PKB Upregulation Leads to Vascular Smooth Muscle Cell Hypertrophy and Polyploidization. *The Journal of Clinical Investigation*, **106**, 1011-1020.
<https://doi.org/10.1172/JCI8252>
- [17] Haas, A.V., Baudrand, R., Easly, R.M., et al. (2020) Interplay between Statins, Cav1 (Caveolin-1), and Aldosterone. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, **76**, 962-967. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.14777>
- [18] Rokach, A., Pollak, A., Rosen, L., et al. (2005) Estrogen Receptor Alpha Gene Polymorphisms Are Associated with the Angiographic Extent of Coronary Artery Disease. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **90**, 56-60. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-0236>
- [19] Feng, Q., Tian, T., Liu, J., et al. (2018) Deregulation of microRNA-31a-5p Is Involved in the Development of Primary Hypertension by Suppressing Apoptosis of Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells via Targeting TP53. *International Journal of Molecular Medicine*, **42**, 290-298. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3597>
- [20] He, H., Giordano, F.J., HilalDandan, R., et al. (1997) Overexpression of the Rat Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺ ATPase Gene in the Heart of Transgenic Mice Accelerates Calcium Transients and Cardiac Relaxation. *The Journal of Clinical Investigation*, **100**, 380-389. <https://doi.org/10.1172/JCI119544>
- [21] Martina, K., Sebastian, K., Anika, G., et al. (2009) Protein Kinase G Modulates Human Myocardial Passive Stiffness by Phosphorylation of the Titin Springs. *Biophysical Journal*, **96**, 372a. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2008.12.2003>