

## 中药研究

## 基于网络药理学的“川芎-延胡索”药对作用机制研究

贺丰<sup>1</sup> 朱立国<sup>1</sup> 赵赫<sup>2</sup> 付玲玲<sup>3</sup> 李学朋<sup>1</sup> 梁龙<sup>1</sup> 尹逊路<sup>1</sup>

(1 中国中医科学院望京医院,北京,100102; 2 清华大学材料学院,北京,100084; 3 北京中医药大学东直门医院,北京,100700)

**摘要** 目的:运用网络药理学理念和技术研究“川芎-延胡索”药对的主要活性成分、靶点和药理学作用机制。方法:通过检索中药系统药理学分析平台(TCMSP)数据库,结合口服生物利用度和类药性分析,筛选出川芎和延胡索的主要成分、靶点信息,采用 Cytoscape 软件构建活性成分-作用靶点网络,获取的靶点信息,筛选核心靶点。利用 DAVID 在线分析工具对靶点进行基因本体(GO)功能富集分析和 KEGG 通路分析。结果:从“川芎-延胡索”药对中筛选得到 58 个主要活性成分,相关作用于靶点 220 个,主要涉及在癌症、信号传导、免疫、细胞通讯及凋亡等生物学过程中的多条信号通路。结论:本研究初步揭示了“川芎-延胡索”药对的主要活性成分、靶点及协同作用机制,为进一步深入探讨其药理学作用提供了参考。

**关键词** 网络药理学;川芎;延胡索;作用机制

## Mechanism of “Rhizoma Ligustici Chuanxiong-Rhizoma Corydalis”

## Herbal Pair Action Based on Network Pharmacology

He Feng<sup>1</sup>, Zhu Ligu<sup>1</sup>, Zhao He<sup>2</sup>, Fu Lingling<sup>3</sup>, Li Xuepeng<sup>1</sup>, Liang Long<sup>1</sup>, Yin Xunlu<sup>1</sup>

(1 Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China; 2 School of Materials Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 3 Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 10700, China)

**Abstract Objective:** To study the main active ingredients, targets and pharmacological mechanism of “Rhizoma Ligustici Chuanxiong-Rhizoma Corydalis” drug pair based on network pharmacology. **Methods:** The chemical components and targets related to Rhizoma Ligustici Chuanxiong-Rhizoma Corydalis were researched from the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform(TCMSP) according to oral bioavailability(OB) and drug likeness(DL). Cytoscape 3.6.0 software was used to build the active ingredient-target network model and screen for core targets. The GO and KEGG pathways in the targets were analyzed by DAVID. **Results:** 58 active components were screened from “Rhizoma Ligustici Chuanxiong-Rhizoma Corydalis” drug pair, involving 220 related action targets. It mainly involved multiple signaling pathways such as cancer, signal transduction, immunity, cell communication and apoptosis signaling pathways. **Conclusion:** This paper preliminarily revealed the main active ingredients, targets and synergistic mechanism of the herbal pair of “Rhizoma Ligustici Chuanxiong-Rhizoma Corydalis”, providing a reference for further exploration of its pharmacological effects.

**Key Words** Network pharmacology; Rhizoma Ligustici Chuanxiong; Rhizoma Corydalis; Action mechanism

中图分类号:R285 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.10.009

“川芎-延胡索”为经典的临床搭配使用药物组合。川芎性属辛温,具有活血化瘀,行气开郁,祛风止痛的作用。临床上妇科主要用于月经不调、经闭痛经、产后瘀血疼痛;内科常用于胸胁疼痛、头痛眩晕;骨科常用于寒湿痹痛、跌打损伤。延胡索性温,味辛、苦;具有活血散瘀、理气止痛功效。临床常用于胸胁、腕腹疼痛,经闭痛经,产后瘀阻,跌扑肿痛。目前有关川芎和延胡索两味药材与疾病的关系,多从单一通路或靶点研究。对于二者搭配后出现的多通路、多靶点对疾病影响的研究较少。网络药理学

(Network Pharmacology)是近年来较为热门的一种研究方法,它使用网络分析计算后,将“疾病-基因-靶点-药物”相互作用关系,以直观图形呈现,更好的揭示多成分药物协同作用的特点<sup>[1]</sup>。网络药理学的前瞻性、整体性特点还在指导新药研发<sup>[2]</sup>,复方方剂的配伍规律探寻方面发挥了作用<sup>[3]</sup>。本研究基于网络药理学方法,结合基因功能注释和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG),预测“川芎-延胡索”药对的活性成分、作用靶点、相关通路,以期更好的阐明“川芎-延

基金项目:国家自然科学基金项目(81774330);中国博士后科学基金项目(2018M641608)

作者简介:贺丰(1986.09—),男,博士,主治医师,研究方向:脊柱脊髓相关疾病研究, Tel: (010)84734120, E-mail: dr\_hefeng@sina.com

通信作者:朱立国(1961.09—),男,博士,教授,主任医师,研究方向:脊柱脊髓相关疾病的研究, Tel: (010)84734120, E-mail: zhlg95@aliyun.com

胡索”配伍作用机制。

## 1 材料与方法

1.1 材料 中药系统药理学技术平台 TCMSp (<http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>); UniProt 蛋白数据库 (<http://www.uniprot.org>); David 6.8 生物信息学分析数据库 (<https://david.ncifcrf.gov>); Cytoscape 软件 (版本: 3.6.0); GraphPad Prism 7.0 统计软件。

1.2 “川芎-延胡索”药对活性成分的筛选 通过 TCMSp 平台和文献检索 2 种方法收集川芎、延胡索两味药物中所含的化学成分。然后根据各个成分的吸收、分布、代谢与排泄 (ADME) 性质选出川芎、延胡索可能的活性成分,再查阅文献补充被淘汰或遗漏的有效成分,以增加预测结果的可信度。

1.3 “活性成分-靶点”相互作用网络的构建与分析 再次通过 TCMSp 平台检索“1.2”中筛选出的活性成分的潜在靶点,使用 Uniprot 数据库,将潜在靶点蛋白名称校正为物种为人的官方名称 (Official Symbol)。利用 Cytoscape 3.6.0 统计软件构建“活性成分-靶点”相互作用网络模型并使用 Network Analyzer 插件对网络进行分析,查明网络中化合物和靶点的权重。

1.4 “川芎-延胡索”药对蛋白相互作用网络构建与分析 String 数据库 (<https://string-db.org>, Version 10.5) [4] 是一个收集了大量蛋白相互作用关系的数据库,其中包含了经过实验验证和通过生物信息学方法预测得到的数据,共涉及 9 643 763 个蛋白,1 380 838 440 个相互作用。将“川芎-延胡索”药对活性成分作用的蛋白靶点导入 String 数据库,限定物种为人,获取蛋白相互作用关系,结果保存成 TSV 格式,导入 Cytoscape 3.6.0 统计软件绘制相互作用网络。首先对此蛋白互作网络进行总体分析,然后使用 Cytoscape 3.6.0 统计软件中的 cytohubba 插件确定最重要的 10 个蛋白互作关系,计算方法的选择最大团中心性 (Maximal Clique Centrality, MCC) [5]。

1.5 基因功能和信号通路分析 使用 DAVID 数据库,对“川芎-延胡索”药对作用靶点进行 GO 和 KEGG Pathways 分析,GO 分析中选择生物学过程 (Biological Process, BP)、分子功能 (Molecular Function, MF)、细胞组分 (Cellular Component, CC) 3 个内容。保存结果后,阈值设置为 Pvalue < 0.05, PDF < 0.05 进行筛选,并按照涉及的靶点数目多少进行排序,GO 分析结果用 GraphPad Prism 7.0 统计软件绘制条形图,KEGG Pathway,用 R 语言绘制气泡图。

## 2 结果

2.1 “川芎-延胡索”药对中活性成分的筛选 在 TCMSp 数据库中,以“川芎”“延胡索”为关键词分别进行查询,结果显示 (截止到 2018 年 10 月),与川芎有关的化学成分有 189 个,与延胡索有关的化学成分有 77 个。本研究根据化学成分的 ADME 性质,以口服生物利用度 (Oral Bioavailability, OB)  $\geq 30\%$  和类药性 (druglikeness, DL)  $\geq 0.18$  为条件对有关化合物进行筛选 [6],结果川芎得到 7 个,延胡索得到 49 个。为了确保结果的全面性及可靠性,再次通过文献查找川芎及延胡索有效化合物。文献记载川芎的化学成分包含苯酐及其二聚体、生物碱、有机酸、多糖以及脑苷脂和神经酰胺等成分 [7-8],其中藁本内酯 (ligustilide) 被认为是苯酐类化合物中主要的活性化合物,具有镇痛、抗炎等作用;阿魏酸 (Ferulic Acid) 是有机酚酸类代表化合物,在阿尔茨海默病、细胞凋亡、氧化应激等方面研究较多;川芎嗪 (tetramethylpyrazine) 属于生物碱,其研究主要集中在缺血再灌注损伤、细胞凋亡等领域 [9];因此,川芎有效化合物共计 10 个。查阅文献发现延胡索化学成分包含生物碱、淀粉、树脂、挥发油、多糖等,经 TCMSp 筛选后包括了经过验证有效成分,因此川芎-延胡索药对筛选后共得到 58 个 (含有一个共同成分) 活性成分。见表 1。

表 1 “川芎-延胡索”药对筛选后得到的 58 个活性成分

序号	分子编号	化合物名称	口服利用度 (%)	类药性
1	MOL004190	(-)-alpha-N-methylcanadine	45.06	0.8
2	MOL004210	(1S,8'R)-6,7-dimethoxy-2-methylspiro[3,4-dihydroisoquinoline-1,7'-6,8-dihydrocyclopenta[1,3]benzodioxole]-8'-ol	43.95	0.72
3	MOL002903	(R)-Canadine	55.37	0.77
4	MOL000217	(S)-Scoulerine	32.28	0.54
5	MOL004209	13-methyldehydrocorydalmine	35.94	0.63
6	MOL004216	13-methylpalmatrubine	40.97	0.63
7	MOL004198	18797-79-0	46.06	0.85
8	MOL004234	2,3,9,10-tetramethoxy-13-methyl-5,6-dihydroisoquinolino[2,1-b]isoquinolin-8-one	76.77	0.73
9	MOL004226	24240-05-9	53.75	0.83
10	MOL001454	berberine	36.86	0.78
11	MOL000791	bicuculline	69.67	0.88
12	MOL000793	C09367	47.54	0.69
13	MOL004191	Capaurine	62.91	0.69
14	MOL002670	Cavidine	35.64	0.81
15	MOL004193	Clarkeanidine	86.65	0.54

续表 1 “川芎-延胡索”药对筛选后得到的 58 个活性成分

序号	分子编号	化合物名称	口服利用度 (%)	类药性
16	MOL001458	coptisine	30.67	0.86
17	MOL004195	CORYDALINE	65.84	0.68
18	MOL004196	Corydalmine	52.5	0.59
19	MOL004197	Corydine	37.16	0.55
20	MOL004199	Corynoloxine	38.12	0.6
21	MOL001460	Cryptopin	78.74	0.72
22	MOL004202	dehydrocavidine	38.99	0.81
23	MOL004203	Dehydrocorybulbine	46.97	0.63
24	MOL004204	dehydrocorydaline	41.98	0.68
25	MOL004205	Dehydrocorydalmine	43.9	0.59
26	MOL004208	demethylcorydalmine	38.99	0.54
27	MOL001461	Dihydrochelythrine	32.73	0.81
28	MOL001463	Dihydrosanguinarine	59.31	0.86
29	MOL000433	FA	68.96	0.71
30	MOL000787	Fumarine	59.26	0.83
31	MOL004071	Hyndarin	73.94	0.64
32	MOL004214	isocorybulbine	40.18	0.66
33	MOL000790	Isocorypalmine	35.77	0.59
34	MOL004763	Izoteolin	39.53	0.51
35	MOL004215	leonticine	45.79	0.26
36	MOL001494	Mandenol	42	0.19
37	MOL004200	methyl-[2-(3,4,6,7-tetra-methoxy-1-phenanthryl) eth-yl] amine	61.15	0.44
38	MOL002135	Myricanone	40.6	0.51
39	MOL004220	N-methyllaurotetanine	41.62	0.56
40	MOL004221	norglaucing	30.35	0.56
41	MOL000785	palmatine	64.6	0.65
42	MOL002140	Perlolyrine	65.95	0.27
43	MOL004224	pontevedrine	30.28	0.71
44	MOL004225	pseudocoptisine	38.97	0.86
45	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
46	MOL001474	sanguinarine	37.81	0.86
47	MOL004228	saulatine	42.74	0.79
48	MOL002151	senkyunone	47.66	0.24
49	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
50	MOL004233	ST057701	31.87	0.56
51	MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76
52	MOL004230	stylopine	48.25	0.85
53	MOL004231	Tetrahydrocorysamine	34.17	0.86
54	MOL004232	tetrahydroprotopapaverine	57.28	0.33
55	MOL002157	wallichilide	42.31	0.71
56	MOL002122	ligustilide	53.72	0.07
57	MOL000360	Ferulic acid	39.56	0.06
58	MOL002202	tetramethylpyrazine	20.1	0.03

点,且具有交互关系的节点间用直线连接。一个节点的度值 (degree) 代表与该节点相连接的边的条数,度值的大小即代表着与对应节点的连接程度,亦即在网络中的关键度,图中节点的大小与度值相对应。此网络结构中包含了 277 个节点和 1 161 条边,277 个节点中包括 57 个化学成分和 220 个作用靶点。化学成分中延胡索 49 个,川芎 9 个 (senkyunone 在 TCMSp 数据库中无靶点蛋白因此未在图中显示),及 1 个共有成分 (sitosterol)。作用靶点中,延胡索有 167 个单独潜在作用靶点,川芎有 8 个单独潜在作用靶点,“川芎-延胡索”药对共有成分潜在作用靶点 3 个,非共有成分共同潜在作用靶点 42 个”。川芎-延胡索”药对每个活性成分平均作用于 20.37 (1 161/57) 个靶点,每个靶点平均接受 5.3 (1 161/220) 个药物作用,反映了药物和靶点多重互作的复杂网络关系。从图 1 可以看出, MOL000098 槲皮素 (quercetin) 拥有最多的潜在靶点 151 个,其次是 MOL000790 异紫堇杷明 (Isocorypalmine) 和 MOL000217 (S)-斯氏紫堇碱 [(S)-Scoulerine] 都有 36 个潜在靶点。这些靶点高的化合物可能在“川芎-延胡索”药对的药理功能中发挥着相对重要的作用。另外,在 220 个潜在靶标中,有 73 个靶点与 2 个及以上化合物分子相连接,说明同一个靶点也能同时接受多个化合物对其调控,同样呈现出中药多成分、多靶点、整合调节的作用特点。在所有靶点中, PTGS2 (前列腺素过氧化物合酶 2)、PTGS1 (前列腺素过氧化物合酶 1)、SCN5A (5 型钠通道  $\alpha$  亚基) 拥有最多的配体,分别为 48、44、44 个。

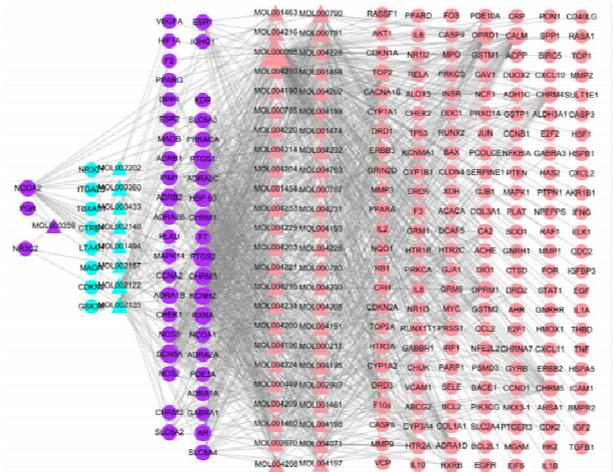


图 1 “川芎-延胡索”药对“活性成分-靶点”相互作用网络图

注:三角形代表活性成分,圆形代表作用靶点;蓝色代表川芎活性成分及靶点,红色代表延胡索活性成分及靶点,紫色代表二者共同活性成分及作用靶点,图中节点的大小代表与其他节点的连接程度

2.2 “活性成分-靶点”相互作用网络分析 使用

TCMSp 数据库查找“表 1”中活性成分的潜在靶点。通过 Cytoscape 3.6.0 统计软件绘制“川芎-延胡索”药对的“活性成分-靶点”相互作用网络图。见图 1。图中三角形代表活性成分,圆形代表作用靶点。蓝色代表川芎活性成分及靶点,红色代表延胡索活性成分及靶点,紫色代表二者共同活性成分及作用靶

2.3 “川芎-延胡索”药对蛋白相互作用网络构建与分析 蛋白互作网络结果详见图2,图中节点表示蛋白,边表示蛋白之间的关联,蓝色代表川芎相关靶点,红色代表延胡索相关靶点,紫色代表二者共同作用靶点,且图中节点的大小与其连接度成正比。图中共涉及212个节点,3762条边(其中F10a、GYRB、IGHG1、PRXC1A、TOP2、CDKN2未在数据库中找到,DIO1、DCAF与其他蛋白没有相互作用,这8个蛋白不在相互作用网络中体现)。使用cytohubba插件中MCC方法计算后,确定最重要的10个蛋白互作关系,结果如图3所示。

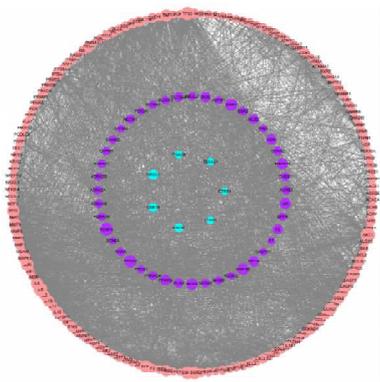


图2 蛋白互作网络

注:蓝色代表川芎相关靶点,红色代表延胡索相关靶点,紫色代表二者共同作用靶点,节点的大小与其连接度成正比

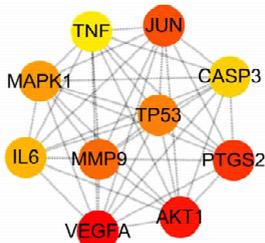


图3 10个最重要的蛋白互作关系

2.4 靶点的GO富集分析及信号通路分析 使用DAVID数据库,对相关靶点进行GO和KEGG pathway富集分析,阈值设置为Pvalue < 0.05, FDR < 0.05。通过GO分析发现,“川芎-延胡索”作用的靶点基因主要富集在412个BP、28种MF和20类CC中。图4~6分别列出了显著性较高的前10种。图4显示,药对的靶点主要富集在调控细胞增殖、有机物应答、细胞内信号级联、调控细胞凋亡、控细胞死亡、正向调控分子功能、正向调控催化活性、内源性刺激应答、伤害应答、激素刺激应答等;在分子功能方面见图5,主要富集在相同的蛋白结合、脂质结合、蛋白二聚活性、酶结合、序列特异性DNA结合、转录因子结合、胺结合、胺受体活性、药物结合、配体依赖性核受体活性等方面;在细胞组分中细胞膜、细

胞外区域、细胞质基质所占比例最大。见图6。

此外,KEEG分析共得到24条信号通路。见图7。图7中圆点的颜色与大小由相关联的基因数量和P值决定。通过图7分析可知“川芎-延胡索”药对主要涉及癌症信号通路、信号传导相关通路、免疫相关信号通路、细胞通讯相关通路及细胞生长和死亡相关通路。



图4 GO分析生物学过程

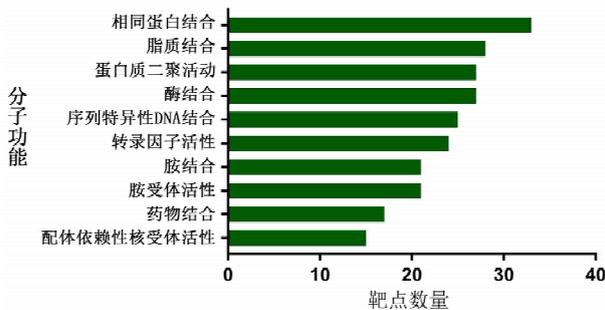


图5 GO分析分子功能

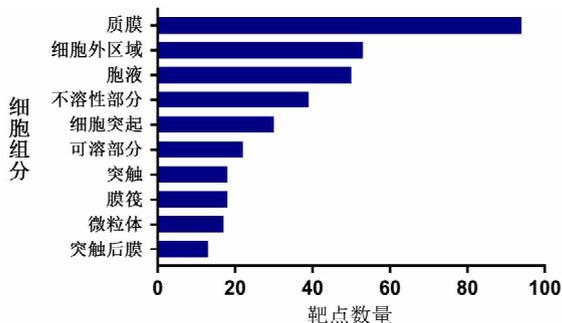


图6 GO分析细胞组分

### 3 讨论

中药具有多成分、多靶点、调节方式多样性的特点,以往单一成分或靶标的研究方法难以反映中药的系统性<sup>[10]</sup>,并且按照中医理论开具的中药处方可能不是简单的各自药效的叠加,还会产生复杂的协同或衰减作用<sup>[11]</sup>,网络药理学从相互连接的角度研究问题,并整合中药、蛋白、基因、疾病等多种数据库,采用生物信息学手段分析问题,探索药物作用机制,其整体性、系统性的特点与中药的特点不谋而合。川芎和延胡索是经典的临床搭配使用药物组合,尤其在妇科和骨科搭配使用,二者协同可起到活

血行气、散瘀止痛的功效,尤其在月经不调、痛经、跌打损伤、脊柱退行性相关疾病中使用广泛,如七制香附丸、杜仲壮骨丸、跌打损伤丸等成药或方剂中都含有这 2 种药物的搭配组合。本研究通过网络药理学相关理念和技术,从“川芎-延胡索”药对中筛选出 58 个活性成分,预测相应靶点 220 个。通过分析以这些活性成分和靶点构建的网络模型,发现连接度前 3 名的化合物为槲皮素 (quercetin)、异紫堇杷明 (Isocorypalmine)、(S)-金黄紫堇碱 [(S)-Scoulerine]。其中槲皮素作为属于一种天然的黄酮类化合物,在我们日常食物中来源非常丰富,大量研究表明具有广泛的药理学作用,如抗氧化、抗病毒、抗炎作用,在基础研究中可疗血管、呼吸、泌尿、代谢、骨骼及神经系统疾病等<sup>[12]</sup>。异紫堇杷明 (Isocorypalmine) 为一种较新发现的生物碱<sup>[13]</sup>,它与多巴胺 D1 受体有很高的亲和力 [ $K(i) = 83 \text{ nM}$ ]<sup>[14]</sup>,能作为 D1 部分激动剂和 D2 拮抗剂产生体内效应,可能是治疗可卡因成瘾的一种有前途的药物<sup>[15-16]</sup>。(S)-金黄紫堇碱属于异喹啉类生物碱,有研究表明,它对

NMDA 受体拮抗剂地卓西平马来酸盐 (MK-801) 诱发的精神分裂症的阳性症状、阴性症状以及认知障碍均有改善作用,而且在抗精神分裂症的有效剂量下并不引起木僵等锥体外系不良反应,提示金黄紫堇碱具有成为新型抗精神病药的潜力,值得进一步深入研究<sup>[17]</sup>。网络中连接度排名前三的靶点为 PTGS2、PTGS1 和 SCN5A。PTGS 中文名为前列腺素过氧化物合酶,又称环氧化酶,是前列腺素生物合成的关键酶,PTGS 有 2 种同工酶:一种是组成型 PTGS1,另一种是诱导型 PTGS2,其中靶点 PTGS2 被报道参与炎症反应、细胞凋亡<sup>[18]</sup>、癌症<sup>[19]</sup>等多种病理过程。PTGS1 蛋白可促进肿瘤进展过程中的细胞增殖,它的选择性剪接可导致多种转录变异<sup>[20]</sup>。SCN5A 是一个完整的膜蛋白和抗四环素电压门控钠通道亚基。这种蛋白主要存在于心肌中,负责心电图动作电位的初始上升。该基因缺陷是长 QT 综合征 3 型 (LQT3) 的病因之一,该基因还与心力衰竭有密切的关系<sup>[21]</sup>。上述活性成分和靶点可能在“川芎-延胡索”药对中发挥比较关键的作用。

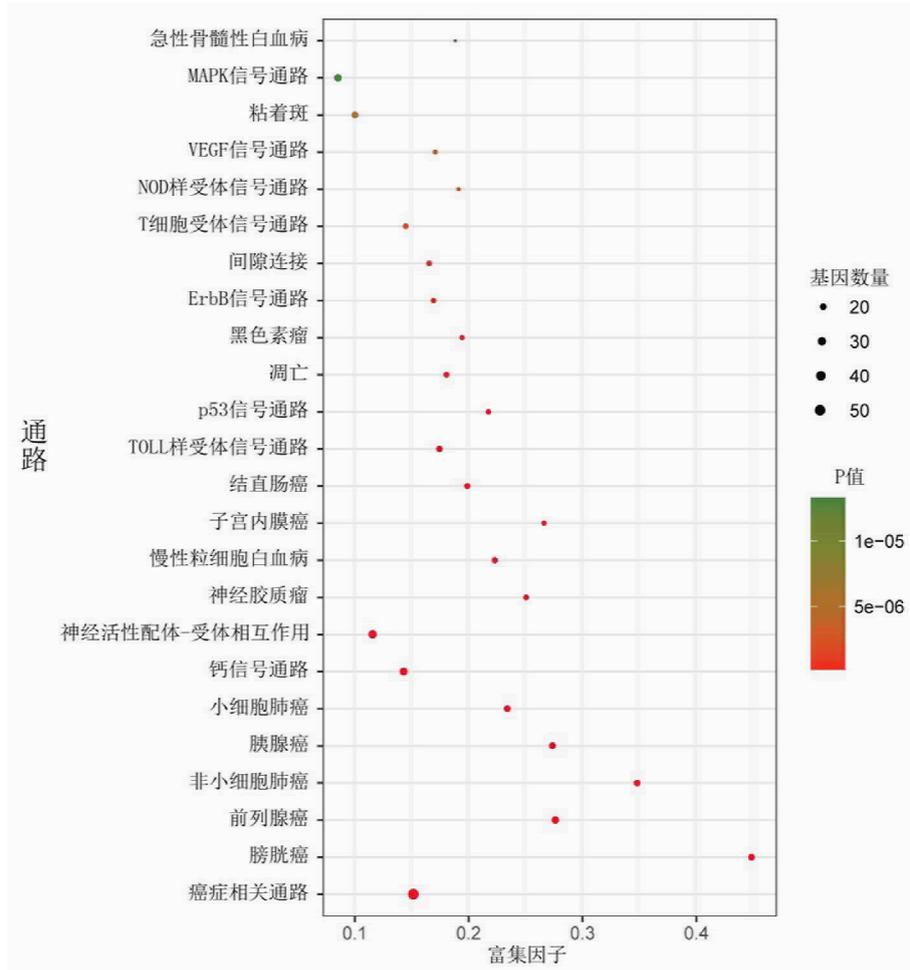


图7 “川芎-延胡索”药对靶点的KEGG通路富集

蛋白相互作用网络结果显示“川芎-延胡索”药对的靶点间存在着复杂的交互关系,而不是独立的发挥作用,网络中共有212个节点,3762条边,经过计算后发现 VEGFA、TP53、TNF、PTGS2、MMP9、MAPK1、JUN、IL6、CASP3、AKT1等可能是“川芎-延胡索”药对发挥作用的主要靶蛋白靶点。

通过GO富集分析可知,“川芎-延胡索”药对的靶基因主要富集在调控细胞增殖、有机物应答、细胞内信号级联、调调控细胞凋亡、控细胞死亡、正向调控分子功能、正向调控催化活性、内源性刺激应答、伤害应答、激素刺激应答等,这与文献报道较为吻合说明预测靶点的准确性,为进一步深入阐释“川芎-延胡索”药理作用机制提供依据。此外,“川芎-延胡索”药对富集较多的靶点还有调控传递神经冲动、突触传导、神经系统、循环系统等,这些相似的生物学过程可能是“川芎-延胡索”药对治疗痛经及脊柱相关疾病的有关因素,值得进一步的研究。

KEGG 通路分析筛选后共得到了24条信号通路,其中涉及癌症相关信号通路的共12条,分别是癌症相关通路、前列腺癌、胰腺癌、小细胞肺癌、膀胱癌、非小细胞肺癌、慢性粒细胞白血病、结直肠癌、神经胶质瘤、子宫内膜癌、黑色素瘤、急性骨髓性白血病。郭秀伟等报道川芎联合顺铂组可以通过抑制HIF-1 $\alpha$ 的表达从而抑制肺癌干细胞样细胞荷瘤裸鼠肿瘤组织的增殖和复发<sup>[22]</sup>。汝涛等发现川芎可以通过阻滞胰腺癌HS766T细胞G0/G1期,抑制细胞增殖并通过增加合成期细胞百分比促进细胞凋亡的产生,在体外产生抑制胰腺癌HS766T细胞的增殖的作用<sup>[23]</sup>。Xu D等<sup>[24]</sup>发现川芎嗪通过上调miR-211从而进一步调控PI3K/AKT和mTOR信号通路的激活,抑制成髓细胞瘤生长、迁移和侵袭。Gao JL等<sup>[25]</sup>研究发现延胡索和莪术组方可明显降低肿瘤活性。因此推断从中医活血化瘀方向研究肿瘤的治疗具有一定的前景。涉及信号传导相关的通路有5条,分别是神经活性配体-受体相互作用通路、钙离子信号通路、MAPK信号通路、ErbB信号通路、VEGF信号通路,这些信号通路参与细胞的增殖、分化、细胞运动、迁移等多种生物功能,还与神经信号传导、血管的生成有关。涉及免疫相关信号通路有3条分别是TOLL样受体信号通路、T细胞受体信号通路、NOD样受体信号通路,参与机体的免疫调节功能。涉及细胞通讯相关通路有2条分别是黏着斑通路、间隙连接通路。涉及细胞生长和死亡相关通路有2条分别是凋亡相关通路、p53信号通路。

综上所述,本研究以临床常用药对“川芎-延胡索”药对为研究对象,通过网络药理学相关理念和方法分析“川芎-延胡索”药对所含的有效成分、作用靶点、生物学过程及相关通路,并构建了化合物靶点网络及通路气泡图以解释二者的协同作用机制。研究表明此药对涉及多种信号通路和生物过程,体现了“多成分-多靶点-多途径”的作用特点,上述研究结果与文献报道基本一致,为进一步深入研究“川芎-延胡索”药理作用奠定基础。

#### 参考文献

- [1] Hong H, Feuers R, Tang K, et al. Drug Repositioning Through Network Pharmacology[J]. *Curr Top Med Chem*, 2016, 16(30):3646-3656.
- [2] Harrold JM, Ramanathan M, Mager DE. Network-based approaches in drug discovery and early development[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2013, 94(6):651-658.
- [3] Chen L, Cao Y, Zhang H, et al. Network pharmacology-based strategy for predicting active ingredients and potential targets of Yangxinshi tablet for treating heart failure[J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 219:359-368.
- [4] von MC, Jensen LJ, Snel B, et al. STRING: known and predicted protein-protein associations, integrated and transferred across organisms[J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(Database issue):D433-437.
- [5] Meghanathan N. Maximal clique size versus centrality: a correlation analysis for complex real-world network graphs[C]. *Proceedings of 3rd International Conference on Advanced Computing, Networking and Informatics*. Springer, New Delhi, 2016:95-101.
- [6] Li J, Zhao P, Li Y, et al. Systems pharmacology-based dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Bufeiyi Shisen as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Sci Rep*, 2015, 5:15290.
- [7] 韩伟. 川芎的化学成分与药理作用研究进展[J]. *中国现代中药*, 2017, 19(9):1341-1349.
- [8] Yang J, Feng XL, Yu Y, et al. Novel phthalide derivatives identified from *Ligusticum chuanxiong* (Chuanxiong)[J]. *Chin Med*, 2016, 11:10.
- [9] 李丹, 李彦文, 王俊文, 等. 基于文献计量分析川芎有效成分药理作用研究[J]. *世界中医药*, 2017, 12(5):1161-1165.
- [10] Westerhoff HV. Network-based pharmacology through systems biology[J]. *Drug Discov Today Technol*, 2015, 15:15-16.
- [11] Hopkins AL. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery[J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(11):682-690.
- [12] Obboh G, Ademosun AO, Ogunsuyi OB. Quercetin and Its Role in Chronic Diseases[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 929:377-387.
- [13] Jha RN, Pandey MB, Singh AK, et al. New alkaloids from *Corydalis* species[J]. *Nat Prod Res*, 2009, 23(3):250-255.
- [14] Ma ZZ, Xu W, Jensen NH, et al. Isoquinoline alkaloids isolated from *Corydalis yanhusuo* and their binding affinities at the dopamine D1 receptor[J]. *Molecules*, 2008, 13(9):2303-2312.

40 min,加入炙大黄继续煎煮 10 min,第 2 次则以 8 倍蒸馏水量继续煎煮 1 次。现代煎药机煎药水量为 10 倍药物重量浸泡 30 min,连续煎煮 2 次,每次煎煮时间为 60 min。

本研究中使用 HPLC 对不同制备方法的三黄汤进行指纹图谱的对比鉴别,从而对传统煎药和现代煎药机制备出的汤剂进行质量评价。其中三黄汤的药物组成包括炙大黄、黄芩、黄柏、甘草,故而三黄汤组方中的有效药物成分较多。若各有效成分不具有专属性,则在其他药物干扰的情况下,对后续其他药物的成分含量检测时,就会因为各个药物间有效成分的相互影响,使实验结果出现偏差<sup>[18-19]</sup>。故而在综合考量了 HPLC 的稳定性、重复性、精密性、回收率和线性考察的方法严谨性基础之上<sup>[20]</sup>,对 HPLC 的最佳色谱条件进行调试。本研究结果显示三黄汤的专属性良好,提示 HPLC 指纹图谱是一种具有灵敏性高、稳定性佳、重复性好、专属性强且十分简便的研究方法。

#### 参考文献

- [1] 沈铁军. 中药汤剂调剂的历史沿革和现代变革[J]. 中国药业, 2006,15(21):55-56.
- [2] 陆雪秋. 中医古代传统制剂文献研究[D]. 北京:中国中医科学院,2017.
- [3] 许立人. 与《告别中医中药》论者商榷[J]. 医学与哲学,2007,28(1):67-68.
- [4] 建宇,文娟. 江苏扬州市中医院开展中医中药基层行[J]. 中国中医药现代远程教育,2010,8(21):11.
- [5] 孟瑾,冯芳. 中药复方配伍机制研究现状[J]. 广州化工,2017,45(6):15-16.

- [6] 蒋秀娟,高希梅. 中药代煎与传统煎煮的研究现状[J]. 上海医药,2015,36(1):42-44,64.
- [7] 王东青,张亚丽. 浅议中药汤剂制备过程中存在的问题[J]. 国医论坛,2013,28(2):57-58.
- [8] 聂安政,高梅梅,朱春胜,等. 中药特殊煎法的探讨与思考(二):后下[J]. 中草药,2018,49(13):3153-3161.
- [9] 张文洲,姬海荣,孟淑芹,等. 不同煎药方法对中药药效产生的影响[J]. 中国医药指南,2018,16(11):10-11.
- [10] 于海杰. 不同煎药方法对中药药效的影响观察[J]. 中国医药指南,2016,14(6):218-219.
- [11] 翁建宁,姚春丽,程英. 自动煎药机与传统煎药方法的对比[J]. 陕西中医,2001,22(7):426.
- [12] 王永仁. 中药煎药机与传统煎药方法的效果比较[J]. 世界最新医学信息文摘,2017,17(80):176-177.
- [13] 李睿,翟华强,田伟兰,等. 基于煎药机参数分析的中药煎煮规范化思考[J]. 山东中医杂志,2016,35(9):826-828,832.
- [14] 盛家峰. 不同煎药方法对水溶性浸出物浸出率及药效的影响[J]. 临床医学,2017,37(8):119-120.
- [15] 钱爱军. 中药饮片煎煮时如何科学地把握加水量[J]. 内蒙古中医药,2014,33(26):123-124.
- [16] 王丽,麻秀萍. 不同功效中药吸水性对密闭煎药机加水量的影响[J]. 西部中医药,2014,31(5):19-21.
- [17] 蒲光华. 自动煎药机煎药与传统方法煎药质量评价[J]. 长江大学学报:自然科学版,2013,10(12):121-122.
- [18] 徐璐扬,李中东,刘庆丰,等. HPLC 测定三黄汤中 4 种成分含量[J]. 中国现代应用药学,2011,28(12):1135-1138.
- [19] 张铁军,王杰,陈常青,等. 基于中药属性和作用特点的中药质量标志物研究与质量评价路径[J]. 中草药,2017,48(6):1051-1060.
- [20] 于海云,王燕燕,郑光明. 高效液相色谱法测定胶囊中异维 A 酸含量及其均匀度[J]. 中国卫生检验杂志,2018,28(6):657-659. (2018-09-13 收稿 责任编辑:杨觉雄)

(上接第 2587 页)

- [15] Xu W, Wang Y, Ma Z, et al. L-isocorypalmine reduces behavioral sensitization and rewarding effects of cocaine in mice by acting on dopamine receptors[J]. Drug Alcohol Depend,2013,133(2):693-703.
- [16] Li Y, Zhang T, Huai J, et al. Metabolite profiling of l-isocorypalmine in rat urine, plasma, and feces after oral administration using high performance liquid chromatography coupled to Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry[J]. J Sep Sci,2019,42(2):619-627.
- [17] 高赞赞,米桂芸,刘帅,等. 左旋金黄紫堇碱抗精神分裂症作用研究[J]. 中国药理学通报,2016,32(1):103-108,109.
- [18] Yin J, Xia W, Li Y, et al. COX-2 mediates PM2.5-induced apoptosis and inflammation in vascular endothelial cells[J]. Am J Transl Res, 2017,9(9):3967-3976.
- [19] Solanki R, Agrawal N, Ansari M, et al. COX-2 Expression in Breast Carcinoma with Correlation to Clinicopathological Parameters[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2018,19(7):1971-1975.

- [20] Shamsudin KY, Kazemi M, Gutiérrez-de-Terán H, et al. Origin of the Enigmatic Stepwise Tight-Binding Inhibition of Cyclooxygenase-1 [J]. Biochemistry,2015,54(49):7283-7291.
- [21] Hooker JM, Strebl MG, Schroeder FA, et al. Imaging cardiac SCN5A using the novel F-18 radiotracer radiocaine[J]. Sci Rep,2017,7:42136.
- [21] 郭秀伟. 苏木、川芎对肺癌干细胞样细胞荷瘤小鼠模型原发和复发肿瘤的影响[D]. 北京:中国中医科学院,2017.
- [23] 汝涛,崔乃强,李强. 川芎提取物对胰腺癌 HS 766T 细胞体外增殖的影响[J]. 中国中西医结合外科杂志,2007,13(3):273-275.
- [24] Xu D, Chi G, Zhao C, et al. Ligustrazine Inhibits Growth, Migration and Invasion of Medulloblastoma Daoy Cells by Up-Regulation of miR-211[J]. Cell Physiol Biochem,2018,49(5):2012-2021.
- [25] Gao JL, He TC, Li YB, et al. A traditional Chinese medicine formulation consisting of Rhizoma Corydalis and Rhizoma Curcumae exerts synergistic anti-tumor activity[J]. Oncol Rep,2009,22(5):1077-1083.

(2019-05-07 收稿 责任编辑:王明)