

基于网络药理学、分子对接及分子动力学模拟技术探讨天麻治疗脑梗死的作用机制

蒲钧逸¹, 顾宇星¹, 黄 微^{1*}, 吴 键², 王艺淳¹, 张嫩寒¹, 罗梓嘉¹

1. 昆明医科大学 海源学院, 云南 昆明 650106

2. 云南省中医医院, 云南 昆明 650021

摘要: **目的** 基于网络药理学和分子对接技术探讨天麻治疗脑梗死的作用机制, 并采用分子动力学模拟技术进行验证。**方法** 利用 SymMap、BATMAN-TCM 1.0 数据库, 筛选天麻的活性成分及其潜在靶点。利用 GeneCards、DisGeNET 数据库收集脑梗死相关靶点, 并利用 STRING 数据库与 Cytoscape 3.10.1 软件绘制蛋白质相互作用网络, 将天麻与脑梗死交集靶点导入 DAVID 数据库进行基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。使用 Cytoscape 3.10.1 构建“天麻-活性成分-潜在靶点-信号通路-脑梗死”网络。利用 Autodock Tools 1.5.7 将活性成分与核心靶点结合进行分子对接, 通过分子动力学模拟分析结合模型的亲和性和稳定性。**结果** 筛选得到天麻治疗脑梗死的 13 个关键活性成分, 包括间羟苯甲酸、4-羟基苯胺、 γ -谷甾醇、蝙蝠葛碱和香茅醛等。药物与疾病交集靶点 89 个, PPI 网络图中度值最高的 5 个分别为肿瘤坏死因子 (TNF)、胰岛素 (INS)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)。GO 分析条目 566 个, 其中生物过程 (BP) 多富集于信号释放、调节炎症反应、有机羟基化合物转运等; 细胞组成 (CC) 多富集于神经元细胞体、分泌颗粒腔、细胞质囊泡腔等; 分子功能 (MF) 方多富集于类固醇、蛋白酶结合和核受体活性等。KEGG 富集结果 88 个, 包括神经活性相互作用、人巨细胞病毒、脂质与动脉粥样硬化、5-羟色胺能突触和环磷酸腺苷 (cAMP) 信号通路。分子对接结果显示, 天麻的核心活性成分能够很好地与 PPI 网络图中度值最高的 5 个靶蛋白结合, 形成较稳定的复合物。分子动力学模拟进一步验证了 γ -谷甾醇与 INS、蝙蝠葛碱与 TNF、香茅醛与 TNF 具有较好的亲和力与结合稳定性。**结论** 天麻可能通过 γ -谷甾醇、蝙蝠葛碱、香茅醛等活性成分作用于 TNF 和 INS 等靶点基因, 调控信号释放、调节炎症反应和 cAMP 信号通路等实现抗炎、抗氧化应激、抗细胞凋亡, 从而发挥治疗脑梗死的作用。

关键词: 天麻; 脑梗死; 网络药理学; 分子对接; 分子动力学; γ -谷甾醇; 蝙蝠葛碱; 香茅醛; 肿瘤坏死因子; 胰岛素

中图分类号: R965; R971 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2026)01-0058-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.01.008

Mechanism of *Gastrodia elata* in treatment of cerebral infarction based on network pharmacology, molecular docking and molecular dynamics simulation techniques

PU Junyi¹, GU Yuxing¹, HUANG Wei¹, WU Jian², WANG Yichun¹, ZHANG Nenhan¹, LUO Zijia¹

1. Haiyuan College of Kunming Medical University, Kunming 650106, China

2. Yunnan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650021, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of *Gastrodia elata* in treatment of cerebral infarction based on network pharmacology and molecular docking techniques, and to verify it by molecular dynamics simulation technology. **Methods** The active components and potential targets of *G. elata* were screened using SymMap and BATMAN-TCM 1.0 databases. The targets related to cerebral infarction were collected from GeneCards and DisGeNET databases. The protein-protein interaction network was constructed using STRING database and Cytoscape 3.10.1 software. The intersection targets of *G. elata* and cerebral infarction were imported into the DAVID database for gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. Cytoscape 3.10.1

收稿日期: 2025-10-14

基金项目: 云南省教育厅科研项目 (202101AY070001-283)

作者简介: 蒲钧逸, 男, 汉族, 福建福州人, 研究方向为临床医学。E-mail: 2437527492@qq.com

*通信作者: 黄 微, 教授, 研究方向为人体解剖学方向。E-mail: 59820618@qq.com

was used to construct a network of “*Gastrodia elata*-active ingredients-potential targets-signaling pathways-cerebral infarction”. The active components and core targets were docked using Autodock Tools 1.5.7, and the affinity and stability of the binding models were analyzed through molecular dynamics simulation. **Results** Thirteen key active components of *G. elata* in treatment of cerebral infarction were screened, including hydroxybenzoic acid, 4-hydroxybenzylamine, γ -sitosterol, dauricine, citronellal, etc. There were 89 intersection target genes between drugs and diseases. The five highest moderate values in PPI network diagram were tumor necrosis factor (TNF), insulin (INS), interleukin-1 β (IL-1 β), prostaglandin endoperoxide synthase 2 (PTGS2), peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARG). There were 566 items in the GO analysis, in which biological processes (BP) were mostly enriched in signal release, regulation of inflammatory response, transport of organic hydroxyl compounds, etc. The cell composition (CC) was mostly enriched in neuronal cell bodies, secretory granule cavities, cytoplasmic vesicle cavities, etc. Molecular function (MF) was mostly enriched in steroids, protease binding and nuclear receptor activity. There were 88 KEGG enrichment results, including neuroactive interactions, human cytomegalovirus, lipid and atherosclerosis, 5-hydroxytryptaminergic synapses, and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) signaling pathways. The results of molecular docking showed that the core active components of *G. elata* could well bind to the five target proteins with the highest moderate value in the PPI network diagram, forming relatively stable complexes. Molecular dynamics simulation further verified that γ -sitosterol had good affinity and binding stability with INS, dauricine and TNF, and citronellal and TNF. **Conclusion** *G. elata* may act on target genes such as TNF and INS through active ingredients such as γ -sitosterol, dauricine and citronellal, regulate signal release, regulate inflammatory response and cAMP signaling pathway to achieve anti-inflammatory, anti-oxidative stress and anti-apoptosis, thus playing a role in the treatment of cerebral infarction.

Key words: *Gastrodia elata*; cerebral infarction; network pharmacology; molecular docking; molecular dynamics; γ -sitosterol; dauricine; citronellal; TNF; INS

脑动脉闭塞后脑梗死是世界范围内慢性残疾的主要原因之一,目前仍缺乏有效的方法来改善脑卒中后的功能恢复^[1]。《中国脑卒中防治报告(2020)》^[2]指出,脑卒中已成为国内首位过早死亡的原因,脑梗死后,脑供血严重不足导致脑供氧不足,进而导致神经元死亡;血液内皮界面的炎症相互作用对脑梗死组织损伤的发病机制至关重要^[3]。临床上在脑损伤后 4.5 h 运用溶栓药物联合手术对脑动脉闭塞后脑梗死进行治疗,然而由于溶栓治疗与药物的时间窗与禁忌证等限制,目前化学药物对于脑动脉闭塞后脑梗死的治疗已不能够完全满足临床治疗的需求^[4]。研究发现天麻含有多种有效成分,可以同时作用于脑梗死的多个病理过程和分子靶标,具有调节多条生物信号通路的潜力,促进神经保护和修复,抑制神经细胞凋亡,改善脑部微循环,促进受损神经功能的恢复等功效,且具有不良反应小、安全性高、适合长期服用等优势^[5]。

本研究利用网络药理学技术,整合系统生物学、药理学、计算机网络分析和分子对接等,通过数据库预测天麻治疗脑梗死的主要成分和潜在分子靶标,利用基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库进行富集分析,构建可视化的“天麻-活性成分-潜在靶点-信号通路-脑梗死”网络图,将活性成分与核心靶点进行分子对接分析。本研究发现天麻通过调节多基因、多通路、多过程

发挥治疗脑梗死的作用,为临床治疗与后续研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 天麻活性成分与靶点的筛选

利用中医药证候关联数据库 SymMap^[6]收集天麻活性成分,通过 BATMAN-TCM1.0 数据库^[7]筛选天麻活性成分相关候选靶点,筛选参数为靶点评分 ≥ 20 、 $P < 0.05$,并参考口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 且类药性(DL) ≥ 0.18 标准,绘制“天麻-活性成分-靶点”网络。

1.2 天麻治疗脑梗死相关靶点的筛选

利用 GeneCards 数据库^[8]、DisGeNET 数据库^[9]以“ischemic stroke”为关键词进行检索,汇总所有脑梗死相关靶点信息,对其合并去重、标准化处理,获得脑梗死相关靶点,绘制“天麻-活性成分-脑梗死相关靶点”网络。

1.3 蛋白质相互作用(PPI)网络构建

将天麻与脑梗死交集靶点导入 STRING 数据库(<https://string-db.org>)^[10],选定人类为物种,设置交互分数 > 0.4 ,去除单一蛋白后进行 PPI 分析,并导出 tsv 格式文件。将从 STRING 数据库导出的 tsv 文件信息导入 Cytoscape 3.10.1,进行拓扑分析。根据度值进一步评估关键分子靶标,并绘制 PPI 网络图。

1.4 GO 和 KEGG 通路富集分析

将天麻与脑梗死交集靶点导入 DAVID 数据库^[11],

物种选定为人类，进行 GO 和 KEGG 通路进行富集分析。获得天麻治疗脑梗死富集结果，根据 $P<0.05$ 进行通路筛选，绘制气泡图进行结果分析。

1.5 “天麻 - 活性成分 - 潜在靶点 - 信号通路 - 脑梗死”网络构建

对天麻治疗脑梗死的活性靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析，构建“天麻 - 潜在靶点 - 信号通路”图。匹配分析合适的信号通路，并用 Cytoscape 3.10.1 对通路、交集基因和天麻活性成分进行可视化处理，构建“天麻 - 活性成分 - 潜在靶点 - 信号通路 - 脑梗死”网络图。

1.6 分子对接分析

TCMSP^[12]筛选出天麻主要活性成分分子结构作为配体，导出 mol2 格式。在 PubChem 数据库^[13]导出 PPI 中度值最高的 5 个靶蛋白的三维结构，从 RCSB PDB 数据库^[14]导出对应晶体结构。PyMOL 进行去配体、去水分子处理，处理后文件导出 PDB 格式，AutoDockTools 1.5.7 软件对电荷进行调整、选择扭转键等操作并进行加氢处理。将经过处理的核心成分导出 PDBQT 格式，利用 AutoDock Vina 对配体分子进行对接和结合能计算，对结果可视化处理。

1.7 分子动力学模拟验证

利用 Gromacs 2022.3 软件对最佳结合模型进行分子动力学模拟^[15-16]，分析蛋白 - 配体复合物的波动与构象变化。使用 AmberTools22 对小分子添加 GAFF 力场，并使用 Gaussian 16W 对小分子进行加

氢和计算 RESP 电势操作等预处理，力场选择 Amber99sb-ildn，静态温度 300 K，常压 100 kPa，Tip3p 水模型作为溶剂。最陡下降法对体系进行能量最小化处理，进行 1×10^5 步的等温等压系综平衡、等温等容系综平衡，耦合常数设定为 0.1 ps，进行 100 ps 的计算。随后进行自由分子动力学模拟，共 5×10^6 步，每步的时间间隔为 2 fs，模拟时间 100 ns。最后对蛋白复合物的运动轨迹进行了均方根方差 (RMSD)、回旋半径和结合自由能计算。

2 结果

2.1 天麻活性成分与靶点的筛选

通过 SymMap 数据库筛选获得天麻活性成分 106 个，在 BATMAN-TCM1.0 数据库中导出对应靶点，进行标准化处理和去重。获得活性成分 13 个，对应靶点 207 个 (表 1)，其中蔗糖因药理活性证据不足，未纳入核心活性成分中。利用 Cytoscape 3.10.1 绘制“天麻 - 活性成分 - 靶点” (图 1)。该网络中共 217 个节点，237 条边，网络中心度为 0.337，平均邻节点数为 2.180，表明网络各节点间具有较高相关性。

2.2 天麻治疗脑梗死相关靶点的筛选

在 GeneCards 数据库和 DisGeNET 筛选得到的基因合并去除重复项后进行标准化处理，共得到脑梗死相关靶点 1 791 个。对筛选得到活性成分的靶点和与脑梗死相关靶点进行对应映射，得到共同靶点 89 个，见图 2。

表 1 天麻活性成分与对应靶点

Table 1 Active ingredients and corresponding targets of *Gastrodia elata*

成分 ID	英文名称	中文名称	对应靶点数
SMIT01162	20-hexadecanoylgingerol	20-十六烷基林烯醇	10
SMIT21463	4-(4'-hydroxybenzyloxy)benzyl methyl ether	4-(4'-羟基苄氧基)苄基甲基醚	1
SMIT21521	4-hydroxybenzylamine	4-羟基苄胺	38
SMIT21488	4-ethoxymethylphenyl-4'-hydroxybenzylether	4-乙氧基甲基苯基-4'-羟基苄醚	1
SMIT19056	γ -sitosterol	γ -谷甾醇	34
SMIT01371	dauricine	蝙蝠葛碱	22
SMIT25943	<i>p</i> -hydroxybenzyl alcohol	对羟基苯甲醇	13
SMIT15810	<i>p</i> -hydroxybenzaldehyde	对羟基苯甲醛	3
SMIT24071	gaultheroside A	滇白珠苷	2
SMIT15811	<i>m</i> -hydroxybenzoic acid	间羟基苯甲酸	75
SMIT22643	4-hydroxybenzyl ether	4-羟基苄基醚	1
SMIT04852	vanillyl alcohol	香草醇	2
SMIT01340	citronellal	香茅醛	21

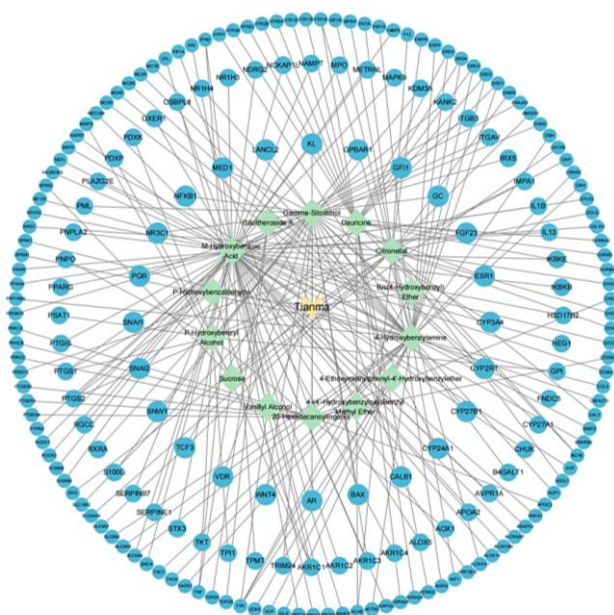


图 1 “天麻 - 活性成分 - 靶点”网络

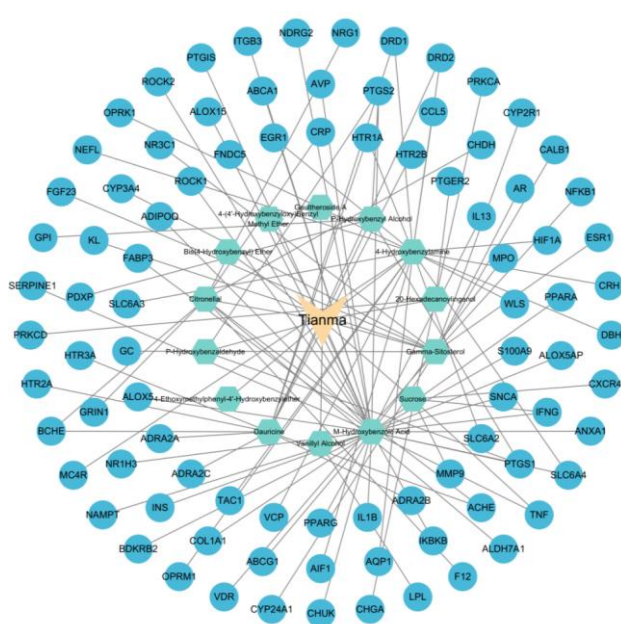
Fig. 1 “*Gastrodia elata*-active ingredients-target” network

图 2 “天麻 - 活性成分 - 脑梗死相关靶点”网络

Fig. 2 “*G. elata*-active ingredients-related targets of cerebral infarction” network

2.3 PPI 网络构建

天麻活性成分对应靶点与脑梗死相关靶点的交集基因导入 STRING 数据库, 以获取 PPI 网络。利用 Cytoscape 3.10.1 对天麻靶蛋白 - 脑梗死相关靶点相互作用网络进行可视化, 得到 PPI 网络, 如图 3 所

示, 线条代表存在互作关系, 粗细代表不同结合程度, 线条越粗表示结合越紧密。根据结果显示, 网络中心度为 0.453, 平均相邻节点数目为 16.395, 根据度值和介值筛选排名前 5 名的靶点为肿瘤坏死因子 (TNF)、胰岛素 (INS)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)。

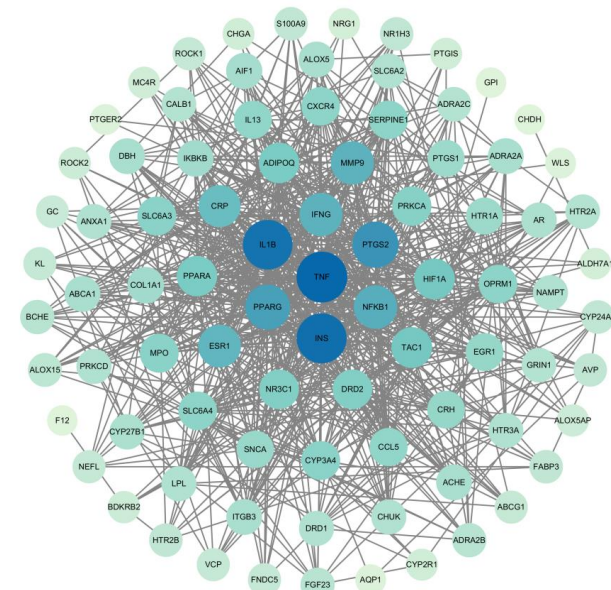


图 3 天麻治疗脑梗死的 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of *G. elata* in treatment of cerebral infarction

2.4 GO 和 KEGG 通路富集分析

使用 DAVID 数据库对脑梗死的核心靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析。GO 分析条目 566 个, 在生物过程 (BP)、细胞组成 (CC) 和分子功能 (MF) 方面, 分别发现了 425、62、79 个显著富集的通路, 对结果进行可视化处理, 如图 4A~C。经分析 GO 中 BP 多富集于信号释放、调节炎症反应、有机羧基化合物转运等; CC 多富集于神经元细胞体、分泌颗粒腔、细胞质囊泡腔等; MF 多富集于类固醇、蛋白酶结合和核受体活性等条目。KEGG 通路富集分析发现天麻活性成分对应靶点和脑梗死相关靶点主要富集在 88 条信号通路上, 排名前 5 的通路为神经活性相互作用、人巨细胞病毒、脂质与动脉粥样硬化、5-羟色胺能突触和环磷酸腺苷 (cAMP) 信号通路。根据 P 值与基因数排序取前 30 条信号通路绘制气泡图 (图 4D)。其中气泡颜色由蓝至红代表 P 值从小至大, 气泡大小与基因数呈正相关。

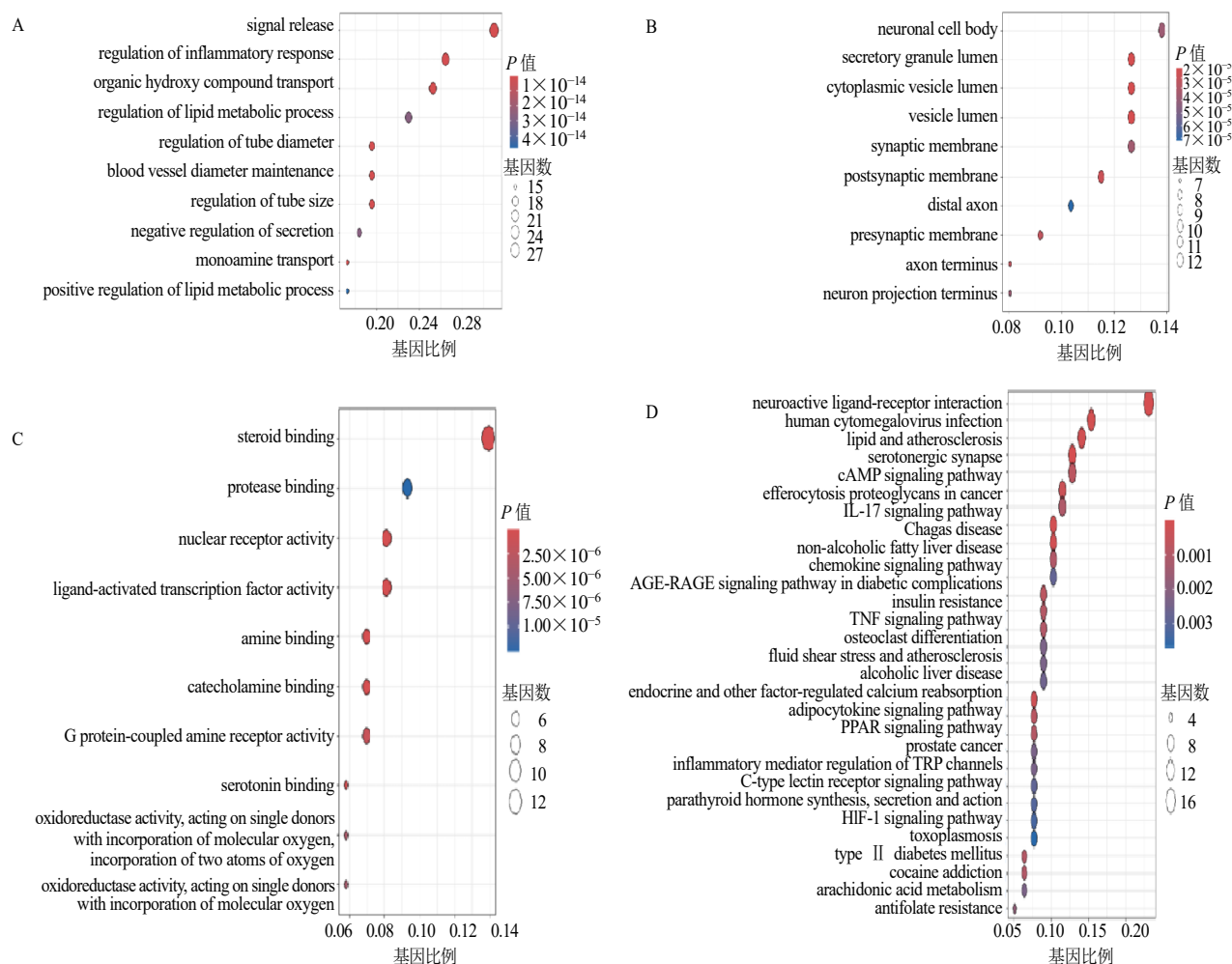


图 4 GO 中 BP (A)、CC (B)、MF (C) 和 KEGG 通路 (D) 富集气泡图

Fig. 4 Bubble chart of BP (A), CC (B), MF (C) in GO function and KEGG (D) pathway enrichment

2.5 “天麻 - 活性成分 - 潜在靶点 - 信号通路 - 脑梗死”网络图构建

对天麻治疗脑梗死拓扑参数、药物疾病交集基因、GO、KEGG 富集结果等进行综合分析。富集结果根据 P 值与基因数排序取前 20, 利用 Cytoscape 3.10.1 软件对“天麻 - 潜在靶点 - 信号通路”进行可视化处理, 整合天麻的 13 种活性成分、89 个潜在靶点以及 20 条信号通路构建涉及天麻与活性成分、潜在靶点、信号通路以及脑梗死之间的关联网络, 见图 5。该网络共有 125 个节点, 228 条边, 平均邻居节点数为 3.632 个, 网络中心度为 0.273。

2.6 分子对接分析

基于靶点覆盖度、文献证据及靶点关联性, 在 PPI 网络图中筛选度值最高的 TNF、INS、IL-1 β 、PTGS2、PPARG 5 个靶点, 分别与天麻活性成分间

羟基苯甲酸、4-羟基苄胺、 γ -谷甾醇、蝙蝠葛碱和香茅醛进行分子对接模拟, 所得受体蛋白与配体分子结合能见表 2。研究表明, 部分关键活性成分与靶点蛋白之间结合自由能 ≤ -5.0 kcal/mol (1 kcal = 4.2 kJ), 代表两者能形成较为稳定的复合物。本研究对接结果显示天麻关键活性成分对应靶点与脑梗死基因蛋白之间结合自由能 < 0 kcal/mol, 表明其具有较好的结合稳定性。其中, γ -谷甾醇与靶点蛋白 INS、蝙蝠葛碱与靶点蛋白 TNF、香茅醛与 TNF (图 6) 的结合稳定, 其结合自由能分别为 -7.62 、 -9.79 、 -7.51 kcal/mol。但 IL-1 β 与 4-羟基苄胺、蝙蝠葛碱的结合自由能均高于常规阈值, 结合亲和力较弱, 可能为非特异性结合或辅助作用, 其潜在作用需通过体外实验进一步证实, 目前并非天麻治疗脑梗死的主要作用方式。

靶蛋白	结合自由能/(kcal·mol ⁻¹)				
	间羟基苯甲酸	4-羟基苄胺	γ-谷甾醇	蝙蝠葛碱	香茅醛
TNF	-5.39	-5.31	-7.01	-9.79	-7.51
INS	-4.96	-4.60	-7.62	-6.66	-4.33
IL-1β	-4.65	-3.16	-5.81	-3.04	-2.87
PTGS2	-4.21	-3.31	-5.50	-2.02	-4.02
PPARG	-4.28	-3.72	-5.53	-5.15	-4.00

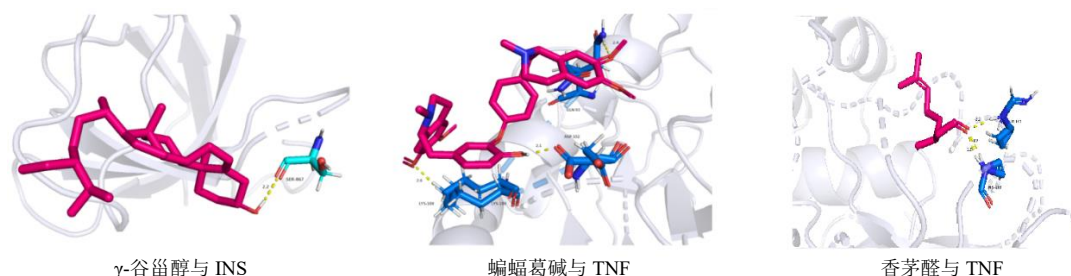


图 6 分子对接结果可视化图

Fig. 6 Visualization of molecular docking results

2.7 分子动力学模拟

根据对接结果,选取强结合活性的 γ -谷甾醇与 INS 复合物、蝙蝠葛碱与 TNF 复合物、香茅醛与 TNF 复合物进行 100 ns 分子动力学模拟。RMSD 是评估蛋白结构变化的重要指标,见图 7。在前 20 ns 时,对于 γ -谷甾醇与 INS 的 RMSD 波动较大,后趋于平稳,在 100 ns 的模拟过程中,RMSD 波动较小,平均 RMSD 为 0.20 nm(标准差 0.05 nm);对于 TNF-蝙蝠葛碱,平均 RMSD 为 0.31 nm(标准差 0.02 nm),对于 TNF-香茅醛,平均 RMSD 为 0.33 nm(标准差 0.03 nm),这些低 RMSD(均低于 0.35 nm)表明复合物在模拟全程保持了高度一致的构象,标准差小反映出波动最小化,没有发生显著的构象转变或不稳定事件。表明 γ -谷甾醇与 INS 复合物、蝙蝠葛碱与 TNF 复合物、香茅醛与 TNF 复合物形成较稳定的分子间作用,且构象稳定,处于较低的能量状态。

Gyrate 用于评估蛋白复合物整体紧凑程度,见图 8。对于 INS 与 γ -谷甾醇体系,平均值为 1.13 nm,标准差为 0.02 nm;对于 TNF-蝙蝠葛碱体系,平均值为 2.16 nm,标准差为 0.01 nm。对于 TNF-香茅醛体系,该参数的平均值同样为 2.16 nm,标准差为 0.01 nm。表明 2 个体系的蛋白质结构在模拟过程中保持高度紧凑,几乎没有明显的膨胀或收缩,标准差极低进一步证实了结构的动态稳定性,避免了由于构象漂移导致的非生理状态,确保了蛋白与配体复合物不会因溶剂效应或热运动而解离,从而支持

了小分子作为潜在抑制剂的可靠性。

HBond 是评估蛋白内小分子之间的关键非共价相互作用强度的指标,见图 9。在本次模拟中,对于 INS 与 γ -谷甾醇体系,平均氢键数约为 1(标准差 0.4);对于 TNF-蝙蝠葛碱体系,平均氢键数约为 2(标准差 0.8),显示出更强的氢键网络,这有助于锚定配体在结合口袋中,增强了特异性结合。对于 TNF-香茅醛体系,平均氢键数约为 0(标准差 0.4),表明氢键贡献相对较弱,但这并不影响整体稳定性,可能依赖于其他疏水性或范德华力相互作用;氢键数的整数表示符合典型分子模拟观察,尽管存在波动,但平均水平足以维持稳定的界面接触,尤其在 TNF-蝙蝠葛碱中,较高的氢键数暗示了更好的亲和力,减少了配体脱离的风险。

MM-PBSA 分析计算蛋白与分子之间作用力用于判断蛋白与小分子结合的合理性,见表 3。 γ -谷甾醇-INS 复合物的结合总自由能为 -24.31 kcal/mol,其中范德华力贡献占比最大;TNF-香茅醛复合物的结合总自由能为 -22.53 kcal/mol,范德华力和静电作用共同参与驱动结合;TNF-蝙蝠葛碱复合物的结合总自由能为 (-48.21 ± 2.54) kcal/mol,其范德华力和静电作用的贡献尤为显著。结果表明,3 种小分子和复合物结合性质稳定,验证了上述分析的准确性。这些发现不仅验证了小分子与蛋白的稳定结合,还为优化脑梗死治疗药物提供了结构洞见,未来可通过突变或修饰进一步提升亲和力和特异性。

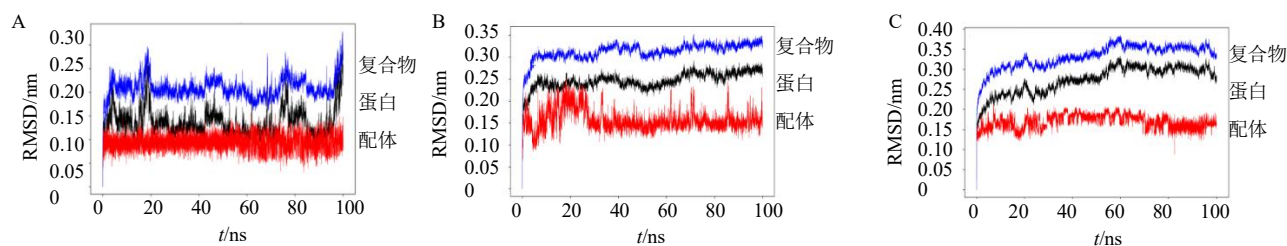


图 7 γ -谷甾醇与 INS (A)、蝙蝠葛碱与 TNF (B)、香茅醛与 TNF (C) 的 RMSD

Fig. 7 RMSD of γ -sitosterol and INS (A), batatasine and TNF (B), citronellal and TNF (C)

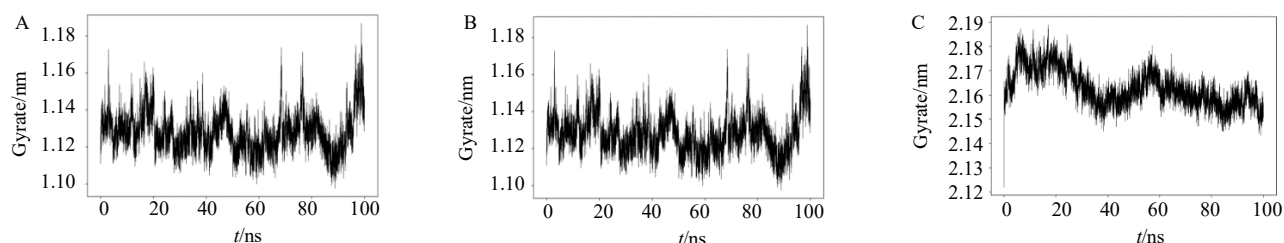
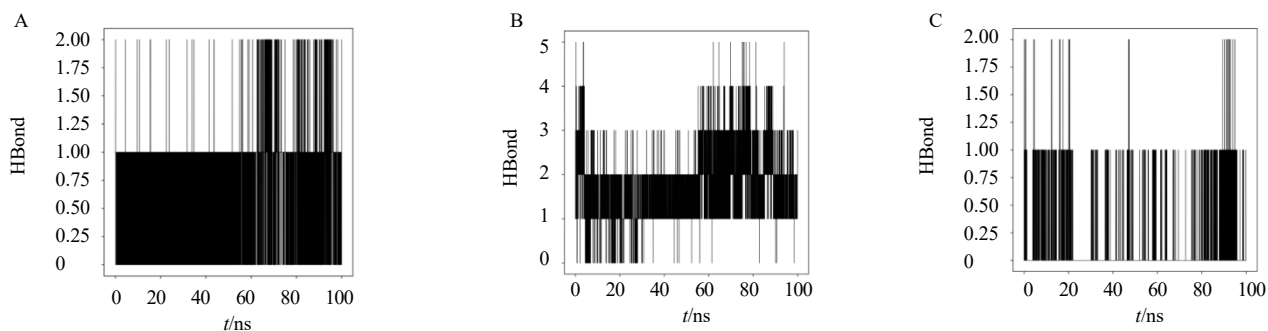
图 8 γ -谷甾醇与 INS (A)、蝙蝠葛碱与 TNF (B)、香茅醛与 TNF (C) 的 GyrateFig. 8 Gyrate of γ -sitosterol and INS (A), batatasine and TNF (B), citronellal and TNF (C)图 9 γ -谷甾醇与 INS (A)、蝙蝠葛碱与 TNF (B)、香茅醛与 TNF (C) 的 HBondFig. 9 HBond of γ -sitosterol and INS (A), batatasine and TNF (B), citronellal and TNF (C)

表 3 小分子与蛋白的结合总自由能

Table 3 Total free energy of binding between small molecules and proteins

复合物	总自由能/(kcal·mol ⁻¹)					
	范德华力作用能	静电作用能	非极性溶剂化能	表面结合自由能	溶剂化自由能	结合总自由能
γ -谷甾醇-INS	-31.98±1.58	-7.09±0.99	18.54±0.03	-3.78±1.86	14.76±0.04	-24.31±1.86
TNF-香茅醛	-27.40±0.31	-10.45±0.07	19.21±0.84	-3.88±0.02	15.33±0.84	-22.53±0.90
TNF-蝙蝠葛碱	-62.87±1.02	-19.83±2.15	41.15±0.88	-6.65±0.06	34.50±0.88	-48.21±2.54

3 讨论

随着社会的进步和科技的发展,我国医疗水平有了巨大的提高,然而即使在医疗水平高的发达国家,脑动脉闭塞后脑梗死仍为导致残疾甚至死亡的最主要疾病,其具有发病率高^[17]、复发率高^[18]、致死率高等突出特点。尽管现代医学已有溶栓药、抗凝药等主流药物在治疗脑动脉闭塞后脑梗死方面的应用,但仍难以克服时效性与适应证的限制^[19]。在中国,中药作为中医重要组成部分在治疗脑动脉闭塞后脑梗死方面已有数千年历史。近年来,随着现代药理学研究不断深入,中药治疗脑动脉闭塞后脑梗死在临床上得到了更广泛的应用^[20]。天麻为息风止痉药物,有赤箭、石箭、定风草根等别称,具有镇静催眠、改善微循环、息风定惊、减轻缺血再灌注损伤(CIRI)和抑制细胞凋亡等作用,复方常用于脑动脉闭塞后脑梗死治疗过程,潜在机制与抗神

经炎症有关。研究表明,脑动脉闭塞后脑梗死引发的脑血管缺血后神经炎症是导致不可逆性的神经损伤的主要原因之一,因此缓解神经炎症也被认为是治疗脑动脉闭塞后脑梗死行之有效的方法^[21]。有研究证实丝裂原活化蛋白激酶、Janus 激酶/信号转导及转录激活因子、核转录因子红系 2 相关因子 2 等为治疗脑动脉闭塞后脑梗死的关键通路,缺氧诱导因子- α 、Toll 样受体 4、基质金属蛋白酶 9 等为中药治疗脑动脉闭塞后脑梗死的关键靶点^[22]。

本研究发现,天麻主要活性成分共 13 个,主要包含间羟基苯甲酸、4-羟基苯胺、 γ -谷甾醇、蝙蝠葛碱和香茅醛等。4-羟基苯胺具有升高血压和兴奋子宫等作用,可用作治疗偏头痛和诊断嗜铬细胞瘤的药物^[23]。 γ -谷甾醇是一种植物甾醇化合物,能干预胆固醇代谢,具有抗炎、抗氧化与抗肿瘤的作用^[24]。蝙蝠葛碱是一种双苄基异喹啉生物碱,具有抗心律

失常、抗肿瘤和抗高血压、对大脑局部缺血的保护等作用^[25]，脂溶性高，易透过血脑屏障，已证实可用于治疗脑缺血、心律失常及肿瘤等多种疾病^[26]。李艳红等^[27]研究表明蝙蝠葛碱能增强线粒体清除氧自由基的能力，并减少脂质过氧化物生成，进而达到防止和逆转线粒体损伤介导的神经细胞死亡和凋亡，也可通过抑制血小板活化因子的释放达到减少动脉血栓的目的，通过缩小缺血范围等改善大脑局部缺血、改善神经运动功能^[28]。氧化应激是 CIRI 关键的病理生理环节，香茅醛具有抗氧化应激^[29]、抗细胞凋亡、抗炎活性作用。其在缺血/再灌注中可以发挥抗氧化作用^[30]，增强抗氧化能力可逆转氧化应激造成的血管内皮组织的损伤，从而延缓或阻止 CIRI 的发生和发展^[31]。这些研究为天麻治疗脑梗死提供了理论支撑，然而，间羟基苯甲酸在治疗脑动脉闭塞后脑梗死的作用机制尚未明确。本研究发现间羟基苯甲酸作为天麻主要活性成分对应了 75 个作用靶点，其很可能在天麻治疗脑动脉闭塞后脑梗死中发挥重要作用，将在后续研究中重点关注间羟基苯甲酸治疗脑动脉闭塞后脑梗死的疗效及对应的分子机制。

脑动脉闭塞后脑梗死病理机制包含炎症、氧化应激、兴奋毒性与补体系统等，其最终会导致缺血区神经元的凋亡和坏死^[32]。GO、KEGG 富集分析结果表明天麻可能通过信号释放、调节炎症反应、5-羟色胺能突触、cAMP、白细胞介素-17 (IL-17)、趋化因子、TNF、脂肪细胞因子和 PPAR 信号通路等信号通路对脑动脉闭塞后脑梗死起治疗作用。5-羟色胺是一种抑制性神经递质，可调节情绪、记忆和神经可塑性，这些均受脑动脉闭塞后脑梗死的有害影响^[33]。Aguiar 等^[34]研究发现 5-羟色胺 1A 受体激动剂可防止啮齿动物由全脑缺血引起的神经元损伤并促进功能恢复。5-羟色胺 1A 受体突触后异受体激动剂可作为在脑动脉闭塞后脑梗死下提供神经保护的潜在策略。cAMP 是参与各种机体内的第二信使，经典的 cAMP 细胞信号通路参与调控多种细胞分化、增殖、凋亡等过程^[35]，其与心血管疾病之间的关联主要是通过其效应蛋白激酶 A (PKA) 建立的^[36]。PKA 是 cAMP 的主要靶点，当 cAMP 的水平增加时，cAMP 与 PKA 底物相并将其磷酸化。同时，冉雪等^[37]通过进行局灶性脑缺血大鼠模型实验研究发现缺血组脑组织中 p-cAMP/cAMP，p-PKA/PKA 表达水平降低，证实脑缺血的进展与抑制

cAMP/PKA 信号通路有关。因此可通过激活 cAMP 信号通路来改善血脑屏障通透性，进而降低脑含水量、脑梗死面积比。IL-17 是一种促炎细胞因子，包括 IL-17A~IL-17F 共 6 个成员，具有促炎作用^[38]，在自身免疫性疾病中作用重要^[39]。Zhang 等^[40]研究小鼠脑卒中模型研究显示，CD4⁺ T 细胞产生的干扰素- γ ，可刺激巨噬细胞释放 TNF- α ，而 IL-17A 则由 $\gamma\delta$ T 细胞分泌，促使中性粒细胞的聚集。应用 IL-17A 阻断抗体，TNF- α 和 IL-17A 对星形胶质细胞的协同作用导致嗜中性粒细胞 CXC 趋化因子配体-1 的分泌增加。在小鼠模型中，应用 IL-17A 阻断抗体可有效减少梗死面积并改善神经功能预后。在脑卒中患者的尸检脑组织中检测到 IL-17A 阳性淋巴细胞，表明炎症级联反应在人脑中起重要作用。另有验证证明 IL-17 在卒中后促进炎症反应和诱导继发性损伤中起重要作用，调节 IL-17 信号通路可作为治疗脑动脉闭塞后脑梗死的选择。由血管壁细胞和迁移白细胞表达的趋化因子对于动脉粥样硬化性血管疾病有重要的影响^[41]，而脑卒中的病因也主要是此种慢性炎症性疾病^[42]，因此本研究推论趋化因子同样在脑动脉闭塞后脑梗死中可以起到重要作用。有研究显示在动脉粥样硬化的早期，CXC 趋化因子配体从内皮细胞中释放的机制是通过溶血磷脂酸从而通过其受体溶血磷脂酸 1 和溶血磷脂酸 3^[43]，但趋化因子的稳态作用在动脉粥样硬化中的多样性和作用范围仍然需要进一步的了解，才能够确认治疗靶向趋化因子对于治疗脑卒中是一条具有潜力的途径。TNF 是一种参与全身炎症的细胞信号蛋白。TNF 有 2 种可结合的受体，分别是 TNFR1 和 TNFR2。TNFR1 在多种组织中都有表达，并且可以通过可溶性三聚体形式完全激活 TNF。TNFR2 主要存在于免疫系统细胞中，而有关 TNF 信号的大部分信息都是从 TNFR1 获得的。树突状细胞分泌得 TNFR1，可减少脑梗死后的梗死面积和炎症反应^[44]。Dietel 等^[45]通过短暂性大脑中动脉闭塞模型实验，研究发现抑制树突状细胞活性，可以减少炎症因子 TNF- α 在脑部缺血区域的表达，从而减轻脑部缺血区域的神经炎症。Visfatin/烟酰胺磷酸核糖基转移酶等脂肪因子的高循环水平表达会增加心脑血管疾病的风险^[46]。脑动脉闭塞后脑梗死的发病过程中同样存在有脂肪因子的高循环水平表达。在新生儿缺氧缺血性脑病 (HIE) 发生后，信号通路活性发生了变化，脂肪细胞因子信号通路被相关过表达基因激活。增强的焦

亡和相关的过表达基因伴随着免疫细胞的增加,与脂肪细胞因子信号通路之间存在正相关^[47],因此脂肪细胞因子信号通路可能通过上调焦亡相关基因的表达来促进 HIE 的发生,可以推断,在免疫系统中,脂质因子信号通路可能存在着与先前提到的类似机制,导致免疫应答。过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs)是一类受脂肪酸及其衍生物激活的核激素受体,包括 PPAR α 、PPAR β 和 PPAR γ 3 种亚型,它们调控着细胞内的代谢过程。部分研究利用大脑中动脉闭塞诱导的缺血性脑卒中小鼠模型^[48],证实 PPARs 能够通过减少促炎因子的释放、增加抗炎因子的生成,发挥抗脑动脉闭塞后脑梗死引发的神经炎症的作用^[49-50]。并可调控 Caspase 依赖的凋亡途径和内质网应激与氧化应激通路发挥抗脑动脉闭塞后脑梗死作用^[51-52]。

综上所述,本研究基于网络药理学结合分子对接技术研究天麻治疗脑梗死的分子靶标,以获得天麻治疗脑梗死的关键分子靶标。筛选得到天麻药物治疗脑梗死 13 种关键药效成分,药物疾病交集靶点基因 89 个,GO 分析条目 566 个,KEGG 信号通路 88 个,分子对接结果表明,间羟基苯甲酸、4-羟基苄胺、 γ -谷甾醇、蝙蝠葛碱、香茅醛等天麻核心活性成分与核心靶点 TNF、INS、IL-1 β 、PTGS2、PPARG 对接结果较好,结合位点稳定。分子动力学模拟结果显示有效活性成分 γ -谷甾醇与 INS、蝙蝠葛碱与 TNF、香茅醛与 TNF 具有较好的亲和力与结合稳定性,其中蝙蝠葛碱与 TNF 的结合亲和力最高,能形成稳定的分子间作用,进一步验证了实验分析结果的可靠性。本研究揭示了天麻通过多成分、多靶点、多过程及多信号通路来发挥治疗脑动脉闭塞后脑梗死的作用机制,为阐明天麻治疗脑动脉闭塞后脑梗死作用机制和后续研究提供了理论基础,但成分与靶点间的作用关系,特别是间羟基苯甲酸、趋化因子信号通路和脂肪因子信号通路在脑动脉闭塞后脑梗死中的作用及机制还需进一步实验验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Campbell B C V, Khatri P. Stroke [J]. *Lancet*, 2020, 396(10244): 129-142.
- [2] 王拥军,李子孝,谷鸿秋,等. 中国卒中报告 2020 [J]. 中国卒中杂志, 2022, 17(5): 433-447.
- [3] Zhu H, Hu S P, Li Y T, et al. Interleukins and ischemic stroke [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 828447.
- [4] Denorme F, Langhauser F, Desender L, et al. ADAMTS13-mediated thrombolysis of t-PA-resistant occlusions in ischemic stroke in mice [J]. *Blood*, 2016, 127(19): 2337-2345.
- [5] Peng Z W, Wang S Q, Chen G J, et al. Gastrodin alleviates cerebral ischemic damage in mice by improving anti-oxidant and anti-inflammation activities and inhibiting apoptosis pathway [J]. *Neurochem Res*, 2015, 40(4): 661-673.
- [6] Wu Y, Zhang F L, Yang K, et al. SymMap: An integrative database of traditional Chinese medicine enhanced by symptom mapping [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D1110-D1117.
- [7] Kong X R, Liu C, Zhang Z Z, et al. BATMAN-TCM 2.0: An enhanced integrative database for known and predicted interactions between traditional Chinese medicine ingredients and target proteins [J]. *Nucleic Acids Res*, 2024, 52(D1): D1110-D1120.
- [8] Safran M, Dalah I, Alexander J, et al. GeneCards Version 3: The human gene integrator [J]. *Database*, 2010, 2010: baq020.
- [9] Piñero J, Bravo À, Queralt-Rosinach N, et al. DisGeNET: A comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1): D833-D839.
- [10] Szklarczyk D, Kirsch R, Koutrouli M, et al. The STRING database in 2023: Protein-protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest [J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(D1): D638-D646.
- [11] Sherman B T, Hao M, Qiu J, et al. DAVID a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update) [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(W1): W216-W221.
- [12] Ru J, Li P, Wang J, et al. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [13] Kim S, Chen J, Cheng T J, et al. PubChem in 2021: New data content and improved web interfaces [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D1388-D1395.
- [14] Berman H M, Westbrook J, Feng Z, et al. The protein data bank [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(1): 235-242.
- [15] Abraham M J, Murtola T, Schulz R, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers [J]. *SoftwareX*, 2015, 1: 19-25.
- [16] Van Der Spoel D, Lindahl E, Hess B, et al. GROMACS: Fast, flexible, and free [J]. *J Comput Chem*, 2005, 26(16): 1701-1718.
- [17] Putaala J. Ischemic stroke in young adults [J]. *Continuum*,

- 2020, 26(2): 386-414.
- [18] Kolmos M, Christoffersen L, Kruuse C. Recurrent ischemic stroke: A systematic review and meta-analysis [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2021, 30(8): 105935.
- [19] Bansal S, Sangha K S, Khatri P. Drug treatment of acute ischemic stroke [J]. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2013, 13(1): 57-69.
- [20] Zhang A H, Yu J B, Sun H, *et al.* Identifying quality-markers from Shengmai San protects against transgenic mouse model of Alzheimer's disease using chinmedomics approach [J]. *Phytomedicine*, 2018, 45: 84-92.
- [21] Yang J L, Mukda S, Chen S D. Diverse roles of mitochondria in ischemic stroke [J]. *Redox Biol*, 2018, 16: 263-275.
- [22] Li X H, Yin F T, Zhou X H, *et al.* The signaling pathways and targets of natural compounds from traditional Chinese medicine in treating ischemic stroke [J]. *Molecules*, 2022, 27(10): 3099.
- [23] 吴克红, 谢颖, 曹皇亮, 等. 天麻中巴利森类物质的化学、药理和体内外代谢研究进展 [J]. *中草药*, 2025, 56(13):4841-4851.
- [24] Sundarraj S, Thangam R, Sreevani V, *et al.* γ -Sitosterol from *Acacia nilotica* L. induces G₂/M cell cycle arrest and apoptosis through c-Myc suppression in MCF-7 and A549 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(3): 803-809.
- [25] 禹艳丽, 成翠芹, 何昱廷, 等. 蝙蝠葛碱抑制溶酶体损伤激活的 NLRP3 炎症小体研究 [J]. *中草药*, 2025, 56(7): 2356-2363..
- [26] Lane D R, Merlot A M, Huang M L, *et al.* Cellular iron uptake, trafficking and metabolism: Key molecules and mechanisms and their roles in disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(5): 1130-1144.
- [27] 李艳红, 龚培力. 蝙蝠葛碱对实验小鼠脑缺血的保护作用 [J]. *中国药理学通报*, 2004, 20(5): 564-567.
- [28] 丁耀贤, 周际安, 叶雪明, 等. 蝙蝠葛碱对血小板聚集性的影响及其机理研究 [J]. *中国药理学通报*, 1991, 7(4): 271-274.
- [29] Leite B L S, Bonfim R R, Antonioli A R, *et al.* Assessment of antinociceptive, anti-inflammatory and antioxidant properties of *Cymbopogon winterianus* leaf essential oil [J]. *Pharm Biol*, 2010, 48(10): 1164-1169.
- [30] 华瑞, 王琦, 张愉, 等. 香茅醛对心肌缺血/再灌注损伤大鼠的抗氧化保护作用 [J]. *中南药学*, 2022, 20(1): 65-69.
- [31] Zhou B, Yu Y L, Qiu Z, *et al.* GDF11 ameliorated myocardial ischemia reperfusion injury by antioxidant stress and up-regulating autophagy in STZ-induced type 1 diabetic rats [J]. *Acta Cir Bras*, 2020, 34(11): e201901106.
- [32] Jiang Y, Liu Z Q, Liao Y, *et al.* Ischemic stroke: From pathological mechanisms to neuroprotective strategies [J]. *Front Neurol*, 2022, 13: 1013083.
- [33] Aguiar R P, Soares L M, Meyer E, *et al.* Activation of 5-HT_{1A} postsynaptic receptors by NLX-101 results in functional recovery and an increase in neuroplasticity in mice with brain ischemia [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2020, 99: 109832.
- [34] Aguiar R P, Newman-Tancredi A, Prickaerts J, *et al.* The 5-HT_{1A} receptor as a serotonergic target for neuroprotection in cerebral ischemia [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2021, 109: 110210.
- [35] 侯甜, 秦雅芝, 张妍, 等. 特立帕肽通过 cAMP/PKA/CREB 信号通路调控高糖微环境下的成骨细胞分化 [J]. *南方医科大学学报*, 2023, 43(1): 39-45.
- [36] Fan T F, Hou Y F, Ge W P, *et al.* Phosphodiesterase 4D promotes angiotensin II-induced hypertension in mice via smooth muscle cell contraction [J]. *Commun Biol*, 2022, 5(1): 81.
- [37] 冉雪, 肖聘, 陈梦宇, 等. 罗哌卡因调节 cAMP/PKA 信号通路对局灶性脑缺血大鼠血脑屏障的影响 [J]. *卒中与神经疾病*, 2023, 30(4): 338-343.
- [38] Li X X, Bechara R, Zhao J J, *et al.* IL-17 receptor-based signaling and implications for disease [J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(12): 1594-1602.
- [39] Gelderblom M, Weymar A, Bernreuther C, *et al.* Neutralization of the IL-17 axis diminishes neutrophil invasion and protects from ischemic stroke [J]. *Blood*, 2012, 120(18): 3793-3802.
- [40] Zhang Q H, Liao Y, Liu Z Q, *et al.* Interleukin-17 and ischaemic stroke [J]. *Immunology*, 2021, 162(2): 179-193.
- [41] Zernecke A, Weber C. Chemokines in atherosclerosis: Proceedings resumed [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(4): 742-750.
- [42] Hansson G K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(16): 1685-1695.
- [43] van der Vorst E P C, Döring Y, Weber C. Chemokines [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(11): e52-56.
- [44] Works M G, Koenig J B, Sapolsky R M. Soluble TNF receptor 1-secreting *ex vivo*-derived dendritic cells reduce injury after stroke [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(9): 1376-1385.
- [45] Dietel B, Cicha I, Kallmünzer B, *et al.* Suppression of dendritic cell functions contributes to the anti-inflammatory action of granulocyte-colony stimulating factor in experimental stroke [J]. *Exp Neurol*, 2012, 237(2): 379-387.
- [46] Dakroub A, Nasser S A, Kobeissy F, *et al.* Visfatin: An emerging adipocytokine bridging the gap in the evolution of cardiovascular diseases [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(9): 6282-6296.

- [47] Ran M, Yin L, Guo Y T, *et al.* Alterations in adipocytokine signaling pathway and pyroptosis in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. *Curr Med Chem*, 2025, 32(23): 4805-4815.
- [48] 吴玉佳, 高健美, 龚其海. 过氧化物酶体增殖物激活受体 PPAR 在缺血性脑卒中作用的研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2022, 38(5): 655-659.
- [49] Luo D D, Zhang Y L, Yuan X Q, *et al.* Oleoylethanolamide inhibits glial activation via modulating PPAR α and promotes motor function recovery after brain ischemia [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 141: 530-540.
- [50] 黄炎, 彭拓, 陈诚, 等. 激活 PPAR- γ 对脑缺血-再灌注损伤中炎症反应的影响 [J]. 临床麻醉学杂志, 2020, 36(7): 685-690.
- [51] Shao A W, Lin D F, Wang L L, *et al.* Oxidative stress at the crossroads of aging, stroke and depression [J]. *Aging Dis*, 2020, 11(6): 1537-1566.
- [52] Li Y, Guan Y, Wang Y, *et al.* Neuroprotective effect of the ginsenoside Rg1 on cerebral ischemic injury *in vivo* and *in vitro* is mediated by PPAR γ -regulated antioxidative and anti-inflammatory pathways [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 7842082.

[责任编辑 金玉洁]