

## ·数字中医药·

本文引用:王国佐,龚盛强,兰斌,成绍武,易亚乔,廖君,刘林,葛金文.基于网络药理学方法对脑泰方干预脑梗死的作用机制研究[J].湖南中医药大学学报,2018,38(7):768-776.

# 基于网络药理学方法对脑泰方干预 脑梗死的作用机制研究

王国佐,龚盛强,兰斌,成绍武,易亚乔,廖君,刘林,葛金文\*  
(湖南中医药大学,湖南长沙 410208)

**[摘要]** **目的** 筛选脑泰方主要有效成分,预测其活性成分干预脑梗死的靶点及通路,对比脑梗死有效靶点及涉及的通路,探究脑泰方干预脑梗死的作用机制。**方法** 采用检索中药系统药理学技术平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform,TCMSP)、台湾中医药资料数据库以及文献资料筛选出脑泰方的主要有效成分,利用其活性成分基于 Pubchem 数据库和 Swiss Target Prediction 数据库预测脑泰方有效成分的作用靶点,利用 TTD 数据库检索出脑梗死涉及的靶点,通过生物学信息注释数据库(DAVID)预测分析相应靶点涉及的通路;然后对比不同途径获得的靶点及通路。**结果** 脑泰方中有 40 个活性成分,预测得到靶点 254 个,预测到相关信号通路 46 条;疾病涉及的靶点 26 个,相关信号通路 6 条;其中药物活性成分预测的通路与疾病涉及的通路重合的有 5 条。**结论** 通过数据对比分析可知,脑泰方干预脑梗死可能是通过调节补体和凝血级联通路、钙离子信号通路、肌动蛋白细胞骨架通路等多途径发挥作用,为进一步阐明脑泰方干预脑梗死具体的作用机制提供了重要参考。

**[关键词]** 脑泰方;脑梗死;网络药理学;靶点及通路

**[中图分类号]**R285.5 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.07.013

## Mechanism of Action of Naotaifang in Treatment of Cerebral Infarction: A Study Based on Network Pharmacology

WANG Guozuo, GONG Shengqiang, LAN Bin, CHENG Shaowu, YI Yaqiao, LIAO Jun, LIU Lin, GE Jinwen\*  
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the mechanism of action of Naotaifang in the treatment of cerebral infarction by identifying the main effective components of Naotaifang, predicting the targets and pathways through which the active components of Naotaifang act on cerebral infarction, and comparing the predicted targets and pathways with those related to cerebral infarction. **Methods** Taking advantage of the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology (TCMSP) database and analysis platform, Traditional Chinese Medicine Database @ Taiwan, and literature, the main effective components of Naotaifang were screened out. Based on the active components, targets of the effective components of Naotaifang were predicted with retrieval results from Pubchem database and Swiss Target Prediction database. The targets involved in cerebral infarction were retrieved from TTD database, and the pathways related to the targets were predicated and analyzed using the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID). Then, the targets and pathways obtained from different sources were compared. **Results** There were 254 targets and 46 related pathways predicated from 40 active components of Naotaifang. There were 26 targets and 6 related pathways involved in the disease. Five of the former pathways overlapped with the latter ones. **Conclusion** Through

**[收稿日期]**2017-12-27

**[基金项目]**国家自然科学基金青年基金项目(81202794),湖南省教育厅科学研究项目(16B191)。

**[作者简介]**王国佐,男,副教授,在读博士研究生,主要研究方向:中西医结合心脑血管疾病的防治研究。

**[通讯作者]**\* 葛金文,男,教授,博士研究生导师,E-mail:cmgjw@tom.com。

comparison and analysis of the data, it can be concluded that Naotaifang may act on cerebral infarction by regulating multiple pathways including the complement and coagulation cascade pathway, calcium signaling pathway, and actin cytoskeleton pathway, which provides an important reference for further elucidation of the mechanism of action of Naotaifang in the treatment of cerebral infarction.

[**Keywords**] Naotaifang; cerebral infarction; network pharmacology; target and pathway

脑泰方是基于补阳还五汤加减的自拟方,其中包括黄芪、川芎、地龙、僵蚕四味中药;合用共奏益气活血、祛风化痰、通络之功。四位中药均是最早记载于《神农本草经》的常用中药,两味植物药、两味动物药,这四味药也是中医临床用于脑梗死辨证施治使用频率最高的几味<sup>[1]</sup>,其中黄芪为君药,是用于心脑血管疾病的常用中药,其有效成分有黄芪总黄酮、黄芪总多糖和黄芪总皂苷等,具有抗衰老、抗病毒、抗肿瘤、免疫调节、降血糖等多种生物功能<sup>[2]</sup>;川芎为臣药,其有效成分有川芎嗪、阿魏酸等,具有改善脑缺血、抗氧化、抗血栓、降血脂等作用<sup>[3]</sup>;在益气活血方剂中黄芪和川芎是常用的药对,常共同用于气虚血瘀型心脑血管疾病,代表方剂补阳还五汤<sup>[4]</sup>;地龙和僵蚕通经活络、化痰熄风为佐药;地龙有效成分包括蚯蚓解热碱、琥珀酸、蚯蚓素、花生四烯酸等,具有抗凝、溶栓、扩张血管、改善微循环等作用<sup>[5]</sup>;僵蚕有效成分有蛋白质、草酸铵、溶纤维蛋白酶等,具有抗癫痫、抗凝血等作用,相辅相成发挥益气活血、息风止痉、祛风通络的治疗作用。

网络药理学是基于计算机网络、生物学以及药理学多学科知识背景,然后系统地多层次、多角度以及相互作用层面研究“疾病-基因-靶点-药物”网络作用机制的学科。这一概念是由英国 Andrew L Hopkins 教授 2007 年引入医药研究领域,并被阐述为“下一代药物研究范式”<sup>[6]</sup>。这一研究方法已经引起中医药领域的极大关注。中医是以整体观念、辨证论治为特点,基于全局、系统、辨证的研究人体、疾病和遣方用药的。中药成分的复杂性、靶点的多样性、作用途径的多样性使得这种系统药理学分析方法更加契合中医药的研究<sup>[7]</sup>,中医证型的多样性可能与疾病靶点的多样性、药物成分的多样性相对应;因此,对于中医药的系统发展和整体研究是很有优势的。本文利用计算机网络药理学方法对脑泰方的有效成分和干预脑梗死的有效靶点进行挖掘,借助生物信息学分析构建脑泰方有效成分-靶点-脑梗死-疾病的多维作用网络,为进一步药物的筛选、靶标的筛选提供参考和预测,从而更

加系统全面阐释中药干预脑梗死的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 脑泰方中各药物有效成分的筛选

通过中药系统药理学数据库和分析平台<sup>[8]</sup>(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform,TCMSP):<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>,将黄芪及川芎的中药小分子数据进行收集和下载。由于TCMSP数据库未检索到地龙和僵蚕的相关信息,在台湾中医药资料数据库<sup>[9]</sup>:<http://tcm.cmu.edu.tw/zh-tw/index.php>,收集和下载地龙和僵蚕小分子信息。利用数据库的相关参数结合相关文献资料进行有效成分的筛选,最终得到符合口服途径作用于靶器官组织的有效成分。

### 1.2 各有效成分化学结构的确证

根据选取的有效成分,首先从 PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库中确定这些活性成分的化学结构式和结构图,将筛选得到的药物成分逐一输入数据库验证,得到相应的分子结构式等一系列信息。

### 1.3 药物有效成分靶点的预测

从 PubChem 数据库中确定这些活性成分的化学结构式输入 Swiss Target Prediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)进行检索得到活性成分对应的可能靶点,整理所获得的靶点,删去重复的靶点。

对于疾病靶点的预测,利用 TTD 数据库(<https://db.idrblab.org/ttd/>)进行疾病相关靶点的检索,在 search for targets 栏输入“cerebral infarction”“stroke”进行检索得到预测的靶点信息。

### 1.4 利用靶点预测可能作用的通路

将靶点信息录入 Excel 表格,以直接复制或者表格的形式输入到 MAS 3.0 生物分子功能注释系统(<http://www.erlongshaicha.com/mas3/>)创建检索项目,然后进入下级目录创建相应分析,在对应的项目栏分别输入分析的名称、所属物种(物种限定为

人)、分子类型,还有选择需要做的分析种类(GO 分析、PATHWAY 分析),将靶点蛋白编号输入到数据栏,靶点蛋白编号都是经 UniProt 数据库(<http://www.uniprot.org/>)验证的标准编号;输入后点击创建、然后点击分析,就可以得到系统的生物信息功能注释信息,设定检索得到数据的阈值为  $P < 0.01$ ,得到靶点相对应的 GO 分析及信号通路数据。

## 2 结果

### 2.1 脑泰方中有效成分的筛选

通过数据库筛选和相关文献资料获得潜在药效成分,其中黄芪检索收集到潜在药效成分 22 个(见表 1),川芎潜在药效成分 8 个(见表 2),地龙潜在药效成分 5 个(见表 3),僵蚕潜在药效成分 6 个(见表 4)。

表 1 黄芪检索得到的有效组分

Mol ID	Molecule Name	Mol ID	Molecule Name
MOL000211	mairin	MOL000392	formononetin
MOL000239	jaranol	MOL000398	isoflavanone
MOL000296	hederagenin	MOL000409	astragalosideIV
MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yloctan-2-yl]-23,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	MOL000417	calycosin
MOL000354	isorhamnetin	MOL000422	kaempferol
MOL000371	3,9-di-O-methylnissofin	MOL000433	folic acid
MOL000374	5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di-O-glucoside	MOL000438	(3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol
MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	MOL000439	isomucronulatol-7,2'-di-O-glucosiole
MOL000379	9,10-dimethoxypterocarpan-3-O-β-D-glucoside	MOL000442	1,7-Dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene
MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofuran[3,2-c]chromen-3-ol	MOL000098	quercetin
MOL000387	bifendate	MOL1	astragalus polysacharin

表 2 川芎检索得到的有效组分

Mol ID	Molecule Name	Mol ID	Molecule Name
MOL002202	tetramethylpyrazine	MOL002151	senkyunone
MOL001494	mandenol	MOL002157	wallichilide
MOL002135	myricanone	MOL000359	sitosterol
MOL002140	perlolyrine	MOL000433	folic acid

表 3 地龙检索得到的有效组分

Mol ID	Molecule Name	Mol ID	Molecule Name
M1	4-guanidino-1-butanol	M4	hyrcanoside
M2	cholesteryl ferulate	M5	xanthinin
M3	guanosine		

表 4 僵蚕检索得到的有效组分

Mol ID	Molecule Name	Mol ID	Molecule Name
M6	bassianin	M9	ecdysterone
M7	beauvericin	M10	ergotamine
M8	cholesteryl ferulate	M11	lupeol acetate

### 2.2 对应成分的靶点预测以及疾病靶点的预测

根据选取的有效成分,首先从 pubchem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库中确定这些活性成分的化学结构式和结构图<sup>[10]</sup>,将获得的相应成分

结构式输入 swiss target prediction 数据库<sup>[11]</sup>(<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 进行检索得到活性成分对应的靶点,删去重复的以及非人源靶点,一共检索到 254 相应靶点(见表 5)。

基于 TTD 数据库进行疾病相关靶点的检索,最终两个关键词一共检索出 25 个相关靶点(见表 6)。

### 2.3 脑泰方活性成分对应靶点及疾病对应靶点的 GO 分析及通路预测

2.3.1 脑泰方对应成分靶点的 GO 分析得到主要涉及的细胞组分:细胞质、质膜、完整的质膜、细胞膜、细胞核等。主要涉及的生物学过程:信号转导、氧化还原、蛋白氨基酸磷酸化、蛋白水解、G 蛋白偶联受体蛋白信号通路等。主要涉及的分子功能:蛋白结合、ATP 结合、核苷酸结合、锌离子结合、受体活性等。

2.3.2 脑泰方对应成分靶点分析涉及到的 KEGG 信号通路 其中相关性前 5 的通路:神经活性的配体-受体相互作用(neuroactive ligand-receptor interaction)、钙信号通路(calcium signaling pathway)、MAPK 信号通路(MAPK signaling pathway)、焦点黏连(focal adhesion)、ErbB 信号通路(ErbB signaling pathway)。

表 5 脑泰方筛选出的成分对应的靶点

Target	Uniprot ID	Common name	Target	Uniprot ID	Common name
T1	Q9Y345	SLC6A5	T51	P35228	NOS2
T2	Q9Y2T3	GDA	T52	P35218	CA5A
T3	Q9Y2D0	CA5B	T53	P34972	CNR2
T4	Q9Y251	HPSE	T54	P34931	HSPA1L
T5	Q9UNQ0	ABCG2	T55	P33527	ABCC1
T6	Q9UN76	SLC6A14	T56	P31939	ATIC
T7	Q9NYR8	RDH8	T57	P31645	SLC6A4
T8	Q9NY91	SLC5A4	T58	P31639	SLC5A2
T9	Q9NUW8	TDP1	T59	P31213	SRD5A2
T10	Q9NUK0	MBNL3	T60	P30542	ADORA1
T11	Q9NRG1	PRTFDC1	T61	P30305	CDC25B
T12	Q9NR56	MBNL1	T62	P30304	CDC25A
T13	Q9NPH5	NOX4	T63	P29475	NOS1
T14	Q9H306	MMP27	T64	P29474	NOS3
T15	Q9BYJ1	ALOXE3	T65	P29275	ADORA2B
T16	Q99884	SLC6A7	T66	P29274	ADORA2A
T17	Q99705	MCHR1	T67	P28845	HSD11B1
T18	Q96RI1	NR1H4	T68	P28223	HTR2A
T19	Q96NT5	SLC46A1	T69	P28222	HTR1B
T20	Q96JD6	AKR1E2	T70	P28221	HTR1D
T21	Q92887	ABCC2	T71	P27815	PDE4A
T22	Q92731	ESR2	T72	P27338	MAOB
T23	Q8WWX8	SLC5A11	T73	P25105	PTAFR
T24	Q8WWQ2	HPSE2	T74	P25100	ADRA1D
T25	Q8N1Q1	CA13	T75	P24723	PRKCH
T26	Q86XF0	DHFR2	T76	P24666	ACP1
T27	Q7Z5J1	HSD11B1L	T77	P24158	PRTN3
T28	Q5VZF2	MBNL2	T78	P23975	SLC6A2
T29	Q5VVH2	FKBP1C	T79	P23468	PTPRD
T30	Q2M3M2	SLC5A9	T80	P23219	PTGS1
T31	Q2M3G0	ABCB5	T81	P22894	MMP8
T32	Q16850	CYP51A1	T82	P22607	FGFR3
T33	Q16790	CA9	T83	P22455	FGFR4
T34	Q16678	CYP1B1	T84	P22303	ACHE
T35	Q16539	MAPK14	T85	P22102	GART
T36	Q15303	ERBB4	T86	P21918	DRD5
T37	Q14765	STAT4	T87	P21917	DRD4
T38	Q14240	EIF4A2	T88	P21860	ERBB3
T39	Q14114	LRP8	T89	P21802	FGFR2
T40	Q13627	DYRK1A	T90	P21728	DRD1
T41	Q13451	FKBP5	T91	P21554	CNR1
T42	Q13255	GRM1	T92	P21439	ABCB4
T43	Q13164	MAPK7	T93	P21397	MAOA
T44	Q13133	NR1H3	T94	P20309	CHRM3
T45	Q08499	PDE4D	T95	P20160	AZU1
T46	Q08493	PDE4C	T96	P19971	TYMP
T47	Q08257	CRYZ	T97	P08519	LPA
T48	Q07869	PPARA	T98	P08254	MMP3
T49	P35354	PTGS2	T99	P08253	MMP2
T50	P35348	ADRA1A	T100	P08246	ELANE

续表 5

Target	UniprotID	Commonname	Target	UniprotID	Commonname
T101	P08238	HSP90AB1	T151	P51452	DUSP3
T102	P08235	NR3C2	T152	P49841	GSK3B
T103	P08183	ABCB1	T153	P49840	GSK3A
T104	P08173	CHRM4	T154	P49366	DHPS
T105	P08172	CHRM2	T155	P48067	SLC6A9
T106	P07947	YES1	T156	P47989	XDH
T107	P07900	HSP90AA1	T157	P45984	MAPK9
T108	P07550	ADRB2	T158	P45983	MAPK8
T109	P07477	PRSS1	T159	P45452	MMP13
T110	P07451	CA3	T160	P43166	CA7
T111	P07339	CTSD	T161	P42685	FRK
T112	P06746	POLB	T162	P42224	STAT1
T113	P06493	CDK1	T163	P41594	GRM5
T114	P06276	BCHE	T164	P41440	SLC19A1
T115	P06241	FYN	T165	P40763	STAT3
T116	P05771	PRKCB	T166	P40126	DCT
T117	P05412	JUN	T167	P39900	MMP12
T118	P05230	FGF1	T168	P38919	EIF4A3
T119	P05177	CYP1A2	T169	P38646	HSPA9
T120	P05164	MPO	T170	P37231	PPARG
T121	P05129	PRKCG	T171	P37059	HSD17B2
T122	P01130	LDLR	T172	P35968	KDR
T123	P00918	CA2	T173	P35916	FLT4
T124	P00915	CA1	T174	P35869	AHR
T125	P00813	ADA	T175	P35368	ADRA1B
T126	P00797	REN	T176	P19099	CYP11B2
T127	P00747	PLG	T177	P18825	ADRA2C
T128	Q07820	MCL1	T178	P18089	ADRA2B
T129	Q07343	PDE4B	T179	P18054	ALOX12
T130	Q06278	AOX1	T180	P18031	PTPN1
T131	Q05932	FPGS	T181	P17948	FLT1
T132	Q04759	PRKCQ	T182	P17706	PTPN2
T133	Q03181	PPARD	T183	P17643	TYRP1
T134	Q02880	TOP2B	T184	P17535	JUND
T135	Q02790	FKBP4	T185	P17275	JUNB
T136	Q02156	PRKCE	T186	P17252	PRKCA
T137	Q01959	SLC6A3	T187	P17066	HSPA6
T138	P98155	VLDLR	T188	P16152	CBR1
T139	P80365	HSD11B2	T189	P16050	ALOX15
T140	P68106	FKBP1B	T190	P15692	VEGFA
T141	P62942	FKBP1A	T191	P15559	NQO1
T142	P61073	CXCR4	T192	P15538	CYP11B1
T143	P60842	EIF4A1	T193	P15121	AKR1B1
T144	P55789	GFER	T194	P14780	MMP9
T145	P55263	ADK	T195	P14679	TYR
T146	P55055	NR1H2	T196	P14625	HSP90B1
T147	P54652	HSPA2	T197	P14550	AKR1A1
T148	P53794	SLC5A3	T198	P14416	DRD2
T149	P53779	MAPK10	T199	P14061	HSD17B1
T150	P52630	STAT2	T200	P13945	ADRB3

续表 5

Target	Uniprot ID	Common name	Target	Uniprot ID	Common name
T201	P13866	SLC5A1	T228	O75342	ALOX12B
T202	P12931	SRC	T229	O60882	MMP20
T203	P11802	CDK4	T230	O60218	AKR1B10
T204	P11511	CYP19A1	T231	O43570	CA12
T205	P11388	TOP2A	T232	O15438	ABCC3
T206	P11362	FGFR1	T233	O15296	ALOX15B
T207	P11229	CHRM1	T234	O14757	CHEK1
T208	P11142	HSPA8	T235	O00519	FAAH
T209	P11021	HSPA5	T236	C9JRZ8	AKR1B15
T210	P10636	MAPT	T237	A0PJK1	SLC5A10
T211	P10586	PTPRF	T238	P05108	CYP11A1
T212	P10275	AR	T239	P05093	CYP17A1
T213	P09917	ALOX5	T240	P04818	TYMS
T214	P09769	FGR	T241	P04798	CYP1A1
T215	P09238	MMP10	T242	P04626	ERBB2
T216	P09038	FGF2	T243	P04183	TK1
T217	P08913	ADRA2A	T244	P04150	NR3C1
T218	P08912	CHRM5	T245	P04054	PLA2G1B
T219	P08908	HTR1A	T246	P04035	HMGCR
T220	P08709	F7	T247	P03956	MMP1
T221	P08684	CYP3A4	T248	P03372	ESR1
T222	P08588	ADRB1	T249	P00742	F10
T223	P08581	MET	T250	P00740	F9
T224	P00374	DHFR	T251	P00734	F2
T225	O96009	NAPSA	T252	P00533	EGFR
T226	O95342	ABCB11	T253	P00492	HPRT1
T227	O75828	CBR3	T254	P00491	PNP

表 6 脑梗死疾病 TTD 数据库对应的靶点

Target ID	Gene Name	UniProt ID	Target ID	Gene Name	UniProt ID
T31204	HTR2B	P41595	T89034	PLG	P00747
T87023	PTAFR	P25105	T06273	PARP1	P09874
T69494	/	/	T34867	/	/
T29303	SCN1A	P35498	T63068	ALB	P02768
T04902	CAPN2	P17655	T16156	MPL	P40238
T36658	/	/	T98022	CPB2	Q961Y4
T65351	/	/	T54156	MMP9	P14780
T76024	C1S	P09871	T95286	MAG	P20916
T56367	/	/	T00864	HCAR2	Q8TDS4
T94033	F2	P00734	T87206	S100B	P04271
T14602	F8	P00451	T10513	ITGB2	P05107
T28722	GABRG3	Q99928	T86702	MMP3	P08254
T69494	/	/			

见表 7。

2.3.3 脑梗死治疗靶点的 GO 分析 主要涉及的细胞组分:质膜、细胞外区域、细胞外空间、细胞质膜、完整的质膜等。主要涉及的生物学过程:蛋白水解、

细胞粘附、信号转导、纤维蛋白溶解、胶原分解代谢等。主要涉及的分子功能:钙离子结合、肽酶活性、锌离子结合、受体活性、蛋白结合等。

2.3.4 疾病靶点分析涉及到的 KEGG 信号通路

表 7 脑泰方对应的靶点涉及的信号通路

KEGG Pathway	Count
Neuroactive ligand-receptor interaction	35
Calcium signaling pathway	28
MAPK signaling pathway	25
Focal adhesion	17
ErbB signaling pathway	13
Gap junction	13
Regulation of actin cytoskeleton	13
GnRH signaling pathway	12
Purine metabolism	12
Arachidonic acid metabolism	10
VEGF signaling pathway	10
Adherens junction	10
Nitrogen metabolism	9
Bladder cancer	9
Long-term depression	9
Pancreatic cancer	9
Fc epsilon RI signaling pathway	9
Prostate cancer	9
Tight junction	9
Wnt signaling pathway	9
ABC transporters-General	8
Epithelial cell signaling in Helicobacter pylori infection	8
Androgen and estrogen metabolism	7
Colorectal cancer	7
Antigen processing and presentation	7
Melanogenesis	7
T cell receptor signaling pathway	7
Leukocyte transendothelial migration	7
Cytokine-cytokine receptor interaction	7
C21-Steroid hormone metabolism	6
Linoleic acid metabolism	6
Tryptophan metabolism	6
Tyrosine metabolism	6
Non-small cell lung cancer	6
Adipocytokine signaling pathway	6
Melanoma	6
Toll-like receptor signaling pathway	6
Cell cycle	6
Insulin signaling pathway	6
Drug metabolism-other enzymes	5
Glioma	5
Complement and coagulation cascades	5
PPAR signaling pathway	5
Drug metabolism-cytochrome P450	5
Long-term potentiation	5
Small cell lung cancer	5
Alzheimer's disease	5

注:  $P < 0.01$ ,  $\text{count} \geq 5$ 。

其中相关性前 5 的通路:补体和凝血级联反应 (complement and coagulation cascades)、神经活性的配体-受体相互作用 (neuroactive ligand-receptor interaction)、白细胞跨内皮迁移 (leukocyte transendothelial migration)、细胞粘附分子 (cell adhesion molecules, CAMs)、钙信号通路 (calcium signaling pathway)。见表 8。

表 8 脑梗死对应的治疗靶点涉及的信号通路

KEGG Pathway	Count
Complement and coagulation cascades	5
Neuroactive ligand-receptor interaction	5
Leukocyte transendothelial migration	2
Cell adhesion molecules (CAMs)	2
Calcium signaling pathway	2
Regulation of actin cytoskeleton	2

注:  $P < 0.01$ ,  $\text{count} \geq 2$ 。

### 3 讨论

通过成分、靶点、信号通路的作用网路分析,发现脑泰方作用的也是多靶点多途径的共同产生效应的,变为同一成分对应多靶点、同一靶点对应几个信号通路、多个成分对应相同靶点、多个靶点对应于一条通路;说明中药作用机体不是简单地一对一作用,可能是复杂的、系统的共同作用。其中药物作用的靶点有与疾病特异性靶点相重合,分别是 PTAFR-血小板活化因子受体 (P25105),一种具有强效炎症、平滑肌收缩和降压活性的趋化磷脂介导体<sup>[12]</sup>,可能通过 G 蛋白激活磷脂酰肌醇钙第二信使系统来调节它的作用,其基因多态性与冠心病、血瘀等相关<sup>[13]</sup>。PLG-血纤维蛋白溶酶原 (P00747),是溶解血凝块的纤维蛋白,在胚胎发育、组织重塑、肿瘤侵袭和炎症等其他过程中起到蛋白水解作用。在排卵期,使卵泡壁。它可以激活尿激酶型纤溶酶原、胶原酶和几个补体酶原,如 C1 和 C5;纤维粘连蛋白和层粘连蛋白裂解导致细胞脱落和凋亡;裂解纤维蛋白,血小板反应蛋白和 von Willebrand 因子,它的作用在组织重构和肿瘤的侵袭可能受 CSPG4 调节<sup>[14-16]</sup>。MMP9-基质金属蛋白酶 9 (P14780),可能在细胞外基质的局部蛋白水解和白细胞迁移中起着重要的作用<sup>[17]</sup>,其作用与血管重塑、血管促性有一定联系<sup>[18-19]</sup>。F2-凝血酶原 (P00734),将纤维蛋白原变为纤维蛋白,激活因子 V、VII、VIII、XIII,可以调节血液内环

境的平衡<sup>[20]</sup>,参与炎症和伤口愈合过程,其高水平可能导致心肌梗死等疾病的发生<sup>[21]</sup>。MMP3-基质溶解素(P08254),它可降解纤维粘连蛋白,层粘连蛋白,明胶 I、III、IV、V 型蛋白;胶原蛋白 III、IV、X、IX,软骨蛋白多糖;激活原胶原酶,动脉粥样硬化和炎症反应有密切关系<sup>[22]</sup>。这些重合的靶点是脑泰方对脑梗死治疗有效物质基础,但不意味着药物作用仅限于这几个点。

我们通过靶点的 GO 分析发现他们涉及到生物学过程也有重合,其中富集显著性靠前的有信号转导生物过程、蛋白水解的生物过程。通过对比药物成分对应靶点和疾病靶点检索到的 KEGG 信号通路发现 5 条信号通路是一样的,分别是补体和凝血级联反应,该通路与组织损伤、炎症相关<sup>[23]</sup>,而且与冠心病血瘀证等相关<sup>[24]</sup>;神经活性的配体-受体相互作用,可能与调节药物对心血管的保护作用有关<sup>[25]</sup>;白细胞跨内皮迁移-TEM,通过白细胞和内皮细胞之间的密切协作,抗组织损伤,且在 TEM 过程中限制血管渗漏,维持血管稳态<sup>[26-29]</sup>;钙信号通路抗缺血损伤、炎症、细胞自噬及凋亡等相关<sup>[30-33]</sup>;肌动蛋白细胞骨架调节信号通路,其与炎症、平滑肌细胞迁移、神经细胞形态、数目及突触的发生等作用有关<sup>[34-39]</sup>。这些生物过程和信号通路虽然有着各自的功能及作用,但是它们的作用也不是单一的,而是相互协调而发挥作用;如血小板的活化促进微血管缺氧缺血时白细胞的迁移变化<sup>[40]</sup>等。

基于网络药理学分析可以知道脑泰方有效成分的作用靶点、作用途径是多靶点多途径共同起作用的,对应于疾病的复杂性中药复方的治疗作用符合中医的整体观。脑泰方对于脑梗死的干预作用可能与补体和凝血级联反应、神经活性的配体-受体相互作用、白细胞跨内皮迁移、钙信号通路、肌动蛋白细胞骨架调节等信号通路有关;基于数据库的分析将为中药治疗脑梗死提供重要参考,但是由于中药作用途径的多样性和疾病的复杂性,其具体调节机制需要进一步深入研究。

#### 参考文献:

[1] 林子霖. 基于近 15 年文献分析探讨急性脑梗死的中医证治[D]. 广州:广州中医药大学,2014.  
[2] 秦书敏,林静瑜,黄可儿. 黄芪的免疫调节作用研究概述[J]. 中华中医药学刊,2017,35(3):699-702.

[3] 朱尧,刘激激,顾宁,等. 川芎的活性成分及其心血管系统保护作用研究进展[J]. 时珍国医国药,2016,27(7):1701-1704.  
[4] 周惠芬,何昱,张宇燕,等. 黄芪川芎主要有效成分配伍的转运研究[J]. 中华中医药学刊,2015,33(4):868-871.  
[5] 孟胜喜,霍清萍. 地龙及其有效成分对神经系统疾病的作用[J]. 山东中医杂志,2016,35(10):933-936.  
[6] HPKINS AL. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery[J]. Nat Chem Biol, 2008, 4(11):682-690.  
[7] 宋祯彦,王珊珊,贺旭,等. 网络药理学方法研究石菖蒲治疗神经退行性疾病的作用机制[J]. 湖南中医药大学学报,2017,37(8):848-855.  
[8] RU J, LIP, WANG J, et al. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. Journal of Cheminformatics, 2014, 6(1):13.  
[9] CHEN C Y. TCM Database@Taiwan: the world's largest traditional Chinese medicine database for drug screening in silico[J]. Plos One, 2011, 6(1):e15939.  
[10] KIM S, THIESSEN P A, BLTON E E, et al. PubChem Substance and Compound databases [J]. Nucleic Acids Research, 2016, 44(Database issue):D1202-D1213.  
[11] GFELLER D, GROSDIDIER A, WIRTH M, et al. SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules [J]. Nucleic Acids Research, 2014, 42(Web Server issue):32-38.  
[12] IZUMI T, TAKANO T, BITO H, et al. Platelet-activating factor receptor[J]. Journal of Biochemistry, 2002, 68(6):599-609.  
[13] ZHENG G H, XIONG S Q, CHEN H Y, et al. Association of platelet-activating factor receptor gene rs5938 (G/T) and rs313152 (T/C) polymorphisms with coronary heart disease and blood stasis syndrome in a Chinese Han population[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2017(12):1-8.  
[14] ROSSIGNOL P, HOTINNOE B, VRANCKX R, et al. Protease nexin-1 inhibits plasminogen activation-induced apoptosis of adherent cells[J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(11):10346.  
[15] POON I K, OLSSON A K, HULETT M D, et al. Regulation of histidine-rich glycoprotein (HRG) function via plasmin-mediated proteolytic cleavage [J]. Biochemical Journal, 2009, 424(1):27.  
[16] SUGIMOTO M A, ALC R, BRC C, et al. Plasmin and plasminogen induce macrophage reprogramming and regulate key steps of inflammation resolution via annexin A1[J]. Blood, 2017, 129(21):2896-2907.  
[17] TSCHESCHKE H, KNAUPER V, KRAMER S, et al. Latent collagenase and gelatinase from human neutrophils and their activation[J]. Matrix Supplement, 1992, 1(1):245-255.  
[18] BERGERS G, BREKKEN R, MCMAHON G, et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogen-



- esis[J]. *Nature Cell Biology*, 2000, 2(10):737-744.
- [19] MIYAMOTO T, KUNG D K, KITAZATO K T, et al. Site-specific elevation of interleukin-1 $\beta$  and matrix metalloproteinase-9 in the Willis circle by hemodynamic changes is associated with rupture in a novel rat cerebral aneurysm model [J]. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2017, 37(8):2795.
- [20] GLENN K C, FROST G H, BERGMANN J S, et al. Synthetic peptides bind to high-affinity thrombin receptors and modulate thrombin mitogenesis[J]. *Peptide Research*, 1988, 1(2):65-73.
- [21] LI C, REN H, CHEN H, et al. Prothrombin G20210A (rs1799963) polymorphism increases myocardial infarction risk in an age-related manner: a systematic review and meta-analysis [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):13550.
- [22] RAURAMAA R, VAISANEN S B, LUONG L A, et al. Stromelysin-1 and interleukin-6 gene promoter polymorphisms are determinants of asymptomatic carotid artery atherosclerosis[J]. *Arteriosclerosis Thrombosis & Vascular Biology*, 2000, 20(12):2657-2662.
- [23] AMARA U, FLIERL M A, RITTIRSCH D, et al. Molecular Intercommunication between the Complement and Coagulation Systems[J]. *Journal of Immunology*, 2010, 185(9):5628-5636.
- [24] 孟莉娟,谢群,李国庆,等.冠心病血瘀证差异蛋白质生物信息学分析[J].*中医药导报*,2017,23(13):11-14.
- [25] WANG J, CHENG J, ZHANG C, et al. Cardioprotection Effects of Sevoflurane by Regulating the Pathway of Neuroactive Ligand-Receptor Interaction in Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Graft Surgery[J]. *Computational & Mathematical Methods in Medicine*, 2017, 2017:3618213.
- [26] 沈长青,景艳凤.组织损伤时中药的作用[J].*中国实用医药*, 2011,6(16):135-136.
- [27] MULLER W A. Mechanisms of Leukocyte Transendothelial Migration[J]. *Annual Review of Pathology*, 2011, 6(6):323-344.
- [28] BHUI R, HAYENGA H N. An agent-based model of leukocyte transendothelial migration during atherogenesis[J]. *Plos Computational Biology*, 2017, 13(5):e1005523.
- [29] BARZILAI S, YADAV S K, MORRELL S, et al. Leukocytes Breach Endothelial Barriers by Insertion of Nuclear Lobes and Disassembly of Endothelial Actin Filaments[J]. *Cell Reports*, 2017, 18(3):685-699.
- [30] 盛艳梅.基于“钙信号通路—血脑屏障”偶联的中药脑神经保护有效组分筛选方法研究[D].成都:成都中医药大学,2010.
- [31] SHIEH P B, HU S C, BOBB K, et al. Identification of a signaling pathway involved in calcium regulation of BDNF expression[J]. *Neuron*, 1998, 20(4):727-740.
- [32] WANG S H, SHIH Y L, KO W C, et al. Cadmium-induced autophagy and apoptosis are mediated by a calcium signaling pathway[J]. *Cellular & Molecular Life Sciences Cmls*, 2008, 65(22):3640-3652.
- [33] BERRIDGE M J. The Inositol Trisphosphate / Calcium Signaling Pathway in Health and Disease[J]. *Physiological Reviews*, 2016, 96(4):1261-1296.
- [34] 周子娟,王亮,李雅婵,等.肌球蛋白轻链激酶与炎症性疾病关系的研究进展[J].*大连医科大学学报*,2017,39(1):78-80.
- [35] LEE S H, DOMINGUE R. Regulation of Actin Cytoskeleton Dynamics in Cells[J]. *Molecules & Cells*, 2010, 29(4):311-325.
- [36] TANG D D, GERLACH B D. The roles and regulation of the actin cytoskeleton, intermediate filaments and microtubules in smooth muscle cell migration[J]. *Respiratory Research*, 2017, 18(1):54.
- [37] QIAN X, HUFF L P, FUJII M, et al. Redox regulation of the actin cytoskeleton and its role in the vascular system[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2017, 109:84-107.
- [38] SHAH K, ROSSIE S. Tale of the Good and the Bad Cdk5: Remodeling of the Actin Cytoskeleton in the Brain[J]. *Molecular Neurobiology*, 2018,55(4):3426-3438.
- [39] BRETTE M, PATEL S, FATH T. Tropomyosins in the healthy and diseased nervous system[J]. *Brain Research Bulletin*, 2016, 126:311-323.
- [40] ZHENG S, CAO Y, ZHANG W, et al. Platelet-mediated adhesion facilitates leukocyte sequestration in hypoxia-reoxygenated microvessels[J]. *Science China Life Sciences*, 2016, 59(3):299-311.

(本文编辑 杨 瑛)