

基于 GC-MS 和网络药理学研究七味广枣散挥发油防治心血管疾病的成分及机制

李书迪¹, 齐和日玛¹, 于景华², 郭慧卿¹, 王鑫晶¹, 成日青^{1*}

(1. 内蒙古医科大学药学院, 内蒙古 呼和浩特 010110; 2. 内蒙古医科大学第一附属医院, 内蒙古 呼和浩特 010059)

摘要: **目的** 通过 GC-MS 分析七味广枣散挥发油防治心血管疾病的成分, 通过网络药理学预测其可能作用机制。**方法** GC-MS 分析成分后, 利用 Swiss、SuperPred、DisGeNET 数据库获取成分和疾病靶点, Cytoscape 3.6.0 软件构建化学成分-作用靶点网络, String 平台、Cytoscape 3.6.0 构建靶点 PPI 网络, DAVID 平台进行基因本体 (GO) 功能富集及 KEGG 通路富集分析, Discovery Studio 软件对网络模型分析结果进行分子对接验证。**结果** 共鉴定出 35 种成分, 筛选得到 9 个活性化合物、47 个关键靶点、91 个生物过程、67 条信号通路。分子对接显示, 关键靶点与活性成分大多具有较好的结合能力。**结论** 七味广枣散挥发油可能通过丁香酚等活性成分、APP 等关键靶点作用来调控血小板活化、细胞增殖、凋亡及坏死等多个生物学过程, 从而协同发挥防治心血管疾病的作用。

关键词: 七味广枣散; 挥发油; 心血管疾病; 化学成分; 作用机制; GC-MS; 网络药理学

中图分类号: R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)05-1656-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.05.053

随着人们生活习惯及饮食结构的改变, 心血管疾病在我国的发病率及死亡率逐年上升。据《中国心血管病报告 2018》统计, 我国心血管疾病死亡率居城乡居民死亡原因首位, 占死亡构成的 40% 以上, 已成为当今社会人群健康所面临的重要公共卫生问题^[1]。

七味广枣散为临床常用的蒙古族验方, 由广枣、丁香、肉豆蔻、沉香、木香、枫香脂、牦牛心 7 味药材组成, 具有养心益气, 安神之功效, 用于防治胸闷疼痛、心悸气短、心神不安、失眠健忘等症。方中丁香、沉香、肉豆蔻、木香、枫香脂均富含挥发油成分, 易透过血脑屏障, 具有药理活性丰富、起效靶点多、不良反应较少等特点^[2], 该类成分除了具有抗炎、抑菌、抗病毒活性外, 还具有保护血管内皮、抗氧化、改善心肌功能、调节心血管活性等多种对心血管有益的作用^[3-7]。蒙医药在防治心血管疾病方面具有一定特色优势, 有多种临床常用、效果显著的传统方剂, 如三味檀香散、肉豆蔻五味丸、阿敏·额尔敦、八味沉香散等, 其组成均含挥发性药味, 如肉豆蔻、沉香、木香、丁香等, 表明在抗心血管疾病类蒙药处方中挥发油可能是一类重要的有效成分, 但目前相关研究较少。因此, 本研究通过 GC-MS 对七味广枣散挥发油进行成分分析, 并借助网

络药理学筛选出防治心血管疾病的主要活性成分、关键靶点及潜在信号通路, 从系统生物学角度探讨其可能的作用机制。

1 材料

1.1 仪器 Trace DSQ II GC-MS 仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); ZTB-A 磁力加热搅拌电热套 (山东鄞城华鲁电热仪器有限公司); 800Y 型多功能粉碎机 (永康市铂欧五金制品有限公司); 10 mL 挥发油提取器 (安徽省天长市东亚玻璃仪器厂)。

1.2 药材与试剂 广枣 (产地广东, 批号 C17082902)、丁香 (产地广西, 批号 193090101)、木香 (产地云南, 批号 1811001)、沉香 (产地海南, 批号 181411001)、肉豆蔻 (产地广西, 批号 190920201)、牦牛心 (产地西藏, 批号 170701)、枫香脂 (产地福建, 批号 1811010589) 均购自内蒙古天康蒙中医药有限责任公司, 经内蒙古医科大学渠弼教授鉴定为正品。乙酸乙酯为分析纯; 水为超纯水。

2 方法

2.1 挥发油提取 参照 2015 年版《中国药典》四部通则中“2204 挥发油测定法”项下“甲法”操作, 称取七味广枣散 120 g, 加 5 倍量水回流提取 6 h, 得黄色澄明液体,

收稿日期: 2020-11-25

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目 (2018MS08032)

作者简介: 李书迪 (1996—), 女 (蒙古族), 硕士生, 研究方向为药物新剂型。E-mail: Llishudi@163.com

* 通信作者: 成日青 (1975—), 女, 硕士, 教授, 研究方向为药物新剂型与制剂新技术。E-mail: rqcheng@126.com

网络出版日期: 2021-06-07

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20210607.0935.002.html>

即为挥发油。

2.2 GC-MS 分析

2.2.1 GC 条件 TR-5MS 色谱柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm);程序升温(初始温度 50℃,保持 1 min,以 5℃/min 升温至 280℃,保持 3 min);进样口温度 250℃;检测器 FID,温度 240℃;载气氮气,纯度 99.99%,体积流量 1.0 mL/min;分流比 50:1;氢气体积流量 20 mL/min;空气体积流量 400 mL/min;进样量 2 μL。

2.2.2 MS 条件 EI 电离;离子源温度 250℃;接口温度 250℃;电子轰击能量 70 eV;溶剂延迟 3 min;扫描范围 m/z 50~650。

2.2.3 挥发油成分分析 取“2.1”项下挥发油适量,乙酸乙酯溶解后在“2.2”项条件下进样测定,质谱数据经 NIST 2.0 质谱数据库检索匹配后再与文献[8-11]报道比对,确定各化学成分。

2.3 网络药理学研究

2.3.1 成分数据收集 以“2.2.3”项下鉴定出的成分为研究对象,在 Pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中以成分的 CAS 号为检索词,得到其分子结构,并保存为 Canonical SMILES 格式。

2.3.2 成分靶点获取 将“2.3.1”项下 SMILES 格式文件导入 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)、SuperPred 数据库(<http://prediction.charite.de/>)中,选定研究物种为“*Homo sapiens*”,得到成分的对应该靶点,保存数据,整合、去重后得到化合物的潜在作用靶点。

2.3.3 疾病靶点获取 使用 DisGeNET 数据库(<https://www.disgenet.org/>),以心血管相关疾病为关键词进行检索,获得作用靶点,将其导入 Excel 表格中,整合、去重后得到疾病的潜在作用靶点。

2.3.4 潜在作用靶点获取 将化合物、疾病的靶点录入 Venny 2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)在线作图工具平台上,绘制韦恩图,得到两者交集(即共同靶点),作为潜在作用靶点。

2.3.5 网络模型构建及分析 将“2.3.4”项下潜在作用靶点及其对应成分分别导入 Cytoscape 3.6.0 软件,构建“化学成分-作用靶点”网络,使用 Network Analyzer 功能对网络进行分析,根据节点 Degree、Betweenness、Closeness 筛选出七味广枣散挥发油防治心血管疾病的主要活性成分。

2.3.6 PPI 网络构建及分析 将“2.3.4”项下筛选得到的交集靶点输入 STRING 数据库(<https://string-db.org/>)中,构建蛋白相互作用网络模型,选择物种为“*Homo sapiens*”,设定最低相互作用阈值为“Highest confidence(0.9)”,其余参数保持默认设置,获得蛋白相互作用信息,保留文件中的节点信息(node1、node2)并将其导入 Cytoscape 3.6.0 软件,构建 PPI 网络并进行拓扑指标分析,筛选出关键靶点。

2.3.7 富集分析 将筛选得到的关键靶点输入 DAVID 数

据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)中,进行 GO 富集分析(包括生物过程、细胞组分、分子功能)和 KEGG 信号通路分析。

2.3.8 分子对接 通过 PDB 数据库(<http://www.rcsb.org/>)下载靶蛋白的 3D 结构并保存为 PDB 格式,通过 Pubchem 数据库下载成分的 3D 结构并保存为 SDF 格式,将准备好的靶蛋白和化合物分子结构导入 Discovery Studio 软件,进行分子结构常规预处理,再选择 Libdock 模块进行分子对接,分析其结合活性。

3 结果

3.1 挥发油成分鉴定 挥发油总离子流图见图 1,通过质谱数据库检索及文献比对,共鉴定出 35 种成分,其中丁香酚含量最高,占总量的 42.83%,其次是肉豆蔻醚,占总量的 7.06%,见表 1。

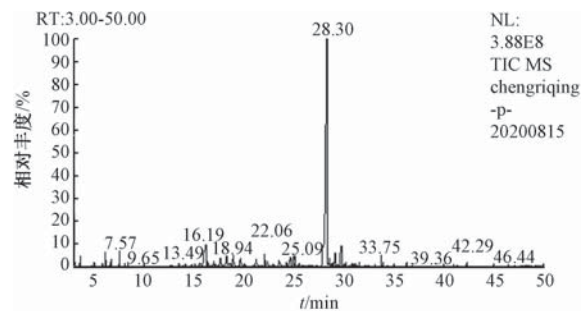


图1 挥发油 GC-MS 总离子流图

3.2 潜在靶点收集 将 Swiss、SuperPred 数据库中得到的预测靶点去重后,共得到成分靶点 341 个,通过 DisGeNET 数据库得到疾病靶点 2 943 个,在 Venny 2.1.0 在线作图工具平台上输入成分、疾病的靶点,绘制韦恩图(图 2),两者取交集后得共同靶点 188 个。

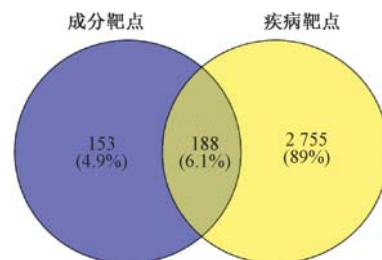


图2 成分、疾病靶点的韦恩图

3.3 化学成分-作用靶点网络构建及分析 将化学成分及 188 个潜在作用靶点导入 Cytoscape 软件,绘制网络图(图 3),并通过 Network Analyzer 对网络图进行分析。结果显示,丁香酚、黄樟醚、桉叶素、 α -细辛醚、异丁香酚、 α -松油醇、甲基丁香酚、杜松醇、肉豆蔻醚均能与 25 个以上靶点相连接,可能在防治心血管疾病过程中发挥重要作用,同时 3-侧柏烯、桉叶素、3-萜烯、檀香醇、黄樟醚、杜松醇、丁香酚、甲基丁香酚、 α -松油醇、苯甲醛又可共同作用于靶点 ACHE,体现了挥发油多成分、多靶点的综合调节特点。

表 1 挥发油成分分析结果

编号	t_R/min	化合物名称	分子式	相对含量/%
1	3.10	乙酸丙酯(propyl acetate)	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2$	0.20
2	3.62	3-侧柏烯(3-thujene)	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	0.94
3	4.78	β -蒎烯(β -pinene)	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	0.10
4	5.01	β -水芹烯(β -phellandrene)	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	0.33
5	5.82	α -水芹烯(α -phellandrene)	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	0.28
6	6.13	α -松油烯(α -terpinene)	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	1.36
7	6.50	柠檬烯(limonene)	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	0.12
8	6.69	桉叶素(eucalyptol)	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	0.87
9	7.57	3-蒎烯(3-carene)	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	1.70
10	8.08	邻伞花烃(<i>O</i> -cymene)	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}$	0.30
11	8.38	异松油烯(terpinolene)	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	0.42
12	14.11	苯甲醛(benzaldehyde)	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}$	0.29
13	14.76	芳樟醇(linalool)	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	0.16
14	15.56	蓝桉醇(globulol)	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	0.61
15	16.02	γ -榄香烯(γ -elemene)	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	3.09
16	16.19	β -金合欢烯(β -farnesene)	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	7.04
17	16.33	石竹烯(caryophyllene)	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.32
18	16.39	香橙烯(aromadendrene)	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.21
19	16.96	α -人参烯(α -panasinsene)	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.67
20	17.64	α -没药烯(α -bisabolene)	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	1.18
21	18.25	α -松油醇(α -terpineol)	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	0.85
22	18.94	α -衣兰油烯(α -muurolene)	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	1.72
23	19.97	α -姜黄烯(α -curcumene)	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}$	0.18
24	22.06	黄樟醚(safrole)	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_2$	1.61
25	22.92	1,4-二氢-2,5,8-三甲基萘(1,4-dihydro-2,5,8-trimethylnaphthalene)	$\text{C}_{13}\text{H}_{16}$	0.48
26	24.66	氧化石竹烯(caryophyllene oxide)	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	1.79
27	24.96	甲基丁香酚(methyleugenol)	$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2$	1.31
28	27.85	异丁香酚(isoeugenol)	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2$	1.78
29	28.29	丁香酚(eugenol)	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2$	42.83
30	28.54	杜松醇(cadinol)	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	0.70
31	28.89	愈创木烯(guaiene)	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.18
32	29.12	α -细辛醚(α -asarone)	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3$	2.20
33	29.79	肉豆蔻醚(myristicin)	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_3$	7.06
34	30.87	檀香醇(santalol)	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	0.24
35	31.55	异十二烷环氧化物(isoaromadendrene epoxide)	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	0.47

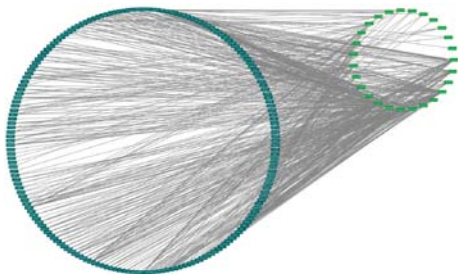


图 3 化学成分-作用靶点相互作用网络图

3.4 PPI 网络构建 在 STRING 数据库中录入 188 个潜在作用靶点, 得到蛋白相互作用信息, 使用 Cytoscape 软件对上述数据进行可视化分析, 构建 PPI 网络, 并对网络进行筛选, 计算度值 (Degree)、中介中心性 (Betweenness)、接近中心性 (Closeness) 的中位数, 以高于 3 者为标准, 筛选出 47 个关键靶点, 见表 2, 其中度值最高的为 APP, 能

与 35 个蛋白发生相互作用, 其次是 PIK3CA、MAPK1、STAT3、SRC, 分别能与 29、28、27、27 个蛋白发生相互作用。PPI 网络图见图 4, 节点越大, 颜色越深, 靶点度值越高; 颜色越浅, 节点越小, 代表度值越低。

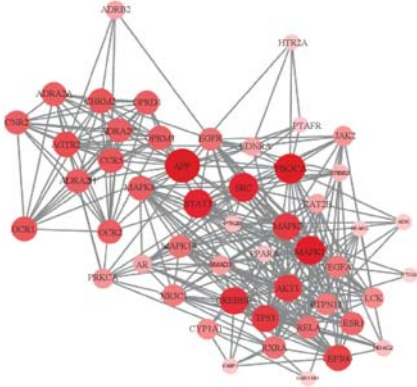


图 4 PPI 网络图

表 2 关键靶点信息

靶点	全称	中文名称	度值	中介中心性	接近中心性
APP	beta amyloid A4 protein	β 淀粉样 A4 蛋白	35	0.150 7	0.416 4
PIK3CA	PI3-kinase p110-alpha subunit	PI3 激酶 p110α 亚单位	29	0.070 7	0.422 2
MAPK1	mitogen-activated protein kinase; ERK1/ERK2	丝裂原活化蛋白激酶	28	0.082 4	0.451 0
STAT3	signal transducer and activator of transcription 3	信号转导和转录激活剂 3	27	0.148 6	0.452 3
SRC	tyrosine-protein kinase SRC	酪氨酸蛋白激酶	27	0.032 5	0.411 9
CREBBP	CREB-binding protein/p53	CREB 结合蛋白/p53	26	0.094 3	0.417 5
AKT1	serine/threonine-protein kinase AKT	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 AKT	25	0.046 7	0.410 8
TP53	tumour suppressor p53/oncoprotein Mdm2	肿瘤抑制因子 p53/肿瘤蛋白 Mdm2	25	0.083 7	0.434 2
MAPK3	MAP kinase ERK1	MAP 激酶 ERK1	25	0.037 0	0.445 7
EP300	histone acetyltransferase p300	组蛋白乙酰转移酶 p300	24	0.028 6	0.396 8
AGTR2	angiotensin II type 2 (AT-2) receptor	血管紧张素 II 2 型(AT-2)受体	23	0.020 5	0.355 1
CNR1	cannabinoid receptor	大麻素受体	22	0.032 5	0.322 7
CCR5	C-C chemokine receptor type 5	C-C 趋化因子受体 5 型	22	0.024 4	0.373 4
CHRM2	muscarinic acetylcholine receptor M2	毒蕈碱乙酰胆碱受体 M2	22	0.013 1	0.347 0
MAPK8	c-Jun N-terminal kinase 1	c-Jun N-末端激酶 1	21	0.028 6	0.424 5
OPRD1	opioid receptors; delta & kappa	阿片受体 δ&κ	21	0.010 9	0.363 6
ADRA2A	alpha-2a adrenergic receptor	α-2a 肾上腺素能受体	21	0.006 1	0.343 1
ADRA2C	alpha-2c adrenergic receptor	肾上腺素能受体	21	0.006 1	0.343 1
CCR2	C-C chemokine receptor type 2	C-C 趋化因子受体 2 型	21	0.010 9	0.363 6
OPRM1	opioid receptors; mu & delta	阿片受体 μ&δ	21	0.010 9	0.363 6
ADRA2B	alpha-2b adrenergic receptor	α-2b 肾上腺素能受体	21	0.006 1	0.343 1
ESR1	estrogen receptor alpha	雌激素受体 α	20	0.047 8	0.411 9
RELA	nuclear factor NF-kappa-B p65 subunit	核因子 NF-κB p65 亚单位	19	0.053 4	0.417 5
EGFR	epidermal growth factor receptor erbB1	表皮生长因子受体 erbB1	19	0.079 3	0.422 2
RXRA	retinoid X receptor alpha	视黄醇 X 受体 α	19	0.101 1	0.411 9
MAPK14	MAP kinase p38 alpha	MAP 激酶 p38α	19	0.028 5	0.388 7
VEGFA	vascular endothelial growth factor A	血管内皮生长因子 A	18	0.053 9	0.434 2
PTPN11	protein-tyrosine phosphatase 2C	蛋白质酪氨酸磷酸酶 2C	18	0.005 6	0.375 3
NR3C1	glucocorticoid receptor	糖皮质激素受体	18	0.016 5	0.385 7
CYP1A1	cytochrome P450 1A1	细胞色素 P450 1A1	16	0.098 3	0.347 0
LCK	tyrosine-protein kinase LCK	酪氨酸蛋白激酶	16	0.028 1	0.381 9
JAK2	tyrosine-protein kinase JAK2	酪氨酸蛋白激酶 JAK2	15	0.004 1	0.374 3
PRKCA	protein kinase C alpha	蛋白激酶 Cα	15	0.060 5	0.400 0
SMAD3	mothers against decapentaplegic homolog 3	母亲 DPP 同源物 3	14	0.007 7	0.366 2
KAT2B	histone acetyltransferase PCAF	组蛋白乙酰转移酶	13	0.001 9	0.361 9
AR	androgen Receptor (by homology)	雄激素受体(同源)	13	0.007 3	0.376 2
ADRB2	beta-2 adrenergic receptor	β2 肾上腺素能受体	13	0.089 3	0.328 2
EDNRA	endothelin receptor, ET-A/ET-B	内皮素受体, ET-A/ET-B	13	0.008 5	0.362 7
ERBB2	receptor protein-tyrosine kinase erbB-2	受体蛋白酪氨酸激酶 erbB-2	11	0.001 0	0.372 5
PPARA	peroxisome proliferator-activated receptor alpha	过氧化物酶体增殖物激活受体 α	10	0.011 4	0.369 8
HDAC2	histone deacetylase 2	组蛋白脱乙酰基酶 2	10	0.001 5	0.355 9
PTK2B	protein tyrosine kinase 2 beta	蛋白酪氨酸激酶 2β	10	0.003 2	0.352 6
KDR	vascular endothelial growth factor receptor 2	血管内皮生长因子受体 2	9	0.000 9	0.339 2
PPARG	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	过氧化物酶体增殖物激活受体 γ	9	0.070 3	0.369 8
FABP1	fatty acid-binding protein, liver	脂肪酸结合蛋白, 肝脏	9	0.004 9	0.358 4
PTAFR	platelet activating factor receptor	血小板活化因子受体	9	0.003 2	0.351 0
HTR2A	serotonin 2a (5-HT2a) receptor	5-羟色胺 2a(5-HT2a)受体	9	0.013 1	0.324 7

3.5 靶点通路分析 将 47 个关键靶点通过 DAVID 数据库进行 GO 功能富集分析, 得到 139 个条目 ($P<0.001$), 包括 91 个生物学过程 (排名前 20 条目绘制柱状图, 图 5A)、14 个细胞组分 (图 5B)、34 个分子功能 (排名前 20 条目

绘制柱状图, 图 5C), 提示生物过程 (BP) 显著富集在 RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、血小板活化、NO 生物合成、凋亡过程的调控、细胞增殖的调控等; 细胞组分 (CC) 主要涉及核染色质、核浆等; 分子功能 (MF) 主要

集中在转录因子结合、酶结合、激酶活性、蛋白质磷酸酶结合等。

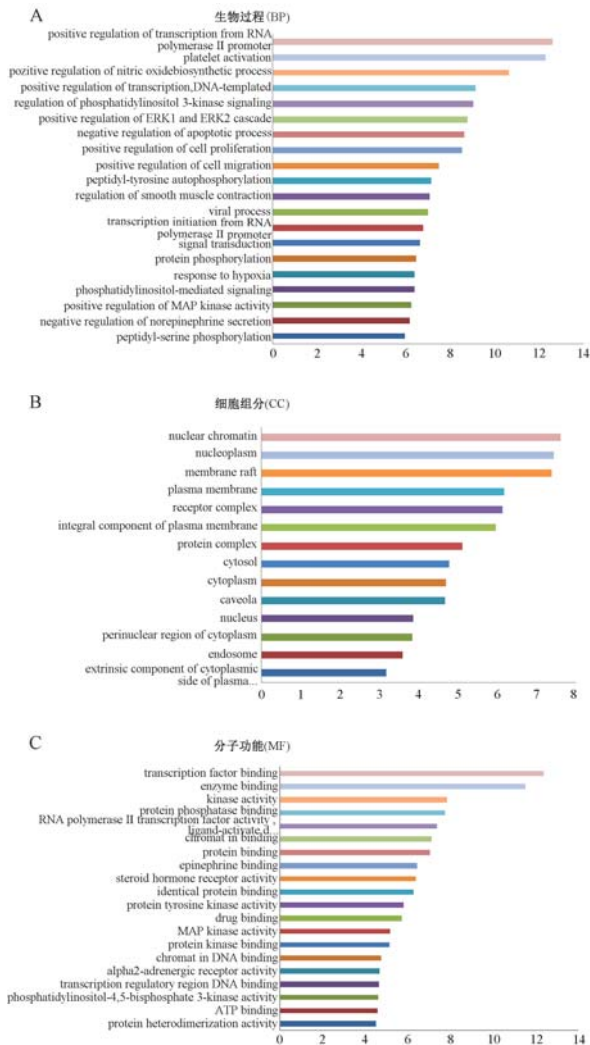


图 5 GO 功能富集分析

利用 DAVID 数据库对交集靶点进行 KEGG 通路分析, 以 $P < 0.001$ 为条件, 共筛选出 67 条信号通路, 应用 Omicshare (<http://www.omicshare.com/>) 对前 20 条通路富集分析结果作气泡图, 结果见图 6。由此可知, 靶点排名靠前的为胰腺癌通路 (pancreatic cancer)、甲状腺激素信号通路 (thyroid hormone signaling pathway)、HIF-1 信号通路 (HIF-1 signaling pathway)、催乳素信号通路 (prolactin signaling pathway)、乙型肝炎 (hepatitis B)、前列腺癌 (prostate cancer)、非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer)、VEGF 信号通路 (VEGF signaling pathway)、FoxO 信号通路 (FoxO signaling pathway)、cAMP 信号通路 (cAMP signaling pathway) 等, 表明挥发油可通过作用于不同的通路来防治心血管疾病。

3.6 分子对接验证 选择 PPI 网络中度值排名前五的关键靶点与其对应的活性成分进行分子对接, 结果见表 3, 得分越高, 分子与受体结合越好。由此可知, APP 与 α -细辛醚、异丁香酚结合的可能性相对较高, PIK3CA 与甲基丁香酚,

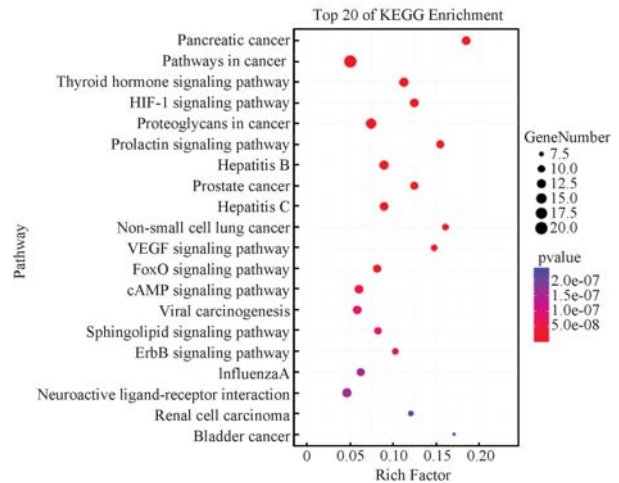


图 6 KEGG 通路富集分析

SRC 与丁香酚、异丁香酚的结合效果也相对较好。APP 与 α -细辛醚、SRC 与丁香酚的分子对接模式见图 7。

表 3 分子对接结果

靶点	PDB ID	成分	得分
APP	1X11	α -细辛醚	83.847 6
APP	1X11	异丁香酚	77.974 8
PIK3CA	3OAW	甲基丁香酚	72.936 6
MAPK1	2OJG	桉叶素	52.367 5
MAPK1	2OJG	黄樟醚	69.549 7
MAPK1	2OJG	丁香酚	65.843 1
STAT3	6NUQ	异丁香酚	49.918 8
SRC	1KSW	丁香酚	74.010 0
SRC	1KSW	异丁香酚	73.371 7

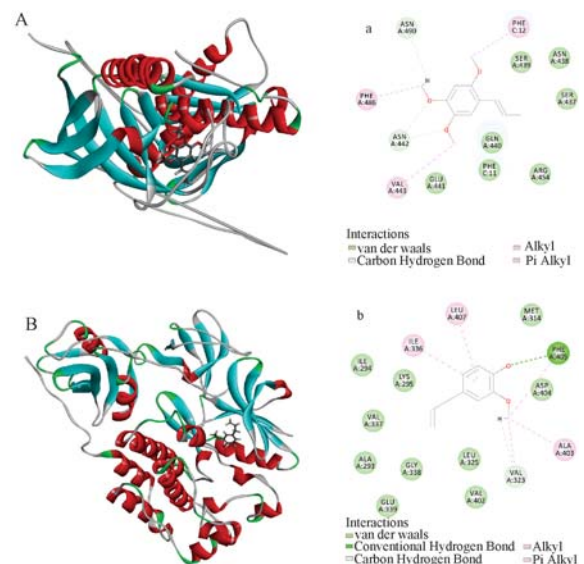


图 7 APP 与 α -细辛醚、SRC 与丁香酚分子对接模式图 (A、B) 和细节 2D 展示图 (a、b)

4 讨论

本研究通过对“化学成分-作用靶点”网络进行拓扑学分析, 筛选出 9 种关键成分。其中, 丁香酚在挥发油测定结果中峰面积占比最大, 同时在拓扑学分析中 Degree 值最

高。现代药理学研究表明,丁香酚除具有抑菌、抗炎、抗氧化、麻醉等药理作用外,在心血管方面还表现出降压、抗心律失常和保护心肌细胞等作用^[12-13]。研究发现,丁香酚能提高 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 造成的缺氧/复氧损伤心肌细胞的存活率^[14],对 H_2O_2 诱导 H9c2 心肌细胞损伤也具有保护作用^[15]。

通过 Cytoscape 对潜在作用靶点得到的蛋白互作信息进行拓扑学分析,筛选出关键靶点 47 个,靶点间通过 769 条相互作用协同影响疾病的防治。关键靶点和活性成分的对接结果显示,除 MAPK1 与桉叶素、STAT3 与异丁香酚结合效果不佳外,其余成分与靶点间均有较好的结合能力。

GO 分析富集结果显示,47 个关键靶点主要分布在 139 个 GO 功能过程,其中包括 91 个生物过程,如转录的调节、血小板活化、NO 生物合成、凋亡过程的调控、细胞增殖、细胞迁移等。这些生物过程贯穿于药物治疗疾病的整个作用机制中,表明七味广枣散挥发油可通过调控多个生物学过程来发挥防治心血管疾病的作用。

KEGG 富集结果表明,关键靶点主要富集于胰腺癌、甲状腺激素、HIF-1 等 67 条信号通路。其中,HIF-1 信号通路、VEGF 信号通路、cAMP 信号通路在心血管疾病的防治过程中起重要作用。VEGF 是目前所发现的唯一特异性地促进血管内皮细胞有丝分裂的生长因子,具有促进血管新生和增加血管通透性等多种功能,通过降低或抑制 VEGF 的表达,可以减少血管新生,防治动脉粥样硬化的发生发展^[16]。心肌缺血及缺氧时,缺氧区域三磷酸腺苷(ATP)生成障碍,而在缺氧条件下缺氧诱导因子-1(HIF-1)稳定表达,可参与调控醛缩酶和丙酮酸激酶等改善能量代谢,调控缺氧适应,也可诱导 VEGF 转录和表达从而促进血管新生,并影响炎症发生等多种途径^[17-18]。cAMP 是一种环状核苷酸,可以使蛋白激酶 A(PKA)激活,还使 cAMP 底物蛋白磷酸化,加速对钙的摄取和转运^[19],从而调节钙稳态,心肌收缩,细胞命运和基因转录等。

综上所述,本研究借助 GC-MS 技术和网络药理学方法,初步探讨了七味广枣散挥发油防治心血管疾病的活性成分及可能作用机制,为后续进一步的实验研究提供了思路及理论依据。

参考文献:

[1] 马丽媛,吴亚哲,陈伟伟.《中国心血管病报告 2018》要点介绍[J].中华高血压杂志,2019,27(8):712-716.
[2] 李慧婷,李远辉,任桂林,等.中药挥发油防治情志疾病的研究现状及前景展望[J].中草药,2019,50(17):4031-4040.
[3] 李兴欢,贾田芊,任丽,等.中药挥发油抗高血脂症的研究进展[J].中国现代中药,2018,20(3):367-370.

[4] Hamed A, Sakhteman A, Moheimani S M. An *in silico* approach towards investigation of possible effects of essential oils constituents on receptors involved in cardiovascular diseases (CVD) and associated risk factors (diabetes mellitus and hyperlipidemia) [J]. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, 2021, 19(1): 32-42.
[5] 王雅琪,杨园珍,伍振峰,等.中药挥发油传统功效与现代研究进展[J].中草药,2018,49(2):455-461.
[6] Alves-Silva J M, Zuzarte M, Marques C, et al. Protective effects of phenylpropanoids and phenylpropanoid-rich essential oils on the cardiovascular system [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2019, 19(17): 1459-1471.
[7] 张旻昱,吴宏伟,许利平,等.五味子及其活性成分治疗心脑血管疾病药理作用的研究进展[J].中国中药杂志,2018,43(8):1536-1546.
[8] 黄鑫,杨秀伟.不同炮制品肉豆蔻挥发油成分的 GC-MS 分析[J].中国中药杂志,2007,32(16):1669-1675.
[9] 李力,潘倩雯,郭德,等.不同方法提取肉豆蔻挥发油成分的气相色谱-质谱法分析[J].医药导报,2019,38(12):1630-1634.
[10] 吴泽青,李智,孔静怡,等.不同树龄对火烫法所得沉香的质量比较研究[J].时珍国医国药,2019,30(9):2255-2258.
[11] 李倩,张凤晨,张晓红,等.暴马丁香果实挥发油化学成分 GC-MS 分析[J].沈阳药科大学学报,2021,38(5):463-466.
[12] 罗晶,田鑫,刘波,等.芳香中药精油成分在心血管疾病中的应用[J].中草药,2020,51(1):245-255.
[13] 美丽,朱懿敏,罗晶,等.丁香化学成分、药效及临床应用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(15):222-227.
[14] 袁德俊.丁香酚对体外培养心肌细胞缺氧/复氧损伤的影响[D].广州:广州中医药大学,2009.
[15] 马强,吴文宁,陈荣.丁香酚对 H_2O_2 诱导 H9c2 心肌细胞损伤的保护作用[J].安徽医学,2017,38(11):1369-1373.
[16] 任宝琦,李成辉,金政.邓老冠心病方对 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化斑块内新生血管及 VEGF 信号通路的影响[J].吉林中医药,2018,38(11):1307-1311.
[17] 吴碧寒,王国伟,鲁潇,等.基于网络药理学探究宽胸气雾剂治疗心绞痛的作用机制[J].中国中西医结合杂志,2019,39(12):1483-1493.
[18] 冉俊宁,冯君,黄巍,等.基于网络药理学探讨柴胡三参汤治疗缺血性心律失常的作用机制[J].中医学报,2020,48(3):32-37.
[19] 邓雅文,陈恒文,武庆娟,等.基于网络药理学探讨甘松干预心律失常的作用机制研究[J].中国现代中药,2020,22(9):1485-1493.