

引用:孙亚丽,赵继业,贺宇田,秦瑛烁,任国华.基于网络药理学及动物实验探讨天蝎祛痛颗粒治疗偏头痛的作用机制[J].中医药导报,2026,32(1):29-36.

基于网络药理学及动物实验探讨 天蝎祛痛颗粒治疗偏头痛的作用机制^{*}

孙亚丽¹,赵继业^{2,3},贺宇田²,秦瑛烁²,任国华^{2,3}

(1.内蒙古医科大学,内蒙古 呼和浩特 010020;

2.内蒙古自治区中医医院,内蒙古 呼和浩特 010051;

3.省部共建中医湿证国家重点实验室内蒙古工作站,内蒙古 呼和浩特 010051)

[摘要] 目的:通过网络药理学方法探讨天蝎祛痛颗粒治疗偏头痛的作用机制,并进行动物实验证。方法:借助液相色谱-质谱法(LC-MS)检测天蝎祛痛颗粒的成分,结合TCMSP、HERB数据库分析其活性成分及其潜在作用靶点,通过GeneCards数据库获取偏头痛相关靶点,筛选出药物-疾病共同靶点;采用String平台进行PPI网络分析共同靶点间的相互作用并获得关键靶点;结合R语言对关键靶点进行基因本体论(GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,构建“中药-靶点-通路”网络图,预测天蝎祛痛颗粒治疗偏头痛的关键通路。通过建立硝酸甘油诱导的偏头痛大鼠模型,采用蛋白质印迹法(Western blotting, WB)检测蛋白激酶A(PKA)、反应结合蛋白(CREB)关键蛋白表达水平。结果:LC-MS检测出天蝎祛痛颗粒中49个关键活性成分,网络药理学筛选出治疗偏头痛的361个潜在作用靶点,PPI分析发现肿瘤坏死因子(TNF)、非受体酪氨酸激酶(SRC)、表皮生长因子受体(EGFR)、胰岛素(INS)为关键靶点;GO和KEGG分析发现这些靶点显著富集于cAMP信号通路;WB检测结果显示,天蝎祛痛颗粒低、中、高剂量组能均显著抑制PKA和CREB蛋白表达($P<0.05$),其中天蝎祛痛颗粒中剂量组效果最为明显。结论:天蝎祛痛颗粒治疗偏头痛具有多成分、多靶点的作用特点,可能与cAMP-PKA-CREB信号通路的调节相关。

[关键词] 偏头痛;天蝎祛痛颗粒;网络药理学;cAMP通路;大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2026)01-0029-08

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2026.01.005

Exploring the Mechanism of Tianxie Qutong Granules (天蝎祛痛颗粒) in Treating Migraine Based on Network Pharmacology and Animal Experiments

SUN Yali¹, ZHAO Jiye^{2,3}, HE Yutian², QIN Yingshuo², REN Guohua^{2,3}

(1. Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia 010020, China; 2. Inner Mongolia Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hohhot Inner Mongolia 010051, China; 3. Inner Mongolia Workstation of the State Key Laboratory of Dampness Syndrome of Traditional Chinese Medicine co founded by the Ministry and the Province, Hohhot Inner Mongolia 010051, China)

[Abstract] Objective: To explore the mechanism of Tianxie Qutong granules in treating migraine based on network pharmacology and verify it through animal experiments. Methods: The components of Tianxie Qutong granules were detected using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). Their active components and potential targets were analyzed with the TCMSP and HERB databases. Migraine-related targets were retrieved from the GeneCards database to identify the common drug-disease targets. PPI network analysis of the common targets was performed using the String platform to investigate their interactions and identify key targets. Gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analyses of the key targets were performed using R language to construct a "herb-target-pathway" network and predict the key pathways

*基金项目:内蒙古自治区高水平临床专科建设科技项目(2023SGGZ130);内蒙古自治区卫生健康科技计划项目(202201108)
通信作者:任国华,男,主任医师,研究方向为中医脑病

involved in the treatment of migraine with Tianxie Qutong granules. A rat model of migraine was established by nitroglycerin induction. The expression levels of key proteins, including protein kinase A (PKA) and cAMP response element-binding protein (CREB), were detected by Western blotting (WB). Results: LC-MS identified 49 key active components in Tianxie Qutong granules. Network pharmacology screening revealed 361 potential targets for migraine treatment. PPI analysis identified tumor necrosis factor (TNF), nonreceptor tyrosine kinase (SRC), epidermal growth factor receptor (EGFR), and insulin (INS) as key targets. GO and KEGG analyses indicated that these targets were significantly enriched in the cAMP signaling pathway. WB results showed that low-dose, medium-dose and dose high-dose groups of Tianxie Qutong granules significantly inhibited the protein expression of PKA and CREB ($P<0.05$), with the medium-dose group of Tianxie Qutong granules showing the most pronounced effect. Conclusion: Tianxie Qutong granules exert their therapeutic effects on migraine through multiple components and targets, which may be related to the regulation of the cAMP-PKA-CREB signaling pathway.

[Keywords] migraine; Tianxie Qutong granules; network pharmacology; cAMP pathway; rat

偏头痛(migraine)是一种常见的原发性头痛，其典型症状为单侧头痛的反复发作，头痛程度多为中度至重度，同时常伴随恶心、呕吐及畏光、畏声等自主神经症状^[1-2]。流行病学结果显示提示该病存在显著的性别差异，女性发病率是男性的2~3倍，其临床表现也更为严重，表现为疼痛强度更高、发作频率更频繁^[3]。全球范围内偏头痛的患病率高达15%~18%，影响人口约10亿^[4-5]。我国流行病学调查显示发病率为9.3%^[6]。同时，2016年全球疾病负担研究将偏头痛列为全球第二大致残性疾病，偏头痛对患者身心健康和生活质量已经产生严重影响^[7]。故加强偏头痛的防治工作在临床和社会中具有重要的意义。

天蝎祛痛颗粒为内蒙古自治区中医院院脑病科协定处方，是在清代陈士铎《辨证录》散偏汤(川芎、芥子、香附、白芍、柴胡、白芷、郁李仁、甘草)的基础上加天麻、全蝎、细辛化裁而来。天蝎祛痛颗粒治疗气滞血瘀型偏头痛疗效甚佳，且不良反应少，复发率低。前期课题组证实了天蝎祛痛颗粒联合西比灵的治疗方案可有效改善气滞血瘀型偏头痛患者的临床症状，疗效优于单用西比灵治疗^[8]。但其具体的药物成分及其潜在的作用机制目前尚不明确，有待进一步的研究探索。故本研究应用液相色谱-质谱法(liquid chromatography/mass spectrometry, LC-MS)检测天蝎祛痛颗粒的药物成分并结合网络药理学的方法分析其治疗偏头痛的药物成分、关键靶点及通路，结合动物实验探讨该方治疗偏头痛的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级SD大鼠60只，6~8周龄，雄性，体质量为(200±20)g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司。动物生产许可证号:SCXK(京)2021-0006；动物质量合格证号:110011241103545142；动物使用许可证号:SYXK(蒙)2020-0003。大鼠饲养于内蒙古医科大学动物室，温度(23±2)℃，湿度(50±5)%，12 h/12 h光/暗循环，可自由获取标准食物和水，适应性饲养1周。本实验已通过内蒙古自治区中医医院动物伦理委员会批准(批准号:20241128-06)。

1.2 药物与试剂 天蝎祛痛颗粒药物组成:天麻15 g(批号:24070219)，川芎15 g(批号:25010126)，白芍10 g(批号:24100053)，全蝎3 g(批号:AB51A273)，芥子10 g(批号:21070134)，香附

10 g(批号:25030095)，白芷10 g(批号:25030003)，柴胡10 g(批号:25030388)，郁李仁6 g(批号:21100307)，甘草6 g(批号:AB4C1443)，细辛3 g(批号:AB521003)。上述中药皆购于内蒙古自治区中医院的中药房，由中心实验室李曼辉教授鉴定均为正品。将所有药物混合打粉，取200 mg的中药粉末，加入1 mL的蒸馏水，煮沸1 h。煮沸过滤后，将煮过的样品进行过滤，舍弃上清液，加入1.2 mL的蒸馏水，煮沸过滤后，在残渣中加入6倍药材体积的水进行提取，然后进行检测分析。试剂为乙腈(德国Merck公司，批号:1499230-935)和甲酸(美国Sigma公司，批号:70221)。

1.3 主要仪器 质谱仪Triple TOF(美国AB SCIEX公司，型号:6600)；超高压液相色谱仪Infinity LC(美国安捷伦(Agilent)公司，型号:1290)；低温高速离心机(德国艾本德(Eppendorf)公司，型号:5430R)。

1.4 色谱分析条件 采用色谱柱为ACQUITY UPLC HSS T3 column(规格:100.0 mm×2.1 mm，粒径1.8 μm)，色谱柱温度维持在40 ℃恒定。流动相系统由两部分组成:A相为0.1%甲酸水溶液，B相为乙腈溶剂，流速控制在0.3 mL/min。梯度洗脱程序设置为：初始阶段(0.0~1.0 min)保持5%B相；1.0~9.0 min内进行线性梯度变化，B比例由5%升至100%；9.0~12.0 min维持100%B相；12.0~12.1 min快速降至初始比例5%；最终在12.1~15.0 min内平衡系统。分析过程中，每个样品进样量固定为5 μL。

1.5 质谱分析条件 质谱采用电喷雾离子源正、负离子模式进行检测，并使用高分辨和动态背景扣除模式以提高数据质量。其中一级离子扫描范围(m/z):80~1 200，分辨率70 000，二级打碎片离子分辨率17 500，能量梯度为20/40/60，鞘气流速40 arb(+)/38 kV(-)，辅助气流速10 arb，喷雾电压为3.5 kV(+)/2.8 kV(-)，离子传输管温度320 ℃，离子源温度300 ℃。

1.6 数据分析处理 首先，借助数据库KNAPSAcK(http://www.knapsackfamily.com/KNAPSAcK_Family)查阅文献建立天蝎祛痛颗粒药物的数据库，建立筛选方法，设定质量误差为±5 ppm对天蝎祛痛颗粒进行LC-MS分析。然后，在Pubchem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)数据库中对鉴定结果中的药物成

分的smiles和inchkey结构式进行查询。接着,利用ADMETlab(<https://admetlab3.scbdd.com/server/screening>)数据库预测化合物的药物参数。根据Lipinski规则,筛选条件为:(1)分子质量<500 Da;(2)氢键供体<5个;(3)氢键受体<10个;(4)脂水分配系数<5。最后,在HERB(<http://herb.ac.cn>)、TCMSP(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)数据库中查询中药单体的归属。

1.7 网络药理学分析

1.7.1 天蝎祛痛颗粒药物成分靶点及偏头痛靶点预测 将LC-MS检测得到的药物成分结合ChEMBL(<https://www.ebi.ac.uk/chembl>)数据库进行靶点预测。通过GeneCards(<https://www.genecards.org>)数据库检索偏头痛相关作用靶点。具体检索策略为:以“migraine”为关键词,设置物种筛选条件为“Homo sapiens”(人源基因),获取偏头痛潜在靶点并清洗数据、剔除重复项。

1.7.2 天蝎祛痛颗粒“中药-成分-靶点-疾病”网络的构建 将预测得到的药物成分靶点导入Cytoscape(<https://cytoscape.org>)软件,以自由度为基准进行可视化作图,得到“中药-成分-靶点-疾病”网络图。其中,药物成分及靶点以节点表示,节点间联系以边表示。

1.7.3 PPI蛋白互作网络的构建及关键靶点筛选 将天蝎祛痛颗粒的靶点和疾病的靶点导入至Venny(<https://bioinfogpcnb.csic.es/tools/venny/Index.html>)数据库中,通过韦恩图取两者交集,获得共同靶点。再将共同靶点导入String(<https://cn.string-db.org>)平台做PPI蛋白互作分析,用Cytoscape软件借助Degree值大于2倍中位数以及介数中心性(BC)、紧密度(CC)大于节点中位数进行筛选。

1.7.4 GO富集分析和KEGG通路富集分析 将韦恩图分析后的共同靶点导入至R语言中进行基因本体论(gene ontology, GO)富集分析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, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。利用clusterProfiler(4.6.2)进行富集分析,注释信息来源于org.Hs.eg.db(3.16.0),利用ggplot2(3.4.2)和patchwork(1.1.2)对数据进行可视化。KEGG分析后利用Pathview(1.38.0)将靶点数据映射到通路图上。

1.7.5 “中药-靶点-通路”网络构建 将KEGG富集所得前20位通路、通路上关键靶基因及天蝎祛痛颗粒对应成分导入Cytoscape软件,构建“中药-靶点-通路”网络图。(见图7)

1.8 动物实验验证

1.8.1 分组与造模 大鼠经过1周适应性喂养后,随机分为6组:空白组、模型组、天蝎祛痛颗粒低剂量组(0.43 g/mL)、天蝎祛痛颗粒中剂量组(0.86 g/mL)、天蝎祛痛颗粒高剂量组(1.72 g/mL)和阳性对照组(琥珀酸舒马普坦1 g/L),每组10只。除空白组外,其余各组大鼠通过颈背部皮下注射硝酸甘油(10 mg/kg)建立偏头痛模型,空白组注射等体积95%乙醇(2 mL/kg)。

1.8.2 给药 造模成功后,各组大鼠分别灌胃给予相应药物或生理盐水,连续14 d。本研究参照李仪奎《中药药理实验方法学》(第二版)中人和动物间按体表面积折算的等效价值比率来计算大鼠灌胃剂量。具体计算方法为:以临床成人(按

70 kg体质量计)的日用量95 g为基准,根据人与大鼠的体表面积换算系数为6.3,计算出大鼠的等效剂量(8.55 g/kg,即0.855 g/100 g,最终计为0.86 g/100 g)并设定为中剂量。低、高剂量分别为中剂量的1/2和2倍,即0.43 g/100 g和1.72 g/100 g。

1.8.3 观察指标 大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉后,断头处死并迅速取出脑干组织。采用蛋白提取试剂盒提取总蛋白,经BCA法测定蛋白浓度后,取等量蛋白进行SDS-PAGE电泳分离,转印至PVDF膜。5%脱脂奶粉室温封闭1 h后,依次加入一抗(4 °C孵育过夜)和二抗(室温孵育1 h),每个步骤间TBST洗涤3次,使用ECL显影。以GAPDH为内参,检测蛋白激酶A(protein kinase A,PKA)和反应结合蛋白(cAMP-response element binding protein,CREB)蛋白表达水平。

1.8.4 统计学方法 采用SPSS 20.0软件进行数据统计。计量资料符合正态分布以“均数±标准差”($\bar{x}\pm s$)表示,采用单因素方差分析,组间多重比较采用LSD检验。不符合正态分布且方差不齐的计量资料进行非参数检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 LC-MS分析结果 将LC-MS检测到的数据导入Compound discover软件中,进行峰识别、去卷积、基线校正、色谱峰积分和物质鉴定。得到正、负离子模式总离子流图,如图1~2所示。结果显示经过筛选,49种化学成分为天蝎祛痛颗粒的有效成分,其中18个来自柴胡,14个来自白芷,10个来自川芎,9个来自芥子,7个来自甘草,5个来自郁李仁,4个来自天麻,3个来自细辛,2个来自白芍,1个来自全蝎,1个来自香附。且N1494来自于甘草、芥子;N1478来自于柴胡、甘草、芥子;P1869来自于白芷、柴胡、细辛;P2732来自于川芎、白芷、柴胡、细辛;N1409来自于白芷、柴胡、甘草;P1149来自于川芎、柴胡、天麻、郁李仁;P0357来自于川芎、柴胡、芥子。(见表1)

2.2 天蝎祛痛颗粒治疗偏头痛靶点预测结果 最终预测得到了1 841个天蝎祛痛颗粒的潜在靶点,去重后得到1 059个代谢物靶点,3 866个偏头痛潜在靶点。通过venny数据库对所收集到的天蝎祛痛颗粒与偏头痛的潜在靶点进行分析,得到361个天蝎祛痛颗粒与偏头痛的共有靶点。这些共有靶点即为天蝎祛痛颗粒治疗偏头痛的潜在靶点。(见图3)

2.3 “中药-成分-靶点-疾病”多维网络 在Cytoscape软件中,构建了一个展示天蝎祛痛颗粒配方中“中药-成分-靶点-疾病”关联的网络图(见图4)。此网络图共有147个节点,694条边,图中节粉色正方形代表药物,浅绿色圆形药物成分,橘色三角形代表靶点。该网络图布局上以疾病为核心,体现了中药多成分多靶点的特点。从药物成分角度对网络进行分析,发现其中有6个药物活性成分拥有超过30个作用靶点,大豆素(Daidzein)、异甘草素(Isoliquiritigenin)、滨蒿内酯(Scoparone)、香豆素(Coumarin)、东莨菪内酯(Scopoletin)、7-甲氧基香豆素(7-Methoxycoumarin),分别能与98、47、43、43、30个潜在靶点基因相互作用,综合发现药物活性成分多与柴胡、芥子、甘草、白芷相关,其中7-Methoxycoumarin来自全蝎,可见全蝎在治疗偏头痛方面具有一定的作用,具体药物成分如表2所示。

表1 天蝎祛痛颗粒的前49种药物成分

ID	化学成分	化学式	成分含量	电荷	中药来源
N0273	芍药苷(Paeoniflorin)	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	480.162 58	负	白芍
P0984	芒柄花苷(Ononin)	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	430.126 63	正	甘草
P1332	比克白芷素(Byakangelicin)	C ₁₇ H ₁₈ O ₇	334.104 92	负	白芷
P1900	珊瑚菜素(phellopterin)	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300.099 78	正	白芷
N1437	柚皮素(Naringenin)	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.068 59	负	甘草
P2157	欧前胡素(Imperatorin)	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.089 19	负	白芷
P2399	异欧前胡素(Isoimperatorin)	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.089 16	负	白芷
N1494	芒柄花黄素(Formononetin)	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	268.073 56	正	甘草,芥子
N1478	异甘草素(Isoliquiritigenin)	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256.073 42	负	柴胡,甘草,芥子
N1277	黄豆昔元(Daidzein)	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	254.058 01	正	芥子
P1678	异茴芹内酯(Isopimpinellin)	C ₁₃ H ₁₀ O ₅	246.052 89	正	白芷
P2360	异丁基黄酮(8-hydroxybergapten)	C ₁₂ H ₈ O ₅	232.037 16	正	白芷
P1003	芥子酸(Sinapinic acid)	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	224.068 82	正	川芎
P2390	二丁基羟基甲苯(Butylated hydroxytoluene)	C ₁₅ H ₂₄ O	220.182 80	正	柴胡
P1869	石竹烯氧化物(Caryophyllene oxide)	C ₁₅ H ₂₄ O	220.182 79	正	白芷,柴胡,细辛
P0285	反玉米素(trans-Zeatin)	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O	219.112 08	正	郁李仁
P1220	滨蒿内酯(Scoparone)	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	206.058 17	正	柴胡
P2732	姜黄烯(Curcumene)	C ₁₅ H ₂₂	202.172 24	正	川芎,白芷,柴胡,细辛
P1981	白当归醚(Byakangelicol)	C ₁₇ H ₁₆ O ₆	196.073 82	正	白芷
P1045	阿魏酸(Ferulic acid)	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.058 20	正	郁李仁
P2121	洋川芎内酯A(Senkyunolide A)	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	192.114 98	负	川芎
N1409	东莨菪亭(Scopoletin)	C ₁₀ H ₈ O ₄	192.041 67	负	白芷,柴胡,甘草
P2435	丁基苯酞(Butylphthalide)	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190.099 47	正	郁李仁
P2302	川芎内酯(Ligustilide)	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190.099 38	正	川芎,白芷
P1638	丁烯基苯酞(3-Butyldienephthalide)	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	188.083 86	正	川芎,柴胡
P0351	酪氨酸(L-Tyrosine)	C ₉ H ₁₁ NO ₃	181.074 04	正	芥子
P1043	甲氧基香豆素(7-Methoxycoumarin)	C ₁₀ H ₈ O ₃	176.047 53	正	全蝎
N0971	丙酸(propanoic acid)	C ₃ H ₆ O ₃	166.062 12	负	柴胡
P0382	苯丙氨酸(L-Phenylalanine)	C ₉ H ₁₁ NO ₂	165.079 07	正	芥子
P1621	苯戊酮(Valerophenone)	C ₁₁ H ₁₄ O	162.104 46	负	川芎,柴胡
P0706	黄樟油精(Safrole)	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	162.068 18	正	细辛
P2357	联苯(Biphenyl)	C ₁₂ H ₁₀	154.078 16	负	柴胡
P0945	香草醇(Vanillyl alcohol)	C ₈ H ₁₀ O ₃	154.063 07	正	天麻
P1149	香草醛(Vanillin)	C ₈ H ₈ O ₃	152.047 58	正	川芎,柴胡,天麻,郁李仁
P1135	反式茴香醚(trans-Anethole)	C ₁₀ H ₁₂ O	148.089 04	正	白芷,甘草
P0344	左旋谷氨酸(L-Glutamic acid)	C ₅ H ₉ NO ₄	147.053 22	正	芥子
P1248	香豆素(Coumarin)	C ₉ H ₆ O ₂	146.036 89	负	白芷,柴胡
N1423	水杨酸(Salicylic acid)	C ₇ H ₆ O ₃	138.030 65	负	白芍,香附
P1057	四甲基吡嗪(Tetramethylpyrazine)	C ₈ H ₁₂ N ₂	136.100 21	正	川芎
P0386	次黄嘌呤(Hypoxanthin)	C ₅ H ₄ N ₄ O	136.038 51	正	柴胡
P0302	腺嘌呤(Adenine)	C ₅ H ₅ N ₅	135.054 55	正	川芎,天麻
P0380	天门冬氨酸(L-Aspartic acid)	C ₄ H ₇ NO ₄	133.037 61	正	芥子
P2338	愈创木酚(Guaiacol)	C ₇ H ₈ O ₂	124.052 62	正	柴胡
N1078	羟基苯甲醛(4-Hydroxybenzaldehyde)	C ₇ H ₆ O ₂	122.035 95	负	天麻
P2234	对二甲苯(p-Xylene)	C ₈ H ₁₀	106.078 52	正	甘草
P0765	苯甲醛(Benzaldehyde)	C ₇ H ₆ O	106.042 28	正	白芷,柴胡
P0174	胆碱(Choline)	C ₅ H ₁₃ NO	103.100 04	正	白芥子
P0357	呋喃甲醛(Furfural)	C ₅ H ₆ O ₂	98.037 15	正	柴胡
P0803	糠醛(Furfural)	C ₅ H ₄ O ₂	96.021 50	正	川芎,柴胡,芥子

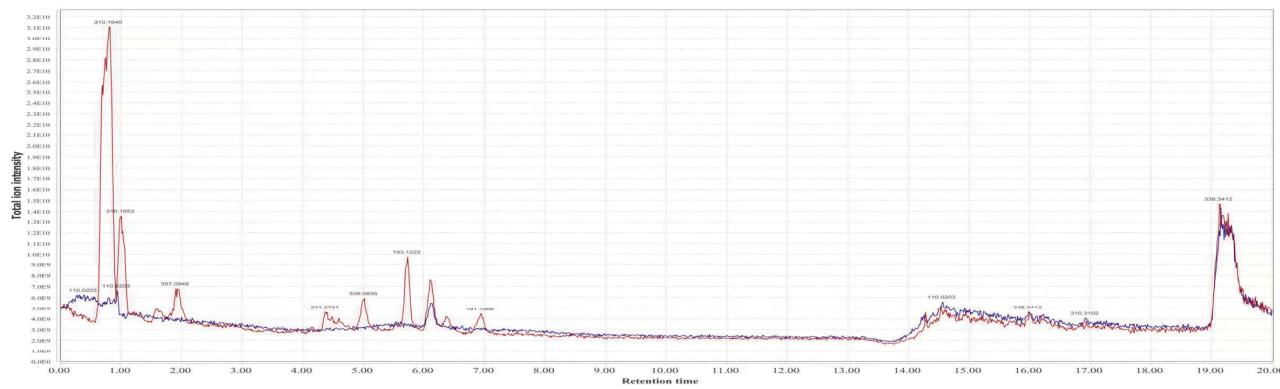


图1 天蝎祛痛颗粒的正离子流图

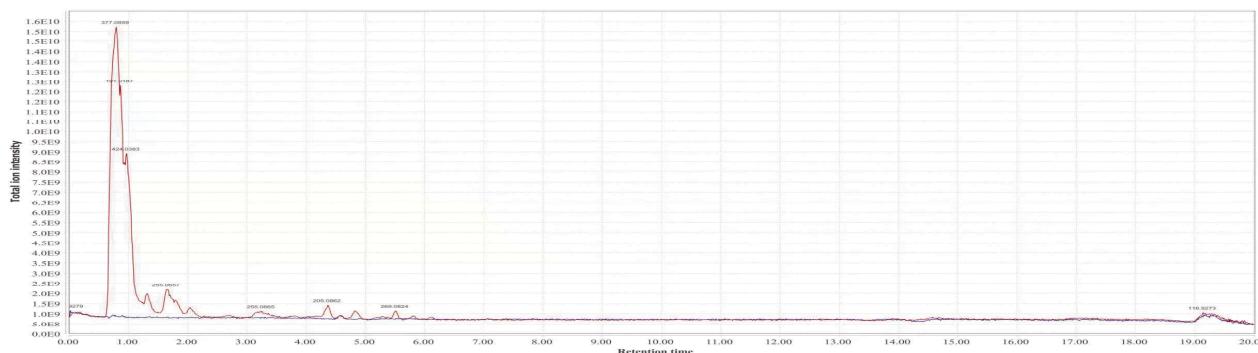


图2 天蝎祛痛颗粒的负离子流图

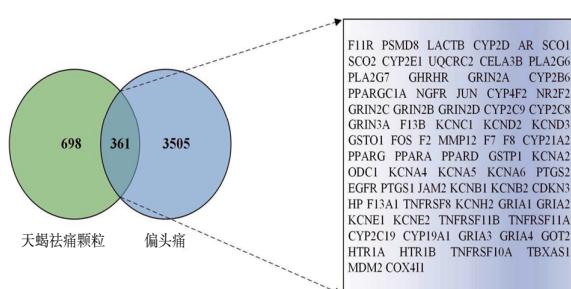


图3 天蝎祛痛颗粒与偏头痛靶点Venn图

表2 天蝎祛痛颗粒关键药物成分表

化合物	所属中药	Degree值
大豆素(Daidzein)	芥子	98
异甘草素(Isoliquiritigenin)	柴胡,甘草,芥子	47
滨蒿内酯(Scoparone)	柴胡	43
香豆素(Coumarin)	白芷,柴胡	43
东莨菪内酯(Scopoletin)	白芷,柴胡,甘草	43
7-甲氧基香豆素(7-Methoxycoumarin)	全蝎	30

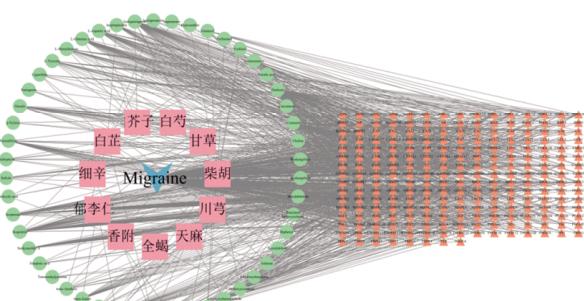


图4 “中药-成分-靶点-疾病”网络图

2.4 PPI网络分析及核心靶点分析 将天蝎祛痛颗粒活性成分和偏头痛靶点取交集获得361个交集靶点,推测这些靶点是天蝎祛痛颗粒治疗偏头痛作用的靶点。导入Cytoscape软件中构建的蛋白质相互作用(PPI)网络(见图5)。该图包括43个节点,595条边。利用Cytoscape软件中的cytoHubba插件,筛选出Degree值超中位数2倍(29)、BC及CC大于节点中位数的21个关键靶点基因,分别为肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、非受体酪氨酸激酶(non-receptor tyrosine kinase, SRC)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、胰岛素(insulin, INS)、伽玛干扰素(interferon gamma, IFNG)、Fos原癌基因AP-1转录因子亚基(fosproto-oncogene AP-1 transcription factor subunit, FOS)、原癌基因AP-1转录因子亚基(junproto-oncogene AP-1 transcription factor subunit, JUN)、前列腺素内过氧化物合成酶(prostaglandin-endoperoxidesynthase 2, PTGS2)、基质金属蛋白酶-9(matrix metallopeptidase 9, MMP-9)、雌激素受体相关受体ESR1(estrogen receptor-related receptor 1, ESR1)、丝裂原活化蛋白激酶3(mitogen-activated protein kinase 3, MAPK3)、B细胞淋巴瘤-2蛋白(B cell lymphoma-2 protein, BCL2)、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM1)、单核细胞趋化蛋白-2(monocyte chemoattractant protein-1, CCL2)、NF-κB抑制剂α(nFK-B inhibitor alpha, NFKBIA)、磷酸酶和张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)、RelA蛋白(relA protein, RELA)、胰岛素样生长因子1(human insulin-like growth factor-1, IGF1)、过氧化物酶增殖物激活受体γ(peroxisome proliferator activated receptor gamma, PPARG)、淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)、Bcl-2样蛋白1(bcl-2-like protein 1,

BCL2L1)。其中TNF、EGFR、IFNG、FOS、JUN、MAPK3、NFKBIA均为治疗偏头痛的炎症相关靶点。推测天蝎祛痛颗粒通过多个靶点的协同调控达到治疗偏头痛的作用。

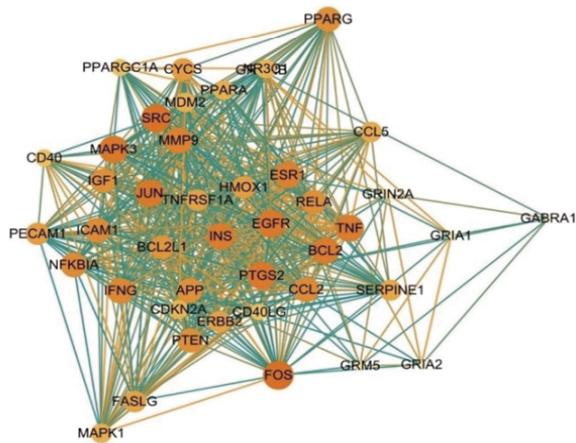


图5 偏头痛-天蝎祛痛颗粒的靶点PPI网络图

2.5 GO和KEGG通路富集分析及“中药-靶点-通路”网络的构建 通过DAVID数据库对361个交集靶点进行GO功能注释和KEGG通路富集分析。GO富集分析发现在生物学过程(GO-BP)方面,共有704项条目被显著富集,核心聚焦于突触传递、炎症反应及膜电位的调节等领域;细胞组分(GO-CC)分析显示,71个富集条目主要分布于突触膜结构、转运体复合物及神经元胞体相关;分子功能(GO-MF)鉴定出94个显著条目,包括离子通道活性、神经受体活性及离子跨膜转运体活性等,前10条GO富集结果直方图如图6所示。

KEGG通路富集分析揭示了139条显著路径(Count>10),将这些发现均按照 $-\log_{10}$ 转换的P值大小降序排列,其中最为富集的前20条路径被挑选出来,根据Count值排列前20位的通路,并绘制气泡图(见图7)。这些路径紧密关联于偏头痛的炎症机制,涵盖了cAMP、MAPK、TNF、PI3K-Akt、IL-17及NF- κ B等关键信号传导通路。绘制“中药-靶点-通路”网络图,如图8所示。通过分析该网络图可以预测天蝎祛痛颗粒在治疗偏头痛的机制中,可能通过调节一条或多条通路而达到治疗偏头痛的效果,其中芥子、柴胡起着重要的治疗作用。

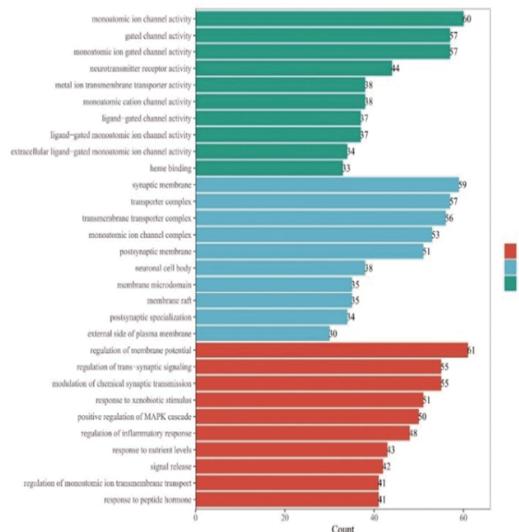


图6 靶点蛋白GO富集分析分类直方图

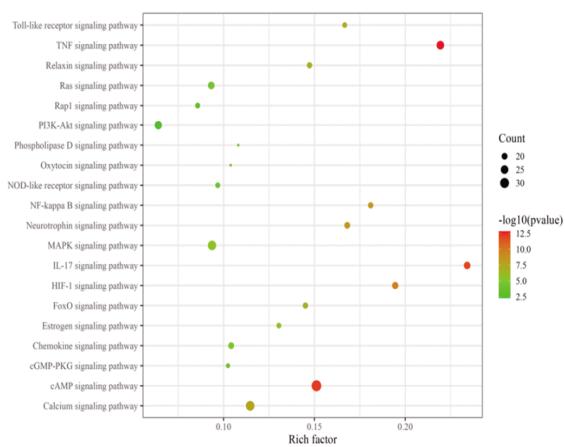


图7 靶点蛋白KEGG富集分析分类气泡图

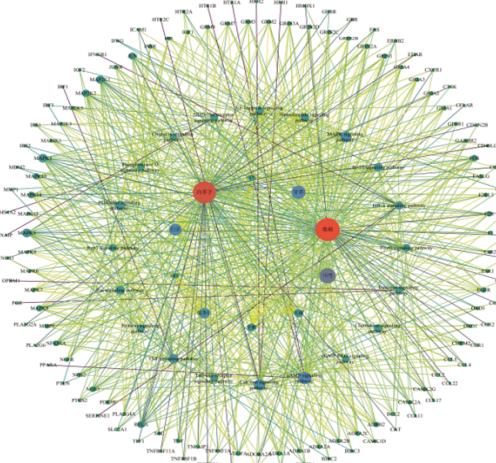


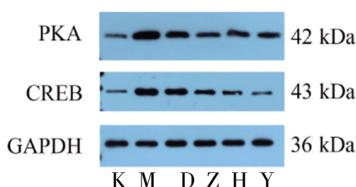
图8 “中药-靶点-通路”网络图

2.6 动物实验结果 与正常组比较,模型组PKA、CREB蛋白表达水平均显著增加($P<0.05$),表明酸甘油诱导的偏头痛模型激活了cAMP-PKA-CREB信号通路。与模型组比较,天蝎祛痛颗粒低、中、高剂量组PKA、CREB蛋白表达均显著下降($P<0.05$),说明天蝎祛痛颗粒给药后抑制了cAMP信号通路的过度激活。值得注意的是,天蝎祛痛颗粒中剂量组表现出最优的调控效果,其PKA和CREB表达水平与模型组比较分别降低了50.9%和62.3%($P<0.05$),且与阳性对照组无显著差异($P>0.05$),提示中剂量是最优剂量。(见表3、图9)

表3 各组模型大鼠PKA、CREB指标的表达情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	PKA	CREB
空白组	3	0.35±0.01	0.20±0.02
模型组	3	1.14±0.07 ^a	1.22±0.05 ^a
天蝎祛痛颗粒低剂量组	3	0.82±0.02 ^{ab}	0.87±0.12 ^{ab}
天蝎祛痛颗粒中剂量组	3	0.56±0.02 ^{abc}	0.46±0.06 ^{abc}
天蝎祛痛颗粒高剂量组	3	0.75±0.04 ^{abcd}	0.63±0.10 ^{abcd}
阳性对照组	3	0.54±0.03 ^{abce}	0.40±0.04 ^{abce}
F		174.790	75.156
P		0.000	0.000

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与天蝎祛痛颗粒低剂量组比较,^c $P<0.05$;与天蝎祛痛颗粒中剂量组比较,^d $P<0.05$;与天蝎祛痛颗粒高剂量组比较,^e $P<0.05$ 。



注:K.空白组;M.模型组;D.天蝎祛痛颗粒低剂量组;Z.天蝎祛痛颗粒中剂量组;H.天蝎祛痛颗粒高剂量组;Y.阳性对照组。

图9 cAMP信号通路相关蛋白表达水平检测图

3 讨 论

偏头痛常常始于童年或青春期，并在中青年时期达到其发病的最高峰^[9]。据统计约60%的偏头痛患者报告有家族患病史，研究已鉴定出一些基因变异，例如MTHFR基因中的C677T突变为增加偏头痛遗传风险的关键因素^[10]。目前针对偏头痛的病因病机研究，主要有神经源、血管源、三叉神经血管源等学说。而三叉神经血管学说在偏头痛的发病机制中起着主要的作用，其核心内容为神经源性炎症反应及痛觉敏化^[11]，故在治疗偏头痛时，缓解炎症损伤同样是值得注意的关键点。西医治疗偏头痛的药物主要包括曲坦类、非甾体抗炎药、β受体阻滞剂、抗癫痫药物及降钙素基因相关肽(CGRP)受体拮抗剂等^[12]，但这些药物均存在不同程度的不良反应与长期治疗的副作用。

中医学将偏头痛归为“头痛”范畴，属“脑风”“首风”“头风”“偏头风”“雷头风”^[13-14]。散偏汤出自清朝医家陈士铎的《辨证录·头痛门》，是治疗偏头痛的专方，在临幊上表现出显著的疗效，主要用于治疗气滞血瘀型偏头痛，以疏肝解郁，活血止痛为治疗治则^[15]。天蝎祛痛颗粒是在散偏汤基础上加天麻、全蝎和细辛而成。天麻入肝经以平肝息风；全蝎力专效猛，配合芥子加强搜风祛痰、通络止痛之功；细辛通经止痛，引药入经以达巅脑。现代药理学研究表明，不论是通过中枢神经系统还是外周施药，全蝎都展现出了显著的疼痛缓解效果^[16]。在临床实践中，单独使用全蝎来治疗偏头痛，也已经显示出明确的治疗效益。细辛可温经散寒，缓急止痛。细辛的化学成分及药理作用表明，细辛具有很好的止痛效果^[17]。该药可有效降低头痛积分、减少止痛药使用频率，且疗效常优于盐酸氟桂利嗪，并能降低患者血清中降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)的表达^[18]。现代药理研究发现，散偏汤可有效降低偏头痛大鼠外CGRP，改善炎症反应，抑制痛觉信息的传递^[19]。

“中药-药物成分-靶点”网络药理学预测发现，天蝎祛痛颗粒的核心有效成分靶点分别为Daidzein、Isoliquiritigenin、Scoparone、Coumarin、Scopoletin、7-Methoxycoumarin。这些成分主要来源于柴胡(其中涉及4个)、白芷(其中涉及2个)、芥子(其中涉及2个)、甘草(其中涉及2个)、全蝎(其中涉及1个)。PPI分析后筛选出了21个关键靶点，核心靶点主要有TNF、SRC、EGFR、INS等。TNF水平的变化被认为是偏头痛易感性和严重程度的重要危险因素^[20]。TAHERI M等^[21]研究发现，偏头痛患者的TNF-α表达水平高于健康对照组。TANGY Y等^[22]研究显示，通过椎管内注射三叉神经尾侧核的TNF-α受体拮抗剂可

以完全阻断疼痛的延长。另有研究表明，儿童体内的TNF-α水平波动比成人更大，这种差异可能与成人偏头痛患者频繁使用镇痛或预防性治疗药物有关^[23]。SRC在脊髓中调节突触可塑性，对神经性疼痛具有重要影响^[24]。在辣椒素诱导的偏头痛大鼠模型中，三叉神经尾核中SRC参与调控CGRP水平及中枢敏化的形成^[25]。EGFR是一种生长因子受体，其受体以跨膜蛋白的形式定位于细胞表面。配体与EGFR结合后，会诱导受体发生构象变化，激活受体胞内区域的酪氨酸激酶活性^[26]。孙星怡等^[27]针对中药治疗偏头痛的方剂核心药物配伍规律及其分子作用机制进行了探讨，其中EGFR被指出可能是关键靶点之一。研究表明，部分中药成分可能通过作用于EGFR及其关联的信号传导路径，从而对偏头痛产生治疗效果。INS是由胰岛β细胞分泌的一种蛋白质激素。董治燕等^[28]研究发现α-硫辛酸可以降低偏头痛发作的频次，减轻发作时的疼痛程度，抑制炎性细胞因子的释放，改善胰岛素抵抗患者偏头痛的症状。一项全基因组关联研究^[29]发现，偏头痛的相关基因组风险位点不仅与高血压和外周动脉疾病等血管问题有关，还与空腹血糖和空腹胰岛素水平相关。

KEGG富集分析发现cAMP、MAPK、TNF、PI3K-Akt、IL-17、NF-κB等信号通路为治疗偏头痛的主要通路，证实了偏头痛治疗涉及多靶点、多途径的特点。环磷酸腺苷(cAMP)，作为与偏头痛治疗关联最为紧密的信号传导途径，是一种关键的蛋白质激酶激活物质。cAMP存在于人体内，扮演着细胞内通信中“第二信使”的角色。它在激素及神经递质与特定目标细胞互动后，通过促进腺苷酸环化酶活化并催化腺苷三磷酸(ATP)转化而生成，从而介导一系列的生理反应^[30]。cAMP可激活PKA使其磷酸化，在细胞活动中发挥作用参与神经元细胞的调控^[31]。PKA在神经元内表达丰富。cAMP/PKA可磷酸化CREB，启动下游靶基因。细胞内cAMP通路，可能通过PKA或Epac途径，调控转录因子NF-κB、CREB活性，从而减少促炎因子TNF-α、IL-12等释放，抑制炎细胞活化。天蝎祛痛颗粒可以抑制PKA、CREB蛋白的表达，从而抑制cAMP信号通路。总之，cAMP信号通路激活时，可以抑制丝裂原刺激的炎细胞、星形胶质和小胶质细胞活化，减少多种促炎致痛因子的生成，从而抑制在病理性疼痛。

本研究结果表明cAMP信号通路为天蝎祛痛颗粒治疗偏头痛的关键通路。动物实验证发现天蝎祛痛颗粒可以抑制PKA、CREB蛋白的表达，从而抑制cAMP信号通路。但网络药理学存在一定的局限性，实验研究也未能进一步探讨cAMP信号通路与炎症反应关系，尚不能肯定其具体作用机制。这些都需要进一步研究。

参考文献

- ZHANG N S, ROBBINS M S. Migraine[J]. Ann Intern Med, 2023, 176(1):ITC1-ITC16.
- 中国医师协会神经内科医师分会,中国研究型医院学会头痛与感觉障碍专业委员会.中国偏头痛急性期治疗指南(第一版)[J].中国疼痛医学杂志,2024,30(10):721-734.
- WALISZEWSKA-PROSÓŁ M, GRANDI G, ORNELLO R,

- et al. Menopause, perimenopause, and migraine: Understanding the intersections and implications for treatment[J]. *Neurol Ther*, 2025, 14(3):665–680.
- [4] KHAN J, AL ASOOM L I, AL SUNNI A, et al. Genetics, pathophysiology, diagnosis, treatment, management, and prevention of migraine[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 139:111557.
- [5] ASHINA M. Migraine[J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(19): 1866–1876.
- [6] 徐若愚,王家琛,林玥彤,等.1990—2019年中国偏头痛发病趋势及其年龄-时期-队列分析[J].中国循证医学杂志, 2024, 24(6):658–665.
- [7] FEIGIN V L, NICHOLS E, ALAM T, et al. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(5):459–480.
- [8] 秦瑛烁.天蝎祛痛颗粒治疗气滞血瘀型慢性偏头痛临床疗效观察[D].呼和浩特:内蒙古医科大学, 2024.
- [9] 白志刚.加味佛手定痛汤联合盐酸氟桂利嗪胶囊治疗痰瘀阻络型偏头痛临床疗效观察[D].兰州:甘肃中医药大学, 2022.
- [10] 中国中西医结合学会神经科专业委员会.中国偏头痛中西医结合防治指南(2022年)[J].中国中西医结合杂志, 2023, 43(5):517–526.
- [11] GBD 2015 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015[J]. *Lancet*, 2016, 388(10053):1545–1602.
- [12] 王彦霖,庞森一,王培培,等.偏头痛与睡眠-觉醒障碍互作机制的研究进展[J].中国疼痛医学杂志, 2025, 31(1): 15–22.
- [13] 薛博瑜,吴伟.中医内科学[M].3版.北京:人民卫生出版社, 2016.
- [14] 赵仕博,赵永烈,邓硕秋,等.基于网络药理学和药效实验探究一粒金经鼻给药治疗偏头痛的机制[J].中医药导报, 2023, 29(10):30–35, 73.
- [15] 孙亚丽,赵继业,秦瑛烁,等.基于NF-κB信号通路探讨中医药治疗偏头痛的研究进展[J].实用中医内科杂志, 2024, 38(12):88–91.
- [16] 徐薪越.祛风通络方联合针刺治疗周围性面瘫风寒外袭证的临床疗效观察[D].唐山:华北理工大学, 2024.
- [17] 贾文瑞,聂安政.细辛挥发油镇痛抗炎作用机制研究[J].中医药信息, 2024, 41(1):27–31.
- [18] 李小竟,卢秀煦,李心乐,等.吕光耀教授辨治岭南地区偏头痛的临床经验[J].中西医结合心脑血管病杂志, 2025, 23(9):1429–1432.
- [19] 王蕾,贾菁楠,王依琳,等.基于4D-DIA蛋白质组学探讨散偏汤对慢性偏头痛模型大鼠的作用机制[J].中国中药杂志, 2024, 49(13):3644–3656.
- [20] SUDERSHAN A, SUDERSHAN S, SHARMA I, et al. Role of TNF- α in the pathogenesis of migraine[J]. *Pain Res Manag*, 2024, 2024:1377143.
- [21] TAHERI M, NICKNAFS F, HESAMI O, et al. Differential expression of cytokine-coding genes among migraine patients with and without aura and normal subjects[J]. *J Mol Neurosci*, 2021, 71(6):1197–1204.
- [22] TANG Y Y, LIU S F, SHU H, et al. Gut microbiota dysbiosis enhances migraine-like pain via TNF α upregulation[J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57(1):461–468.
- [23] LAMPL C, MAASSEN VANDENBRINK A, DELIGIANNI C I, et al. The comparative effectiveness of migraine preventive drugs: A systematic review and network meta-analysis[J]. *J Headache Pain*, 2023, 24(1):56.
- [24] CAI Y X, XU J, CHENG Q H. Proto-oncogene tyrosine-protein kinase SRC (Src) inhibition in microglia relieves neuroinflammation in neuropathic pain mouse models[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(2):11390–11398.
- [25] GE M M, ZHOU Y Q, TIAN X B, et al. Src-family protein tyrosine kinases: A promising target for treating chronic pain[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125:110017.
- [26] YAMADA K, SHIOYA R, NISHINO K, et al. Proximity extracellular protein-protein interaction analysis of EGFR using AirID-conjugated fragment of antigen binding[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):8301.
- [27] 孙星怡,宋志会,彭真,等.基于专利网的中药治疗偏头痛方剂核心药物配伍规律及分子作用机制研究[J].天津中医药, 2022, 39(11):1452–1458.
- [28] 董治燕,马彩霞,王柳毅.α-硫辛酸改善胰岛素抵抗患者偏头痛症状[J].中国临床研究, 2018, 31(12):1652–1655.
- [29] PAN Y J, LIN M C, LIOU J M, et al. A population-based study of familial coaggregation and shared genetic etiology of psychiatric and gastrointestinal disorders [J]. *Commun Med*, 2024, 4:180.
- [30] 李雪军,姜之炎,王淑敏,等.中医药从“阴阳失调”理论调控cAMP/PKA信号通路治疗注意缺陷多动障碍的研究进展[J].中国中医基础医学杂志, 2024, 30(5):902–908.
- [31] 乔明亮,梁硕,孟毅,等.柴胡皂苷A调节cAMP/PKA/CREB信号通路对失眠大鼠的改善作用及机制研究[J].中药新药与临床药理, 2024, 35(5):633–638.

(收稿日期:2025-06-02 编辑:时格格)