

• 药理与临床 •

含黄芪方剂组方规律及核心药对“黄芪-当归”分子机制的研究

李鑫琦^{1,2,3}, 高耀^{1,3}, 李爱平^{1,3}, 李科^{1,3}, 刘月涛^{1,3*}, 秦雪梅^{1,3*}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西大学化学化工学院, 山西 太原 030006

3. 山西大学 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室, 山西 太原 030006

摘要: **目的** 借助中医传承辅助平台和网络药理学对“黄芪-当归”治疗虚劳的分子机制进行探讨。**方法** 通过中医传承辅助平台挖掘《中药成方制剂》数据库中含黄芪的方剂、配伍组合及其主治疾病; 探究含黄芪并治疗虚劳的方剂及配伍组合, 明确“黄芪-当归”这一核心配伍药对。采用 Batman-TCM、GeneCards 和 OMIM 等网络药理学技术构建药材-成分-靶点网络, 并对靶点进行拓扑属性分析、聚类分析、GO 分析和 KEGG 通路分析。**结果** 《中药成方制剂》数据库中共收录含黄芪方剂 459 条, 涉及中药 641 味。其中, “黄芪-当归”为主治虚劳的核心药对组合, 与古籍记载、临床用药相吻合。网络分析表明该药对主要涉及免疫应答、氧化应激、信号传导等生物过程, 通过调节 pathways in cancer、PI3K-Akt 等信号通路来发挥治疗虚劳的作用。**结论** 揭示了“黄芪-当归”药对治疗虚劳的分子机制, 为黄芪及其组方的后续研究提供理论依据及参考。

关键词: 黄芪; 当归; 配伍规律; 网络药理学; 分子机制; 虚劳

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)21-5273-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.21.021

Compatibility law of *Astragali Radix* formulae and molecular mechanism of core herbal pair “*Astragali Radix-Angelica Sinensis*”

LI Xin-qi^{1,2,3}, GAO Yao^{1,3}, LI Ai-ping^{1,3}, LI Ke^{1,3}, LIU Yue-tao^{1,3}, QIN Xue-mei^{1,3}

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

3. Shanxi Key Laboratory of Active Constituents Research and Utilization of TCM, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: Objective To screen out the molecular mechanism of core herbal pair “*Astragali Radix-Angelica Sinensis*” for treating consumptive disease by using the Traditional Chinese Medicine Inheritance Support System (TCMISS) and network pharmacology. **Methods** The prescriptions and commonly used compatibility combinations containing *Astragali Radix*, and their main treatment of diseases were excavated from TCMISS database, and the core compatibility of “*Astragali Radix-Angelica Sinensis*” against consumptive disease was illustrated. The herb-ingredients-targets network was constructed through network pharmacology referring to Batman-TCM, GeneCards, OMIM, and so on. Meanwhile, the topology, cluster analysis, GO, and KEGG pathways analysis of the targets were performed. **Results** TCMISS database contained totally 459 prescriptions containing *Astragali Radix* involving 641 herbs. “*Astragali Radix-Angelica Sinensis*” was the core compatibility for the treatment of consumptive disease, which was consistent with ancient record and clinical medication. The results also showed that the process of immune response, oxidative stress, and signal transduction were its mainly molecular mechanism, by adjusting the pathways in cancer, PI3K-Akt signaling pathway to play its treating consumptive disease effect. **Conclusion** The paper revealed the molecular mechanism of “*Astragali Radix-Angelica Sinensis*”, and provided theoretical basis and reference for the follow-up study of *Astragali Radix* and its prescriptions.

收稿日期: 2019-04-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目: 基于药用植物化学型研究策略探索平裁黄芪化学和药效变异规律 (31770362)

作者简介: 李鑫琦 (1994—), 男, 硕士在读, 研究方向为中药复方药效作用研究。Tel: 18834199415 E-mail: lxq996559980@sina.com

*通信作者 秦雪梅, 博士, 教授, 主要从事中药质量控制及新药研发方面的工作。Tel: (0351)7011501 E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

刘月涛, 博士, 副教授, 主要从事中医药代谢组学研究方面的工作。Tel: (0351)7018379 E-mail: yuetaoliu@sxu.edu.cn

Key words: *Astragali Radix*; *Angelica Sinensis*; combination rules; network pharmacology; molecular mechanism; consumptive disease

黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根, 始载于东汉末年的《神农本草经》, 气微、味微甜, 嚼之有豆腥味, 具有补气升阳、固表止汗、生津养血、利水消肿、托毒生肌的功效, 中医常用于治疗气虚乏力、表虚自汗、气虚水肿、血虚萎黄、久溃不敛^[1]。临床上常与不同的中药配伍, 用于心血管、泌尿系统、血液肿瘤和消化系统等疾病的治疗^[2]。

中医药的特色体现于以中药复方的用药形式对疾病整体性的辨证论治, 注重“君、臣、佐、使”, 起到增效减毒的功效。药对是中药复方的核心, 是连接单味中药与方剂的桥梁。药对相比于复方, 药味更加简化, 更有利于阐明药物之间的相互作用及对机体的作用机制。现代研究认为药对配伍是中医药学研究的重要组成部分。网络药理学^[3]是基于系统生物学和多向药理学快速发展的基础上, 兼顾宏观与微观、整体与局部, 系统地研究中药与机体之间的交互关系, 为解释中药复方多成分、多靶点、多途径的整体调节机制提供了新思路。中医临床应用中, 黄芪常与其他中药配伍使用。诸多学者采用该方法系统地研究中药的分子机制, 如黄芪总黄酮治疗肾病综合征^[4]、黄芩抗炎作用^[5]、桔梗汤止咳去咳作用^[6]。

本研究借助中医传承辅助平台 2.5 版的《中药成方制剂》数据库, 运用数据挖掘的方法分析黄芪的组方规律, 发现含黄芪方剂中的核心组合, 通过网络药理学深入揭示黄芪核心药物组合的协同分子机制, 为黄芪临床配伍用药提供科学依据。

1 数据与方法

1.1 黄芪用药规律分析

1.1.1 含黄芪方剂疾病规律分析 以“黄芪”作为检索关键词(“蒙古黄芪”“膜荚黄芪”等均作为药物黄芪纳入检索结果)对《中药成方制剂》数据库中含有黄芪的方剂进行归纳整理, 并分析其主治疾病频次, 列出使用频次较高(>30)的疾病。

1.1.2 含黄芪方剂常用药物频次分析 对含黄芪方剂进行药物频次分析, 并依次列出使用频次较高(>100)的中药。

1.1.3 含黄芪方剂用药高频次核心组合分析 在含黄芪方剂常用药物频次分析项的基础上用关联规则挖掘方法, 将支持度设置为 25%(即该数据出现的频次至少占处方数的 25%)得到黄芪高频药物核心组合。

1.2 黄芪在虚劳方剂中的用药规律分析

经过上述分析发现黄芪在治疗虚劳方面应用最为广泛, 因此对主治疗虚劳的含黄芪的方剂进行深入分析。在含黄芪方剂中将“中医疾病”项设置为“虚劳”, 筛选有明确使用记载的方剂, 通过频次统计筛选使用频率较高(>20)的方剂。再基于关联规则挖掘方法对治疗虚劳的黄芪方剂进行分析, 将支持度设置为 35%, 对核心药物模式进行组方规律分析, 得到黄芪治疗虚劳的高频药物核心组合。

1.3 “黄芪-当归”核心组合药对分子机制研究

1.3.1 “黄芪-当归”核心组合药对成分作用靶点的筛选及预测 利用 Bioinformatics Analysis Tool for Molecular mechanism of Traditional Chinese Medicine (Batman-TCM, <http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)^[7]在线分析工具预测, 输入关键词“黄芪”和“当归”, 得到其活性成分信息及可能的作用靶点, 并选择其中高可信度高的蛋白作为靶点(prediction score cutoff>20)。

1.3.2 虚劳潜在作用靶点的筛选 运用在线文本发掘服务器 GeneCards^[8](<https://www.genecards.org/>)、人类孟德尔遗传 OMIM^[9](<http://www.omim.org/>)数据库输入关键词查找分析相关的人类基因。通过输入关键词“Consumptive Disease”得到与虚劳相关的作用靶点, 选择 Score 值排在前 10%的靶点作为虚劳靶点。

1.3.3 活性成分-作用靶点网络图的构建 分别构建“药材-药效成分”“药效成分-靶点”的相互关系, 将黄芪和当归的活性成分和作用靶点导入 Cytoscape 软件, 使用其 Tools-Network Analyzer 中的“generate style from statistics”工具将节点大小设置用于反映成分连接靶点个数的多少, 采用其关联(Merge)功能构建“黄芪-当归”-成分-靶点网络模型, 预测出“黄芪-当归”治疗虚劳发挥主要作用的作用靶点与主要的活性成分。

1.3.4 活性成分-作用靶点网络图的分析 对成分

靶点网络图进行拓扑分析。拓扑分析是运用 Cytoscape 软件中的工具 Network Analyzer 来得到中介中心度(betweenness centrality)和节点度(degree)这 2 个重要的网络拓扑参数,用以评价“黄芪-当归”靶点的重要性。

1.3.5 作用靶点富集分析网络图构建 生物学信息注释数据库 (DAVID 6.8: <https://david.ncifcrf.gov/>)^[10] 为大规模的基因或蛋白列表提供系统综合的生物功能注释信息,根据上述共有靶点能够找出最显著富集的生物学注释。将筛选得到的共有抗虚劳的作用靶点导入 DAVID 数据库,并将所有靶基因名称校正为其官方名称 (select identifier-official gene symbol),限定物种为人 (Background-Homo sapiens),列表类型设置为基因列表 (list type-gene list),设定阈值 $P < 0.05$,对“黄芪-当归”抗虚劳作用靶点进行生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 以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。保存涉及靶点数目排名前 20 的分析结果保存下来并用 GraphPad Prism 5 绘图。

2 结果与分析

2.1 含黄芪方剂组合规律

2.1.1 含黄芪方剂疾病规律 检索《中药成方制剂》数据库,含有“黄芪”的方剂共有 459 首,涉及 134 种主治疾病,其中使用频次较高 (>30) 的有 9 种疾病,多为烦劳过度、外感内伤、气血阴阳亏损引起的虚劳、不寐、心悸等 (表 1)。

2.1.2 含黄芪方剂常用药物频次 在 459 首方剂中,共涉及中药 641 味,使用频次较高 (>100) 的共有 14 味中药 (表 2)。黄芪常与当归、熟地黄、

表 2 含黄芪方剂常用药物使用频次

Table 2 Frequency of herbs in *Astragali Radix* formulae

编号	中药	频次
1	黄芪	459
2	当归	262
3	甘草	202
4	熟地黄	190
5	白术	189
6	茯苓	186
7	党参	182
8	白芍	154
9	川芎	140
10	人参	115
11	枸杞子	113
12	山药	109
13	陈皮	105
14	五味子	101

白术、党参等补血益气药物配伍使用,这与上述分析中黄芪用于治疗虚劳、眩晕、不寐等中医疾病结果相同。

2.1.3 含黄芪方剂用药高频核心组合 基于关联规则挖掘方法得到常用核心药物组合 33 个,其中 2 味药组合 21 个,3 味药组合 12 个 (表 3 和图 1)。

2.2 黄芪在虚劳方剂中的用药规律

筛选出明确记载治疗虚劳方剂 72 个共涉及药物 198 味,通过频次统计得出,含黄芪方剂在治疗虚劳时使用频率较高 (>20) 的中药有 10 味 (表 4)。再基于关联规则挖掘方法对治疗虚劳的黄芪方剂进行分析,在支持度为 35% 时,结果显示治疗虚劳的核心药物组合中使用频率最高的同样为“黄芪-当归” (表 5)。

通过上述分析发现在含黄芪方剂配伍中,使用频率最高的药材是当归。当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根,有浓郁的香气,味甘、辛、微苦,归肝、心、脾经,具有补血活血、调经止血、润肠通便的功效,用于血虚萎黄、眩晕心悸、月经不调、经闭痛经、肠燥便秘等^[1]。黄芪味甘长于补气,气足则血生,大补脾肺之气,以资生血之源。当归味重养血,其气轻而辛,故又可行血。两药相伍,阳生阴长,气旺血生,益气补血,是治疗气血亏损导致的虚劳、心悸等中医疾病之首选。这与对含黄芪方剂疾病分析的结果相符。除此之外,对含黄芪方剂治疗虚劳的用药规律进行分析,发现其治疗虚劳的核心组合依然是“黄芪-当归”。

表 1 含黄芪方剂主治疾病

Table 1 Syndromes treated by *Astragali Radix* formulae

编号	中医疾病名称	频次
1	虚劳	72
2	眩晕	71
3	不寐	64
4	心悸	51
5	健忘	50
6	遗精	45
7	月经失调	41
8	阳痿	39

表 3 含黄芪方剂用药高频核心组合分析

Table 3 Frequency of core combination in *Astragali Radix* formulae

编号	药物组合	频次	编号	药物组合	频次
1	黄芪、当归	262	18	白术、甘草	119
2	黄芪、甘草	202	19	熟地黄、甘草	118
3	熟地黄、黄芪	189	20	熟地黄、茯苓	116
4	黄芪、白术	189	21	人参、黄芪	115
5	黄芪、茯苓	185	22	黄芪、甘草、当归	160
6	党参、黄芪	182	23	熟地黄、黄芪、当归	152
7	甘草、当归	160	24	黄芪、白术、当归	149
8	黄芪、白芍	154	25	黄芪、当归、茯苓	144
9	熟地黄、当归	152	26	川芎、黄芪、当归	126
10	白术、当归	149	27	黄芪、当归、白芍	125
11	当归、茯苓	144	28	党参、黄芪、当归	122
12	川芎、黄芪	140	29	黄芪、白术、茯苓	122
13	川芎、当归	126	30	黄芪、甘草、茯苓	121
14	当归、白芍	125	31	黄芪、白术、甘草	119
15	党参、当归	122	32	熟地黄、黄芪、甘草	118
16	白术、茯苓	122	33	熟地黄、黄芪、茯苓	116
17	甘草、茯苓	121			

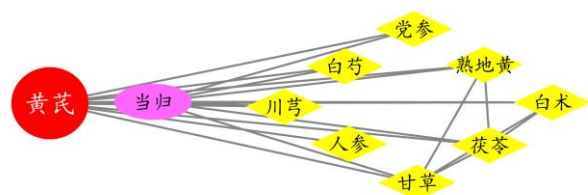


图 1 含黄芪常用药物组合网络

Fig. 1 Network on common combinations in *Astragali Radix* formulae

虚劳又称虚损，是以脏腑亏损，气血阴阳虚衰，久虚不复为主要病机，临床分为气血亏虚证、心肺两虚证、脾胃虚弱证、肝肾亏虚证 4 种基本证型，是多种慢性虚弱证候的总称^[1]。其具有病程长、病情

表 4 治疗虚劳的含黄芪方剂常用药物使用频次

Table 4 Frequency of common herbs in *Astragali Radix* formulae for treating consumptive disease

编号	中药	频次
1	黄芪	71
2	当归	41
3	熟地黄	40
4	白术	33
5	茯苓	33
6	党参	33
7	甘草	29
8	白芍	24
9	枸杞子	22
10	五味子	20

表 5 治疗虚劳的含黄芪药物组合

Table 5 Frequency of combination in *Astragali Radix* formulae for treating consumptive disease

编号	药物组合	频次	编号	药物组合	频次
1	黄芪、当归	41	12	黄芪、白术、当归	27
2	熟地黄、黄芪	40	13	白术、甘草	26
3	党参、黄芪	33	14	白术、茯苓	26
4	黄芪、白术	33	15	甘草、当归	26
5	黄芪、茯苓	33	16	黄芪、白术、甘草	26
6	当归、茯苓	30	17	黄芪、白术、茯苓	26
7	黄芪、当归、茯苓	30	18	黄芪、甘草、当归	26
8	黄芪、甘草	29	19	白术、当归、茯苓	26
9	熟地黄、当归	27	20	黄芪、白术、当归、茯苓	26
10	白术、当归	27	21	熟地黄、白术	25
11	熟地黄、黄芪、当归	27	22	熟地黄、黄芪、白术	25

重、恢复慢的特点,临床上多以补益为基本原则疏肝、健脾、补肾填髓、固护胃气以扶正固本,恢复虚损的脏腑阴阳气血,促进虚劳的康复。

“黄芪-当归”治疗虚劳由来已久,黄芪治疗虚劳,可以发挥其补气、生津、养血之功;当归治疗虚劳,可以发挥其补血之功,改善血虚状态。这一核心药对在我国历代方剂医案中均有记载,其中最早见于《陈素庵妇科补解》:“由炙黄芪一两,当归(去尾)一两组成。主治妇人气虚血少,经水三月一来,名曰居经”。医家名著《傅青主女科》共记载 178 首方,含黄芪、当归的方剂就有 38 首,其中治疗产后病的方剂就有 20 首^[12]。而由这 2 味药物组成的当归补血汤,自古被誉为补气生血之圣方,最为出名的为金元时期李东垣的《内外伤辨惑论》:“用黄芪一两,酒洗当归二钱。主治肌热,燥热,目赤面红,其脉洪大而虚,重按全无”。

在当今的中医临床治疗中也常应用“黄芪-当归”药对治疗虚劳,且有不错的疗效。陈水昌等^[13]在临床上以本方治疗骨折后血虚发热取得较好的治疗效果,治疗组总有效率 96.43%,对照组总有效率 75%,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。黄旭春等^[14]研究了傅青主“加减当归补血汤”治疗更年期崩漏的疗效,发现 30 例中有效 26 例,无效 4 例,总有效率 86.67%。其在临床上还用于减轻心肌缺血、缺氧损伤,改善微循环及减轻慢性疲劳症,以及用于气虚血弱病症、肝损伤、糖尿病肾病、子宫肌瘤等的治疗^[15-16]。

2.3 “黄芪-当归”核心组合药对分子机制探讨

2.3.1 “黄芪-当归”核心组合药对筛选的成分及靶点 在 Batman-TCM 数据库中,输入关键词“黄芪”“当归”,分别得到 35、134 个相关成分,去除没有

对应靶点的成分之后分别得到 24、97 个成分;设置 Prediction score cutoff>20 分别得到 579、6 935 个靶点,分别去除重复之后得到 424、1 272 个靶点;再次去除二者的重复靶点,总共得到 1 412 个靶点。

2.3.2 虚劳潜在作用靶点的筛选 通过 GeneCards、OMIM 数据库共查找到 339 个虚劳的相关疾病靶点,其与 1 412 个成分靶点取交集之后获得 127 个“黄芪-当归”药对治疗虚劳的潜在作用靶点,即“黄芪-当归”-虚劳靶点。

2.3.3 活性成分-作用靶点网络图 采用 Cytoscape 软件构建“黄芪-当归”-靶点-虚劳的网络模型。该网络有 324 个节点(包括 2 个中药、105 个成分、127 个靶点)和 1 066 条边(图 2)。其中绿色节点代表中药、浅蓝色节点代表成分、黄色节点代表靶点、边代表相互作用关系,圆中矩阵分别代表 degree 值排名前 30 的成分与靶点,degree 值越大说明与之相连的节点数越多,节点所表示的物质就越重要,二者之间呈正相关。图中浅蓝色节点代表成分,节点越大代表成分的 degree 值越大,degree 排名前 5 的成分香芹酚、4-乙基间苯二酚、间乙苯酚、对乙基苯酚的 degree 值为 30,苯乙酸的 degree 值为 27,因此可能是“黄芪-当归”发挥药效的成分。

2.3.4 活性成分-作用靶点网络图的拓扑分析 根据中介中心度和节点度来度量节点在网络中的重要性,在网络模型中,1 个节点度表示网络中和节点相连的路线的条数。据网络的拓扑学性质筛选度较大的节点进行分析,这些连接化合物或靶点较多的节点在整个网络中起到枢纽的作用,可能就是关键的化合物或者靶点。“黄芪-当归”共有抗虚劳靶点相互作用网络中拓扑属性分析前 30 的靶点见表 6。

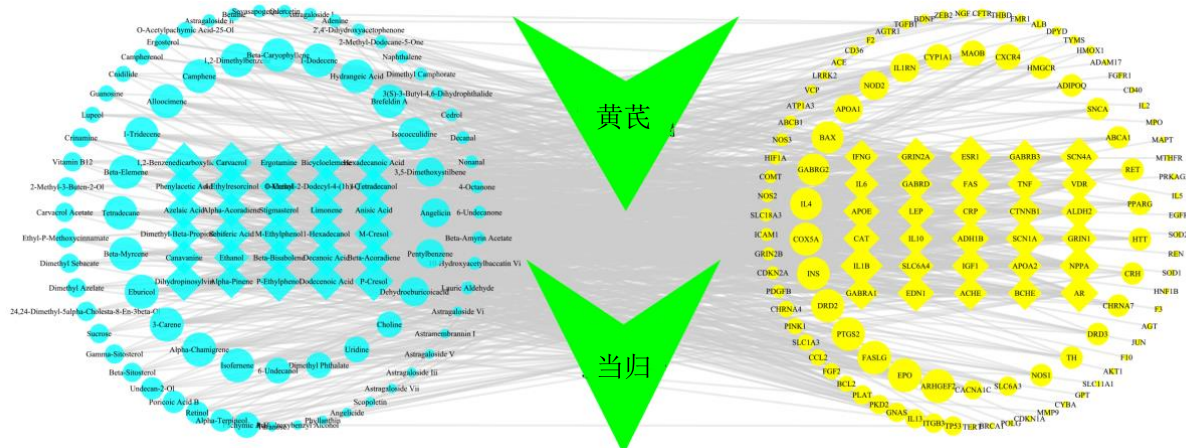


图 2 “黄芪-当归”成分-靶点网络

Fig. 2 Ingredients-targets-network of *Astragali Radix-Angelica Sinensis*

表 6 “黄芪-当归”共有抗虚劳靶点的拓扑属性分析 (连接度前 30)

Table 6 Analysis of topological properties of *Astragali Radix-Angelica Sinensis* (degree top 30)

编号	靶点	连接度	介度	编号	靶点	连接度	介度
1	IL1B	35	0.055 6	16	GRIN1	18	0.010 1
2	ESR1	32	0.028 7	17	VDR	17	0.013 0
3	NPPA	28	0.015 1	18	SLC6A4	17	0.023 8
4	FAS	28	0.010 9	19	TNF	15	0.015 0
5	SCN1A	26	0.016 3	20	IL6	14	0.007 6
6	SCN4A	25	0.015 3	21	BCHE	13	0.002 7
7	AR	24	0.023 2	22	ACHE	13	0.002 7
8	GRIN2A	24	0.011 5	23	CRP	13	0.003 3
9	ADH1B	22	0.002 1	24	IFNG	13	0.018 9
10	IGF1	22	0.004 0	25	GABRB3	13	0.003 3
11	EDN1	21	0.005 5	26	GABRA1	13	0.009 4
12	ALDH2	21	0.001 4	27	IL10	13	0.002 7
13	LEP	21	0.004 2	28	CTNNB1	13	0.002 7
14	CAT	20	0.000 6	29	GABRD	12	0.002 3
15	APOE	20	0.000 6	30	APOA2	12	0.003 4

将表 6 与“黄芪-当归”共有虚劳靶点相互作用网络(图 2)结合分析可知,排名靠前靶点是白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、雌激素受体 1(estrogen receptor 1, ESR1)、利钠肽 A(natriuretic peptides A, NPPA)、脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)和钠通道蛋白 1 型亚基(SCN1A),分别能与 35、32、28、28、26 个化合物发生相互作用,其可能是“黄芪-当归”干预虚劳发挥作用的靶点。

2.3.5 基因 GO 与通路富集分析 将“黄芪-当归”共有抗虚劳的 127 个靶点通过 DAVID 数据库进行 GO 分析和 KEGG 分析。GO 富集分析(图 3)包括生物过程、细胞组分和分子功能。生物过程见图 3,可以看出这些靶点主要涉及基因、蛋白及小分子代谢过程的调节和外部刺激反应的调节,具体包括细胞增殖及凋亡的调节、炎症反应、GTP 酶活性的调节、基因表达、信号传导、免疫应答、神经元凋亡及氧化还原过程等方面。细胞组分涉及细胞质及质膜、细胞膜组分、胞质溶胶、细胞外体、线粒体、内质网等。分子功能涉及蛋白结合、酶结合以及相关活性因子等方面。

通路分析结果如图 4 所示,“黄芪-当归”治疗虚劳主要涉及的信号传导通路有 5 条:PI3K-Akt、MAPK、HIF-1、Rap1、TNF;信号分子和交互通路有 2 条:cytokine-cytokine receptor interaction、

neuroactive ligand-receptor interaction;人体疾病通路有 8 条,可以分为癌症相关通路 3 条: pathways in cancer、proteoglycans in cancer、microRNAs in cancer;传染病相关通路 2 条:chagas disease、HTLV-I infection;内分泌代谢疾病相关通路 2 条: non-alcoholic fatty liver disease、Alzheimer's disease;免疫系统相关通路 1 条: inflammatory bowel disease。表明“黄芪-当归”主要活性成分的作用靶点主要分布于不同的代谢通路,多成分、多靶点相互作用是其治疗虚劳的可能作用机制。

3 讨论

中医传承辅助平台是基于数据挖掘理论结合中医药信息非标准化与个性化的特点所开发出的一款软件,集合数据统计、文本挖掘、关联规则等多种分析方法,可以系统地获取中药配伍规律信息,实现对疾病、证候、中药、方剂、医案及其相关信息的管理、检索和分析^[17-18]。本研究借助中医传承辅助平台对含黄芪的方剂进行药物频次分析、组方规律分析,明确“黄芪-当归”药对为黄芪治疗虚劳的核心组合。运用网络药理学对核心组合药对“黄芪-当归”治疗虚劳的分子机制进行探讨,发现其可通过调节 pathways in cancer、PI3K-Akt signaling pathway、cytokine-cytokine receptor interaction、proteoglycans in cancer、MAPK signaling pathway 等

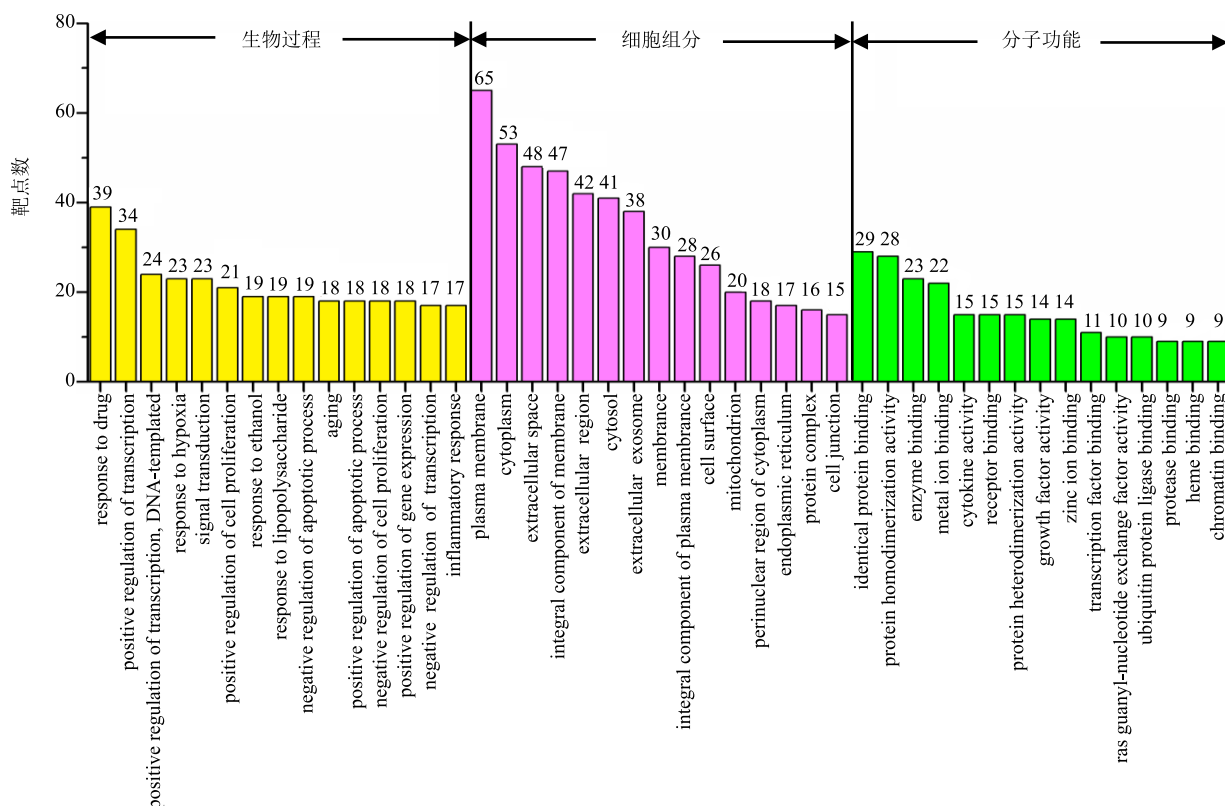


图 3 “黄芪-当归”活性成分治疗虚劳潜在靶点的生物功能分析

Fig. 3 Biological function analysis of potential target of *Astragali Radix-Angelica Sinensis* in treatment of consumptive disease

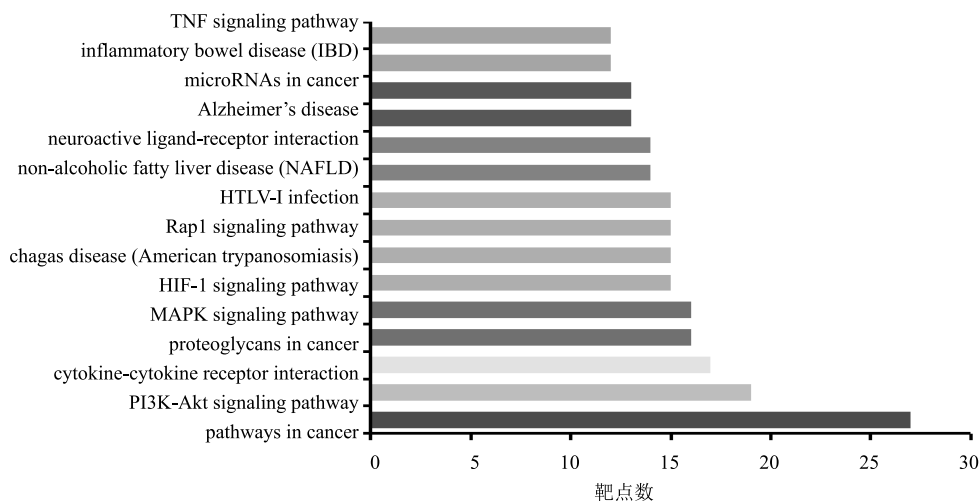


图 4 “黄芪-当归”治疗虚劳潜在靶点的 KEGG 通路分析

Fig. 4 Enriched KEGG pathways of potential targets of *Astragali Radix-Angelica Sinensis* in treatment of consumptive disease

信号通路来发挥治疗虚劳的作用。

网络拓扑分析结果表明 IL-1 β 、ESR1、NPPA、FAS、SCN1A 是“黄芪-当归”干预虚劳作用可能的靶点。IL-1 β 是白细胞介素家族的一员，是炎症反应的重要介质，能够参与细胞增殖、分化和凋亡等多种细胞活动。Mark 等^[19]研究得出 IL-1B 活性升

高能够增强脂肪细胞炎症反应，促进脂质代谢。ESR1 是一种配体激活的转录因子，对性发育及生殖功能至关重要，能够和其配体（雌激素）结合激发雌激素受体信号转导通路，从而影响乳腺上皮细胞的增殖、分化和凋亡^[20]。NPPA 是一种有效的血管扩张剂，可预防治疗心血管系统疾病^[21-22]。FAS

在脂肪酸合成中起关键作用,催化乙酰辅酶 A 和丙二酰辅酶 A 生成长链脂肪酸,活性异常会引起代谢紊乱^[23-24]。SCN1A 基因位于常染色体上,主要在抑制性中间神经元胞体或树突上表达,在部分中间神经元起始轴突上也有表达,其突变会造成钠离子通道及功能改变,神经兴奋增加进而造成同步化放电进而诱发惊厥、癫痫等神经系统疾病^[25-26]。

富集分析结果表明,靶基因涉及细胞死亡调控、调节细胞增殖和氧化应激等生物过程;涉及细胞质、细胞膜、线粒体等细胞组分;涉及酶结合、蛋白激酶活性等分子功能。有研究发现,“黄芪-当归”药对能够调控 TGF- β_1 /CTGF mRNA 表达抗大鼠肾纤维化^[27],通过调节抗凋亡因子 Bcl-2 和促凋亡因子 Bax 抑制细胞凋亡阻止蛋白丢失来改善废用性肌萎缩^[28],抑制核转录因子- κ B (NF- κ B) 干预糖尿病大鼠血管病变^[29]。马文静等^[30]证明当归补血汤可以通过下调 p38 蛋白激酶的活性从而阻断该通路的级联作用来减轻动脉粥样硬化炎症反应。

通路分析结果表明靶基因主要涉及磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K-Akt)、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、GTPase 蛋白 (Rap1)、癌症通路等信号通路、癌症通路以及免疫相关通路。秦臻等^[31-32]研究发现当归补血汤可能通过 PI3K-Akt 通路调节外周血内皮祖细胞的增殖。PI3K-Akt 和 MAPK 这 2 条信号通路在缺血性脑损伤中发挥重要作用,在一定条件下,这两条信号通路的激活可以通过胱天蛋白酶-3 (CASP3)、NF- κ B、细胞外信号调节激酶有效抑制神经元细胞的凋亡而发挥脑保护作用^[33]。张志斌等^[34-35]发现当归补血汤可能通过下调半胱氨酸蛋白酶-8 (Caspase-8) 和 Bcl-2、Bax 基因的表达,从死亡受体通路和线粒体通路抑制大鼠动脉内皮细胞凋亡。汪正广等^[36]研究揭示黄芪提取物联合 5-氟尿嘧啶/顺铂能够抑制人胃癌细胞的增殖,并促进其凋亡。袁国红等^[37]研究表明当归补血汤会增强小鼠的免疫功能。

综上,本研究利用网络药理学从药物靶点映射到生物过程、代谢通路,所预测结果都与相关实验文献报道相吻合,验证了本次结果的准确性,也揭示了“黄芪-当归”药对治疗虚劳的多成分、多靶点、多通路的机制特点,为黄芪及其组方的后续研究提供理论依据及参考。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.

- [2] 杨 柳, 李爱平, 张王宁, 等. 黄芪及含黄芪经方在治疗肾病方面的药理作用及临床应用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(14): 3419-3424.
- [3] Hopkins A L. Network pharmacology: The next paradigm in drug discovery [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(11): 682-690.
- [4] 张王宁, 高 耀, 李 科, 等. 基于网络药理学的黄芪总黄酮治疗肾病综合征的机制研究 [J]. 药学报, 2018, 53(9): 47-59.
- [5] 雷奇林, 黄雅兰, 钟 茜, 等. 基于网络药理学的黄芩抗炎作用机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(15): 72-79.
- [6] 单进军, 杨 瑞, 张新庄, 等. 桔梗汤止咳祛痰的网络药理学研究 [J]. 中草药, 2018, 49(15): 3501-3508.
- [7] Liu Z, Guo F, Wang Y, *et al.* BATMAN-TCM: A bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine [J]. *Sci Rep*, 2016, doi: 10.1038/srep21146.
- [8] Davis A P, Grondin C J, Johnson R J, *et al.* The comparative toxicogenomics database: Update 2017 [J]. *Nucl Acid Res*, 2016, 45(D1): D972-D978.
- [9] Whirl-Carrillo M, McDonagh E M, Hebert J M, *et al.* Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2012, 92(4): 414-417.
- [10] Huang D W, Sherman B T, Lempicki R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources [J]. *Nat Protocol*, 2008, 4(1): 44-57.
- [11] 范铁兵, 杨志旭. 虚劳 (重症迁延期) 证治体会 [J]. 中国中医急症, 2019, 28(2): 296-298.
- [12] 许燕妮, 吴江峰, 丁 舸. 当归-黄芪药对在方剂配伍中的意义 [J]. 江西中医药, 2018, 49(7): 73-74.
- [13] 陈水昌, 林金洪. 当归补血汤在骨折术后血虚发热患者中的应用 [J]. 实用中西医结合临床, 2016, 16(6): 23-24.
- [14] 黄旭春, 王泳俨, 王小云. 傅青主“加减当归补血汤”治疗更年期崩漏 30 例 [J]. 中国药业, 2012, 21(16): 86-87.
- [15] 冒有平. 当归补血汤方剂分析及应用 [J]. 中国实用医药, 2018, 13(24): 195-196.
- [16] 孙丽霞, 方南元, 周玲玲, 等. 当归补血汤及拆方对大鼠免疫性肝损伤的治疗作用 [J]. 南京中医药大学学报, 2014, 30(2): 150-152.
- [17] 刘 凯, 王艳国. 中医传承辅助平台在中医药研究中应用现状 [J]. 山东中医杂志, 2015, 34(5): 392-394.
- [18] 卢 朋, 李 健, 唐仕欢, 等. 中医传承辅助系统软件开发与应用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 1-4.
- [19] Mark P J, Wyrwoll C S, Zulkafli I S, *et al.* Rescue of glucocorticoid-programmed adipocyte inflammation by

- omega-3 fatty acid supplementation in the rat [J]. *Rep Biol Endocrinol*, 2014, doi: 10.1186/1477-7827-12-39.
- [20] 高海玉, 吴 爽, 高世勇, 等. 乳腺癌雌激素受体信号通路研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2016, 32(6): 641-645.
- [21] Eschenhagen T, Carrier L. Cardiomyopathy phenotypes in human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes—a systematic review [J]. *Pflügers Archiv European J Physiol*, 2019, 471(5): 755-768.
- [22] Revhaug C, Zasada M, Rognlien A G W, et al. Pulmonary vascular disease is evident in gene regulation of experimental bronchopulmonary dysplasia [J]. *J Maternal-Fetal Neonatal Med*, 2018 doi: 10.1080/14767058.2018.1541081.
- [23] Jones S F, Infante J R. Molecular pathways: Fatty acid synthase [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(24): 5434-5438.
- [24] 骆惊涛, 李 强. 脂肪酸从头合成代谢重编程与肿瘤的发生发展 [J]. 中国肿瘤临床, 2017, 44(18): 939-943.
- [25] 吴江红, 任栓成, 杨秀明, 等. 电压门控钠离子通道与癫痫 [J]. 临床与病理杂志, 2014, 33(3): 240-245.
- [26] 李 容, 胡 越. SCN1A 基因突变引起 Dravet 综合征临床特点分析 [J]. 现代医药卫生, 2018, 34(22): 3500-3503.
- [27] 牛 莉, 于泓苓. 中药当归的化学成分分析与药理作用研究 [J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2018, 6(21): 90-92.
- [28] 李 洋. 不同配伍比例的黄芪当归药对对废用性肌萎缩的影响 [D]. 西安: 西北大学, 2015.
- [29] 阴永辉. 黄芪甲苷与阿魏酸抑制 NF- κ B 信号途径干预糖尿病大鼠大血管病变的作用及机制 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2014.
- [30] 马文静, 孙 璐, 孙 娟, 等. 当归补血汤及当归黄芪提取部位组合物对 P38MAPK 信号转导通路的研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2009, 7(7): 807-808.
- [31] 秦 臻, 黄水清. 当归补血汤对动脉粥样硬化兔内皮祖细胞及血清 VEGF, SDF-1 的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2012, 28(2): 211-215.
- [32] 秦 臻, 黄水清. 当归补血汤含药血清对内皮祖细胞功能及其 PI3K/Akt 通路影响的研究 [J]. 中国药理学通报, 2013, 29(9): 1320-1323.
- [33] 郁 迪, 莫绪明. PI3K/Akt 和 MAPK 信号通路在缺血性脑损伤中的保护作用 [J]. 医学综述, 2015, 21(2): 210-213.
- [34] 张志斌, 陆 曙, 周春刚, 等. 当归补血汤不同配比组方抗动脉血管内皮细胞凋亡作用 [J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(5): 1031-1033.
- [35] 张志斌, 陆 曙, 周春刚, 等. 当归补血汤对大鼠动脉内皮细胞凋亡的干预作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3): 215-218.
- [36] 汪正广. 黄芪提取物联合 5-Fu/CDDP 治疗胃癌及 IL-6/STAT3 信号通路在其机制中的作用研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2013.
- [37] 袁国红. 当归补血汤增强小鼠免疫功能的实验研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2006.