

中图分类号: R932; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)15-0042-08  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.15.009



# 灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的有效成分及作用机制 网络药理学分析\*

丁梦<sup>1,2</sup>, 何帅兵<sup>3,4</sup>, 谢学恒<sup>1</sup>, 王振<sup>1</sup>, 辜升亮<sup>1,2</sup>, 胡振波<sup>5</sup>, 黄斌<sup>5</sup>, 邢小燕<sup>1Δ</sup>, 孙晓波<sup>1,2</sup>

(1. 中国医学科学院药用植物研究所药理毒理中心, 北京 100193; 2. 贵州中医药大学药学院, 贵州 贵阳 550025; 3. 浙江省湖州师范学院医学院, 浙江 湖州 313000; 4. 浙江省湖州师范学院护理学院, 浙江 湖州 313000; 5. 昆药集团股份有限公司, 云南 昆明 650106)

**摘要:**目的 基于网络药理学探讨灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的有效成分及作用机制。方法 利用中医药研究综合数据库(TCMID), 中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP), 网络药理学数据分析数据挖掘系统(TCM-Mesh)等收集灯银脑通胶囊的化学成分, 利用 DrugBank, 毒性与基因比较数据库(CTD), STITCH, BindingDB, Swiss Target 等数据库收集相关成分的靶点。采用 DisGeNET, PharmGKB, CTD 数据库收集认知功能障碍相关基因, 整合中药化学成分、化学成分靶点、疾病相关基因及蛋白互作数据, 利用 Cytoscape 3.2.1 软件构建灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的药物-活性成分-靶点网络。通过 KEGG 通路富集分析和 GO 生物学过程富集分析发现灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的关键信号通路, 将 MCC 和 Stress 两种算法排名前 10 的交集作为灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的关键靶点。结果 共收集灯盏细辛、银杏叶、三七、满山香 4 种中药的化学成分 133 个, 涉及靶点 588 个, 筛选出治疗认知功能障碍的成分 62 个。KEGG 通路富集分析和 GO 生物学过程富集分析结果显示, 灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍涉及肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素 17(IL-17)及凋亡等 25 个信号通路及 1 191 条生物过程。基于 MCC 和 Stress 2 种算法发现血管内皮生长因子 A(VEGFA)、胱天蛋白酶 3(CASP3)、胰岛素(INS)、白细胞介素 6(IL-6)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1(AKT1)、前列腺素内过氧化物合酶 2(PTGS2)、TNF、白蛋白(ALB)和肿瘤蛋白 P53(TP53)靶点为灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的关键靶点。结论 灯银脑通胶囊通过多成分、多靶点、多通路治疗认知功能障碍。灯银脑通胶囊、活性成分、靶点与认知功能障碍之间的联系可为认知功能障碍的治疗提供参考。

**关键词:** 灯银脑通胶囊; 认知功能障碍; 有效成分; 作用机制; 网络药理学

## Active Ingredients and Mechanism of Dengyin Naotong Capsules in the Treatment of Cognitive Dysfunction Based on Network Pharmacology

DING Meng<sup>1,2</sup>, HE Shuaibing<sup>3,4</sup>, XIE Xueheng<sup>1</sup>, WANG Zhen<sup>1</sup>, GU Shengliang<sup>1,2</sup>, HU Zhenbo<sup>5</sup>, HUANG Bin<sup>5</sup>, XING Xiaoyan<sup>1</sup>, SUN Xiaobo<sup>1,2</sup>  
(1. Pharmacological Toxicology Center, Institute of Medicinal Plant Development of Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing, China 100193; 2. School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou, China 550025; 3. College of Medicine, Huzhou Teachers College of Zhejiang Province, Huzhou, Zhejiang, China 313000; 4. College of Nursing, Huzhou Teachers College of Zhejiang Province, Huzhou, Zhejiang, China 313000; 5. Kunming Pharmaceutical Group Stock Limited Company, Kunming, Yunnan, China 650106)

**Abstract: Objective** To investigate the active ingredients and mechanism of Dengyin Naotong Capsules in the treatment of

\* 基金项目: 国家自然科学基金委员会-贵州省人民政府联合基金项目[U1812403-5-3]; 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目[2021-I2M-1-031]。

第一作者: 丁梦, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药物质基础研究及开发, (电子信箱)dm18216821704@163.com。

Δ通信作者: 邢小燕, 女, 副研究员, 研究方向为中药物质基础与作用机制研究与开发, (电子信箱)lilyclxy@163.com。

- [43] DAJON M, IRIBARREN K, CREMER I. Toll-like receptor stimulation in cancer: a pro- and anti-tumor double-edged sword[J]. Immunobiology, 2016, 222(1): 89-100.
- [44] FARNEBO L, SHLAHANGIAN A, LEE Y, et al. Targeting Toll-like receptor 2 inhibits growth of head and neck squamous cell carcinoma[J]. Oncotarget, 2015, 6(12): 9897-9907.
- [45] SCHAEFER L, IOZZO RV. Small leucine-rich proteoglycans, at the crossroad of cancer growth and inflammation[J]. Curr Opin Genet Dev, 2012, 22(1): 56-57.
- [46] BAI BJ, WANG XX, CHEN EG, et al. Human cytomegalovirus infection and colorectal cancer risk: a meta-analysis[J]. Oncotarget, 2016, 7(47): 76735-76742.
- [47] TEO WH, CHEN HP, HUANG JC, et al. Human cytomegalovirus infection enhances cell proliferation, migration and upregulation of EMT markers in colorectal cancer-derived stem cell-like cells[J]. Int J Oncol, 2017, 51(5): 1415-1426.
- [48] WANG J, DU Y, LIU XM, et al. MicroRNAs as Regulator of Signaling Networks in Metastatic Colon Cancer[J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 823620.

(收稿日期: 2022-09-08; 修回日期: 2023-03-21)

cognitive dysfunction based on network pharmacology. **Methods** The chemical components of Dengyin Naotong Capsules were collected through databases such as Traditional Chinese Medicine Integrated Database (TCMID), Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP), and TCM - Mesh. The target points of related components were collected from databases such as DrugBank, Comparative Toxicogenomics Database (CTD), STITCH, BindingDB, and Swiss Target. Cognitive dysfunction - related genes were searched from DisGeNET, PharmaGKB, and CTD databases. The data of chemical components, chemical components targets, disease - related genes and protein - protein interactions of traditional Chinese medicine were integrated to construct a drug - active ingredient - target network for the treatment of cognitive dysfunction with Dengyin Naotong Capsules by the Cytoscape 3.2.1 software. The key signaling pathways of Dengyin Naotong Capsules in the treatment of cognitive dysfunction were identified through KEGG pathway enrichment analysis and GO biological process enrichment analysis. The intersection of MCC and Stress algorithms ranked in the top 10 was selected as the key target of Dengyin Naotong Capsules in the treatment of cognitive dysfunction. **Results** A total of 133 chemical components of four traditional Chinese medicines (Erigerontis Herb, Ginkgo Folium, Notoginseng Radix et Rhizoma, and Valerianae Radix) were collected, with 588 targets involved. A total of 62 components were selected for the treatment of cognitive dysfunction. The results of KEGG pathway enrichment analysis and GO biological process enrichment analysis showed that Dengyin Naotong Capsules in the treatment of cognitive dysfunction involved 25 signaling pathways [tumor necrosis factor (TNF), interleukin - 17 (IL - 17), and apoptosis] and 1 119 biological processes. Based on MCC and Stress algorithms, vascular endothelial growth factor A (VEGFA), caspase 3 (CASP3), insulin (INS), interleukin - 6 (IL - 6), serine / threonine protein kinase 1 (AKT1), prostaglandin - endoperoxide synthase 2 (PTGS2), TNF, albumin (ALB) and tumor protein P53 (TP53) targets were identified as the key targets of Dengyin Naotong Capsules in the treatment of cognitive dysfunction. **Conclusion** Dengyin Naotong Capsules in the treatment of cognitive dysfunction through multiple components, targets, and pathways. The relationship among Dengyin Naotong Capsules, active ingredients, targets, and cognitive dysfunction provides a reference for the treatment of cognitive dysfunction.

**Key words:** Dengyin Naotong Capsules; cognitive dysfunction; active ingredient; mechanism; network pharmacology

认知功能障碍是指因学习记忆、思维判断出现异常而引起严重学习记忆障碍,同时可能会伴随失语、失行和失认等改变的病理过程<sup>[1]</sup>。认知功能障碍可分为神经退行性和非神经退行性两类,可并发于多种疾病,严重损害患者的认知能力<sup>[2]</sup>。随着人口老龄化程度的加剧,在缺乏有效干预措施或对神经疾病清晰理解的情况下,神经变性的发生率急剧升高<sup>[3]</sup>。有研究表明,定期身体活动和心血管危险因素(如糖尿病、肥胖、吸烟和高血压)的管理可降低认知能力和痴呆症的发生风险<sup>[4]</sup>。2015年全球有4 700万痴呆症患者,预计2050年将增加2倍<sup>[5]</sup>。故有必要找到新的方法和药物治疗认知功能障碍。灯银脑通胶囊为彝族药,是由灯盏细辛、银杏叶、满山香及三七4种中药的有效成分精制而成的复方制剂。有研究表明,灯银脑通胶囊单用或联用其他药物可治疗脑梗死后遗症、急性脑梗死、循环缺血性眩晕及抑郁症<sup>[6-9]</sup>。李特等<sup>[10]</sup>的研究表明,灯银脑通胶囊对衰老模型小鼠有促智作用,能增强小鼠的学习能力及记忆保持能力。曲艳津等<sup>[11]</sup>的研究表明,灯银脑通胶囊联合奥拉西坦可治疗血管性痴呆,明显改善患者脑微循环和认知功能障碍,但治疗后的作用机制并未阐明。网络药理学以药物 - 疾病 - 成分 - 靶点相互作用的完整性和系统化为起点,使用复杂的网络模型来表达和分析药物 - 成分 - 靶点网络关系<sup>[12]</sup>。网络药理学的整体特征和系统特征与中医理论的整体观和基于综

合征分化的治疗原则相一致,为中药的系统研究提供了新的思路和视角<sup>[13]</sup>。近年来,网络药理学广泛应用于中药活性成分和作用机制研究。为此,本研究中采用网络药理学分析灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的有效成分群及作用机制。

## 1 方法

### 1.1 活性成分筛选与靶点收集

利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)<sup>[14]</sup>、中医药研究综合数据库(TCMID)<sup>[15]</sup>和网络药理学数据分析数据挖掘系统(TCM - Mesh)<sup>[16]</sup>等收集灯银脑通胶囊的化学成分。参数设置如下:口服生物利用度(OB)和药物相似度(DL)分别设置为15%和0.18<sup>[14]</sup>。利用毒性与基因比较数据库(CTD)<sup>[17]</sup>、Drug Bank<sup>[18]</sup>、STITCH<sup>[19]</sup>、BindingDB<sup>[20]</sup>、SwissTarget<sup>[21]</sup>等数据库收集相关成分的靶点,其中STITCH, BindingDB, SwissTarget数据库的阈值分别设置为0.70, 0.85, 0.85。利用UniProt<sup>[22]</sup>数据库实现靶点的标准化。

### 1.2 疾病相关靶点收集

利用DisGeNET<sup>[23]</sup>、PharmGKB<sup>[24]</sup>、CTD数据库检索Cognitive Dysfunction,收集认知功能障碍相关靶点,去除重复靶点,即为认知功能障碍相关靶点。

### 1.3 蛋白互作(PPI)网络构建与网络聚类分析

为收集药物和疾病的重叠靶点,采用Venn Diagrams在线分析工具对灯银脑通胶囊活性成分靶点和认知功

能障碍疾病靶点进行分析,并在 Cytoscape 3. 2. 1<sup>[25]</sup>软件中实现可视化。将维恩图中交集靶点导入 String<sup>[26]</sup>数据库,获取 PPI 网络信息。PPI 得分的最低阈值设置为 0. 4,采用 Cytoscape 3. 2. 1 软件实现网络的可视化。同时,为识别灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的核心靶标网络,采用 Cytoscape 3. 2. 1 软件中的 MCODE cluster 实现聚类分析。

#### 1.4 KEGG 通路和 GO 富集分析

为说明灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的潜在机制及影响,采用 CTD 数据库进行 GO 生物学过程富集分析<sup>[27]</sup>和 KEGG 信号通路富集分析<sup>[28]</sup>,校正 *P* 值阈值均设置为 0. 01。

#### 1.5 关键靶点识别

采用 Cytoscape 3. 2. 1 软件中的 MCC 和 Stress 算法准确识别出灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的靶点,取两者排名前 10 靶点的交集作为灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的关键靶点。

### 2 结果

#### 2.1 活性成分筛选及活性成分靶点推测

本研究中从灯盏细辛、银杏叶、三七、满山香 4 种中药中共收集化学成分 133 个,共涉及靶点 588 个。

#### 2.2 化学成分靶点与认知功能障碍相关靶点的重合度

共收集与认知功能障碍相关的靶点 303 个,并对灯银脑通胶囊化学成分靶点和认知功能障碍疾病靶点作一致性分析,乙酰胆碱酯酶 (AChE)、丁酰胆碱酯酶 (BChE)、胰

天蛋白酶 3 (CASP3) 等 87 个靶点与认知功能障碍疾病靶点重合,占全部认知功能障碍相关基因的 28. 71%。与文献<sup>[29-31]</sup>的研究结果一致,可能通过这 87 个靶点实现对认知功能障碍的综合调控,维恩图见图 1。

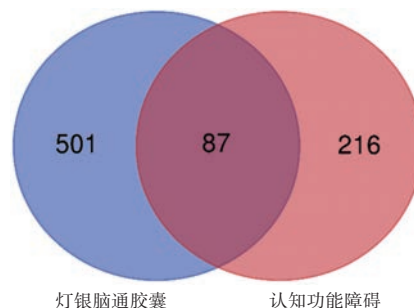


图 1 灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的关键靶点维恩图  
Fig. 1 Venn diagram of the key targets of Dengyin Naotong Capsules in the treatment of cognitive dysfunction

#### 2.3 PPI 与 MCODE cluster 网络聚类分析

研究发现,灯银脑通胶囊中共有 62 个成分参与认知功能障碍调控,构成了灯银脑通治疗认知功能障碍的有效成分群。其中,度值排名前 10 的成分分别为木犀草素、山柰酚、芹菜素、儿茶素、黄芩素、柚皮素、异鼠李素、齐墩果酸、槲皮素和五羟黄酮(表 1)。度值越大,相应化学成分参与调控认知功能障碍相关基因数目越多。在 Cytoscape 3. 2. 1 软件中输入灯银脑通胶囊中的 4 种中药、62 种参与调控认知功能障碍的化学成分和 87 个参与调控认知功能障碍的靶点,得到药物 - 活性成分 - 靶点网络(图 2)。采用 String 数据库构建 PPI 网

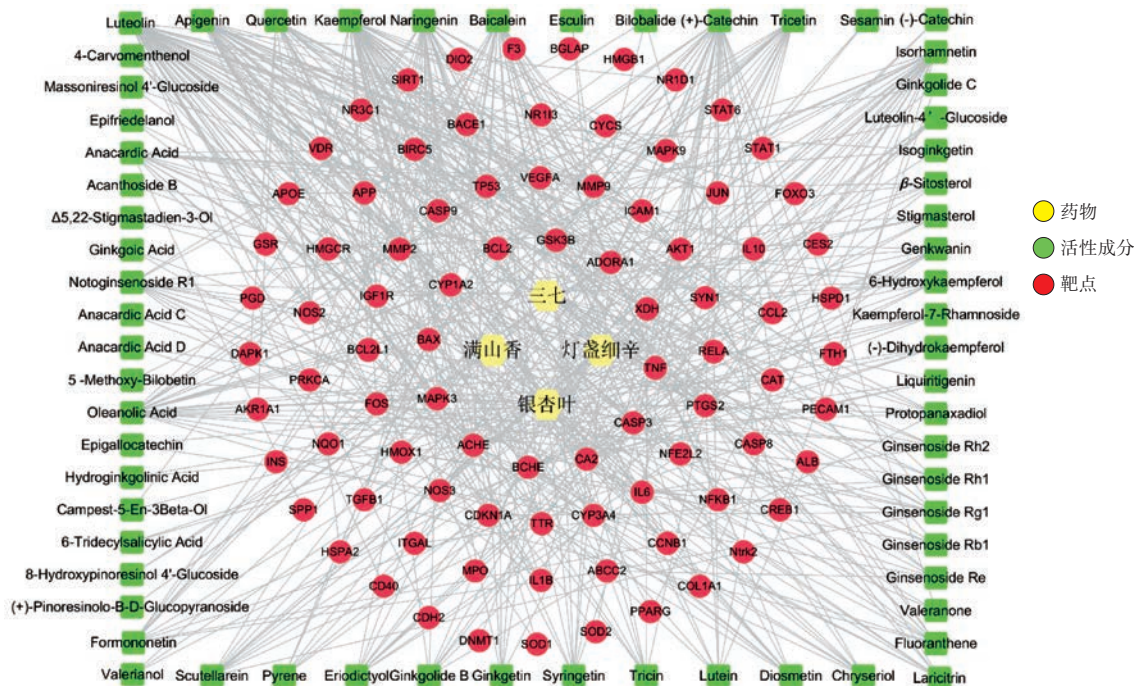


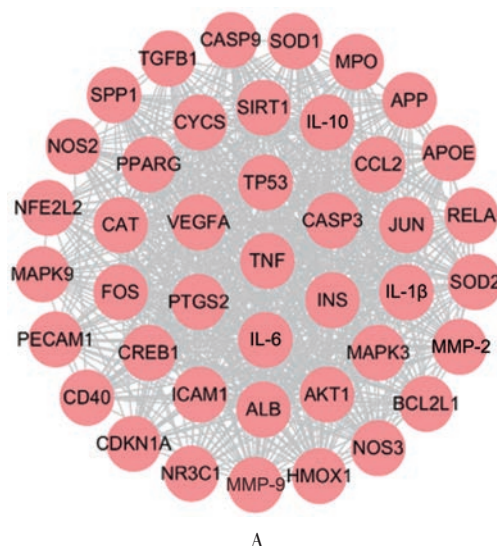
图 2 灯银通胶囊治疗认知功能障碍的药物 - 活性成分 - 靶点网络

Fig. 2 Drug - active ingredients - targets network of Dengyin Naotong Capsules in the treatment of cognitive dysfunction

表1 度值排名前10的活性成分

Tab. 1 Top 10 active ingredients of Degree value

编号	中药来源	英文名	中文名	相对分子质量	OB(%)	DL	度值
1	灯盏细辛、银杏叶	luteolin	木犀草素	286.25	36.16	0.25	48
2	灯盏细辛、银杏叶	kaempferol	山柰酚	286.25	41.88	0.24	41
3	灯盏细辛、银杏叶	apigenin	芹菜素	270.25	23.06	0.21	34
4	银杏叶	(+)-catechin	儿茶素	290.29	54.83	0.24	33
5	灯盏细辛	baicalein	黄芩素	270.25	33.52	0.21	28
6	灯盏细辛	naringenin	柚皮素	272.27	42.36	0.21	26
7	银杏叶	isorhamnetin	异鼠李素	316.28	49.60	0.31	22
8	三七	oleanolic Acid	齐墩果酸	456.78	29.02	0.76	21
9	灯盏细辛、三七、银杏叶	quercetin	槲皮素	302.25	46.43	0.28	19
10	银杏叶	trictin	五羟黄酮	302.25	28.87	0.28	17



A

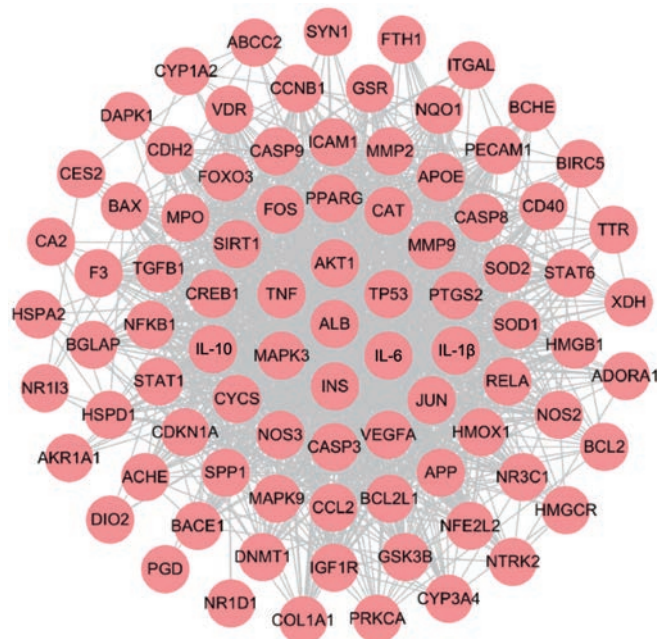


图3 灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的蛋白互作网络  
Fig. 3 PPI network of Dengyingin Naotong Capsules in the treatment of cognitive dysfunction

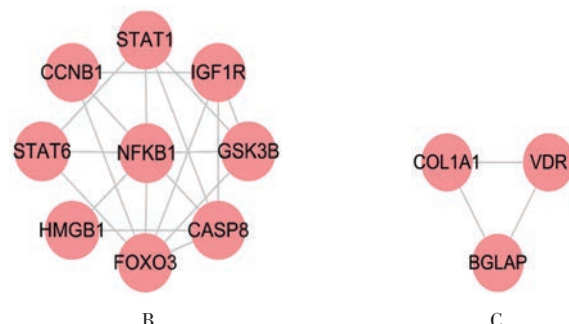
络,网络涉及节点87个、边1399条(图3)。

以PPI网络为输入,聚类分析识别出3个模块。模块A为灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的主要模块,由42个靶点组成,涉及716条边;模块B由9个靶点组成,涉及19条边;模块C由3个靶点组成,涉及3条边。详见图4。

#### 2.4 KEGG 通路与 GO 富集分析

对图4中3个模块网络进行KEGG通路富集分析,发现25条信号通路与灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍相关,如肿瘤坏死因子(TNF)信号通路、白细胞介素17(IL-17)信号通路、细胞凋亡和Toll样受体信号通路等。详见表2。

将KEGG通路富集分析识别的25条信号通路进行



B

C

A. 模块A B. 模块B C. 模块C

图4 灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的 MCODE cluster 分析  
A. Module A B. Module B C. Module C  
Fig. 4 MCODE cluster analysis of Dengyingin Naotong Capsules in the treatment of cognitive dysfunction

GO生物学过程富集分析,结果共涉及1191条生物过程。*P*值排序前25的生物过程认为和灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍密切相关,主要集中于细胞对内/外源性化学物质刺激的反应、对外界物理刺激的反应、细胞凋亡过程和代谢过程的正向调控等(图5)。

#### 2.5 识别关键靶点

分别得到MCC和Stress 2种算法排名前10的靶点。两者交集有9个靶点,认为在灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍发挥重要作用,分别为血管内皮生长因子A(VEGFA)、CASP3、胰岛素(INS)、白细胞介素6(IL-6)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶1(AKT1)、前列腺素内过氧化物合酶2(PTGS2)、TNF、白蛋白(ALB)和肿瘤蛋白P53(TP53)。详见图6。

### 3 讨论

#### 3.1 灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的活性成分

本研究通过TCMSP,TCMID,TCM-Mesh等数据库共获得62个灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的活性成分。其中,度值排名前10的成分分别为木犀草素、山柰酚、芹菜素、儿茶素、黄芩素、柚皮素、异鼠李素、齐墩果

表2 灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的25条信号通路

Tab. 2 The 25 signal pathways of Dengyin Naotong Capsules in the treatment of cognitive dysfunction

通路	模块	校正P值	认知功能障碍相关基因
TNF	A	$1.53 \times 10^{-26}$	AKT1, CASP3, CCL2, CREB1, FOS, ICAM-1, IL-1 $\beta$ , IL-6, JUN, MAPK3, MAPK-9, MMP-9, PTGS2, RELA, TNF
IL-17	A	$2.57 \times 10^{-20}$	CASP3, CCL2, FOS, IL-1 $\beta$ , IL-6, JUN, MAPK3, MAPK9, MMP9, PTGS2, RELA, TNF
	B	$2.37 \times 10^{-4}$	CASP8, GSK3B, NFKB1
Apoptosis	A	$3.65 \times 10^{-18}$	AKT1, BCL2L1, CASP3, CASP9, CYCS, FOS, JUN, MAPK3, MAPK9, RELA, TNF, TP53
Toll-like receptor	A	$1.94 \times 10^{-17}$	AKT1, CD40, FOS, IL-1 $\beta$ , IL-6, JUN, MAPK3, MAPK9, RELA, SPP1, TNF
	B	$3.33 \times 10^{-4}$	CASP8, NFKB1, STAT1
FoxO	A	$2.96 \times 10^{-16}$	AKT1, CAT, CDKN1A, IL-10, IL-6, INS, MAPK3, MAPK9, SIRT1, SOD2, TGFB1
	B	$6.82 \times 10^{-4}$	CCNB1, FOXO3, IGF1R
HIF-1	A	$2.31 \times 10^{-15}$	AKT1, CDKN1A, HMOX1, IL-6, INS, MAPK3, NOS2, NOS3, RELA, VEGFA
PI3K-Akt	A	$3.88 \times 10^{-15}$	AKT1, BCL2L1, CASP9, CDKN1A, CREB1, IL-6, INS, MAPK3, NOS3, RELA, SPP1, TP53, VEGFA
	B	$1.35 \times 10^{-4}$	FOXO3, GSK3B, IGF1R, NFKB1
Longevity regulating pathway	A	$1.03 \times 10^{-13}$	AKT1, CAT, CREB1, INS, PPARG, RELA, SIRT1, SOD2, TP53
	B	$2.08 \times 10^{-4}$	FOXO3, IGF1R, NFKB1
Amyotrophic lateral sclerosis	A	$1.37 \times 10^{-13}$	BCL2L1, CASP3, CASP9, CAT, CYCS, SOD1, TNF, TP53
MAPK	A	$4.72 \times 10^{-13}$	AKT1, CASP3, FOS, IL-1 $\beta$ , JUN, MAPK3, MAPK9, RELA, TGFB1, TNF, TP53
Estrogen	A	$3.28 \times 10^{-11}$	AKT1, CREB1, FOS, JUN, MAPK3, MMP-2, MMP9, NOS3
NOD-like receptor	A	$4.03 \times 10^{-11}$	BCL2L1, CCL2, IL-1 $\beta$ , IL-6, JUN, MAPK3, MAPK9, RELA, TNF
	B	0.00146	CASP8, NFKB1, STAT1
T cell receptor	A	$4.93 \times 10^{-11}$	AKT1, FOS, IL-10, JUN, MAPK3, MAPK9, RELA, TNF
Th17 cell differentiation	A	$6.75 \times 10^{-11}$	FOS, IL-1 $\beta$ , IL-6, JUN, MAPK3, MAPK9, RELA, TGFB1
	B	$3.62 \times 10^{-4}$	NFKB1, STAT1, STAT6
NF-kappa B	A	$2.69 \times 10^{-9}$	BCL2L1, CD40, ICAM1, IL-1 $\beta$ , PTGS2, RELA, TNF
Alzheimer's disease	A	$3.04 \times 10^{-9}$	APOE, APP, CASP3, CASP9, CYCS, IL-1 $\beta$ , MAPK3, TNF
Huntington's disease	A	$8.04 \times 10^{-9}$	CASP3, CASP9, CREB1, CYCS, PPARG, SOD1, SOD2, TP53
Sphingolipid	A	$1.36 \times 10^{-8}$	AKT1, MAPK3, MAPK9, NOS3, RELA, TNF, TP53
VEGF	A	$1.49 \times 10^{-8}$	AKT1, CASP9, MAPK3, NOS3, PTGS2, VEGFA
Cytokine-cytokine receptor interaction	A	$1.17 \times 10^{-7}$	CCL2, CD40, IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-6, TGFB1, TNF, VEGFA
cAMP	A	$5.20 \times 10^{-7}$	AKT1, CREB1, FOS, JUN, MAPK3, MAPK9, RELA
Neurotrophin	A	$1.10 \times 10^{-6}$	AKT1, JUN, MAPK3, MAPK9, RELA, TP53
	B	$4.99 \times 10^{-4}$	FOXO3, GSK3B, NFKB1
Ras	A	$1.35 \times 10^{-6}$	AKT1, BCL2L1, INS, MAPK3, MAPK9, RELA, VEGFA
p53	A	$4.39 \times 10^{-6}$	CASP3, CASP9, CDKN1A, CYCS, TP53
B cell receptor	A	$4.73 \times 10^{-6}$	AKT1, FOS, JUN, MAPK3, RELA

酸、槲皮素和五羟黄酮。除齐墩果酸外,其余成分均为黄酮类化合物,此类化合物多具有抗炎、抗氧化应激等药理作用<sup>[32]</sup>。YAO等<sup>[33]</sup>的研究发现,木犀草素改善超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)的活性,抑制海马和皮层中小胶质细胞过度激活和星形胶质细胞增多,改善神经炎症和氧化应激在慢性脑灌注不足(CCH)后的认知功能障碍。DAS等<sup>[34]</sup>和KIM等<sup>[35]</sup>的研究发现,山柰酚和芹菜素都可通过促进肌球蛋白受体激酶B(TrkB)的表达来改善认知功能障碍。PERVIN等<sup>[36]</sup>的研究发现,儿茶素对有神经退行性损伤引起的认知功能障碍和记忆丧失有益。此外还发现,黄

芹素和柚皮素具有神经保护作用。LI等<sup>[37]</sup>研究发现,黄芩素通过直接作用于大脑而非通过调节血糖、脂质或INS的水平来改善糖尿病模型大鼠的认知功能;KRISHNA等<sup>[38]</sup>研究发现,柚皮素可通过维持线粒体功能并防止由甲基汞诱导的小鼠神经细胞凋亡,最终改善模型小鼠认知障碍。MULATI等<sup>[39]</sup>研究发现,异鼠李素通过抑制丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和核转录因子-kB(NF-kB)通路缓解由高脂高糖饮食诱导的认知功能障碍和神经炎症,还发现槲皮素可通过改善神经炎症来改善衰老模型小鼠的认知功能障碍。此外,槲皮素可降低小鼠海马体中丙二醛(MDA)和活性氧(ROS)的水平<sup>[40]</sup>。

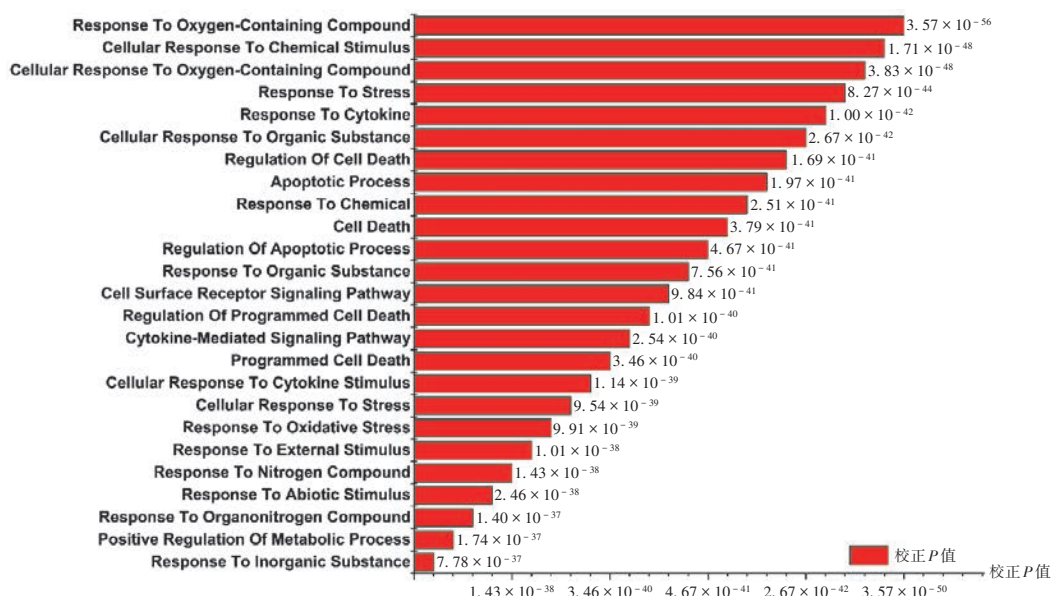


图5 GO生物学过程富集分析前25位结果

Fig. 5 Top 25 results of the GO biological process enrichment analysis

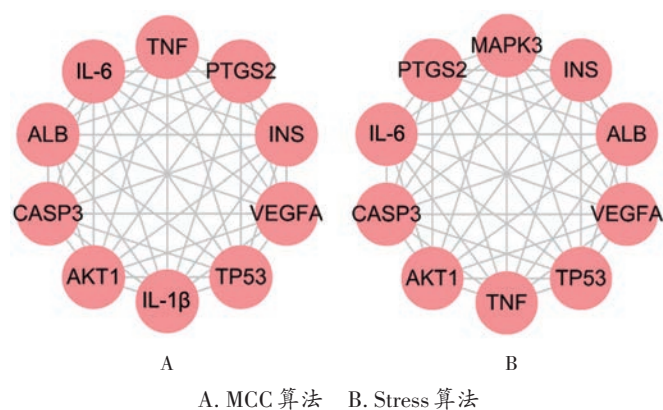


图6 MCC和Stress算法排名前10靶点

A. MCC algorithm B. Stress algorithm

Fig. 6 MCC and Stress algorithms rank in the top 10 targets

故推测灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的重要活性成分是黄酮类化合物,通过抗炎和抗氧化应激来发挥其功效。

### 3.2 灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的关键靶点

共收集灯银脑通胶囊成分靶点与认知功能障碍疾病靶点有87个交集靶点,这些靶点被认为是灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的潜在靶点。为了探索其核心靶点,构建了PPI网络,并进行了网络聚类分析,取MCC和Stress 2种算法排名前10的交集作为灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的核心靶点。结果显示,核心靶点包括VEGFA, CASP3, INS, IL-6, AKT1, PTGS2, TNF, ALB, TP53 9个靶点。MOORE等<sup>[41]</sup>研究发现,VEGFA在阿尔茨海默病(AD)风险最高的人群中具有保护作用。KIM等<sup>[35]</sup>研究发现,芹菜素可通过抑制CASP3的裂解,促进细胞凋亡,从而改善认知功能障碍。吴勇等<sup>[42]</sup>研究

发现,微量INS可增加认知功能障碍模型大鼠海马组织中突触蛋白的表达,改善认知功能障碍。IL-6在细胞免疫和体液免疫中发挥重要作用,TNF- $\alpha$ 在炎症反应调节过程中起核心作用,认知功能障碍患者中枢神经系统中IL-6与TNF- $\alpha$ 表达水平显著升高<sup>[43]</sup>。大脑突触的破坏被认为是AD患者认知功能障碍的根源,ROS介导AKT1信号传导失调加重了AD患者突触功能障碍<sup>[44]</sup>。增强AKT1激酶的活性可保护突触免受破坏,对突触的可塑性、学习、记忆具有深远的影响。PTGS2在脑手术后可促进TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 等炎症因子的表达,导致神经炎症发生,从而出现术后认知功能障碍<sup>[45]</sup>。此外,在轻度认知功能障碍和AD患者的外周细胞中观察到P53构象折叠错误的现象,P53失调可能加剧AD的病理机制<sup>[46]</sup>。由此,可看出上述靶点与认知功能障碍的发生、发展密切相关。

### 3.3 灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的途径

为探讨灯银脑通胶囊治疗认知障碍的作用机制,进行了KEGG通路富集分析和GO生物学过程富集分析。KEGG通路富集分析结果显示,灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍中涉及,TNF、IL-17、凋亡和Toll样受体等25条信号通路。AKT1, CASP3, IL-6, PTGS2, TNF等靶点是TNF信号通路的关键成员,且筛选出的多种活性成分均可调控这些靶点,表明TNF信号通路在灯银脑通胶囊调控认知功能障碍中发挥着重要作用。木犀草素是灯银脑通胶囊的重要活性成分,可抑制TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ 等炎症因子的表达,从而抑制神经炎症的发生,缓解AD引起的认知障碍<sup>[47]</sup>。有关动物实验表明,其活性成分槲皮素和山柰酚可下调TNF- $\alpha$ ,

IL-17的表达<sup>[48]</sup>。维持海马神经元正常状态对于认知功能是十分重要,海马神经细胞凋亡与炎症是导致术后认知功能障碍的主要原因<sup>[49]</sup>。SU等<sup>[50]</sup>研究发现,托吡酯通过灭活术后认知功能障碍模型大鼠中的TNF信号通路来发挥抗炎和抗细胞凋亡作用。秦建华等<sup>[51]</sup>的研究发现,低剂量七氟醚通过调节PI3K/AKT信号通路抑制海马神经细胞凋亡,从而改善术后认知功能障碍。Toll样受体(TLRs)能结合机体自身产生的一些内源性分子,在先天免疫和无菌炎症中起核心作用,LIN等<sup>[52]</sup>的研究发现,Toll样受体2有助于减轻手术诱导的神经炎症和认知障碍。YE等<sup>[53]</sup>的研究发现,通过阻断IL-17A/IL-17R通路抑制小胶质细胞的激活和神经炎症,从而保护小鼠免受由脓毒症诱发的认知功能障碍。

### 3.4 本研究不足之处

灯银脑通胶囊的活性成分木犀草素、山柰酚、芹菜素、儿茶素、黄芩素、柚皮素、异鼠李素、齐墩果酸、槲皮素和五羟黄酮可作用于VEGFA, CASP3, INS, IL-6, AKT1, PTGS2, TNF, ALB, TP53等多个靶点,调节TNF、IL-17、凋亡和Toll样受体等多种信号通路,抑制炎症反应和氧化应激,从而治疗认知功能障碍。本研究基于现代生物信息学方法,通过网络药理学方法探讨灯银脑通胶囊治疗认知功能障碍的作用机制,具有一定局限性,对灯银脑通胶囊治疗认知障碍的有效成分群及作用机制仅进行初步预测,并未进行试验验证。

### 参考文献

[1] BREDESEN DE, AMOS EC, CANICK J, et al. Reversal of cognitive decline in Alzheimer's disease[J]. Aging (Albany NY), 2016, 8(6): 1250 - 1258.

[2] GALE SA, ACAR D, DAFFNER KR. Dementia[J]. Am J Med, 2018, 131(10): 1161 - 1169.

[3] WYSS - CORAY T. Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation[J]. Nature, 2016, 539(7628): 180 - 186.

[4] HEBERT LE, WEUVE J, SCHERR PA, et al. Alzheimer disease in the United States (2010 - 2050) estimated using the 2010 census[J]. Neurology, 2013, 80(19): 1778 - 1783.

[5] ACOSTA D, LLIBRE - GUERRA JJ, JIMENEZ - VELAZQUEZ IZ, et al. Dementia Research in the Caribbean Hispanic Islands: Present Findings and Future Trends [J]. Front Public Health, 2020, 8: 611998.

[6] 王冰. 灯银脑通胶囊治疗脑梗死后遗症疗效观察[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2008, 11(8): 70 - 71.

[7] 王焕程, 刘佳. 灯银脑通胶囊联合倍他司汀治疗后循环缺血性眩晕的疗效观察[J]. 现代药物与临床, 2019, 34(8): 2338 - 2342.

[8] 李特, 汤子孝, 杨慧, 等. 灯银脑通胶囊对衰老小鼠脑组织内单胺类神经递质含量的影响[J]. 首都医药, 2010,

17(18): 49.

[9] 柳洲, 朱志勇, 牛永义, 等. 灯银脑通胶囊联合银杏达莫注射液治疗急性脑梗死的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2021, 36(3): 461 - 465.

[10] 李特, 杨慧, 张松, 等. 灯银脑通胶囊对衰老小鼠的促智作用[J]. 云南中医中药杂志, 2009, 30(3): 51 - 52.

[11] 曲艳津, 苏自青, 李正蓉, 等. 灯银脑通胶囊联合奥拉西坦对血管性痴呆患者疗效及脑微循环和认知障碍的影响[J]. 微循环学杂志, 2019, 29(2): 19 - 23.

[12] HOPKINS AL. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery[J]. Nat Chem Biol, 2008, 4(11): 682 - 690.

[13] WANG X, WANG ZY, ZHENG JH, et al. TCM network pharmacology: A new trend towards combining computational, experimental and clinical approaches[J]. Chin J Nat Med, 2021, 19(1): 1 - 11.

[14] 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: 13.

[15] XUE R, FANG Z, ZHANG M, et al. TCMID: Traditional Chinese Medicine integrative database for herb molecular mechanism analysis[J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(Database issue): D1089 - D1095.

[16] ZHANG RZ, YU SJ, BAI H, et al. TCM - Mesh: The database and analytical system for network pharmacology analysis for TCM preparations[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 2821.

[17] DAVIS AP, GRONDIN CJ, JOHNSON RJ, et al. The Comparative Toxicogenomics Database: update 2019[J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(D1): D948 - D954.

[18] WISHART DS, FEUNANG YD, GUO AC, et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018 [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(D1): D1074 - D1082.

[19] SZKLARCZYK D, SANTOS A, VON MERING C, et al. STITCH 5: augmenting protein - chemical interaction networks with tissue and affinity data [J]. Nucleic Acids Res, 2016, 44(D1): D380 - D384.

[20] GILSON MK, LIU T, BAITALUK M, et al. BindingDB in 2015: A public database for medicinal chemistry, computational chemistry and systems pharmacology [J]. Nucleic Acids Res, 2016, 44 (D1): D1045 - D1053.

[21] DAINA A, MICHIELIN O, ZOETE V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(W1): W357 - W364.

[22] UniProt Consortium. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021 [J]. Nucleic Acids Res, 2021, 49(D1): D480 - D489.

[23] PINERO J, BRAVO A, QUERALT - ROSINACH N, et al. DisGeNET: a comprehensive platform integrating information on human disease - associated genes and variants [J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(D1): D833 - D839.

[24] BARBARINO JM, WHIRL - CARRILLO M, ALTMAN RB, et al. PharmGKB: A worldwide resource for pharmacogenomic in-

- formation [J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2018, 10(4): e1417.
- [25] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498 – 2504.
- [26] SZKLARCZYK D, GABLE AL, LYON D, et al. STRING v11: protein – protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome – wide experimental datasets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D607 – D613.
- [27] Gene Ontology Consortium. Gene Ontology Consortium: going forward [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43 (Database issue): D1049 – D1056.
- [28] KANEHISA M, GOTO S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(1): 27 – 30.
- [29] 王 莎, 贺 龙, 李素婷, 等. 单纯疱疹病毒型脑炎患者血清 AchE、sOX40L 水平与认知功能的相关性[J]. *国际检验医学杂志*, 2022, 43(16): 1989 – 1993.
- [30] 邢帅帅, 孙昊鹏. 丁酰胆碱酯酶在阿尔茨海默病中的作用及其抑制剂设计策略[J]. *药学进展*, 2023, 47(3): 179 – 193.
- [31] 王彦平, 张保朝, 闻公灵, 等. 石菖蒲对脑梗死大鼠认知功能障碍及神经细胞凋亡的影响及机制探讨[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2021, 19(19): 3309 – 3314.
- [32] 万新煥, 陈新梅, 马 山, 等. 黄酮类化合物提取新方法的应用[J]. *中草药*, 2019, 50(15): 3691 – 3699.
- [33] YAO ZH, YAO XL, ZHANG Y, et al. Luteolin Could Improve Cognitive Dysfunction by Inhibiting Neuroinflammation [J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(4): 806 – 820.
- [34] DAS D, BISWAL S, BARHWAL KK, et al. Kaempferol Inhibits Extra – synaptic NMDAR – Mediated Downregulation of TRK-beta in Rat Hippocampus During Hypoxia [J]. *Neuroscience*, 2018, 392: 77 – 91.
- [35] KIM Y, KIM J, HE M, et al. Apigenin Ameliorates Scopolamine – Induced Cognitive Dysfunction and Neuronal Damage in Mice[J]. *Molecules*, 2021, 26(17): 5192.
- [36] PERVIN M, UNNO K, OHISHI T, et al. Beneficial Effects of Green Tea Catechins on Neurodegenerative Diseases [J]. *Molecules*, 2018, 23(6): 1297.
- [37] LI Y, CHEN Q, RAN D, et al. Changes in the levels of 12 / 15 – lipoxygenase, apoptosis – related proteins and inflammatory factors in the cortex of diabetic rats and the neuroprotection of baicalein[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 134: 239 – 247.
- [38] KRISHNA CA, CHRISTINA H, DAS S, et al. Neuroprotective role of naringenin against methylmercury induced cognitive impairment and mitochondrial damage in a mouse model [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2019, 71: 103224.
- [39] MULATI A, ZHANG X, ZHAO T, et al. Isorhamnetin attenuates high – fat and high – fructose diet induced cognitive impairments and neuroinflammation by mediating MAPK and NFkappaB signaling pathways[J]. *Food Funct*, 2021, 12(19): 9261 – 9272.
- [40] LI H, CHEN FJ, YANG WL, et al. Quercetin improves cognitive disorder in aging mice by inhibiting NLRP3 inflammation activation[J]. *Food Funct*, 2021, 12(2): 717 – 725.
- [41] MOORE AM, MAHONEY E, DUMITRESCU L, et al. APOE ε4 – specific associations of VEGF gene family expression with cognitive aging and Alzheimer’s disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2020, 87: 18 – 25.
- [42] 吴 勇, 陈 健, 陈爱鸾, 等. 微量胰岛素对七氟醚吸入麻醉诱导新生大鼠认知功能障碍的预防作用及其可能的作用机制[J]. *解剖学报*, 2021, 52(6): 882 – 888.
- [43] 韩 健, 尹琪华, 方 央, 等. 阿托伐他汀对 MCI 和 AD 患者 IL – 1β、IL – 6 及 TNF – α 水平的影响[J]. *江苏医药*, 2018, 44(3): 279 – 281.
- [44] AHMAD F, SINGH K, DAS D, et al. Reactive Oxygen Species – Mediated Loss of Synaptic Akt1 Signaling Leads to Deficient Activity – Dependent Protein Translation Early in Alzheimer’s Disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2017, 27(16): 1269 – 1280.
- [45] 冯 兰, 袁纪芸, 廖 妍, 等. 血清 PTGS2 水平对老年髋关节置换术后认知功能障碍的诊断价值[J]. *重庆医学*, 2022, 51(20): 3470 – 3476.
- [46] ABATE G, FRISONI GB, BOURDON JC, et al. The pleiotropic role of p53 in functional / dysfunctional neurons: focus on pathogenesis and diagnosis of Alzheimer’s disease [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2020, 12(1): 160.
- [47] KOU JJ, SHI JZ, HE YY, et al. Luteolin alleviates cognitive impairment in Alzheimer’s disease mouse model via inhibiting endoplasmic reticulum stress – dependent neuroinflammation[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43(4): 840 – 849.
- [48] SEKIZAWA H, IKUTA K, OHNISHI – KAMEYAMA M, et al. Identification of the Components in a Vaccinium oldhamii Extract Showing Inhibitory Activity Against Influenza Virus Adsorption[J]. *Foods*, 2019, 8(5): 172.
- [49] ZHENG J, MIN S, HU B, et al. Nrdp1 is involved in hippocampus apoptosis in cardiopulmonary bypass – induced cognitive dysfunction via the regulation of ErbB3 protein levels [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019, 43 (4): 1747 – 1757.
- [50] SU W, XIE M, LI Y, et al. Topiramate Reverses Physiological and Behavioral Alterations by Postoperative Cognitive Dysfunction in Rat Model Through Inhibiting TNF Signaling Pathway[J]. *Neuromolecular Med*, 2020, 22(2): 227 – 238.
- [51] 秦建华, 马庆军, 马冬梅, 等. 低剂量七氟醚调节海马神经元凋亡、减轻心肺转流术后认知功能障碍的机制研究[J]. *临床误诊误治*, 2022, 35(1): 103 – 111.
- [52] LIN F, SHAN W, ZHENG Y, et al. Toll – like receptor 2 activation and upregulation by high mobility group box 1 contribute to postoperative neuroinflammation and cognitive dysfunction in mice [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2021, 158 (2): 328 – 341.
- [53] YE B, TAO T, ZHAO A, et al. Blockade of IL – 17A / IL – 17R Pathway Protected Mice from Sepsis – Associated Encephalopathy by Inhibition of Microglia Activation [J]. *Mediators Inflamm*, 2019, 2019: 8461725.

(收稿日期: 2022 – 09 – 06; 修回日期: 2023 – 01 – 04)