

基于网络药理学和分子对接的苏合香丸治疗缺血性卒中的机制探究

单 萍¹, 姚汉云¹, 王 莉^{2*}, 张亚云³

1. 武汉市第一医院 神经内科, 湖北 武汉 430022

2. 江汉大学附属医院, 武汉市第六医院, 湖北 武汉 430015

3. 雷允上药业集团有限公司, 江苏 苏州 215009

摘要: 目的 基于网络药理学和分子模拟对接技术探究苏合香丸治疗缺血性卒中的活性成分和作用机制。方法 通过中药系统药理学平台(TCMSP)和中医药综合数据库(TCMID)获取苏合香丸中15味药材的化学成分和作用靶点, 并通过PubChem数据库和String平台进行靶点预测和收集, 采用GeneCards和DisGeNET数据库获得缺血性卒中相关基因, 两者取交集获得共有靶点, 并经Cytoscape软件将结果可视化, 通过网络拓扑算法获得核心化合物和核心靶点; 通过String平台构建PPI网络获得苏合香丸治疗缺血性卒中的重要靶点, 通过DAVID平台对重要靶点进行基因本体(gene ontology, GO)功能及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; 使用Autodock Vina软件进行分子对接, 验证网络分析结果。结果 苏合香丸的主要活性化合物66个, 其中1,2,15,16-四氢丹参酮、葎萜二烯哌啶、去甲波尔多、乌药醚内酯等9个化合物可能是苏合香丸治疗缺血性卒中的核心成分; 筛选出苏合香丸治疗缺血性卒中的重要靶点63个, 核心靶点11个, 其中IL10、ESR1、CXCL8以及CASP3是关键的核心靶点; GO功能富集分析和KEGG通路富集分析显示苏合香丸主要对机体炎症反应、NO生成、平滑肌细胞增殖、细胞凋亡以及机体对脂多糖、药物的细胞反应等生物过程进行调控, 并且可能通过调控TNF信号通路、Toll样受体信号通路、HIF-1信号通路、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、FoxO信号通路以及神经营养因子信号通路等途径作用于缺血性卒中。结论 初步探究苏合香丸治疗缺血性卒中的潜在活性成分和可能的作用机制, 为进一步阐明苏合香丸治疗缺血性卒中的药效物质、后期的深入开发研究提供了参考。

关键词: 苏合香丸; 缺血性卒中; 网络药理学; 作用机制; 分子对接

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2022)07-1294-18

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.07.011

Mechanism of Suhexiang Pill in treatment of ischemic stroke based on network pharmacology and molecular docking

SHAN Ping¹, YAO Hanyun¹, WANG Li², ZHANG Yayun³

1. Department of Neurology, The First Hospital in Wuhan, Wuhan 430022, China

2. Affiliated Hospital of Jiangnan University, The Sixth Hospital of Wuhan, Wuhan 430015, China

3. Leiyunshang Pharmaceutical group Co., Ltd., Suzhou 215009, China

Abstract: Objective To explore the active ingredients and mechanism of Suhexiang Pill in the treatment of ischemic stroke based on network pharmacology and molecular docking. **Methods** Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and Traditional Chinese Medicine Integrated Database(TCMID)were applied to obtain chemical components and potential targets of fifteen herbs in Suhexiang Pill. The predicted targets of active compounds were collected from Pubchem database and STRING platform, Disease targets relating to ischemic stroke were screened out through GeneCards database and DisGeNET database, drug targets were integrated with disease targets, and intersection targets were exactly the potential action targets of Suhexiang Pill in treating ischemic stroke, Cytoscape software was used to construct the network of active ingredient-potential target genes, the key ingredients and core targets were selected based on topological parameters. A protein-protein interaction (PPI)

收稿日期: 2021-12-28

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81703870)

第一作者: 单 萍(1978—),女,湖北武汉人,博士,副主任医师,主要从事脑血管病、癫痫、神经重症疾病等研究。E-mail: shanping6109@163.com

*通信作者: 王 莉(1987—),女,硕士,主要从事心脑血管炎症及代谢方向研究。E-mail: 402496658@qq.com

network was constructed through the STRING platform and the core targets in the network were predicted, and the enrichment analyses of core targets were completed by DAVID database. Furthermore, a molecular docking method was used to verify the binding of the components with the main core targets using softwares such as Autodock Vina. **Results** There were 66 major active compounds in Suhexiang Pill, nine active compounds such as trijuganone B, pipernonaline, norboldine and linderane may be the main therapeutic ischemic stroke of Suhexiang Pill active ingredients. There were 63 core targets and 11 key targets in the treatment of ischemic stroke were obtained, IL10、ESR1、CXCL8 and CASP3 may be the main core targets of Suhexiang Pill in treating ischemic stroke. The results of GO enrichment analysis showed that the biological functions were mainly involved in the regulation of inflammatory response, nitric oxide biosynthetic process, smooth muscle cell proliferation, apoptosis process, response to lipopolysaccharide and response to drug. The results of KEGG pathway enrichment analysis showed that TNF signaling pathway, Toll-like receptor signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, MAPK signaling pathway, FoxO signaling pathway and Neurotrophin signaling pathway might be the key signaling pathways of Suhexiang Pill in treating ischemic stroke. **Conclusion** It is preliminarily explored the potential active ingredients and possible mechanisms of Suhexiang Pill in treatment of ischemic stroke, and provides reference for further elucidation of the pharmacological effects of Suhexiang Pill against ischemic stroke, subsequent development research.

Key words: Suhexiang Pill; ischemic stroke; network pharmacology; mechanism of action; molecular docking

脑卒中作为全球第2大死亡原因,具有高发病率、高致残率、高致死率以及高复发率等特点^[1],且呈年轻化趋势,目前已成为我国成年人致死致残的首位病因,给国民带来沉重的经济负担^[2-3]。脑卒中分为缺血性卒中和出血性卒中2种,其中缺血性卒中占全部脑卒中的70%~80%,是脑卒中的常见类型^[4]。缺血性卒中又称脑梗死,是指各种脑血管病变导致的脑部血液供应障碍,引起局部脑组织缺血、缺氧性坏死,从而迅速出现相应神经功能缺损的一类临床综合征^[4]。其发病的根本原因是动脉粥样硬化,而易损斑块破裂则被认为是动脉粥样硬化导致血栓栓塞的重要因素。目前国内外广泛认可静脉溶栓和机械取栓是临床治疗缺血性卒中的重要有效手段,然而有其应用局限性,前者必须在缺血性卒中发生4.5~6 h内进行,而后者则需要经过专业的医疗团队和严格的评估^[5]。因此积极探索防治缺血性脑卒中的有效治疗药物和措施乃是当今亟需解决的问题。

缺血性卒中在中医学上被归属于“中风”范畴^[6],中风急性期以风、火、痰、瘀等证候要素为主,气血逆乱、瘀血阻滞和脑窍闭阻为其主要病机,瘀阻脑络为其病理核心,治则应以醒脑开窍、活血化瘀为主^[7]。苏合香丸原名“吃力伽丸(白术丸)”,出自唐玄宗时期的《广济方》,后被收录于宋代《太平惠民和剂局方》,更名苏合香丸,是由15种药味组成的经典方剂,具有芳香开窍、行气止痛的作用,主治痰迷心窍所致的痰厥昏迷、中风偏瘫、肢体不利等症。苏合香丸作为温开剂的代表方,已有千年的应用历史,目前苏合香丸已被多篇指南或专家共识推

荐为治疗缺血性中风痰蒙神窍证的用药^[6,8-9],此外临床实践亦普遍认可苏合香丸对寒凝痰湿闭塞气机中风患者有良好的治疗作用^[10-11],然而其治疗中风的作用机制却不清楚。苏合香丸药味众多,成分复杂,因此本研究利用各种数据库资源,通过网络药理学研究方法,探究苏合香丸治疗缺血性卒中的有效成分、作用靶点以及可能作用机制,从药物-成分-靶点相互作用网络揭示苏合香丸与缺血性卒中的关联性,以期为后续的深入研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 活性化合物和药物靶标的收集

通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)和中医药综合数据库(TCMID, <http://www.megabionet.org/tcmid/>)搜索苏合香丸中15味中药(朱砂、水牛角、麝香、苏合香、安息香、冰片、檀香、沉香、丁香、香附、木香、乳香、荜茇、白术、诃子肉)的活性化合物,根据TCMSP平台中化合物的吸收、分布、代谢、排泄(ADME)参数进行筛选,纳入口服利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18且血脑屏障(BBB)≥-0.3的活性化合物^[12],同时将不满足条件但《中国药典》2020年版收载的作为指标性成分的化合物一并纳入。记录活性化合物的PubChem ID、靶点名称,通过Sting平台(<https://string-db.org/>)转换靶点蛋白名称为基因名称,通过PubChem数据库搜索文献报道的靶点,合并所有的药物靶点用于后续研究。

1.2 缺血性卒中疾病靶点预测

通过人类基因数据库 GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 和 DisGeNET 数据库 (<http://www.disgenet.org/>)

disgenet. org/) 检索 “ischemic stroke” “cerebral infarction” 疾病基因, 在 Genecards 数据库检索结果中选择关联分数 (relevance score) > 10 的疾病靶点^[13], 在 DisGeNET 数据库检索结果中选择 EI=1、DSI<0.5、DPI>0.5、score≥0.01 的基因, 两个数据库得到的基因合并去重后获得缺血性卒中相关基因, 与药物靶点进行交集并绘制韦恩图, 提取交集靶点即为苏合香丸治疗缺血性卒中的潜在靶点。

1.3 化合物-靶标网络的构建与拓扑分析

将化合物、交集靶点导入 Cytoscape 软件生成化合物-靶标网络图, 节点表示化合物或作用靶标, 边代表不同节点之间的交互作用。对该网络中节点的多个拓扑参数进行分析, 计算每个节点的度值 (degree)、中间中心度 (betweenness centrality, BC)、紧密中心性 (closeness centrality, CC) 以及拓扑系数 (topological coefficient, TC), 以度值大于度值中位数 2 倍的节点为网络中的重要节点, 其他指标大于所有节点的中位数的节点称为 “big hubs”, 即为核心靶点^[14], 筛选出苏合香丸发挥治疗作用的核心化合物和核心靶点。

1.4 蛋白相互作用 (PPI) 网络的构建与分析

将苏合香丸治疗缺血性卒中的潜在靶点上传 String 平台^[15], 物种选择为 “Homo sapiens”, 选择 high confidence 为 0.7 (高度可信度), 构建 PPI 网络, 获得靶点相互作用网络信息文件, 计算每个节点的度值 (degree), 筛选度值 > 平均度值的靶点作为苏合香丸发挥治疗作用的重要靶点^[16]。

1.5 基因本体 (gene ontology, GO) 功能及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

将 PPI 网络得到的重要靶点导入 David 数据

库 (<https://david.ncifcrf.gov/>)^[17], 进行 GO 功能富集分析及 KEGG 通路富集分析, 将 $P \leq 0.01$ 作为通路聚类标准, 筛选出的显著生物功能和信号通路分别以柱形图和高级气泡图进行可视化。

1.6 药物-成分-靶点-通路-疾病网络构建

将 KEGG 分析获得的通路、苏合香丸治疗缺血性卒中的重要靶点以及与重要靶点有对接的主要活性成分等数据导入 Cytoscape 软件中, 构建药物-成分-靶点-通路-疾病网络。

1.7 分子对接验证

化合物-靶标网络筛选出的核心靶点与 PPI 网络得到的前 20 个重要靶点取交集获得关键核心靶点, 对化合物-靶标网络筛选出的核心化合物与关键核心靶点进行分子对接验证。通过 PubChem 数据库下载核心化合物的 2D structure 的 sdf 文件, 通过 Chem3D 软件优化力学结构后保存为 mol2 格式; 通过 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载关键核心靶点蛋白 3D 结构, 运用 PyMOL 软件对蛋白质进行去水、加氢等操作后, 经 Autodock Vina 1.1.2 软件加氢、计算电荷、合并非极性氢后保存成 pdbqt 格式。确定靶点的活性位点、设置 Grid Box 坐标, 并调整盒子大小, 每个小网格点的距离为 0.1 nm。使用 Autodock Vina 1.1.2 软件进行小分子与蛋白对接^[18]。

2 结果

2.1 苏合香丸主要活性成分

根据设定的方法搜索并筛选苏合香丸的活性成分, 其中水牛角未找到符合要求的活性成分, 此外剔除未找到靶点的活性成分后, 共得到苏合香丸主要活性成分 66 个, 见表 1。

表 1 苏合香丸主要活性成分基本信息

Table 1 Basis information of main active components in Suhexiang Pill

序号	来源药材	MOL ID	化合物	相对分子质量	OB/%	BBB	DL	备注
1	朱砂	—	mercuric sulfide	232.66	—	—	—	药典收载指标性成分
2	麝香	—	muscone	238.41	—	—	—	药典收载指标性成分
3	苏合香	MOL002295	cinnamic acid	148.17	19.68	0.96	0.03	药典收载指标性成分
4	苏合香	MOL001663	3-epioleanolic acid	456.78	32.03	0.39	0.76	
5	苏合香	MOL002039	isopimaric acid	302.50	36.20	1.12	0.28	
6	苏合香	MOL003790	androstane	260.51	32.50	2.05	0.26	
7	安息香	MOL003781	styracin	264.34	63.38	0.90	0.17	

续表1

序号	来源 药材	MOL ID	化合物	相对分子 质量	OB/%	BBB	DL	备注
8	安息香	MOL012189	coniferyl diangelate	344.44	40.70	0.26	0.27	
9	安息香	MOL012188	[(<i>E</i>)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) prop-2-enyl] (<i>E</i>)-3-phenylprop-2-enoate	310.37	78.88	0.06	0.27	
10	安息香	MOL012200	sumatrol	410.45	70.92	0.06	0.91	
11	冰片	MOL006865	dipterocarpol	442.80	41.71	0.42	0.76	
12	冰片	MOL000669	(<i>S</i>)-camphor	152.26	21.68	1.74	0.05	药典收载指标 性成分
13	檀香	MOL007243	santalol	220.39	40.17	1.12	0.09	药典收载指标 性成分
14	沉香、丁 香、香附	MOL000358	β -sitosterol	414.79	36.91	0.99	0.75	
15	沉香、香 附、木香	MOL000359	sitosterol	414.79	36.91	0.87	0.75	
16	沉香	MOL010913	linderane	260.31	77.09	0.45	0.25	
17	沉香	MOL010917	boldine	327.41	31.18	0.42	0.51	
18	沉香	MOL010495	6,7-dimethoxy-2-(2-phenylethyl) chromone	310.37	31.93	0.37	0.30	
19	沉香	MOL010496	DMPEC	340.40	32.38	0.18	0.39	
20	沉香	MOL010907	norboldine	313.38	40.92	0.02	0.46	
21	沉香	MOL010502	agarotetrol	318.35	1.80	-1.00	0.30	药典收载指标 性成分
22	丁香	MOL000254	eugenol	164.22	56.24	1.32	0.04	药典收载指标 性成分
23	丁香	MOL013219	strictosamide_qt	336.42	76.30	-0.16	8.84	
24	丁香	MOL001749	bis(2-ethylhexyl) phthalate	390.62	43.59	0.60	0.35	
25	丁香、香 附、木香	MOL000449	stigmastrol	412.77	43.83	1.00	0.76	
26	香附	MOL004053	isodalbergin	268.28	35.45	0.20	0.20	
27	香附	MOL004058	khellin	260.26	33.19	0.60	0.19	
28	香附	MOL004068	rosenonolactone	316.48	79.84	0.43	0.37	
29	香附	MOL004071	hyndarin	355.47	73.94	0.62	0.64	
30	香附	MOL004077	sugeonyl acetate	276.41	45.08	0.58	0.20	
31	香附	MOL004074	stigmastrol glucoside_qt	412.77	43.83	0.84	0.76	
32	木香	MOL010813	benzo[a]carbazole	217.28	35.22	1.65	0.22	
33	木香	MOL010825	costunolide	232.35	29.07	1.42	0.11	药典收载指标 性成分
34	木香	MOL010830	dihydrocostus lactone	234.37	62.30	1.38	0.11	药典收载指标 性成分
35	木香	MOL000211	mairin	456.78	55.38	0.22	0.78	
36	木香	MOL010826	costuslactone	232.35	60.48	1.44	0.11	药典收载指标 性成分
37	乳香	MOL001215	tirucallol	426.80	42.12	1.07	0.75	
38	乳香	MOL001241	<i>O</i> -acetyl- α -boswellic acid	498.82	42.73	0.41	0.70	
39	乳香	MOL001243	3 α -hydroxy-olean-12-en-24-oic-acid	456.78	39.32	0.20	0.75	

续表1

序号	来源 药材	MOL ID	化合物	相对分子 质量	OB/%	BBB	DL	备注
40	乳香	MOL001255	boswellic acid	456.78	39.55	0.24	0.75	
41	乳香	MOL001265	acetyl- α -boswellic acid	498.82	42.73	0.28	0.70	
42	乳香	MOL001272	incensole	306.54	45.59	1.20	0.22	
43	乳香	MOL001295	phyllocladene	272.52	33.40	2.10	0.27	
44	箬茛	MOL001592	piperine	285.37	42.52	0.62	0.23	
45	箬茛	MOL001555	diaeudesmin	386.48	52.35	0.08	0.62	
46	箬茛	MOL001558	sesamin	354.38	56.55	-0.08	0.83	
47	箬茛	MOL001559	piperlonguminine	273.36	30.71	0.27	0.18	
48	箬茛	MOL001560	piperonaline	341.49	51.32	0.33	0.41	
49	箬茛	MOL001561	dehydropiperonaline	339.47	47.73	0.24	0.41	
50	箬茛	MOL001586	<i>N</i> -(2,5-dimethoxyphenyl)-4-methoxybenzamide	287.34	60.70	0.33	0.18	
51	箬茛	MOL001594	pisatin	314.31	88.05	-0.22	0.64	
52	箬茛	MOL001601	1,2,5,6-tetrahydrotanshinone	280.34	38.75	0.39	0.36	
53	箬茛	MOL001607	(3 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i> ,13 <i>R</i> ,14 <i>R</i> ,17 <i>R</i>)-17-[(2 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-5-ethyl-6-methylheptan-2-yl]-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1 <i>H</i> -cyclopenta[<i>a</i>]phenanthren-3-ol	414.79	36.91	0.88	0.76	
54	箬茛	MOL001610	sylvatine	383.58	44.00	0.39	0.51	
55	箬茛	MOL001614	(<i>E,E,E</i>)-11-(1,3-benzodioxol-5-yl)- <i>N</i> -(2-methylpropyl)-2,4,10-undecatrienenamide	353.50	42.72	0.34	0.43	
56	箬茛	MOL001616	1-[1-oxo-9(3,4-methylenedioxyphe-nyl)-2 <i>E</i> ,8 <i>E</i> -nonadienyl]pyrrolidine	327.46	49.43	0.32	0.36	
57	白术	MOL000046	atractylone	216.35	41.10	1.85	0.13	药典收载指标性成分
58	白术	MOL000028	α -amyrin	426.80	39.51	1.28	0.76	
59	白术	MOL000033	(24 <i>S</i>)-24-propylcholesta-5-ene-3 β -ol	428.82	36.23	1.09	0.78	
60	白术	MOL000049	3 β -acetoxyatractylone	274.39	54.07	1.08	0.22	
61	白术	MOL000072	8 β -ethoxyatractylenolide III	276.41	35.95	1.12	0.21	
62	诃子	MOL006376	7-dehydrosigmasterol	414.79	37.42	0.92	0.75	
63	诃子	MOL009135	ellipticine	246.33	30.82	0.97	0.28	
64	诃子	MOL009136	peraksine	310.43	82.58	0.07	0.78	
65	诃子	MOL009137	(<i>R</i>)-(6-methoxy-4-quinolyl)-[(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-5-vinylquinuclidin-2-yl]methanol	324.46	55.88	0.21	0.40	
66	诃子	MOL009149	cheilanthifoline	325.39	46.51	0.52	0.72	

2.2 苏合香丸治疗缺血性卒中的潜在靶点

根据TCMSP、Pubchem等数据库搜索并验证苏合香丸66个活性化合物的靶点,找到药物靶点693个,通过人类基因数据库GeneCards和DisGeNET数据库检索获得缺血性卒中相关疾病基因746个。将药物靶点与疾病基因进行交集,得到202个苏合香丸治疗缺血性卒中的潜在作用靶点。

2.3 苏合香丸化合物-靶点网络及拓扑分析

针对苏合香丸抗缺血性卒中的202个潜在靶点,采用Cytoscape 3.6.0软件构建化合物-靶点网络,见图1,由于66个活性成分中有7个活性成分未与202个潜在靶点对接,因此不在图中显示,图中结点大小根据度值显示。对该网络中的261个节点的拓扑系数进行分析:度值的中位数为8,BC、CC、

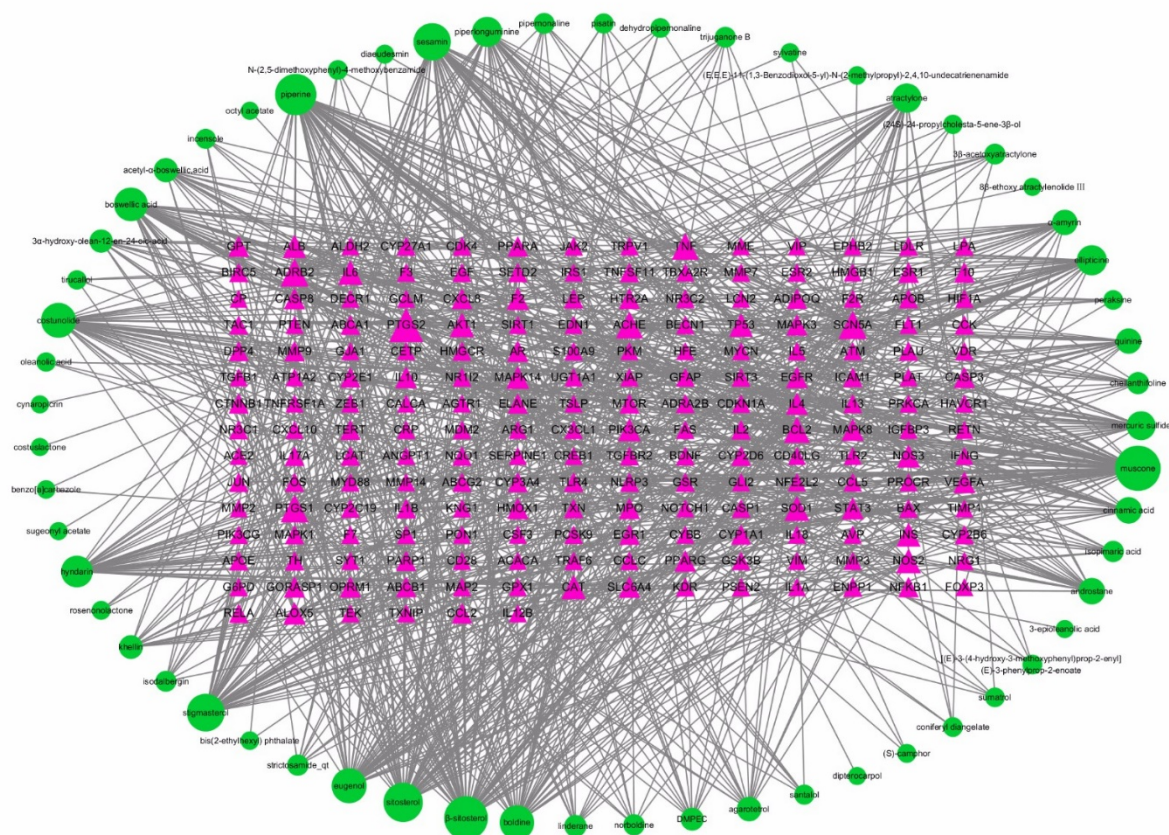


图1 苏合香丸化合物-靶点网络

Fig. 1 Compound-target network diagram of Suhexiang Pill

TC的中位数分别为0.000 514、0.328 283、0.291 899,核心节点需满足以上拓扑参数的卡值。结果显示共有11个作用靶点满足以上卡值,分别是VEGFR、STAT3、MPO、MAPK8、MAPK3、IL10、GPT、ESR1、CXCL8、CASP8以及CASP3,各核心靶点的度值如表2所示,推测苏合香丸可能通过以上高度值的核心靶点发挥治疗缺血性卒中的作用。

同理,通过对化合物-靶点网络中代表活性化合物的节点进行拓扑学参数分析,挖掘出苏合香丸中相对重要的活性化合物有9个,分别是1,2,15,16-四氢丹参酮、茛菪壬二烯哌啶、去甲波尔定、乌药醚内酯、异黄檀素、6,7-二甲氧基-2-[2-(4'-甲氧基苯基)乙基]色酮、齐兰西夫林碱、乙酰基- α -乳香酸及3 β -乙酰氧基苍术酮,其属性和来源如表3所示,由该化合物-靶点网络拓扑分析推测以上9个核心化合物可能是苏合香丸发挥抗缺血性卒中作用的重要成分。

2.4 PPI网络与分析

在STRING数据库中,设默认连边阈值为0.7(即高度可靠性)构建上述苏合香丸治疗缺血性

卒中的202个靶点的PPI网络,如图2。此网络共包含202个结点,1 847条边,平均度值为9.15,平均局部聚类系数为0.522, $P < 1.0 \times 10^{-16}$,表明该组相互作用靶点与随机相似靶点组合对比具有显著差异。筛选度值>平均度值的靶点作为“重要靶点”,获得的63个重要靶点,选取度值排名前20的靶点进行属性整理,如图3、表4所示,排名前20的重要靶点类别可分为蛋白激酶、细胞因子、趋化因子、转录因子以及性激素受体等,主要参与调节机体炎症反应、细胞生长、细胞增殖、分化、凋亡等生物学进程,并在血管修复与新生、血管功能的调控以及神经系统保护等方面发挥主要作用。在PPI网络中,度值排名前5的靶点依次为RAC- α 丝氨酸/蛋白激酶B1(AKT1)、内皮生长因子受体(EGFR)、白蛋白(ALB)、黏着连接蛋白(CTNNB1)和半胱氨酸蛋白酶3(CASP3),在该网络中能产生相互作用的蛋白个数分别有66、46、45、40、38个,表明苏合香丸治疗缺血性卒中可能与以上重要靶点密切相关。

2.5 GO生物过程富集与KEGG信号筛选结果

应用DAVID平台对苏合香丸63个重要靶点进

表2 化合物-靶点网络中11个核心靶点属性

Table 2 Property of 11 core targets in compound-target network

基因名称	Uniprot	BC	CC	度值	TC
VEGFA	Vascular endothelial growth factor A	0.005 918 63	0.388 639 76	10	0.310 884 35
STAT3	Signal transducer and activator of transcription 3	0.006 180 76	0.389 805 10	11	0.291 898 58
MPO	Myeloperoxidase	0.004 447 50	0.380 673 50	9	0.323 161 19
MAPK8	Mitogen-activated protein kinase 8	0.006 820 60	0.398 162 33	11	0.306 375 44
MAPK3	Mitogen-activated protein kinase 3	0.004 102 03	0.371 959 94	9	0.294 903 93
IL10	Interleukin-10	0.006 042 51	0.382 916 05	10	0.311 971 83
GPT	Alanine aminotransferase 1	0.003 961 14	0.375 180 38	8	0.342 153 28
ESR1	Estrogen receptor	0.003 258 61	0.338 983 05	8	0.308 168 32
CXCL8	Interleukin-8	0.002 400 99	0.365 682 14	8	0.351 562 50
CASP8	Caspase-8	0.006 407 68	0.385 185 19	9	0.292 720 31
CASP3	Caspase-3	0.006 101 79	0.367 751 06	9	0.334 194 66

表3 化合物-靶点网络中9个核心化合物属性

Table 3 Property of nine key compounds in compound-target network

药材来源	化合物	中文名称	BC	CC	度值	TC
荜茇	trijuganone B	1,2,15,16-四氢丹参酮	0.001 084 86	0.358 126 72	8	0.397 500 00
荜茇	pipernonaline	荜茇壬二烯哌啶	0.001 731 51	0.340 314 14	8	0.336 538 46
沉香	norboldine	去甲波尔定	0.001 848 41	0.361 111 11	9	0.383 442 27
沉香	linderane	乌药醚内酯	0.001 941 47	0.343 915 34	11	0.357 954 55
香附	isodalbergin	异黄檀素	0.002 934 81	0.350 404 31	8	0.367 187 50
沉香	DMPEC	6,7-二甲氧基-2-[2-(4'-甲氧基苯基)乙基]色酮	0.007 576 76	0.367 231 64	13	0.293 178 52
诃子	cheilanthifoline	齐兰西夫林碱	0.003 542 26	0.362 116 99	11	0.340 463 46
乳香	acetyl- α -boswellic acid	乙酰基- α -乳香酸	0.010 834 28	0.349 462 37	16	0.323 863 64
白术	3 β -acetoxyatractylone	3 β -乙酰氧基苍术酮	0.002 151 93	0.354 223 43	8	0.380 102 04

行GO功能富集分析,得到950个GO富集结果,按 $P < 0.01$ 筛选后得到511条,其中生物过程(biological Process, BP)富集有241条,细胞组分(cell component, CC)富集有17条,分子功能(molecular function, MF)有39条,GO分析分别取以上3个部分显著的前10条目录进行条形图展示,如图4。图中横坐标表示富集数,颜色表示显著性, P 值越小富集越显著,颜色越蓝。BP富集分析显示靶点主要参与调节机体炎症反应、NO生成、平滑肌细胞增殖、细胞凋亡、RNA聚合酶II启动子转录、PI3K信号通路、对脂多糖的细胞反应以及对药物反应等生物过程;CC富集分析显示靶点主要分布于细胞的表面、细胞胞外区、质膜外侧面、细胞质基质、膜小窝、膜筏、蛋白质复合物、细胞核质以及细胞核常染色体质等区域;MF富集分析显示靶点主要与蛋白质、酶、转录因子以及RNA聚合酶II远端序列等结合,参与调节细胞因子、生长因子、MAP激酶、转录因子、蛋白

质异二聚化以及Ras鸟苷酸交换因子等分子的活性。

对63个重要靶点进行KEGG信号通路富集分析,共富集到靶点相关的KEGG信号通路111条, $P < 0.01$ 的信号通路有92条,依据 P 值和基因数量进行排序,选择富集程度显著的20个代表性的信号通路进行属性整理和可视化分析,结果见表5和图5,结果显示输入的重要靶点显著富集于炎症、呼吸道感染病、胃肠道感染性疾病、细胞增殖分化、细胞凋亡、血管生成、神经系统保护以及认知功能等相关信号通路,其中TNF信号通路、Toll样受体信号通路、HIF-1信号通路、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、FoxO信号通路以及神经营养因子信号通路富集程度高,包含靶点多,且均与炎症、免疫、细胞增殖凋亡、血管新生以及神经细胞保护等进程密切相关,因此苏合香丸可能通过以上富集程度显著的信号通路调节机体炎症反应,抵抗缺氧缺血后的细

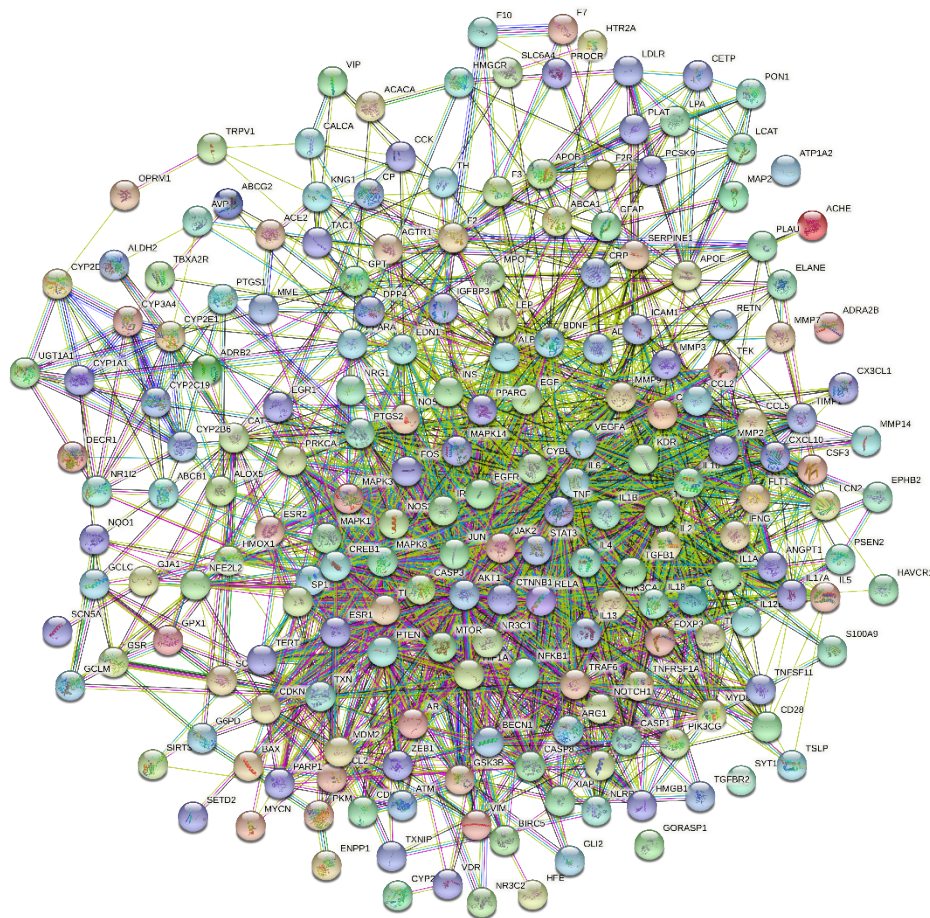


图2 苏合香丸治疗缺血性卒中潜在靶点PPI网络

Fig. 2 PPI network of potential therapeutic target protein of Suhxiang Pill in treatment of ischemic stroke

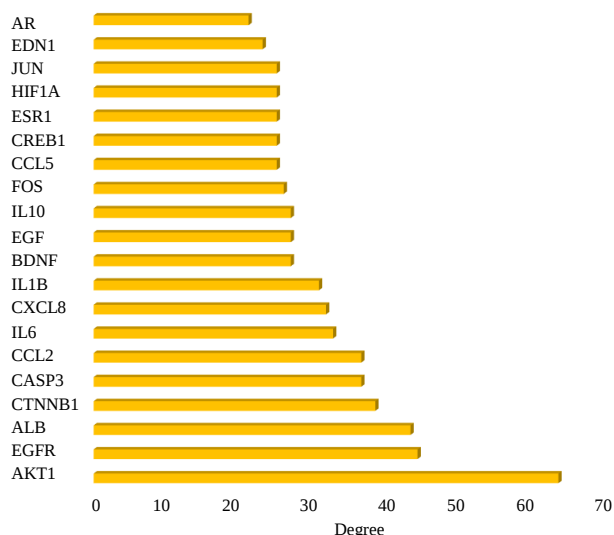


图3 苏合香丸治疗缺血性卒中的前20个重要靶点

Fig. 3 Top 20 important targets of Suhxiang Pill in treatment of ischemic stroke

胞凋亡,促进血管新生,抵抗缺血缺氧引起的神经功能损伤等方面治疗缺血性卒中。此外,从KEGG信号通路分析发现,美国钩虫病、甲型流感、百日

咳、结核病等胃肠道感染性疾病或呼吸道感染病可能是苏合香丸的潜在治疗疾病。

2.6 苏合香丸药物-成分-靶点-通路网络

为了探索药物与疾病之间的关系,将药材、活性化合物、苏合香丸治疗缺血性卒中的63个重要靶点以及基因富集程度显著的具有代表性的20条信号通路导入Cytoscape软件构建药材-成分-靶点-通路-疾病网络(图6)。该网络有139个结点,716条边,苏合香丸中水牛角未找到符合要求的活性化合物,冰片与该网络中化合物没有对接,因此均不在图中显示;苏合香丸的66个活性化合物中有24个没有与重要靶点对接,因此不在图中显示。结果显示1个化合物对应多个靶点,1个靶点对应多条通路,表明苏合香丸通过多途径多靶点发挥治疗缺血性卒中的作用。

2.7 核心化合物-核心靶点分子对接验证结果

对化合物-靶点网络筛选出的11个核心靶点与PPI网络得到的前20个重要靶点取交集,得到4个关键核心靶点:IL10、ESR1、CXCL8以及CASP3。

表4 PPI网络排名前20个重要靶点的属性
Table 4 Properity of top 20 important targets in PPI network

基因名	蛋白名	中文名称	蛋白功能
AKT1	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	RAC- α 丝氨酸/蛋白激酶 B1	调控细胞增殖和生长,参与细胞凋亡、葡萄糖代谢等细胞过程
EGFR	Epidermal growth factor receptor	内皮生长因子受体	调节细胞的生长、增殖和分化等生理过程
ALB	Serum albumin	血清白蛋白	调节血液的胶体渗透压
CTNNB1	Catenin beta-1	黏着连接蛋白	wnt信号关键下游,参与调节细胞生长和细胞间黏附
CASP3	Caspase-3	半胱氨酸蛋白酶-3	介导细胞凋亡
CCL2	C-C motif chemokine 2	趋化因子2	促炎趋化因子,诱导免疫细胞参与炎症反应
IL6	Interleukin-6	白细胞介素6	参与淋巴细胞和单核细胞的分化,介导炎症反应
CXCL8	Interleukin-8	白细胞介素8	调节炎症反应,促进炎性细胞趋化和诱导细胞增殖
IL1B	Interleukin-1 beta	白细胞介素1 β	发挥免疫调节作用,刺激APC和T细胞活化,促进B细胞增殖和分泌抗体
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor	脑源性神经营养因子	促进周围和中枢神经系统的神经元的生存和分化,诱导合成神经元表型的蛋白质,增加神经递质的合成
EGF	Pro-epidermal growth factor	内皮生长因子	促进表皮和上皮组织的生长
IL10	Interleukin-10	白细胞介素10	抑制多种细胞因子的合成,调节细胞的生长与分化,参与炎症反应和免疫反应
FOS	Proto-oncogene c-Fos	原癌基因蛋白 c-Fos	细胞增殖、分化和转化的调节因子
CCL5	C-C motif chemokine 5	趋化因子5	参与炎症反应,诱导某些自然杀伤细胞(NK)增殖和活化形成CC趋化因子活化的杀伤(CHAK)细胞
CREB1	Cyclic AMP-responsive element-binding protein 1	cAMP 反应元件结合蛋白	抑制细胞凋亡
ESR1	Estrogen receptor	雌激素受体 α	调控真核基因表达,影响靶组织细胞增殖和分化
HIF1A	Hypoxia-inducible factor 1-alpha	缺氧诱导因子-1 α	缺氧状态促进血管新生,促进角质细胞的移动与上皮组织的修护
JUN	Transcription factor AP-1	转录因子AP-1	调节多种基因表达
EDN1	Endothelin-1	内皮素-1	内源性长效血管收缩调节因子,维持基础血管张力与心血管系统稳态
AR	Androgen receptor	雄激素受体	调控靶基因的表达,保持体内激素平衡

对化合物-靶点网络筛选出的9个核心化合物(1,2,15,16-四氢丹参酮、葎萸壬二烯哌啶、去甲波尔定、乌药醚内酯、异黄檀素、6,7-二甲氧基-2-[2-(4'-甲氧基苯基)乙基]色酮、齐兰西夫林碱、乙酰基- α -乳香酸及3 β -乙酰氧基苍术酮)与4个关键核心靶点进行分子对接验证,其中化合物3 β -乙酰氧基苍术酮未找到SDF结构文件,因此无法进行对接,其余8个核心化合物与4个关键核心靶点分子对接的结合能见表6,对接位点在Pymol软件中进行可视化处理,

结果见图7~10。一般认为,对接能量值小于-17.79 kJ·mol⁻¹表示两者间有一定的结合活性,小于-20.93 kJ·mol⁻¹表示有较好的结合活性,小于-29.30 kJ·mol⁻¹表示有强烈的结合活性^[19],对接位点图中的实线表示以氢键结合,结合较强;虚线表示以疏水键结合,结合较弱。结果显示苏合香丸的8个核心化合物与4个关键核心靶点均有较好的结合活性,其中6,7-二甲氧基-2-[2-(4'-甲氧基苯基)乙基]色酮、齐兰西夫林碱、乙酰基- α -

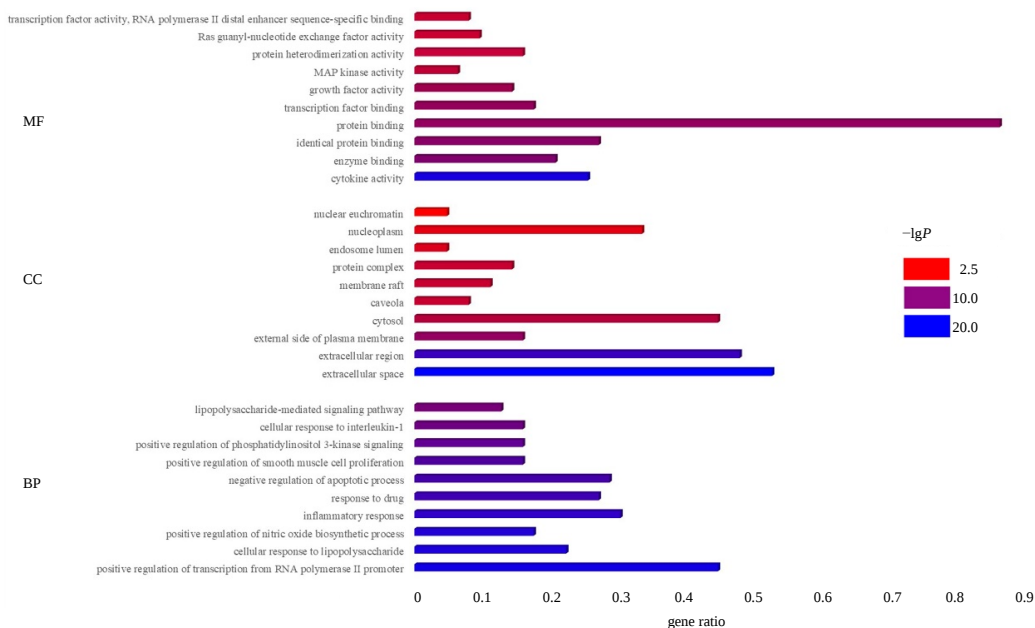


图4 苏合香丸治疗缺血性卒中的重要靶点GO功能富集分析

Fig 4 GO enrichment analysis of important targets of Suhexiang Pill in treatment of ischemic stroke

表5 苏合香丸治疗缺血性卒中重要靶点的KEGG信号通路富集分析

Table 5 KEGG pathway enrichment analysis of important targets of Suhexiang Pill in treatment of ischemic stroke

编号	通路ID	通路	基因数量	Gene Ratio	P值
1	hsa04668	TNF signaling pathway	20	0.32	9.96×10^{-21}
2	hsa05142	Chagas disease (American trypanosomiasis)	19	0.30	1.99×10^{-19}
3	hsa05164	Influenza A	21	0.33	6.40×10^{-18}
4	hsa05133	Pertussis	16	0.25	2.96×10^{-17}
5	hsa04066	HIF-1 signaling pathway	17	0.27	5.00×10^{-17}
6	hsa04621	NOD-like receptor signaling pathway	14	0.22	5.92×10^{-16}
7	hsa05152	Tuberculosis	19	0.30	3.74×10^{-15}
8	hsa04620	Toll-like receptor signaling pathway	16	0.25	7.08×10^{-15}
9	hsa04660	T cell receptor signaling pathway	14	0.22	1.72×10^{-12}
10	hsa04068	FoxO signaling pathway	14	0.22	7.66×10^{-11}
11	hsa04060	Cytokine-cytokine receptor interaction	17	0.27	1.34×10^{-10}
12	hsa04151	PI3K-Akt signaling pathway	19	0.30	3.49×10^{-10}
13	hsa04010	MAPK signaling pathway	15	0.24	2.21×10^{-8}
14	hsa04722	Neurotrophin signaling pathway	11	0.17	6.47×10^{-8}
15	hsa04012	ErbB signaling pathway	9	0.14	7.08×10^{-7}
16	hsa04915	Estrogen signaling pathway	9	0.14	1.91×10^{-6}
17	hsa04920	Adipocytokine signaling pathway	8	0.13	2.10×10^{-6}
18	hsa04630	Jak-STAT signaling pathway	10	0.16	3.79×10^{-6}
19	hsa04062	Chemokine signaling pathway	10	0.16	2.86×10^{-5}
20	hsa04024	cAMP signaling pathway	10	0.16	4.69×10^{-5}

乳香酸等3个化合物与关键核心靶点均能产生强烈结合。提示IL10、ESR1、CXCL8以及CASP3等靶点可能是苏合香丸发挥抗缺血性脑卒中作用的主要直接作用靶点,而

6,7-二甲氧基-2-[2-(4'-甲氧基苯基)乙基]色酮、齐兰西夫林碱、乙酰基- α -乳香酸可能是苏合香丸抗缺血性卒中作用网络中发挥核心作用的化合物。

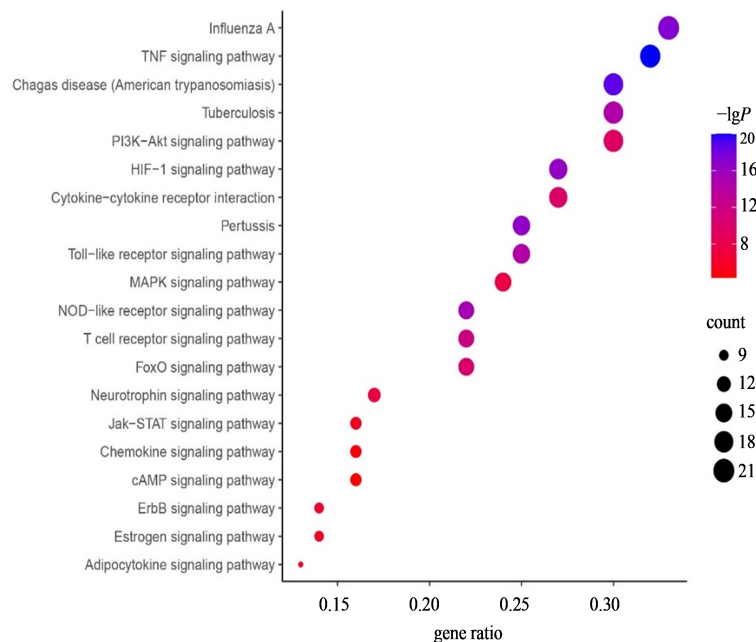


图5 苏合香丸治疗缺血性卒中重要靶点 KEGG 通路富集气泡图

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis of important targets of Suhxiang Pill in treatment of ischemic stroke

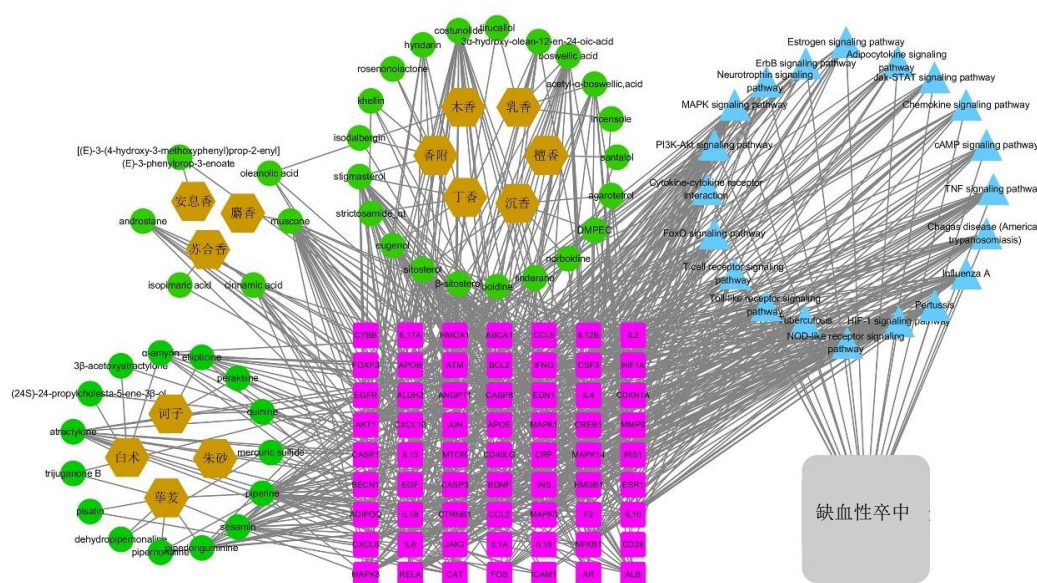


图6 苏合香丸治疗缺血性卒中的药材-成分-靶点-通路-疾病网络

Fig. 6 Medicinal materials-component-target-pathway-disease network of Suhxiang Pill in treatment of ischemic stroke

3 讨论

苏合香丸是由朱砂、水牛角、麝香、苏合香、安息香、冰片、檀香、沉香、丁香、香附、木香、乳香、荜茇、白术以及诃子15味中药组成的经典名方,主治中风寒闭证,症见突然昏倒、牙关紧闭、不省人事、苔白、脉迟等^[20]。方中苏合香、麝香、冰片、安息香芳香开窍、启闭醒神、避秽化浊,共为君药;香附理气解郁,木香行气止痛,沉香降气温中、温肾纳气,

檀香行气和胃,乳香调气活血定痛,丁香温中降逆、治心腹冷痛,上述诸药行气解郁,散寒止痛,理气活血,共为臣药;佐以辛热之荜茇,配合诸香温中散寒止痛;犀牛角(水牛角)清心解毒,朱砂镇心安神,白术补气健脾祛湿,诃子肉温涩敛气,防止辛香走窜太过,耗气伤正^[20]。苏合香丸组方理论可追溯到《黄帝内经》中冠心病的治疗原则:“芳香温通法”,即“痛痹,心痛,有寒故痛,温则消而去之”,其组方

表6 苏合香丸治疗缺血性卒中的核心活性化合物与主要核心靶点分子对接结果

Table 6 Molecular docking results of key compounds and main core targets of Suhexiang Pill in treatment of ischemic stroke

来源	化合物	中文名	与靶点的结合能/(kJ·mol ⁻¹)			
			IL10	ESR1	CXCL8	CASP3
葶苈	trijuganone B	1,2,15,16-四氢丹参酮	-33.07	-35.16	-32.65	-28.88
葶苈	pipernonaline	葶苈壬二烯哌啶	-31.81	-26.37	-23.44	-25.12
沉香	norboldine	去甲波尔定	-26.79	-26.37	-26.79	-25.95
沉香	linderane	乌药醚内脂	-30.98	-36.00	-28.46	-26.79
香附	isodalbergin	异黄檀素	-29.30	-33.91	-27.63	-28.05
沉香	DMPEC	6,7-二甲氧基-2-[2-(4'-甲氧基苯基)乙基]色酮	-29.72	-30.56	-30.56	-30.98
诃子	cheilanthifoline	齐兰西夫林碱	-31.40	-29.30	-30.14	-28.05
乳香	acetyl- α -boswellic acid	乙酰基- α -乳香酸	-36.84	-30.98	-34.33	-35.16

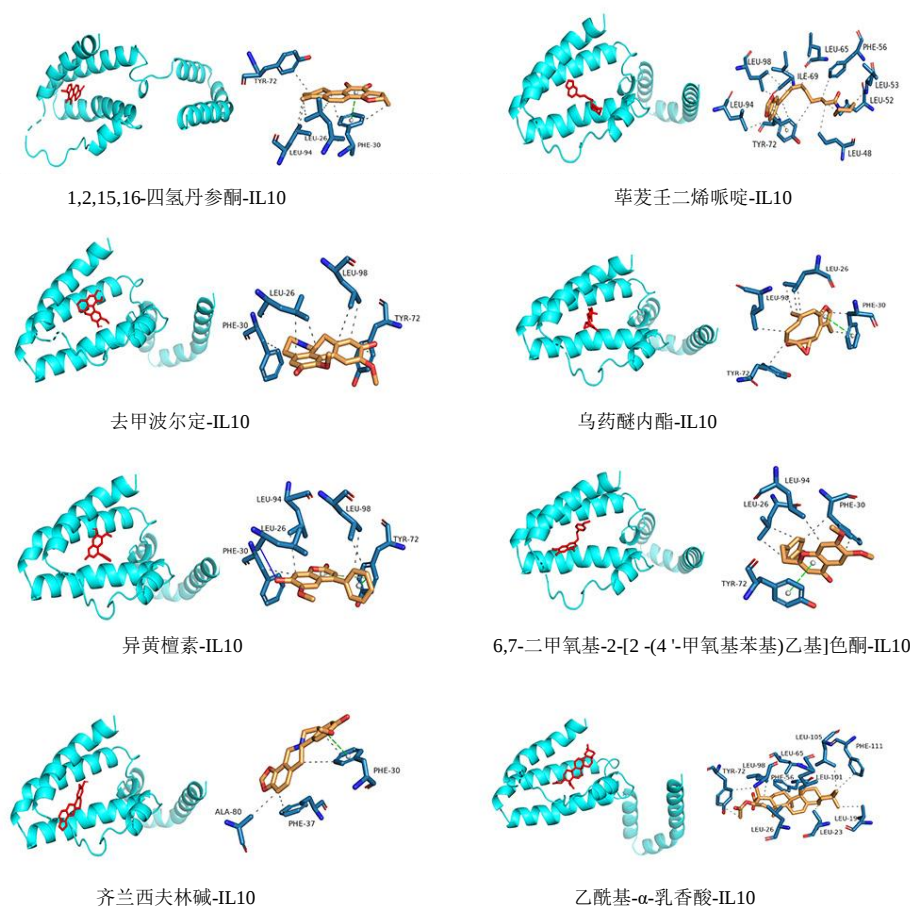


图7 苏合香丸核心化合物与核心靶点IL10的分子对接模型及位点

Fig. 7 Docking model and site of IL10 and key compounds of Suhexiang Pill in treatment of ischemic stroke

合理、配伍精当,自宋朝后便成为“芳香温通”的代表药。本研究通过网络药理学方法挖掘苏合香丸治疗缺血性卒中的有效成分和作用机制。

通过TCMSP数据库和TCMID数据库筛选获得苏合香丸66个活性化合物和202个抗缺血性卒中的药物靶点,基于化合物-靶点网络拓扑特性分析筛选出9个核心化合物(1,2,15,16-四氢丹参酮、葶

苈壬二烯哌啶、去甲波尔定、乌药醚内酯、异黄檀素、6,7-二甲氧基-2-[2-(4'-甲氧基苯基)乙基]色酮、齐兰西夫林碱、乙酰基- α -乳香酸及3 β -乙酰氧基苍术酮)和11个核心作用靶点(VEGFR、STAT3、MPO、MAPK8、MAPK3、IL10、GPT、ESR1、CXCL8、CASP8以及CASP3),通过与PPI网络筛选得到的前20个重要靶点取交集获得4个关键的核心作用

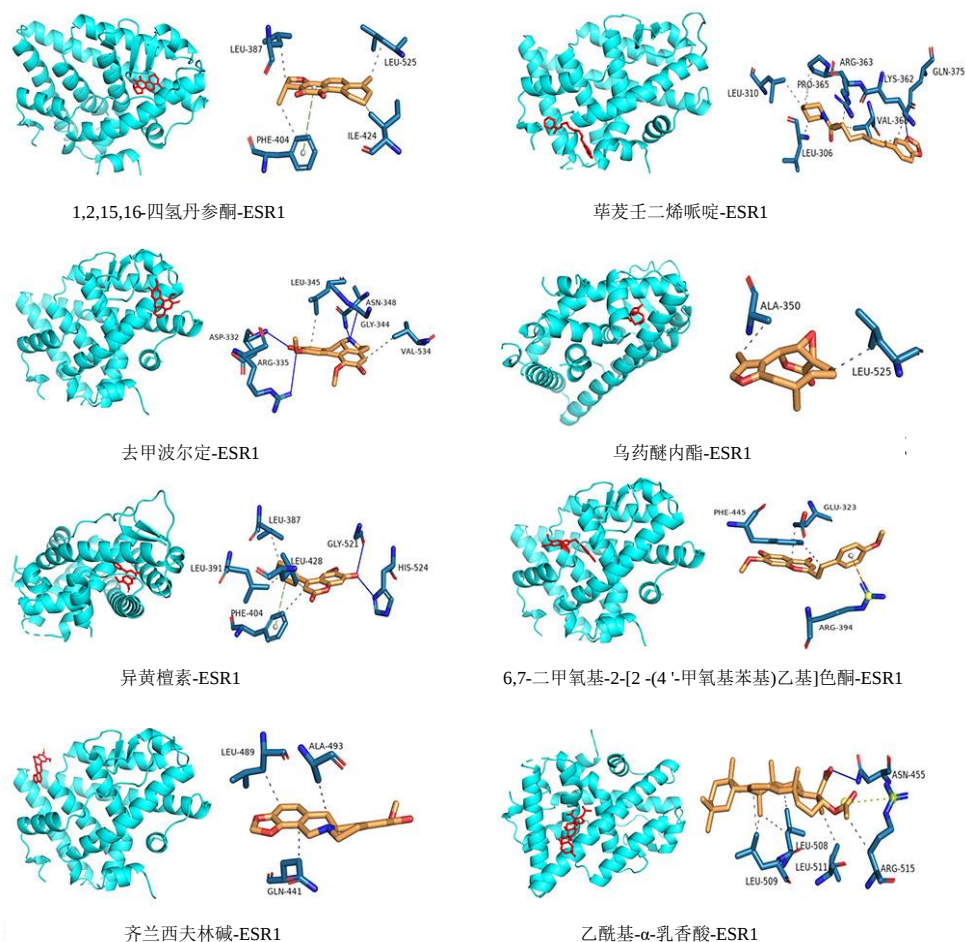


图8 苏合香丸核心化合物与核心靶点 ESR1 的分子对接模型及位点

Fig. 8 Docking model and site of ESR1 and key compounds of Suhexiang Pill in treatment of ischemic stroke

靶点: IL10、ESR1、CXCL8 以及 CASP3。分子对接结果显示,除 3 β -乙酰氧基苍术酮外,苏合香丸中的 8 个核心化合物均能与 4 个关键核心靶点产生较好的结合,其中 6,7-二甲氧基-2-[2-(4'-甲氧基苯基)乙基]色酮、齐兰西夫林碱、乙酰基- α -乳香酸等 3 个化合物与 4 个关键核心靶点均能产生强烈结合。

缺血性卒中导致的脑损伤机制复杂,由促炎细胞因子、趋化因子以及其他炎症介质诱导的非特异性炎症在缺血性脑损伤中发挥重要作用。白细胞介素-10(IL-10)作为一种重要的抗炎 T 细胞因子在脑缺血损伤中具有神经保护、神经营养作用^[21],能通过下调白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、P 选择素或其他促炎因子的表达以及抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 的下调,减少脑缺血损伤时神经细胞凋亡^[22-23]。ER α 作为雌激素核受体之一,在多种脑细胞中如神经元、星形胶质细胞、小胶质细胞和内皮细胞中均有表达^[24],研究显示雌激素抵抗血管内皮细胞凋亡以及促进血管生成主要通过雌激素受体 α (ER α)介导^[25-27],Vegeto 等^[28]研究亦显示

雌激素可通过 ER α 介导抑制小胶质细胞的激活,诱导抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达。趋化因子 CXCL8 又称白细胞介素-8(IL-8),作为典型的 CXC 亚家族炎症趋化因子,出现于炎症早期,能够促进单核细胞以及内皮细胞黏附,促进动脉粥样硬化的发展^[29]。有研究表明其在脑缺血再灌注损伤过程中趋化中性粒细胞,介导并加重局部炎症反应^[30]。Caspase-3 作为细胞凋亡的终末剪切酶,在各种凋亡程序中起最后枢纽作用,是凋亡进入不可逆阶段的标志^[31-32]。研究显示 Caspase-3 在脑梗死后表达水平升高,参与脑缺血后神经元凋亡进程,在脑缺血再灌注损伤病理过程中起重要作用^[33-34]。以上表明 IL10、ESR1、CXCL8 以及 CASP3 等 4 个关键核心靶点均在脑缺血导致的血管损伤、神经细胞凋亡等病理过程中起重要作用,而苏合香丸可能通过直接作用于以上 4 个关键核心靶点抑制脑缺血缺氧时的炎症浸润,减少神经细胞凋亡,促进受损血管内皮细胞修复等发挥抗缺血性卒中的作用。

KEGG 信号通路富集分析显示苏合香丸的重要

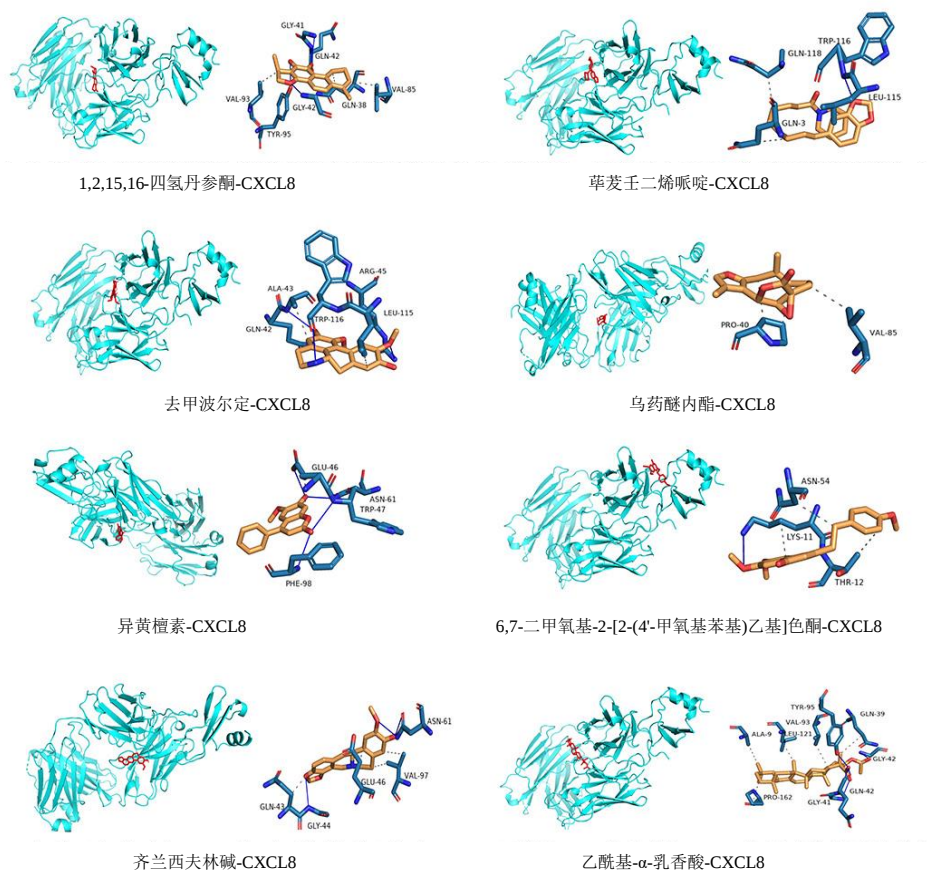


图9 苏合香丸核心化合物与核心靶点CXCL8的分子对接模型及位点

Fig. 9 Docking model and site of CXCL8 and key compounds of Suhexiang Pill in treatment of ischemic stroke

靶点主要富集于TNF信号通路、Toll样受体信号通路、HIF-1信号通路、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、FoxO信号通路以及神经营养因子信号通路等,主要发挥调节机体炎症反应、NO生成、平滑肌细胞增殖、细胞凋亡等生物功能。脑缺血发作数小时内,缺血半暗带区域主要以神经元凋亡为主,神经元凋亡直接影响到脑梗死面积以及脑部神经功能恢复,PI3K-Akt信号通路和MAPK信号通路作为体内重要的细胞增殖信号通路,主要参与调控细胞增殖、存活和凋亡等多种生物进程^[34-35],在脑缺血损伤中发挥重要作用。此外FoxO信号通路也是调控细胞周期、分化、代谢和凋亡等生命过程的重要信号通路,FoxO主要包含FoxO1、FoxO3a、FoxO4和FoxO6家族成员^[36],其中FoxO1主要参与调控氧化应激时的细胞凋亡^[37],而FoxO3a的过度表达或被激活时会促进神经元凋亡,此外FoxO4能通过增加细胞氧化应激耐受力,促进细胞的存活^[38]。TNF信号通路、Toll样受体信号通路均为介导机体炎症反应的重要信号通路^[39-40]。Chen等^[41]研究显示TNF- α 可以通过激活胶质细胞并介导内皮细胞中黏附分

子的表达,促进中性粒细胞的浸润,从而影响血脑屏障通透性。Toll样受体(TLR)是一类介导免疫反应的跨膜信号转导受体家族,TLR4作为TLR家族中行使神经免疫功能的重要受体,主要表达于脑组织的小胶质细胞,小胶质细胞作为神经细胞的主要免疫细胞在脑损伤后被迅速激活表达TLR4,继而激活其下游NF- κ B信号通路,释放TNF- α 、IL-1 α 等炎症介质,加剧炎症反应和脑损伤^[42]。Chen等^[43]研究表明通过下调TLR4能够降低脑缺血后小胶质细胞/巨噬细胞激活引起的炎症反应。HIF是低氧反应的关键调节因子,在HIF-1通路中发挥重要作用^[44],HIF-1 α 作为HIF-1的亚调节单位,在组织缺氧缺血时表达水平显著升高,可通过增加低氧组织供氧能力或低氧细胞的低氧耐受性维持细胞内环境的稳定。此外HIF-1 α 还能与HIF-1 β 聚合成HIF-1,介导VEGF的转录激活,促进血管内皮细胞增殖,提高血管通透性,促进受损脑组织的血管生成^[45],然而HIF-1 α 对脑缺血后的神经损伤具有双刃剑作用,可参与介导神经细胞凋亡,加重脑缺血后的神经损伤^[46]。脑源性神经营养因子(BDNF)是神经营养因

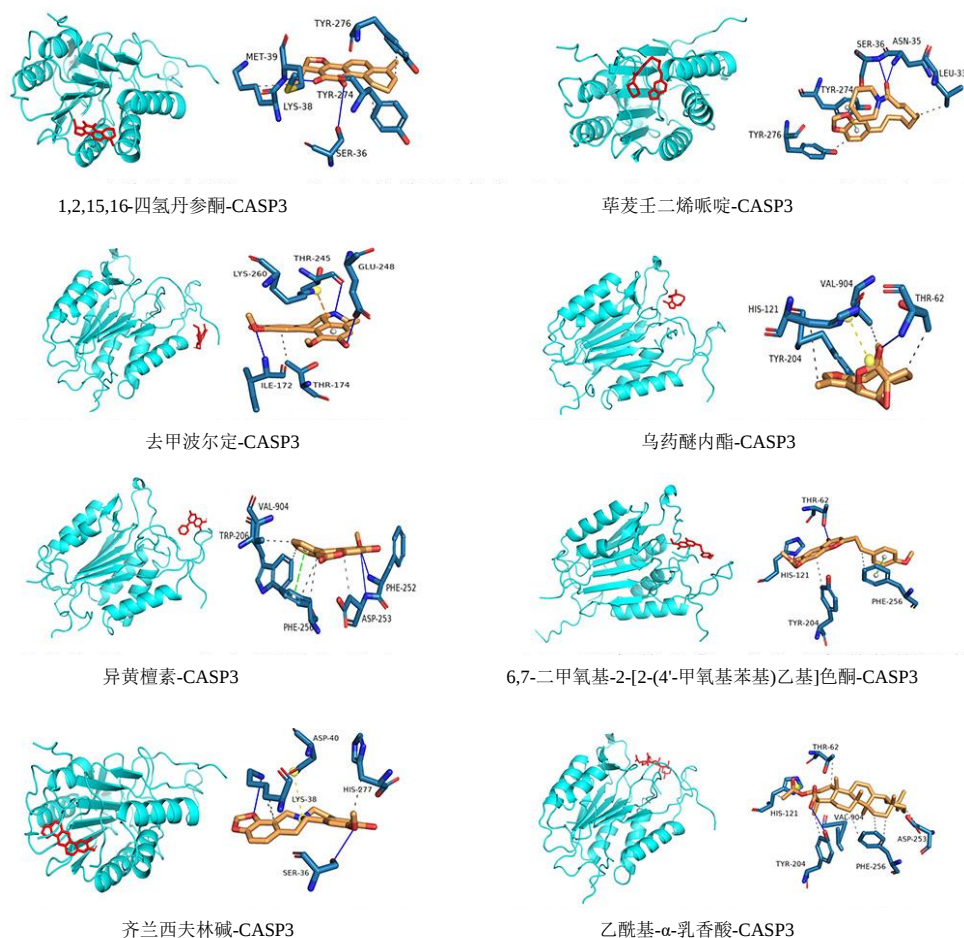


图10 苏合香丸核心化合物与核心靶点 CASP3 的分子对接模型及位点

Fig. 10 Docking model and site of CASP8 and key compounds of Suhexiang Pill in treatment of ischemic stroke

子信号通路中关键的靶点,是一种广泛表达于神经系统的神经营养蛋白,能够促进神经元的发育和分化、细胞存活以及突触可塑性^[47],此外还能通过抗氧化、抗凋亡以及抑制自噬等发挥神经保护作用^[48],目前研究表明BDNF与多种神经退行性疾病相关,可通过多种途径保护受损的脑组织,促进脑缺血后脑细胞的修复,减少脑梗死后缺血半暗带的扩散,同时降低脑卒中后抑郁的发生率^[49]。因此苏合香丸可能通过以上信号通路抑制脑缺血时组织炎症、抵抗神经细胞凋亡、促进神经细胞修复、促进血管内皮细胞新生等发挥抗缺血性卒中的作用。

本研究通过网络药理学方法^[50]和分子对接技术,筛选出苏合香丸治疗缺血性卒中的活性成分、关键作用靶点以及潜在作用机制,苏合香丸可通过多组分、多靶点、多通路抑制脑缺血后的脑组织炎症,调节神经细胞增殖、凋亡,促进脑缺血损伤后的血管新生,从而发挥治疗缺血性卒中的作用,其中IL10、ESR1、CXCL8以及CASP3等靶点可能为苏合香丸发挥作用的关键靶点,而TNF信号通路、Toll样

受体信号通路、HIF-1信号通路、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、FoxO信号通路以及神经营养因子信号通路等可能是苏合香丸发挥抗炎、抗凋亡、促进血管生成的关键信号通路。本研究为苏合香丸用于治疗缺血性卒中提供药效物质基础和作用机制参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] GBD Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. Lancet, 2017, 390 (10100): 1151-1210.
- [2] Wu S M, Wu B, Liu M, et al. Stroke in China: Advances and challenges in epidemiology, prevention, and management [J]. Lancet Neurol, 2019, 18(4): 394-405.
- [3] 王陇德,刘建民,杨弋,等.我国脑卒中防治仍面临巨大挑战:《中国脑卒中防治报告2018》概要[J].中国循环杂志,2019,34(2): 105-119.

- Wang L D, Liu J M, Yang Y, et al. The prevention and treatment of stroke still face huge challenges—brief report on stroke prevention and treatment in China, 2018 [J]. *Chin Circ J*, 2019, 34(2): 105-119.
- [4] 贾建平, 陈生弟. 神经病学 [M]. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 175-186.
- Jia J P, Chen S D. *Neurology* [M]. 7th edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2013: 175-186.
- [5] Leslie-Mazwi T, Chandra R V, Fraser J F, et al. AHA/ASA 2018 AIS guidelines: Impact and opportunity for endovascular stroke care [J]. *J Neurointerv Surg*, 2018, 10(9): 813-817.
- [6] 国家卫生健康委脑卒中防治工程委员会. 中国缺血性中风中成药合理使用指导规范 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2017: 7.
- Stroke Prevention and Control Engineering Committee of National Health Commission. *Guidelines for rational use of Chinese patent medicines for ischemic stroke in China* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2017: 7.
- [7] 邓树荣, 王贤明, 李洪韬, 等. 中西医结合治疗对急性缺血性脑卒中的临床综合干预效果评价 [J]. 海南医学院学报, 2013, 19(4): 470-473, 477.
- Deng S R, Wang X M, Li H T, et al. Effect of combine traditional Chinese and western medicine treatment on acute ischemic stroke [J]. *J Hainan Med Univ*, 2013, 19(4): 470-473, 477.
- [8] 中国中西医结合学会急救医学专业委员会. 中国急性缺血性脑卒中中西医结合急诊诊治专家共识 [J]. 中华危重病急救医学, 2018, 30(3): 193-197.
- Emergency Medicine Professional Committee of Chinese Society of Integrated Traditional and Western Medicine. Expert consensus of Chinese and Western medicine emergency treatment for acute ischemic stroke in China [J]. *Chin Crit Care Med*, 2018, 30(3): 193-197.
- [9] 吴远华, 张艺凡. 急性脑梗死早期中西医结合诊疗方案贵州专家共识 [J]. 贵州中医药大学学报, 2021, 43(1): 98-102.
- Wu Y H, Zhang Y F. Guizhou expert consensus on the diagnosis and treatment scheme of integrated traditional Chinese and Western medicine in the early stage of acute cerebral infarction [J]. *J Guizhou Univ Tradit Chin Med*, 2021, 43(1): 98-102.
- [10] 陈锐. 苏合香丸临床应用解析 [J]. 中国社区医师, 2011, 27(11): 16.
- Chen R. Analysis of clinical application of Suhexiang Pills [J]. *Chin Community Dr*, 2011, 27(11): 16.
- [11] 冷伟. 苏合香丸治疗急性中风108例 [J]. 中国药物经济学, 2012, 7(4): 132-133.
- Leng W. Suhexiang Pills in treating 108 cases of acute apoplexy [J]. *China J Pharm Econ*, 2012, 7(4): 132-133.
- [12] 王璇, 马重阳, 张雅文, 等. 基于网络药理学的侯氏黑散抗缺血性脑卒中机制研究 [J]. 首都医科大学学报, 2021, 42(1): 43-52.
- Wang X, Ma C Y, Zhang Y W, et al. A network pharmacology approach to uncover the molecular mechanisms of Houshiheisan for treatment of ischemic stroke [J]. *J Cap Med Univ*, 2021, 42(1): 43-52.
- [13] 陈海, 李红燕, 王建, 等. 基于网络药理学分析牛黄治疗缺血性脑卒中的作用机制 [J]. 医药导报, 2021, 40(6): 768-772.
- Chen H, Li H Y, Wang J, et al. Mechanism of *Calculus bovis* in the treatment of ischemic stroke based on network pharmacology [J]. *Her Med*, 2021, 40(6): 768-772.
- [14] 浦强, 徐巍龙, 李楠, 等. 基于网络药理学芪葵颗粒治疗糖尿病肾病的物质基础及作用机制研究 [J]. 中草药, 2019, 50(23): 5767-5777.
- Pu Q, Xu W L, Li N, et al. Network pharmacology-based study on material basis and mechanism of Qikui Granules against diabetic nephropathy [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2019, 50(23): 5767-5777.
- [15] Szklarczyk D, Morris J H, Cook H, et al. The STRING database in 2017: Quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1): D362-D368.
- [16] 刘思莹, 凌爽, 李雪莹, 等. 基于网络药理学探讨丹参-葛根药对治疗糖尿病心肌损伤的分子机制 [J]. 中医药学报, 2021, 49(2): 42-47.
- Liu S Y, Ling S, Li X Y, et al. Molecular mechanism of herbal pair Danshen-Gegen in treating diabetic myocardial injury based on network pharmacology [J]. *Acta Chin Med Pharmacol*, 2021, 49(2): 42-47.
- [17] 朱颖, 李丹丹, 吉洁, 等. 二仙汤治疗高血压的网络药理学研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(3): 377-383.
- Zhu Y, Li D D, Ji J, et al. Study of Erxian decoction in the treatment of hypertension based on network pharmacology [J]. *Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis*, 2021, 19(3): 377-383.
- [18] Trott O, Olson A J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. *J Comput Chem*, 2010, 31(2): 455-461.
- [19] Hsin K Y, Ghosh S, Kitano H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): 1-11.

- e83922.
- [20] 李 冀. 方剂学 [M]. 第2版. 北京: 中国中医药出版社, 2016.
Li J. *Formulaology* [M]. 2nd edition. Beijing: Chinese Chinese medicine Publishing house, 2016.
 - [21] 姬 果, 尹 岚, 刘威威, 等. 白细胞介素10对血管内皮细胞E选择素和血凝素样低密度脂蛋白受体1表达的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(4): 291-295.
Ji G, Yin L, Liu W W, et al. The effect of interleukin-10 on expression of E-selectin and lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 in human vascular endothelial cells [J]. *Chin J Arterioscler*, 2011, 19(4): 291-295.
 - [22] Wang H B, Guo W T, Liu H L, et al. Inhibition of inflammatory mediator release from microglia can treat ischemic/hypoxic brain injury [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(13): 1157-1168.
 - [23] Tu Q Y, Cao H, Zhong W, et al. Atorvastatin protects against cerebral ischemia/reperfusion injury through anti-inflammatory and antioxidant effects [J]. *Neural Regen Res*, 2014, 9(3): 268-275.
 - [24] Elzer J G, Muhammad S, Wintermantel T M, et al. Neuronal estrogen receptor- α mediates neuroprotection by 17 β -estradiol [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2010, 30(5): 935-942.
 - [25] 曾天保, 徐仙赞, 刘海金, 等. 雌激素受体调控血管生成的研究进展 [J]. 赣南医学院学报, 2021, 41(4): 399-403.
Zeng T B, Xu X Y, Liu H J, et al. Research progress on estrogen receptors in regulating angiogenesis [J]. *J Gannan Med Univ*, 2021, 41(4): 399-403.
 - [26] Li S, Dang Y Y, Zhou X L, et al. Formononetin promotes angiogenesis through the estrogen receptor α -enhanced ROCK pathway [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 16815.
 - [27] Jia Z Q, Babu P V A, Si H W, et al. Genistein inhibits TNF- α -induced endothelial inflammation through the protein kinase pathway A and improves vascular inflammation in C57BL/6 mice [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(3): 2637-2645.
 - [28] Vegeto E, Belcredito S, Etteri S, et al. Estrogen receptor- α mediates the brain antiinflammatory activity of estradiol [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(16): 9614-9619.
 - [29] 吴彩凤, 殷惠军. 白细胞介素8在冠心病中的研究进展 [J]. 医学综述, 2013, 19(24): 4417-4420.
Wu C F, Yin H J. The research advances of interleukin-8 in the coronary heart diseases [J]. *Med Recapitul*, 2013, 19(24): 4417-4420.
 - [30] Zeng L L, Wang Y T, Liu J R, et al. Pro-inflammatory cytokine network in peripheral inflammation response to cerebral ischemia [J]. *Neurosci Lett*, 2013, 548: 4-9.
 - [31] 刘王波, 彭 禹, 马 瑞, 等. 地黄饮子汤对rt-PA溶栓后急性脑梗死大鼠神经细胞凋亡及Bcl-2、Caspase-3表达的影响 [J]. 中国中医急症, 2019, 28(8): 1366-1369.
Liu W B, Peng Y, Ma R, et al. Effect of Dihuang Yinzi decoction on neuronal cell apoptosis and expression of bcl-2 and caspase-3 in rats with acute cerebral infarction after rt-PA thrombolysis [J]. *J Emerg Tradit Chin Med*, 2019, 28(8): 1366-1369.
 - [32] Broughton B R S, Reutens D C, Sobey C G. Apoptotic mechanisms after cerebral ischemia [J]. *Stroke*, 2009, 40(5): e331-e339.
 - [33] 徐文武, 汪 昆. Klotho、Caspase-3、Bcl-2表达水平评估急性脑梗死疾病发展程度的诊断价值 [J]. 国际检验医学杂志, 2021(16): 2030-2032, 2048.
Xu W W, Wang K. Diagnostic value of Klotho, Caspase-3 and Bcl-2 expression levels in evaluating the development of acute cerebral infarction [J]. *Int J Lab Med*, 2021(16): 2030-2032, 2048.
 - [34] 杜 帅, 刘 佳, 刘 婷, 等. 基于PI3K/AKT/NF- κ B信号通路探讨益母草碱对缺血性脑卒中大鼠脑组织病理变化的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(10): 853-861.
Du S, Liu J, Liu T, et al. Effect of leonurine on pathological changes of cerebral tissue in ischemic stroke rats based on PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway [J]. *Chin J Arterioscler*, 2019, 27(10): 853-861.
 - [35] Ming Y C, Chao H C, Chu S M, et al. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor (HB-EGF) protected intestinal ischemia-reperfusion injury through JNK and p38/MAPK-dependent pathway for anti-apoptosis [J]. *Pediatr Neonatol*, 2019, 60(3): 332-336.
 - [36] Martins R, Lithgow G J, Link W. Long live FOXO: Unraveling the role of FOXO proteins in aging and longevity [J]. *Aging Cell*, 2016, 15(2): 196-207.
 - [37] 刘克娜, 王 钦, 孔彩华, 等. FoxO1参与氧化应激的信号通路研究进展 [J]. 现代预防医学, 2020, 47(19): 3572-3574, 3588.
Liu K N, Wang Q, Kong C H, et al. Advances on involvement of FoxO1 in oxidative stress signaling pathways [J]. *Mod Prev Med*, 2020, 47(19): 3572-3574, 3588.
 - [38] 陈 罕. SIRT1信号通路通过氧化应激参与大鼠慢性脑缺血致认知损伤的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2013.
Chen H. Study of SIRT1 signaling pathway and its regulation on oxidative stress in cognitive impairment induced by chronic cerebral ischemia in rats [D]. Changchun: Jilin University, 2013.
 - [39] 吴紫千, 钱施艳, 宋城成, 等. 基于网络药理学探讨小续命汤治疗缺血性脑卒中的有效机制 [J]. 中药药理与临

- 床, 2021, 37(1): 49-58.
- Wu Z Q, Qian S Y, Song C C, et al. Effective mechanism of xiaoxuming decoction in the treatment of ischemic stroke based on network pharmacology [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2021, 37(1): 49-58.
- [40] 王嘉雯, 李永祥, 江青艳, 等. Toll样受体及其激动剂的研究进展 [J]. 生理科学进展, 2018, 49(4): 289-292.
- Wang J W, Li Y X, Jiang Q Y, et al. Research progress in toll-like receptors and their agonists [J]. Prog Physiol Sci, 2018, 49(4): 289-292.
- [41] Chen A Q, Fang Z, Chen X L, et al. Microglia-derived TNF- α mediates endothelial necroptosis aggravating blood brain-barrier disruption after ischemic stroke [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(7): 487.
- [42] 唐冰雪, 张源文, 吴雅晨, 等. 淫羊藿苷对脑缺血再灌注大鼠的神经保护及小胶质细胞 TLR4/NF- κ B 通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(22): 47-52.
- Tang B X, Zhang Y W, Wu Y C, et al. Effect of icariin on neuroprotection of cerebral ischemia-reperfusion rats and TLR4/NF- κ B pathway in microglia [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2020, 26(22): 47-52.
- [43] Chen J, Wang Z G, Zheng Z M, et al. Neuron and microglia/macrophage-derived FGF10 activate neuronal FGFR2/PI3K/Akt signaling and inhibit microglia/macrophages TLR4/NF- κ B-dependent neuroinflammation to improve functional recovery after spinal cord injury [J]. Cell Death Dis, 2017, 8(10): e3090.
- [44] Cohen M, Amir S, Golan M, et al. B-TrCP upregulates HIF-1 in prostate cancer cells [J]. Prostate, 2019, 79(4): 403-413.
- [45] 韩艳茹, 贾奎, 赵福成. 清脑益元汤调控 HIF-1 α 、VEGF 和 PDGF 表达在大鼠脑缺血损伤中的保护机制研究 [J]. 实验与检验医学, 2019, 37(2): 175-177, 185.
- Han Y R, Jia K, Zhao F C. Protective mechanism of Qing Nao Yi Yuan Decoction on cerebral ischemia injury in rats by regulating the expression of HIF-1, VEGF and PDGF [J]. Exp Lab Med, 2019, 37(2): 175-177, 185.
- [46] 郭异之, 蒋宇钢, 刘军. 血清 HIF-1 α 、IL-6 对重型颅脑损伤患者近期预后的预测价值 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 2019, 45(6): 365-369.
- Guo Y Z, Jiang Y G, Liu J. Predictive value of serum HIF-1 α and IL-6 on short-time prognosis of patients with severe traumatic brain injury [J]. Chin J Nerv Ment Dis, 2019, 45(6): 365-369.
- [47] Eyileten C, Kaplon-Cieslicka A, Mirowska-Guzel D, et al. Antidiabetic effect of brain-derived neurotrophic factor and its association with inflammation in type 2 diabetes mellitus [J]. J Diabetes Res, 2017, 2017: 2823671.
- [48] Chen S D, Wu C L, Hwang W C, et al. More insight into BDNF against neurodegeneration: Anti-apoptosis, anti-oxidation, and suppression of autophagy [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(3): E545.
- [49] 王奎, 任建功. 脑源性神经营养因子治疗脑梗死的研究进展 [J]. 医学综述, 2020, 26(11): 2151-2155.
- Wang K, Ren J G. Research progress of brain-derived neurotrophic factor in treatment of cerebral infarction [J]. Med Recapitul, 2020, 26(11): 2151-2155.
- [50] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. «网络药理学评价方法指南» 解读 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
- Niu M, Zhang S Q, Zhang B, et al. Interpretation of Network Pharmacology Evaluation Method Guidance [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(14): 4119-4129.

[责任编辑 刘东博]