

·数字中医药·

本文引用:祝娜,张丰荣,田华咏,李晴晴,黄秀兰,李志勇. 基于传统知识调查和网络药理学的土家药天珠散增药组方抗脑卒中效益评价研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(4): 633-641.

基于传统知识调查和网络药理学的土家药天珠散 增药组方抗脑卒中效益评价研究

祝娜^{1,2}, 张丰荣², 田华咏³, 李晴晴⁴, 黄秀兰^{1*}, 李志勇^{1,2*}

(1. 中央民族大学药学院, 北京 100081; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;

3. 湖南省湘西州民族医药研究所, 湖南 吉首 416000; 4. 山东中医药大学中医学院, 山东 济南 250355)

[摘要] **目的** 构建土家族方剂天珠散增药组方并探讨其抗脑卒中的效益性。**方法** 围绕疾病脑卒中, 首先通过区域性问卷调查方法确定候选增药范围, 然后利用网络药理学方法对候选药物与疾病靶点进行分析, 确定最佳新组方, 再依据土家族的“主帮客信”配伍理论, 对新方展开合理性评析, 最后利用分子对接方法, 对新方治疗脑卒中的机制进行初步探究。**结果** 土家医推荐与天珠散配伍抗脑卒中的药物中, 八角枫、三角风、头晕草排名靠前; 对比各候选药物预测靶点与疾病靶点网络拓扑参数, 确定了天珠散加头晕草为新方最佳配伍, 其中天麻为主药, 延龄草为帮药, 头晕草可兼为帮、客、信药; 新方可通过参与一氧化氮生物合成过程调控、磷酸化的正调控、对含氧化合物的反应、神经元投射维持等生物过程, 对脑卒中疾病症状进行干预; 分子对接结果显示, 该组方成分 26-chloro-26-deoxycryptogenin, β -ecdysterone, ecdysterone, gastrodin, 4-hydroxycinnamic acid 分别与蛋白 APP, IL-6, MTOR, JAK2, TLR4 具有良好的结合活性。**结论** 天珠散配伍头晕草具有合理性与效益性, 其或可增加原方天珠散抗脑卒中效果。

[关键词] 天珠散; 脑卒中; 组方优化; 网络药理学; 问卷调查; 分子对接; 土家药

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.04.020

Benefit evaluation of Tujia medicine Tianzhusan added medicine prescription based on traditional knowledge investigation and network pharmacology

ZHU Na^{1,2}, ZHANG Fengrong², TIAN Huayong³, LI Qingqing⁴, HUANG Xiulan^{1*}, LI Zhiyong^{1,2*}

(1. School of Pharmacy, Minzu University of China, Beijing 100081, China; 2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3. Institute of Ethnic Medicine of Xiangxi Prefecture, Jishou, Hunan 416000, China; 4. School of Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250355, China)

[Abstract] **Objective** To construct Tujia medicine Tianzhusan added medicine prescription and explored its effectiveness in anti stroke. **Methods** Focusing on stroke, firstly, the scope of candidate herbals was determined by regional questionnaire survey, and network pharmacology was used to analyze the candidate herbals and disease targets to determine the best new prescription. Then, according to the compatibility theory "Zhu Bang Ke Xin" of Tujia doctors, the new prescription was rationally evaluated. Molecular docking technology was used to explore the mechanism of the new prescription in the treatment of stroke preliminarily.

[收稿日期] 2021-10-27

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81473797); 中央民族大学自主科研项目(交叉学科研究专项)(2020MDJC04)。

[第一作者] 祝娜, 女, 硕士研究生, 研究方向: 心血管药理。

[通信作者] *李志勇, 男, 研究员, 硕士研究生导师, E-mail: lizhiyong7899@sina.com; 黄秀兰, 女, 教授, 博士研究生导师, E-mail: hxlun@126.com。

Results Among the herbals recommended by Tujia doctors for the treatment of stroke with Tianzhusan, Bajiaofeng (*Alangium Chinense*), Sanjiaofeng (*Hedera Nepalensis*) and Touyuncao (*Geum Japonicum Thunb*) were top ranked. By comparing the topological parameters of each candidate herbal prediction targets and disease targets network, it was determined that Tianzhusan plus Touyuncao (*Geum Japonicum Thunb*) was the best compatibility of the new prescription, in which Tianma (*Gastrodiae Rhizoma*) was the “Zhu” herbal, Yanlingcao (*Trillium Tschonoskii*) was the “Bang” herbal, and Touyuncao (*Geum Japonicum Thunb*) might act as the “Bang”, “Ke” and “Xin” herbal at the same time. The new prescription might intervene the symptoms of stroke by participating in the regulation of nitric oxide biosynthesis, the positive regulation of phosphorylation, the response to oxygenates, the maintenance of neuronal projection and other biological processes. The results of molecular docking showed that the constituents of 26-chloro-26-deoxycryptogenin, β -ecdysterone, ecdysterone, gastrodin and 4-Hydroxycinnamic acid had good binding activities with proteins APP, IL6, mTOR, JAK2 and TLR4 respectively. **Conclusion** Tianzhusan combined with Touyuncao (*Geum Japonicum Thunb*) is reasonable and effective, which may increase the effect of the original prescription Tianzhusan in the treatment of stroke.

〔**Keywords**〕 Tianzhusan; stroke; formula optimization; network pharmacology; questionnaire survey; molecular docking; Tujia medicine

脑卒中又称中风或脑血管意外,是全球第二大死亡原因和第三大致残原因^[1]。据《中国卒中报告 2019》报道,2019 年,我国脑卒中的死亡人数约占全球脑卒中死亡人数的 1/3,已经成为脑卒中终身风险最高和疾病负担最重的国家^[2]。目前,国内脑卒中的防治方法以西医为主,同时多数卒中患者还接受中草药或针灸治疗。

天珠散由天麻 (*Gastrodia elata* Bl.) 与延龄草 (*Trillium techonoskii* Maxim.) 配伍组成,具有补虚强体、镇静安神、祛风散痰、补脑安神的功效,是土家族常用补脑方剂。研究表明,天珠散具有一定的抗卒中作用,能通过减轻脑组织神经细胞损伤、促进神经递质合成,改善脑缺血大鼠的学习记忆能力^[3-4]。但作为少数民族地区的民间经验方,天珠散在口耳传承过程当中可能存在一些配伍信息的遗漏,从而影响了其真实的药用价值^[5]。

在尊重少数民族医药理论经验特征的前提下,理清配伍关系,合理增减组成以优化民族药方剂是促进民族药未来繁荣发展的重要方面^[6]。少数民族传统医药知识的挖掘和利用,需在集成已有技术、方法的基础上创新研究思路与策略。在天然药物研发中,以传统医药知识为指引的药物筛选模式明显优于随机发现模式^[7]。本文采用传统知识调查方法,挖掘整理天麻、延龄草配伍规律,尝试在遵循土家医药理论经验、原方主药地位不变等原则^[8]基础上,构建天珠散治疗脑卒中疾病的增药新方,结合现代网络药理学方法与分子对接技术,确定最佳配伍,并对新方进行合理性与效益性评析。

1 资料与方法

1.1 基于问卷调查的天麻、延龄草配伍规律研究

1.1.1 调查对象的确定 2019 年 6 月 28 日至 2019 年 6 月 30 日,前往湘西吉首发放调查问卷。为保证问卷调查结果的可靠性,设置被调查者筛选条件如下:(1)所属民族需为土家族;(2)在土家族聚居地区居住、行医;(3)具有行医资格证书。

1.1.2 调查问卷的设计 问卷总体分为两个部分,第一部分统计被调查者基本信息,主要包括被调查者性别、民族、居住地址、受教育程度、行医工作情况等;第二部分调查土家医对天麻和延龄草的临床使用情况、土家族习用药材情况等,调查问卷纳入药材来自《医疗机构处方常用土家药手册》^[9],并包含天麻、延龄草。

1.2 基于网络药理学的新方构建与评价

根据问卷调查结果,选择配伍频率排名前 3 的药物构建新方。为降低研究的复杂性,选择“天珠散+1”模式构建新方,但并不排除其他模式组合效果更佳的可能性。利用网络药理学方法评选出最佳配伍,并对新方进行合理性与效益评价。

1.2.1 药物成分的获取和筛选 通过 HERB (<http://herb.ac.cn/>)、TCMID (<http://1193412288000tcmid/>)、TCMIP (<http://www.tcmip.cn/>)、BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/>)、化学专业数据库 (<http://www.organchem.csdb.cn/>) 以及文献搜集药物相关化学成分。利用 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库获取药物成分的“Canonical SMILES”格式,

其中未能通过直接搜索找到的成分可通过 PubChem 的“Draw Structure”功能绘制出化学结构生成 SMILES。再通过 SwissADME(<http://swissadme.ch/>)在线平台对成分进行成药性筛选,筛选标准为 GI absorption(肠吸收)为“High”,Druglikeness(类药性)通过“Lipinski”类药五原则,成药性较好的药物成分被认为是潜在活性成分。

1.2.2 潜在活性成分靶点的预测 利用 Swiss TargetPrediction(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)(筛选 Probability>0)与 TCMSP(<https://tcmssp.com/>)数据库预测并搜集潜在活性成分作用靶点,并进行合并、除重处理。

1.2.3 疾病相关靶点蛋白的收集 通过 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)(筛选 relevance score>10.0)、DrugBank(<https://go.drugbank.com/>)(筛选 approved targets)、TTD(<http://db.idrblab.net/ttd/>)数据库,以“stroke”为关键词进行检索,收集脑卒中疾病相关靶点蛋白。

1.2.4 新方最佳配伍的确定 利用 Cytoscape 3.8.0 软件构建脑卒中相关靶点蛋白相互作用(protein protein interaction, PPI)网络,导出蛋白节点拓扑数据。计算每个靶点度中心性(betweenness centrality)、紧密中心性(closeness centrality)以及度(Degree)3个参数的 Z 值,将参数进行归一化处理。再分别将新方所含药物靶点与脑卒中相关靶点取交集,计算各自交集靶点的总 Z 值,依此排序确定最佳配伍新方。

1.2.5 基于土家药“主帮客信”配伍原则的新方效益评析 “主帮客信”原则为土家族药物配伍常用法则,其中主药,方中必不可少;帮药,帮助主药或治疗兼病;客药,一是克制主药过火,二是治疗兼病之“客气”药;信药,即药引子^[10]。主主相伍,功效相加;主帮相辅,增加功力;主客相敬,减少反应;主迎信达,畅通经脉^[11]。遵循“主帮客信”配伍原则,分析新方配伍关系,评价其效益性。

脑卒中主要症状为半身不遂、口舌歪斜、言语謇涩和猝然昏仆等,次要症状包括头痛、眩晕等^[12]。SymMap 数据库(<http://www.symmap.org/search/>)为中医药证候关联数据库,通过该数据库分别检索“半身不遂”“口舌歪斜”“言语謇涩”“猝然昏仆”“头痛”“眩晕”,收集症状靶点。分别将症状靶点与所收集的脑

卒中相关靶点取交集,剔除其中非交集靶点部分,余下的即是脑卒中疾病相关症状靶点。将脑卒中疾病相关症状靶点分别与最佳新方药材的潜在靶点取交集,交集靶点分别导入 STRING 数据库,利用其“Analysis”功能对靶点参与的生物过程进行富集分析。

1.3 分子对接与通路富集分析

构建新方与脑卒中症状交集靶点 PPI 网络,利用 iGEMDOCK 2.1 软件对网络关键靶点与其对应成分进行分子对接。PubChem 数据库下载小分子化合物结构,通过 Open Babel 3.1.1 软件对化合物进行格式转换,保存为 mol2 格式文件;RCSB PDB(<https://www.rcsb.org/search>)数据库获取蛋白结构,蛋白的种属来源为“Homo sapiens”,且要求分辨率较高,保存蛋白为 pdb 格式文件。对接参数设置为默认。利用 Metascape 数据库(<https://metascape.org/gp/>)对交集靶点进行 KEGG 通路富集分析,构建中药成分-靶点-通路网络。

2 结果

2.1 问卷调查结果

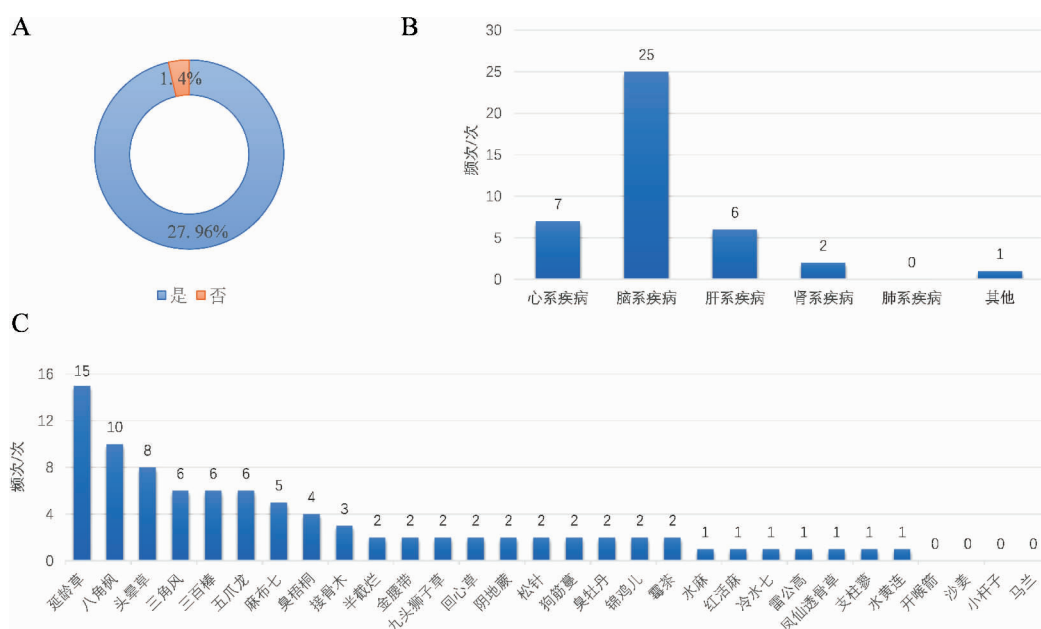
共发放调查问卷 60 份,收回问卷 47 份,回收率 78.3%。根据问卷填写情况,被调查对象均具有行医资格证书,剔除来自非土家族医生的问卷后,最后得到有效问卷 28 份。

2.1.1 被调查对象基本情况 被调查者多数来自我国土家族聚居地区,分别是湖南省湘西土家族苗族自治州(吉首市保靖县、龙山县、永顺县)、长沙市、张家界市、怀化市 71.43%;贵州省铜仁市 7.15%;湖北省恩施市 10.71%(咸丰县、鹤峰县、来凤县);重庆市 10.71%(秀山县、黔江区)。被调查者行医时间多为 30 年及以上(42.86%),教育程度为本科居多(67.86%),行医场所多在州级医院(35.71%)。

2.1.2 天麻、延龄草的临床使用情况 初步调查结果显示,在治疗脑卒中方面,天麻常与延龄草、八角枫、头晕草、三角风、三百棒等配伍使用(图 1);延龄草则常与天麻、三角风、八角枫、三百棒、五爪龙等配伍使用(图 2)。各自配伍频率排名前 3 的药物信息见表 1。

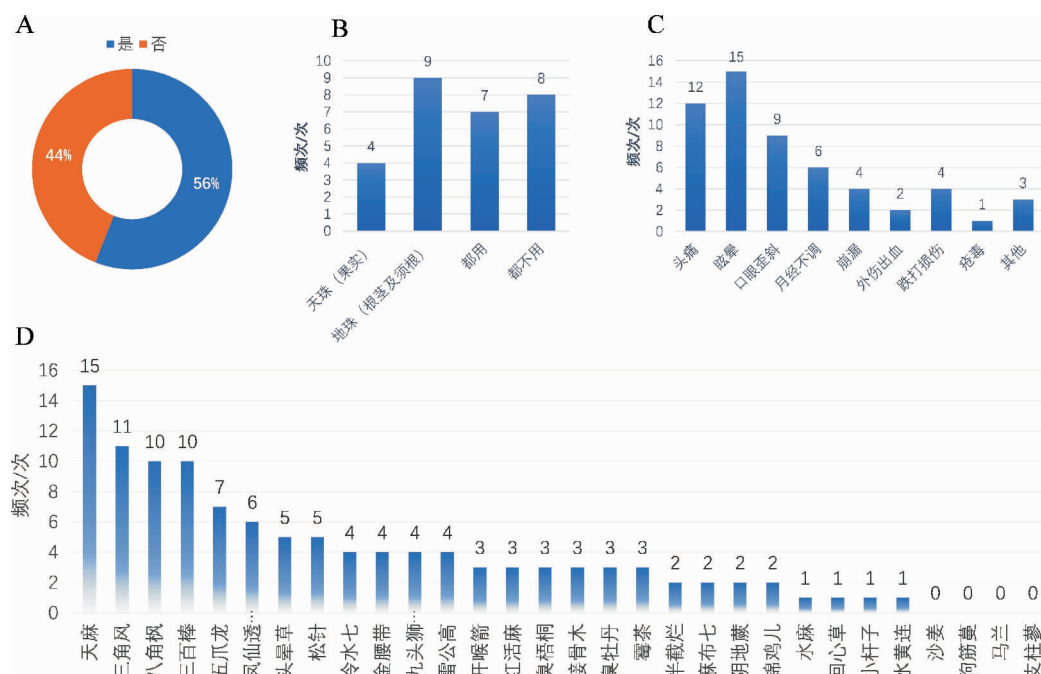
2.2 网络药理学研究结果

2.2.1 最佳配伍的确定 根据问卷调查结果,初步



注:A.您是否在临床上使用天麻或含有天麻的方剂?B.您在临床上将天麻应用于什么疾病?C.您认为天麻可配伍哪些药物并用于防治脑卒中?

图1 天麻临床配伍调查



注:A.您是否在临床上使用延龄草或含有延龄草的方剂?B.您习惯于用延龄草什么药用部位?C.您使用延龄草治疗什么疾病?D.您认为延龄草可配伍哪些药物用于防治脑卒中?

图2 延龄草临床配伍调查

构建新方“天珠散+八角枫”(TZS-B)、“天珠散+三角风”(TZS-S)、“天珠散+头晕草”(TZS-T)。土家药在配伍禁忌上主要遵守“草药十四反”“生药十三反”原则^[13],所构建的新方不违背土家族药物传统配伍禁忌。药物成分的搜集、筛选以及靶点预测结果见表2。其中,天麻成分天麻素虽没有通过筛选,但由于该成分属于文献^[14]报道的活性成分,故纳入后续分析。从

GeneCards、DrugBank、TTD 数据库中共搜集得到449个脑卒中相关靶点蛋白。计算各新方与脑卒中疾病交集靶点相关拓扑参数的总Z值, $Z_{TZS-T}(109.90) > Z_{TZS-S}(89.93) > Z_{TZS-B}(72.08)$,因而将TZS-T作为本研究中抗脑卒中的最佳配伍新方。

2.2.2 基于土家药“主帮客信”配伍原则的新方合理性评析 通过SymMap数据库分别得到半身不遂、

表 1 天麻、延龄草及其高频配伍土家药物信息

中药	土家药名	基原	药用部位	药性	功效	主治	收录标准
天麻	定风草	兰科植物天麻 <i>Gastrodia elata</i> Bl.的干燥块茎	根茎	甘,平	息风止痉,平抑肝阳,祛风通络	小儿惊风, 癫痫抽搐, 破伤风, 头痛眩晕,手足不遂, 肢体麻木,风湿痹痛	《中华人民共和国药典》(2020 年版)
延龄草	头顶珠、头顶一颗珠	百合科植物延龄草 <i>Trilium tschonoskii</i> Maxim. 的干燥根茎及根 (又称“地珠”)	根茎、根	甘,平;有小毒	镇静, 止痛,活血,止血	头痛眩晕、口眼歪斜、月经不调、崩漏、外伤出血、跌打损伤、疮毒	《湖北省中药材质量标准》(2009 年版)
八角枫	白龙须(须根)、白荆条(支根)、九胡子	八角枫 <i>Alangium chinense</i> (Lour.) Harms 的干燥支根及须根	支根、须根	辛,温;有毒	赶风除湿,舒筋活络,消肿止痛	风寒性疼痛、瘫痪、跌打损伤、四肢麻木、劳伤腰痛、鹤膝风(膝关节肿痛)、胃痛、阴疽	《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003 版)、《湖北省中药材质量标准》(2009 年版)、《湖南省中药材标准(2009 年版)
三角风	上树蜈蚣	五加科植物常春藤 <i>Hedera nepalensis</i> K.Koch var. <i>sinensis</i> (Tobl.) Rehd. 的干燥带叶藤茎	藤茎	辛、苦,温	赶风除湿,活血活络,消肿止痛,平肝补虚,活血止痛	风湿痹痛、瘫痪麻木、面瘫、跌打损伤、吐血、咯血、衄血、湿疹、荨麻疹、无名肿毒	以“常春藤”为名收载于《湖北省中药材质量标准》(2009 年版)、《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003 年版)
头晕草	蓝布正、大仙鹤草、大路边黄	蔷薇科植物柔毛路边青 (东南水杨梅) <i>Geum japonicum</i> Thunb. var. <i>Chinense</i> Bolle 或路边青 (水杨梅) <i>Geum aleppicum</i> Jacq. 的干燥全草	全草	苦、辛,平		头目眩晕、虚劳咳嗽、小儿惊风、风湿麻痹、经来腹痛、产后腹痛 (胞衣不下)、跌打损伤、阳痿遗精;外治疮疡肿痛	以“蓝布正(头晕药)”为名收载于《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003 年版);《湖北省中药材质量标准》(2009 年版),但基原仅有柔毛路边青这一变种

表 2 新方相关成分与靶点数量信息(个)

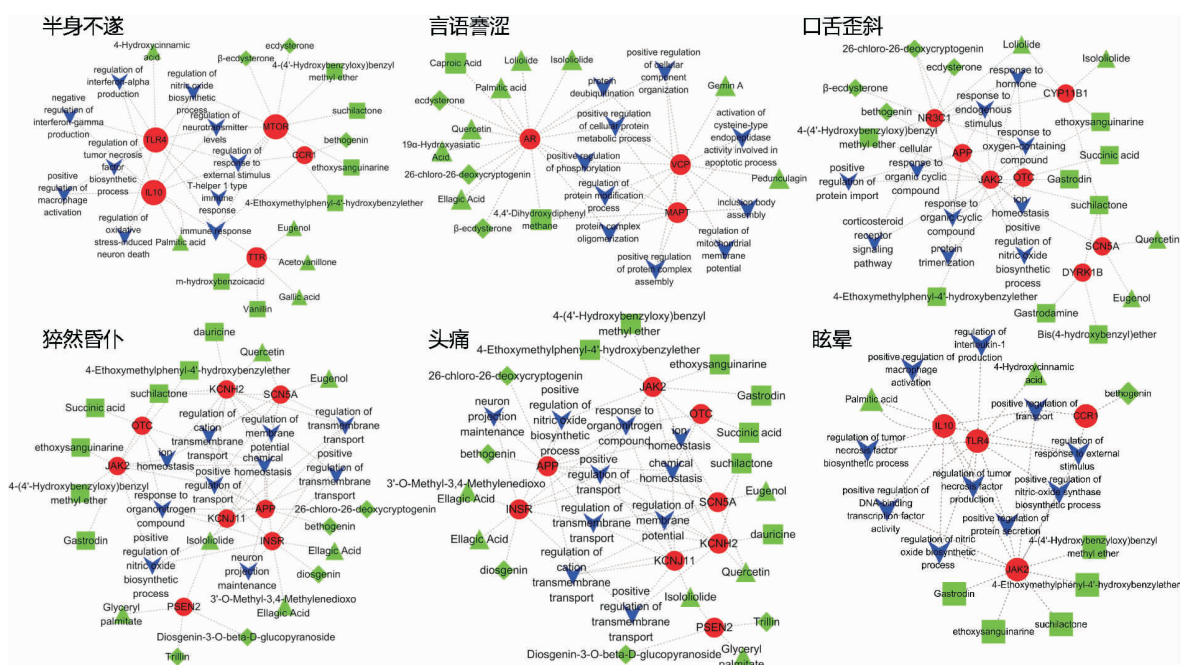
中药	化学成分	潜在活性成分	预测靶点	除重后靶点
天麻	51	25	709	361
延龄草	20	8	385	195
八角枫	15	6	94	76
三角风	24	6	165	123
头晕草	36	17	617	334

言语謇涩、口舌歪斜、猝然昏仆、头痛、眩晕症状靶点 76 个、27 个、47 个、116 个、104 个、58 个。分别与所收集的脑卒中相关靶点取交集,剔除其中非脑卒中相关靶点后,各症状依次剩下靶点 30 个、13 个、38 个、50 个、59 个、29 个。靶点参与的生物过程富集分析结果见图 3。天麻作为配伍的主药,通过作用于 MTOR、AR、JAK2、NR3C1 等靶点,在对抗脑卒中疾病的主要症状方面发挥重要作用。延龄草通过作用于 MTOR、NR3C1、APP、CCR1 等与天麻素相同或不同的靶点发挥其帮药作用。头晕草与天麻的共同作用靶点较多,配伍中纳入头晕草或可降低天麻在方

剂中的用量,从而减轻天麻的副作用,同时头晕草也存在其独有作用靶点,可能同时充当帮药与客药角色。头晕是患者在服用天麻素片的过程中常见的副作用^[5],头晕草在民间使用中便有治疗头目眩晕的作用,也因此得名“头晕”草,这也说明头晕草可能作为客药角色,克服天麻服用过程中所导致的头晕反应。信药可引导其他药物的药力到达病变部位或某一经脉。在分子层面,如果某药物的成分能通过作用于某些靶点,帮助其他药物分子或药物相关蛋白实现跨膜运转,则该药物充当信药角色。在对抗脑卒中猝然昏仆症状中,头晕草靶点 KCNH2、INSR、KCNJ11 参与了跨膜转运正调控的生物过程,则此时头晕草充当了信药角色。综上,天麻、延龄草、头晕草配伍或可增加药物效应,减轻药物副作用,新方 TZS-T 配伍合理。

2.3 分子对接与通路富集分析

新方 TZS-T 药物靶点与脑卒中症状靶点取交集得到 31 个靶点,在 PPI 网络中 Degree 值排名前 5



注: 正方形、菱形、三角形绿色节点分别代表天麻、延龄草、头昏草成分, 红色圆形代表成分干预脑卒中症状的靶点, 蓝色倒 V 形代表 P 倒序排名前 10 的生物过程

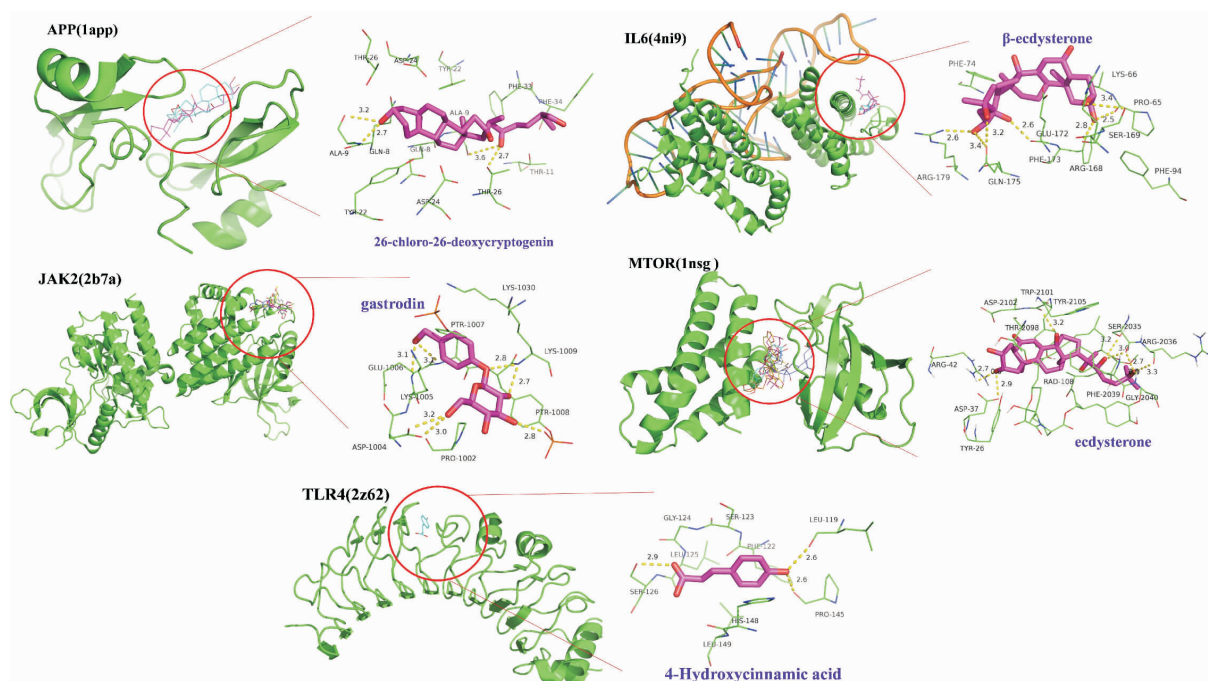
图 3 最佳新方 TZS-T 干预卒中症状的成分-靶点-生物过程网络

表 3 关键蛋白与小分子对接结果

靶点蛋白(pdb id)	配体小分子	总能量/(kcal·mol ⁻¹)	范德华力/(kcal·mol ⁻¹)	氢键作用/(kcal·mol ⁻¹)
APP(1app)	26-chloro-26-deoxycryptogenin	-106.93	-98.69	-8.23
	bethogenin	-83.19	-71.54	-11.66
IL-6(4ni9)	loliolide	-57.09	-50.22	-6.87
	β-ecdysterone	-95.20	-76.47	-18.73
JAK2(2b7a)	4-ethoxymethylphenyl-4'-hydroxybenzylether	-77.38	-66.74	-10.64
	4-(4'-hydroxybenzyloxy)benzyl methyl ether	-82.07	-60.94	-21.12
	ethoxysanguinarine	-92.24	-64.78	-27.47
	gastrodin	-101.12	-60.57	-40.55
MTOR(1nsg)	suchilactone	-99.15	-85.63	-13.53
	4-hthoxymethylphenyl-4'-hydroxybenzylether	-84.95	-70.64	-14.31
	4-(4'-hydroxybenzyloxy)benzyl methyl ether	-84.11	-78.60	-5.50
	ecdysterone	-116.54	-88.28	-28.26
	ethoxysanguinarine	-98.26	-83.67	-14.60
TLR4(2z62)	suchilactone	-102.12	-88.48	-13.63
	β-ecdysterone	-116.24	-96.75	-19.49
	4-hydroxycinnamic acid	-83.35	-67.54	-15.81

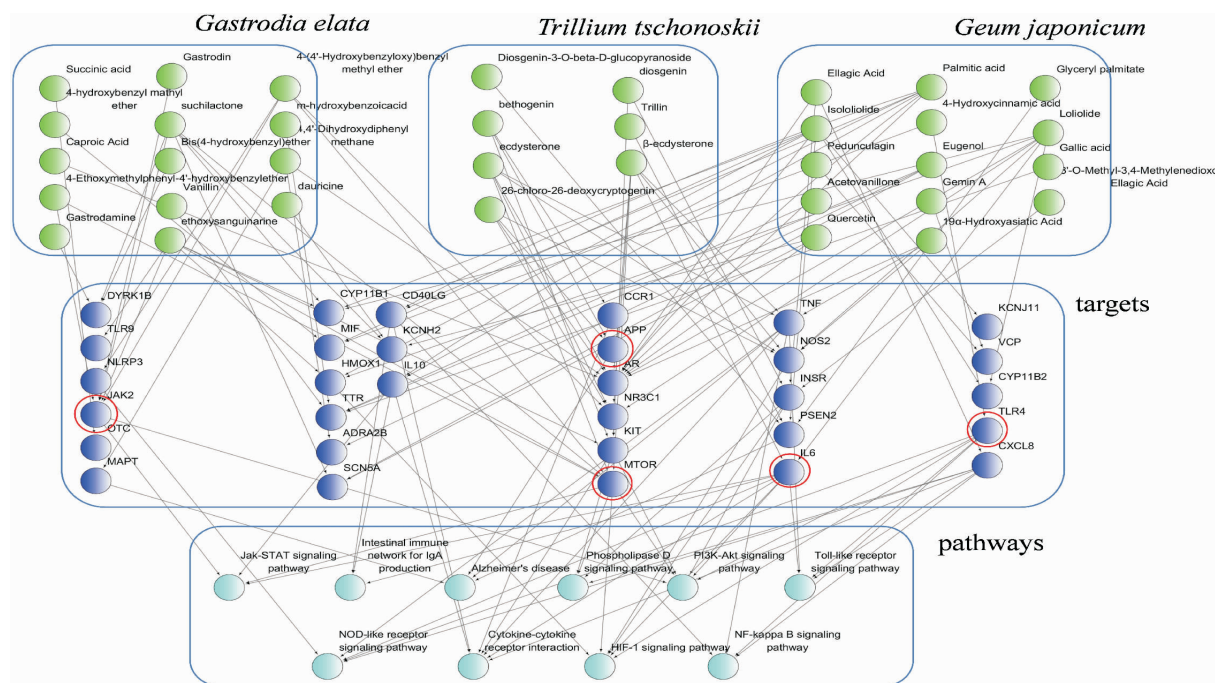
的关键靶点分别是 APP、IL-6、JAK2、MTOR、TLR4。分子对接结果见表 3。图 4 展示了各关键靶点与其药物潜在活性成分的结合位点, 并突出展示靶点与其最高结合活性成分的结合模式。天麻成分 gastrodin 与 JAK2 蛋白具有较高的结合活性, 延龄草成分 26-chloro-26-deoxycryptogenin、β-ecdysterone、ecdysterone 分别与蛋白 APP、IL6、MTOR 具有较高

的结合活性, 头昏草成分 4-hydroxycinnamic acid 与 TLR4 蛋白具有良好的结合活性。31 个交集靶点主要涉及 HIF-1 信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用、NOD 样受体信号通路、NF-κB 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、Toll 样受体信号通路、Jak-STAT 信号通路等 68 条信号通路 ($P < 0.05$), 图 5 为中药成分-靶点-通路网络。



注:对接得到的“Total Energy”越低,则代表大分子蛋白与小分子化合物之间的结合稳定性越高,说明具有较高的结合活性

图 4 关键靶点与其对应成分的分子对接结合模式图



注:带红色圈的是 Degree 值排名前 5 的靶点

图 5 新方成分-卒中症状靶点-通路网络

3 讨论

少数民族医药中蕴藏着巨大宝藏,但目前其大量经验方仍散落于民间、深藏于民间,由于缺乏系统的挖掘、整理与研究,一些疗效独特的民间验方使用日趋减少,部分配方信息遗缺,难以发挥其应有的作用。对于土家族医药文献的收集、发掘与整理工

作始于 20 世纪 70 年代末或 80 年代初期^[16],天珠散收载于《鄂西药物志》(对 1978—1980 年恩施地区卫生局组织的中草药资源普查成果的汇总),其以“天珠散”为方名,首见于《土家医方剂学》,为“神衰症风痰型而设,临床以头晕目眩、失眠多梦、疲乏无力、舌胖大、苔白为治疗要点”。但在土家医描述疾病症候的“三十六经症”“七十二症疾”中并未有“神衰症”病

症名,据其临床症状表述,可能与“头风症”“偏头风”“虚阳灌顶症”(相当于头痛)等相关^[17]。由上可知,源于当时区域性中药资源调查获得的“天珠散”及其传统应用知识,在由口传经验向公共知识转化的过程中,其土家医传统症候与现代生物医学背景下的适应症有所关联但却并不一致。鉴于此,我们课题组提出并形成了适用于民族民间验方的组方优化模式,即基于关键药物评价的组方优化,将“理清配伍关系、合理增减组成、核准配伍剂量、明确临床适应症”为优化目标,其基本原则^[18]包括:(1)遵循医药理论经验原则;(2)原方主药地位不变原则;(3)基于主药关系的药物增减原则;(4)主治范围不脱离原方传统功效原则;(5)组方药物之间不冲突(安全性)原则;(6)经济优效原则。通过整合数据,以基原清楚的共用药物为线索,挖掘有效药物组合作为原方增减依据,进行民族药方剂的建构与优化。

网络药理学以系统生物学的理论为基础,建立系统网络模型,可从整体上考察药物对疾病的干预与影响,揭示药物、疾病、靶点与通路之间的复杂关系,有助于阐释方剂配伍规律、预测中药作用靶点、辨识中药活性成分以及解析中药作用机制^[19],已应用于中药组方优化设计并取得了良好的成效。LI等^[20]运用网络药理学方法,建立了可识别众多草药配方中草药之间有用关系的基于距离的互信息模型,并以六味地黄丸配方为例,提出了跨中药-生物分子-疾病多层网络的“共模块”概念,探讨中药配方潜在组合机制。LI等^[21]提出了一种系统药理学的集成平台,用于揭示口服给药、药物半衰期和靶点相互作用如何影响草药的药理功能,并以小柴胡汤、大柴胡汤两个经典方剂为例,进一步剖析了中药加减法理论。张伏芝^[22]运用网络药理学筛选优化了治疗糖尿病周围神经病变气虚血瘀证的候选组方。本文运用网络药理学方法筛选新药以优化天珠散组方并探究其分子机制。

本研究最佳新方由天麻、延龄草、头晕草组成,天麻具有镇静、镇痛、抗惊厥、改善记忆、神经保护、增强免疫等药理作用^[23];延龄草在镇静催眠、抗癌、抗炎和防治心肌缺血等方面表现出较强的药理活性^[24];头晕草具有抗氧化、抗凝血、抗心肌梗死、提高机体抗应激能力等作用^[25]。本文研究结果提示,新方或可通过参与一氧化氮生物合成过程调控、磷

酸化的正调控、对含氧化合物的反应、神经元投射维持等众多生物过程对抗脑卒中。缺血性脑卒中发生后,细胞因子 IL-6、TNF- α 以及 APP 蛋白等表达异常升高^[26-27],参与机体脑组织损伤过程。本研究发现,天麻素可能通过影响体内 JAK2 和 NOS2 蛋白的表达水平,参与神经递质水平的调节、细胞因子产生的正调控等生物过程;延龄草成分 bethogenin 等可能通过作用于 APP 蛋白,参与炎症反应、离子稳态调节等生物过程,干预脑卒中的头痛和口舌歪斜症状;头晕草富含鞣质,其水提醇沉物能促进大脑供血供氧,延长动物的存活时间^[28-29]。

文章采用传统知识调查方法对土家族民间验方天珠散的配伍信息进行了重新挖掘,结合网络药理学分析结果,天珠散配伍头晕草用于治疗疾病脑卒中与原方相比可能具有更好的疗效,再遵循土家族医“主帮客信”的配伍原则,对新方进行了组方合理性评析,最后通过分子对接技术对新方抗卒中机制做了初步探讨。文章内容或能为当前民间验方的挖掘工作提供一些新的研究思路。不足之处在于网络药理学的方法还无法解决配伍用药剂量问题,研究结果还有待于药效及分子机制实验的进一步验证。

参考文献

- [1] 赵航,陈静,杨丹丹.TIGAR在脑缺血中作用的研究进展[J].生命科学,2021,33(4):512-517.
- [2] WANG Y J, LI Z X, GU H Q, et al. China stroke statistics 2019: A report from the national center for healthcare quality management in neurological diseases, China national clinical research center for neurological diseases, the Chinese stroke association, national center for chronic and non-communicable disease control and prevention, Chinese center for disease control and prevention and institute for global neuroscience and stroke collaborations[J]. Stroke and Vascular Neurology, 2020, 5(3): 211-239.
- [3] ZHOU R R, ZHU Y, YANG W, et al. Discovery of herbal pairs containing *Gastrodia elata* based on data mining and the Delphi expert questionnaire and their potential effects on stroke through network pharmacology[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2020, 2020: 4263591.
- [4] 宋阔魁,叶田园,侯金才,等.土家药天珠散对脑缺血所致大鼠学习记忆障碍的改善作用[J].中草药,2015,46(3):389-395.
- [5] 周荣荣.天麻为组方关键的天珠散增药建构及新方设计[D].太原:山西中医药大学,2019.
- [6] 李志勇,柴兴云,袁涛,等.互鉴互融:论民族药的现代研究思路[J].

- 中国中药杂志,2017,42(7):1213-1219.
- [7] GYLLENHAAL C, KADUSHIN M R, SOUTHAVONG B, et al. Ethnobotanical approach versus random approach in the search for new bioactive compounds: Support of a hypothesis[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2012, 50(1): 30-41.
- [8] JOHNSON W, ONUMA O, OWOLABI M, et al. Stroke: A global response is needed[J]. *Bulletin of the World Health Organization*, 2016, 94(9): 634-634A.
- [9] 万定荣.医疗机构处方常用土家药手册[M].武汉:湖北科学技术出版社,2017.
- [10] 吴一振,周明高,周 顺,等.浅析土家药的合理使用[J].*中国民族医药杂志*,2017,23(11):44-45.
- [11] 彭芳胜,田华咏,滕建卓.土家医方剂学研究[J].*中医药导报*,2007,13(7):105-107.
- [12] 刘勇涛,刘晓鑫,谢立娟,等.圣愈汤结合醒脑开窍针刺疗法治疗脑卒中后失语症临床疗效及安全性观察[J].*中华中医药学刊*, 2022,40(2):211-214.
- [13] 奚胜艳,赵敬华,赵 晖,等.土家族医药学生药十三反、十四反药物考证及相反药性理论探讨[J].*中国中药杂志*,2012,37(10): 1500-1505.
- [14] ZHAN H D, ZHOU H Y, SUI Y P, et al. The rhizome of *Gastrodia elata blume*—an ethnopharmacological review [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 189: 361-385.
- [15] 冯 静,陈 鼎,张贤春.复方天麻密环糖肽片联合温针灸干预半规管型良性阵发性位置性眩晕成功手法复位后残余头晕的研究[J].*现代中西医结合杂志*,2021,30(18):1987-1990.
- [16] 田华咏,田 兰,梅之南.土家族医药文献调研与整理[J].*中国民族医药杂志*,2013,19(6):48-52.
- [17] 席 宇.基于文献的土家族传统医学病种研究[D].遵义:遵义医科大学,2019.
- [18] 王 琳,周荣荣,王 楠,等.源于组方优化设计的民族药研究思路与方法探讨[J].*中华中医药杂志*,2018,33(11):5016-5019.
- [19] 李志勇,王均琪,黎彩凤,等.中药新资源的功效与功能定位研究策略[J].*中国中药杂志*,2021,46(14):3455-3464.
- [20] LI S, ZHANG B, JIANG D, et al. Herb network construction and co-module analysis for uncovering the combination rule of traditional Chinese herbal formulae[J]. *BMC Bioinformatics*, 2010, 11(Suppl 11): S6.
- [21] LI B H, TAO W Y, ZHENG C L, et al. Systems pharmacology-based approach for dissecting the addition and subtraction theory of traditional Chinese medicine: An example using Xi-ao-Chaihu-Decoction and Da-Chaihu-Decoction [J]. *Computers in Biology and Medicine*, 2014, 53: 19-29.
- [22] 张伏芝.基于网络药理学的糖尿病周围神经病变气虚血瘀证组方筛选与优化[D].北京:北京中医药大学,2020.
- [23] 魏富芹,黄 蓉,何海艳,等.天麻的药理作用及应用研究进展[J].*中国民族民间医药*,2021,30(11):72-76.
- [24] 付晓云,张红燕.延龄草多糖研究进展[J].*广州化工*,2021,49(12): 1-3,14.
- [25] 王 凯,黄亚光,陶 薇,等.蓝布正总鞣质提取纯化工艺的优化[J].*中成药*,2021,43(5):1291-1295.
- [26] KAPAKI E, PARASKEVAS G P, ZALONIS I, et al. CSF tau protein and beta-amyloid (1-42) in Alzheimer's disease diagnosis: Discrimination from normal ageing and other dementias in the Greek population[J]. *European Journal of Neurology*, 2003, 10(2): 119-128.
- [27] 饶世俊,苏微微,吴宝水,等.氯吡格雷联合阿司匹林治疗进展性缺血性脑卒中的效果及对炎症因子和日常生活能力的影响[J].*临床误诊误治*,2021,34(6):55-59.
- [28] 刘 杨,邓 颖,刘 明,等.蓝布正对大脑供血供氧及止血耐眩晕作用的影响[J].*中药药理与临床*,2015,31(6):97-100.
- [29] 陶 薇.蓝布正通过抑制星形胶质细胞凋亡保护脑缺血再灌注损伤的研究[D].宜昌:三峡大学,2019.

(本文编辑 苏 维)