DOI:10.16016/j.2097-0927.202209162

基于网络药理学及分子对接方法研究黄芪治疗血管性痴呆的机制

熊 瑞,赵 曼,张 浩,吴天碧,来小丹 400020 重庆,中国人民解放军陆军第九五八医院药剂科

[摘要] **目的** 利用网络药理学和分子对接方法研究黄芪治疗血管性痴呆(vascular dementia,VD)的机制。**方法** 利用 TCMSP 数据库搜集黄芪活性成分,根据各成分的 SMILES 式在 TargetNet 数据库预测各成分的靶点;在 GeneCards 数据库搜集 VD 靶点,求黄芪活性成分靶点与 VD 靶点的交集,得到黄芪治疗 VD 的潜在靶点,利用 Cytoscape 3.9.1 软件构建活性成分-靶点网络;将黄芪治疗 VD 的潜在靶点导入 STRING 数据库构建蛋白-蛋白交互作用(protein-protein interaction,PPI)网络,并分析获得核心靶点;将核心靶点导入 DAVID 数据库进行基因本体(Gene Ontology,GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes,KEGG)富集分析;利用 AutoDock 软件对黄芪主要活性成分与 VD 核心靶点进行分子对接。**结果** 共搜集到黄芪活性成分 20 个,包括华良姜素、异桔梗素、异黄酮烷、山奈酚和槲皮素等,得到预测靶点 102 个。收集并筛选得到 VD 靶点 3 556 个,得到黄芪与 VD 共同靶点 71 个,经 PPI 分析获得 36 个核心靶点,包括 SLC6A4、ESR1、PTGS2、ABCB1、AR 等。36 个核心靶点富集到 187 个 GO 条目和 32 条 KEGG 通路,主要集中于神经功能、激素信号和血管生成方面。分子对接显示黄芪主要活性成分与 VD 核心靶点具有良好亲和力。**结论** 黄芪可能主要通过调节神经功能、激素水平和血管生成治疗 VD。

[关键词] 网络药理学;分子对接;黄芪;血管性痴呆;分子机制
[中图法分类号] R282.71;R319;R749.16 [文献标志码] A

Mechanism of *Astragalus membranaceus* in treatment for vascular dementia based on network pharmacology and molecular docking

XIONG Rui, ZHAO Man, ZHANG Hao, WU Tianbi, LAI Xiaodan Department of Pharmacy, NO. 958 Hospital of PLA Army, Chongqing, 400020, China

[**Abstract**] Objective To investigate the mechanism of *Astragalus membranaceus* (AM) in the treatment of vascular dementia (VD) by network pharmacology and molecular docking. Methods The active components of AM were collected from TCMSP database, and the targets of active components were predicted in TargetNet database according to the SMILES. The VD targets were collected by GeneCards database, and the common targets of active components and VD was calculated to obtain the potential targets of AM in the treatment of VD. The active components-target network was constructed by Cytoscape 3.9.1 software. The potential targets of AM in the treatment of VD were imported into STRING database to construct protein-protein interaction (PPI) network, which was analyzed to obtain core targets. The core targets were imported into DAVID database to perform Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis. The molecular docking was performed to assess the affinity of main active components of AM and the corresponding VD core targets *via* AutoDock software. Results A total of 20 active components of AM were collected, including jaranol, isorhamnetin, isoflavanone, kaempferol and quercetin, and a total of 102 predicted targets were obtained. A total of 3 556 VD targets were screened, 71 common targets of AM and

[基金项目] 重庆市科卫联合中医药项目(2022MSXM187);陆军军医大学科技创新能力提升专项项目(2022XQN28)
[通信作者] 来小丹,E-mail:laixiaodan0926@sina.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

VD were calculated, and 36 core targets were obtained by PPI analysis, including SLC6A4, ESR1, PTGS2, ABCB1 and AR. A total of 187 GO items and 32 KEGG pathways were enriched, mainly focusing on neurological function, hormone signal and angiogenesis. Molecular docking showed good affinity between the main active components of AM and VD core targets. **Conclusion** AM treats VD mainly by regulating neurological function, hormone signal and angiogenesis.

[**Key words**] network pharmacology; molecular docking; *Astragalus membranaceus*; vascular dementia; molecular mechanism

Supported by the Joint Project of Traditional Chinese Medicine from Chongqing Science and Technology Commission and Chongqing Health Commission (2022MSXM187) and the Special Project of Scientific and Technological Innovation Capability Improvement of Army Medical University (2022XQN28).
Corresponding author: LAI Xiaodan, E-mail: laixiaodan0926@sina.com

血管性痴呆(vascular dementia,VD)是一种由脑血管病变引起的认知障碍性疾病,主要原因是缺血、缺氧或出血导致的脑组织损伤,是仅次于阿尔茨海默病(Alzheimer disease,AD)的第二大痴呆类型,约占全部痴呆病例数的20%[1]。现代医学一般认为VD发生过程为:脑血管危险因素引起脑血流量减少和脑梗死,导致脑血管内皮功能紊乱和神经胶质细胞活化,从而引发神经炎症、氧化应激、兴奋性神经毒性等病变,最终导致白质病变、突触损伤和脑萎缩等[2]。因此,积极控制血管危险因素如肥胖、高血压、糖尿病、高胆固醇血症和心血管疾病可显著降低卒中导致的VD发生[3]。目前临床常用于治疗AD的药物胆碱酯酶(acetylcholinesterase,ACHE)抑制剂(ACHE inhibitor,ACHEI)和N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartate,NMDA)受体拮抗剂也用于VD的治疗,可有效改善患者认知障碍,其他治疗VD的药物包括丁苯酞、脑活素、银杏叶提取物等,但其确切疗效还有待进一步证实[3-4]。中医上并无与VD相对应的病名,但清代医家叶天士在《临证指南医案》中有关于"中风后善忘"的论述,表明当时已有对VD的初步认识[5]。中医认为"痴呆"病因在于脏腑气血虚损,而"活血祛瘀"、"补肾益精"是其主要治法,"活血祛瘀"针对的"气虚血瘀"病症与现代医学中大脑低灌注压所致缺血缺氧引发VD的病理机制相契合[6-7]。

黄芪(*astragalus membranaceus*)作为中医临床中常用的补气药,其性微温,味甘,具有补气升阳、固表止汗功效,被誉为"补药之长",主要用于气虚、血虚等证[8]。有临床研究表明以黄芪为君药的黄芪桂枝五物汤、益气聪明汤和益肺宣肺降浊方可显著改善VD患者中医证候,并提高认知水平及日常生活能力,益肺宣肺降浊方联合多奈哌齐还可显著改善痰浊阻窍型VD患者神经炎症和氧化应激水平,提高血清超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)含量,降低丙二醛(malondialdehyde,MDA)、TNF-α和IL-18水平[9-11]。有临床研究表明黄芪可促进出血性卒中患者的大脑功能恢复,改善理解、表达和记忆功能[12]。动物研究表明黄芪多糖可改善VD大鼠学习记忆能力并促进海马CA1区受损神经元的恢复,黄芪总黄酮可抑制VD大鼠海马ROCK2表达和tau磷酸化,黄芪总皂苷可促进VD大鼠多巴胺和5-羟色胺(5-hydroxytryptamine,5-HT)等神经递质释放,控制氧化应激和神经细胞凋亡[13-15]。上述研究提示,黄芪对于VD具有良好的治疗潜能,但其机制研究尚不充分。网络药理学具有系统性和整体性的特点,近年来成为研究中药"多环节、多途径、多靶点"作用机制的有效方法。本研究通过网络药理学方法研究黄芪治疗VD的作用机制,为黄芪治疗VD作用机制的深入研究及临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 活性成分筛选及靶点预测

在TCMSP数据库(https://old.tcmsp-e.com/index.php)中以"黄芪"为关键词检索成分,对黄芪的所有成分按照口服生物利用度(oral bioavailability,OB)≥30%,类药性(drug likeness,DL)≥0.18的标准筛选出活性成分。在PubChem数据库(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)逐一搜索活性成分的Canonical SMILES,根据Canonical SMILES在TargetNet数据库(http://targetnet.scbdd.com)中预测该活性成分的靶点,获取Prob=1的基因,根据基因的Uniprot号在Uniprot数据库(https://www.uniprot.org)对所有基因名称进行标准化。

1.2 成分-靶点网络构建

在GeneCards数据库(https://www.genecards.org)以"vascular dementia"为关键词检索VD相关基因,获取Score≥1的全部基因。将黄芪活性成分靶点和VD靶点分别导入jvenn平台(http://jvenn.toulouse.inra.fr/app/example.html)获取二者的交集,得到黄芪活性成分治疗VD的潜在靶点。将黄芪活性成分与其治疗VD的潜在靶点对应关系导入Cytoscape3.9.1软件构建成分-靶点网络。

1.3 蛋白-蛋白交互(protein-protein interaction,PPI)网络构建

将黄芪活性成分治疗 VD 的潜在靶点导入 STRING 数据库(https://cn.string-db.org),选择 Organisms 为“Homo sapiens”,进行 PPI 分析,将 PPI 数据导入 Cytoscape3.9.1 软件绘制网络图并进行拓扑分析,筛选 Degree 值≥中位数的靶点作为核心靶点。

1.4 基因本体(Gene Ontology,GO)功能和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

将黄芪治疗 VD 的核心靶点导入 DAVID 数据库,选择物种为“Homo sapiens”,进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。GO 功能富集分析包括 3 个方面:细胞组分(cellular component,CC)、分子功能(molecular function,MF)和生物学过程(biologic proccess,BP),将 CC、MF、BP 基因富集率前 10 的条目绘成柱状图。将 KEGG 通路分析结果中 *P* 值最小的 20 条通路在 Omicshare 平台(https://www.omicshare.com)绘制成气泡图。

1.5 分子对接

根据 PPI 网络选择 Degree 值较高或与 VD 发生发展密切相关的靶点进行分子对接验证,因此在分子对接时补充 AHR 和 ACHE 两个靶点[16-18]。在 PubChem 数据库下载化合物 3D 结构的 SDF 格式文件,导入 Chem3D 软件进行能量最低化处理,导出为 PDB 格式备用;在 PDB 数据库下载靶蛋白的 3D 结构,靶蛋白导入 PyMol 软件去掉配体、水分子、磷酸基、金属离子和重复链,然后导出为 PDB 格式。将靶蛋白导入 AutoDock 软件加氢处理并导出为 PDBQT 文件,将配体导入 AutoDock 软件后设置可旋转键,导出为 PDBQT 文件;然后将配体和靶蛋白的 PDBQT 文件分别导入 AutoDock 软件进行分子对接,对接 10 次,结合能越低表示配体与靶蛋白结合越稳定。将结合能最低的对接结果导入 PyMol 软件绘图。

2 结果

2.1 黄芪活性成分及靶点

在 TCMSP 数据库中共搜到黄芪 87 个成分,按照 OB≥30%、DL≥0.18 的标准筛选后得到 20 个活性成分,其中黄酮类成分 4 个(HQ02、HQ05、HQ15、HQ20),分别为华良姜素、异桔梗素、山奈酚和槲皮素;异黄酮类成分 3 个(HQ12、HQ13、HQ14),分别为刺芒柄花素、异黄酮烷和毛蕊异黄酮;萜类成分 2 个(HQ01、HQ03),为白桦脂酸和常春藤素;甾体类成分 1 个(HQ04);其他类成分 10 个,其中 8 个成分具有异黄烷结构母核(HQ06、HQ07、HQ08、HQ09、HQ10、HQ17、HQ18、HQ19),另外 2 个不具有异黄烷结构母核的成分为联苯双酯(HQ11)、叶酸(HQ16),见表 1。通过每个成分的 SMILES 式在 TargetNet 中共搜到黄芪 20 个活性成分的 477 个靶点,剔除重复靶点后得到 102 个靶点。

表 1 黄芪活性成分(%)

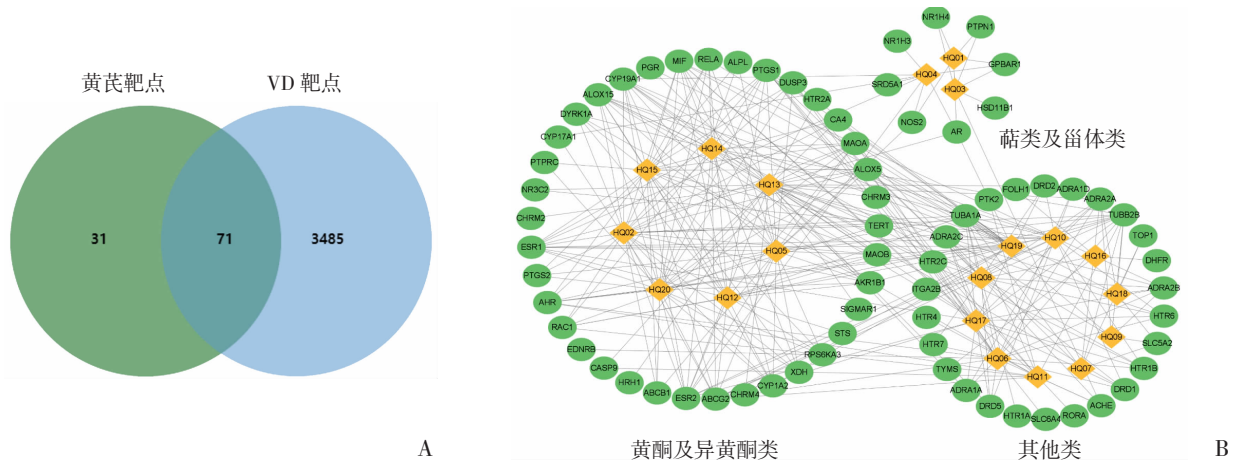
序号	Mol 编号	分子名称	OB	DL
HQ01	MOL000211	白桦脂酸	55.38	0.78
HQ02	MOL000239	华良姜素	50.83	0.29
HQ03	MOL000296	常春藤素	36.91	0.75
HQ04	MOL000033	(24S)-24-丙基胆甾烷-5-烯-3β-醇	36.23	0.78
HQ05	MOL000354	异桔梗素	49.60	0.31
HQ06	MOL000371	3,9-二-O-黄芪紫檀烷	53.74	0.48
HQ07	MOL000374	5′-羟基异微凸剑叶莎醇-2′,5-二-O-葡萄糖苷	41.72	0.69
HQ08	MOL000378	7-O-甲基-异微凸剑叶莎醇	74.69	0.30
HQ09	MOL000379	9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷	36.74	0.92
HQ10	MOL000380	黄芪紫檀烷	64.26	0.42
HQ11	MOL000387	联苯双酯	31.10	0.67
HQ12	MOL000392	刺芒柄花素	69.67	0.21
HQ13	MOL000398	异黄酮烷	109.99	0.30
HQ14	MOL000417	毛蕊异黄酮	47.75	0.24
HQ15	MOL000422	山奈酚	41.88	0.24
HQ16	MOL000433	叶酸	68.96	0.71
HQ17	MOL000438	(3R)-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)苯并吡喃-7-醇	67.67	0.26
HQ18	MOL000439	黄芪异黄烷-7,2′-二-O-葡萄糖苷	49.28	0.62
HQ19	MOL000442	1,7-二羟基-3,9-二甲氧基紫檀烯	39.05	0.48
HQ20	MOL000098	槲皮素	46.43	0.28

2.2　成分-靶点网络

在 GeneCards 共查到 VD 相关靶点 4 625 个,筛选出 Score≥1 的靶点 3 556 个,得到与黄芪的交集靶点 71 个(图 1A),即为黄芪治疗 VD 的潜在靶点。将黄芪活性成分与潜在靶点对应关系导入 Cytoscape3.9.1 软件,并将黄芪活性成分按化学结构分为 3 类,构建成分-靶点网络图(图 1B),最终得到包含 91 个节点(包括 20 个活性成分节点和 71 个靶点节点)和 317 条边(表示 317 个对应关系)的成分-靶点网络。从成分-靶点网络可见 HQ02、HQ05、HQ13、HQ15、HQ20 的 Degree 值较高,分别为华良姜素、异桔梗素、异黄酮烷、山奈酚和槲皮素。

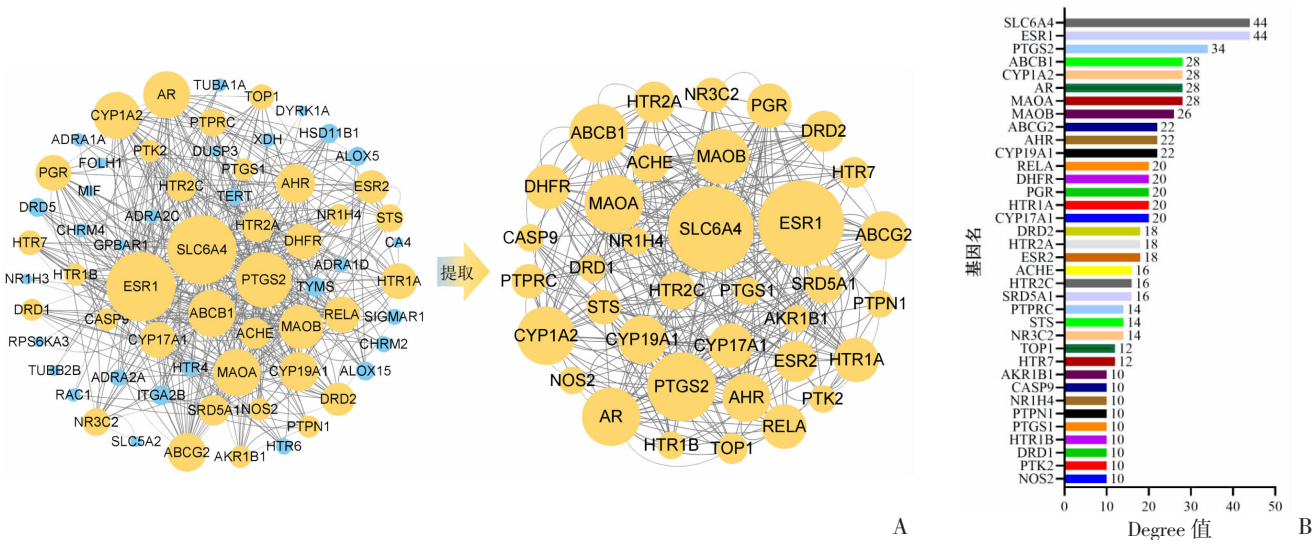
2.3　PPI 网络

将黄芪治疗 VD 的 71 个潜在靶点导入 STRING 数据库,进行 PPI 分析,将 PPI 数据导入 Cytoscape3.9.1 软件构建 PPI 网络图,靶点的 Degree 值越大对应节点的面积越大。结果得到含 65 个节点和 408 条边的 PPI 网络,另外 6 个节点与其他节点无交互关系(图 2A)。根据靶点 Degree 值高低排序,将 Degree 值≥中位数的靶点作为黄芪治疗 VD 的核心靶点(黄色节点,图 2A),筛选得到核心靶点 36 个,拥有 286 条边,Degree 值较高的靶点有溶质载体家族 6 成员 4(solute carrier family 6 member 4,SLC6A4)、雌激素受体 1(estrogen receptor 1,ESR1)、前列腺素内过氧化物酶(prostaglandin-endoperoxide synthase, PTGS2)、雄激素受体(androgen receptor,AR)、单胺氧化酶 A(monoamine oxidase A,MAOA)、ABCB1、CYP1A2、芳烃受体(aryl hydrocarbon receptor,AHR)等,见图 2B。



A:黄芪活性成分与 VD 靶点的 Venn 图;B:黄芪活性成分-VD 靶点网络图

图 1　黄芪治疗 VD 的成分-靶点网络

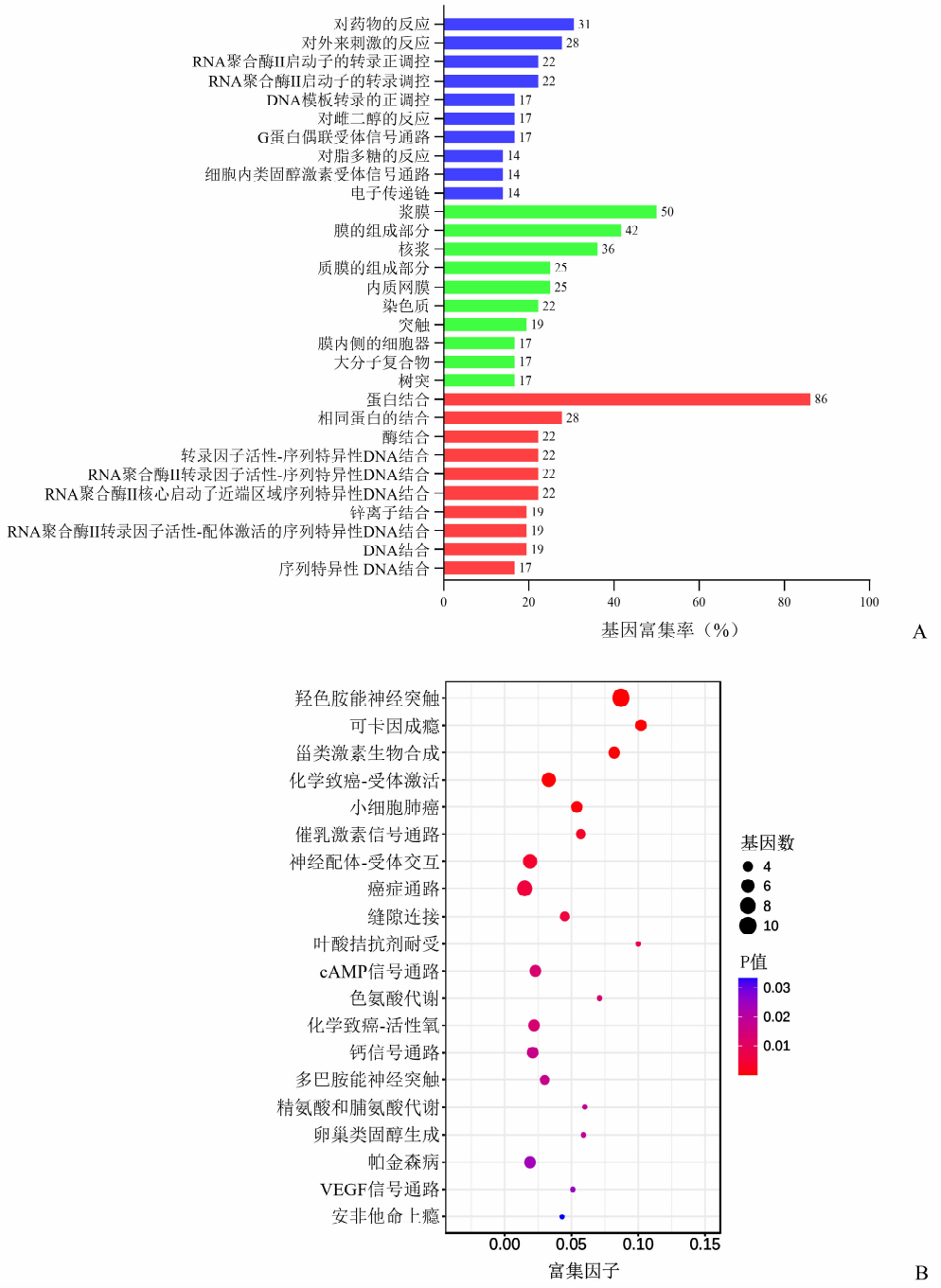


A:黄芪治疗 VD 的核心靶点筛选过程;B: 黄芪治疗 VD 的核心靶点及对应 Degree 值

图 2　黄芪治疗 VD 的核心靶点及筛选过程

2.4 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

将黄芪治疗 VD 的 36 个核心靶点导入 DAVID 数据库进行分析,共得到 187 个 GO 条目,其中 CC 条目 23 条,主要包括胞浆膜、膜的组成部分、核浆、内质网膜、染色质等;MF 条目 55 条,主要为蛋白质结合、相同蛋白结合、酶结合、特异性 DNA 序列结合、RNA 聚合酶 II 核心启动子近端区域特异性 DNA 序列结合等;BP 条目 109 条,主要包括对药物的反应、对外来生物刺激的反应、RNA 聚合酶 II 启动子转录调控、DNA 模板转录调控、G 蛋白偶联受体信号通路等。CC、MF、BP 条目中基因富集率前 10 的条目见图 3A。KEGG 通路富集结果显示,共富集到 32 条通路,其中 $P<0.05$ 的有 24 条,主要为羟色胺能突触、可卡因成瘾、甾类激素生物合成、化学致癌-受体激活、小细胞肺癌等通路,P 值最小的 20 条通路见图 3B。



A: GO 功能富集分析;B: KEGG 通路富集分析

图 3 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

2.5 分子对接

为初步验证黄芪活性成分与 VD 相关靶点的亲和力,本研究选择了 PPI 网络中 Degree 值≥28 的靶点 SLC6A4、ESR1、PTGS2、ABCB1(编码 P-gp 蛋白)、CYP1A2、AR、MAOA 和补充靶点 AHR、ACHE 进行分子对接。根据图 1B 中靶点与成分对应关系研究上述靶点与相应成分的亲和力。结果表明黄芪活性成分与上述靶点具有良好亲和力,各靶点与相应成分的结合能如图 4 所示,颜色越深表示结合能越低,活性成分与靶点亲和力越强,没有标注结合能的白色区域表示没有预测到该成分与对应靶点的作用关系,所以未进行分子对接。各靶点与其亲和力最强的活性成分对接的 3D 模式图见图 5,其中 3,9-二-O-黄芪紫檀烷(HQ06)与 SLC6A4 之间的结合形式属于范德华力,其他结合方式为氢键。

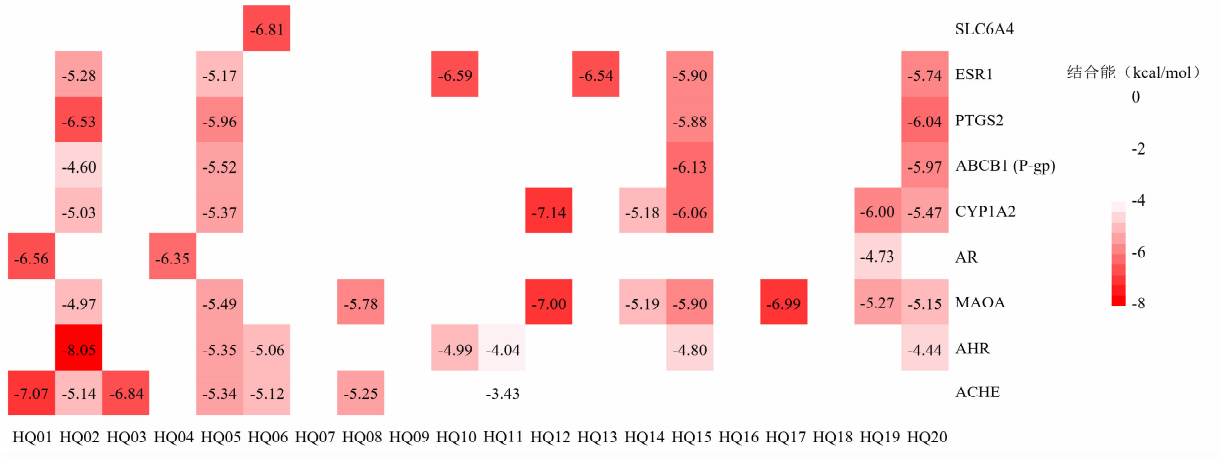


图 4 部分 VD 核心靶点与相应活性成分分子对接结合能

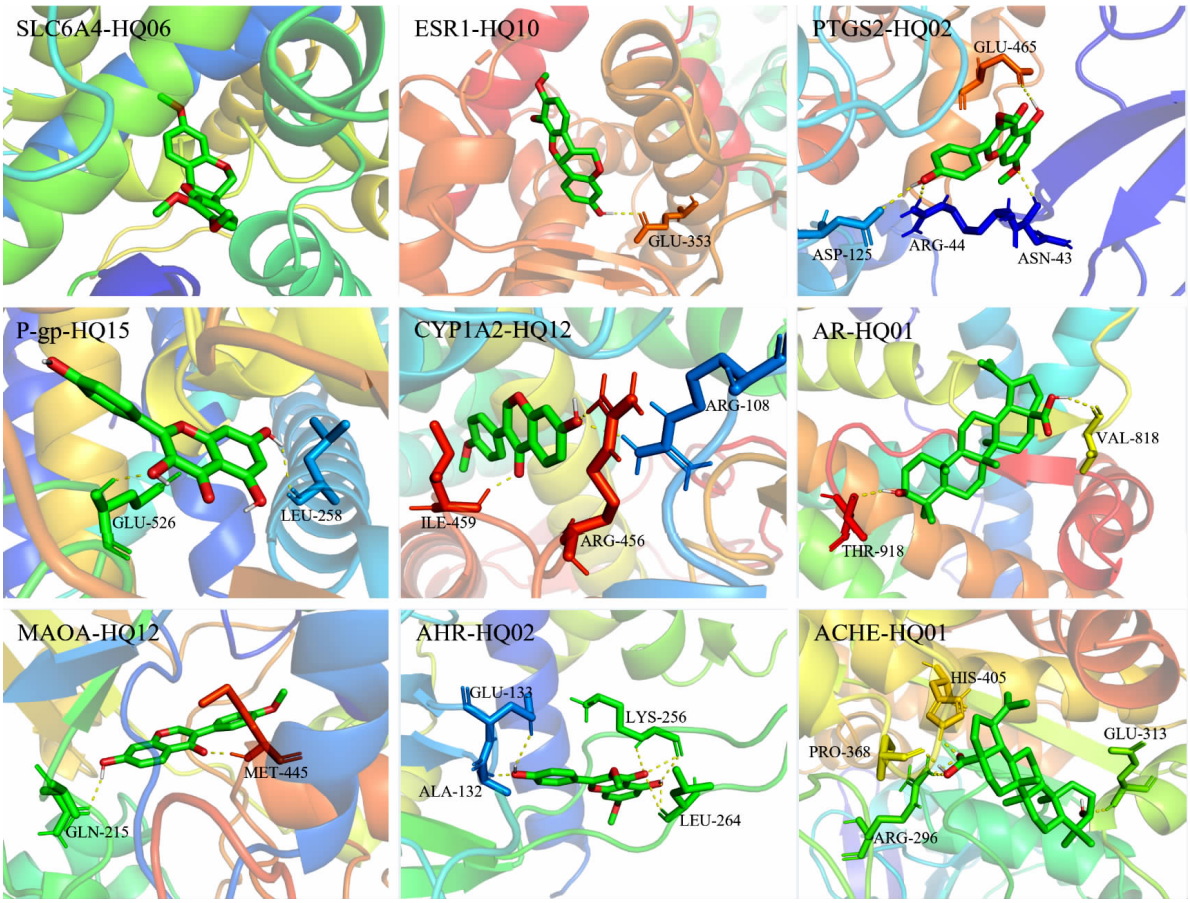


图 5 部分 VD 核心靶点与相应活性成分分子对接 3D 模式图

3 讨论

3.1 黄芪治疗 VD 的中医药理论及现代科学依据

VD 是一种区别于 AD 的认知障碍性疾病,主要病因为脑血管病变导致大脑认知功能区域低灌注或脑出血,引起炎症和氧化损伤,从而导致中枢神经系统损伤、认知功能障碍[1,19]。中医学上并无与 VD 相对应的病名,而是与 AD 一起归属于“痴呆”“健忘”的范畴,但“痴呆”的辨证可分为肾虚精亏、气虚血瘀、肝肾阴虚、心脾两虚、痰蒙清窍等型[5]。《灵枢·天年》认为气机阻滞,浊邪、水液停聚,上扰清窍是“痴呆”的重要病因;《灵枢·本神》载有“气机瘀滞,则痰浊壅塞,蒙蔽清窍”和“气血逆乱,上冲于脑”;《千金翼方》有言“年五十以上,阳气日衰……心力渐退,忘前失后”,可见“气”的紊乱是“痴呆”的重要原因[5,7]。中医理论认为气能生血、行血,气是血液运行的动力,气不足或不畅则直接导致血流不畅,这符合现代医学大脑低灌注导致脑组织缺血缺氧从而引发 VD 的病理理论,可见,“气”对于 VD 的发生至关重要,而“补气、行气”为治疗 VD 的有效途径。

黄芪作为中医临床最常用的中药之一,具有补气升阳、生津养血、行滞通痹的功效,有临床研究表明以黄芪为君药的中药复方如黄芪桂枝五物汤、益气聪明汤、益肺宣肺降浊方、补阳还五汤、醒脑汤用于治疗 VD 具有显著疗效[9-11,19-21]。现代研究表明黄芪主要活性成分为多糖类、黄酮类和皂苷类,具有抗炎、抗氧化、免疫调节、神经保护和抗肿瘤等多种活性[8,13-15,22]。本研究从 TCMSP 数据库筛选到黄芪 20 个主要活性成分,其中有 7 个成分为黄酮或异黄酮类,8 个具有异黄烷母核结构,可见黄酮类成分及其衍生物为黄芪发挥生物活性的主要成分。而 7 个黄酮和异黄酮类成分与黄芪治疗 VD 的 71 个潜在靶点之间共有 159 个对应关系,涉及到 50 个靶点,占全部潜在靶点的 70%,表明黄酮和异黄酮类成分是黄芪治疗 VD 的主要活性成分,而黄酮类成分对 VD 的治疗潜能已经得到体内外研究的证实[14,19,23]。成分-靶点网络显示比较关键的活性成分为异黄酮烷、华良姜素、异桔梗素、山奈酚和槲皮素。以异黄酮烷为结构母核的化合物具有抗菌、抗炎、抗氧化等多种生物活性[24]。研究发现华良姜素有良好的抗菌、抗炎、抗氧化的效果,还可抑制 SARS-CoV-2 复制,并且小鼠长期口服华良姜素具有良好的安全性[25]。槲皮素可通过抑制海马神经元电压依赖性钠通道改善慢性脑缺血大鼠认知障碍,还可通过改善大脑血管内皮细胞和小胶质细胞的功能进而改善 VD 的认知障碍[26-27]。异桔梗素具有显著的抗氧化、抗炎效果,可通过 Akt/SIRT1/Nrf2/HO-1 通路缓解高糖诱导的 HT22 海马神经元炎症反应和凋亡,还可降低链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠的氧化应激、炎症和细胞凋亡水平,从而发挥神经保护作用[28-29]。山奈酚可激活 Nrf2/HO-1 通路减弱血管氧化应激和炎症损伤,并与 VEGF 结合增强内皮细胞的血管生成功能[30],还可调节 NF-κB 通路减弱神经炎症和血脑屏障功能紊乱从而改善缺血再灌注大鼠的神经损伤[31]。

3.2 黄芪治疗 VD 的多重分子机制

PPI 网络分析表明黄芪治疗 VD 的 71 个潜在靶点中有 65 个靶点存在交互关系,其中 ESR1、AR、SLC6A4、MAOA、PTGS2、ABCB1、AHR、AHCE 已被文献广泛报道与 VD 有较强相关性。ESR 在神经元和神经胶质细胞中均有分布,雌激素及 ESR 信号在大脑中参与葡萄糖转运、糖原合成、线粒体能量代谢、氧化应激等多种生物学过程,而这些过程与 VD 发生发展具有密切联系[32-33]。雄激素及 AR 相关信号在 VD 发生中也有重要作用,研究发现低雄激素水平与男性高血压、糖尿病、高血脂密切相关,显著增加 VD 的发生风险[34]。SLC6A4 可编码 5-HT 转运蛋白(5-HT transporter,5-HTT),5-HT 作为一种重要的神经递质,其水平高低对于情绪、认知具有重要影响,而 5-HT 水平受到 5-HTT 的调控[35]。MAOA 可调节 5-HT 和多巴胺等神经递质水平,在神经精神类疾病中具有重要作用[36]。PTGS2 是一种正常组织内维持稳态和炎症调节的重要调节基因,可调节 NF-κB 通路抑制血管内皮祖细胞凋亡,促进其增殖、迁移和血管新生[37]。ABCB1 基因编码 P-gp 是导致耐药的重要因素,有研究发现 ABCB1 基因多态性可影响阿司匹林和氯吡格雷在体内的抗缺血性卒中的效果[38-39]。AHR 是调节脂质代谢和血管内稳态的重要基因,AHR 的缺失可改善 eNOS/NO 通路减轻血脂异常和血管功能障碍[16-17]。ACHE 对神经递质乙酰胆碱水平具有重要调节作用,目前临床用于治疗 AD 的 ACHEI 多奈哌齐也被广泛用于改善 VD 患者认知功能障碍[3]。可见,上述基因主要通过影响脑血管、性激素信号和神经功能从而影响 VD 发生发展。

GO 富集分析结果表明,黄芪治疗 VD 的核心靶点主要表达于细胞膜和核浆中,通过与 DNA 结合、与蛋白结合调控靶基因的转录和表达,从而调控细胞对药物的反应、对外来刺激的反应、RNA 聚合酶转录等生物学过程。KEGG 通路富集结果显示黄芪治疗 VD 可能与羟色胺能神经突触、甾类激素生物合成、神经配体-受体交互、缝隙连接、cAMP 通路、钙信号通路、多巴胺能神经突触、VEGF 通路相关,而这些通路主要集

中于神经、激素、血管方面。5-HT 和多巴胺是重要的神经递质,其在突触间隙的水平直接影响神经功能[40]。钙信号通路主要调控钙离子在细胞内外的运输,对于血小板聚集、血管收缩、痛觉传导过程具有重要调节作用[41]。性激素,尤其是雌激素水平的改变可直接影响神经细胞及其血液供应,因此与女性 VD 发生密切相关[42-43]。cAMP 通路主要以激素为信号分子调控能量代谢,从而影响 VD 发生发展[44]。缝隙连接和 VEGF 通路在 VD 发生中主要与血管生成及其正常功能维持相关,有研究发现连接蛋白 43(connexin43)可激活慢性脑低灌注压小鼠 HIF-1α/VEGF 通路促进血管新生[45]。因此,黄芪主要通过上述通路调节神经功能、激素水平和血管生成发挥治疗 VD 的效果。为进一步研究黄芪主要活性成分与 VD 相关靶点的亲和力,本文通过分子对接技术研究了黄芪活性成分与部分 VD 相关靶蛋白 P-gp、ESR1、AHR、SLC6A4、PTGS2、CYP1A2、AR、MAOA、ACHE 之间的结合情况,结果表明黄芪活性成分与相应靶点之间具有良好亲和力。

综上所述,本研究通过网络药理学方法研究了黄芪治疗 VD 的主要活性成分、核心靶点和密切相关的信号通路,并通过分子对接技术初步验证了黄芪部分成分与 VD 相关靶点的亲和力。本研究在一定程度上揭示了黄芪治疗 VD 的关键活性成分和分子机制,为黄芪治疗 VD 的研究和临床应用提供了一定的依据。

参考文献:

[1] MOON W, HAN J W, BAE J B, *et al*. Disease burdens of Alzheimer's disease, vascular dementia, and mild cognitive impairment[J]. J Am Med Dir Assoc, 2021, 22(10): 2093-2099.e3. DOI: 10.1016/j.jamda.2021.05.040.

[2] 张喜武, 刘安然, 窦金金. 基于中西医结合的血管性痴呆发病机制及治疗的研究进展[J/OL]. 中国实验方剂学杂志, 1-15[2023-01-10]. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20221707.
ZHANG X W, LIU A R, DOU J J. Research progress on pathogenesis and treatment of vascular dementia based on integrated traditional Chinese and Western medicine[J/OL]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 1-15[2023-01-10]. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20221707.

[3] YANG Q, LIU J, HUANG K L, *et al*. A systematic review of the efficacy of donepezil hydrochloride combined with nimodipine on treating vascular dementia[J]. Medicine (Baltimore), 2022, 101(31): e29307. DOI: 10.1097/MD.0000000000029307.

[4] 中国医师协会神经内科分会认知障碍专业委员会,《中国血管性认知障碍诊治指南》编写组. 2019 年中国血管性认知障碍诊治指南[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(35): 2737-2744. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.35.005.
Cognitive Disorders Professional Committee of Neurology Branch of Chinese Medical Doctor Association, Compilation Group of *Chinese Guidelines for Diagnosis and Treatment of Vascular Cognitive Disorders*. Guidelines for diagnosis and treatment of vascular cognitive impairment in China in 2019[J]. Natl Med J China, 2019, 99(35): 2737-2744. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.35.005.

[5] 王飞雪, 黄小波, 裴卉, 等. 血管性痴呆中医病机理论的传承和发扬[J]. 世界中医药, 2022, 17(2): 221-224, 228. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2022.02.013.
WANG F X, HUANG X B, PEI H, *et al*. Inheritance and development of pathogenesis theory of vascular dementia in traditional Chinese medicine[J]. World Chin Med, 2022, 17(2): 221-224, 228. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2022.02.013.

[6] 陈静, 陈炜, 伍媛, 等. 中药有效成分多靶点调控治疗血管性痴呆的研究进展[J]. 广西医学, 2019, 41(18): 2363-2365. DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2019.18.20.
CHEN J, CHEN W, WU Y, *et al*. Research progress of multi-target regulation of effective components of traditional Chinese medicine in the treatment of vascular dementia[J]. Guangxi Med J, 2019, 41(18): 2363-2365. DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2019.18.20.

[7] 周娇娇, 张青萍, 吴成挺, 等. 中医药调控相关信号通路治疗血管性痴呆的研究概述[J]. 中医药学报, 2022, 50(6): 116-120. DOI: 10.19664/j.cnki.1002-2392.220144.
ZHOU J J, ZHANG Q P, WU C T, *et al*. Overview of research on regulating related signal pathways of traditional Chinese medicine in treating vascular dementia[J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2022, 50(6): 116-120. DOI: 10.19664/j.cnki.1002-2392.220144.

[8] 马艳春, 胡建辉, 吴文轩, 等. 黄芪化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 2022, 50(4): 92-95. DOI: 10.19664/j.cnki.1002-2392.220092.
MA Y C, HU J H, WU W X, *et al*. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of Radix astragali[J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2022, 50(4): 92-95. DOI: 10.19664/j.cnki.1002-2392.220092.

[9] 张文涛, 崔应麟. 黄芪桂枝五物汤加减辅治老年血管性痴呆疗效观察[J]. 实用中医药杂志, 2022, 38(2): 242-244.
ZHANG W T, CUI Y L. Observation on the therapeutic effect of Huangqi Guizhi Wuwu Decoction on senile vascular-dementia[J]. J Pract Tradit Chin Med, 2022, 38(2): 242-244.

[10] 孙明竹. 加味益气聪明汤治疗血管性痴呆的临床研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2020.

SUN M Z. Clinical research on the treatment of vascular dementia with modified Yiqicongming decoction[D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2020.

[11] 黄晓丹. 益肺宣肺降浊方联合多奈哌齐治疗痰浊阻窍型血管性痴呆的临床研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2019.
HUANG X D. The clinical study of Yifei Xuanfei Jiangzhu recipe combined with donepezil in the treatment of turbid and obstructive vascular dementia [D]. Nanning: Guangxi University of Chinese Medicine, 2019.

[12] CHEN C C, LEE H C, CHANG J H, *et al*. Chinese herb *Astragalus membranaceus* enhances recovery of hemorrhagic stroke: double-blind, placebo-controlled, randomized study [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012, 2012: 708452. DOI: 10.1155/2012/708452.

[13] 赵亚鑫, 董婉婷. 黄芪多糖对血管性痴呆大鼠空间记忆和海马 NMDAR1 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(11): 2722-2724. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2016.11.046.
ZHAO Y X, DONG W T. Effect of *Astragalus* polysaccharide on spatial memory and hippocampal NMDAR1 expression in rats with vascular dementia[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2016, 34(11): 2722-2724. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2016.11.046.

[14] 陈攻, 江增宏. 黄芪总黄酮对血管性痴呆模型大鼠学习记忆损伤的干预作用[J]. 包头医学院学报, 2022, 38(7): 18-23. DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2022.07.005.
CHEN G, JIANG Z H. Effect of total flavonoids of *Astragalus* on learning and memory impairment in vascular dementia rats[J]. J Baotou Med Coll, 2022, 38(7): 18-23. DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2022.07.005.

[15] 张娟利, 刘清, 王菲. 黄芪总皂苷改善血管性痴呆大鼠的认知功能[J]. 神经损伤与功能重建, 2022, 17(5): 281-284. DOI: 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20201291.
ZHANG J L, LIU Q, WANG F. Astragaloside improves cognitive function of vascular dementia rats[J]. Neural Inj Funct Reconstr, 2022, 17(5): 281-284. DOI: 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20201291.

[16] DA SILVA J F, BOLSONI J A, DA COSTA R M, *et al*. Aryl hydrocarbon receptor (AhR) activation contributes to high-fat diet-induced vascular dysfunction [J]. Br J Pharmacol, 2022, 179(12): 2938-2952. DOI: 10.1111/bph.15789.

[17] REN R, LU Q, SHERCHAN P, *et al*. Inhibition of aryl hydrocarbon receptor attenuates hyperglycemia-induced hematoma expansion in an intracerebral hemorrhage mouse model[J]. J Am Heart Assoc, 2021, 10(20): e022701. DOI: 10.1161/JAHA.121.022701.

[18] KANDIAH N, PAI M C, SENANARONG V, *et al*. Rivastigmine: the advantages of dual inhibition of acetylcholinesterase and butyryl cholinesterase and its role in subcortical vascular dementia and Parkinson's disease dementia[J]. Clin Interv Aging, 2017, 12: 697-707. DOI: 10.2147/CIA.S129145.

[19] BHATIA P, SINGH N. Tadalafil ameliorates memory deficits, oxidative stress, endothelial dysfunction and neuropathological changes in rat model of hyperhomocysteinemia induced vascular dementia[J]. Int J Neurosci, 2022, 132(4): 384-396. DOI: 10.1080/00207454.2020.1817009.

[20] 王峥, 林琳. 补阳还五汤联合西药治疗缺血性脑卒中后血管性痴呆疗效及对血清炎症因子、氧化应激指标和血管内皮活性物质的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2022, 31(4): 469-473, 490.
WANG Z, LIN L. Efficacy of Buyang Huanwu decoction combined with western medicine in the treatment of vascular dementia after ischemic stroke and its effect on serum inflammatory factors, oxidative stress indexes and vascular endothelial active substances[J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2022, 31(4): 469-473, 490.

[21] 王尊钙, 温小芬. 醒脑汤治疗血管性痴呆临床观察[J]. 中国中医急症, 2011, 20(1): 47-49. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2011.01.023.
WANG Z G, WEN X F. Clinical observation of Xingnao Decoction in treating vascular dementia[J]. J Emerg Tradit Chin Med, 2011, 20(1): 47-49. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2011.01.023.

[22] LIU P, ZHAO H P, LUO Y M. *Astragalus* membranaceus anti-aging implications of (Huangqi): a well-known Chinese tonic[J]. Aging Dis, 2017, 8(6), 868-886. DOI: 10.14336/AD.2017.0816.

[23] LIU MM, SHAN G Z, JIANG H L, *et al*. Identification of miRNA and their regulatory effects induced by total flavonoids from dracocephalum moldavica in the treatment of vascular dementia [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 796628. DOI: 10.3389/fphar.2021.796628.

[24] WEN R, LV H N, JIANG Y, *et al*. Anti-inflammatory isoflavones and isoflavanones from the roots of Pongamia pinnata (L.)Pierre[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2018, 28(6): 1050-1055. DOI: 10.1016/j.bmcl.2018.02.026.

[25] LIU T L, ZHANG Y, LIU J, *et al*. Evaluation of the acute and sub-acute oral toxicity of jaranol in Kunming mice[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 903232. DOI: 10.3389/fphar.2022.903232.

[26] TAN Z H, YANG G, QIU J, *et al*. Quercetin alleviates demyelination through regulating microglial phenotype transformation to mitigate neuropsychiatric symptoms in mice with vascular dementia[J]. Mol Neurobiol, 2022, 59(5):

3140-3158. DOI: 10.1007/s12035-021-02712-3.

[27] YAO Y, HAN D D, ZHANG T, *et al*. Quercetin improves cognitive deficits in rats with chronic cerebral ischemia and inhibits voltage-dependent sodium channels in hippocampal CA1 pyramidal neurons[J]. Phytother Res, 2010, 24(1): 136-140. DOI: 10.1002/ptr.2902.

[28] JAMALI-RAEUFY N, BALUCHNEJADMOJARAD T, ROGHANI M, *et al*. Isorhamnetin exerts neuroprotective effects in STZ-induced diabetic rats *via* attenuation of oxidative stress, inflammation andapoptosis[J]. J Chem Neuroanat, 2019, 102: 101709. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2019.101709.

[29] WU Y Q, 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. DOI: 10.1007/s10753-021-01476-1.

[30] HU W H, WANG H Y, XIA Y T, *et al*. Kaempferol, a major flavonoid in Ginkgo folium, potentiates angiogenic functions in cultured endothelial cells by binding to vascular endothelial growth factor[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 526. DOI: 10.3389/fphar.2020.00526.

[31] LI W H, CHENG X, YANG Y L, *et al*. Kaempferol attenuates neuroinflammation and blood brain barrier dysfunction to improve neurological deficits in cerebral ischemia/reperfusion rats[J]. Brain Res, 2019, 1722: 146361. DOI: 10.1016/j.brainres.2019.146361.

[32] RETTBERG J R, YAO J, DIAZ BRINTON R. Estrogen: a master regulator of bioenergetic systems in the brain and body[J]. Front Neuroendocrinol, 2014, 35(1): 8-30. DOI: 10.1016/j.yfrne.2013.08.001.

[33] NGUYEN D H, SUMIEN N. Estrogen receptor involvement in vascular cognitive impairment and vascular dementia pathogenesis and treatment[J]. GeroScience, 2021, 43(1): 159-166. DOI: 10.1007/s11357-020-00263-4.

[34] ABI-GHANEM C, ROBISON L S, ZULOAGA K L. Androgens' effects on cerebrovascular function in health and disease[J]. Biol Sex Differ, 2020, 11(1): 35. DOI: 10.1186/s13293-020-00309-4.

[35] SERIPA D, MATERA M G, D'ONOFRIO G, *et al*. Polymorphism C in the serotonin transporter gene in depression-free elderly patients with vascular dementia[J]. Dement Geriatr Cogn Disord, 2010, 29(5): 424-431. DOI: 10.1159/000275670.

[36] LIN Y M, DAVAMANI F, YANG W C, *et al*. Association analysis of monoamine oxidase a gene and bipolar affective disorder in Han Chinese[J]. Behav Brain Funct, 2008, 4: 21. DOI: 10.1186/1744-9081-4-21.

[37] ZHOU Z Y, LU C J, MENG S H, *et al*. Silencing of PTGS2 exerts promoting effects on angiogenesis endothelial progenitor cells in mice with ischemic stroke *via* repression of the NF-κB signaling pathway[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(12): 23448-23460. DOI: 10.1002/jcp.28914.

[38] PAN Y S, CHEN W Q, WANG Y L, *et al*. Association between ABCB1 polymorphisms and outcomes of clopidogrel treatment in patients with minor stroke or transient ischemic attack: secondary analysis of a randomized clinical trial[J]. JAMA Neurol, 2019, 76(5): 552-560. DOI: 10.1001/jamaneurol.2018.4775.

[39] XU L Y, WANG Y. Combined influence of ABCB1 genetic polymorphism and DNA methylation on aspirin resistance in Chinese ischemic stroke patients[J]. Acta Neurol Belg, 2022, 122(4): 1057-1064. DOI: 10.1007/s13760-021-01714-1.

[40] ZHANG LL, FAN Y Z, KONG X Y, *et al*. Neuroprotective effect of different physical exercises on cognition and behavior function by dopamine and 5-HT level in rats of vascular dementia[J]. Behav Brain Res, 2020, 388: 112648. DOI: 10.1016/j.bbr.2020.112648.

[41] LIN WW, WANG Y X, CHEN Y S, *et al*. Role of calcium signaling pathway-related gene regulatory networks in ischemic stroke based on multiple WGCNA and single-cell analysis[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021: 8060477. DOI: 10.1155/2021/8060477.

[42] SZOEKE C, DOWNIE S J, PARKER A F, *et al*. Sex hormones, vascular factors and cognition[J]. Front Neuroendocrinol, 2021, 62: 100927. DOI: 10.1016/j.yfrne.2021.100927.

[43] XING Y, QIN W, LI F, *et al*. Associations between sex hormones and cognitive and neuropsychiatric manifestations in vascular dementia (VaD)[J]. Arch Gerontol Geriatr, 2013, 56(1): 85-90. DOI: 10.1016/j.archger.2012.10.003.

[44] KAUNDAL M, ZAMEER S, NAJMI A K, *et al*. Betulinic acid, a natural PDE inhibitor restores hippocampal cAMP/cGMP and BDNF, improve cerebral blood flow and recover memory deficits in permanent BCCAO induced vascular dementia in rats[J]. Eur J Pharmacol, 2018, 832: 56-66. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.05.015.

[45] YU WW, JIN H Q, SUN W, *et al*. Connexin43 promotes angiogenesis through activating the HIF-1α/VEGF signaling pathway under chronic cerebral hypoperfusion[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2021, 41(10): 2656-2675. DOI: 10.1177/0271678X211010354.

(收稿:2022-09-19;修回:2023-01-10)

(编辑 邓强庭)