

脑心清片治疗缺血性脑血管病及改善卒中后抑郁/睡眠障碍的网络药理学分析与关键靶点验证

韩彦琪^{1,3}, 余 汇², 刘耀晨^{1,3,4}, 李进良², 武 琦^{1,3,4}, 郭海彪^{2*}, 许 浚^{1,3}, 张铁军^{1,3*}, 程宏辉²

1. 天津药物研究院 药物成药性评价与系统转化全国重点实验室, 天津市中药质量标志物重点实验室, 中药现代制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室, 天津 300462
2. 广州白云山和记黄埔中药有限公司, 广东 广州 510515
3. 和光中药科技(天津)有限公司, 天津 300462
4. 天津医科大学, 天津 300070

摘要: **目的** 利用网络药理学结合 G 蛋白偶联受体和酶活性检测方法探索脑心清片治疗缺血性脑血管病及卒中后抑郁, 卒中后失眠障碍的调控机制和药效物质基础。 **方法** 根据前期研究结果, 选取脑心清片中 13 个主要入血成分, 利用 SwissTargetPrediction、中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)预测化合物作用靶点, 借助 STRING 数据库与 Omicsbean 在线分析软件对靶点进行相互作用、生物信息学分析, 最后利用 Cytoscape 软件构建网络药理图。进一步运用胞内钙离子荧光检测和酶抑制剂检测脑心清片及其 9 个代表性成分对凝血酶(Thrombin)、血栓素 A2 受体(TP/TBXA2R)、环氧酶-2(COX-2)、核转录因子 κ B (NF- κ B)、单胺氧化酶 A (MAO-A)、5-羟色胺受体(5-HT2AR)的抑制活性及对 1,1-二苯基-2-苦基肼(DPPH)自由基的清除作用。 **结果** 网络药理学结果表明, 13 个化合物可通过作用于 142 个疾病交集靶点干预 91 条关键信号通路, 主要涉及改善血管内皮功能、改善血流动力学、抑制血栓形成、抗氧化应激、抗炎、神经保护、抗抑郁、抗失眠等方面, 构建了脑心清片“化合物-靶点-通路-药理作用-功效”网络药理图。对关键靶点的验证实验表明, 脑心清片中多个代表性成分(原儿茶酸、原儿茶醛、水杨酸、槲皮素、山柰酚、异鼠李素、白桦脂酸、齐墩果酸、苘蓆亭)对 Thrombin、TP/TBXA2R、COX-2、NF- κ B、MAO-A、5-HT2AR 具有较好抑制活性, 对 DPPH 有显著清除作用。 **结论** 脑心清片中代表性成分原儿茶酸、原儿茶醛、槲皮素、山柰酚、异鼠李素、白桦脂酸、齐墩果酸、苘蓆亭可能通过作用于 Thrombin、TP/TBXA2R、COX-2、NF- κ B、MAO-A、5-HT2AR 等靶点, 调节活血化瘀、通络及抗抑郁、抗失眠相关的多项生物过程, 推测上述成分为脑心清片的主要药效物质基础。

关键词: 脑心清片; 网络药理学; 缺血性脑血管病; 卒中后抑郁; 卒中后睡眠障碍; 药效物质基础

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)09-3110-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.09.012

Network pharmacology analysis and critical target validation of Naoxingqing Tablet in treatment of ischemic cerebrovascular disease and post-stroke depression/sleep disorders

HAN Yanqi^{1,3}, YU Hui², LIU Yaochen^{1,3,4}, LI Jinliang², WU Qi^{1,3,4}, GUO Haibiao², XU Jun^{1,3}, ZHANG Tiejun^{1,3}, CHENG Honghui²

1. National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Key Laboratory of Quality Marker of Traditional Chinese Medicine, State Key Laboratory of Druggability Evaluation and Systematic Translational Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300462, China
2. Hutchison Whampoa Guangzhou Bai Yunshan Chinese Medicine Co., Ltd., Guangzhou 510515, China
3. Heguang TCM Technology (Tianjin) Co., Ltd., Tianjin 300462, China
4. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

收稿日期: 2026-01-28

基金项目: 中国博士后科学基金资助项目(2023M740790)

作者简介: 韩彦琪, 副研究员, 研究方向为中药药理。E-mail: hanyq@tjipr.com

*通信作者: 郭海彪, 博士后, 主要从事心脑血管药理学与中成药二次开发研究。E-mail: taylorghb@qq.com

张铁军, 研究员, 研究方向为中药新药开发及大品种二次开发。E-mail: zhangtj@tjipr.com

Abstract: Objective To investigate the regulatory mechanisms and pharmacodynamic material basis of Naoxinqing Tablet in treating ischemic cerebrovascular disease (ICVD), post-stroke depression (PSD), and post-stroke sleep disorders (PSSD) using network pharmacology combined with activity assays for G protein-coupled receptors (GPCR) and enzymes. **Methods** Targets of the 13 components absorbed in plasma in Naoxinqing Tablet were predicted by the Swiss Target Prediction server and TCMSP database. Gene ontology (GO) function enrichment and pathway analysis of the targets were analyzed by Omicsbean analytic system and STRING 10 database. Cytoscape 3.10.4 software was used to construct the network pharmacology map. Further evaluate the effects of Naoxinqing Tablet and nine representative components on thrombin, TP/TBXA2R, COX-2, NF- κ B, MAO-A, 5-HT2A, DPPH free radicals by using intracellular calcium ion fluorescence detection and enzyme inhibitor detection technology. **Results** A total of 13 compounds affected 91 pathways through 142 related targets, of which were associated with improve vascular endothelial function, improve hemodynamics, inhibit thrombosis, anti-oxidative stress, anti-inflammatory, neuroprotection, anti-depression and anti-insomnia. The network of “compound-target-pathway-pharmacological action-efficacy” was also constructed. Representative ingredients (protocatechuic acid, protocatechualdehyde, salicylic acid, quercetin, kaempferol, isorhamnetin, betulinic acid, oleanolic acid, and scopolin) in Naoxinqing Tablet have inhibitory effects on Thrombin, TP/TBXA2R, COX-2, NF- κ B, MAO-A, 5-HT2AR, DPPH free radicals. **Conclusion** The representative components in Naoxinqing Tablet including protocatechuic acid, protocatechualdehyde, quercetin, kaempferol, isorhamnetin, betulinic acid, oleanolic acid and scopoletin may intervene biological processes related to promoting blood circulation for removing blood stasis, dredging collaterals, anti-depression and anti-insomnia by acting on Thrombin, TP/TBXA2R, COX-2, NF- κ B, MAO-A, 5-HT2AR, which are presumed to be the pharmacodynamic substances of Naoxinqing Tablet. **Key words:** Naoxinqing Tablet; network pharmacology; ischemic cerebrovascular disease; post-stroke depression; post-stroke sleep disorders; pharmacodynamic substances

缺血性脑血管病 (ICVD) 是一类因脑部血流减少或中断导致脑组织供氧不足、进而引发脑组织损伤的神经系统疾病, 以缺血性卒中 (脑梗死) 为主要类型, 其发病与动脉粥样硬化 (AS)、小血管病变、心源性栓塞等密切相关^[1-3]。全球 ICVD 发病率呈上升趋势, 其致残率、病死率、复发率均较高, 更会引发诸多后遗症, 其中卒中后抑郁 (PSD)、卒中后睡眠障碍 (PSSD) 是常见的精神并发症, 严重时可有感知功能降低、自杀等行为^[4-6]。临床治疗 ICVD 以急性期血管再通 (静脉溶栓、机械取栓) 为关键, 后期则侧重于神经功能康复及针对病因 (如 AS、心房颤动) 的二级预防, 但仍存在部分患者康复不完全、长期预后不佳等问题^[2]。

中医药在 ICVD 防治中具有独特优势, 其基于“辨证论治”核心思想, 通过整体调节改善机体失衡状态, 既能够多靶点作用于病理环节, 又能兼顾康复期功能恢复与并发症防治, 且安全性较高、耐受性好, 可与化学药协同增效, 弥补单一西医疗法在慢性调理、多靶点干预中的不足, 为 ICVD 的综合防治提供了重要补充^[7-10]。脑心清片为天然植物柿 *Diospyros kaki* L. 叶的提取物, 具有活血化瘀、通络的功效, 用于脉络瘀阻、眩晕头痛、肢体麻木、胸痹心痛、胸中憋闷、心悸气短; 冠心病、脑动脉硬化症见上述证候者。临床上广泛应用于 ICVD, 特别是对脑动脉硬化、缺血性脑卒中及其后遗症的疗效显著^[11-13]。

由于中药具有多成分、多靶点及协同作用的特点, 传统药理学研究手段存在一定的局限性, 而网络药理学已成为阐释中药复杂作用机制的关键策略, 该方法通过构建“化合物-靶点-通路-疾病”多维网络, 能够全景式预测中药的潜在作用机制, 为后续实验验证提供方向^[14]。因此, 本研究采用网络药理学方法预测脑心清片的药效网络机制, 然后运用胞内钙离子荧光检测和酶抑制剂检测技术对预测出的多个靶点进行实验验证, 阐释脑心清片发挥活血化瘀、通络功效的科学内涵, 为其治疗 ICVD、PSD 和 PSSD 的临床用药提供参考。

1 材料

1.1 细胞

稳定表达 TBXA2R 的人胚肾 293T 细胞 (HEK 293/T) 及稳定表达 5-HT2AR 受体的中国仓鼠卵巢 K1 细胞 (CHO-K1), 南京金斯瑞生物科技有限公司。

1.2 药品与试剂

脑心清片 (广州白云山和记黄埔中药有限公司, 批号 20200306); 原儿茶酸 (中国药品生物制品检定所, 货号 110809, 质量分数 97.7%); 原儿茶醛、水杨酸、异鼠李素、白桦脂酸、齐墩果酸、莨菪亭 (上海源叶生物科技有限公司, 货号 B21613、B21197、B21554、B20041、B20954、V99287, 质量分数 $\geq 98\%$); 槲皮素、山柰酚 (成都曼斯特生物科

技术有限公司, 货号 A0083、A0129, 质量分数 $\geq 98\%$); 人凝血酶 (法国 HYPHEN BioMed 公司, 货号 EZ006O); U-46619、酮舍林酒石酸盐 (Tocris, 货号 2339、0908); GR 32191B、阿加曲班、氯吉灵 (德国 Sigma 公司, 货号 G5044、141396-28-3、M3778); 环氧酶-2 (COX-2) 抑制剂筛选试剂盒 (上海碧云天生物技术股份有限公司, 货号 S0168); MAO-Glo 试剂盒 (PROMEGA, 货号 V1401); HEK-DualTM 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 细胞株 (InvivoGen, 货号 rcyc-htnfa); 单胺氧化酶 A (MAO-A, 美国 Active Motif 公司, 货号 31502); DPPH、维生素 C (上海源叶生物科技有限公司, 货号 B25609、B21293)。

SwissTargetPrediction (<http://new.swisstargetprediction.ch/>); 中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmspsearch.php>); UniProt 数据库 (<http://www.uniprot.org/>); GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>); DISGENET 数据库 (<https://disgenet.com/>); 京都基因与基因组百科全书 (KEGG, <http://www.genome.jp/kegg/>); STRING 10 (<http://string-db.org/>); Omicsbean 在线分析软件 (<http://www.omicsbean.cn/>); Cytoscape 3.10.4 软件。

1.3 仪器

BioTek synergy2 酶标仪 (美国安捷伦科技公司); CKX41S 倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); 3111 细胞培养箱 (美国赛默飞世尔科技公司); Penta 高通量实时荧光检测分析系统/FLIPR (美谷分子仪器有限公司)。

2 方法

2.1 网络药理目标化合物选取

课题组前期开展了脑心清片血清药化研究, 10 只大鼠 ig 脑心清片溶液 (按 $10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给药^[15]), 于给药 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 h 后取血 (每个时间点 3 只大鼠), 合并血浆, 经甲醇沉淀蛋白、氮气吹干复溶, 采用 UPLC-Q/TOF-MS 分析, 结合质量亏损过滤技术, 鉴定血浆中原型成分及代谢产物, 共解析出包括黄酮类、三萜类、酚酸类、香豆素类、脂肪酸类在内的 13 个血浆原型成分 (原儿茶酸、水杨酸、茛菪亭、原儿茶醛、槲皮素、山柰酚、异鼠李素、马尾柴酸、19 α ,24-双羟基乌苏烷酸、白桦脂酸、亚麻酸、齐墩果酸、亚油酸), 故本研究以 13 个入血原型成分为研究对象, 开展网络药理学研究, 化合物详细信息见表 1。

表 1 13 个入血成分信息

Table 1 Information of 13 compounds

编号	结构类型	化合物	分子式
1	酚酸类	原儿茶酸 (protocatechuic acid)	C ₇ H ₆ O ₄
2		原儿茶醛 (protocatechualdehyde)	C ₇ H ₆ O ₃
3		水杨酸 (salicylic acid)	C ₇ H ₆ O ₃
4	黄酮类	槲皮素 (quercetin)	C ₁₅ H ₁₀ O ₇
5		山柰酚 (kaempferol)	C ₁₅ H ₁₀ O ₆
6		异鼠李素 (isorhamnetin)	C ₁₆ H ₁₂ O ₇
7	三萜类	马尾柴酸 (barbinervic acid)	C ₃₀ H ₄₈ O ₅
8		19 α ,24-双羟基乌苏烷酸 (19 α ,24-dihydroxy ursolic acid)	C ₃₀ H ₄₈ O ₅
9		白桦脂酸 (betulinic acid)	C ₃₀ H ₄₈ O ₃
10		齐墩果酸 (oleanic acid)	C ₃₀ H ₄₈ O ₃
11	脂肪酸	亚麻酸 (linolenic acid)	C ₁₈ H ₃₀ O ₂
12		亚油酸 (linoleic acid)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂
13	香豆素	茛菪亭 (scopoletin)	C ₁₀ H ₈ O ₄

2.2 靶点蛋白预测及蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建

通过 SwissTargetPrediction (Probability >0)、TCMSP 数据库, 获取 13 个化合物的相关靶点蛋白信息并使用 UniProt 数据库将检索得到的所有蛋白校正为其官方名称。通过 GeneCards 数据库、DISGENET 数据库, 分别以“ischemic cerebrovascular disease”“post-stroke depression”“post-stroke sleep disorders”搜索疾病靶点, 然后与化合物靶点做 Venn 分析, 获得脑心清片干预的疾病靶点。将靶点信息导入 STRING 10 数据库中, 获得 PPI 关系, 得到结果导入 Cytoscape 3.10.4 软件中, 绘制 PPI 网络, 以 MCODE 插件对网络进行模块分析, 筛选 Hub 基因。

2.3 生物信息学分析

运用 Omicsbean 对靶点蛋白进行生物信息学分析, 探究靶点蛋白在细胞组分 (CC)、分子功能 (MF) 以及生物过程 (BP) 方面的作用机制。然后, 通过 STRING 10 数据库得到与靶点相关的通路过程, 利用 KEGG 数据库以及查阅相关文献, 对得到的通路进行深入分析。

2.4 “化合物-靶点-通路-药理作用-功效”网络构建

根据上述 13 个化学成分的靶点及通路预测结果, 建立化合物-靶点、靶点-通路、通路-药理作用及药理作用-功效的相互对应关系, 然后导入 Cytoscape 3.10.4 软件中构建“化合物-靶点-作用通路-药理作用-功效”网络, 并运用其插件 Network Analyzer 计算网络的特征。网络中节点表示化合物、

靶点以及作用通路、药理作用、功效。边表示化合物-靶点, 靶点-通路, 通路-药理作用的相互作用。

2.5 靶标验证实验

选择网络药理学结果中与活血化瘀相关的靶点凝血酶(Thrombin)、血栓素 A2 受体(TBXA2R); 与抗炎相关的靶点 COX-2、核转录因子 κ B (NF- κ B); 与抑郁、失眠相关的靶点 5-羟色胺受体 (5-HT2AR)、单胺氧化酶(MAOA)为核心验证靶点, 采用 1,1-二苯基-2-苦基肼(DPPH)自由基清除实验验证抗氧化活性。同时, 综合考量化学结构代表性、含量相对较高、药理活性较明确以及实验可行性等方面, 从 13 个入血原型成分中选择 9 个代表性化合物(酚酸、黄酮、三萜、香豆素 4 类核心药效结构中的原儿茶酸、原儿茶醛、水杨酸、槲皮素、山柰酚、异鼠李素、白桦脂酸、齐墩果酸、茛菪亭)进行靶点验证实验。阐明脑心清片通过多成分、多靶点发挥活血化瘀, 通络的机制特点。

2.5.1 Thrombin 活性抑制实验 以 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris buffer, $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl, pH 值 7.8 为 Thrombin 的反应缓冲液配制阳性抑制剂阿加曲班(200.000 00、40.000 00、8.000 00、1.600 00、0.320 00、0.064 00、0.012 80、0.002 56 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、检测样品(9 个化合物终浓度为 100、10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 脑心清片终质量浓度为 200、40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、酶溶液(终浓度为 $0.3 \text{ NIH} \cdot \text{mL}^{-1}$)及底物溶液($0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。实验分为空白对照组、100%酶活性对照组、阳性对照组、待测样品组。向待测样品组、阳性对照组分别加入 6 μL 样品和阿加曲班, 空白对照组、100%酶活性对照组加入 6 μL DMSO。100%酶活性对照组、阳性对照组及待测样品组各加入 42 μL 缓冲液, 空白对照组加入 48 μL 缓冲液。向待测样品组、阳性对照组、100%酶活性对照组中加入 6 μL 蛋白酶, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 min 后, 每组各加入 6 μL 底物溶液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 min, 酶标仪 405 nm 处检测吸光度(A 值), 运用 GraphPad Prism 5 数据分析软件计算阳性对照半抑制浓度(IC_{50})值。

$$\text{抑制率} = (A_{100\% \text{酶活性对照}} - A_{\text{样品}}) / (A_{100\% \text{酶活性对照}} - A_{\text{空白对照}})$$

2.5.2 TBXA2R、5-HT2AR 拮抗实验 TBXA2R 实验以 U-46619 和 GR32191B 为阳性激动剂和阳性拮抗剂, 检测浓度分别为 5 000.000、1 000.000、200.000、40.000、8.000、1.600、0.320、0.064 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 50 000.00、10 000.00、2 000.00、400.00、80.00、16.00、3.20、0.64 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。5-HT2AR 实验以 5-HT

(5 000.000 0、1 000.000 0、200.000 0、40.000 0、8.000 0、1.600 0、0.320 0、0.064 0、0.012 8、0.002 6 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)和酮舍林酒石酸盐(10 000.00、3 333.33、1 111.11、370.37、123.46、41.15、13.72、4.57、1.52、0.51、0.17 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)为阳性激动剂和阳性拮抗剂。9 个化合物终浓度为 100、10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 脑心清片终质量浓度 200、40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

稳定表达 TBXA2R 的 HEK 293/T 细胞和表达 5-HT2AR 受体的 CHO-K1 细胞用含有 10%胎牛血清的 Ham's F12 分别培养于 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 培养箱中, 当细胞长到 80%~85%时, 以每孔 1.5×10^4 细胞的密度接种到 384 微孔板, 培养箱中过夜培养, 加入 20 μL 染料、10 μL 样品溶液后, 培养箱孵育 1 h, 于室温平衡 15 min, 将细胞板、阳性激动剂板放入 FLIPR 内指定位置, 由仪器自动加入 10 μL 的 $5 \times$ 检测浓度的阳性激动剂, 运行抑制剂检测程序, 总检测时间为 120 s, 在第 21 s 时自动将 12.5 μL 的 $5 \times \text{EC}_{80}$ 阳性激动剂加入到细胞板内。以 1~20 s 的平均荧光强度值作为基线, 21~120 s 的最大荧光强度值减去基线值即为相对荧光强度值(ΔRFU), 计算激活或抑制百分比。

$$\text{激活率} = (\Delta\text{RFU}_{\text{化合物}} - \Delta\text{RFU}_{\text{背景}}) / (\Delta\text{RFU}_{\text{EC100浓度下的激动剂信号}} - \Delta\text{RFU}_{\text{背景}})$$

$$\text{抑制率} = 1 - (\Delta\text{RFU}_{\text{化合物}} - \Delta\text{RFU}_{\text{背景}}) / (\Delta\text{RFU}_{\text{EC80浓度下的激动剂信号}} - \Delta\text{RFU}_{\text{背景}})$$

2.5.3 COX-2 活性抑制实验 取适量待测定 9 个化合物, 用 DMSO 配制成 100、10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 待测溶液(检测终浓度为 5.0、0.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); 用 DMSO 将脑心清片配制成 200、40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 待测溶液(检测终质量浓度为 10、2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。塞来昔布为阳性对照, 检测浓度为 100.000 00、20.000 00、4.000 00、0.800 00、0.160 00、0.032 00、0.006 40、0.001 28 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。实验分组同“2.5.1”项, 按试剂盒方法进行样品检测, 计算抑制率。

$$\text{抑制率} = (\text{RFU}_{100\% \text{酶活性对照}} - \text{RFU}_{\text{样品}}) / (\text{RFU}_{100\% \text{酶活性对照}} - \text{RFU}_{\text{空白对照}})$$

2.5.4 NF- κ B 抑制实验 配制脑心清片(200、20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)及 9 个化合物(100、10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)溶液, 阳性激动剂 TNF- α 检测浓度为 1 000.00、333.33、111.11、37.04、12.35、4.12、1.37、0.69、0.23 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。实验分为阴性对照组、阳性对照组、待测样品组。待测样品组每孔加入 10 μL 样品, 阴性对照组和阳性对照组每孔加入 10 μL 培养基。将 80 μL HEK-

Dual™ TNF- α 细胞以每孔 5×10^4 的密度种于已加待测样品的 96 孔板中, 37°C 、5% CO_2 培养箱孵育 2 h。阴性对照组加入 10 μL 培养基, 其余每孔加入 10 μL 200 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 TNF- α 。离心后在培养箱共孵育 24 h。从每孔取 20 μL 细胞上清, 加入含有 QUANTI-Blue™ 试剂的实验板中, 37°C 孵育 1 h 后, 酶标仪检测 650 nm 下 A 值。细胞活性检测按照 Celltiter-Glo 说明书方法操作, 化学发光信号 (RLU) 用酶标仪检测。计算抑制率及细胞存活率。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{样品}} - A_{\text{阴性}}) / (A_{\text{阳性}} - A_{\text{阴性}})$$

$$\text{细胞存活率} = \text{RLU}_{\text{样品}} / \text{RLU}_{\text{阳性}}$$

2.5.5 DPPH 自由基清除实验 将脑心清片及化合物用 DMSO 配制成终浓度 3 倍的母液, 乙醇稀释, 脑心清片终质量浓度为 500、50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 9 个化合物终浓度为 50、5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。阳性对照维生素 C 检测浓度为 100.000 00、20.000 00、4.000 00、0.800 00、0.160 00、0.032 00、0.006 40、0.001 28 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用无水乙醇配制浓度为 0.15 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DPPH 溶液。实验分为空白组、阳性组、待测样品组、样品本底对照组。阳性对照组加入 100 μL 维生素 C, 待测样品及样品本底对照组加入 100 μL 样品, 空白组加入 100 μL 乙醇; 然后空白组、阳性组、待测样品组加入 200 μL 的 DPPH (0.15 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液, 样品本底对照组加入 200 μL 乙醇, 避光反应 30 min 后, 酶标仪测定 515 nm 处 A 值, 计算 DPPH 自由基清除率。

$$\text{自由基清除率} = [1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{本底对照}}) / A_{\text{空白}}]$$

2.5.6 MAO-A 活性抑制实验 用 DMSO 配制终浓度 100 倍的待测样品母液, 9 个化合物终浓度为 100、10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 脑心清片终质量浓度为 200、40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 阳性抑制剂氯吉灵终浓度为 300.000、100.000、33.000、11.000、3.700、1.200、0.410、0.140、0.046、0.015 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。实验分组同“2.5.1”项, 向待测样

品组、阳性对照组分别加入 200 nL 样品和氯吉灵, 空白对照组、100%酶活性对照组加入 200 nL DMSO。向待测样品组、阳性对照组、100%酶活性对照组中加入 10 μL 酶溶液, 空白对照组加入 10 μL 的反应缓冲液, $1000 \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 1 min, 室温孵育 15 min 后, 每组均加入 10 μL 底物溶液, $1000 \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 1 min, 室温反应 60 min。最后, 每组加入 20 μL 反应终止液终止反应, 避光孵育 20 min。用酶标仪读数并计算抑制率。

2.6 数据处理

数据使用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较使用单因素方差分析, 两组间分析采用 t 检验, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 化合物靶点蛋白分析结果

共得到 13 个化合物的 160 个靶点蛋白, ICVD 靶点 11 664 个, PSD 及 PSSD 靶点 925 个。分别取交集后, 得到化合物与 ICVD、PSD 及 PSSD 的交集靶点分别为 142、52 个 (图 1-A)。为同时解析脑心清片干预缺血性脑血管病, 以及改善卒中后抑郁/睡眠障碍的潜在机制, 将上述 2 组交集靶点取并集, 得到共 142 个靶点 (52 个 PSD/PSSD 交集靶点已全部包含于该集合内)。对 142 个交集靶点进行 PPI 网络 (图 1-B) 及模块分析 (图 1-C), 得到 3 个子网络, 其中 Cluster 1 (43 个蛋白基因) 得分最高, 其全部基因视为 Hub 基因。进一步对其按照度 (degree) 值、接近中心度 (CC), 中介中心度 (BC) 筛选出前 10 位靶点进行展示 (表 2)。

分析靶点网络发现, 脑心清片可作用于与血栓形成相关的凝血因子 II (F2)、凝血因子 III (F3)、前列腺素内过氧化物合成酶 1 (PTGS1) 等靶蛋白; 与血管平滑肌相关的肾上腺素受体 $\alpha 1\text{B}$ (ADRA1B)、肾上腺素能受体 $\beta 2$ (ADRB2) 等靶蛋白; 与血管内

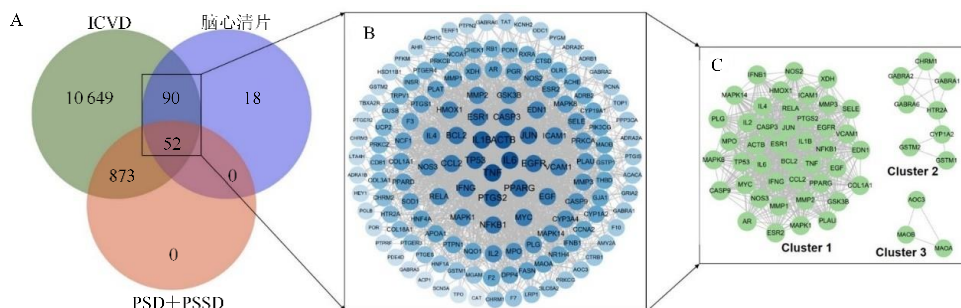


图 1 疾病靶点与化合物靶点 Venn 图 (A)、蛋白靶点 PPI 网络 (B)、模块分析 (C)

Fig. 1 Venn diagram of disease targets and compound targets (A), PPI network (B), and module analysis (C)

表 2 核心靶点信息

Table 2 Information of core targets

核心靶点	Degree	BC	CC
TNF	93	0.064 6	0.738 2
IL6	90	0.059 5	0.730 6
ACTB	87	0.069 9	0.723 1
IL1B	84	0.034 7	0.708 5
TP53	79	0.051 0	0.684 5
PTGS2	78	0.058 9	0.691 2
PPARG	72	0.028 1	0.665 1
EGFR	71	0.030 9	0.655 8
JUN	71	0.033 1	0.668 2
CASP3	67	0.015 7	0.646 8

皮功能相关的内皮素 (EDN1)、诱导型一氧化氮合酶 (NOS2)、内皮型一氧化氮合酶 (NOS3) 等靶蛋白; 与氧化应激相关的超氧化物歧化酶 (SOD1)、过氧化氢酶 (CAT)、血红素加氧酶-1 (HMOX-1)、醌氧化还原酶 1 (NQO1) 等靶蛋白; 与炎症及免疫反应相关的 PTGS2、IL6、TNF、CCL2、NFKB1 等靶蛋白; 与细胞凋亡等相关的 CASP3、BCL2 等靶蛋白; 与抑郁、失眠相关的 MAOA、GABRA、HTR2A 等靶蛋白, 提示脑心清片发挥活血化瘀、通络及抗抑郁、缓解失眠的功效机制可能与干预以上靶蛋白有关。

3.2 生物信息学分析

基因本体 (GO) 分析结果发现 (图 2-A), 靶蛋白在 CC 方面主要参与构成细胞质、细胞器、细胞囊泡等过程; 在 MF 方面主要参与蛋白结合绑定、酶结合、受体结合等过程; 在 BP 方面主要涉及有机物或含氧化合物的应激反应、对内源性刺激的反应等过程。推测脑心清片活血化瘀、通络功效可能与以上功能过程相关。

利用 STRING 数据库富集得到 205 条相关通路, 取 $FDR < 0.01$ 的通路共 179 条, 分析得到相关信号通路 91 条 (前 20 条见图 2-B), 主要涉及与改善血管内皮功能相关的通路, 如流体剪切应力与 AS (fluid shear stress and atherosclerosis) 等; 与炎症及免疫调节相关的通路, 如 Th17 细胞分化 (Th17 cell differentiation) 等; 与抑制血栓相关的通路, 如补体和凝血级联 (complement and coagulation cascades) 等; 与舒张血管相关的通路, 如血管平滑肌收缩 (vascular smooth muscle contraction) 等; 与抗氧化应激相关的通路, 如缺氧诱导因子-1 信号通路 (HIF-1 signaling pathway) 等; 与抗抑郁、抗失眠相关的

通路, 如 5-羟色胺能突触 (serotonergic synapse) 等; 与神经保护相关的通路, 如核转录因子 κB 信号通路 (NF- κB signaling pathway) 等。

3.3 “化合物-靶点-通路-药理作用-功效”网络构建与拓扑学属性分析

根据对应关系在 Cytoscape 3.10.4 软件中, 构建“化合物-靶点-通路-药理作用-功效”的网络关系图 (图 3)。通过拓扑属性分析发现, 该网络有 1319 条边, 且构建网络的节点度分布服从幂分布 [$P(x) = 71.093 \times x^{-1.05}$ ($R^2 = 0.743$)], 表明该网络为无标度网络。特征路径长度 2.947, 即网络路径长度为 2 步, 大多数蛋白的联系非常密切, 表明该网络具有较快的传播速度和较短的反应时间, 具有小世界性质。网络异质性为 0.943, 平均相邻节点数目 10.510, 网络中心度 0.212。提示该网络具有无标度、小范围的体系结构。分析发现, 网络中既存在 1 个分子与多个靶点蛋白的相互作用, 也存在不同分子作用于同 1 个靶点蛋白的现象, 显示了脑心清片的多成分、多靶点、多通路的作用特点, 初步阐释了脑心清片活血化瘀、通络的药效物质基础和作用机制。

3.4 活血作用验证结果

Thrombin 抑制实验结果见图 4, 阳性抑制剂阿加曲班的 IC_{50} 为 $602.3 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。脑心清片在 200 、 $40 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下对该酶抑制率达到 75% 以上, 酶抑制活性较强; 槲皮素、山柰酚、异鼠李素和白桦脂酸对该酶抑制活性较好, 且呈现浓度相关性; 莈蓉亭在高浓度下有较弱抑制活性。

TBXA₂R 拮抗实验结果见图 4, 阳性激动剂 U-46619 的半数有效浓度 (EC_{50}) 为 $2.2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 阳性拮抗剂 GR 32191B 的 IC_{50} 值为 $141.3 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。脑心清片对该受体抑制率达 30%, 有较弱拮抗活性; 槲皮素、山柰酚、异鼠李素抑制率达 30% 多, 有较弱拮抗作用, 且呈现浓度相关性; 齐墩果酸、莈蓉亭在低浓度抑制率达 30%, 有较弱拮抗活性。

3.5 抗炎作用验证结果

COX-2 抑制实验结果见图 5, 阳性抑制剂塞来昔布 IC_{50} 值为 $5.9 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。脑心清片抑制率达 90% 多, 活性强。山柰酚抑制率达 98.9%, 原儿茶酸、原儿茶醛、异鼠李素抑制率在 80% 以上, 槲皮素抑制率达 70% 多, 均表现出较优的酶抑制活性, 且呈现浓度相关性; 白桦脂酸抑制率 37.8%, 有微弱抑制作用。

NF- κB 抑制实验结果见图 5, 阳性激动剂 TNF- α 对 NF- κB 的激动作用 EC_{50} 为 $2.6 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 半数

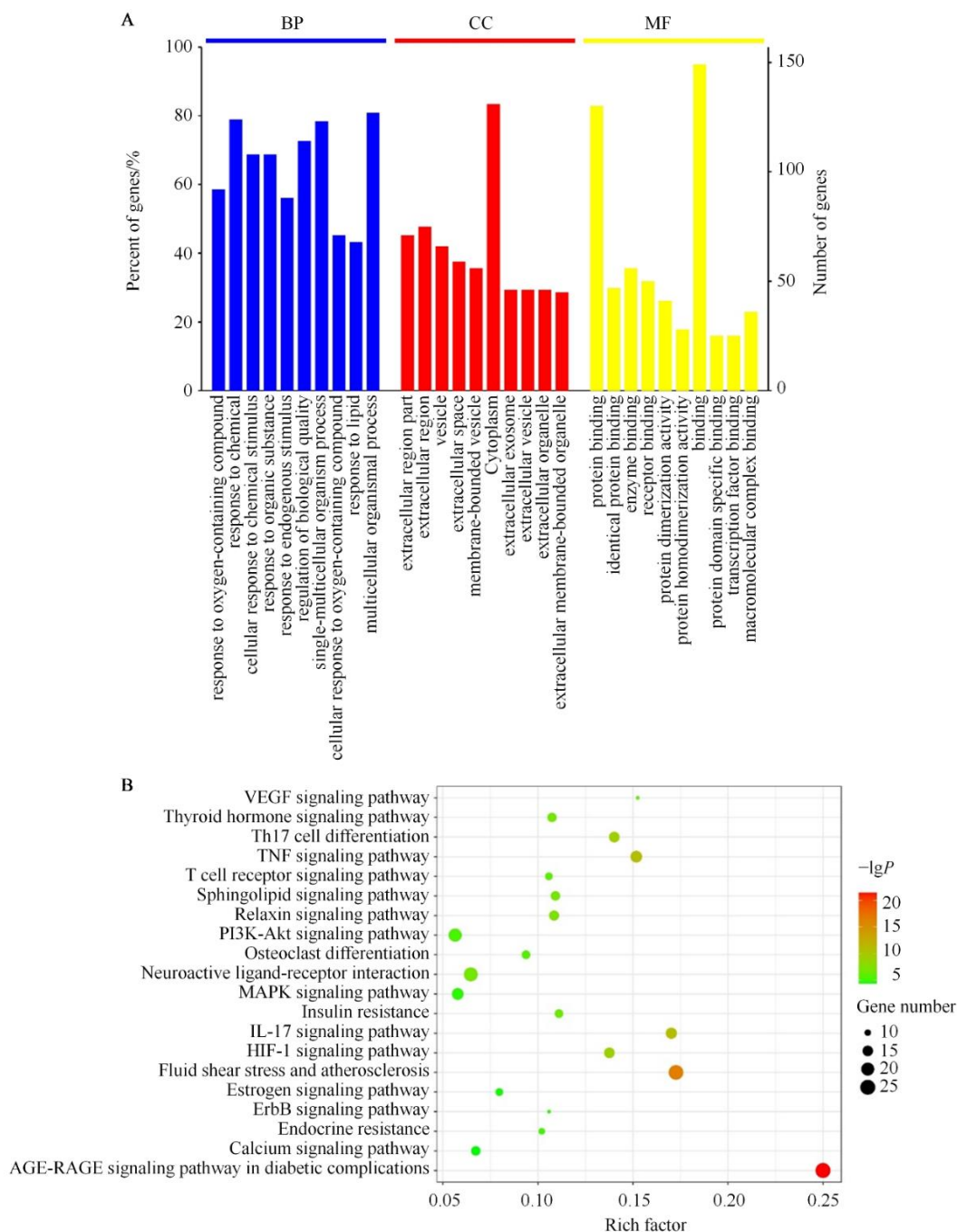


图 2 脑心清片靶点蛋白的 GO (A) 及 KEGG (B) 通路富集分析
Fig. 2 GO (A) and KEGG (B) enrichment analysis of related protein targets of Naoxingqing Tablet

毒性浓度 (CC_{50}) 值 $>1\ 000\ ng\cdot mL^{-1}$ 。脑心清片在 $1\ 000\ \mu g\cdot mL^{-1}$ 质量浓度下对 NF- κB 抑制率为 65.9%，细胞存活率为 99.3%，提示对该靶点有较高抑制活性；山柰酚 $100\ \mu mol\cdot L^{-1}$ ，抑制率为 77.1%，细胞存活率为 103.4%，说明抑制活性较强；原儿茶酸、原儿茶、槲皮素、异鼠李素、齐墩果酸高浓度及白桦脂酸低浓度的抑制率分别为 31.2%、45.9%、41.4%、

39.2%、41.7%、35.4%，且对应的细胞存活率也较高，表明对该酶也有较弱的抑制作用；高浓度白桦脂酸抑制率为 79.8%，但细胞存活率仅为 53.1%，推测为假阳性结果。

3.6 抗抑郁及抗失眠作用验证结果

MAO-A 抑制实验结果见图 6，阳性抑制剂氯吉灵 IC_{50} 值为 $1.8\ nmol\cdot L^{-1}$ 。脑心清片高浓度下抑

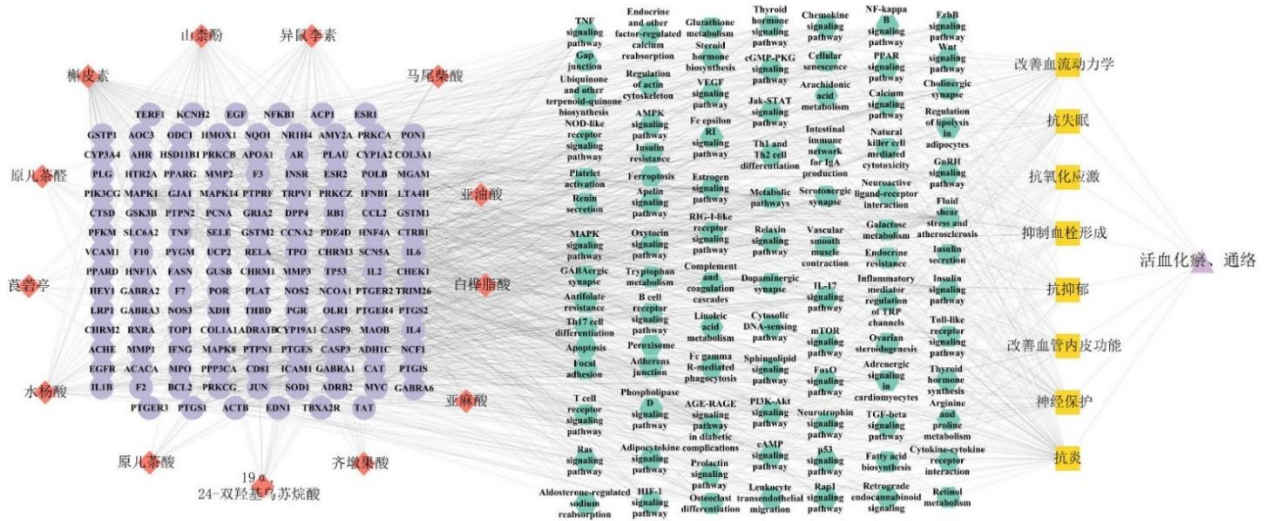
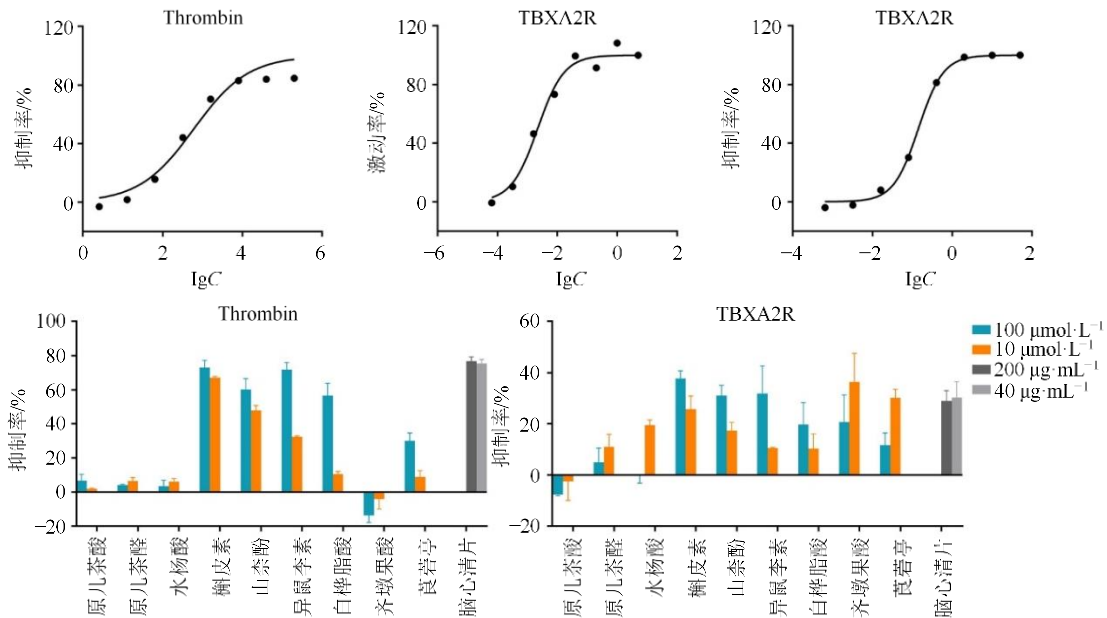


图 3 脑心清片“化合物-靶点-通路-药理学作用-功效”网络图

Fig. 3 “Compound-target-pathway-pharmacological action-efficacy” network of Naoxinqing Tablet

图 4 阳性对照量效曲线及样品对 Thrombin、TBXA2R 的抑制活性 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 4 Positive control dose-response curve and sample inhibitory activity against Thrombin and TBXA2R ($\bar{x} \pm s, n=3$)

抑制率为 87.8%，抑制活性强，且呈浓度相关性；槲皮素、山柰酚抑制率达 90% 多，活性高；原儿茶醛、异鼠李素高浓度抑制率在 50% 左右，有一定酶抑制活性；苘蓉亭高浓度抑制率 39.1%，较弱抑制活性。

5-HT_{2A}R 拮抗实验结果见图 6，阳性激动剂 5-HT 的 EC_{50} 值为 $45.47 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，阳性拮抗剂酮舍林酒石酸盐 IC_{50} 为 $109.2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。脑心清片对该靶点均未体现出拮抗活性；异鼠李素、齐墩果酸抑制率达 80% 以上，有较强拮抗作用；槲皮素高浓度

抑制率为 41.0%，山柰酚低浓度抑制率为 31.0%，有较弱抑制活性。

3.7 DPPH 自由基实验结果

阳性对照维生素 C 的 EC_{50} 为 $375.7 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。脑心清片高浓度对 DPPH 清除率为 82.67%，抗氧化活性较强，且呈现浓度相关性；原儿茶醛、槲皮素 DPPH 清除率均在 90% 以上，活性高，并表现出浓度相关性；山柰酚高浓度清除率 74.7%，活性较高；异鼠李素、原儿茶醛高浓度清除率分别为 56.8%、

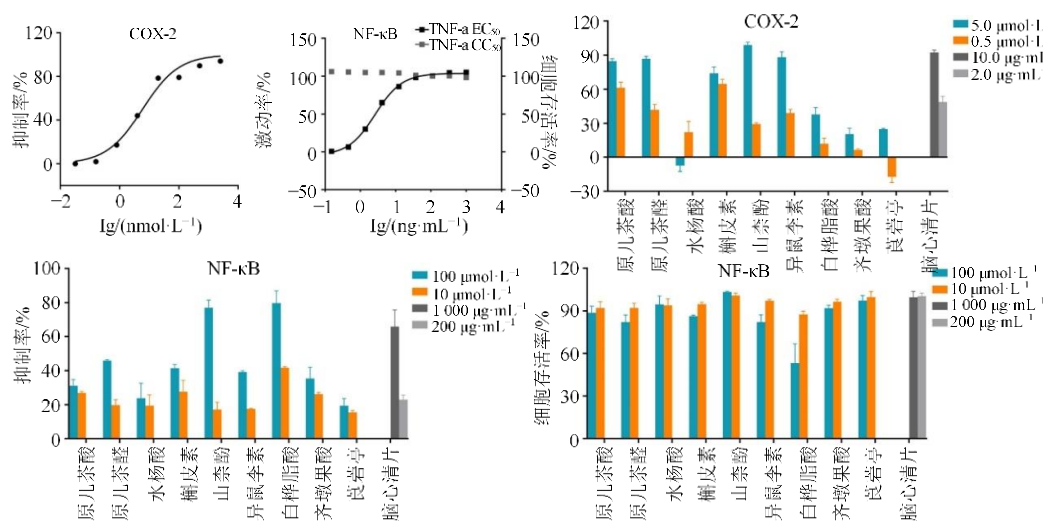


图 5 阳性对照量效曲线及样品对 COX-2、NF-κB 的抑制活性 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 Positive control dose-response curve and sample inhibitory activity against COX-2 and NF-κB ($\bar{x} \pm s, n=3$)

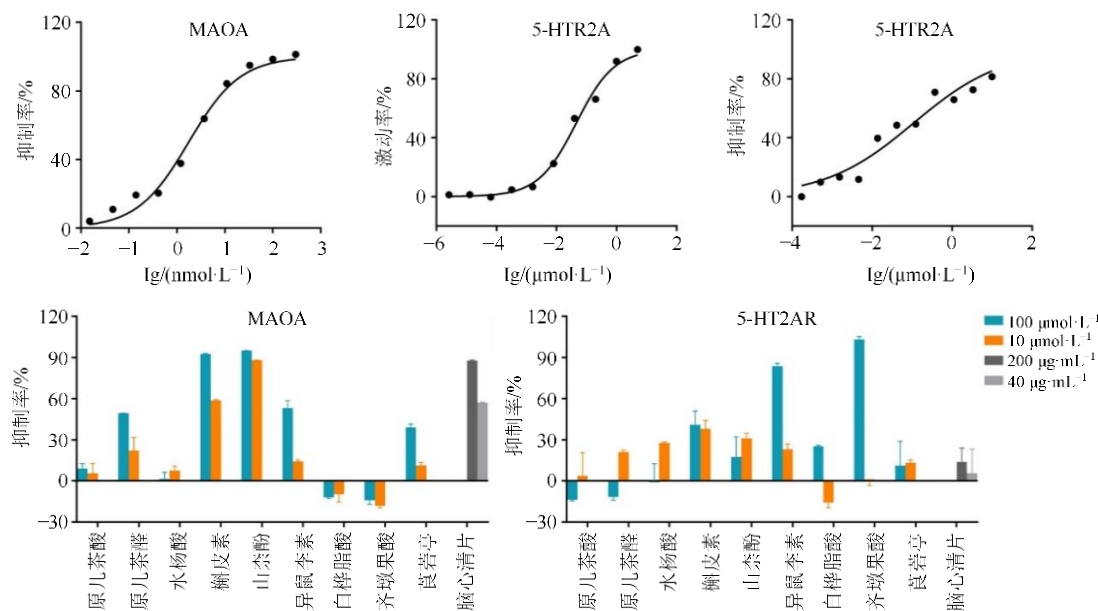


图 6 阳性对照量效曲线及样品对 MAO-A、5-HT2AR 的抑制活性 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 Positive control dose-response curve and sample inhibitory activity against MAO-A and 5-HT2AR ($\bar{x} \pm s, n=3$)

46.4%，有一定的抗氧化活性。见图 7。

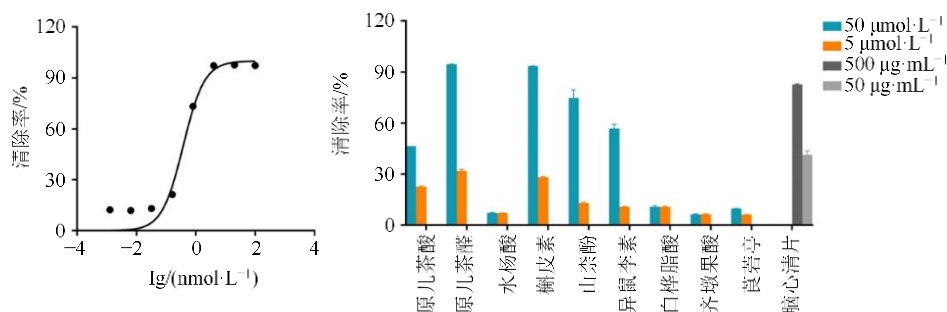
4 讨论

4.1 活血化癥作用

血管张力调节障碍是血管内皮功能失调的重要表现之一，血管内皮细胞产生的一氧化氮 (NO)、内皮素 (ET) 是调节组织器官局部血流的一对细胞因子，ET 具有强烈、持久的缩血管作用，并能刺激血管平滑肌增殖^[16-17]；NO 在舒张血管，抑制血小板黏附、聚集，抑制血管平滑肌细胞增殖等方面发挥重要作用^[18]。网络药理研究发现，水杨酸、山奈

酚、异鼠李素、19 α ,24-双羟基乌苏烷酸、槲皮素可作用于内皮素 (EDN1)、诱导型一氧化氮合酶 (NOS2)、内皮型一氧化氮合酶 (NOS3) 等靶点，调节 ET/NO 的失衡，改善血管内皮功能。 α_1/β_2 受体主要分布在血管平滑肌，激动时引起血管收缩/舒张^[19]。实验发现，山奈酚及茛菪亭、槲皮素可分别作用于 ADRA1B、ADRB2，进而干预血管平滑肌收缩等信号通路，发挥扩张血管，增加动脉血流量，改善组织供血、供氧状态。

正常血液中的血小板、凝血系统、抗凝系统、

图 7 阳性对照量效曲线及样品对 DPPH 的清除率 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 7 Positive control dose-response curve and scavenging rate of sample against DPPH ($\bar{x} \pm s, n=3$)

纤溶系统维持动态平衡,内皮细胞受损时其表达 F3 启动凝血,在各种凝血因子的参与下最终形成凝血酶^[20]。另外,血小板激活后增强凝血过程,花生四烯酸等为血小板聚集诱导剂^[21]。在血管受损发生血凝块或血栓后,纤维蛋白吸附纤溶酶原 (PLG) 和激活物[包括尿激酶型纤溶酶原激活物 (PLAU) 和组织型纤溶酶原激活物 (PLAT)],使血凝块或血栓发生溶解液化^[22]。网络药理学结果表明,槲皮素、山柰酚、异鼠李素可作用于凝血因子 VII (F7)、F2、F3、凝血因子 X (F10),发挥抗凝血作用;原儿茶酸、水杨酸、苘蓉亭、槲皮素、山柰酚等可作用于前列腺素过氧化物合酶 (PTGS1、PTGS2),调节花生四烯酸代谢,阻止 TBXA2 生成,抑制血小板聚集;水杨酸可作用于 PLG、槲皮素可作用于 PLAT、PLAU,促进纤溶。验证实验表明,脑心清片及槲皮素、山柰酚、异鼠李素、白桦脂酸、苘蓉亭对 Thrombin 有较好抑制作用;脑心清片及槲皮素、山柰酚、异鼠李素、齐墩果酸、苘蓉亭对 TP/TBXA2R 有一定的拮抗活性,推测以上成分可能为脑心清片发挥活血化瘀作用的药效物质基础。

4.2 抗炎作用

炎症是 AS 的基本特征,同时亦是 AS 和 PSD 的始动因子^[23-24]。白细胞介素 (IL)-6 在炎症反应中处于中心地位,可促进 AS 进程,其表达失调与缺血性损伤密切相关^[25]。IL-1 β 含量增加与动脉壁中胆固醇蓄积导致的促炎作用之间存在密切联系^[26]。TNF- α 被证实存在于动脉粥样斑块中,在 AS 和炎症中发挥作用,参与了 AS 的形成^[27]。 γ 干扰素 (IFN- γ) 由 Th1 细胞、NK 细胞等多种细胞合成和分泌,具有促炎作用^[28]。细胞间黏附分子 (ICAM1)、血管细胞黏附分子 (VCAM1) 参与白细胞进入血管内膜的过程^[29-30]。趋化因子 (CCL2) 表达水平升高会导致

PSD 和脑缺血再灌注损伤^[31-32]。COX-2 及 NF- κ B 的激活可诱导上述炎症介质释放。本研究发现,脑心清片中的原儿茶酸、原儿茶醛、槲皮素、山柰酚、异鼠李素、白桦脂酸对 COX-2、NF- κ B 均显示出抑制效果,齐墩果酸对 NF- κ B 有抑制活性,提示可能为脑心清片发挥抗炎作用的药效物质基础。

4.3 抗氧化应激作用

氧化应激通过氧化作用对细胞产生毒害作用,造成组织不可逆损伤;另一方面氧化应激以活性氧簇及其氧化产物激活相应的信号通路,影响血管的正常结构和功能^[33]。网络药理研究表明,脑心清片中水杨酸、槲皮素可作用于 SOD1、CAT 等抗氧化酶;槲皮素、山柰酚、齐墩果酸可作用于血红素加氧酶 1 (HMOX1) 干预 HIF-1 信号通路。DPPH 自由基清除实验表明,脑心清片、原儿茶醛、原儿茶酸、槲皮素、山柰酚、异鼠李素对 DPPH 自由基清除效果显著,具有一定的抗氧化作用,推测以上成分可能为脑心清片发挥抗氧化应激作用的药效物质基础。

4.4 抗抑郁、抗失眠作用

脑中存在的 5-羟色胺能神经元对情绪及睡眠质量起调节作用。上述结构的破坏可致 5-HT 的减少,从而易患情感障碍和失眠,PSD、PSSD 的发生也与谷氨酸、 γ -氨基丁酸有关^[34-36]。网络药理研究表明,原儿茶酸、水杨酸、槲皮素、苘蓉亭、异鼠李素可作用于 MAO-A,提高突触间隙 5-HT 水平^[37];苘蓉亭、异鼠李素可作用于离子型谷氨酸类受体-AMPA 受体 (GRIA2);原儿茶醛、槲皮素、山柰酚可作用于 γ -氨基丁酸相关受体 GABRA2、GABRA1,发挥抗抑郁、抗失眠作用。验证实验发现,异鼠李素、齐墩果酸对 5-HT2AR 有极强的拮抗活性,槲皮素、山柰酚也有一定的拮抗作用;脑心

清片、槲皮素、山柰酚、异鼠李素、莨菪亭、原儿茶醛对 MAO-A 均有抑制活性。推测以上成分可能为脑心清片发挥抗抑郁、抗失眠作用的药效物质基础。

本研究通过网络药理学预测、G 蛋白偶联受体实验及酶活性检测,初步阐释了脑心清片治疗 ICVD,改善 PSD 及 PSSD 的作用靶点及物质基础,为后续的深入作用机制研究奠定了基础。但由于实验的局限性,本研究仅选择了网络药理结果中的几个靶点进行了体外的初步实验验证,后续还应结合动物实验等,在体内层面开展系统的验证研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张业昊, 姚明江, 刘建勋. 缺血性脑血管病的现代研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(9): 1185-1188.
Zhang Y H, Yao M J, Liu J X. Advances in modern research on ischemic cerebrovascular diseases [J]. Chin Pharmacol Bull, 2019, 35(9): 1185-1188.
- [2] Ren H, Liu Y C, Zhao M Y, et al. Stroke: Epidemiology, risk factors, signaling pathways, and clinical management [J]. MedComm, 2025, 6(12): e70558.
- [3] Hao H D, Chen D, Qian C, et al. Immune inflammation at the crossroads of atherosclerosis and ischemic stroke: Mechanisms, trends, and translational perspectives [J]. CNS Neurosci Ther, 2025, 31(12): e70712.
- [4] Zeng X, Chen X J. Post-stroke depression risk prediction models in stroke patients: A systematic review [J]. Gen Hosp Psychiatry, 2025, 96: 132-139.
- [5] Chen P Q, Wang W Y, Ban W K, et al. Deciphering post-stroke sleep disorders: Unveiling neurological mechanisms in the realm of brain science [J]. Brain Sci, 2024, 14(4): 307.
- [6] Su Q, Zou D M, Gai N, et al. Traditional Chinese medicine for post-stroke sleep disorders: The evidence mapping of clinical studies [J]. Front Psychiatry, 2022, 13: 865630.
- [7] 唐璐, 马丽芳, 史华伟, 等. 疏血通注射液治疗缺血性脑血管病临床应用专家共识 [J]. 中华中医药学刊, 2025, 43(5): 251-258.
Tang L, Ma L F, Shi H W, et al. Expert consensus on clinical application of Shuxuetong Injection (疏血通注射液) in treatment of ischemic cerebrovascular disease [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2025, 43(5): 251-258.
- [8] Hu Y, Xia M J, Cao M Q, et al. Combined treatment with tPA and Chinese herbal medicine for ischemic stroke: Is it valuable? [J]. J Ethnopharmacol, 2026, 361: 121242.
- [9] Nijat D, Zhao Q Z, Abdurixit G, et al. An up-to-date review of traditional Chinese medicine in the treatment of atherosclerosis: Components, mechanisms, and therapeutic potentials [J]. Phytother Res, 2025, 39(8): 3709-3735.
- [10] Zhu L, Han R N, He L X, et al. Innovative strategies for post-stroke depression: Integrating traditional Chinese medicine with neurobiological insights, including the gut-brain axis [J]. Front Pharmacol, 2025, 16: 1539357.
- [11] 蔡业峰, 王新志. 脑心清片治疗缺血性脑血管病临床应用专家共识 [J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(5): 247-253.
Cai Y F, Wang X Z. Expert consensus for clinical application of Naoxingting Tablet (脑心清片) in treatment of ischemic cerebrovascular disease [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2023, 41(5): 247-253.
- [12] 黄坚红, 才鼎, 卞金玲, 等. 脑心清片治疗缺血性脑卒中恢复期多中心随机双盲对照研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2022, 42(7): 802-810.
Huang J H, Cai D, Bian J L, et al. Effect of Naoxingting Tablet in the treatment of convalescent stroke: A multicenter, randomized, double-blind, control trial [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2022, 42(7): 802-810.
- [13] 叶志高. 脑心清片治疗冠心病心绞痛的临床疗效观察 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2016, 37(1): 69-70.
Ye Z G. Observation on the clinical effect of Naoxingting Pian in the treatment of angina pectoris caused by coronary heart disease [J]. J Qiqihar Univ Med, 2016, 37(1): 69-70.
- [14] 廖韵诺, 赵凯丽, 郭宏伟. 中药网络药理学的应用与挑战 [J]. 中草药, 2024: 55(12): 4204-4213.
Liao Y N, Zhao K L, Guo H W. Application and challenges of network pharmacology research in traditional Chinese medicine [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024: 55(12): 4204-4213.
- [15] 余汇. 柿叶提取物的抗抑郁作用及作用机制研究[D]. 南方医科大学, 2022.
- [16] Yu H. The antidepressant-like effect of persimmon leaf extract in mice exposed to chronic social defeat stress and its mechanism [D]. Southern Medical University, 2022. Wang S J, Wan S C, Zhang X, et al. Therapeutic potential of nitric oxide and its donors in hemorrhagic and ischemic stroke: A systematic review [J]. Med Gas Res, 2026, 16(3): 241-257.
- [17] Dubey N, Verma A, Goyal A, et al. The role of endothelin and its receptors in cardiomyopathy: From molecular mechanisms to therapeutic insights [J]. Pathol Res Pract, 2025, 269: 155932.
- [18] 梁天, 李飞, 刘超. 内皮细胞功能障碍与动脉粥样硬化的研究进展 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2024, 26(12): 1504-1507.
Liang T, Li F, Liu C. Research progress of endothelial cell

- dysfunction and atherosclerosis [J]. Chin J Geriatr Heart Brain Vessel Dis, 2024, 26(12): 1504-1507.
- [19] Ali D C, Naveed M, Gordon A, et al. β -Adrenergic receptor, an essential target in cardiovascular diseases [J]. Heart Fail Rev, 2020, 25(2): 343-354.
- [20] 曹睿贞. 三七化瘀止血活性成分筛选及作用机制初步研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2025.
- Cao R Z. Preliminary study on screening of blood-activating and hemostatic active components from *Panax notoginseng* and their mechanism of action [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2025.
- [21] Hou Y, Li H, Zhu L C, et al. A review of natural compounds to regulate platelet aggregation: Molecular mechanism and research advance [J]. Front Pharmacol, 2025, 16: 1537776.
- [22] Chapin J C, Hajjar K A. Fibrinolysis and the control of blood coagulation [J]. Blood Rev, 2015, 29(1): 17-24.
- [23] Choudhury R P, Hargreaves R, Chai J, et al. Inflammation reprogramming and immunomodulation: Next-generation treatments for atherosclerosis [J]. Cell Rep Med, 2025, 6(9): 102288.
- [24] Jing D Q, Hou X L, Guo X, et al. Astrocytes in post-stroke depression: Roles in inflammation, neurotransmission, and neurotrophin signaling [J]. Cell Mol Neurobiol, 2023, 43(7): 3301-3313.
- [25] Ohtani M, Nishimura T. Sulfur-containing amino acids in aged garlic extract inhibit inflammation in human gingival epithelial cells by suppressing intercellular adhesion molecule-1 expression and IL-6 secretion [J]. Biomed Rep, 2020, 12(3): 99-108.
- [26] Faraj T A, Stover C, Erridge C. Dietary toll-like receptor stimulants promote hepatic inflammation and impair reverse cholesterol transport in mice via macrophage-dependent interleukin-1 production [J]. Front Immunol, 2019, 10: 1404.
- [27] 王怡茹, 韦婧, 张一凡, 等. 细胞因子参与动脉粥样硬化炎症反应的研究进展 [J]. 海南医学院学报, 2021, 27(17): 1350-1354.
- Wang Y R, Wei J, Zhang Y F, et al. Role of cytokines in atherosclerotic inflammation response: A review [J]. J Hainan Med Univ, 2021, 27(17): 1350-1354.
- [28] Biroš E, Reznik J E, Moran C S. Role of inflammatory cytokines in genesis and treatment of atherosclerosis [J]. Trends Cardiovasc Med, 2022, 32(3): 138-142.
- [29] Tadzic R, Mihalj M, Vcev A, et al. The effects of arterial blood pressure reduction on endocan and soluble endothelial cell adhesion molecules (CAMs) and CAMs ligands expression in hypertensive patients on Ca-channel blocker therapy [J]. Kidney Blood Press Res, 2013, 37(2/3): 103-115.
- [30] Wu Y Q, Zhang R J, Zhou C H, et al. Enhanced expression of vascular cell adhesion molecule-1 by corticotrophin-releasing hormone contributes to progression of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice [J]. Atherosclerosis, 2009, 203(2): 360-370.
- [31] 郑清炼, 楚世峰, 任倩, 等. 趋化因子与抑郁症关系的研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(5): 615-619.
- Zheng Q L, Chu S F, Ren Q, et al. The research progress on relationship between depression and chemokines [J]. Chin Pharmacol Bull, 2019, 35(5): 615-619.
- [32] Saederup N, Chan L N, Lira S A, et al. Fractalkine deficiency markedly reduces macrophage accumulation and atherosclerotic lesion formation in CCR2^{-/-} mice: Evidence for independent chemokine functions in atherogenesis [J]. Circulation, 2008, 117(13): 1642-1648.
- [33] Myszkowski M, Bychowski J, Skrzydlewska E, et al. The dual role of oxidative stress in atherosclerosis and coronary artery disease: Pathological mechanisms and diagnostic potential [J]. Antioxidants, 2025, 14(3): 275.
- [34] 赵立峰, 傅润熹, 严嘉宁, 等. 电针对脑卒中后抑郁大鼠脑神经细胞 γ -氨基丁酸、血管内皮生长因子表达的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(19): 4751-4753.
- Zhao L F, Fu R X, Yan J N, et al. Effect of electroacupuncture on the expression of γ -aminobutyric acid and vascular endothelial growth factor in brain neurons of post-stroke depression rats [J]. Chin J Gerontol, 2018, 38(19): 4751-4753.
- [35] 李冕, 谭忠林, 吴月, 等. 重症抑郁障碍谷氨酸与 γ -氨基丁酸稳态失衡研究进展 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 2023, 49(12): 758-764.
- Li M, Tan Z L, Wu Y, et al. Research advances in glutamate and γ -aminobutyric acid homeostasis imbalance in major depressive disorder [J]. Chin J Nerv Ment Dis, 2023, 49(12): 758-764.
- [36] Villa R F, Ferrari F, Moretti A. Post-stroke depression: Mechanisms and pharmacological treatment [J]. Pharmacol Ther, 2018, 184: 131-144.
- [37] Junkes L, Quagliato L A, Appolinario J C, et al. MAO inhibitors for treatment-resistant depression: Bringing an updated perspective on pioneering drugs [J]. Pharmacol Res, 2025, 219: 107876.