

基于网络药理学和分子对接技术探讨柴胡-桂枝治疗急性缺血性脑卒中的作用机制[△]

张丽曼* (石家庄市中医院脑病科, 河北 石家庄 050051)

中图分类号 R932;R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2021)12-1456-08

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2021.12.009

摘要 目的:应用网络药理学方法,探讨柴胡-桂枝治疗急性缺血性脑卒中的核心成分、关键靶点、生物学功能及信号通路,并通过分子对接技术初步验证。方法:通过中药系统药理学数据库与分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform,TCMSP)获取柴胡-桂枝活性成分,经 Uniprot 数据库转换为入源基因。通过人类孟德尔遗传综合数据库(online mendelian inheritance in man,OMIM)和人类基因组注释数据库(GeneCards)获得急性缺血性脑卒中的疾病基因。筛选出药物与疾病的共同基因,借助 Cytoscape 软件制作“活性成分-疾病靶点”网络,分别通过 STRING 数据库和 Metascape 数据库对交集基因进行蛋白质-蛋白质相互作用分析和富集分析。借助 Auto Dock 软件进行分子对接验证,通过 PyMol 软件绘制对接结果图。结果:共获得柴胡-桂枝抗急性缺血性脑卒中的 19 个活性成分、150 个靶点。筛选出槲皮素、山柰酚为核心活性成分,AKT1、IL-6、VEGFA、TNF、TP53 和 CASP3 为核心靶点基因。富集分析结果显示,柴胡-桂枝抗急性缺血性脑卒中的靶点显著富集于癌症通路、AGE-RAGE 通路、丙型肝炎通路和 HIF-1 信号通路等通路。分子对接结果表明,柴胡-桂枝的核心活性成分与核心靶点之间均有较强的结合活性,槲皮素和 TNF 蛋白结合性最强。结论:柴胡-桂枝的活性成分通过影响炎症反应、氧化应激、血管新生和细胞凋亡等生物学过程,涉及多个靶点基因及信号通路,从而发挥治疗急性缺血性脑卒中的作用,具有多成分、多靶点和多途径的特点。

关键词 柴胡;桂枝;急性缺血性脑卒中;网络药理学;分子对接;作用机制

Mechanism of Radix Bupleuri-Cassia Twig in the Treatment of Acute Ischemic Stroke Based on Internet Pharmacology and Molecular Docking Technology[△]

ZHANG Liman (Dept. of Encephalopathy, Shijiazhuang Traditional Chinese Medical Hospital, Hebei Shijiazhuang 050051, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To analyze the core components, key targets, biological functions and signal pathways of radix bupleuri-cassia twig in the treatment of acute ischemic stroke by using the network pharmacology method, and to verify the effect of the method by molecular docking technology. **METHODS:** The active components from radix bupleuri and Cassia twig were obtained by traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform (TCMSP) and converted into human genes by Uniprot database. The disease genes of acute ischemic stroke were obtained by OMIM and Genecards database. The common genes of drugs and diseases were screened, the “active components-disease targets” network was constructed by Cytoscape software, and protein interaction analysis and enrichment analysis of the intersecting genes were performed by STRING database and Metascape database, respectively. Molecular docking was verified by Auto Dock software and docking results were drawn by PyMol software. **RESULTS:** A total of 19 active components and 150 targets of radix bupleuri-cassia twig in the treatment of acute ischemic stroke were obtained. Quercetin and kaempferol were selected as the core active components, AKT1, IL-6, VEGFA, TNF, TP53 and CASP3 were the core target genes. Enrichment analysis showed that the anti-acute ischemic stroke targets of radix bupleuri and Cassia twig were significantly enriched in cancer pathway, AGE-RAGE pathway, hepatitis C pathway and HIF-1 signaling pathway. The results of molecular docking showed that there was strong binding activity between the core active components and the core targets of radix bupleuri-cassia twig, and quercetin had the strongest binding activity with TNF protein. **CONCLUSIONS:** The active components of radix bupleuri-cassia twig play a role in the treatment of acute ischemic stroke by affecting the biological processes such as inflammatory response, oxidative stress, angiogenesis and apoptosis, which is characterized by multiple components, multiple targets and multiple pathways.

KEYWORDS Radix bupleuri; Cassia twig; Acute ischemic stroke; Network pharmacology; Molecular docking; Mechanism

△ 基金项目:河北省中医药管理局 2021 年度中医药科研计划项目(No. 2021241)

* 副主任医师,硕士。研究方向:急性脑血管病的中西医结合治疗。E-mail: zlm2111125@126.com

急性缺血性脑卒中 (acute ischemic stroke, AIS) 是由于大脑动脉堵塞或狭窄导致脑部供血不足, 局部脑组织缺血缺氧引起软化或坏死, 导致神经控制区功能障碍的一种疾病, 临床可出现肢体运动障碍、言语障碍、情感障碍和吞咽障碍等一系列功能障碍^[1]。AIS 具有高发病率、高致残率、高死亡率、高复发率和高经济负担五大特点, 是我国成年人致死、致残的主要原因^[2-3]。脑卒中急性期的治疗是脑血管疾病治疗的核心, 其中以静脉溶栓治疗及血管取栓治疗为最有效的恢复脑再灌注的方法^[4]。但由于溶栓时间窗以及溶栓风险等原因, 我国大多数脑卒中患者没有机会静脉溶栓^[5]。因此, 需要研究临床适应性更好、疗效更好的疗法。AIS 属于中医“中风”范畴, 中医药防治脑卒中历史悠久, 一项横断面研究结果表明, 83.1% 的患者在发病时使用中药治疗, 约 1/3 的患者出院后仍采用中药治疗^[6]。柴胡加龙骨牡蛎汤为《伤寒论》中的经典方, 国内学者在临床中应用其治疗脑卒中取得了较好的临床疗效^[7]。该方具有和解清热、镇惊安神之效, 其中柴胡透泄少阳、疏泄气机, 桂枝温通血脉、通阳复脉, 柴胡散中有升, 桂枝升中有降, 二者合而为用, 共为君药。君药针对主病或主证起主要治疗作用^[8]。因此, 本研究以柴胡-桂枝作为研究对象, 采用网络药理学及分子对接方法挖掘并初步验证柴胡-桂枝治疗急性脑梗死的机制, 为进一步深入研究提供参考。

1 资料与方法

1.1 柴胡-桂枝活性成分及作用靶点筛选

通过中药系统药理学数据库与分析平台 (traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSP) (<https://tcmsp-e.com>) 检索“柴胡-桂枝”的主要成分, 并以类药性 (drug-likeness, DL) ≥ 0.18 和口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 为条件筛选药物的活性成分及其对应的靶点^[9]。将靶点信息录入 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org>) 进行标准化处理, 转换成人源性标准基因名。

1.2 AIS 疾病基因的获取

以“Acute Ischemic Stroke”为检索词, 通过人类孟德尔遗传综合数据库 (online mendelian inheritance in man, OMIM) (<https://omim.org>) 和人类基因组注释数据库 (GeneCards) (<https://www.genecards.org>) 进行检索, 剔除重复基因后得到 AIS 疾病相关基因。将柴胡-桂枝作用靶点基因与 AIS 疾病基因取交集, 并绘制维恩图。

1.3 “活性成分-疾病靶点”网络构建及可视化分析

利用 Excel 软件整理活性成分-靶点信息, 建立柴胡-桂枝“活性成分-疾病靶点”数据库, 借助 Cytoscape 3.8.2 软件制作“活性成分-疾病靶点”可视化网络。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络构建及可视化分析

将“1.2”中得到的药物疾病共同基因导入 STRING 数据库 (<https://www.string-db.org>) 获取 PPI 信息, 并制作 PPI 图。导出 TSV 文件, 采用 Cytoscape 3.8.2 软件中的“Analyze Network”拓扑功能对 PPI 网络进行分析。

1.5 基因本体 (gene ontology, GO) 功能富集分析与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

采用 Metascape 数据库 (<https://metascape.org>) 对药物疾病共同基因进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析, 并生成可视化图。其中 GO 功能富集分析从细胞组分、分子功能及生物学过程 3 个方面对靶点进行作用机制分析, KEGG 通路富集分析是对靶点所参与的信号通路进行分析。

1.6 分子对接技术

通过 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载药物活性成分的 2D 结构, 借助 ChemBio 3D 软件进行能量优化, 并转化成“mol2”格式的 3D 结构文件; 通过 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载“pdb”格式的靶蛋白晶体结构文件, 然后利用 PyMOL 软件进行去水、去磷酸根等处理。借助 AutoDock Tools-1.5.6 将药物小分子和蛋白大分子统一转换为“pdbqt”格式文件, 设置活性口袋并进行对接。得到的“pdbqt”格式对接结果经 Open Babel 软件转换为“pdb”格式文件, 然后利用 PyMol 软件绘制可视化网络图。

2 结果

2.1 柴胡-桂枝药物活性成分筛选

通过 TCMSP 数据库检索, 以 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 为筛选条件, 筛选出柴胡-桂枝 24 个成分, 其中柴胡 17 个, 桂枝 7 个。药物成分作用靶点去重后经 UniProt 数据库转换成人源标准基因, 得到 203 个基因。

2.2 AIS 疾病基因的获取

以“Acute Ischemic Stroke”为检索词, 在 OMIM 数据库检索出相关疾病基因 179 个, 在 GeneCards 数据库中检索出相关疾病 3 049 个。去除 2 个数据库中的重复基因后共得到 3 197 个疾病基因。与柴胡-桂枝 203 个靶点基因比对, 共得到 150 个交集基因, 见图 1。

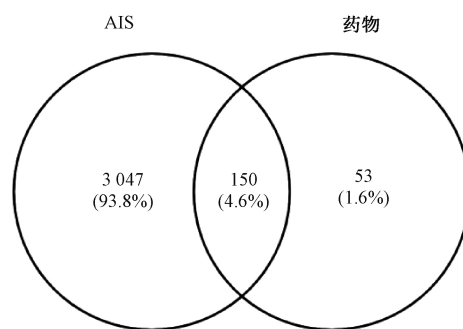


图 1 柴胡-桂枝治疗 AIS 靶点韦恩图

Fig 1 Venn diagram of radix bupleuri-cassia twig in the treatment of AIS targets

2.3 构建“活性成分-疾病靶点”网络

将柴胡-桂枝药物活性成分、交集基因录入 Cytoscape 3.8.2 软件, 生成“活性成分-疾病靶点”网络图, 见图 2。图 2 中, 圆形部分为药物疾病交集基因, 三角形部分为柴胡-桂枝作用于 AIS 的活性成分。共得到 19 个与治疗 AIS 有关的活性成分对应 150 个药物疾病共同靶点基因, 其中 13 个来自柴胡, 6 个来自桂枝。槲皮素 (quercetin) 对应 113 个靶点, 山柰酚

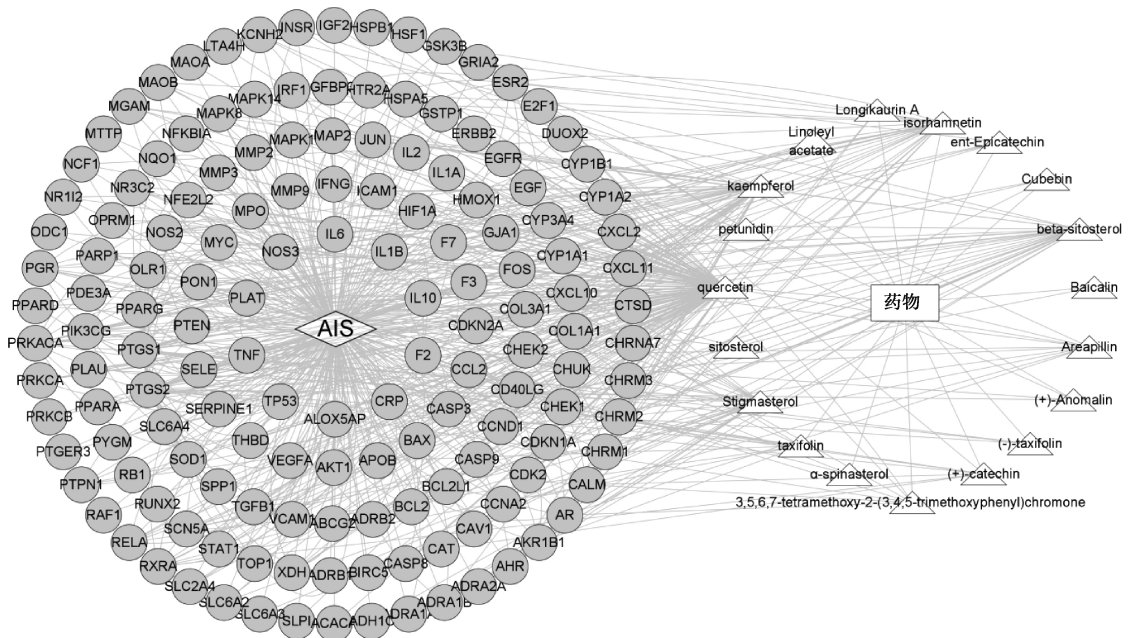


图2 柴胡-桂枝“活性成分-疾病靶点”网络

Fig 2 “Active components-disease targets” network of radix bupleuri-cassia twig

(kaempferol)对应44个靶点,因此认为槲皮素、山柰酚为柴胡-桂枝治疗AIS的关键成分。

2.4 PPI网络图及核心靶点分析

将上述150个共同基因导入STRING数据库进行分析,共同基因产生2683条相互作用关系,平均度值(Degree)为35.8。应用STRING平台生成PPI关系网,导出TSV文件采用Cytoscape 3.8.2进行网络拓扑学分析并生成可视化网络图,选择Degree由大至小排序居前20位的靶点,其中关键靶点有AKT1、IL-6、VEGFA、TNF、TP53和CASP3等,见图3—4。

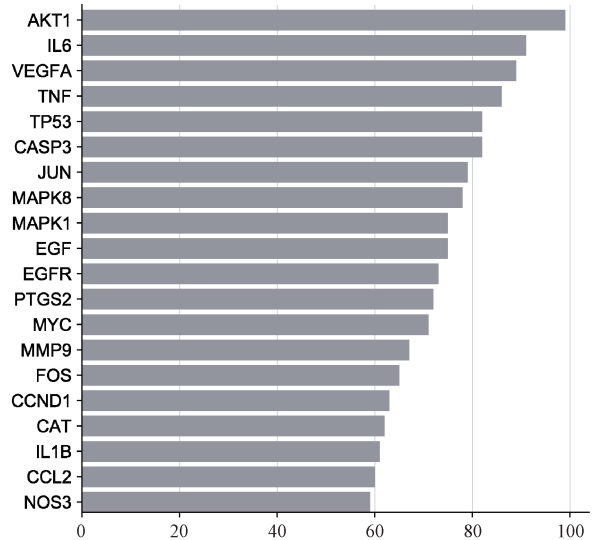


图4 柴胡-桂枝治疗AIS的核心基因

Fig 4 Core gene of radix bupleuri-cassia twig in the treatment of AIS

靶点从细胞组分、分子功能和生物学过程3个方面进行GO功能富集分析,选取P值由大至小排序居前20位的靶点。结果显示,柴胡-桂枝有效成分主要通过薄膜筏、囊泡筏、树突、细胞质核周区、膜侧和突触后膜等细胞组分参与对无机物的反应、对药物的反应、活性氧类代谢、对伤害的反应、炎症反应、凋亡信号通路和循环系统过程等生物学过程,发挥蛋白质结合、转录因子结合、蛋白激酶结合和细胞因子受体结合等分子功能,从而起到治疗AIS的作用,见图5。

2.6 KEGG通路富集分析

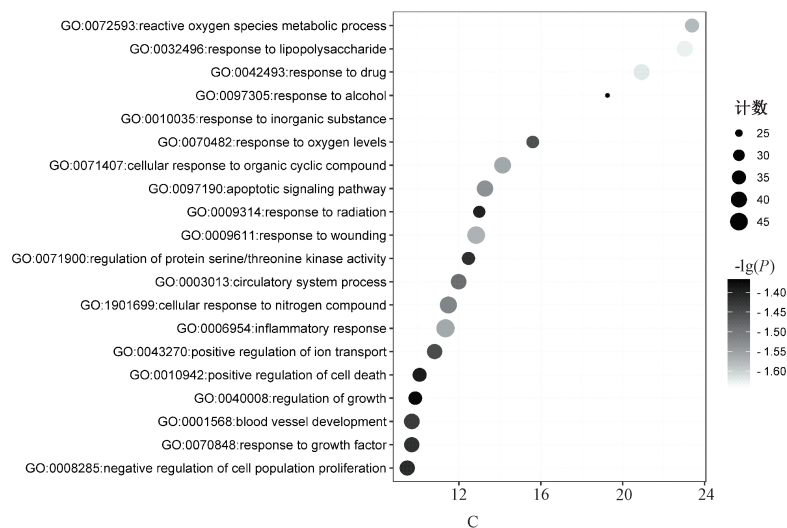
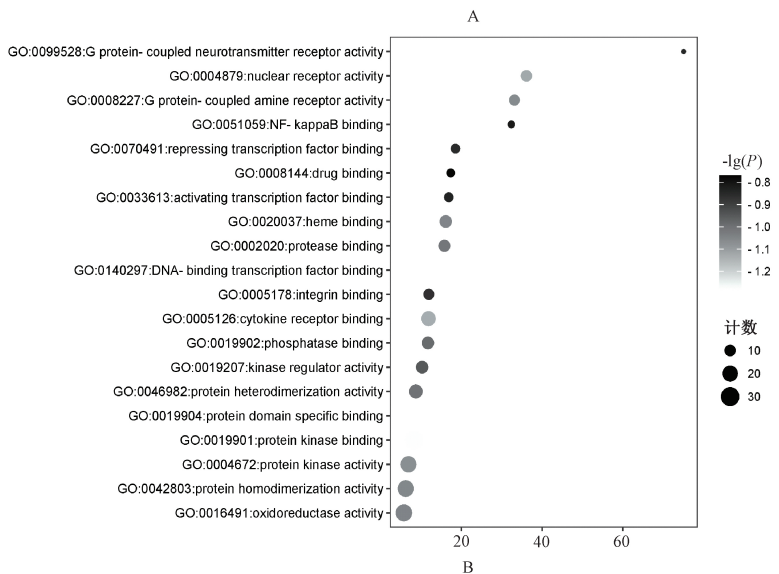
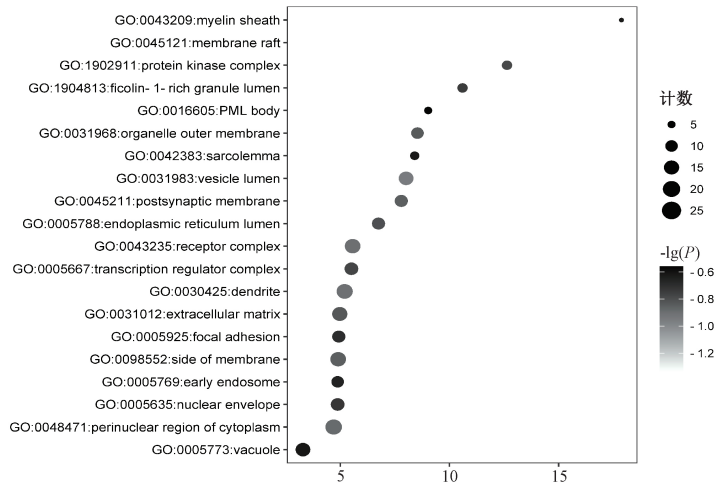
通过Metascape数据库对150个靶点基因进行KEGG通路富集分析,得到186条通路,选取P值由大至小排序居前20位的通路,主要涉及癌症信号通路、AGE-RAGE信号通路、HIF-1

图3 柴胡-桂枝治疗AIS潜在靶点的PPI网络

Fig 3 PPI network of radix bupleuri-cassia twig in the treatment of AIS targets

2.5 GO功能富集分析

利用Metascape数据库对柴胡-桂枝治疗AIS的150个关



A. 细胞组分; B. 分子功能; C. 生物学过程

A. cellular components; B. molecular functions; C. biological processes

图 5 柴胡-桂枝治疗 AIS 候选靶点的 GO 功能富集分析

Fig 5 Go functional enrichment analysis of radix bupleuri-cassia twig in the treatment of AIS

信号通路和 NF- κ B 信号通路等通路, 见图 6。采用 Cytoscape 3.8.2 软件构建“成分-靶点-通路”, 并生成个可视化网络图, 见

图 7。图 7 中, 六边形节点代表药物活性成分, 圆形节点代表作用靶点, 三角形节点代表信号通路, 可以看出, 柴胡-桂枝的

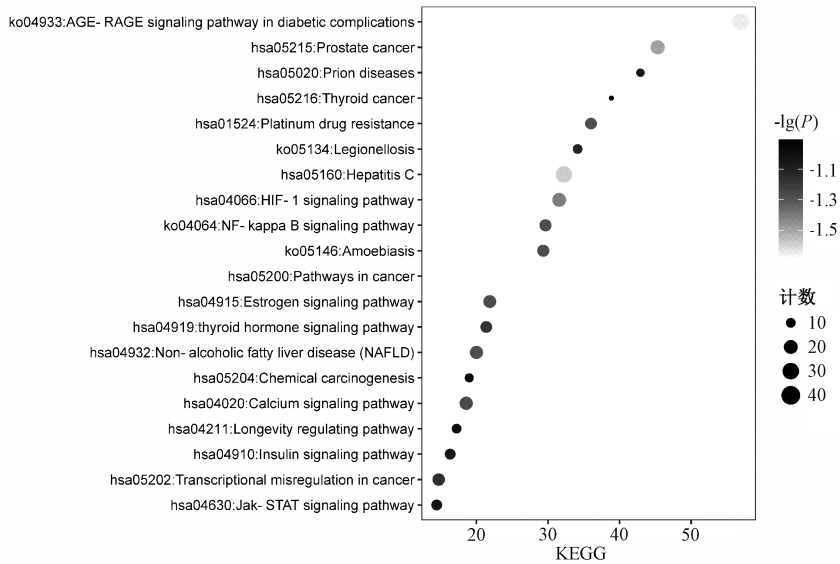


图6 KEGG通路富集气泡图
Fig 6 Bubble diagram of KEGG pathway

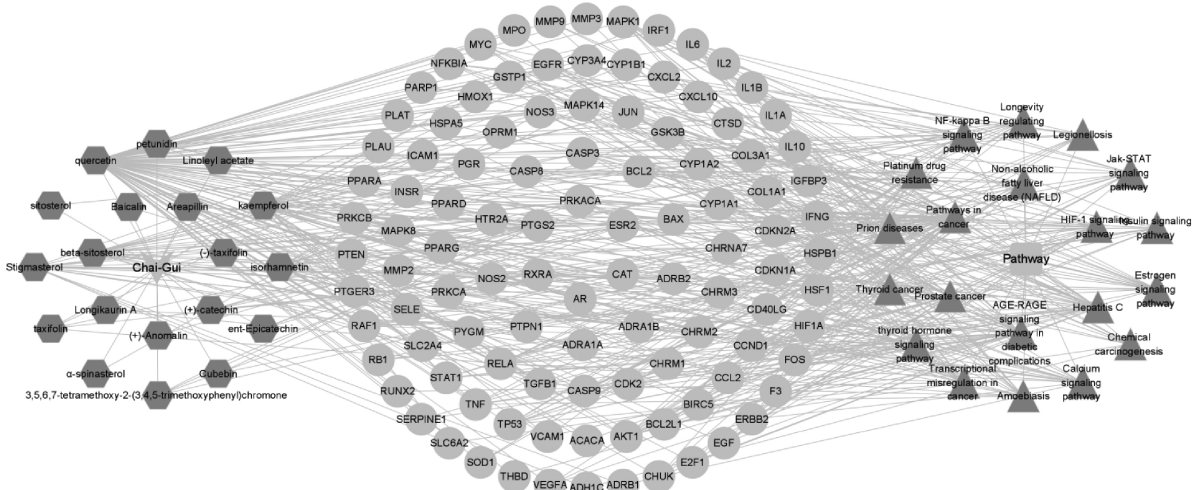


图7 柴胡-桂枝“成分-靶点-通路”网络
Fig 7 “Components-targets- pathways” network of radix bupleuri-cassia twig

多个活性成分作用于多个靶点、参与不同的信号通路,体现了多成分、多靶点和多通路的作用特点。

2.7 分子对接技术

通过“活性成分-疾病靶点”网络可知,槲皮素、山柰酚是柴胡-桂枝治疗 AIS 的关键成分。由 PPI 网络图可知,AKT1、IL-6、VEGFA、TNF、TP53 和 CASP3 等靶点是柴胡-桂枝治疗 AIS 的关键靶点。利用 Auto Dock 软件将槲皮素和山柰酚与相应关键靶点进行对接,通过结合能评估对接结果,见表 1。一般认为结合能 < -17.79 kJ/mol 提示配体与受体有一定的结合活性, < -20.93 kJ/mol 提示有较好的结合活性, < -29.30 kJ/mol 提示有强烈的结合活性^[10]。由表 1 可见,槲皮素与 TNF 的结合性最好。以槲皮素为例,借助 PyMol 软件将结合能 (≤ -20.93 kJ/mol) 的对接结果可视化,见图 8。

3 讨论

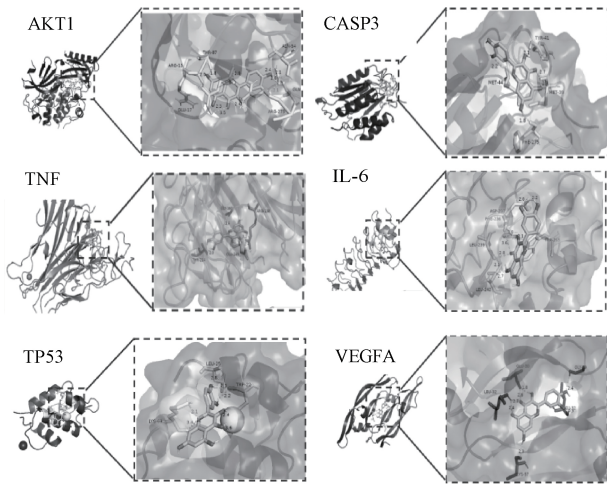
缺血性脑卒中的病因病机较为复杂,涉及神经炎症、能量

表 1 分子对接结果

Tab 1 Molecular docking results

| 成分 | 靶蛋白 | PDB ID | 结合能/(kJ/mol) |
|------------------|-------|--------|--------------|
| 槲皮素(quercetin) | AKT1 | 6HHG | -26.96 |
| | IL-6 | 409H | -22.35 |
| | VEGFA | 3S1B | -25.83 |
| | TNF | 1DU3 | -38.93 |
| | TP53 | 6MY0 | -23.69 |
| | CASP3 | 4JQZ | -22.14 |
| 山柰酚(kaempferol) | AKT1 | 6HHG | -26.92 |
| | TNF | 1DU3 | -31.60 |
| | CASP3 | 4JQZ | -30.93 |

衰竭、细胞凋亡及自噬等,并且各环节相互影响、重叠发生,更导致了其过程的复杂性^[11]。中医学防治脑卒中中具有悠久历史,在常规治疗的基础上联合使用中医治疗能更好地改善患者神经功能缺损情况^[3]。其中,柴胡加龙骨牡蛎汤作为《伤寒论》中的经典名方,被广泛用于脑血管疾病的治疗^[7,12-13]。本研究采用网络药理学及分子对接技术对该方中君药柴胡-桂枝



A. AKT1; B. CASP3; C. TNF; D. IL-6; E. TP53; F. VEGFA
A. AKT1; B. CASP3; C. TNF; D. IL-6; E. TP53; F. VEGFA

图8 槲皮素与核心靶蛋白分子对接结果

Fig 8 Molecular docking diagram of quercetin and core targets

药对进行分析,对药物的内在机制进行更深的理解^[14]。

本研究以柴胡-桂枝为研究对象,初步探讨其对 AIS 的作用机制。利用 TCMS 数据库,以 $DL \geq 0.18$ 和 $OB \geq 30\%$ 作为条件得到柴胡-桂枝有效成分 24 个。通过 Cytoscape 生成的“活性成分-疾病靶点”网络,筛选出治疗 AIS 的 19 个活性成分,按照其所对应的疾病靶点统计,其中槲皮素、山柰酚、谷甾醇、 β -谷甾醇、异鼠李素和豆甾醇等成分对应靶点较多,考虑为柴胡-桂枝治疗 AIS 的关键成分。槲皮素是一种多羟基黄酮类化合物,具有抗氧化、抗炎、抗病毒、抗菌、抗肿瘤和心血管保护等多种生物活性^[15]。脑组织耗能较高,一旦发生脑缺血,活性氧(ROS)产生过多,引起神经炎症反应,可对脑细胞产生不可逆损伤^[16]。槲皮素通过直接清除 ROS、螯合金属离子以及抑制低密度脂蛋白氧化损伤等过程,发挥抗氧化的生物学功能,从而起到保护神经的作用^[17-18]。Han 等^[19]通过对 PD 小鼠模型的研究,发现槲皮素能促进线粒体自噬,抑制 mtROS 介导的小胶质细胞 NLRP3 炎症小体激活,从而阻止神经细胞损伤。山柰酚是一种强效的天然抗氧化剂,具有抗氧化、抗肿瘤和抗炎等多种作用^[20]。Liu 等^[21]的研究结果发现,山柰酚可以通过下调 ROS 依赖的 MAPKs-NF- κ B 号通路,减轻氧化应激和炎症反应。Li 等^[22]的研究结果也发现,山柰酚能减弱 ox-LDL 诱导的 HUVECs 炎症反应、氧化应激和细胞凋亡。Han 等^[23]认为,山柰酚能减轻脂质沉积和过氧化以及由此导致死亡也有研究结果证实,山柰酚能通过提高小鼠海马超氧化物歧化酶和谷胱甘肽水平,改善其空间记忆障碍^[24]。谷甾醇、 β -谷甾醇和豆甾醇等属于植物甾醇类成分,具有较好的血-脑脊液屏障通透性,能透过血-脑脊液屏障发挥抗氧化的生物活性,抑制氧化应激诱导的神经细胞死亡,起到改善神经功能的作用^[25]。Jiang 等^[26]的研究结果表明, β -谷甾醇能作用于 miRNA 靶点,具有血管内皮保护和抗动脉粥样硬化的作用,能降低 AIS 的高危因素以及改善预后。异鼠李素是一种黄酮类物质,具有保护血管内皮细胞、抗肿瘤、抗炎和抗病

毒等作用^[27]。Wu 等^[28]发现异鼠李素能通过 Akt/SIRT1/Nrf2/HO-1 信号通路对缺血再灌注脑损伤起到保护作用。Rodríguez 等^[29]发现,异鼠李素能在不影响 ROS 的情况下具有抗血小板、抗血栓的作用。

本研究中,通过 STRING 数据库及 Cytoscape 软件分析柴胡-桂枝抗脑缺血的作用靶点包括 AKT1、IL-6、VEGFA、TNF、TP53 和 CASP3 等。AKT1 为 PI3K/AKT 信号通路中的核心因子,参与代谢、增殖、细胞存活和血管生成等多种生物学过程^[30]。AKT 可通过促进 NF- κ B 蛋白的表达,扰乱下丘脑-垂体-肾上腺轴功能,使炎症反应失调^[31]。IL-6 和 TNF 是重要的炎症因子,参与机体免疫应答和炎症反应,与脑血管疾病的炎症过程密切相关^[32]。VEGFA 为血管内皮生长因子,是一种缺氧诱导信号糖蛋白,具有维护内皮细胞完整、促进血管再生的作用,还可以通过坏死物的清除、氧和代谢物的交换,促进神经功能的恢复^[33]。但是,VEGFA 参与了缺血早期的炎症和脑水肿过程。Stavchanskiĭ 等^[34]通过研究发现,缺血会增加大鼠脑中 VEGFA mRNA 水平,并且采用多肽 semax 抑制缺血早期 VEGFA 基因表达的激活,可以起到神经保护作用。TP53 为细胞增殖调节基因,在细胞代谢、增殖、生长以及凋亡等方面发挥重要作用^[35]。CASP3 是细胞凋亡基因,参与缺血再灌注损伤过程,能加重脑梗死程度。庞艳利等^[36]通过降低 CASP3 的表达,抑制细胞凋亡及缩小缺血再灌注损伤造成的脑梗死体积,起到了保护脑组织的作用。AKT1、IL-6、VEGFA、TNF、TP53 和 CASP3 等 6 个核心靶点与炎症、血管、细胞凋亡和神经调节等相关,也说明柴胡-桂枝的抗 AIS 机制与上述生物功能有关。

GO 功能和 KEGG 通路富集分析结果显示,柴胡-桂枝有效成分可能参与对无机物的反应、对药物的反应、活性氧类代谢、对伤害的反应、炎症反应、凋亡信号通路和循环系统过程等生物学过程,在薄膜筏、囊泡腔、树突、细胞质核周区、膜侧和突触后膜等部位,发生蛋白质结合、转录因子结合、蛋白激酶结合和细胞因子受体结合等分子反应,进而调控癌症通路、AGE-RAGE 通路、丙型肝炎通路、HIF-1 信号通路和铂耐药等通路,发挥抗脑缺血损伤的作用。晚期糖基化终末产物(AGE)一方面可以增加血管通透性,导致血管舒张功能障碍;另一方面可以增加血小板聚集,导致动脉粥样硬化^[37-38]。晚期糖基化终末产物受体(RAGE)是晚期糖基化终末产物受体,可促进 ROS、促炎细胞因子产生,激活 NF- κ B,以及促进细胞黏附分子的产生^[39-40]。田玉双等^[41]通过对人脑梗死组织标本进行研究,发现患侧脑组织中的 RAGE 水平明显升高,提示 RAGE 与细胞的凋亡有关。Sapkota 等^[42]的研究结果表明,RAGE 参与了脑缺血发生后溶血磷脂酸受体 5 介导的脑损伤。HIF-1 为缺氧诱导因子,参与了生物体的氧气供应、细胞代谢等病理过程^[43];其具有介导糖酵解相关酶的产生、介导促红细胞生成素基因表达、提高血液载氧能力和介导线粒体自噬途径促进细胞存活的作用,在缺氧性损伤中发挥重要作用^[44-45]。同时,AKT1、IL-6、VEGFA、TNF、TP53 和 CASP3 等关键靶点,大部分也显著富集在上述信号通路上,表明柴胡-桂枝具有多靶点、多通路的协调治疗作用。

为了验证结果的可靠性,本研究对筛选出的 2 个对应疾

病靶点基因最多的成分(槲皮素、山柰酚)与其对应的关键靶点进行分子对接。结果发现,上述2个核心成分与对应的关键靶点均具有较好的结合活性(结合能 <-20.93 kJ/mol),其中槲皮素与TNF,山柰酚与TNF、CASP3均具有较强的结合活性(结合能均 <-29.30 kJ/mol),进一步验证了预测结果的可靠性。

综上所述,本研究采用网络药理学方法对柴胡-桂枝抗AIS的活性成分、关键靶点及作用通路进行预测,并采用分子对接的方法进行验证。结果显示,柴胡-桂枝可能通过槲皮素、山柰酚等主要活性成分,作用于AKT1、IL-6、VEGFA、TNF、TP53和CASP3等关键靶点,参与氧化应激、炎症反应、细胞凋亡和循环等生物学过程,调控癌症通路、AGE-RAGE信号通路和HIF-1信号通路,发挥治疗AIS的作用,具有多成分、多靶点和多通路的特点。本研究也为后续的实验提供了依据,可作为下一步实验的前期基础。

参考文献

- [1] 张艾嘉,王爽,王萍,等. 缺血性脑卒中的病理机制研究进展及中医药防治[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(5):227-240.
- [2] 《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.
- [3] 中华中医药学会脑病分会,广东省中医药学会脑病专业委员会,广东省中西医结合学会卒中专业委员会. 中西医结合脑卒中循证实践指南(2019)[J]. 中国循证医学杂志,2020,20(8):901-912.
- [4] 彭斌. 急性缺血性脑卒中的诊治[J]. 中华神经科杂志,2020,53(2):122-126.
- [5] 刘威,王毅宏. 急性缺血性脑卒中血管内治疗的临床研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志,2020,47(6):637-640.
- [6] 袁晶,朱以诚,姚明,等. 急性卒中患者中药服用情况横断面调查[J]. 中华神经科杂志,2015,48(4):284-287.
- [7] 王朋倩,吴茵,张森,等. 基于“病机结合病理,药性结合药理”临证模式的柴胡加龙骨牡蛎汤防治缺血性脑卒中思路探讨[J]. 中国中药杂志,2018,43(12):2448-2453.
- [8] 王居义. 方剂学教学中的君药问题[J]. 中国中医药现代远程教育,2021,19(10):33-35.
- [9] Ru J, Li P, Wang J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform,2014,6(1):13.
- [10] 周昊言,孙若岚,季千惠,等. 基于网络药理学-分子对接解析川芎-赤芍药对干预脑缺血的作用机制[J]. 中国中药杂志,2021,46(12):3007-3015.
- [11] 唐标,唐文静,邓常清. 基于网络药理学的黄芪和三七主要有效成分配伍抗缺血性脑损伤作用机制研究[J]. 中国中医药信息杂志,2019,26(7):109-113.
- [12] 赵玺灵,张留,唐星,等. 柴胡龙骨牡蛎汤联合抗抑郁药治疗脑卒中后抑郁的效果观察[J]. 实用临床医药杂志,2020,24(17):58-61.
- [13] 张新雨,黄娜娜,孙凯滨,等. 柴胡龙骨牡蛎汤治疗原发性高血压作用网络与机制预测[J]. 中草药,2019,50(21):5162-5169.
- [14] 苑婕. 网络药理学在中医药现代化研究中的进展[J]. 海南医学,2020,31(20):2688-2691.
- [15] 蒋海旭,许杰,陆清怡. 槲皮素治疗类风湿关节炎的研究进展

- [J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(5):243-250.
- [16] 杨嫚,杨俊生,刘梦洋,等. 高压氧对急性缺血性脑卒中作用机制的研究进展[J]. 临床医学研究与实践,2021,6(11):193-195.
- [17] 刘晟文,刘建英. 槲皮素药理学作用的研究进展[J]. 中华肺部疾病杂志(电子版),2020,13(1):104-106.
- [18] 黄海艳,邹彦芬. 槲皮素抗氧化作用研究新进展[J]. 中国中西医结合皮肤性病学期刊,2020,19(1):104-106.
- [19] Han X, Xu T, Fang Q, et al. Quercetin hinders microglial activation to alleviate neurotoxicity via the interplay between NLRP3 inflammasome and mitophagy[J]. Redox Biol,2021,44:102010.
- [20] 于雪,苏聪平,王旭,等. 山柰酚和芒柄花黄素对H9c2细胞缺氧损伤的保护作用[J]. 辽宁中医杂志,2020,47(3):154-156.
- [21] Liu Z, Yao X, Sun B, et al. Pretreatment with kaempferol attenuates microglia-mediate neuroinflammation by inhibiting MAPKs-NF- κ B signaling pathway and pyroptosis after secondary spinal cord injury[J]. Free Radic Biol Med,2021,168:142-154.
- [22] Li S, Hao M, Wu T, et al. Kaempferol alleviates human endothelial cell injury through circNOL12/miR-6873-3p/FRS2 axis[J]. Biomed Pharmacother,2021,137:111419.
- [23] Han X, Zhao S, Song H, et al. Kaempferol alleviates LD-mitochondrial damage by promoting autophagy: implications in parkinson's disease[J]. Redox Biol,2021,41:101911.
- [24] Babaei P, Eyvani K, Kouhestani S. Sex-independent cognition improvement in response to kaempferol in the model of sporadic Alzheimer's disease[J]. Neurochem Res,2021,46(6):1480-1486.
- [25] Pratiwi R, Nantasenam C, Ruankham W, et al. Mechanisms and neuroprotective activities of stigmasterol against oxidative stress-induced neuronal cell death via sirtuin family[J]. Front Nutr,2021,8:648995.
- [26] Jiang YH, Li X, Niu WP, et al. β -sitosterol regulated microRNAs in endothelial cells against an oxidized low-density lipoprotein[J]. Food Funct,2020,11(2):1881-1890.
- [27] 马悦,闫姗,南晓东,等. 异鼠李素的心血管药理作用研究进展[J]. 甘肃科技,2020,36(19):158-160.
- [28] Wu Y, Fan L, Wang Y, et al. Isorhamnetin alleviates high glucose-aggravated inflammatory response and apoptosis in oxygen-glucose deprivation and reoxygenation-induced HT22 hippocampal neurons through Akt/SIRT1/Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. Inflammation,2021,44(5):1993-2005.
- [29] Rodríguez L, Badimon L, Méndez D, et al. Antiplatelet activity of isorhamnetin via mitochondrial regulation[J]. Antioxidants (Basel),2021,10(5):666.
- [30] 张君,尹仁芳,陈琦,等. 基于网络药理学及分子对接探讨当归补血汤治疗动脉粥样硬化潜在作用机制研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2021,23(4):1076-1085.
- [31] 徐方飏,王新志,邝玉慧,等. 基于网络药理学预测小麦抗抑郁作用机制[J]. 中华中医药学刊,2020,38(9):124-127,后插10-后插11.
- [32] 张娟利,李骅,王文军,等. 基于网络药理学探讨丹参-丹皮配伍抗脑缺血损伤的作用机制[J]. 天然产物研究与开发,2021,33(1):103-113,149.
- [33] Zhang H, Wang Y, He Z. Glycine-Histidine-Lysine (GHK) Alleviates Neuronal Apoptosis Due to Intracerebral Hemorrhage via the

miR-339-5p/VEGFA Pathway[J]. *Front Neurosci*,2018,12:644.

[34] Stavchanskiĭ VV, Tvorogova TV, Botsina Alu, et al. The effect of semax and its C-end peptide PGP on Vegfa gene expression in the rat brain during incomplete global ischemia[J]. *Mol Biol (Mosk)*, 2013,47(3):461-466.

[35] 周文静,闫宇晨,张萌,等. 黄芪防治缺血性脑卒中的网络药理学研究[J]. *世界中西医结合杂志*,2020,15(8):1473-1479.

[36] 庞艳利,许二妮,尉娜,等. 腺苷预处理对大鼠脑缺血再灌注损伤后 Caspase-3 的表达及细胞凋亡的影响[J]. *山东医药*,2020,60(13):42-45.

[37] 田伟,李友元,成威. 血清糖晚期糖基化终末产物及可溶性晚期糖基化终末产物受体水平与急性脑梗死后出血性转化的相关性[J]. *中国实用神经疾病杂志*,2021,24(6):493-498.

[38] Prasad K. AGE-RAGE Stress and Coronary Artery Disease[J]. *Int J Angiol*,2021,30(1):4-14.

[39] Prasad K. AGE-RAGE stress play a role in aortic aneurysm: A comprehensive review and novel potential therapeutic target [J]. *Rev Cardiovasc Med*,2019,20(4):201-208.

[40] Garg PK, Biggs ML, Barzilay J, et al. Advanced glycation end product carboxymethyl-lysine and risk of incident peripheral artery disease in older adults; The Cardiovascular Health Study [J]. *Diab Vasc Dis Res*,2019,16(5):483-485.

[41] 田玉双,李国忠,李呼伦. 脑缺血后晚期糖基化终产物受体 (RAGE) 的表达 [J]. *黑龙江医学*,2009,33(11):805-807.

[42] Sapkota A, Park SJ, Choi JW. Receptor for Advanced Glycation End Products Is Involved in LPA5-Mediated Brain Damage after a Transient Ischemic Stroke [J]. *Life (Basel)*, 2021,11(2):80.

[43] 郑诗悦. HIF-1 α 在心血管病中的作用 [J]. *临床与病理杂志*, 2021,41(5):1146-1150.

[44] 颜婷,黄键. 细胞氧感知机制中的低氧诱导因子 (HIF-1) 的生理及病理作用概述 [J]. *生物学教学*,2021,46(3):6-7.

[45] Hirai K, Furusho H, Hirota K, et al. Activation of hypoxia-inducible factor 1 attenuates periapical inflammation and bone loss [J]. *Int J Oral Sci*,2018,10(2):12.

(收稿日期:2021-07-03)

(上接第 1455 页)

综上所述,己酮可可碱可显著改善 VCIND 患者的临床症状,提高脑血管的血流量,降低 NFDS 评分,提高 ADL、MMSE 和 MoCA 评分,临床疗效显著,且安全性高。

参考文献

[1] Mansfield A, Inness EL, McIlroy WE. Stroke [J]. *Handb Clin Neurol*,2018,159:205-228.

[2] Skrobot OA, Black SE, Chen C, et al. Progress toward standardized diagnosis of vascular cognitive impairment; Guidelines from the Vascular Impairment of Cognition Classification Consensus Study [J]. *Alzheimers Dement*,2018,14(3):280-292.

[3] Qin Q, Tang Y, Dou X, et al. Default mode network integrity changes contribute to cognitive deficits in subcortical vascular cognitive impairment, no dementia [J]. *Brain Imaging Behav*,2021,15(1):255-265.

[4] Tang Y, Xing Y, Zhu Z, et al. The Effects of 7-week cognitive training in patients with vascular cognitive impairment, no dementia (the Cog-VACCINE Study): a randomized controlled trial [J]. *Alzheimers Dement*,2019,15(5):605-614.

[5] 黄一宁. 中国脑血管病诊治共识 [J]. *中华神经科杂志*,2015,48(10):838-844.

[6] Feigin VL, Norrving B, Mensah GA. Global burden of stroke [J]. *Circ Res*,2017,120(3):439-448.

[7] Cuadrado-Godia E, Dwivedi P, Sharma S, et al. Cerebral small vessel disease; a review focusing on pathophysiology, biomarkers, and machine learning strategies [J]. *J Stroke*,2018,20(3):302-320.

[8] Uiterwijk R, van Oostenbrugge RJ, Huijts M, et al. Total cerebral small vessel disease MRI score is associated with cognitive decline in executive function in patients with hypertension [J]. *Front Aging Neurosci*,2016,8:301.

[9] Shi Y, Thrippleton MJ, Makin SD, et al. Cerebral blood flow in small vessel disease: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*,2016,36(10):1653-1667.

[10] Kisler K, Nelson AR, Montagne A, et al. Cerebral blood flow

regulation and neurovascular dysfunction in alzheimer disease [J]. *Nat Rev Neurosci*,2017,18(7):419-434.

[11] Nylander R, Fahlström M, Rostrup E, et al. Quantitative and qualitative MRI evaluation of cerebral small vessel disease in an elderly population; a longitudinal study [J]. *Acta Radiol*,2018,59(5):612-618.

[12] Zhang L, Coombes J, Pascoe EM, et al. The effect of pentoxifylline on oxidative stress in chronic kidney disease patients with erythropoiesis-stimulating agent hyporesponsiveness; sub-study of the HERO trial [J]. *Redox Report*,2016,21(1):14-23.

[13] Nouri M, Movassaghi S, Foroumadi A, et al. Protective effect of pentoxifylline on male wistar rat testicular germ cell apoptosis induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine [J]. *Iran J Basic Med Sci*,2016,19(6):646-652.

[14] 林小娟. 己酮可可碱在短暂性脑缺血发作患者中的疗效及对脑血流参数的影响 [J]. *中外医学研究*,2019,17(23):150-152.

[15] 成天军,丁虹,邓志龙. 己酮可可碱对创伤失血性休克大鼠心血管功能和血液流变学的影响 [J]. *重庆医学*,2020,49(22):3714-3719.

[16] 刘威,唐娜娜,卢洋,等. 丁苯酞对高龄急性脑梗死患者 NFDS 评分及 Barthel 指数的影响 [J]. *中国老年学杂志*,2015,35(2):368-370.

[17] 何卫亮,徐哲,潘新根,等. 曲唑酮治疗阿尔茨海默病伴睡眠障碍患者的疗效及对患者认知功能的影响 [J]. *中国现代医学杂志*,2021,31(12):63-68.

[18] 孙强,王仲坤,吕晓红. 慢性脑供血不足患者认知功能障碍的 MMSE 和 MoCA 量表评估 [J]. *中风与神经疾病杂志*,2016,33(2):143-145.

[19] 裴芳,孟涛,张凯旋,等. 简易智能状态检查量表和蒙特利尔认知评估量表在老年人认知功能障碍筛查中的比较 [J]. *中国药物与临床*,2020,20(11):1771-1774.

[20] 杨望新,王莉迪,李宇,等. 己酮可可碱对脑梗死患者神经功能及认知功能的影响 [J]. *脑与神经疾病杂志*,2018,26(12):767-770.

(收稿日期:2021-07-24)