

• 数据挖掘与循证医学 •

基于数据挖掘和虚拟敲降探讨国家专利中药复方治疗缺血性脑卒中的用药规律及作用机制

庞家红^{1,2}, 孙 涛¹, 秦灵灵³, 张浩军², 朱 斌^{4*}

1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046

2. 中日友好医院临床医学研究所, 北京 100029

3. 北京中医药大学, 北京 100029

4. 首都医科大学附属北京天坛医院, 北京 100070

摘要: **目的** 基于中药复方专利数据库, 整合专利挖掘、时空多组学及计算模拟技术系统筛选缺血性脑卒中的相关核心药组及候选作用靶点, 阐释中药复方“通腑醒神”治则的科学内涵。**方法** 检索国家知识产权局专利数据库, 采用聚类分析筛选出核心药组并通过网络药理学及分子对接、动力学模拟筛选出中药复方治疗缺血性脑卒中的候选作用靶点, 结合单细胞 RNA 测序、空间转录组及虚拟敲降分析进行多维度关联分析。**结果** 筛选出远志、石菖蒲、大黄、郁金候选核心药组并获得 1-羟基菖蒲烯酮、马兜铃酮、菖蒲二醇、 β -细辛醚、 α -细辛醚、山柰酚、百里香酚、丁香酚及咖啡酸 9 个代表性活性成分和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、蛋白激酶 B1 (protein kinase B1, AKT1)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2) 共 6 个候选作用靶点, 分子对接及分子动力学模拟提示部分代表性活性成分与候选作用蛋白之间具有结合倾向, 其中山柰酚-PTGS2 和山柰酚-EGFR 复合物在模拟条件下表现出一定稳定性; 进一步通过单细胞与空间转录组分析显示, 候选靶点高表达区域与巨噬细胞与星形胶质细胞等细胞群的空间分布具有一定一致性; 并且 CellOracle 结果提示, Jun/Fos、信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 等相关转录因子可能参与缺血后炎症应答、细胞状态转换及修复相关调控过程。**结论** 从国家专利中药复方筛选出远志、石菖蒲、大黄、郁金核心药组, 并提出 PTGS2、IL-6 及 EGFR 等可能是缺血性脑卒中炎症微环境调控中的重要候选靶点, 研究结果初步构建了核心药组、核心成分、候选靶点及时空验证相结合的机制证据链, 并从炎症微环境调控、细胞通讯和神经血管重塑角度为通腑醒神治则治疗缺血性脑卒中的现代机制解释及后续实验验证提供参考。

关键词: 缺血性脑卒中; 数据挖掘; 单细胞 RNA 测序; 空间转录; 虚拟敲降; 远志; 石菖蒲; 大黄; 郁金; 山柰酚

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)16-6432-18

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.16.018

Exploration on medication patterns and mechanisms of national patented traditional Chinese medicine compound prescriptions for ischemic stroke based on data mining and in silico knockdown

PANG Jiahong^{1,2}, SUN Tao¹, QIN Lingling³, ZHANG Haojun², ZHU Bin⁴

1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Institute of Clinical Medical Sciences, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

3. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

4. Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100070, China

Abstract: Objective To systematically identify the candidate core herb combination and potential therapeutic targets for ischemic stroke by integrating patent mining, spatiotemporal multi-omics analysis, and computational simulation, and elucidate the scientific connotation of the traditional Chinese medicine therapeutic principle of “Tongfu Xingshen” based on the patent database of traditional Chinese medicine

收稿日期: 2026-04-17

基金项目: 北京市属医院科研培育计划 (PZ2024007)

作者简介: 庞家红, 硕士研究生, 研究方向为脑血管疾病的基础与研究。Tel: 15883074962 E-mail: 2056870604@qq.com

*通信作者: 朱 斌, 硕士生导师, 主要从事药物防治缺血性脑卒中疾病实验研究。E-mail: zbtcm@163.com

compound prescriptions. **Methods** The China National Intellectual Property Administration patent database was searched. Cluster analysis was used to screen the candidate core herb combination. Network pharmacology, molecular docking, and molecular dynamics simulations were then performed to identify and evaluate candidate therapeutic targets of traditional Chinese medicine compound prescriptions for ischemic stroke. Single-cell RNA sequencing, spatial transcriptomics, and CellOracle-based in silico knockdown analysis were further integrated to perform multidimensional association analysis. **Results** A candidate core herb combination consisting of Yuanzhi (*Polygalae Radix*), Shichangpu (*Acori Tatarinowii Rhizoma*), Dahuang (*Rhei Radix et Rhizoma*), and Yujin (*Curcumae Radix*) was identified. Nine representative active components, including 1-hydroxyacoronene, aristolone, calamendiol, β -asarone, α -asarone, kaempferol, thymol, eugenol, and caffeic acid, and six candidate therapeutic targets, including tumor necrosis factor (TNF), interleukin-6 (IL-6), protein kinase B1 (AKT1), epidermal growth factor receptor (EGFR), mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1), and prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2), were obtained. Molecular docking and molecular dynamics simulations suggested that some representative active components exhibited certain binding tendencies with the candidate target proteins. Among them, the kaempferol-PTGS2 and kaempferol-EGFR complexes showed a degree of stability under simulation conditions. Single-cell and spatial transcriptomic analyses further showed that the regions with high expression of candidate targets were spatially consistent with the distribution of macrophages, astrocytes, and other cell populations. CellOracle analysis suggested that Jun/Fos, signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), and other related transcription factors may be involved in post-ischemic inflammatory responses, cell-state transitions, and repair-related regulatory processes. **Conclusion** This study identified a candidate core herb combination consisting of *Polygalae Radix*, *Acori Tatarinowii Rhizoma*, *Rhei Radix et Rhizoma*, and *Curcumae Radix* from national patent traditional Chinese medicine compound prescriptions, and proposed that PTGS2, IL-6, EGFR, and related targets may serve as important candidate targets in the regulation of the inflammatory microenvironment in ischemic stroke. These findings preliminarily construct a mechanistic evidence chain integrating the core herb combination, core components, candidate targets, and spatiotemporal validation, and provide a reference for the modern mechanism explanation and subsequent experimental verification of the “Tongfu Xingshen” therapeutic principle in ischemic stroke from the perspectives of inflammatory microenvironment regulation, cell-cell communication, and neurovascular remodeling.

Key words: ischemic stroke; data mining; single-cell RNA sequencing; spatial transcriptomics; in silico knockdown; *Polygalae Radix*; *Acori Tatarinowii Rhizoma*; *Rhei Radix et Rhizoma*; *Curcumae Radix*; kaempferol

缺血性脑卒中 (ischemic stroke, IS) 是一种由局部脑组织血流供应减少或中断引发的复杂的脑血管疾病, 具有高致残率和高死亡率的特点, 常常表现出突发性偏瘫、失语、感觉障碍及意识丧失等症状^[1]。目前, 伴随着现代医学治疗 IS 的理念和手段不断改进, 临床主要以静脉溶栓和机械取栓治疗为主来快速开通闭塞血管^[2]。但是, 由于存在治疗时间窗极其严格、易发生出血转化风险以及对医疗设备要求较高等局限性, 目前并未完全解决 IS 及其复杂的病理级联反应^[3-4]。大量研究发现, 中医药治疗 IS 能够取得积极疗效, 具有多成分、多靶点、整体调节的独特优势及较高的安全性^[5-7]。从中医理论来看, IS 多归属于“中风”范畴, 发生发展与“痰、瘀、热、虚、腑实”等病理因素密切相关。痰浊蒙窍、腑气不通是影响神志恢复和病情演变的重要环节, “通腑醒神”治则通过通腑泄浊、化痰开窍、行气活血等途径干预疾病进程, 为中药复方治疗 IS 提供了重要理论依据。国家专利中药复方是中医药领域技术创新、经验总结的主要成果, 所以挖掘中药复方对加快专利成果有效转化、新药开发具有重要

意义^[8]。基于此, 本研究拟通过数据挖掘技术分析国家专利中药复方治疗 IS 的用药规律, 并采用网络药理学、分子对接以及分子动力学模拟技术、单细胞 RNA 测序及空间转录并结合虚拟敲降技术深入探讨候选核心药组治疗 IS 的潜在机制, 以期明确国家专利中药复方治疗 IS 的核心用药组合, 提出其可能作用的候选成分和候选靶点, 并且为后续中药复方抗 IS 的药效验证及机制研究提供依据^[9]。

1 资料与方法

1.1 数据挖掘

1.1.1 数据来源 通过收集国家知识产权局专利数据库 (<https://pss-system.cponline.cnipa.gov.cn/>) 中治疗 IS 的相关中药专利复方, 在“高级查询”界面同时勾选专利类型为“发明”, 检索范围选择“中国”, 分别以“缺血性脑卒中 and 中药”“缺血性脑卒中 and 中医”“缺血性中风 and 中药”“缺血性中风 and 中医”为检索式检索建库至 2026 年 3 月 6 日所有关于治疗 IS 的专利复方^[10]。专利检索、去重、初筛、全文复核及最终纳入流程图见图 1。

1.1.2 纳入标准 ①专利名称或者摘要中有明确

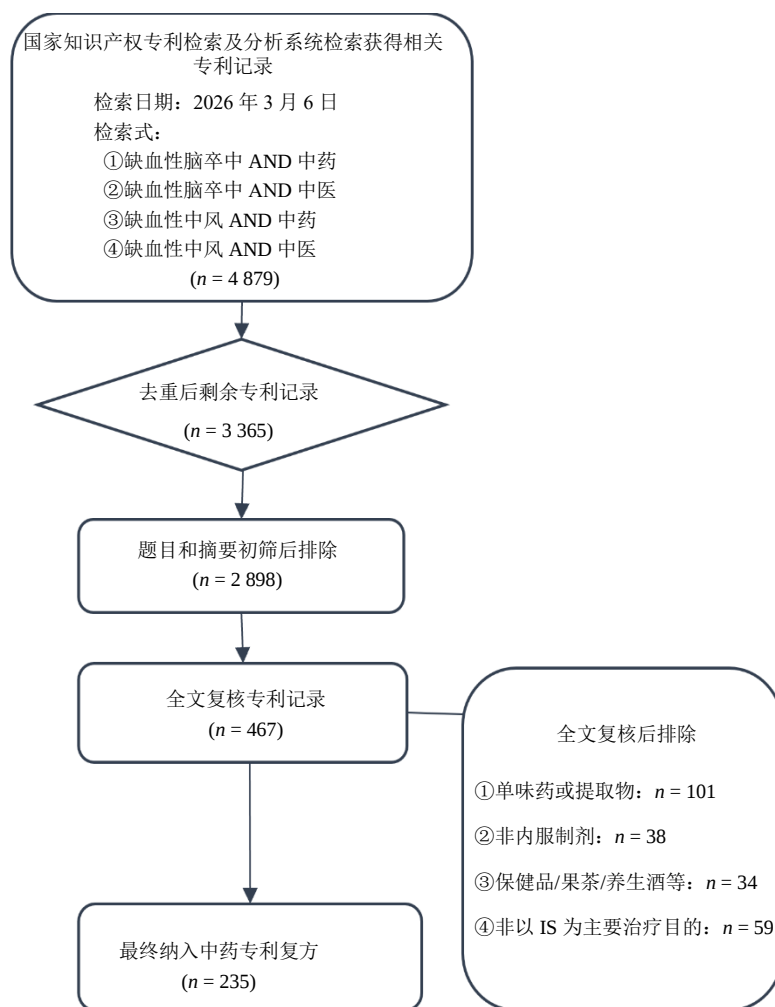


图 1 专利检索与筛选流程

Fig. 1 Flowchart of patent retrieval and screening

要求用于治疗 IS 的中药；②剂型限定为内服制剂，包含汤剂、丸、散、胶囊等；③药味组成保留 1 项完全相同药物的复方。

1.1.3 排除标准 ①专利药物组成仅为复方药物成分的提取物或者单味药；②未将 IS 作为主要的治疗目的的复方；③剔除其他类型的专利复方，包含外用制剂及保健品、果茶、养生酒等。

1.1.4 数据清理及规范化 使用 Microsoft Excel 2021 软件录入全部专利复方，并采用《中国药典》2025 年版^[11]、《中华本草》^[12]、《全国中草药汇编》^[13]对录入的中药及性味归经进行规范化处理。①统一名称：如将“全虫”规范化为“全蝎”，“元胡”规范化为“延胡索”等；②炮制手法不同而影响药效者分别处理：如“生何首乌”与“制何首乌”，“生地黄”与“熟地黄”；③产地不同而使药效不同者分别记录：“川牛膝”与“怀牛膝”；④性味归经

等规范简化记录：如“微苦”记录为“苦”，“大寒”记录为“寒”。

1.1.5 数据统计处理方法 将规范化后的数据录入 Excel 建立复方药物数据库，在 R 4.4.3 软件环境下利用 tidyverse 扩展包对数据库进行清洗与频数统计，调用 ggplot 2 绘制高频中药频数图。并且采用 Chiplot (<https://www.chiplot.online/>) 对性味归经等进行可视化处理，以药物使用频次 ≥ 15 次作为高频药物筛选阈值，聚类数目 $(K) = 8$ ，剔除甘草、大枣等调和药以减少其对核心配伍识别的干扰，运用 Ward.D2 进行层次聚类分析以识别潜在处方。候选药组的筛选依据为高频用药基础、聚类分支相对独立和组内药物功效互补并且能对应脑卒中“痰浊蒙窍、腑气不通”的关键病机。为进一步评价候选核心药组在全部专利复方中的实际分布情况，对核心药组进行共现统计，分别计算其单味出现频次、两

两共现频次、3 味共现频次及 4 味共同出现频次,同时使用 psych 包计算 Phi 系数(phi coefficient, ϕ),并结合 corrplot 可视化。

1.2 网络药理学

1.2.1 活性成分及靶点预测 通过传统中医药系统药理学数据库(TCMSP, <https://old.tcmsp-e.com>)、中药综合数据库(ETCM, <http://www.tcmip.cn/ETCM>)及中草药数据库(Herb, <http://herb.ac.cn>)中检索聚类得到的核心药组中药所含有的化学成分。以 Lipinski 五规则[相对分子质量(M_w) ≤ 500 、脂水分配系数(LogP) ≤ 5 、氢键供体数(HBD) ≤ 5 、氢键受体数(HBA) ≤ 10 、可旋转键数(RB) ≤ 10]作为活性成分的筛选标准^[14],取 3 个数据库检索结果的并集,并去除重复成分构建该核心药组的活性成分库。分别在 ChEMBL 数据库(<https://www.ebi.ac.uk/chembl>)、相似集成靶点预测平台(SEA, <http://sea.bkslab.org>)及 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch>)中进行靶点预测,物种均限定为 *Homo sapiens*,得到 3 个数据库预测结果的并集,经过去重、统一 UniProt ID 规范化处理后构建该核心药组的潜在作用靶点集合。

1.2.2 IS 疾病靶点筛选 将“ischemic stroke”作为关键词,分别在 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org>)、人类孟德尔遗传数据库(OMIM, <https://www.omim.org>)、OpenTargetsPlatform(<https://www.opentargets.org>)及治疗靶点数据库(TTD, <https://db.idrblab.net/ttd>)中检索与 IS 相关的疾病靶点。取 4 个数据库检索结果的并集,去重后进行 UniProt ID 规范化处理,最后构建 IS 的疾病靶点集合。

1.2.3 “药物-活性成分-靶点”网络及蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络构建 将核心药组成分靶点与 IS 疾病靶点取交集得到潜在药组治疗 IS 的靶点。将交集靶点导入 STRING 数据库(<https://string-db.org>),物种设定为 *Homo sapiens*,置信度阈值设置为 0.7,隐藏游离节点,获取 PPI 网络数据并导出。将导出数据导入 Cytoscape 3.10.1 软件,利用 CytoNCA 插件计算各节点的拓扑参数,根据度值对 PPI 网络节点进行降序排序,筛选排名前 6 位的节点作为候选核心靶点,并进行可视化处理。

1.2.4 基因本体(gene ontology, GO)功能与京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析 将交集靶点

导入 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov>),物种设定为 *Homo sapiens*,分别进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析,以 $P < 0.05$ 作为显著富集的筛选标准。上述富集分析结果均采用微生信在线平台(<https://www.bioinformatics.com.cn>)进行可视化处理。

1.2.5 分子对接及动力学模拟 通过 RCSB PDB 数据库(<https://www.rcsb.org>)下载候选核心靶点三维晶体结构,经 AutoDock Tools 1.5.7 去除水分子与原配体、加氢并计算电荷后保存为 PDBQT 格式;活性成分三维结构从 PubChem 数据库 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> 获取并经同样方法处理。采用 AutoDock Vina 1.1.2 进行半柔性分子对接,结果通过 PyMOL 3.0.3 软件可视化。动力学模拟流程如下:①选取结合能最低的成分-靶点复合物,采用 GROMACS 2025.1 软件选择 CHARMM36 力场;②复合物置于 TIP3P 水模型构建的周期性盒子中并根据体系总电荷加入 Na^+ 或 Cl^- 进行电荷中和;③采用最陡下降法和共轭梯度法进行能量最小化处理,最大迭代步数均为 10 000 步,能量收敛阈值为 1 000 kJ/(mol·nm) 优化体系结构;④依次进行 2 ns 正则系综(canonical ensemble, NVT)平衡及 2 ns 等温等压系综(isothermal-isobaric ensemble, NPT)平衡和 100 ns 分子动力学模拟;⑤通过均方根偏差(root mean square deviation, RMSD)、均方根涨落(root mean square fluctuation, RMSF)及氢键数目等分析评估复合物结合稳定性^[15];⑥进一步采用 gmx MMPBSA 对模拟稳定阶段后 50 ns 轨迹进行分子力学/泊松-玻尔兹曼表面积法(molecular mechanics/Poisson-Boltzmann surface area, MM/PBSA)结合自由能分析,每隔 16 帧抽取 1 帧,共约 105 帧。基于 Poisson-Boltzmann 模拟计算自由能差并以总结合自由能(total binding free energy, ΔG_{total})作为结合能评价指标。

1.3 单细胞 RNA 测序及空间转录数据分析

1.3.1 数据获取 为了获取 IS 相关的单细胞 RNA 测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)及转录组数据,在 NCBI 基因表达综合数据库(GEO, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中,将“MCAO”“ischemic stroke”“single-cell RNA sequencing”“spatial transcriptomics”“mouse”等作为关键词进行检索。纳入标准:①采用小鼠大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型;②包含对照组与模型组;③数据质量良好且原始数据

可公开获取。最终筛选并纳入 2 个数据集：①单细胞转录组数据集 GSE174574，包含小鼠 MCAO 造模后 24 h 及假手术对照（Sham）的脑组织单细胞 RNA 测序数据，2 组各 3 个样本，共 6 个样本，测序平台为 Illumina HiSeq 4000^[16]。②空间转录组数据集 GSE233814，包含小鼠永久性 MCAO 模型的

多时间点包括正常对照及 MCAO 术后 1、3、7 d 的脑组织空间转录组数据，共 5 个样本，即正常对照组 1 例，MCAO 术后 1 d 组 1 例、3 d 组 1 例、7 d 组 2 例，采用 10x Genomics Visium 平台，切片取自 bregma-1.3 mm 冠状面，空间分辨率为 55 μm ^[17]。多源数据集信息见表 1。

表 1 多源数据集信息及其与核心药组机制推断的对应关系

Table 1 Information on multi-source datasets and their correspondence with mechanism inference of core herb combination

数据/分析模块	数据来源	物种/对象	时间范围/组别	研究目的
专利数据挖掘	国家知识产权局专利数据库	人类临床应用相关 中药复方专利	建库至 2026 年 3 月 6 日	挖掘 IS 相关高频用药 规律及核心药组
网络药理学预测	TCMSP、HERB、ETCM、ChEMBL、SEA、 SwissTargetPrediction、GeneCards、OMIM、 OpenTargets、TTD	药物成分及人源疾 - 病靶点数据库		预测药组可能作用的 候选靶点
单细胞转录组	GSE174574	小鼠	Sham vs MCAO 24 h	分析候选靶点在各细 胞类型中的表达
空间转录组	GSE233814	小鼠	对照，术后 1、3、7 d	评估候选靶点的空间 动态表达
CellOracle 虚拟 敲降	基于 GSE174574	小鼠	MCAO 24 h	推测候选靶点相关转 录因子调控作用

1.3.2 单细胞及空间转录组（spatial transcriptomics, ST）数据处理 对于 scRNA-seq 数据，使用 Seurat (v5) 软件包进行数据标准化、降维与无监督聚类；为了研究核心药组在细胞间通讯网络中的潜在干预机制，利用 CellChat 软件包对 MCAO 组与 Sham 组进行细胞间通讯推断。重点提取了与该药组网络药理学候选核心靶点密切相关的信号通路 C-C 基序趋化因子配体（C-C motif chemokine ligand, CCL）、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor, TNF）、巨噬细胞迁移抑制因子（macrophage migration inhibitory factor, MIF）、血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）、血管生成素样蛋白（angiopoietin-like protein, ANGPTL），并且计算了各细胞类型在这些信号通路中的发送与接收强度。为了验证该药组的候选核心靶点在脑组织中的空间分布特征，通过使用 Seurat 对空间转录组数据进行预处理与标准化（SCTransform），并成功加载了高分辨率组织切片图像作为空间背景。针对该药组的 6 个核心靶基因，采用模块评分法（AddModuleScore）计算每个空间位点的“中药靶点综合响应评分”。由于 10x Visium 技术的捕获敏感性限制及后续采用基于小鼠 scRNA-seq 和空间转录

组数据，将上述靶点符号转换为对应的小鼠同源基因符号^[18]。与此同时，提取这些靶基因在空间切片上的表达矩阵绘制带有组织病理背景的空间表达图与小提琴图来量化评估靶基因在不同病理阶段和不同脑区的表达异质性。

1.3.3 基于稳健细胞类型分解（robust cell type decomposition, RCTD）算法的空间细胞类型解卷积 因为空间转录组技术的每个 spot 一般都包含多个细胞，为了精确解析缺血性脑卒中后不同脑区的细胞组成动态变化，采用 RCTD 算法来进行空间解卷积分析，本研究注释的同物种小鼠的 scRNA-seq 数据作为参考集，通过针对 5 个 ST 样本进行多模式解卷积提取了每个 spot 中各细胞类型的预测比例权重，计算各样本中细胞类型的整体构成比例并绘制主要细胞类型在脑组织切片上的空间分布权重图，通过对所有空间图叠加真实的组织切片病理背景来实现精准解剖定位^[19]。

1.3.4 CellOracle 基因调控网络构建与虚拟敲降分析 通过使用单细胞 RNA 测序的原始数据，利用 CellOracle v0.20.0 软件包构建基因调控网络（gene regulatory network, GRN）进行转录因子虚拟敲降模拟^[20]。先对原始单细胞数据进行分层下采样至

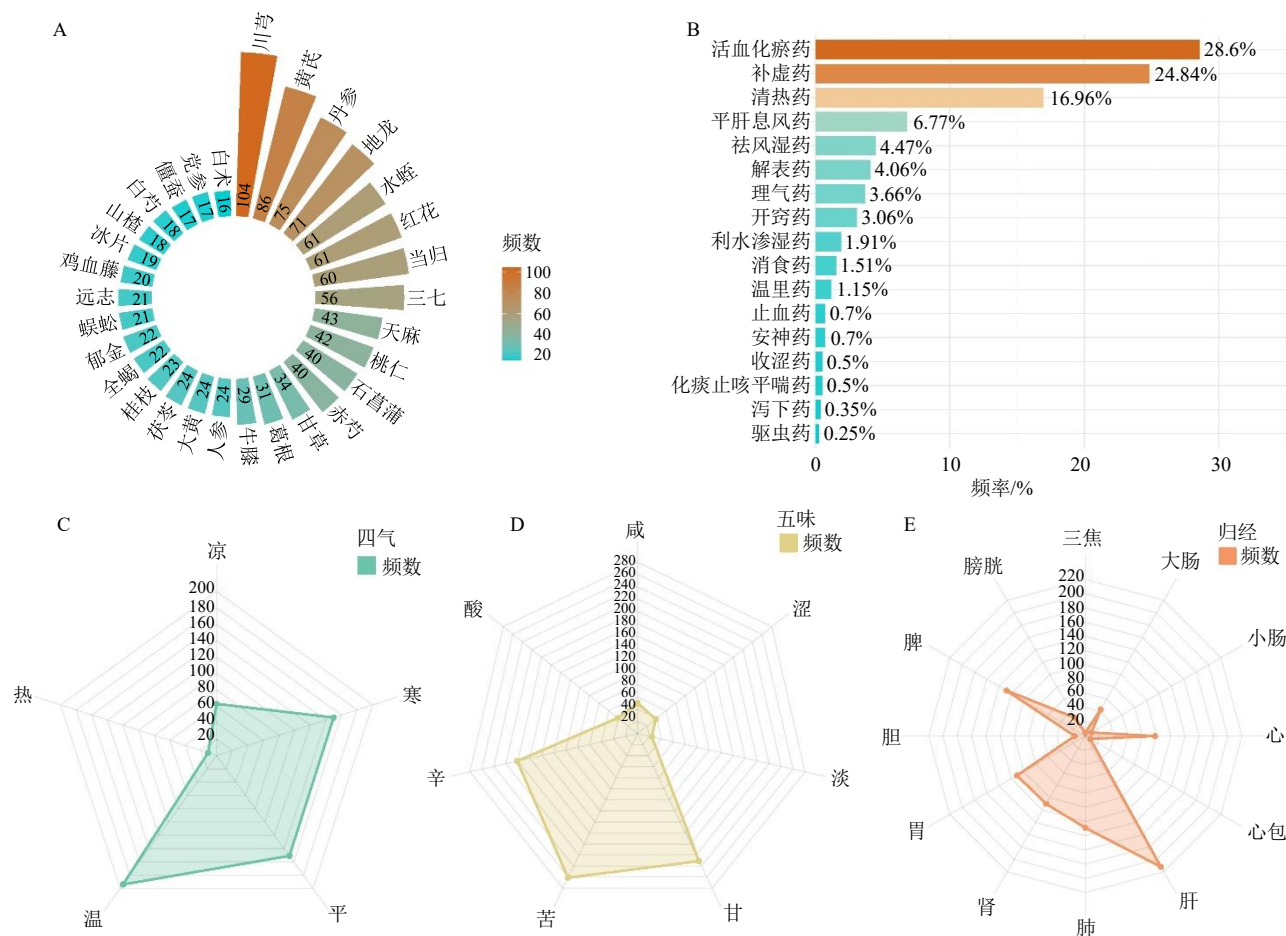
15 000 个细胞, 经过标准化、高变基因筛选 top 3 000 基因并且采用 cell ranger 方法、主成分分析 (principal component analysis, PCA) 降维 50 个主成分及统一流形近似与投影 (uniform manifold approximation and projection, UMAP) 可视化后, 导入 CellOracle 分析流程。以 JASPAR 数据库 (<https://jaspar.elixir.no/>) 转录因子结合位点信息构建候选调控关系并结合 scRNA-seq 表达数据通过岭回归 (ridge regression, $\alpha=10$) 拟合各细胞类型特异性 GRN。针对靶基因 *Ptgs2*、*Egfr* 和 *Il6* 的上下游关键转录因子, 将目标转录因子 (transcription factor, TF) 表达量设为 0, 分别进行虚拟敲降模拟, 通过信号传播 $n_propagation=3$ 计算各细胞在转录组空间中的命运偏移向量。采用 K 近邻算法 (k-nearest neighbors, KNN) 转移概率估计 $n_neighbors=40$ 和嵌入空间偏移计算 $\sigma_{corr}=0.05$ 量化细胞

命运变化, 并在 UMAP 空间中可视化向量流及各细胞类型的平均扰动强度^[21]。

2 结果

2.1 数据分析

2.1.1 高频用药统计 筛选出符合条件专利复方 235 项, 涉及中药 534 味, 专利复方最少用药 2 味, 最多用药 37 味, 中药总使用频次 2 289 次, 筛选出频次大于 15 的高频药物 30 味, 见图 2-A, 累计频次 1 139 次, 占总频次的 46%。功效分类显示使用频率排名前 3 位的是活血化瘀药、补虚药、清热药, 见图 2-B。性味归经结果见图 2-C~E, 显示四气分布累计使用频次 569 次, 以温 (194 次)、平 (151 次)、寒 (150 次) 为主; 五味累计使用频次 846 次, 以甘 (231 次)、苦 (261 次)、辛 (201 次) 为主; 归经累计使用频次 899 次, 以肝 (212 次)、肺 (129 次)、脾 (128 次) 为主。



A-高频药物分布; B-功效分类使用频率; C-四气使用频数; D-五味使用频数; E-归经使用频数。

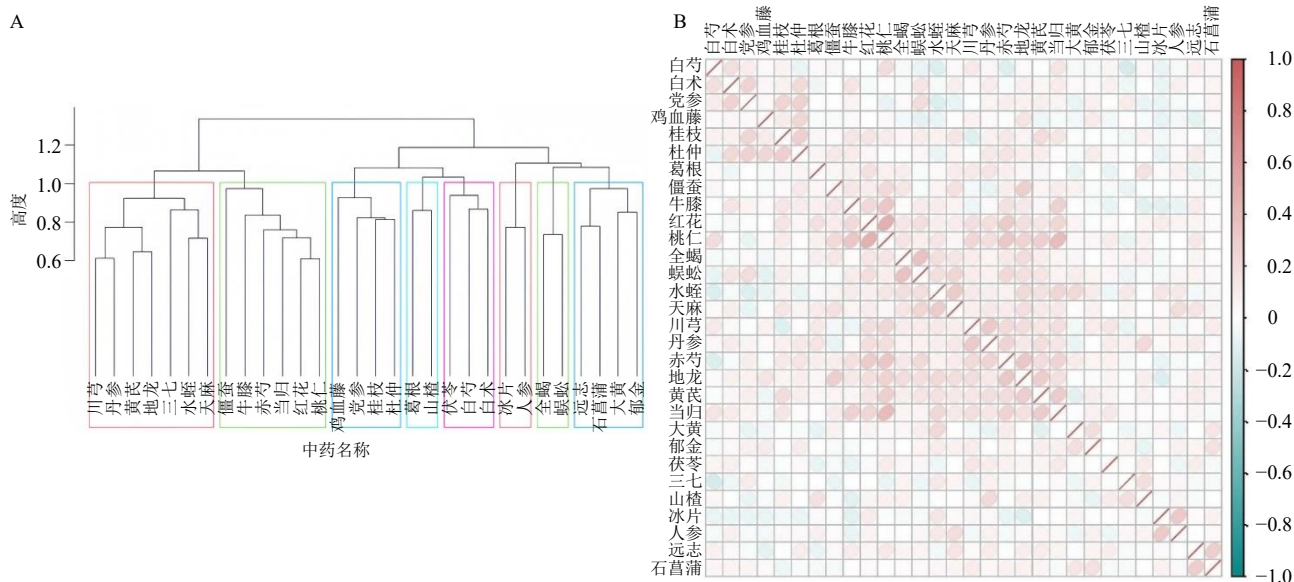
A-distribution of high-frequency herbs; B-usage frequency of efficacy classifications; C- usage frequency of the four properties; D-usage frequency of the five flavors; E-usage frequency of meridian tropism.

图 2 高频用药统计及性味归经分布

Fig. 2 Statistics of high-frequency traditional Chinese medicines and distribution of their property, flavor and meridian tropism

2.1.2 系统聚类与药物相关性 (phi) 分析 通过设定频次 ≥ 15 次为阈值筛选并剔除甘草、大枣等调和药后共纳入 30 味高频中药参与后续分析。经过 Ward.D2 系统聚类结果 (图 3-A) 显示, 30 味药物被

划分为 8 个聚类群, 提示专利复方中存在多类潜在配伍, 其中, “远志-石菖蒲-大黄-郁金” 聚类分支相对独立, 且该 4 味药分别具有祛痰开窍、醒神安神、行气活血、通腑泄浊之功, 能够较好对应 IS “痰浊



A-Ward.D2 系统聚类树状图 ($K=8$), 纵轴为聚类高度, 不同颜色矩形框代表 8 个聚类群; B-Phi 系数相关性热图, 颜色由深红 (正相关, $\varphi=1$) 至深青 (负相关, $\varphi=-1$) 渐变, 椭圆形状反映相关性大小, 药物排列顺序依据层次聚类结果确定。

A-Ward.D2 hierarchical clustering dendrogram ($K=8$), the vertical axis represents the clustering height, and the eight distinct clusters are indicated by rectangles of different colors; B-Phi coefficient correlation heatmap, the color gradient ranges from dark red (positive correlation, $\varphi=1$) to dark cyan (negative correlation, $\varphi=-1$), the shape of each ellipse reflects the magnitude of the correlation coefficient, and the arrangement of herbs is determined according to the hierarchical clustering results.

图 3 高频中药聚类分析与 Phi 相关系数热图

Fig. 3 Cluster analysis and Phi correlation coefficient heatmap of high-frequency traditional Chinese medicines

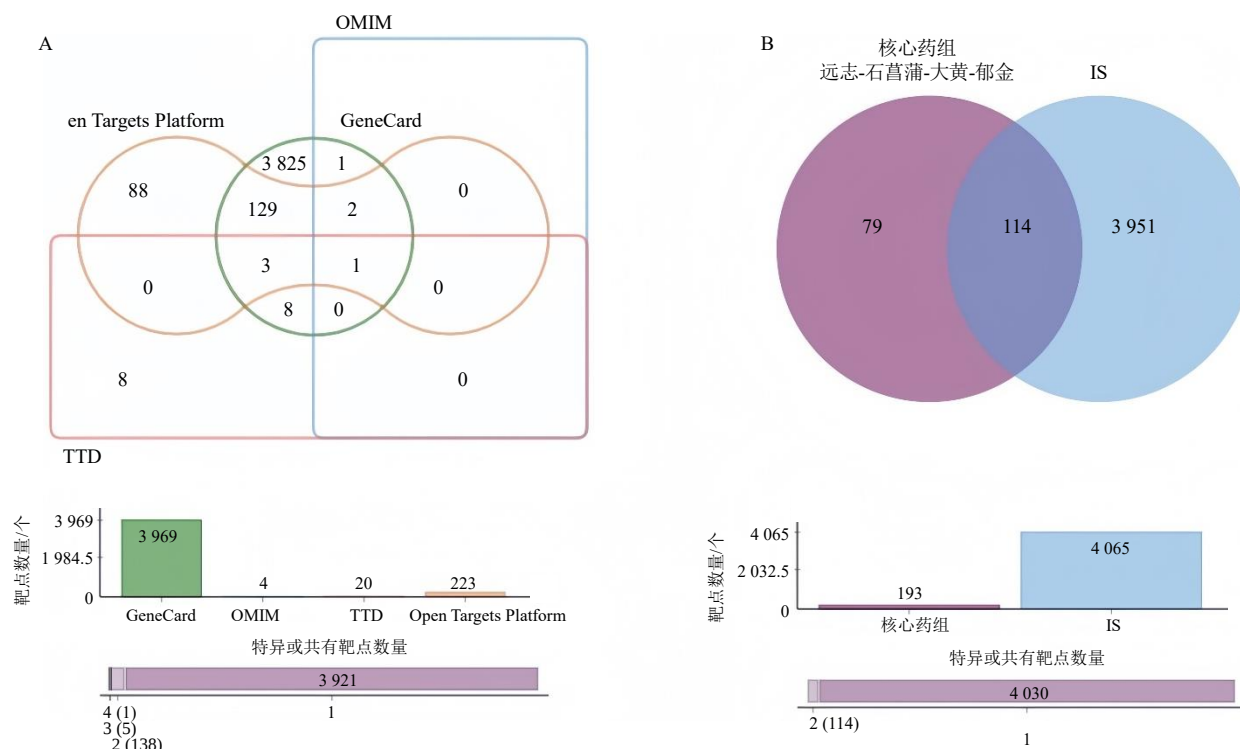
蒙窍、腑气不通、痰热内阻”的病机特点, 体现了“化痰开窍、通腑醒神”的治疗思路。对此将其作为后续机制分析的候选核心药组。进一步统计发现, 远志、石菖蒲、大黄、郁金 4 味药在同一处方中未见完全共现; 其中石菖蒲出现 40 次, 远志出现 21 次, 大黄出现 24 次, 郁金出现 22 次。两两共现中, 远志-石菖蒲共现 11 次, 石菖蒲-大黄共现 8 次, 石菖蒲-郁金共现 8 次, 大黄-郁金共现 6 次。3 味共现中, 石菖蒲-大黄-郁金共现 3 次、远志-石菖蒲-大黄和远志-石菖蒲-郁金各共现 2 次。提示该组合并非现有专利处方中的固定 4 味共现配伍, 而是基于系统聚类、功效互补及病机对应关系综合提炼出的候选核心药组。Phi 系数热图从药物相关性角度支持上述聚类趋势, 见图 3-B。但就整体 Phi 系数普遍偏低, 提示各药物配伍具有一定的选择性与专一性。

2.2 网络药理学分析

2.2.1 核心药物活性成分及靶点预测 基于上述

聚类分析结果及中医病机对应关系, 本研究以“远志-石菖蒲-大黄-郁金”药组作为后续研究对象, 通过 TCMSP、HERB、ETCM 数据库检索并合并去重后共获得该药组 128 个化合物。依据 Lipinski 五规则筛选后得到符合条件的候选活性成分 103 个。其中, 4 味药物共有成分 29 个, 石菖蒲与郁金共有成分 27 个, 提示该药组在化学成分上具有一定交叉基础。将 103 个活性成分分别导入 ChEMBL、SEA 及 SwissTargetPrediction 数据库进行靶点预测, 合并结果并去重共获得药物潜在作用靶点 193 个。

2.2.2 疾病靶点收集及与成分靶点交集 检索 GeneCards、OMIM、Open Targets Platform 及 TTD 数据库收集 IS 疾病靶点, 合并去重后共获得疾病靶点 4 065 个, 见图 4-A。使用微生信在线平台绘制韦恩图取药物靶点与疾病靶点的交集, 共获得 114 个核心药组治疗 IS 的潜在作用靶点, 并作为后续网络构建与富集分析的基础, 见图 4-B。



A-GeneCards、OMIM、Open Targets Platform、TTD 4 个数据库 IS 疾病靶点韦恩图，合并去重后共 4 065 个；B-药物靶点（核心药组，193 个）与疾病靶点（IS，4 065 个）交集韦恩图，交集靶点 114 个。

A-Venn diagram of ischemic stroke (IS)-related disease targets retrieved from four databases, including GeneCards, OMIM, Open Targets Platform, and TTD; A total of 4 065 non-redundant targets were obtained after merging and deduplication; B-Venn diagram showing the intersection of drug-related targets (core drug group, $n = 193$) and IS-related targets (IS, $n = 4 065$), yielding 114 overlapping targets.

图 4 靶点韦恩图

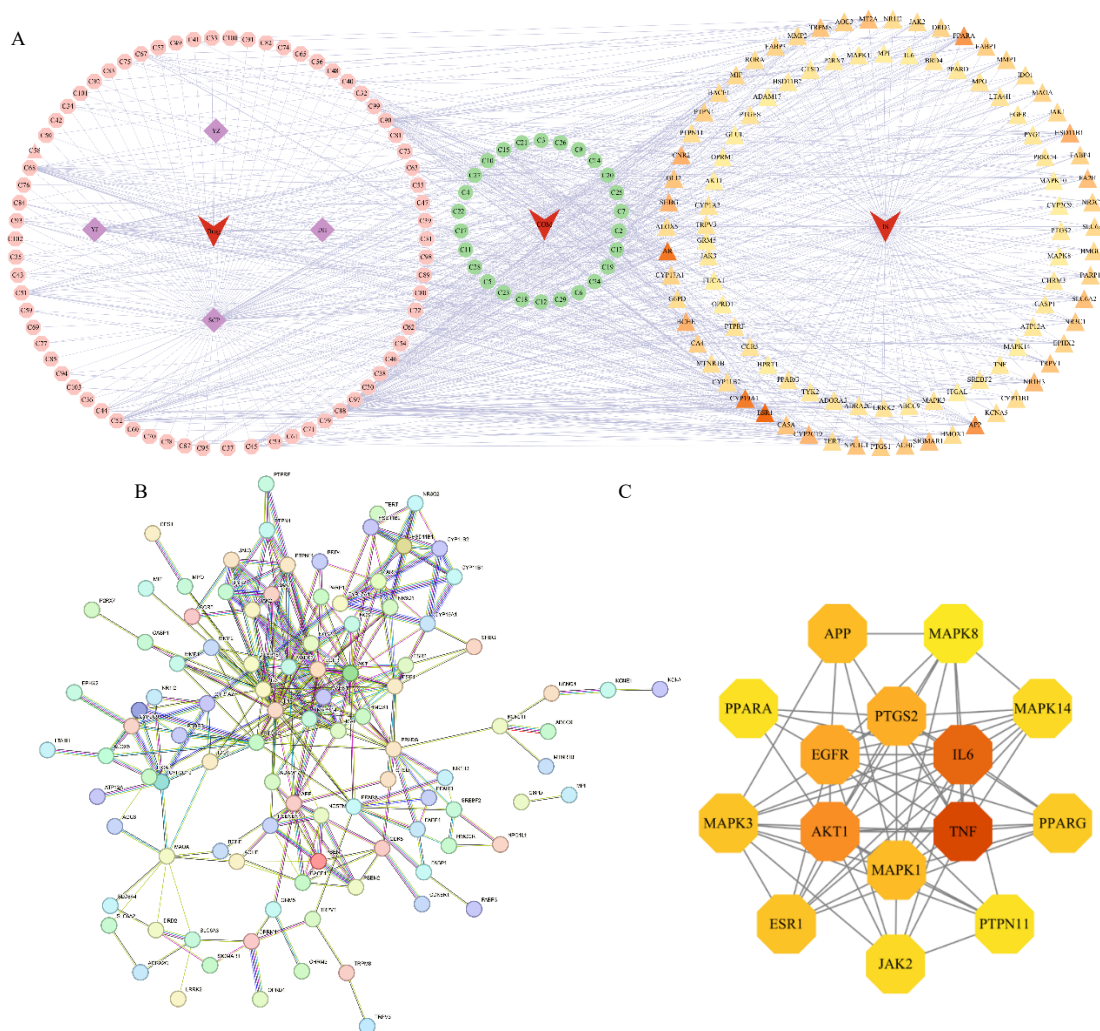
Fig. 4 Venn diagrams of targets

2.2.3 药物-成分-靶点网络及 PPI 网络分析 将 114 个潜在作用靶点通过 Cytoscape 构建“成分-靶点”网络，见图 5-A，网络共包含 203 个节点和 789 条边，进一步将度 (degree) 值为主要拓扑筛选指标，同时结合文献报道^[22-27]，筛选出 1-羟基萹蓄烯酮、马兜铃酮、萹蓄二醇、 β -细辛醚、 α -细辛醚、山柰酚、百里香酚、丁香酚、咖啡酸 9 个代表性活性成分，涵盖了郁金、石菖蒲、大黄、远志 4 味药物。将这些潜在作用靶点导入 STRING 数据库构建 PPI 网络，置信度阈值设为 ≥ 0.7 ，见图 5-B。通过 CytoNCA 插件分析，度值排名前 6 位分别是肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、蛋白激酶 B1 (protein kinase B1, AKT1) 和白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)，见图 5-C。上述候选核

心靶点在网络中居于中心位置且与多个靶点密切相连，提示其可能参与远志-石菖蒲-大黄-郁金候选核心药组治疗 IS 的潜在作用过程。

2.2.4 GO 及 KEGG 富集分析 借助 DAVID 数据库对 114 个交集靶点进行 GO 功能和 KEGG 分析，结果见图 6。GO 分析显示，交集靶点显示生物过程主要集中在炎症反应、MAPK 级联反应、凋亡负调控、氧化应激反应及脂质代谢过程等；细胞组分主要涉及细胞膜、质膜、细胞质、细胞溶质及神经元突起等；分子功能主要包括蛋白结合、蛋白激酶活性、氧化还原酶活性及血红素结合等。KEGG 分析结果显示该药组的靶点主要与 TNF、IL-17、HIF-1、叉头框 O 信号通路、凋亡、脂质与动脉粥样硬化及神经退行性疾病等通路有关。

2.2.5 分子对接及动力学模拟结果 鉴于 TNF、IL-6 等炎症因子更多反映的是缺血后炎症状态及细胞通讯异常，本研究未将其分子对接结果作为活性成分直接调控炎症因子的依据。为初步评估代表性活



A-药物-成分-靶点-疾病网络图; B-基于 STRING 构建的 PPI 网络图; C-基于 cytoNCA 插件进行度值筛选的候选核心靶点。

A-herbal-component-target-disease network diagram; B-protein-protein interaction (PPI) network constructed based on the STRING database; C-core targets screened by degree value using the cytoNCA plugin.

图 5 药物-成分-靶点网络及 PPI 网络分析

Fig. 5 Herbal-component-target network and PPI network analysis

性成分与明确结构基础的候选作用蛋白之间的潜在直接结合可能, 选择 9 个代表性活性成分与 4 个候选作用靶点进行分子对接来评估二者之间相互作用的结合能力, 结果见图 7。结果显示代表性活性成分与部分候选作用蛋白之间具有一定结合倾向, 并将 6 对最低结合能结果进行 PyMOL 可视化处理, 见图 8。根据对接结果, 选择山柰酚-EGFR 复合物及山柰酚-PTGS2 复合物进行了 100 ns 的分子动力学模拟, 结果见图 9、10, 结果显示 EGFR 骨架与山柰酚的 RMSD 值在 40 ns 后趋于平稳, 说明体系达到动态的平衡; 山柰酚与 PTGS2 结合中蛋白骨架与复合物的 RMSD 在模拟初期即迅速达到平衡, 随后分别稳定在约 0.16、0.21 nm。随后采用

MM/PBSA 方法对模拟稳定阶段轨迹进行结合自由能分析, 其结果显示山柰酚-PTGS2 复合物与山柰酚-EGFR 复合物的结合自由能 (binding free energy, ΔG) 分别为 -26.73、-29.70 kcal/mol, 二者均为负值, 提示它们的结合在模拟条件下具有一定热力学稳定性。

3 单细胞 RNA 测序分析与空间转录组分析

3.1 单细胞 RNA 测序结果

基于典型标记基因共鉴定出了 9 种主要的非神经元细胞类型, 包括星形胶质细胞、内皮细胞、巨噬细胞、小胶质细胞、壁细胞、中性粒细胞、少突胶质细胞、少突胶质前体细胞以及 T 细胞, 见图 11。通过 CellChat 分析 MCAO 组与 Sham 组的细胞通

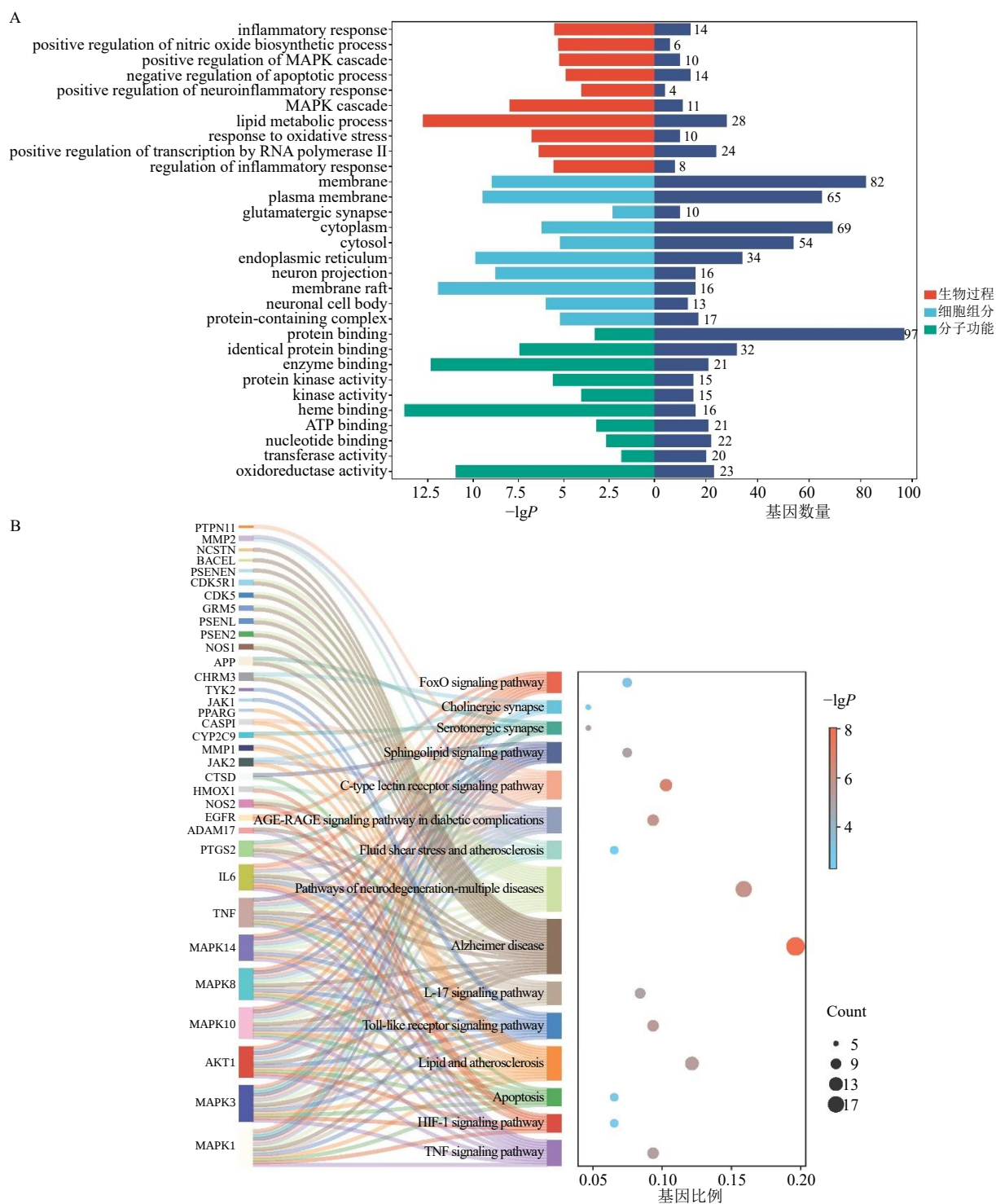


图 6 GO 功能 (A) 和 KEGG 通路 (B) 富集结果

Fig. 6 Enrichment results of GO functions (A) and KEGG pathways (B)

讯差异后,发现 IS 中明显改变了脑内的配体-受体交互模式,结果见图 12。在 MCAO 组中,与炎症反应和血管生成密切相关的通路 CCL、TNF、MIF、VEGF、ANGPTL 等通讯强度显著增强且 CCL 通路在 MCAO 组中表现较为突出^[28],这些结果提示缺

血后脑组织微环境中免疫炎症相关细胞通讯发生了改变,TNF 等候选靶点相关通路可能参与到这一过程中^[29]。

3.2 核心药组候选核心靶点的空间表达特征

将 6 个核心靶点符号转换为对应的小鼠同源基

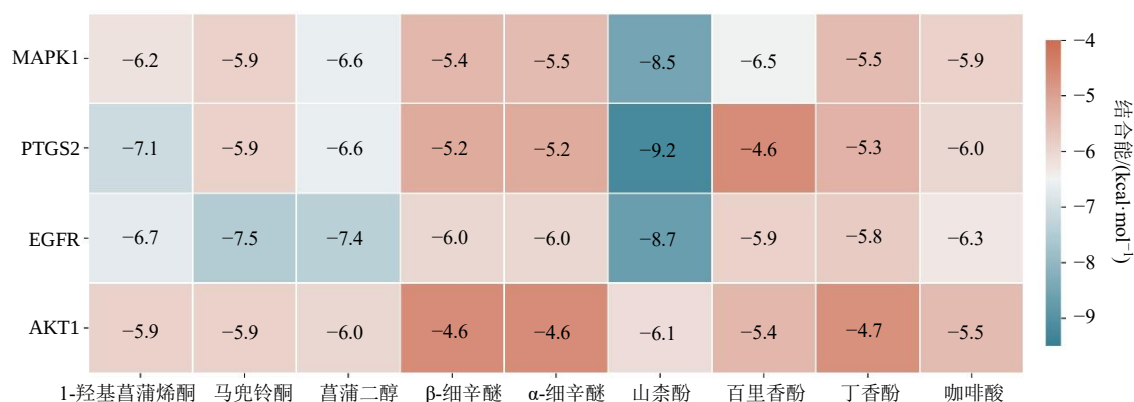
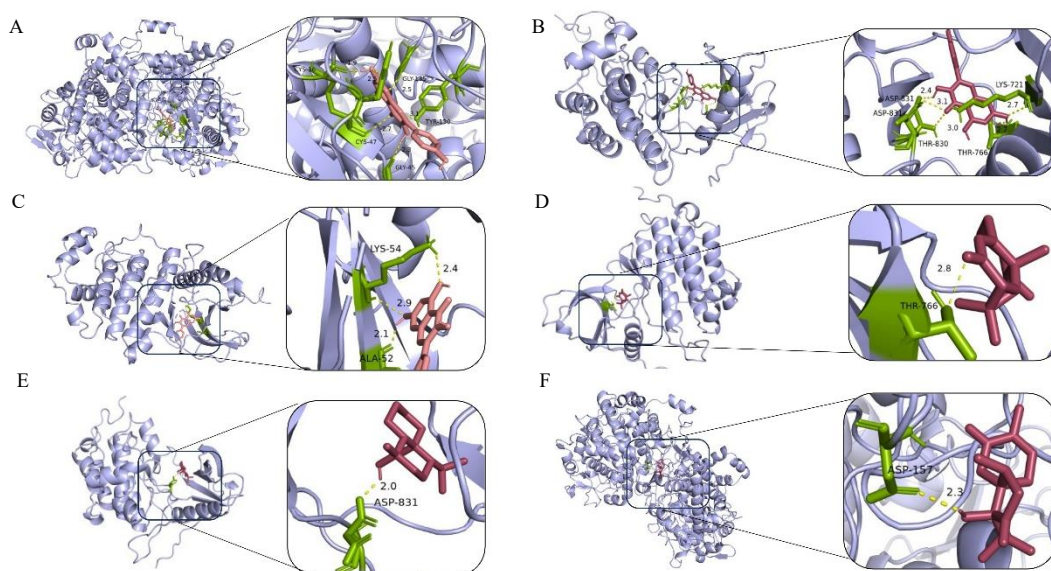


图7 代表性活性成分与部分候选作用蛋白的分子对接结合能热图

Fig. 7 Heatmap of molecular docking binding energies between representative active components and some candidate target proteins



A-山奈酚-PTGS2 ($-9.2 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$); B-山奈酚-EGFR ($-8.7 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$); C-山奈酚-MAPK1 ($-8.5 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$); D-马兜铃酮-EGFR ($-7.5 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$); E-萹蒲二醇-EGFR ($-7.4 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$); F-1-羟基萹蒲烯酮-PTGS2 ($-7.1 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$).

A-kaempferol-PTGS2 ($-9.2 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$); B-kaempferol-EGFR ($-8.7 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$); C-kaempferol-MAPK1 ($-8.5 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$); D-aristolone-EGFR ($-7.5 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$); E-calamendiol-EGFR ($-7.4 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$); F-1-hydroxyacoronene-PTGS2 ($-7.1 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$).

图8 分子对接最低结合能构象可视化 (Top 6)

Fig. 8 Visualization of molecular docking poses with lowest binding energies (Top 6)

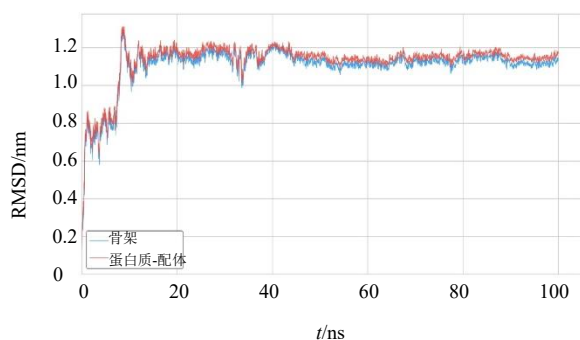


图9 山奈酚-EGFR复合物分子动力学模拟结果

Fig. 9 Molecular dynamics simulation results of kaempferol-EGFR complex

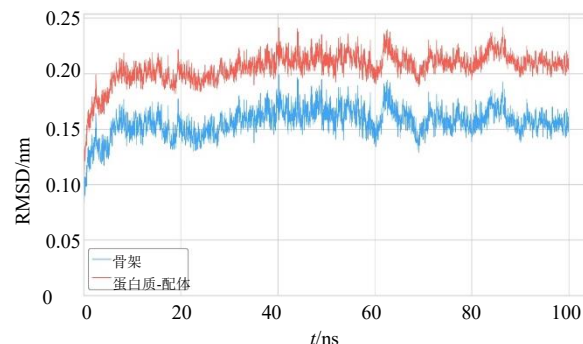
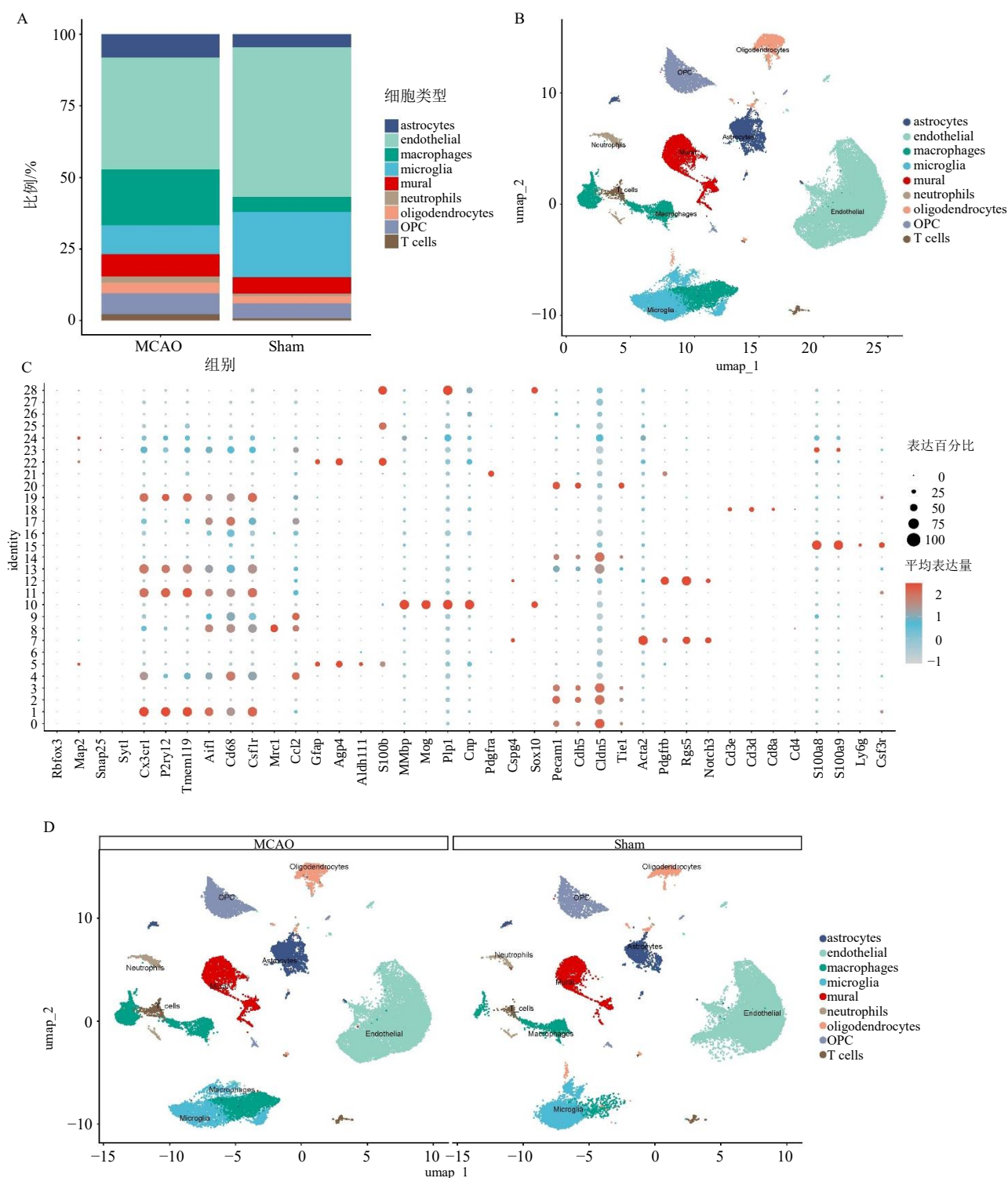


图10 山奈酚-PTGS2复合物分子动力学模拟结果

Fig. 10 Molecular dynamics simulation results of kaempferol-PTGS2 complex



A-两组间各细胞类型比例；B-UMAP 细胞类型注释图；C-各细胞亚群标志基因表达气泡图；D-MCAO 组与 Sham 组细胞类型分布比较。

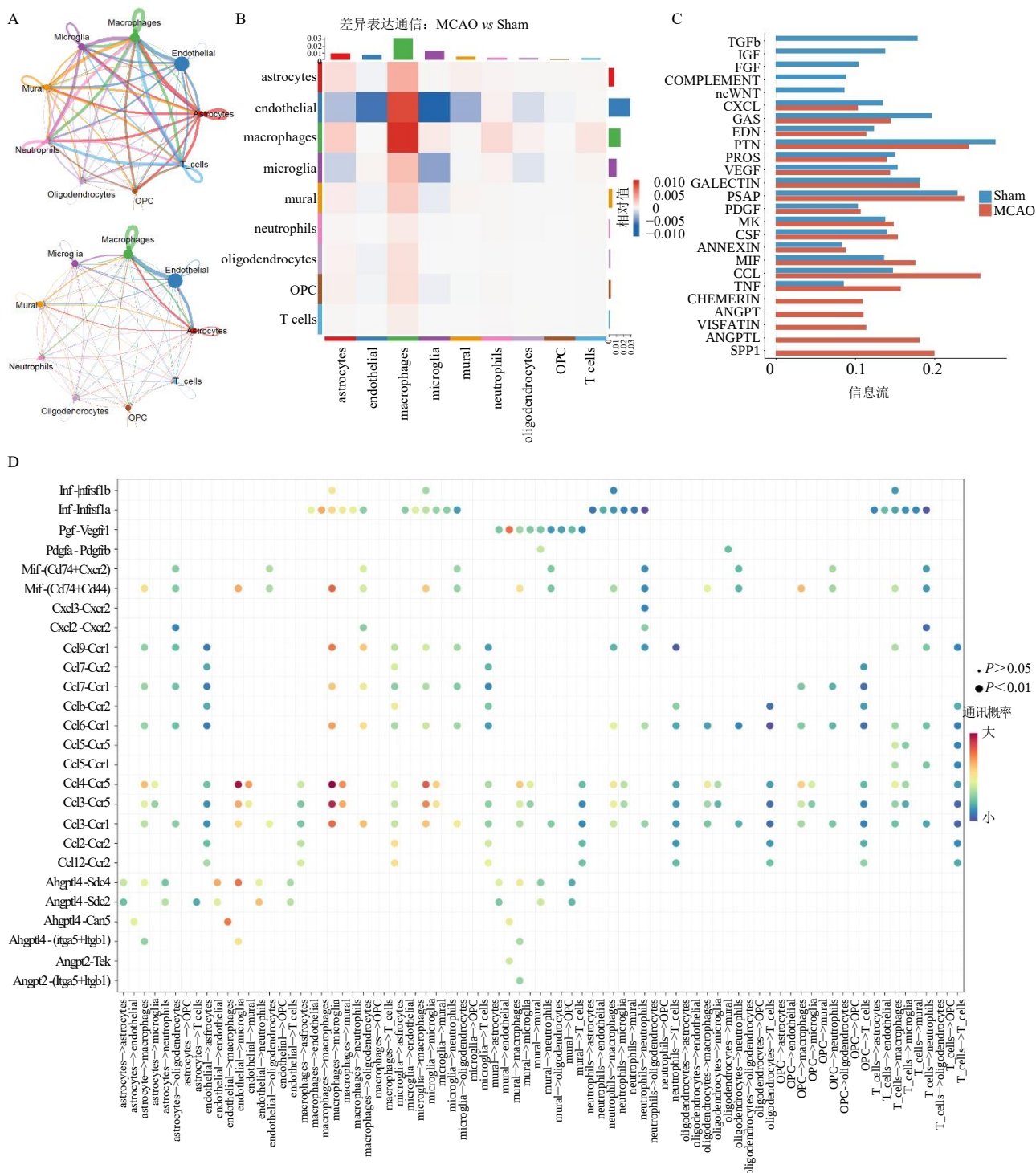
A-proportions of each cell type between the two groups; B-UMAP plot with cell type annotation; C-bubble plot of marker gene expression across cell subclusters; D-comparison of cell type distribution between the MCAO group and the Sham group.

图 11 IS 单细胞 RNA 测序细胞图谱分析

Fig. 11 Single-cell RNA-sequencing cell atlas analysis of IS

因符号，即 *Tnf*、*Mapk1*、*Ptgs2*、*Egfr*、*Akt1* 和 *Il6*，低表达的细胞因子 *Tnf* 在空间转录组矩阵中未被捕

获，所以模块评分主要基于其余 5 个靶基因 *Mapk1*、*Ptgs2*、*Egfr*、*Akt1* 和 *IL6* 的综合表达水平。经过对



A-MCAO 组与 Sham 组整体细胞通讯网络图，上图为 MCAO 组，下图为 Sham 组；B-两组间差异通讯热图；C-各信号通路通讯强度比较；D-MCAO 组中与药组候选核心靶点相关的配体-受体对。

A-overall cell-cell communication networks in the MCAO group and the Sham group, the upper figure shows the MCAO group, and the lower figure shows the Sham group; D-heatmap of differential cell-cell communication between the two groups; C-comparison of communication strength across signaling pathways; D-ligand-receptor pairs associated with the core targets of the herb combination in the MCAO group.

图 12 基于 CellChat 的 MCAO 组与 Sham 组细胞通讯网络分析

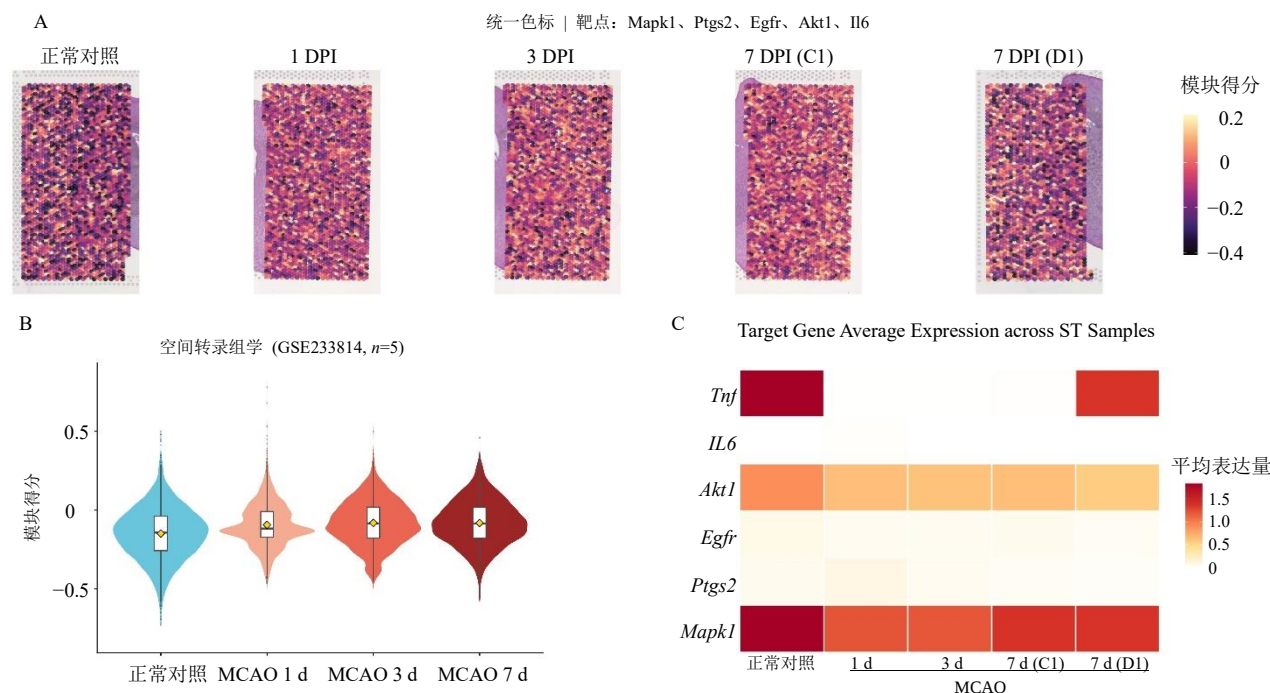
Fig. 12 Cell-cell communication network analysis between MCAO and Sham groups based on CellChat

空间转录组分析，从模块评分来看在对照组中各靶点呈现出了低水平的均匀分布，而在 MCAO 术后第

1、3 天，靶点综合评分在梗死核心区及周围半暗带出现升高，并且和组织损伤区域具有一定空间一致

性。至 MCAO 术后第 7 天，随着组织的修复与重塑，高分区域较前收缩并呈现出一定异质性分布，见

图 13。这些结果说明了候选核心靶点在缺血后不同病理阶段及损伤区域中呈现动态空间表达的特征。



A-候选核心靶点模块评分在各时间点脑组织切片上的空间分布，DPI 表示缺血造模后天数，C1 和 D1 为 7 DPI 组不同样本编号（图 14 同），颜色越高表示核心靶点相关综合响应越强；B-各时间点模块评分分布小提琴图；C-候选核心靶点基因在各时间点的平均表达热图。

A-spatial distribution of core target module scores across brain tissue sections at each time point, DPI denotes days post-ischemia modeling; C1 and D1 are different sample IDs for the 7 DPI group (same as fig. 14), higher color intensity indicates a stronger comprehensive response associated with the core targets; B-violin plots of module score distributions at each time point; C-heatmap of average expression of core target genes at each time point.

图 13 核心药组靶点在空间转录组中的时空表达特征

Fig. 13 Spatiotemporal expression profiles of targets of core herb combination in spatial transcriptomics

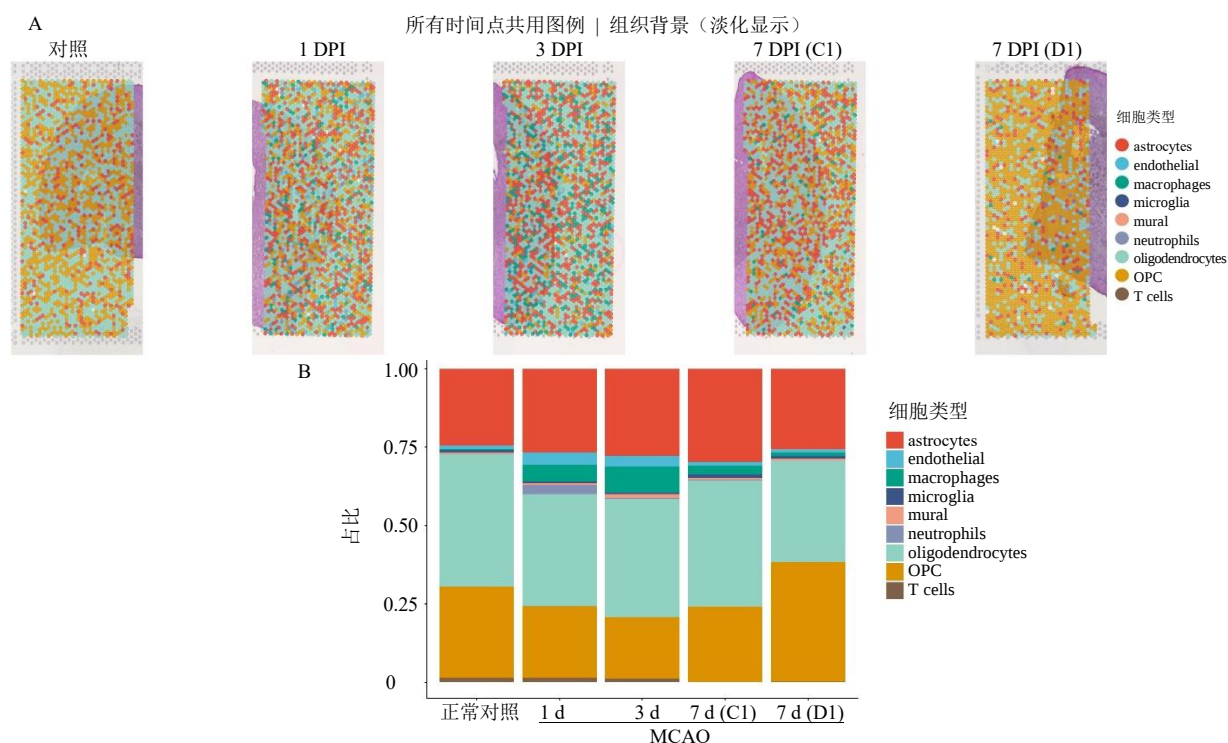
3.3 空间解卷积揭示动态演变

为了进一步分析缺血脑组织不同区域的细胞组成变化，采用 RCTD 算法对空间转录组数据进行解卷积分析，结果见图 14，与正常的脑组织相比，MCAO 后缺血区域的细胞组成发生了明显变化：①缺血早期 1~3 d 时，巨噬细胞等免疫细胞的比例升高，而且和候选靶点表达区域具有一定空间重叠；②星形胶质细胞在梗死边缘区分布有所增加；③少突胶质细胞和少突胶质前体细胞（oligodendrocyte precursor cell, OPC）比例下降。MCAO 后第 7 天，随着外周免疫浸润减退，OPC 也回升至约 40%，提示微环境开始进入了一个修复与重塑的阶段。这些结果显示候选靶点高表达区域与巨噬细胞、星形胶质细胞等细胞群的空间分布具有一致性。

4 CellOracle 虚拟敲降揭示核心靶基因上游转录因子的调控作用

虽然单细胞 RNA 测序和空间转录组分析提示 PTGS2、EGFR、IL-6 等候选靶点在缺血局部微环境

中具有一定细胞类型和空间表达特征，但这些基因相关调控网络与细胞状态变化之间的关系仍需进一步分析。需要说明的是，CellOracle 虚拟敲降分析并非基于分子对接结果来证明活性成分对下游靶点的调控作用，而是基于单细胞表达矩阵和转录因子调控网络，从计算层面推测相关转录因子扰动后可能引起的细胞状态变化。本研究选择 PTGS2、EGFR 和 IL-6 作为后续分析对象，主要依据其在网络药理学和 PPI 分析中的拓扑重要性、空间转录组中的病灶相关表达特征，以及其与炎症反应、细胞存活和神经血管微环境重塑的生物学关联。随后利用 CellOracle 对 PTGS2、EGFR 和 IL-6 相关的上游转录因子信号转导和转录激活因子 3（signal transducer and activator of transcription 3, Stat3）、核因子 κB 亚基 1（nuclear factor kappa B subunit 1, Nfkb1）、缺氧诱导因子 1α（hypoxia-inducible factor 1 alpha, Hif1a）、Jun、Fos 进行虚拟敲降模拟^[30]，见图 15。其中向量流图显示，5 个转录因子敲降后



A-各时间点脑组织切片上优势细胞类型的空间分布；B-各时间点脑组织切片中细胞类型比例堆叠柱状图。

A-spatial distribution maps of dominant cell types across brain tissue sections at each time point; B-stacked bar chart of cell type proportions in brain tissue sections at each time point.

图 14 基于 RCTD 算法的空间细胞类型解卷积分析

Fig. 14 Spatial cell-type deconvolution analysis based on RCTD algorithm

均会引起细胞命运偏移，其中 Jun 和 Fos 的扰动后变化相对明显。在扰动强度热图中定量分析表明，Jun 和 Fos 敲降对壁画细胞和 T 细胞的扰动强度最大，而 NFKB1 敲降对星形胶质细胞和 OPC 的扰动较弱。而 GRN 分析进一步说明了 Stat3、Nfkb1、Hif1a、Jun、Fos 的靶基因分别富集于炎症信号、缺氧应答和应激响应相关通路，这与前述扰动结果相符。上述结果提示 PTGS2、IL6、EGFR 相关转录因子网络可能与缺血后炎症应答、及细胞状态有关^[31]。

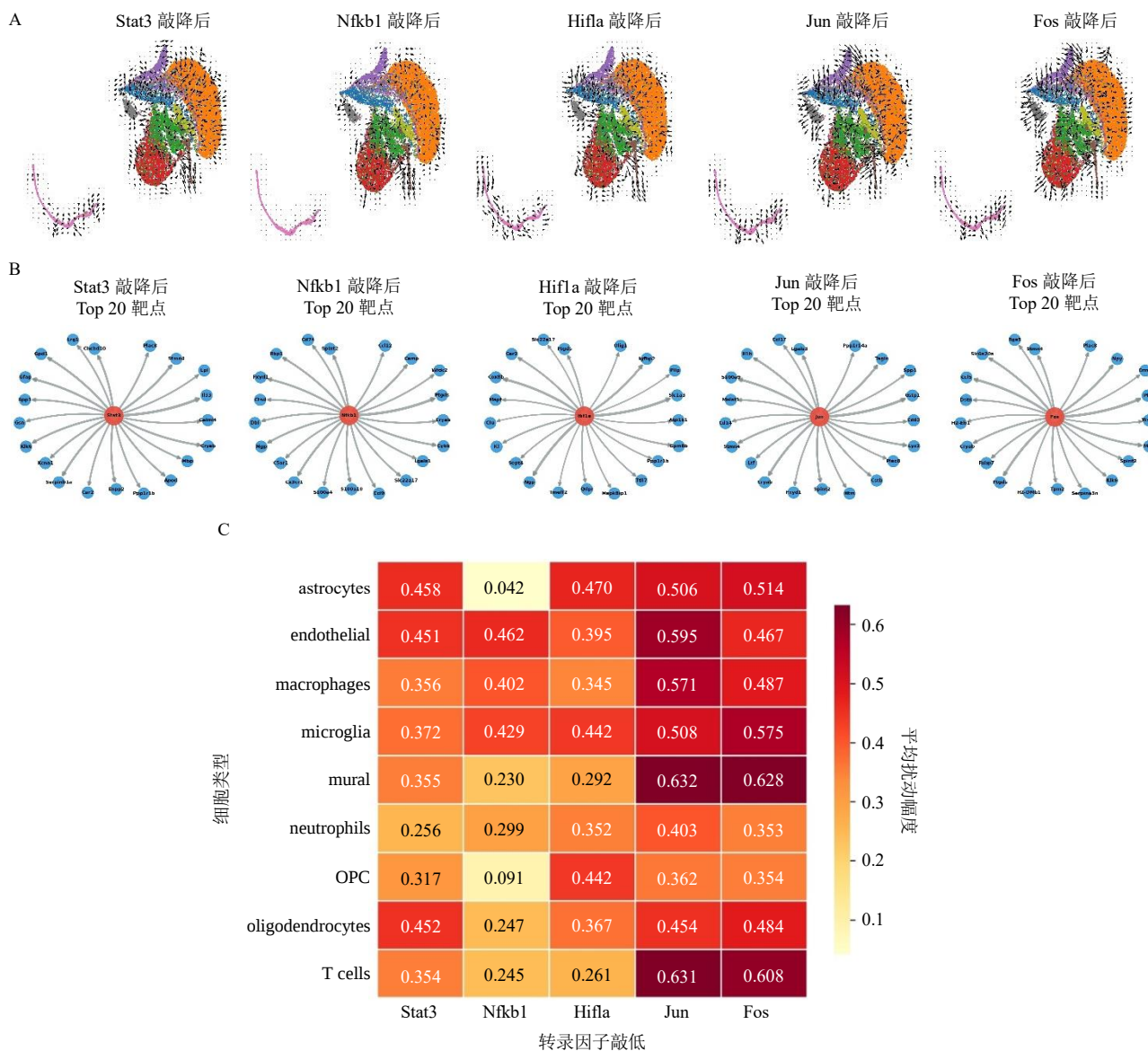
5 讨论

IS 在中医学上多将其归属于“中风”范畴，认为该疾病的发生发展与痰、瘀、热、闭等病理因素密切相关^[32]，其中痰浊蒙窍、腑气不通是影响该疾病神志恢复及病情演变的重要病机之一。故本研究围绕国家专利中药复方治疗 IS 的用药规律，通过整合专利数据挖掘、网络药理学、分子对接和动力学模拟、单细胞 RNA 测序、空间转录组及 CellOracle 虚拟敲降等方法，初步构建了候选药组-核心成分-候选核心靶点-时空验证-中医理论阐释的机制证据链。值得注意的是，本研究并非直接确证新的临床复方或者治疗靶点，而是从专利复方中提炼出远

志、石菖蒲、大黄、郁金候选核心药组，并提出其可能关联的炎症微环境调控和神经血管重塑相关候选机制^[33]。

在用药规律方面，远志、石菖蒲、大黄、郁金组成的候选核心药组在高频中药聚类中形成相对独立的分支，4 药配伍一方面具有化痰开窍、醒神通络之功，另一方面还可行气活血、通腑泄浊。这较好契合中风后痰浊内阻、瘀热互结、清窍受蒙的病机特点，体现出化痰开窍、通腑醒神的配伍思路。结合该疾病现代病理过程来看，痰浊蒙窍可在一定程度上与缺血后炎症因子聚集、胶质细胞活化、血脑屏障损伤及神经血管单元功能紊乱等局部微环境异常联系起来；腑气不通则可理解为热毒壅滞、浊邪不解及炎症反应持续放大的病理状态^[34]。由此推测该药组化痰、开窍、通腑、行气活血的配伍特点可能通过调节炎症微环境、改善细胞间通讯等环节获得现代生物学解释。

在成分与靶点方面，本研究筛选出 1-羟基菖蒲烯酮、马兜铃酮、菖蒲二醇、 β -细辛醚、 α -细辛醚、山柰酚、百里香酚、丁香酚及咖啡酸 9 个代表性活性成分，并获得 TNF、IL-6、AKT1、EGFR、MAPK1、



A-5 个核心转录因子虚拟敲降后各细胞亚群的基因表达状态迁移向量流图；B-各转录因子虚拟敲降后 Top 20 下游靶基因调控网络图；C-各转录因子虚拟敲降对不同细胞类型的扰动强度热图。

A-vector field plots of gene expression state transition in each cell subcluster following in silico knockdown of five core transcription factors; B-regulatory network diagrams of the top 20 downstream target genes following in silico knockdown of each transcription factor; C-heatmap of perturbation intensity across different cell types following in silico knockdown of each transcription factor.

图 15 核心转录因子虚拟敲降分析结果

Fig. 15 In silico knockdown analysis of core transcription factors

PTGS2 6 个候选核心靶点。GO 和 KEGG 富集结果显示相关靶点主要涉及的是炎症反应、MAPK 级联反应、氧化应激、凋亡调控及 TNF、IL-17、HIF-1 等信号通路，说明该候选药组可能与缺血后炎症放大、细胞损伤及修复过程有关^[35-38]。而且后续的分

子对接和分子动力学模拟结果也显示山柰酚与 PTGS2、EGFR 复合物在模拟条件下具有一定结合稳定性。TNF、IL-6 作为分泌型细胞因子，其生物学功能主要通过

与膜受体结合发挥作用，并非小分子化合物的直接作用，故未纳入对接分析，随后的 MM/PBSA 结合自由能均为负值。但是这些分子模拟结果只能作为成分与候选蛋白潜在结合的辅助结构证据，不能证明活性成分对 TNF、IL-6 等炎症因子或下游通路具有直接调控作用。

单细胞 RNA 测序结果和空间转录组分析进一步从细胞和空间层面对候选靶点进行了交叉分析。

这些结果显示 MCAO 后脑组织中巨噬细胞、小胶质细胞、星形胶质细胞等细胞群及其通讯模式都发生了改变, CCL、TNF、MIF、VEGF 等通路通讯增强。空间转录组结果显示候选靶点模块评分在梗死核心区及半暗带区域出现升高, 而且随着病程的变化而变化。RCTD 空间解卷积进一步提示候选靶点高表达区域与巨噬细胞、星形胶质细胞等细胞群的空间分布具有一定一致性。上述这些结果从公共数据库层面支持 PTGS2、IL-6、EGFR 等候选靶点与缺血局部炎症微环境和细胞生态位变化存在关联, 但与药物干预后的效应并非同一实验体系, 故不能直接等同于该药组的药效学证据。

在此基础上, CellOracle 虚拟敲降分析从转录调控层面对上述结果进行了补充。结果显示, Stat3、Nfkb1、Hif1a、Jun、Fos 等转录因子扰动后, 细胞状态也出现不同程度的偏移, 在这其中 Jun 和 Fos 相关扰动较为突出^[39], 这些结果提示 PTGS2、IL-6 及 EGFR 相关转录因子网络可能与缺血后炎症应答、缺氧应答及细胞状态变化有关。由于 CellOracle 属于计算预测结果, 其结果只能提示潜在调控方向, 不能替代真实基因敲降实验。

从中医理论角度看, IS 的发生发展并非单一病理因素所致, 痰浊、瘀血、热毒、腑实常相互影响, 进而导致清窍被蒙、神机失用。IS 后炎症因子释放、免疫细胞浸润、胶质细胞反应、神经血管单元损伤^[40]可在一定程度上与痰浊蒙窍、腑气不通、瘀热互结等病机相联系。远志、石菖蒲、大黄、郁金所体现出的化痰开窍、通腑泄浊、行气活血作用可能通过调节炎症微环境、细胞通讯和神经血管重塑等环节获得现代生物学解释, 所以本研究为“通腑醒神”治则治疗 IS 提供了候选机制线索。

本研究仍然存在一定局限性, 本研究主要是基于专利数据的挖掘、网络药理学的预测、分子对接及动力学模拟, 以及多组学数据验证分析, 尚未开展体内外药效实验, 因此, 筛选出来的候选核心药组以及代表性成分的实际药效仍然需要进一步验证, 而且药物成分靶点和疾病靶点主要来源于公开数据库, 可能受数据库覆盖范围、注释完整性及预测算法差异影响, 存在一定预测偏移或遗漏^[41]。而且专利复方的来源比较广泛, 不同的方剂在药材的来源及炮制方法、剂量配比和质量控制标准等方面可能存在差异, 这些也可能会影响结果的外推性; 需要指出的是远志、石菖蒲、大黄、郁金 4 味

药在纳入专利复方中未见完全共现, 因此该药组目前仍不能直接等同于可用于临床的新复方, 而应作为后续复方优化和机制验证的候选基础方^[42]。单细胞数据仅涵盖 MCAO 后 24 h 单一时间点, 空间转录虽然包含多个时间点, 但是仍然属于公开数据再分析。而且分子对接和分子动力学模拟不能直接证明真实生物体系中的靶点调控, 分子动力学模拟尚未进行多次独立重复实验, 后续仍需结合体内外药效实验、靶点干预实验及多时间点组学验证和重复分子动力学模拟进一步确认该药组的作用机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Hua S T, Dong Z X, Wang H, *et al.* Global, regional, and national burden of ischemic stroke in older adults (≥ 60 years) from 1990 to 2021 and projections to 2030 [J]. *Front Neurol*, 2025, 16: 1567609.
- [2] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性卒中诊治指南 2023 [J]. *中华神经科杂志*, 2024, 57(6): 523-559.
- [3] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性脑梗死后出血转化诊治共识 2019 [J]. *中华神经科杂志*, 2019, 52(4): 252-265.
- [4] Rehani B, Ammanuel S G, Zhang Y, *et al.* A new era of extended time window acute stroke interventions guided by imaging [J]. *Neurohospitalist*, 2020, 10(1): 29-37.
- [5] Li J L, Zhao X X, Zhang Y Y, *et al.* Comparison of traditional Chinese medicine in the long-term secondary prevention for patients with ischemic stroke: A systematical analysis [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 722975.
- [6] Fan G H, Liu M L, Liu J, *et al.* Traditional Chinese medicines treat ischemic stroke and their main bioactive constituents and mechanisms [J]. *Phytother Res*, 2024, 38(1): 411-453.
- [7] 翁茂迪, 陈秋燕, 王凯, 等. 中药治疗缺血性脑卒中的研究进展: 机制与策略 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2026, 32(1): 310-316.
- [8] 王汇夏, 谢思鹏, 叶晨, 等. 基于临床数据挖掘的中药治疗缺血性脑卒中恢复期的用药分析 [J]. *中医学*, 2024, 13(6): 1346-1355.
- [9] Meng Q Q, Mi Y, Wang F, *et al.* Intelligent technology leads the transformation of traditional Chinese medicine: Large models and virtual cells aid modern analysis of stroke treatment [J]. *Pharmacol Res*, 2025, 221: 107953.
- [10] 雷烜, 魏蒙召, 宋若会. 国家专利中药复方治疗变应性鼻炎用药规律研究 [J]. *亚太传统医药*, 2025, 21(12): 153-157.
- [11] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 48-459.
- [12] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [13] 王国强. 全国中草药汇编 (卷一-卷四) [M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2014
- [14] Lipinski C A, Lombardo F, Dominy B W, *et al.*

- Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1997, 23(1/2/3): 3-25.
- [15] Huang J, MacKerell A D Jr. CHARMM36 all-atom additive protein force field: Validation based on comparison to NMR data [J]. *J Comput Chem*, 2013, 34(25): 2135-2145.
- [16] Zheng K, Lin L M, Jiang W, *et al.* Single-cell RNA-seq reveals the transcriptional landscape in ischemic stroke [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2022, 42(1): 56-73.
- [17] Li H Y, Liu P Y, Zhang B, *et al.* Acute ischemia induces spatially and transcriptionally distinct microglial subclusters [J]. *Genome Med*, 2023, 15(1): 109.
- [18] Hao Y H, Stuart T, Kowalski M H, *et al.* Dictionary learning for integrative, multimodal and scalable single-cell analysis [J]. *Nat Biotechnol*, 2024, 42(2): 293-304.
- [19] Cable D M, Murray E, Zou L S, *et al.* Robust decomposition of cell type mixtures in spatial transcriptomics [J]. *Nat Biotechnol*, 2022, 40(4): 517-526.
- [20] Kamimoto K, Stringa B, Hoffmann C M, *et al.* Dissecting cell identity via network inference and in silico gene perturbation [J]. *Nature*, 2023, 614(7949): 742-751.
- [21] Castro-Mondragon J A, Riudavets-Puig R, Rauluseviciute I, *et al.* JASPAR 2022: The 9th release of the open-access database of transcription factor binding profiles [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D165-D173.
- [22] Wang J, Mao J, Wang R, *et al.* Kaempferol protects against cerebral ischemia reperfusion injury through intervening oxidative and inflammatory stress induced apoptosis [J]. *Frontiers Pharmacol*, 2020, 11: 424.
- [23] 石坚宏, 姬丽婷, 骆启晗, 等. 石菖蒲化学成分、药理作用及质量标志物预测分析研究进展 [J]. *中成药*, 2021, 43(5): 1286-1290.
- [24] Sun X, Wang D, Zhang T, *et al.* Eugenol attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury by enhancing autophagy via AMPK-mTOR-P70S6K pathway [J]. *Frontiers Pharmacol*, 2020, 11: 84.
- [25] Yan L, Liu Z, Xu L, *et al.* Identification of volatile active components in acori tatarinowii rhizome essential oil from different regions in China by C6 glioma cells [J]. *BMC Complement Med Therap*, 2020, 20(1): 255.
- [26] Liang G, Shi B, Luo W, *et al.* The protective effect of caffeic acid on global cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Behav Brain Funct*, 2015, 11(1): 18.
- [27] Zhao C, Sun L, Zhang Y, *et al.* Thymol improves ischemic brain injury by inhibiting microglia-mediated neuroinflammation [J]. *Brain Res Bull*, 2024, 215: 111029.
- [28] Yu H, Bai K X, Cheng Y D, *et al.* Clinical significance, tumor immune landscape and immunotherapy responses of ADAR in pan-cancer and its association with proliferation and metastasis of bladder cancer [J]. *Aging*, 2023, 15(13): 6302-6330.
- [29] Ma F Y, Bai Y, Li N, *et al.* Cellular communication networks mediated by microglia in ischemic stroke [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2025, 31(12): e70687.
- [30] Diaz-Cañestro C, Reiner M F, Bonetti N R, *et al.* AP-1 (activated protein-1) transcription factor JunD regulates ischemia/reperfusion brain damage via IL-1 β (interleukin-1 β) [J]. *Stroke*, 2019, 50(2): 469-477.
- [31] He Q Y, Ma Y Z, Liu J, *et al.* Biological functions and regulatory mechanisms of hypoxia-inducible factor-1 α in ischemic stroke [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 801985.
- [32] Liu Y R, Zhao P, Cai Z, *et al.* Buqi Huoxue Tongnao Decoction drives gut microbiota-derived indole lactic acid to attenuate ischemic stroke via the gut-brain axis [J]. *Chin Med*, 2024, 19(1): 126.
- [33] Li Y X, Huang W Q, Sun J, *et al.* Traditional Chinese medicinal herbs for treating post-ischemic stroke cognitive impairment insights from frequency and association analysis [J]. *Brain Behav*, 2025, 15(9): e70829.
- [34] Liu X Y, Wang X Y, Wang Y X, *et al.* Rhubarb ameliorates ischemic stroke-induced tryptophan-kynurenine metabolic reprogramming and neuroinflammation via modulation of the IDO-1/TREM-1 pathway [J]. *Phytomedicine*, 2026, 155: 158133.
- [35] Alamri M A, Tahir ul Qamar M. Network pharmacology based virtual screening of flavonoids from *Dodonaea angustifolia* and the molecular mechanism against inflammation [J]. *Saudi Pharm J*, 2023, 31(11): 101802.
- [36] Li X N, Shang N Y, Kang Y Y, *et al.* Caffeic acid alleviates cerebral ischemic injury in rats by resisting ferroptosis via Nrf2 signaling pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2024, 45(2): 248-267.
- [37] Yuan K S, Jin X, Mo X C, *et al.* Novel diagnostic biomarkers of oxidative stress, ferroptosis, immune infiltration characteristics and experimental validation in ischemic stroke [J]. *Aging*, 2024, 16(1): 746-761.
- [38] Sun D Z, Wu L L, Lan S Y, *et al.* β -Asarone induces viability and angiogenesis and suppresses apoptosis of human vascular endothelial cells after ischemic stroke by upregulating vascular endothelial growth factor A [J]. *Peer J*, 2024, 12: e17534.
- [39] Liang K, Lu S S, Shi W H, *et al.* The CEBPB-AP-1 (Jun B/Fos) axis drives neuroinflammation and microglial dysfunction via TNF signaling in ischemic stroke [J]. *Inflammation*, 2026, 49: 168.
- [40] Yang L F, Li Q S, Wang K X, *et al.* Blocking cerebral lymphatic system reduces central and peripheral inflammatory response in ischemic stroke [J]. *Brain Res*, 2024, 1831: 148825.
- [41] Zhai Y Y, Liu L, Zhang F Q, *et al.* Network pharmacology: A crucial approach in traditional Chinese medicine research [J]. *Chin Med*, 2025, 20(1): 8.
- [42] Hou Y Y, Jiang M, Bai G. Target deconvolution strategies in TCM: Bridging medicinal properties with therapeutic efficacies [J]. *Chin Herb Med*, 2025, 17(4): 720-723.

[责任编辑 潘明佳]