

基于拓扑指数的 QSAR 法探讨脑泰方中抗脑血栓关键活性成分簇

张玉超^{1,2}, 钟鹏英^{1,2}, 夏凡^{1,2}, 李世雄^{1,2}, 李璎峪^{1,2}, 葛金文¹, 刘文龙^{1,2*}, 张喜利^{1,2*}

1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

2. 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208

摘要: 目的 基于定量构效关系 (quantitative structure-activity relationship, QSAR) 法探讨脑泰方中抗脑血栓的关键活性成分簇。方法 利用中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 及检索国内外相关文献, 整理脑泰方单味中药和抗血栓化学药的化学成分信息集, 计算各类化学成分的 0~8 阶/8 种子图类型的分子连接性指数 (molecular connectivity index, MCI) 并构建相应矩阵, 运用夹角余弦法分别对脑泰方中成分与抗血栓化学药之间的 MCI 相似度进行评价, 并利用 Sybyl-X2.1 软件将相似度排名前 5 的成分与核心靶点对接验证。结果 脑泰方中所含成分与抗血栓化学药的 MCI 相似度在 0.300 6~0.997 8, 其中毛蕊异黄酮 (0.996 1)、洋川芎内酯 M (0.997 8)、白僵菌素 (0.996 9)、肌苷 (0.992 7) 为脑泰方中相似度最大的成分簇, 且与脑血栓相关蛋白的 total score ≥ 5 , 显示出较强的结合能力。推断出黄芪中的黄酮类化合物毛蕊异黄酮、川芎中的苯酞类化合物洋川芎内酯 M、僵蚕中的氨基酸类化合物白僵菌素、地龙中的核苷类化合物肌苷为脑泰方中发挥抗血栓作用的主要活性分子簇。结论 所建立的基于 MCI 相似度评价法能科学地高通量筛选中药及复方功效活性成分簇, 与现有的网络药理学等研究方法相得益彰, 也为中西药结合研究提供新的思路。

关键词: 定量构效关系法; 分子连接性指数; 相似度评价; 脑泰方; 抗脑血栓; 分子对接; 毛蕊异黄酮; 洋川芎内酯; 白僵菌素; 肌苷

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)03-0877-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.03.022

Exploration of key active component clusters in Naotaifang for anticerebral thrombosis by QSAR method based on topological index

ZHANG Yu-chao^{1,2}, ZHONG Peng-ying^{1,2}, XIA Fan^{1,2}, LI Shi-xiong^{1,2}, LI Ying-yu^{1,2}, GE Jin-wen¹, LIU Wen-long^{1,2}, ZHANG Xi-li^{1,2}

1. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Hunan Key Laboratory of Druggability and Preparation Modification of TCM, Changsha 410208, China

Abstract: Objective To explore the key active component clusters in Naotaifang (脑泰方) for anti-cerebral thrombosis based on quantitative structure-activity relationship (QSAR) method. **Methods** The chemical composition information set from single TCM in Naotaifang and antithrombotic western medicines were sorted out by using the Traditional Chinese Medicine System Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and relevant literatures at home and abroad, and the molecular connectivity index (MCI) matrix of 0-8 order/8 seed map types of various chemical components was calculated. The MCI similarity between the components in Naotaifang and antithrombotic western medicines were evaluated by the included angle cosine method, and Sybyl-X2.1 software was used to verify the docking of the top five components with the core targets. **Results** The MCI similarity between the components contained in Naotaifang and antithrombotic western medicines ranged from 0.300 6 to 0.997 8. Among them, calycosin (0.996 1), senkyunolide M (0.997 8), beauvericin (0.996 9) and inosine (0.992 7) were the components with the highest similarity in Naotaifang, and the total score of cerebral thrombosis-related proteins was ≥ 5 , showing strong binding ability. It was inferred that calycosin of flavonoids in Huangqi (*Astragali Radix*), senkyunolide M of phthalide compounds in Chuanxiong (*Chuanxiong Rhizoma*), beauvericin

收稿日期: 2022-10-26

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81874344); 湖南省自然科学基金项目 (2021JJ30514); 湖南省中医药管理局项目 (2021073); 湖南省中医药管理局项目 (2021204); 长沙市自然科学基金项目 (kq2208191)

作者简介: 张玉超, 女, 硕士研究生, 从事中药质量研究。Tel: 17769452312 E-mail: 2547622103@qq.com

*通信作者: 刘文龙, 教授, 博导, 从事中药质量与药剂学等研究工作。Tel: 13974821547 E-mail: dragon5240@126.com

张喜利, 硕士, 副教授, 研究方向为中药成药性研究。E-mail: xiaoli610@126.com

of amino acid compounds in Jiangcan (*Bombyx Batryticatus*), and inosine of nucleoside compounds in Dilong (*Pheretima*) were the main active molecular clusters of Naotafang for antithrombotic effect. **Conclusion** The MCI-based similarity evaluation method established in this paper can scientifically screen the active ingredient clusters of TCM and compound prescriptions with high throughput, which complements the existing research methods such as network pharmacology, and also provides new ideas for the combination of Chinese and Western medicine.

Key words: QSAR; molecular connectivity index; similarity evaluation; Naotafang; anticerebral thrombosis; molecular docking; calycosin; senkyunolide M; beauvericin; inosine

化合物的生物效应、理化性质与其结构之间存在一定关联性,而拓扑指数则是能定量表征化合物构效关系的一种参数。在定量构效关系(quantitative structure-activity relationship, QSAR)研究^[1]中,以拓扑指数为基础建立化学结构与其生物效应和理化性质之间关系的方法被广泛应用,如预测化合物活性、设计人工合成活性药物^[2]等。分子连接性指数(molecular connectivity index, MCI)是由 Randic 于 1975 年提出并由 Kier 和 Hall 等人发展形成的新的拓扑学参数。MCI 能够对分子进行定量描述(如大小、分支、环、不饱和度、杂原子等),充分反映分子的连接信息和化学环境,与分子的多种理化性质(液体密度、沸点、水溶性、油水分分配系数、溶解度、极化率等)及生物效应(麻醉活性、酶抑制活性、抗菌活性、致幻活性、毒性等)密切相关^[3-7]。目前研究表明 MCI 可以与化合物色谱相对保留时间^[8]、生物降解速率^[9]、脑梗死面积^[10]、抗新冠病毒活性^[11]等相关联,具有较强的预测能力。

近年来,心脑血管疾病发病率逐年上升,严重威胁人类的身体健康。研究表明血栓的形成是心脑血管疾病的主要病因。脑卒中是一种急性脑血管疾病,卒中发病率在我国总体呈现不断上升的趋势^[12],是全球第 2 大死因^[13]。一般认为脑血栓的形成是由于动脉血管壁病变,多表现为动脉粥样硬化以及斑块形成,阻塞血管引起颈动脉狭窄,导致相应脑部供血区供血不足^[14]。西医多采用溶栓、抗血小板聚集、降纤、脑保护等方法进行治疗^[15]。中医药理论认为,脑血栓属于“中风”范畴,其形成与“风、虚、火、痰、瘀”密切相关^[16]。病理机制属于阴阳失调、气血逆乱。故中医药治疗脑血栓多为减少脑部血液瘀滞、改善脑组织微循环、促进神经元功能的恢复^[17]。

中药复方脑泰方又名芪龙方,是湖南中医药大学葛金文教授基于中医基础理论,在补阳还五汤基础上结合临床经验加减药味而成。脑泰方由黄芪、川芎、僵蚕、地龙 4 味中药构成,其中黄芪为君药,川芎为臣药,僵蚕和地龙为佐药,具有活血益气、

通络化痰的功效,常用于治疗气虚血瘀型脑梗死,临床疗效显著^[18-19]。近年来的相关研究表明,脑泰方的作用机制是抗血小板活化、抗血栓形成,降低全血黏度^[20];通过靶向激活 Notch 信号通路、促进小神经胶质细胞(microglia, MG)极化等增强神经元抗凋亡能力^[21];抑制白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)/信号转导和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)信号通路达到抗炎性作用^[22];上调热休克因子 1/热休克蛋白 B1(heat shock factor 1/heat shock proteins B1, HSF1/HSPB1)通路调控铁代谢稳态平衡,以及调控脂质氧化-铁代谢通路来抑制神经元铁死亡等。然而脑泰方发挥抗脑血栓作用的有效成分群(簇)却鲜有报道。

本研究以中药复方脑泰方为模型中药,以能多方位定量表征分子结构特征的多层级 MCI 为窗口,利用自编软件计算 0~8 阶/8 种子图类型 MCI 值,每个成分可计算获得 72 个 MCI 值,此 72 个 MCI 值从不同角度、不同程度定量描述了相应分子的结构特征。倘若有 n 个成分即可构成 $n \times 72$ 的矩阵,采用夹角余弦法计算各成分两两之间的相似度,以捕捉 2 种化学成分的结构差异性。与目前公认的疗效确切的化学药进行相似度分析,根据构效关系规律便可高通量筛选出潜在的中药活性成分簇。

1 材料与方法

1.1 脑泰方成分 MCI 的计算

1.1.1 脑泰方化学成分收集 检索中药系统药理学数据库与分析平台 TCMSP^[23],查阅国内外与脑泰方的相关文献报道^[24-31],分别总结出黄芪 63 种、川芎 88 种、僵蚕 53 种、地龙 49 种化学成分及其结构信息。根据中药有效成分特征对上述 253 种成分进行分类。

1.1.2 抗血栓化学药信息收集 根据脑泰方的药理作用,查阅《中国药典》2020 年版^[32]及相关文献报道^[33-34],找到相应抗血栓化学药(阿司匹林、氯吡格雷、双嘧达莫、依达拉奉、华法林)及其化学

结构信息。

1.1.3 MCI 及其相似度计算 MCI 是在 Randic 分支基础上发展起来的点价计算方法，是研究 QSAR 的有效手段。目前本团队已有软件程序可计算 0~8 阶 MCI。本研究通过实验室自编 MCI 软件完成各成分 MCI 的 0~8 阶的计算，其通用公式如下。

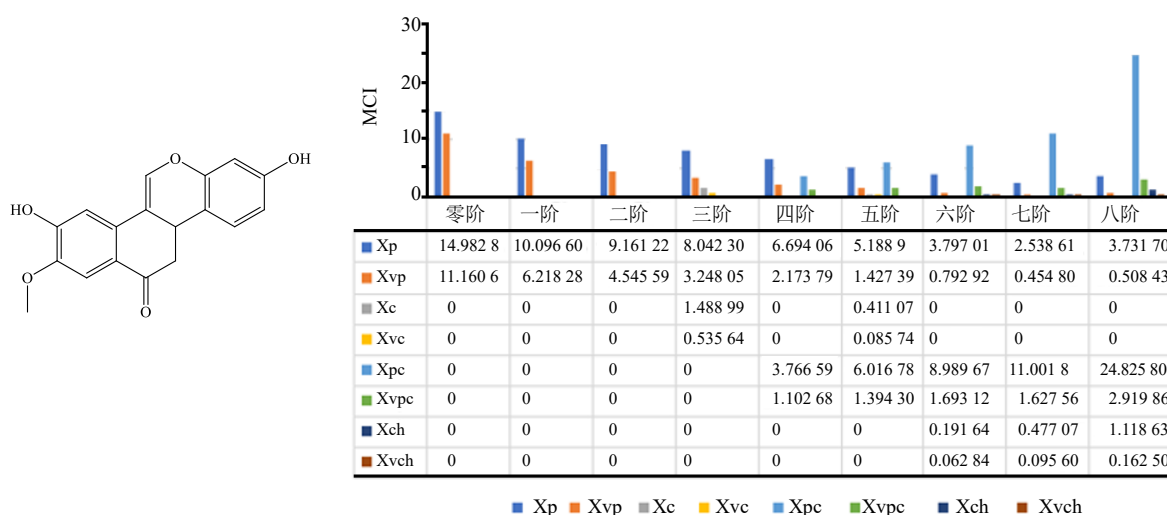
$$^mX_t = \sum_{s=t}^{N_m m+1} (\delta_i)_s^{1/2}$$

mX_t 为 m 阶的 MCI； t 代表子图类型数； s 为 m 阶项下 $m+1$ 非氢原子的组合形式； δ 为原子 i 的非原子点价，即与原子 i 相连接的其他非氢原子数目； N_m 为阶数为 m 的 t 类型子图的数目

随着阶数 m 的增高， mX_t 表达的结构信息能力

亦增强，可获得 $m \times t$ 的矩阵数据信息集。本研究阶数为 0~8 阶，类型子图 t 为 8，能获得 72 个 MCI 数据信息集（以毛蕊异黄酮为例，其 MCI 计算数据集见图 1），按图 1 的方法可获得 18 576（258×72）个 MCI 值。对于两两 72 个 MCI 数据信息集可按夹角余弦法计算其相似度，从而推断脑泰方中发挥与化学药相似药理作用的化合物类群。将两矩阵看成是二维数组向量，任意矩阵数组元素为 a_{ij} 和 b_{ij} ，相似度^[35]的公式如下。

$$\cos \theta = \frac{\sum_{i=1}^{N_m} \sum_{j=1}^t (a_{ij} b_{ij})}{\left(\sum_{i=1}^{N_m} \sum_{j=1}^t (a_{ij}^2) \sum_{i=1}^{N_m} \sum_{j=1}^t (b_{ij}^2) \right)^{1/2}}$$



Xp、Xvp、Xc、Xvc、Xpc、Xvpc、Xch、Xvch 表示不同子图路径
Xp, Xvp, Xc, Xvc, Xpc, Xvpc, Xch, Xvch indicate different subgraph paths

图 1 毛蕊异黄酮结构及 0~8 阶 MCI

Fig. 1 Structure of calycosin and MCI of order 0 to 8

1.2 分子对接及网络药理学研究

1.2.1 脑泰方化合物筛选及靶点预测 通过前期 MCI 相似度的计算筛选出脑泰方 20 个活性成分，利用 TCMSP 数据库、Swiss target 数据库预测活性成分的靶点，汇总后剔除重复项。

1.2.2 疾病靶点蛋白的获取 在 Genecards 数据库（<https://www.genecards.org/>）检索“cerebral thrombosis”，以相关性系数≥10 为筛选条件，核实靶点基因名，搜索蛋白质 PDB 数据库（<https://www.rcsb.org/>），选取与抗脑血栓相关的关键靶点蛋白，得到其 3D 结晶结构，所有蛋白均来源于人种。

1.2.3 交集治疗靶点蛋白质相互作用（protein-protein interaction, PPI）网络的构建 应用韦恩图

分析得到脑泰方与抗脑血栓的交集靶点，将交集靶点导入 STRING 蛋白数据库（<https://cn.string-db.org/>）分析，将物种设置为“Homo sapiens”，combined score>0.4 为筛选条件，得到交集靶点的 PPI 网络。用 Cytoscape（version 3.9.1）对交集靶点的 PPI 网络进行分析，利用“Network Analyzer”模块计算度（degree）值，按照度值大小构建 PPI 网络。

1.2.4 分子对接验证 为进一步验证靶点预测结果的可靠性，将脑泰方的活性成分与预测的核心靶点进行分子对接验证。提取核心靶点蛋白晶体结构，去除结晶水、加氢和除去侧链的残基，有配体的蛋白晶体根据配体暴露活性位点生成活性口袋、无配体晶体结构采用自动模式生成活性口袋。去掉水分

子和加氢等优化处理后保存为 SFXC 文件,按默认参数将靶点与脑泰方活性成分进行对接后,得到每个分子与靶标的对接得分(total score)值。使用 total score 评价成分-靶点的结合力度, total score ≥ 5 表示成分-靶点存在较强的相互作用^[36]。采用 Sybyl-X 2.1 软件对本研究的对接方法进行方法学验证。

2 结果与分析

2.1 脑泰方各成分相似度

通过 MCI 计算公式并配合实验室自编的 MCI 计算软件可得到脑泰方 253 个化合物的 MCI 信息集,再用相同方法可得出各类抗脑血栓化学药成分的信息集,并计算出各类化学药的平均 MCI,将所有化合物与化学药标准品的平均 MCI 进行相似度

对比,得出脑泰方中所有化合物 0~8 阶矩阵的 MCI 相似度。结果发现,黄芪与 5 种抗血栓化学药的平均 MCI 相似度在 0.674 2~0.996 1,川芎与 5 种抗血栓化学药平均 MCI 相似度在 0.602 1~0.997 8,僵蚕与 5 种抗血栓化学药的平均 MCI 相似度在 0.300 6~0.996 9,地龙与 5 种抗血栓化学药的平均 MCI 相似度在 0.384 5~0.992 7。其中各味药中平均 MCI 相似度排名前 5 的化合物如表 1 所示(考虑到数据量过多以及 3~8 阶的数据易缺失,故采用比较具有代表性的 0~2 阶)。脑泰方中各味药相似度排名最高的成分为黄芪的毛蕊异黄酮(0.996 1)、川芎的洋川芎内酯 M(0.997 8)、僵蚕的白僵菌素(0.996 9)、地龙的肌苷(0.992 7)。

表 1 脑泰方单味药与化学药标准品相似度排名前 5 的成分及其相似度

Table 1 Components of top five similarity between single medicine in Naotaifang and standard chemical drugs and their similarity

中药	成分	CAS 号	分子式	零阶 MCI	一阶 MCI	二阶 MCI	平均 MCI 相似度
黄芪	毛蕊异黄酮	20575-57-9	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	3.267 9	2.039 3	1.713 3	0.996 1
	芒柄花苷	486-62-4	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	4.832 9	3.065 0	2.568 7	0.995 9
	大豆素	486-66-8	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	2.904 4	1.854 6	1.583 5	0.995 9
	刺芒柄花素	485-72-3	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	3.112 9	1.970 5	1.627 4	0.995 9
	毛异黄酮苷	20633-67-4	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	4.987 9	3.133 9	2.654 6	0.994 7
川芎	洋川芎内酯 M	114569-34-5	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	3.355 6	2.132 2	1.708 4	0.997 8
	洋川芎内酯 I	94596-28-8	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	2.622 3	1.664 2	1.370 0	0.996 5
	洋川芎内酯 R	172549-37-0	C ₁₂ H ₁₆ O ₅	2.770 7	1.724 9	1.464 5	0.996 2
	洋川芎内酯 J	94530-86-6	C ₁₂ H ₁₈ O ₄	2.648 2	1.699 4	1.412 0	0.996 0
	1 β -acrylate-7-aldehydo- β -carboline	103805-66-9	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₃	3.440 6	2.206 9	1.748 6	0.995 9
僵蚕	白僵菌素	26048-05-5	C ₄₅ H ₅₇ N ₃ O ₉	9.558 4	5.819 2	5.062 1	0.996 9
	6-甲氧基-7-氧- β -D-(4'-甲氧基)-吡喃葡萄糖基香豆素	879283-62-2	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	4.129 9	2.549 6	2.106 1	0.996 3
	胞苷	65-46-3	C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₅	2.672 3	1.631 9	1.389 6	0.992 4
	尿苷	58-96-8	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	2.657 7	1.627 9	1.386 5	0.992 3
	木犀草素	491-70-3	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	3.214 4	1.991 2	1.768 0	0.992 1
地龙	肌苷	58-63-9	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₅	2.942 3	1.867 3	1.586 3	0.992 7
	尿苷	58-96-8	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	2.657 7	1.627 9	1.386 5	0.992 6
	腺苷	58-61-7	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	2.919 5	1.852 1	1.571 9	0.991 8
	鸟苷	118-00-3	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅	3.076 2	1.924 8	1.676 6	0.988 4
	色氨酸	54-12-6	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	2.367 6	1.487 2	1.251 4	0.962 5

2.2 脑泰方单味药中各类成分的⁰X~⁸X

通过公式计算得到脑泰方中黄芪、川芎、僵蚕、地龙各类成分的⁰X~⁸X,如表 2 所示。结果发现黄芪的⁰X~⁸X 平均值在 0.95~13.52,川芎的⁰X~⁸X 平均值在 1.06~4.43,僵蚕的⁰X~⁸X 平均值在 1.25~10.08,地龙的⁰X~⁸X 平均值在 0.78~5.74。

2.3 脑泰方对脑血栓的共同治疗靶点

通过脑泰方成分与抗血栓化学药 MCI 相似度的

计算,筛选出脑泰方 20 个活性成分,主要包括毛蕊异黄酮、芒柄花苷、大豆素、毛蕊异黄酮苷、洋川芎内酯 M 等(表 1)。利用化合物靶点预测得到脑泰方治疗脑血栓的靶点 356 个。从疾病数据库对脑血栓的靶点进行整理,得到疾病靶点 202 个。运用在线分析工具 Venny 得到交集靶点 28 个,见图 2。

2.4 PPI 网络分析

将筛选出的脑泰方活性成分和脑血栓交集靶点

表 2 脑泰方中单味药中各成分群的⁰X~⁸X
Table 2 ⁰X~⁸X of each component group from single medicine in Naotafang

中药	成分	⁰ X	¹ X	² X	³ X	⁴ X	⁵ X	⁶ X	⁷ X	⁸ X	⁰ X~ ⁸ X 平均值
黄芪	多糖类	2.07	1.12	0.96	0.90	0.81	0.73	0.65	0.58	0.71	0.95
	黄酮类	4.21	2.62	2.26	2.26	2.42	2.65	2.99	3.29	7.00	3.30
	皂苷类	8.99	5.59	5.90	6.90	8.85	11.84	16.36	23.37	33.90	13.52
	其他类	3.42	2.10	1.73	1.59	1.60	1.69	1.82	1.96	4.15	2.23
川芎	生物碱类	2.53	1.55	1.33	1.22	1.22	1.27	1.30	1.32	2.69	1.60
	挥发油类	1.96	1.18	1.04	0.95	0.92	0.88	0.85	0.71	1.03	1.06
	黄酮类	3.11	1.95	1.70	1.62	1.67	1.81	1.98	2.12	4.51	2.27
	苯丙素类	2.50	1.47	1.20	1.05	0.94	0.91	0.87	0.80	1.43	1.24
	有机酸类	2.91	1.80	1.40	1.13	0.98	0.89	0.82	0.75	1.35	1.34
	醌类	3.06	1.90	1.69	1.68	1.89	2.22	2.66	3.15	7.49	2.86
	苯酚类	2.66	1.70	1.40	1.34	1.44	1.66	1.90	2.17	3.58	1.98
	其他类	3.83	2.39	2.30	2.54	3.05	3.89	5.09	6.99	9.74	4.43
	糖苷类	4.10	2.56	2.23	2.30	2.42	2.67	2.98	3.36	7.36	3.33
	黄酮类	3.27	2.02	1.79	1.72	1.80	1.97	2.20	2.41	5.27	2.49
僵蚕	氨基酸类	2.94	1.73	1.51	1.36	1.31	1.30	1.32	1.37	2.95	1.75
	核苷类	2.02	1.25	1.05	1.00	1.02	1.05	1.05	0.99	1.83	1.25
	维生素类	5.66	3.41	2.98	2.78	2.63	2.63	2.78	2.95	6.12	3.55
	甾体类	3.98	2.46	4.47	5.45	7.01	9.36	12.81	18.56	27.56	10.18
	有机酸类	2.69	1.70	1.69	1.28	1.02	0.85	0.72	0.63	1.02	1.29
	其他类	4.89	3.05	2.94	3.29	3.92	4.88	6.20	8.10	14.42	5.74
	脂肪酸类	3.13	2.00	1.46	0.96	0.62	0.40	0.26	0.16	0.20	1.02
	核苷类	2.36	1.46	1.27	1.26	1.33	1.42	1.49	1.47	2.80	1.65
	氨基酸类	1.91	1.09	0.95	0.79	0.67	0.53	0.40	0.29	0.40	0.78
	甾体类	4.18	2.65	2.77	2.97	3.75	4.80	6.19	8.19	16.20	5.74
地龙	生物碱类	2.25	1.35	1.16	1.02	0.92	0.89	0.83	0.71	1.10	1.14
	其他类	2.81	1.75	1.41	1.24	1.19	1.20	1.23	1.27	2.56	1.63

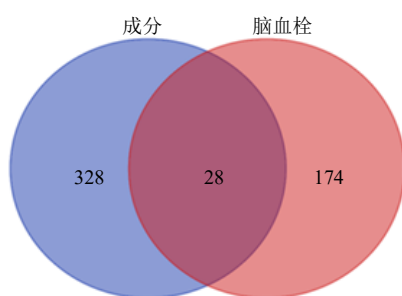


图 2 脑泰方活性成分与脑血栓交集靶点韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of intersection target of active ingredient in Naotafang and cerebral thrombus

作为潜在核心靶点进行 PPI 网络分析, 见图 3。28 个靶点中肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、蛋白激酶 B1 (protein kinase

B1, AKT1)、白细胞介素-10 (interleukin 10, IL10)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9)、 γ 干扰素 (interferon gamma, IFNG)、环加氧酶 2 (prostaglandin endoperoxide synthase 2, PTGS2) 等靶点排名靠前。度值是指节点在整个网络中的连接数, 其反映了节点之间的交互信息, 是作为核心靶点的重要参考, 度值越大, 说明节点在网络中越重要, 作用越关键。根据度值>中位数^[37]筛选核心靶点, 得到核心靶点 13 个。

2.5 分子对接验证

为了更好地阐明脑泰方活性成分与核心靶点之间的相互作用, 运用 Sybyl-X 2.1.1 软件将潜在活性成分与核心靶点对接, 分子对接示意图见图 4。成功对接后, 为活性成分和蛋白分子间的对接状态计算出 total score (表 3), total score 值越高, 说明亲和

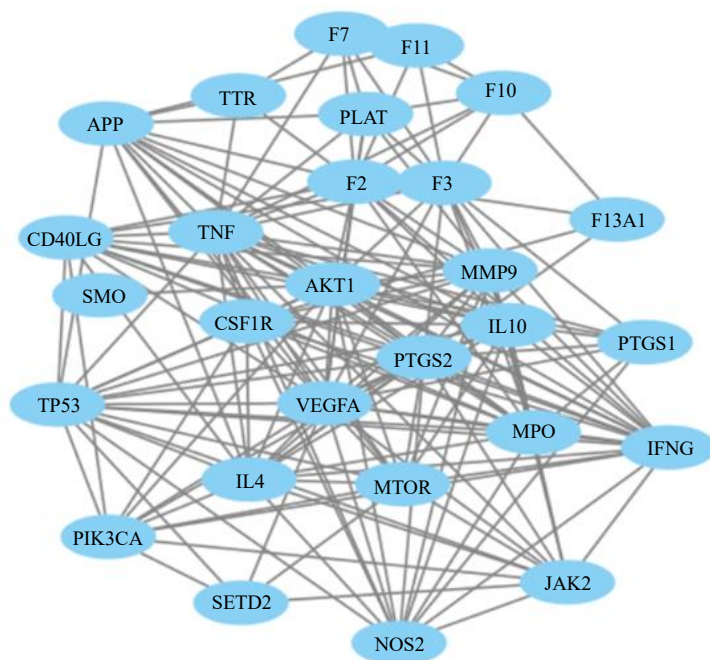


图 3 交集靶点 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of intersection target

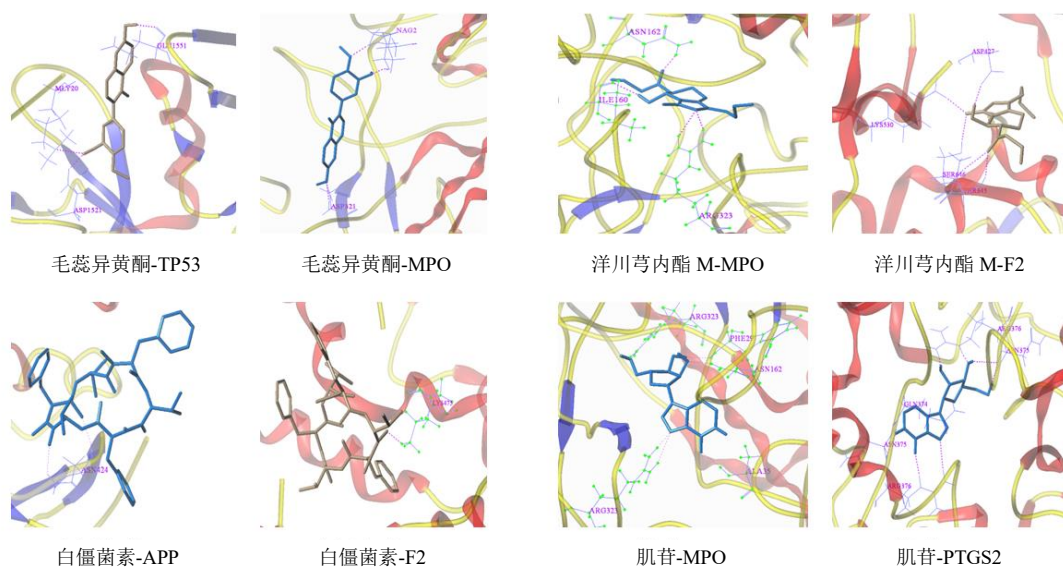


图 4 部分成分与核心靶点分子对接图

Fig. 4 Molecular docking diagram of part components and core target

力越强。分子对接结果显示, 脑泰方活性成分毛蕊异黄酮、洋川芎内酯 M、肌昔、白僵菌素等分别与预测的核心靶点 PTGS2、肿瘤蛋白 P53 (tumor protein P53, TP53)、凝血因子 III (coagulation factor III, F3)、髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO)、淀粉样前体蛋白 (amyloid beta precursor protein, APP) 等的 total score 值均超过 5, 显示出较强的结合能力。结合已

有文献, 发现预测成分群参与脑血栓相关机制调节已有部分见报道, 如黄芪的黄酮类、川芎的苯酞类; 相关靶点参与脑血栓相关机制的调节也已有部分报道, 如 TNF^[38]、IL10^[39]、MMP9^[40]、PTGS2^[41]等, 确属脑泰方发挥药效的有效成分群和作用靶点。

2.6 结果分析

由表 1 可知, 脑泰方单味药中黄芪 MCI 相似度

表 3 脑泰方活性成分与脑血栓核心靶点结合分数

Table 3 Total score of active ingredient in Naotaifang combined with core target of cerebral thrombus

活性成分	结合分数												
	TNF	VEGFA	AKT1	IL10	MMP9	IFNG	PTGS2	TP53	IL4	F2	F3	MPO	APP
毛蕊异黄酮	4.65	4.62	4.63	4.64	4.00	—	5.13	5.43	4.65	4.93	5.09	5.97	3.82
芒柄花苷	7.26	3.85	4.24	5.96	5.56	7.65	6.74	5.50	7.11	7.89	8.09	8.43	7.81
大豆素	4.43	3.07	6.05	3.12	2.91	5.76	3.92	4.23	4.87	4.21	4.46	5.70	4.48
刺芒柄花素	4.52	2.91	4.54	3.59	3.20	—	4.64	5.01	5.09	5.44	5.02	4.77	3.45
毛蕊异黄酮苷	8.67	3.03	5.71	3.99	4.84	—	7.23	5.39	7.04	10.17	7.84	9.13	5.87
洋川芎内酯 M	5.88	3.76	4.79	3.96	5.30	—	5.85	5.03	5.42	6.86	7.07	6.28	5.61
洋川芎内酯 I	4.59	3.05	3.86	3.13	2.92	4.93	4.70	4.69	4.39	5.36	4.91	4.73	4.62
洋川芎内酯 R	5.61	3.22	4.19	3.69	4.33	5.09	5.24	5.08	6.19	5.65	—	6.19	4.96
洋川芎内酯 J	4.81	3.34	4.53	3.78	4.91	4.48	4.83	4.68	4.50	5.67	5.70	6.18	4.84
1 β -acrylate-7-aldehyde- β -carboline	4.54	3.50	4.38	5.03	3.56	6.26	5.21	5.15	4.75	6.81	6.35	6.28	4.27
白僵菌素	3.70	3.71	5.57	5.74	4.83	5.67	—	5.31	6.39	7.12	5.58	2.57	6.43
6-甲氧基-7-氧- β -D-(4'-甲氧基)-吡喃葡萄糖基香豆素	7.60	3.47	5.34	4.83	4.93	6.97	6.05	5.56	6.14	7.21	6.09	6.89	7.50
胞苷	6.31	2.85	5.26	4.66	5.14	5.05	5.19	5.21	6.11	6.32	5.25	5.48	4.80
尿苷	4.96	2.66	4.30	3.68	4.52	4.59	5.53	5.99	4.65	6.99	4.98	5.45	4.57
木犀草素	5.44	3.39	4.47	4.57	3.80	5.57	5.97	5.98	5.93	6.16	5.47	5.97	4.64
肌苷	4.89	4.15	4.84	4.46	5.07	—	6.81	5.86	4.47	6.59	5.68	6.80	5.38
尿苷	4.96	2.66	4.30	3.68	4.52	4.59	5.53	5.99	4.65	6.99	4.98	5.45	4.57
腺苷	6.99	2.64	5.90	3.91	4.61	—	5.97	4.67	4.75	6.84	5.18	5.42	5.55
鸟苷	6.28	4.86	4.36	3.96	5.31	4.59	5.98	5.89	5.53	6.65	5.83	6.04	4.42
色氨酸	4.72	3.45	4.55	5.29	4.84	6.36	5.12	4.69	6.03	6.03	7.34	5.45	4.91

“—”表示对接不成功

“—” indicates that the interconnection fails

排名前 5 的化合物为毛蕊异黄酮、芒柄花苷、大豆素、刺芒柄花素、毛蕊异黄酮苷；川芎 MCI 相似度排名前 5 的化合物为洋川芎内酯 M、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 R、洋川芎内酯 J、1 β -acrylate-7-aldehyde- β -carboline；僵蚕 MCI 相似度排名前 5 的化合物为白僵菌素、6-甲氧基-7-氧- β -D-(4'-甲氧基)-吡喃葡萄糖基香豆素、胞苷、尿核苷、木犀草素；地龙 MCI 相似度排名前 5 的化合物为肌苷、尿苷、腺苷、鸟苷、色氨酸。其中黄芪的黄酮类、川芎的苯酞类、僵蚕的核苷类、地龙的核苷类占比最大，初步推断这几类成分为脑泰方中起抗血栓作用的主要成分群。由表 2 可知，黄芪黄酮类的 $^0X\sim^8X$ 平均值与脑泰方的 $^0X\sim^8X$ 平均值 (3.01) 接近，推测其可能为脑泰方中发挥功效的主要成分群。区海燕^[42]从黄芪总黄酮提取物中分离出毛蕊异黄酮苷、刺芒柄花素、毛蕊异黄酮、芒柄花素-7-O- β -D-葡萄糖苷 4 种活性成分，且后续实验表明给予气虚证模型小鼠一定量黄芪黄酮后，气虚证模型小鼠的血浆黏度、全血还原黏度出现了不同程度的下降，其表现特征和

负重游泳时间都恢复至正常水平，表明黄芪黄酮具有“提气”作用。黄芪在脑泰方中为君药，发挥补气功效，药力居方中之首。实验研究表明，毛蕊异黄酮^[43]、刺芒柄花素^[44]、毛蕊异黄酮苷^[45]都具有明确的抗脑血栓作用。由表 1 可知，毛蕊异黄酮的 MCI 相似度最高，为 0.996 1。综合推测以毛蕊异黄酮为代表的黄芪黄酮类成分在脑泰方中发挥补气功效，为抗血栓的主要成分群。刘珊珊等^[46]研究表明川芎苯酞类成分能够上调紧密连接蛋白表达，抑制氧糖剥夺/再灌注诱导的 MDCK-MDR1 细胞损伤，有利于配伍药物的跨膜转运。由表 1 可知川芎中 MCI 相似度排名最高的是洋川芎内酯 M，为 0.997 8。川芎为臣药，辅助君药加强治疗主病和主症，推测以洋川芎内酯 M 的川芎苯酞类成分为脑泰方中发挥辅助抗血栓作用的主要成分群。僵蚕中 MCI 相似度排名最高的为白僵菌素，有研究表明，白僵菌素是僵蚕中发挥药理作用的主要成分^[47]。核苷类化合物参与细胞代谢和生物体内生理调节过程，在地龙中含量十分丰富^[48]。地龙、僵蚕均为佐药，用于治疗

次要兼症,辅佐臣药发挥药理作用,结合计算结果推测僵蚕的氨基酸类成分白僵菌素、地龙的核苷类成分肌苷为发挥作用的主要成分群。周瑜等^[49]采用低、中、高剂量的脑泰方治疗血栓模型小鼠,发现脑泰方各剂量组可以使大鼠血栓形成时间明显延长,表明脑泰方具有一定的抗血栓作用。有研究表明脑泰方通过抑制铁死亡保护脑卒中缺血损伤^[50],临床研究^[9]也证明脑泰方对气滞血瘀型脑梗死有良好的治疗作用,临床效果显著。综上说明脑泰方通过多种成分群共同发挥抗血栓作用。

3 讨论

脑血栓的形成属于中医的“中风”范畴,起病急骤、变化迅速,其病理基础为气血逆乱、气虚血瘀,治疗核心环节为益气活血。中药复方脑泰方是以清代医家王清任《医林改错》中的补阳还五汤为基础,结合临床经验加减药味而得,是治疗脑梗死的有效方剂。该方以气补通、以通助补,益气与活血交互作用、相互协同,能减少脑部血液瘀滞,改善脑供血障碍、脑组织微循环,促进神经元功能的恢复。

超分子印迹属于超分子化学中主客体化学研究范畴,超分子印迹模板是化学上的分子结构概念^[51],与药理学经典的受体-配体理论相似,但存在不同之处。印迹模板是主客体分子间有效基团的空间点阵结构,可以用 MCI 进行定量表示。一定程度上,化学成分 MCI 相同或相近反映了其生理活性和药物理化性质相同或相近。本研究通过收集整理中药复方脑泰方化学成分,基于构效关联性,利用 MCI 将传统中药中的化学成分与现代临床常用化学药相关联。相似度排名前 5 的化合物中,黄芪的黄酮类成分、川芎的苯酞类成分、地龙的核苷类成分占比最大,进一步推断黄芪的毛蕊异黄酮、川芎的洋川芎内酯 M、僵蚕的白僵菌素、地龙的肌苷为脑泰方中起抗血栓作用的主要分子群。

中药复方是多成分、多靶点在体内复杂环境下相互作用发挥药理作用,而简单的 MCI 未能考虑客体分子真实的化学环境。本研究对比发现中药各类成分平均 MCI 有一定差异。原因可能为数据库的化合物数据有待完善,或是各类成分归类较简单,造成结果产生差异。后续实验将对脑泰方及其相对应的化学药进行扩展研究,基于文献加强中药化学成分研究,增加其所含化合物数量并进一步优化,逐级深入筛选临床常用化学药并按照药理学进行归类,与

脑泰方各成分平均 MCI 进行相似度对比。拓扑指数与药理效应关联性研究的方法,并进行动物、细胞实验进行佐证,是阐明中西药间相关联的活性成分群的新方法。基于多种中西药之间超分子结构研究,同时探究衔接中西药之间的现代化联系,也是跨过繁琐的实验验证过程最有力的研究手段。本研究为中药质量及现代化研究提供了新思路、新方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Miličević A, Šinko G. Development of a simple QSAR model for reliable evaluation of acetylcholinesterase inhibitor potency [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2021, 160: 105757.
- [2] 周恒, 巴庆芳, 袁哲明, 等. 基于逐步非线性回归的血管紧张素转化酶抑制肽 QSAR 建模 [J]. *化学通报*, 2022, 85(6): 736-745.
- [3] Kier L B, Hall L H. *Molecular Connectivity in Chemistry and Drug Research* [M]. Pittsburgh: Academic Press, 1976: 16-22.
- [4] Kier L B, Hall L H. *Molecular Connectivity in Structure-Activity Analysis* [M]. Taunton: Research Studies Press, 1986: 2.
- [5] Kier L B, Murray W J, Hall L H. Molecular connectivity. 4. Relations to biological activities [J]. *J Med Chem*, 1975, 18(12): 1272-1274.
- [6] 王尔华, 相秉仁. 分子连接性及其在定量构效关系中的应用 [J]. *国外医学: 药学分册*, 1979, 6(3): 129-137.
- [7] 张玉林. 一个新的分子连接性指数(mZ^h)用于取代芳烃的定量构效关系研究 [J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2006, 34(8): 109-115.
- [8] 徐伟, 王维, 许惠英. 甲氧基多溴联苯醚色谱相对保留时间的 QSRR 研究 [J]. *化学研究与应用*, 2015, 27(1): 34-38.
- [9] 杨杰元, 杨雪颖, 杨沛艳, 等. 多氯联苯生物降解速率常数的 QSAR 模型 [J]. *化学研究与应用*, 2022, 34(5): 1001-1007.
- [10] 陈思阳, 王韧, 李文姣, 等. 治疗脑梗死类药物结构拓扑指数与脑梗死面积关联性的研究 [J]. *中国药杂志*, 2019, 54(16): 1305-1310.
- [11] 吴月峰, 朱志飞, 陈定芳, 等. 基于分子连接性指数的高频抗新型冠状病毒肺炎中药物质基础研究 [J]. *中南药学*, 2022, 20(7): 1659-1669.
- [12] 《中国脑卒中防治报告 2019》编写组. 《中国脑卒中防治报告 2019》概要 [J]. *中国脑血管病杂志*, 2020, 17(5): 272-281.
- [13] GBD 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990—2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(5): 459-480.
- [14] Virani S S, Alonso A, Aparicio H J, et al. Heart disease and stroke statistics-2021 update: A report from the American heart association [J]. *Circulation*, 2021, 143(8): e254-

- e743.
- [15] 张雯, 杜立达, 马寅仲, 等. 抗缺血性脑卒中药物的应用与研究进展 [J]. 医药导报, 2016, 35(10): 1035-1040.
 - [16] 张文娟. 气虚血瘀与缺血性卒中 [J]. 中国医药学报, 2002, 17(9): 574.
 - [17] 陈可冀, 李连达, 翁维良. 血瘀证与活血化瘀研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2005, 3(1): 1-2.
 - [18] 刘林, 刘羽, 王国佐, 等. 脑泰方抗血栓作用的实验研究 [J]. 中医药导报, 2015, 21(2): 29-31.
 - [19] 贺运河, 郝晓元, 葛金文. 脑泰方治疗气虚血瘀证脑梗塞临床研究 [J]. 中国中医急症, 2001, 10(6): 319-320.
 - [20] 刘林, 易亚乔, 王国佐, 等. 脑泰方抗血小板活化作用的实验研究 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(5): 1049-1050.
 - [21] 钟晴, 童骄, 钟欣池, 等. 脑泰方提取物对大鼠脑缺血再灌注损伤后海马神经干细胞增殖及 Notch1 蛋白表达的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(8): 1823-1826.
 - [22] 余清平, 廖君, 石咏梅, 等. 脑泰方对大鼠脑缺血后大脑皮质 IL-6 和 p-STAT 表达的影响 [A] // 中国解剖学会 2019 年年会论文文摘汇编 [C]. 昆明: 中国解剖学会, 2019: 210-211.
 - [23] Ru J L, Li P, Wang J N, *et al.* TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
 - [24] 张晓娟, 张燕丽, 左冬冬. 川芎的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2020, 37(6): 128-133.
 - [25] 黄敬文, 高宏伟, 段剑飞. 地龙的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中医药导报, 2018, 24(12): 104-107.
 - [26] 王玲丽, 丰华玲, 杨柯, 等. 黄芪生物学及化学成分研究进展 [J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(6): 2581-2585.
 - [27] 张蕾, 高文远, 满淑丽. 黄芪中有效成分药理活性的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(21): 3203-3207.
 - [28] 李晶峰, 孙佳明, 张辉. 僵蚕的化学成分及药理活性研究 [J]. 吉林中医药, 2015, 35(2): 175-177.
 - [29] 黄居敏, 苏明声, 张亚梅, 等. 僵蚕化学成分研究 [J]. 中药材, 2017, 40(1): 87-89.
 - [30] 颜辉, 王国基, 王俊, 等. 僵蚕成分及药理作用研究进展 [J]. 中国蚕业, 2004, 25(4): 86-88.
 - [31] 黄海英, 彭新君, 彭延古. 僵蚕的现代研究进展 [J]. 湖南中医学院学报, 2003, 23(4): 62-64.
 - [32] 中国药典 [S]. 二部. 2020: 666.
 - [33] 马晓兵. 抗血栓药物的研究进展 [J]. 临床合理用药杂志, 2017, 10(30): 178-179.
 - [34] 牧童, 赵思宁, 杨慧, 等. 抗血栓药物研究进展 [J]. 广州化工, 2020, 48(11): 5-8.
 - [35] 杨岩涛, 吴春英, 刘文龙, 等. 不同相似度法对当归补血汤指纹图谱分析的比较研究 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(5): 1431-1435.
 - [36] 樊启猛, 杨岩涛, 肖美凤, 等. 基于分子对接技术的补阳还五汤成分与缺血性脑卒中靶点的相互作用研究 [J]. 中草药, 2019, 50(17): 4200-4208.
 - [37] 田文国, 陈金鹏, 王春芳, 等. 基于网络药理学和分子对接探究肠炎宁颗粒治疗功能性腹泻和腹泻型肠易激综合征的作用机制 [J]. 中草药, 2022, 53(22): 7135-7147.
 - [38] 岳姣姣, 李华华. 加味脑泰方通过 SIRT1 途径减轻脑缺血再灌注损伤 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(6): 494-498.
 - [39] 张秀丽, 雷昌, 刘洋, 等. 脑泰方 II 号含药血清对 LPS 诱导的小胶质细胞极化的调节作用 [J]. 北京中医药大学学报, 2020, 43(5): 408-413.
 - [40] 廖君, 葛金文, 陈懿, 等. 脑泰方对局灶性脑缺血大鼠血清 MMP-9、PA 及 TIMP-1 表达的影响 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2013, 11(3): 150-152.
 - [41] 曾劲松, 李弘, 廖君, 等. 脑泰方对脑出血急性期大鼠脑铁代谢的干预作用及神经保护机制 [J]. 中医药导报, 2020, 26(11): 27-32.
 - [42] 区海燕. 黄芩总黄酮的提取分离及其指纹图谱和生物活性的研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
 - [43] Wang Y, Ren Q Y, Zhang X, *et al.* Neuroprotective mechanisms of calycosin against focal cerebral ischemia and reperfusion injury in rats [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45(2): 537-546.
 - [44] Zhu H B, Zou L B, Tian J W, *et al.* Protective effects of sulphonated formononetin in a rat model of cerebral ischemia and reperfusion injury [J]. *Planta Med*, 2014, 80(4): 262-268.
 - [45] Fu S P, Gu Y, Jiang J Q, *et al.* Calycosin-7-O- β -D-glucoside regulates nitric oxide/caveolin-1/matrix metalloproteinases pathway and protects blood-brain barrier integrity in experimental cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 155(1): 692-701.
 - [46] 刘姗姗, 郑琴, 岳鹏飞, 等. 川芎苯酞类成分对氧糖剥夺/再灌注诱导 MDCK-MDR1 细胞损伤的作用及机制 [J]. 中草药, 2021, 52(10): 2958-2966.
 - [47] 陈文文, 胡美变, 彭伟, 等. 僵蚕中有效成分白僵菌素的研究进展 [J]. 中国药房, 2019, 30(24): 3452-3456.
 - [48] 苏日鑫. 中药地龙和线叶旋覆花的化学成分及活性研究 [D]. 广州: 广东药科大学, 2020.
 - [49] 周瑜, 方锐, 王国佐, 等. 脑泰方对 SD 大鼠凝血功能的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(7): 1603-1605.
 - [50] 饶政清, 梅志刚, 葛金文, 等. 脑泰方调控细胞铁转运抑制铁死亡保护脑卒中缺血损伤的机制研究 [J]. 中草药, 2021, 52(21): 6552-6560.
 - [51] 李海英, 贺琪琚, 邓凯文, 等. 基于超分子“气析”理论构建中药质量标志物的印迹性新评价体系 [J]. 中草药, 2021, 52(16): 4771-4778.

[责任编辑 潘明佳]