

【实验研究】

## 基于网络药理学和分子对接的栀子对缺血性脑卒中和出血性脑卒中共性干预机制探讨

李传朋<sup>1,2</sup>, 董兴鲁<sup>1,2</sup>, 贾秋阳<sup>1,2</sup>, 蒋萍<sup>1,2</sup>, 李明轩<sup>1,2</sup>, 秦明臻<sup>1,2</sup>, 高颖<sup>1,2\*</sup>

1. 北京中医药大学东直门医院 脑病科, 北京 100700
2. 北京中医药大学中医脑病研究院, 北京 100700

**摘要:** **目的** 运用网络药理学和分子对接技术挖掘栀子对缺血性脑卒中和出血性脑卒中的共同干预机制, 明确解毒中药治疗缺血性脑卒中和出血性脑卒中的共性靶点与关键通路。**方法** 通过检索中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP)、中医百科全书 (ETCM)、中药分子机制的生物信息学分析工具 (BATMAN-TCM) 以及中医药综合数据库 (TCMID) 收集栀子的活性成分, 运用 TCMSP、STITCH、Swiss 数据库进行靶点预测, 从在线人类孟德尔遗传数据库 (OMIM)、GeneCard 数据库、DisGeNET 数据库、TTD 疾病数据库搜集缺血性脑卒中和出血性脑卒中的疾病靶点, 将二者取交集得到的靶标导入 STRING 平台进行蛋白质相互作用 (PPI) 网络分析, 运用 Cytoscape 软件进行网络拓扑分析, 同时运用 DAVID 软件对交集靶标进行基因本体论 (GO) 富集分析和京都基因组百科全书 (KEGG) 通路分析, 最后利用分子对接技术验证栀子有效成分与核心靶点的结合作用。**结果** 从栀子中共筛选出 68 个活性成分, 包括山柰酚、芹菜素、槲皮素、熊果酸、京尼平苷、栀子苷等, 栀子活性化合物与缺血性脑卒中和出血性脑卒中相关的治疗靶点有 205 个, 主要包括 IL6、AKT1、INS、IL1B、VEGFA、TP53、MAPK3、CASP3、JUN、EGFR、MMP9 等。分子对接显示栀子的有效成分芹菜素、槲皮素、山柰酚、熊果酸等与 IL6、AKT1、IL1B、TP53、MAPK3、CASP3、MMP9 具有良好的结合能力。栀子主要通过调节肿瘤坏死因子 (TNF)、低氧诱导因子-1 (HIF-1)、(叉头框蛋白) FoxO、磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 (PI3K-Akt) 等信号通路发挥缺血性脑卒中和出血性脑卒中共性干预的作用。**结论** 栀子对缺血性脑卒中和出血性脑卒中的共性干预主要通过抑制免疫炎症反应、调控细胞凋亡等过程发挥治疗作用。

**关键词:** 栀子; 网络药理学; 缺血性脑卒中; 出血性脑卒中; 共性机制; 清热解毒

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2022) 10-1950-09

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.10.004

## Discussion on common intervention mechanism of *Gardeniae Fructus* on ischemic stroke and hemorrhagic stroke based on network pharmacology and molecular docking

LI Chuanpeng<sup>1,2</sup>, DONG Xinglu<sup>1,2</sup>, JIA Qiuyang<sup>1,2</sup>, JIANG Ping<sup>1,2</sup>, LI Mingxuan<sup>1,2</sup>, QIN Mingzhen<sup>1,2</sup>, GAO Ying<sup>1,2</sup>

1. Department of Encephalopathy, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China
2. Institute for Brain Disorders, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China

**Abstract: Objective** To explore the common intervention mechanism of *Gardeniae Fructus* on ischemic stroke and hemorrhagic stroke by using network pharmacology and molecular docking technology, and to explore the common targets and key pathways of detoxifying Chinese medicine in treating ischemic stroke and hemorrhagic stroke. **Methods** The active components of *Gardeniae Fructus* were collected by searching the databases TCMSP, ETCM, BATMAN-TCM, and TCMID. The Online Mendelian

收稿日期: 2022-03-09

基金项目: 北京中医药大学中央高校基本科研业务费项目(2019-JYB-JS-034); 北京中医药大学脑血管病防治办公室建设项目(YW083); 国家卫生健康委员会 2019 年重大疑难疾病中西医临床协作能力建设项目-脑梗死(YW082)

第一作者: 李传朋(1996—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中医药防治脑病的临床与基础研究。E-mail: lichuanpeng2019@163.com

\*通信作者: 高颖(1963—), 女, 医学博士, 主任医师, 研究方向为中医药防治脑病的临床与基础研究。E-mail: gaoying973@163.com

inheritance in man (OMIM) database, GeneCard database, DisGeNET database and TTD database were used to collect the disease targets of ischemic stroke and hemorrhagic stroke. The targets obtained from the intersection of the *Gardeniae Fructus* and the diseases were imported into STRING platform for protein-protein interaction (PPI) network analysis. Cytoscape software was used for network topology analysis, and David software was used for Gene Ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto encyclopedia of genomes (KEGG) pathway analysis of intersection targets. Finally, molecular docking technology was used to verify the binding effect of effective components of *Gardeniae Fructus* with core targets. **Results** A total of 68 active components were screened from *Gardeniae Fructus* including kaempferol, apigenin, quercetin, ursolic acid, genipin and so on. There were 205 therapeutic targets of the active compounds of *Gardeniae Fructus* related to ischemic stroke and hemorrhagic stroke including IL6, AKT1, INS, IL1B, VEGFA, TP53, MAPK3, CASP3, JUN, EGFR and so on. Molecular docking showed that the effective components of *Gardeniae Fructus*, such as apigenin, quercetin, kaempferol and ursolic acid, had good binding ability with IL6, AKT1, IL1B, TP53, MAPK3, CASP3 and MMP9. *Gardeniae Fructus* mainly played the role of common intervention on ischemic stroke and hemorrhagic stroke by regulating TNF signal pathway, HIF-1 signal pathway, FoxO signal pathway, PI3K-Akt signal pathway and so on. **Conclusion** The common mechanisms of *Gardeniae Fructus* on ischemic stroke and hemorrhagic stroke mainly involve in inhibiting immune inflammatory response and regulating cell apoptosis.

**Key words:** *Gardeniae Fructus*; network pharmacology; ischemic stroke; hemorrhagic stroke; common mechanism; clearing away heat and toxic material

脑卒中是世界范围内的主要致死性和致残性疾病。2019年我国脑卒中患者高达1300万,脑血管病死率为14.949/万,其死亡人数约157万,占中国总死亡人数的22.33%<sup>[1-2]</sup>,给我国带来了沉重的经济和社会负担。脑卒中分为缺血性脑卒中和出血性脑卒中,其中缺血性脑卒中约占70%,出血性脑卒中约占30%<sup>[3]</sup>。其临床表现相似,其病理改变存在着一定的共性。发病之初,缺血性脑卒中导致颅内血流量下降,形成梗死区、半暗带区以及周围水肿区,出现脑组织缺血缺氧、细胞能量代谢障碍、细胞内外离子的失衡及膜电位丧失和神经元的去极化<sup>[4]</sup>;而脑出血后血液的渗出和积聚会形成血肿区、水肿区,出现血肿的占位及机械压迫、红细胞及凝血因子的释放、凝血酶的激活<sup>[5]</sup>。缺血性脑卒中和出血性脑卒中均可通过这些病理过程导致细胞兴奋性毒性、钙超载、氧化应激、炎症反应,这些病理生理过程相互关联,在神经元破坏的正反馈环路中相互触发,从而严重损害神经元、神经胶质和内皮细胞,引起血脑屏障受损及神经元坏死,从而表现出神经功能缺损的症状<sup>[6-8]</sup>。

而从中医角度来看,无论是缺血性脑卒中还是出血性脑卒中,发病后,气血上逆的过程中挟痰挟瘀、壅塞脑络。风火、痰浊、瘀血胶结壅塞于脑络,必致脑络受损,气血渗灌失常,进而营卫运行受阻,壅塞失和,卫气不得宣通致火毒内生<sup>[9]</sup>。即脏腑功能和气血运行失常导致体内的生理或病理产物不能及时排出,蕴积体内过多而产生一系列“毒邪”,包括“痰毒、瘀毒、火毒”。其具有败坏形质、增生异

物的特性,毒可以损伤脑络,终致败坏脑髓,为中风病“痰瘀生毒、毒损脑络、络损髓伤”的病机演变过程<sup>[10]</sup>。“毒邪”在其中占据核心的位置,解毒通络法是治疗缺血性脑卒中和出血性脑卒中可采用的共同治法。

栀子具有清热除烦、泻火利尿、凉血解毒的功效,为清泄三焦热毒的代表药,在治疗脑卒中的醒脑静、清开灵等中药复方中都作为核心药物之一,发挥解毒通络的作用<sup>[11-12]</sup>。因此,有必要对栀子对缺血性脑卒中和出血性脑卒中中进行系统深入研究,阐明其药效机制。而网络药理学可对疾病、药物的分子相互作用网络进行多层次、多角度分析挖掘,以探索出特定药理作用的成分及成分组合,以及特定功能的节点和模块,从而在整体和系统层面为阐述疾病机制、揭示药物作用机制提供依据,在中药多成分、多靶点机制研究中具有一定的优势<sup>[13-14]</sup>。基于此,本研究利用网络药理学方法预测栀子治疗缺血性脑卒中和出血性脑卒中的活性成分和作用靶点,通过京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析及基因本体论(GO)注释分析其作用机制,然后进一步采用分子对接技术对活性成分和关键靶标的相互结合进行验证,为深入阐明栀子的药效物质及作用机制提供理论依据。

## 1 方法

### 1.1 栀子化合物筛选及靶点预测

通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)、中医百科全书(ETCM)、中药分子机制的生物信息学分析工具(BATMAN-TCM)以及中

医药综合数据库(TCMID)检索收集梔子的所有化合物,以口服利用度(OB) $\geq 30\%$ 、类药性(DL) $\geq 0.18$ 为条件筛选活性化合物,同时结合已发表的文献及《中国药典》2020年版补充未筛选到的活性化合物。然后利用TCMSP数据库、STITCH数据库、Swiss数据库预测活性化合物的靶点,汇总整理剔除重复项。

## 1.2 缺血性脑卒中和出血性脑卒中疾病靶点的预测

从在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)、DisGeNET数据库、GeneCard数据库以及Therapeutic Target Database(TTD)疾病数据库中以关键词“ischemic stroke”或“cerebral infarction”搜索缺血性脑卒中相关基因,剔除重复的基因,以关键词“cerebral hemorrhage”“intracerebral hemorrhage”“intracranial hemorrhage”搜索出血性脑卒中相关的基因,去除重复的基因。

## 1.3 交集治疗靶点蛋白质相互作用(PPI)网络的构建

应用工具韦恩图分析得到梔子、缺血性脑卒中和出血性脑卒中的交集靶点,将共有的交集靶点上传到PPI网络分析数据库(String, version 11.0, <https://string-db.org/>),将物种设置为人,以combined score $> 0.4$ 为筛选标准,得到交集靶点的PPI网络。用Cytoscape(version 3.7.1, <http://www.cytoscape.org/>)对交集靶点的PPI网络进行网络拓扑特征分析及网络可视化,根据度(degree)值、接近中心性等参数筛选出核心基因靶点,利用Cytoscape软件中的插件进行模块分析。

## 1.4 GO功能富集和KEGG通路富集分析

为了挖掘梔子对缺血性脑卒中和出血性脑卒中的共性干预机制,将梔子、缺血性脑卒中和出血性脑卒中的交集靶点输入注释、可视化和综合发现数据库(DAVID, version 6.8, <https://david.ncifcrf.gov/>)以获得GO功能富集和KEGG通路富集分析结果,GO功能富集分为细胞组分(CC)、分子功能(MF)和生物过程(BP)。KEGG富集分析得到共有靶点富集的信号通路,分析结果以 $P < 0.05$ 为有统计学意义,利用在线分析工具(OmicShare)平台(<http://www.omicshare.com/tools/>)进行可视化。

## 1.5 分子对接验证

为了进一步验证靶点预测结果的可靠性,将梔子中含量较高的活性成分与其预测的相关核心靶点进行分子对接验证。在PDB蛋白数据库下载核

心靶点的蛋白结构,运用Accelrys Discovery Studio v 4.0软件的LibDock进行分子对接计算,选择LibDockScore分数反映蛋白分子与化合物之间的结合效能。

## 2 结果

### 2.1 梔子对缺血性脑卒中和出血性脑卒中的共同治疗靶点的结果分析

从中药数据库对梔子成分的活性化合物进行挖掘,得到梔子活性化合物共68个,主要包括丁香树脂醇、山柰酚、白杨素、油酸乙酯、芦丁苷、齐墩果酸、芹菜素、西红花酸、D-甘露醇、脱乙酰基异丙二酸、邻苯二甲酸二丁酯、京尼平苷、染料木素、蛇床子素、油酸、槲皮素、丁香醛、丁香酸、熊果酸、 $\beta$ -谷甾醇等,利用化合物靶点预测数据库得到梔子的治疗靶点471个。从疾病数据库对缺血性脑卒中和出血性脑卒中的靶点进行整理,缺血性脑卒中DisGeNET数据库145个,OMIM数据库1870个, GeneCard数据库1381个,TTD数据库20个,合并汇总缺血性脑卒中疾病靶点有2713个;出血性脑卒中OMIM数据库717个,DisGeNET数据库38个, GeneCard数据库1548个,TTD数据库3个,合并汇总得到出血性脑卒中疾病靶点1869个,运用在线分析工具Venny得到缺血性脑卒中疾病靶点与出血性脑卒中疾病靶点的交集靶点基因有1267个,梔子对缺血性脑卒中和出血性脑卒中共同治疗靶点有205个,见图1。

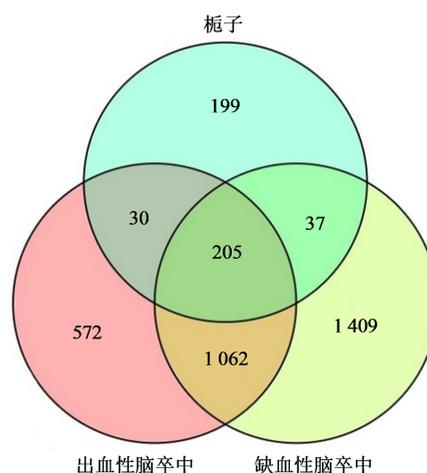


图1 梔子-出血性脑卒中-缺血性脑卒中靶点韦恩图  
Fig. 1 Venn diagram of targets for *Gardeniae Fructus*-hemorrhagic stroke-ischemic stroke

### 2.2 梔子对缺血性脑卒中和出血性脑卒中的交集治疗靶点网络分析

运用String数据库对梔子干预缺血性脑卒中和

出血性脑卒中的共同交集靶点进行PPI分析,得到205个节点,4 961条边,在栀子的交集治疗靶点相互作用网络中,运用Cytoscape分析得到连接度排名前10的靶点是白细胞介素6(IL6)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶1(AKT1)、白细胞介素-1(IL1B)、血管内皮生长因子(VEGFA)、肿瘤抗原P53(TP53)、丝裂原活化蛋白激酶3(MAPK3)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(CASP3)、原癌基因蛋白(JUN)、表皮生长因子受体(EGFR),见图2。

### 2.3 交集治疗基因靶点的GO富集分析

为了挖掘栀子对缺血性脑卒中和出血性脑卒中潜在共性干预机制,运用DAVID数据库对交集治疗靶点进行GO富集和KEGG通路富集,GO富集分析得到栀子干预缺血性脑卒中和出血性脑卒中交集基因BP显著富集在药物响应、老化、缺氧响应、凋亡调控、细胞增殖的正调控、基因表达调节等;CC主要富集在细胞外空间、胞外区、细胞溶质、细胞表面、膜筏、细胞外泌体等部位;MF主要富集在蛋白酶结合、同源蛋白结合、蛋白结合、生长因子激活、受体结合等功能,见图3。

### 2.4 交集治疗基因靶点的KEGG通路分析

KEGG通路分析共得到360条通路,查阅文献

删除“cancer”相关的通路,根据P值筛选出排名前20的通路绘制气泡图。缺血性脑卒中和出血性脑卒中交集靶点包含的重要通路为肿瘤坏死因子(TNF)、低氧诱导因子-1(HIF-1)、(叉头框蛋白)FoxO、磷脂酰肌醇-3激酶/蛋白激酶(PI3K-Akt)催乳素(prolactin)信号通路、凋亡通路等,见图4。

### 2.5 化合物-靶点-通路网络分析

根据KEGG分析得到的富集通路结果,结合文献筛选与缺血性脑卒中和出血性脑卒中密切相关的重要通路,并将通路和栀子化合物及治疗靶点相映射,得到化合物-靶点-通路网络。栀子对缺血性脑卒中和出血性脑卒中的重要治疗靶点IL6、AKT1、INS、IL1B、VEGFA、TP53、MAPK3、CASP3、JUN、EGFR可富集在TNF、HIF-1、FoxO、PI3K-Akt等重要通路中,见图5。

### 2.6 分子对接验证结果

为了更好地阐明栀子有效成分与核心靶标之间的相互作用,运用Discovery Studio v 4.0软件通过MMFF forcefield和LibDock进行对接模拟。成功对接后,为化合物与蛋白分子之间的对接状态计算出LibDockScore, LibDockScore值越高,说明结合亲和力越强。根据PPI网络中连接度排名靠前并结合相关文献报道,将IL6、

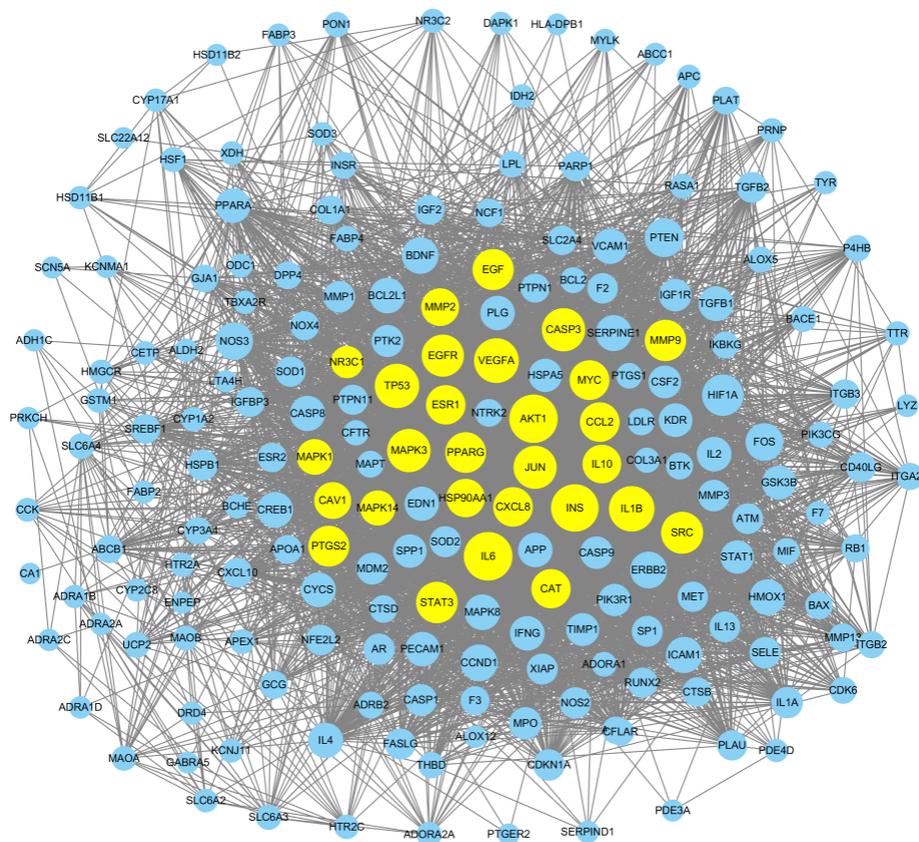


图2 栀子与出血性脑卒中、缺血性脑卒中交集靶点的PPI网络

Fig. 2 PPI network of intersection targets for *Gardeniae Fructus*-hemorrhagic stroke-ischemic stroke

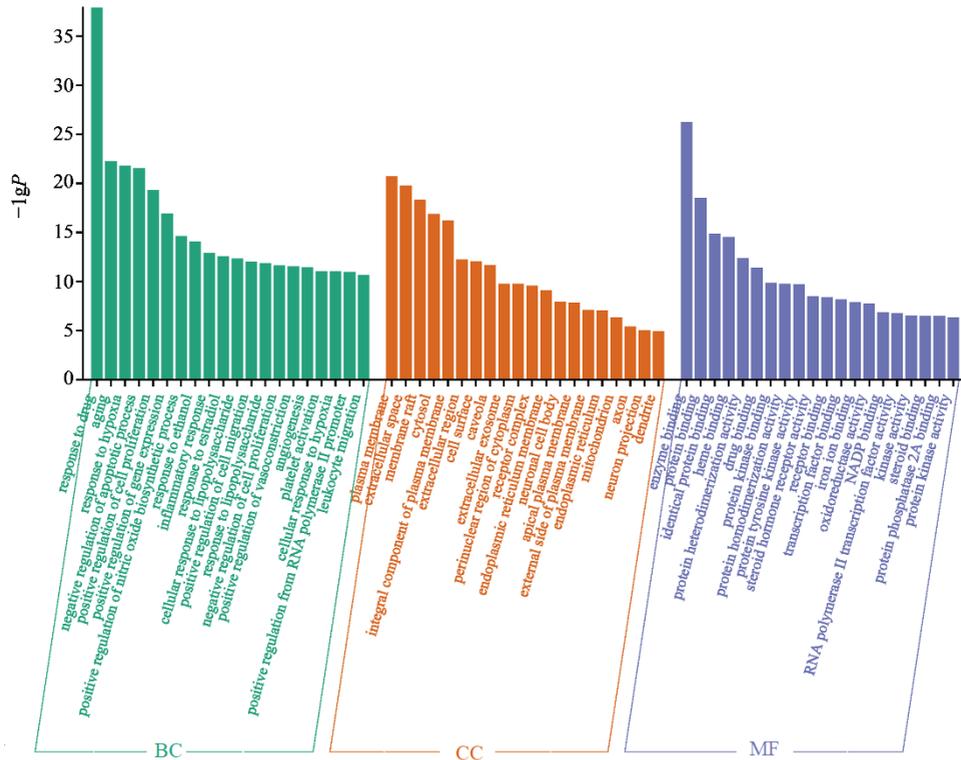


图 3 栀子治疗出血性脑卒中、缺血性脑卒中交集靶点的 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis of intersection targets of *Gardeniae Fructus* for treatment of hemorrhagic stroke and ischemic stroke

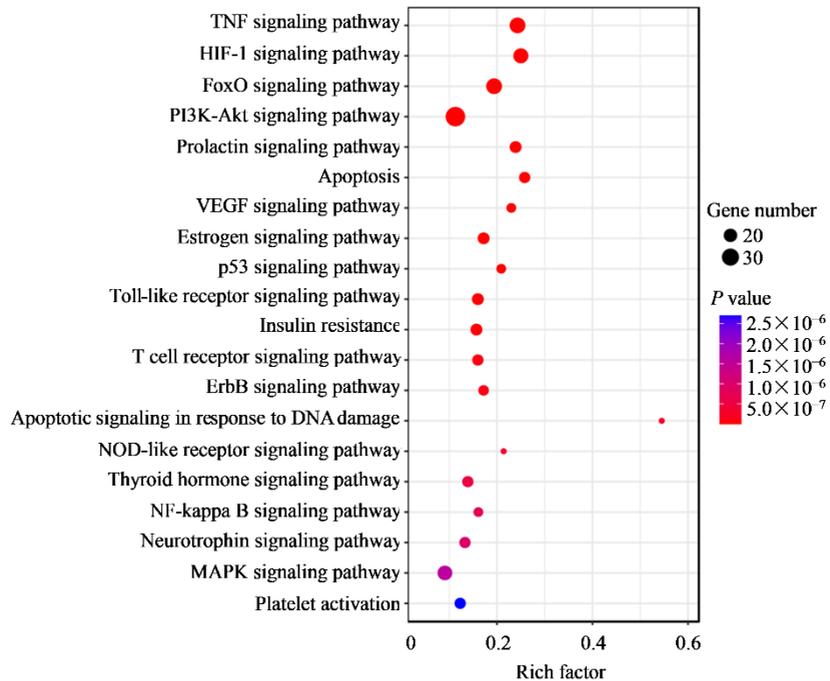


图 4 栀子治疗出血性脑卒中、缺血性脑卒中交集靶点的 KEGG 通路分析

Fig. 4 KEGG pathway analysis of intersection targets of *Gardeniae Fructus* for treatment of hemorrhagic stroke and ischemic stroke

AKT1、IL1B、TP53、MAPK3、CASP3、MMP9 与栀子的有效成分进行分子对接,分子对接结果显示栀子有效成

分芹菜素、槲皮素、山柰酚、染料木素、芸香苷、齐墩果酸、熊果酸分别与预测的核心靶点 IL6、AKT1、IL1B、TP53、

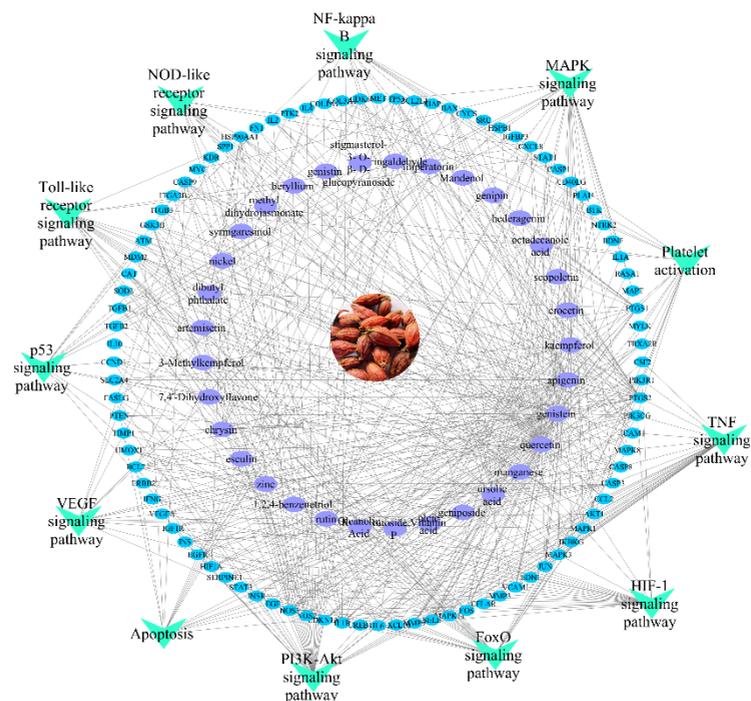


图5 栀子治疗出血性脑卒中、缺血性脑卒中的成分-靶点-通路网络

Fig. 5 Network of components-targets-pathways of *Gardeniae Fructus* for treatment of hemorrhagic stroke and ischemic stroke

MAPK3、CASP3、MMP9 的 LibDockScore 值均超过 80, 显示出较好的结合能力, 具体分子对接分数见表 1, 分子对接结合模式图见图 6。

### 3 讨论

虽然现代医学将脑卒中分为缺血性脑卒中和出血性脑卒中, 然而历代医家的研究中并没有将缺血性脑卒中和出血性脑卒中完全割裂开来, 而是在论治缺血性脑卒中和出血性脑卒中的过程中将其归为“中风病”一并论述, 围绕其核心病机, 把握其共同的发病演变规律进行治疗<sup>[15]</sup>。无论是缺血性脑卒中还是出血性脑卒中, 其急性期多为肝阳风动、风火上扰, 以至于脑腑气血逆乱, 造成血溢脉外或脑脉淤阻, 使肢体废用, 神明失主<sup>[16]</sup>。同时在发

病的过程中, 均有风、火、痰、瘀、虚的证候要素贯穿其中<sup>[17]</sup>。王永炎院士认为在“中风”发病过程中, “毒邪”贯穿其中, 其具有败坏形质、增生异物的特性, 可致损伤脑络, 败坏脑髓<sup>[18-19]</sup>。所以针对缺血性脑卒中和出血性脑卒中, 临床可采用解毒通络之法进行共性治疗。而栀子临床常用的清热解毒中药, 性寒、味苦, 具有清热利湿、泻火除烦、凉血解毒的功效。在醒脑静和清开灵方药组成中, 栀子都作为解毒通络配伍的关键组分, 其包含的主要药效物质有环烯醚萜苷类、二萜色素类、有机酸、黄酮等成分<sup>[20]</sup>。目前虽然在缺血性脑卒中和出血性脑卒中的治疗中得到应用, 但其作用机制仍然不明确。因此, 本研究借助网络药理学的方法对其潜在的共

表 1 栀子有效成分与核心靶点 LibDockScore 结合分数

Table 1 LibDockScore between active ingredients of *Gardeniae Fructus* and core targets

化合物	LibDockScore						
	CASP 3	AKT1	TP53	MMP9	IL6	IL1B	MAPK3
芹菜素 (apigenin)	82.493	127.088	83.943	140.683	—	—	—
山柰酚 (kaempferol)	85.782	125.215	—	134.280	—	—	—
槲皮素 (quercetin)	89.045	129.585	85.910	142.264	102.563	99.634	—
染料木素 (genistein)	—	111.838	87.371	147.538	—	96.259	86.273
熊果酸 (ursolic acid)	—	—	109.552	—	99.338	86.064	—
齐墩果酸 (oleanolic acid)	82.301	—	—	—	—	—	—
芦丁 (rutin)	—	—	—	—	139.901	144.873	—

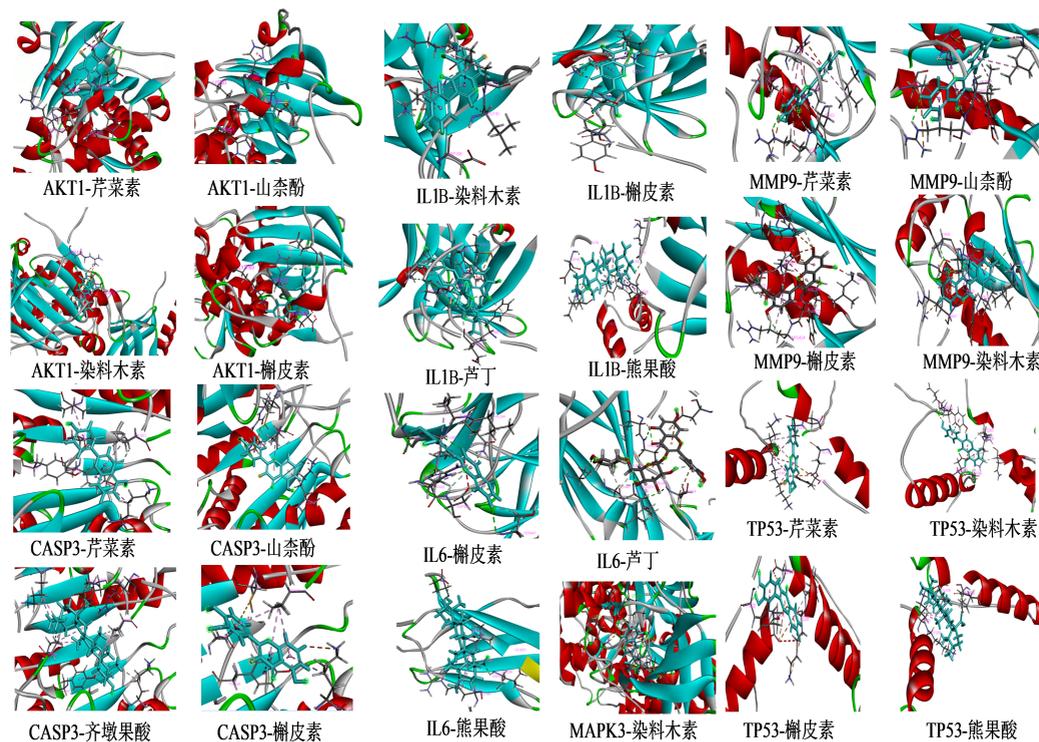


图 6 核心靶标与栀子有效成分分子对接结合图

Fig. 6 Molecular docking of core targets and active ingredients of *Gardeniae Fructus*

性作用机制进行探讨。通过 TCMSp、ETCM、BATMAN-TCM、TCMID 数据库收集到栀子 68 个化学成分,其主要成分有山柰酚、芹菜素、槲皮素、熊果酸、京尼平苷等。其中一些成分在前期研究中已经被证实出血性脑卒中和缺血性脑卒中具有保护作用,栀子总环烯醚萜苷在脑出血模型中可保护或修复内皮屏障,减少脑血肿周围组织内皮屏障抗原和整合素的表达。京尼平苷可通过下调 NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B 信号通路的活性发挥对细胞的保护作用<sup>[21]</sup>。此外,有研究显示栀子苷预处理可明显降低基质金属蛋白酶-9(MMP-9)及 MMP-2 的表达,对脑出血造成的大脑损伤起到明显的保护作用。在缺血再灌注损伤中,栀子苷预处理可下调 aquaporins 4 的表达,对大鼠脑缺血再灌注引起的血脑屏障(BBB)损伤具有保护作用,栀子苷可通过抑制 NLRP3、TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  炎症信号,显著减少脑梗死面积及减轻神经元损伤和坏死<sup>[22]</sup>。

网络药理学分析显示栀子治疗缺血性脑卒中和出血性脑卒中主要通过作用于 IL6、AKT1、IL1B、TP53、MAPK3、CASP3、MMP9 等靶点,并且在分子对接过程中得到了验证。这些靶标参与炎症反应、基因调控及细胞凋亡调控等生物过程,这些过程在缺血性脑卒中和出血性脑卒中病理损伤过程均扮

演着重要角色。缺血性脑卒中和出血性脑卒中的病理生理过程非常复杂,炎症和免疫反应是它们进展中的重要病理生理变化,其涉及先天性和适应性免疫系统。脑卒中后,受损的神经细胞将诱导神经胶质细胞活化,外周免疫细胞浸润和炎症介质 IL6、IL1 $\beta$  的释放。同时释放 MMP9,造成 BBB 的损伤和脑水肿的发生,引起继发性脑损伤。AKT 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,通过磷酸化下游靶蛋白发挥抗凋亡作用。AKT 有 3 种亚型,即 AKT1、AKT2 和 AKT3。AKT1 在体内组织中广泛表达。脑缺血再灌注损伤中 AKT 的表达和磷酸化显著增加,研究显示 AKT 的早期激活可以减少脑缺血再灌注损伤后的梗死体积,改善局部脑组织的氧供应/消耗平衡<sup>[23]</sup>。TP53 是肿瘤抑制基因,其与细胞周期和细胞凋亡的调节有关。当发生脑卒中时,大脑处于缺血和缺氧环境中,使细胞处于应激状态,DNA 稳态被破坏。然后机体启动 TP53 介导细胞凋亡<sup>[24]</sup>。丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)被认为是脑卒中和出血性脑血管疾病的潜在治疗靶点。研究发现 MAPK 活性的平衡决定了细胞的命运,当 MAPK p38 被应激条件激活,可通过激活下游信号通路导致神经炎症和细胞凋亡<sup>[25]</sup>。CASP3 是参与细胞死亡的半胱氨酸蛋白酶家族成员,被认为是神经元凋亡的关键介质。

脑卒中后 CASP3 介导的凋亡导致神经细胞大量死亡<sup>[26]</sup>。

通过 KEGG 分析,发现栀子可通过影响 TNF 信号通路、HIF-1 信号通路、PI3K-Akt 信号通路等机制干预缺血性脑卒中和出血性脑卒中。TNF 信号通路在神经系统中发挥多种作用。TNF 信号传导是脑卒中炎症进展的关键因素之一,可介导小胶质细胞和星形胶质细胞激活,引起免疫炎症反应。TNF 还可通过激活谷氨酸 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体增强谷氨酸兴奋毒性。之前的实验研究发现抑制 TNF 信号传导可以挽救脑卒中后早期受损的功能性皮质<sup>[27]</sup>。参与坏死性凋亡的 HIF-1 $\alpha$  信号传导可调节局灶性缺血后的 BBB 完整性,在缺血性脑卒中的神经保护中发挥重要作用,HIF-1 $\alpha$  还可以作为脑水肿的上游调节剂<sup>[28]</sup>。而 PI3K-Akt 信号通路的激活可减少神经细胞凋亡来促进对脑缺血再灌注损伤的神经保护作用。激活 PI3K-Akt-mTOR 通路能保护大脑缺血再灌注损伤,具有神经保护功能,可抑制细胞凋亡和氧化应激相关的神经元自噬<sup>[29]</sup>。

本研究利用网络药理学和分子对接技术对栀子治疗缺血性脑卒中和出血性脑卒中进行共性机制研究,发现栀子可通过作用于 IL6、AKT1、IL1B、MAPK3、TP53 等共有靶点,参与 PI3K-Akt、TNF、FoxO、HIF-1、MAPK 等相关信号通路,起到治疗缺血性脑卒中和出血性脑卒中的作用。从结果分析看出这些靶点和通路主要与炎症和凋亡密切相关,这与前期大量解毒通络中药的基础研究实验结果是一致的,为解毒通络法治疗缺血性脑卒中和出血性脑卒中提供了科学依据,未来可结合临床试验进一步提高解毒通络法干预脑卒中的证据级别,推动“解毒通络”脑卒中治法理论的发展和临床应用。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Kaji R. Global burden of neurological diseases highlights stroke [J]. *Nat Rev Neurol*, 2019, 15(7): 371-372.
- [2] Wang Y J, Li Z X, Gu H Q, et al. China stroke statistics 2019: A report from the national center for healthcare quality management in neurological diseases, China national clinical research center for neurological diseases, the Chinese stroke association, national center for chronic and non-communicable disease control and prevention, Chinese center for disease control and prevention and institute for global neuroscience and stroke collaborations [J]. *Stroke Vasc Neurol*, 2020, 5(3): 211-239.
- [3] 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.
- [4] Khoshnam S E, Winlow W, Farzaneh M, et al. Pathogenic mechanisms following ischemic stroke [J]. *Neurol Sci*, 2017, 38(7): 1167-1186.
- [5] Zhou Y, Wang Y C, Wang J, et al. Inflammation in intracerebral hemorrhage: From mechanisms to clinical translation [J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 115: 25-44.
- [6] Jayaraj R L, Azimullah S, Beiram R, et al. Neuroinflammation: friend and foe for ischemic stroke [J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 142.
- [7] Tschoe C, Bushnell C D, Duncan P W, et al. Neuroinflammation after intracerebral hemorrhage and potential therapeutic targets [J]. *J Stroke*, 2020, 22(1): 29-46.
- [8] Yang Q W, Huang Q Y, Hu Z P, et al. Potential neuroprotective treatment of stroke: Targeting excitotoxicity, oxidative stress, and inflammation [J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 1036.
- [9] 张锦, 张允岭, 郭蓉娟, 等. 从“毒损脑络”到“毒损络脉”的理论探讨 [J]. *北京中医药*, 2013, 32(7): 483-486.
- [10] Zhang J, Zhang Y L, Guo R J, et al. From toxin damaging brain collaterals to toxin damaging collaterals [J]. *Beijing J Tradit Chin Med*, 2013, 32(7): 483-486.
- [11] 李澎涛, 王永炎. 毒损络脉病机的理论内涵及其应用 [J]. *中医杂志*, 2011, 52(23): 1981-1984.
- [12] Li P T, Wang Y Y. Theoretical connotation and application of the pathogenesis of toxin damaging collaterals [J]. *J Tradit Chin Med*, 2011, 52(23): 1981-1984.
- [13] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [14] Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2015.
- [15] 袁梦晨. 基于网络药理学的醒脑静注射液干预脑出血的作用机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2020.
- [16] Yuan M C. Research on the mechanism of Xingnaojing injection intervention for intracerebral hemorrhage based on network pharmacology [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2020.
- [17] Wang X, Wang Z Y, Zheng J H, et al. TCM network pharmacology: A new trend towards combining computational, experimental and clinical approaches [J]. *Chin J Nat Med*, 2021, 19(1): 1-11.
- [18] 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): 4119-412.
- [19] Niu M, Zhang S Q, Zhang B, et al. Interpretation of *Network Pharmacology Evaluation Method Guidance* [J]. *Chin Tradit Herb Drug*, 2021, 52(14): 4119-412.
- [20] 高驰, 朱建平. “中风”病名源流考 [J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(5): 1298-1303.

- Gao C, Zhu J P. On 'apoplexy' in Chinese ancient medical books [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2014, 29(5): 1298-1303.
- [16] 周仲瑛. 凉血通瘀法治疗出血/缺血两类中风的浅识 [J]. *南京中医药大学学报*, 2011, 27(2): 101-104, 123.
- Zhou Z Y. Views on the method of cooling blood and removing blood stasis in treating hemorrhagic and ischemic stroke [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2011, 27(2): 101-104, 123.
- [17] 常富业, 王永炎. 中风病发病学研究述评 [J]. *辽宁中医杂志*, 2004, 31(2): 102-103.
- Chang F Y, Wang Y Y. Reviews of stroke pathogenesis [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2004, 31(2): 102-103.
- [18] 王永炎. 再度思考提高治疗脑血管病疗效的难点 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2017, 37(10): 1164-1166.
- Wang Y Y. Difficulties in rethinking the efficacy of improving the treatment of cerebrovascular disease [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2017, 37(10): 1164-1166.
- [19] 常富业, 王永炎. 中风病毒邪论 [J]. *北京中医药大学学报*, 2004, 27(1): 3-6.
- Chang F Y, Wang Y Y. Toxic pathogen theory of apoplexy [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med*, 2004, 27(1): 3-6.
- [20] 史永平, 孔浩天, 李昊楠, 等. 栀子的化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测分析 [J]. *中草药*, 2019, 50(2): 281-289.
- Shi Y P, Kong H T, Li H N, et al. Research progress on chemical composition and pharmacological effects of *Gardenia jasminoides* and predictive analysis on quality marker(Q-marker) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2019, 50(2): 281-289.
- [21] 卢金凤, 向 靓, 黄 薇, 等. 栀子总环烯醚萜苷对脑出血大鼠内皮屏障的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(3): 48-51.
- Lu J F, Xiang L, Huang W, et al. Effects of total iridoid glycosides in *Gardenia jasminoides* on the vascular endothelial barrier function in perihematomal brain regions of rats [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2012, 28(3): 48-51.
- [22] Zhang W W, Zhang F L, Hu Q C, et al. The emerging possibility of the use of geniposide in the treatment of cerebral diseases: A review [J]. *Chin Med*, 2021, 16(1): 86.
- [23] Xie R, Cheng M, Li M, et al. Akt isoforms differentially protect against stroke-induced neuronal injury by regulating mTOR activities [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(12): 1875-1885.
- [24] Hong L Z, Zhao X Y, Zhang H L. p53-mediated neuronal cell death in ischemic brain injury [J]. *Neurosci Bull*, 2010, 26(3): 232-240.
- [25] Fann D Y W, Lim Y A, Cheng Y L, et al. Evidence that NF- $\kappa$ B and MAPK signaling promotes NLRP inflammasome activation in neurons following ischemic stroke [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(2): 1082-1096.
- [26] Broughton B R S, Reutens D C, Sobey C G. Apoptotic mechanisms after cerebral ischemia [J]. *Stroke*, 2009, 40(5): e331-e339.
- [27] McCoy M K, Tansey M G. TNF signaling inhibition in the CNS: Implications for normal brain function and neurodegenerative disease [J]. *J Neuroinflamm*, 2008, 5: 45.
- [28] Zhang Z, Yan J, Chang Y, et al. Hypoxia inducible factor-1 as a target for neurodegenerative diseases [J]. *Curr Med Chem*, 2011, 18(28): 4335-4343.
- [29] Wu X F, Kihara T, Akaike A, et al. PI3K/Akt/mTOR signaling regulates glutamate transporter 1 in astrocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 393(3): 514-518.

[责任编辑 刘东博]