

# 基于GC-MS技术结合网络药理学和分子对接探究扎冲十三挥发油治疗缺血性脑卒中的成分及作用机制

杨胜男<sup>1</sup>, 顾艳丽<sup>1</sup>, 郭慧青<sup>1</sup>, 祖文<sup>1</sup>, 周雪梅<sup>2</sup>, 杨彩静<sup>3</sup>, 吉日木巴图<sup>4</sup>

1. 内蒙古医科大学药学院 (呼和浩特 010110)
2. 内蒙古自治区药品检验研究院 (呼和浩特 010110)
3. 兴安盟人民医院 (内蒙古兴安盟 137400)
4. 内蒙古医科大学民族医药创新中心 (呼和浩特 010110)

**【摘要】目的** 基于气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 技术对扎冲十三方剂中 8 味植物药挥发油的主要化学成分进行分析, 并运用网络药理学方法探究其成分对缺血性脑卒中可能作用机制。**方法** 利用 GC-MS 技术分析挥发油后, 借助多个数据库预测分析化学成分作用靶点和疾病靶点, 构建“化学成分-作用靶点”网络并由共同靶点得到蛋白质-蛋白质相互作用关系, 将其可视化, 根据筛选到的关键作用靶点完成基因本体 (GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析; 在 Discovery Studio 软件上实施关键靶点与活性成分的分子对接验证。**结果** GC-MS 确认出 44 个化合物, 占总含量的 94.14%, 含量最高的为丁香酚; 检索出扎冲十三挥发油关于缺血性脑卒中的 42 个活性成分, 159 个潜在作用靶点; 得到 369 个 GO 功能条目, 126 个 KEGG 信号通路条目, 涉及癌症通路、脂质和动脉粥样硬化等。分子对接数据显示丁香酚等活性成分与缺氧诱导因子 1 $\alpha$ 、基质金属蛋白酶 9、信号转导与转录激活因子 3 等关键靶点具备较强的结合性能。**结论** 该实验探究了扎冲十三挥发油通过多成分、多靶点、多途径协同用于治疗缺血性脑卒中的可能作用机制, 为进一步研究扎冲十三挥发油对缺血性脑卒中的作用提供一定参考。

**【关键词】** 扎冲十三挥发油; 气相色谱-质谱联用; 缺血性脑卒中; 网络药理学; 分子对接

Study on the components and mechanism of Zhachong-thirteen volatile oil in the treatment of ischemic stroke based on GC-MS combined with network pharmacology and molecular docking

Sheng-Nan YANG<sup>1</sup>, Yan-Li GU<sup>1</sup>, Hui-Qing GUO<sup>1</sup>, Wen ZU<sup>1</sup>, Xue-Mei ZHOU<sup>2</sup>, Cai-Jing YANG<sup>3</sup>, Ba-Tu JIRIMU<sup>4</sup>

1. School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China

2. Inner Mongolia Autonomous Region Institute of Drug Inspection, Hohhot 010110, China

DOI: 10.19960/j.issn.1005-0698.202303006

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目 (2019LH08011); 内蒙古自治区科技计划项目 (2020GG0122); 内蒙古自治区科技创新引导项目

通信作者: 顾艳丽, 硕士, 教授, 硕士生导师, Email: gy10303@sina.com

3. Xing'an League People's Hospital, Hinggan League 137400, Inner Mongolia Autonomous Region, China

4. Ethnic Medicine Innovation Center, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China

Corresponding author: Yan-Li GU, Email: gyl0303@sina.com

**【Abstract】Objective** To analyse the main chemical components of the volatile oil of 8 plant medicines in Zhachong-thirteen prescription based on GC-MS and the method of network pharmacology, and to explore the possible mechanism of its components on ischemic stroke. **Methods** After the volatile oil was analyzed by GC-MS technology, the chemical composition action target and disease target were predicted with the help of several databases. A "chemical component-target" network was conducted and the protein-protein interaction relationship which was obtained by the common targets was visualized. The gene ontology (GO) function and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were further completed according to the selected key targets. The molecular docking verification of key targets and active components was carried out on DiscoveryStudio software. **Results** GC-MS identified 44 compounds, which accounted for 94.14% of the total content, and the highest content was eugenol. 42 active components and 159 potential targets about ischemic stroke were screened. 369 GO functional items and 126 KEGG signal pathway entries were obtained, which were related to cancer pathway, lipid and atherosclerosis. Molecular docking data showed that eugenol and other active components had strong binding properties to key targets such as hypoxia inducible factor 1 $\alpha$ , matrix metalloproteinase 9 and signal transducer and activator of transcription 3. **Conclusion** The experimental explore the possible mechanism of Zhachong-thirteen volatile oil in the treatment of ischemic stroke through multi-components, multi-targets and multi-pathways, which provides a certain reference for the further study of the effect of Zhachong-thirteen volatile oil on ischemic stroke.

**【Keywords】** Zhachong-thirteen volatile oil; GC-MS; Ischemic stroke; Network pharmacology; Molecular docking

缺血性脑卒中也称为脑梗死,是极其普遍的一种脑血管疾病,可以说是全球范围内致残和导致死亡的最主要的因素<sup>[1]</sup>,已变成一个世界性的健康隐患。目前神经炎症、血管生成和大脑神经可塑性的病理学、生理学机制是缺血性脑卒中的研究焦点<sup>[2-3]</sup>。

近年的研究表明,扎冲十三味丸可通过抗炎、抗栓、抗凝血、抗氧化、抗细胞凋亡等机制治疗缺血性脑卒中<sup>[4-5]</sup>,在蒙医医治缺血性脑卒中的临床应用上有着不可撼动的地位,是传统且经典的蒙药药方,由麝香、木香、石菖蒲、丁香、煅磁石、肉豆蔻、甘草等 13 味药材组成<sup>[6]</sup>,有着祛风通窍、舒筋活血、镇静安神、除“协日乌素”的重要功效。处方组成复杂,含有 8 味植物药、3 味矿物药及 2

味动物药,由于动物药和矿物药网络药理学方面的预测较少,且植物药在处方中占比较大,故而针对 8 味植物药进行后续研究。而丁香、石菖蒲、木香、肉豆蔻等 8 味植物药中蕴含非常丰富的挥发油类成分,这类成分具有抗炎、抗氧化、抗血栓、保护神经细胞等有助于治愈脑血管疾病的作用,能通过血脑屏障,进而充分发挥药物疗效<sup>[7-10]</sup>。蒙药治疗缺血性脑卒中的经典方剂,如扎冲十三味丸、额尔敦-乌日勒、白脉散<sup>[11]</sup>的组成均含有丰富的挥发油类成分,意味着方剂中的挥发油对治疗缺血性脑卒中可能具有很强的效果。目前针对挥发油治疗缺血性脑卒中的研究比较少,故本文利用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术对扎冲十三 8 味植物药的挥发油进行分离分析,将确

认的化学成分进行其治疗缺血性脑卒中的网络药理学研究、分子对接验证,从而探究扎冲十三挥发油对缺血性脑卒中的可能作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

EXPEC 5250 型气相色谱—三重四级杆质谱联用仪(谱育科技聚光科技成员企业); CLF-10C 型中药粉碎机(浙江省温岭市创力药材机械厂制造); ME204 型十万分之一电子分析天平(梅特勒-托利上海有限公司)。

丁香(*Syzygium aromaticum.*, 安国市久旺药业有限公司, 批号: 20052415); 木香(*Radix Aucklandiae.*, 批号: 201001091)和石菖蒲(*Acorus tatarinowii.*, 批号: 201101144)购自河北济鑫堂药业有限公司; 肉豆蔻(*Myristica fragrans Houtt.*, 安国市荣华本草中药材有限公司, 批号: C186200901); 甘草(*Glycyrrhiza uralensis Fisch.*, 批号: 1703058)和诃子(*Terminalia chebula Retz.*, 批号: 20170818)购自安国路路通中药饮片有限公司; 制草乌(*Radix Aconiti Kusnezoffii Preparata.*, 江西博源堂药业有限公司, 批号: 200401); 沉香(*Aquilaria agallocha Roxb.*, 山西省大同市广灵县, 批号: 20170525); 以上药材经内蒙古医科大学渠弼教授鉴定均为正品。石油醚、无水硫酸钠、正己烷为分析纯。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 挥发油提取

依照处方比例称取石菖蒲、木香、丁香、肉豆蔻、甘草、制草乌、沉香、诃子<sup>[6]</sup>,在适量蒸馏水中浸泡数分钟,向挥发油提取器中加入少许的石油醚,回流提取 6 h,等待其冷却至室温,无水硫酸钠将其干燥后收集,得具有特殊气味的淡黄色透明油,置于 4℃冰箱储存备用<sup>[12]</sup>。

#### 1.2.2 GC-MS分析

##### 1.2.2.1 气相色谱条件

采用 HP-5MS 毛细管色谱柱(30 m × 250 μm, 0.25 μm),升温程序设定为起始 60℃,以 10℃·min<sup>-1</sup>的速率升至 90℃,保留 2 min,以 15℃·min<sup>-1</sup>的速率升至 180℃,保留 2 min,以 15℃·min<sup>-1</sup>的速率升至 260℃,保持 10 min;进样口温度为 260℃;载气为高纯氦气;体积流量为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>;进样量为 1 μL;分流比为 40:1。

##### 1.2.2.2 质谱条件

采用 EI 电离源,电离电压为 70 eV;离子源温度为 230℃;四级杆温度为 150℃;扫描范围为 *m/z* 35~550 amu;溶剂延迟 3 min。

##### 1.2.2.3 供试品溶液的制备

取“1.2.1”项下挥发油适量,溶解于正己烷中,0.22 μm 微孔滤头滤过,进样。

#### 1.2.3 网络药理学研究

##### 1.2.3.1 “化学成分-作用靶点网络”的构建

以 GC-MS 确认的化学成分为研究对象,借助 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)检索到化学结构并保存导入 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>),检索并预测成分靶点,整理后得到成分潜在作用靶点;借助 DisGeNET 数据库(<https://www.disgenet.org/>)以“ischemic stroke”为关键词,预测疾病靶点,整理后得到缺血性脑卒中的疾病潜在作用靶点;利用 Venny 2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>)制图网站制作成分潜在靶点与疾病作用靶点韦恩图,其中的交汇处是预测的成分和疾病的共同靶点。将活性成分和共同靶点添加到 Cytoscape 3.7.2 软件中,将“化学成分-作用靶点”网络可视化。

##### 1.2.3.2 构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络

将共同靶点复制粘贴至 String 数据库(<https://cn.string-db.org/>),物种选择设定为“Homo sapiens”,置信度设定为 0.4,即可得到蛋白相互作用文件,将其导入到 Cytoscape 软件,借助拓扑指标筛选关键靶点,并构建出 PPI 网络图。

##### 1.2.3.3 富集分析

把关键靶点输入到 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)中作基因本体(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析,整理后借助 R 软件的 clusterProfiler 包可视化。

#### 1.2.4 分子对接验证

将关键靶点的蛋白质数据库(PDB)ID 键入至 PDB 数据库(<http://www.rcsb.org/>)并下载 PDB 格式,利用 PubChem 数据库下载关键活性成分 3D 结构的 sdf 文件,将两者文件导入 Discovery Studio 2019 软件中,采用 Libdock 对接方法来进行分子对接验证。

## 2 结果

### 2.1 GC-MS成分分析

挥发油 GC 色谱图见图 1，通过检索 NIST-POS.dbc 谱库、质谱分析及核对文献<sup>[13-23]</sup>，共识别出 44 个化学成分，占总量的 94.14%，含量最高的为丁香酚（10.97%），见表 1。

### 2.2 网络药理学分析

#### 2.2.1 “化学成分-作用靶点网络”的构建

将预测到的 588 个成分潜在作用靶点、1 159 个疾病潜在作用靶点绘制韦恩图，见图 2，交汇处是成分与疾病的共同靶点共 159 个。借助

Cytoscape 软件构建出 42 个活性成分与 159 个潜在作用靶点的“化学成分-作用靶点”的网络图，可视化分析见图 3。拓扑分析整理出 34 个度（degree）值超过 2 倍均值（平均度值 = 9.35）的活性成分，见表 2。结合缺血性脑卒中的现有研究报道<sup>[24-27]</sup>， $\alpha$ -蒎烯、丁香酚等 8 个成分可能是扎冲十三挥发油治疗缺血性脑卒中的关键活性成分。

#### 2.2.2 构建PPI蛋白互作网络

采用 Cytoscape 软件中的 cytohubba 插件将 159 个潜在作用靶点的 PPI 蛋白互作数据进行拓扑分析，得到 degree 值相对较高的 30 个关键靶点并将其可视化，见表 3 和图 4。degree 值越

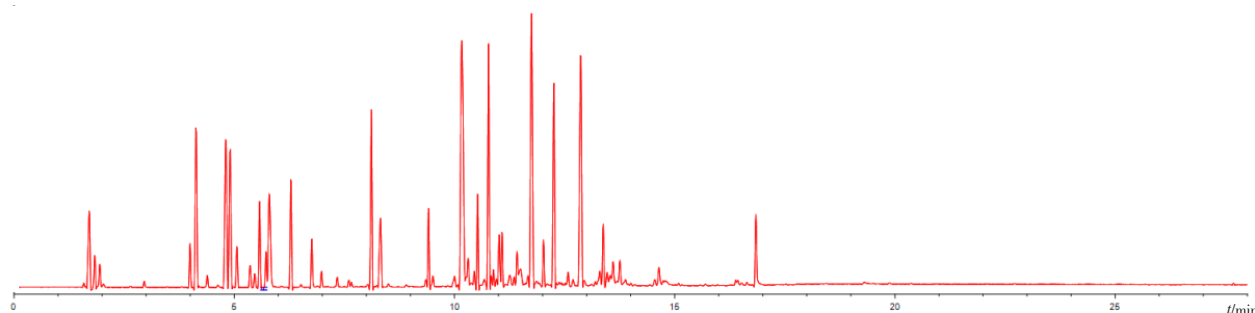


图1 扎冲十三挥发油的GC色谱图

Figure 1. GC chromatogram of volatile oil of Zhachong-thirteen

表1 扎冲十三挥发油化学成分

Table 1. Chemical composition of volatile oil of Zhachong-thirteen

序号	保留时间 (min)	成分	分子式	相对分子 质量	CAS号	相对百分 含量(%)
1	4	$\alpha$ -水芹烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.24	99-83-2	1.13
2	4.13	$\alpha$ -蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.24	80-56-8	4.38
3	4.39	蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.24	79-92-5	0.30
4	4.8	皮蝇烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.24	99-84-3	4.88
5	4.91	$\beta$ -蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.24	127-91-3	4.05
6	5.06	$\beta$ -香叶烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.24	6874-41-5	1.10
7	5.36	3-萜烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.24	13466-78-9	0.55
8	5.46	罗勒烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.24	3338-55-4	0.37
9	5.57	(+)-4-萜烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.24	29050-33-7	2.09
10	5.72	伞花烃	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134.22	99-87-6	0.92
11	5.79	D-柠檬烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.24	5989-27-5	3.55
12	6.28	双戊烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.24	586-62-9	2.71
13	6.52	2-甲基-5-异丙基-二环[3.1.0]己烷-2-醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.25	17699-16-0	0.15
14	6.76	萜品烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.24	99-85-4	1.19
15	6.98	芳樟醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.25	78-70-6	0.40
16	7.77	樟脑	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152.23	76-22-2	0.30
17	8.03	2-茨醇	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152.23	464-45-9	0.26



续表1

序号	保留时间 (min)	成分	分子式	相对分子 质量	CAS号	相对百分 含量(%)
18	8.11	4-松油烯醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.25	562-74-3	4.37
19	8.32	α-松油醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.25	98-55-5	2.25
20	9.42	黄樟素	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	162.19	94-59-7	1.71
21	10	7,8-二氢紫罗兰酮	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O	194.3132	31499-72-6	0.57
22	10.17	丁香酚	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	164.20	97-53-0	10.97
23	10.31	古巴烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	3856-25-5	0.70
24	10.45	β-愈创木烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.36	88-84-6	0.33
25	10.53	甲基丁香酚	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	178.23	93-15-2	1.87
26	10.77	(+)-香橙烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	489-39-4	5.74
27	10.89	愈创木醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.366	489-86-1	0.62
28	11.08	反式异丁香酚	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	164.20	5932-68-3	2.70
29	11.25	别香橙烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.35	25246-27-9	0.73
30	11.42	异丁香酚甲醚	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	178.23	93-16-3	1.53
31	11.67	香橙烯氧化物-2	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220.35	85710-39-0	0.36
32	11.75	肉豆蔻醚	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	192.21	607-91-0	9.09
33	11.87	桉油烯醇	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220.35	6750-60-3	0.46
34	12.02	榄香素	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	208.25	487-11-6	1.06
35	12.26	γ-细辛醚	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	208.25	5353-15-1	5.40
36	12.58	氧化石竹烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220.35	1139-30-6	0.34
37	12.86	β-细辛醚	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	208.25	5273-86-9	7.92
38	13.3	蓝桉醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.37	489-41-8	0.54
39	13.38	9,12,15-十八碳烯酸	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	278.43	463-40-1	1.45
40	13.6	α-细辛脑	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	208.25	2883-98-9	1.54
41	13.76	γ-雪松烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.351	53111-25-4	0.78
42	13.89	5,5-二甲基-4-(3-甲基-1,3-丁二烯基)-1-氧杂环[2.5]辛烷	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	206	0	0.28
43	14.64	十四烷酸	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	228.37	544-63-8	0.49
44	16.84	去氢木香内酯	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	230.30	477-43-0	2.03

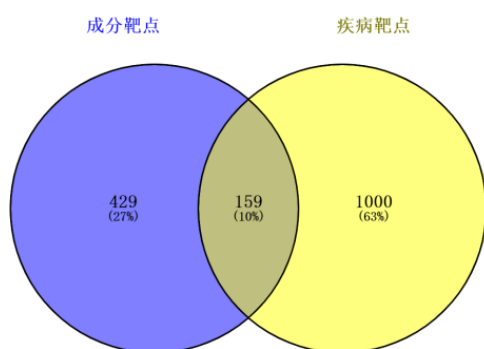


图2 扎冲十三挥发油成分、疾病靶点韦恩图  
Figure 2. Venn diagram of essential oil components and disease targets of Zhachong-thirteen

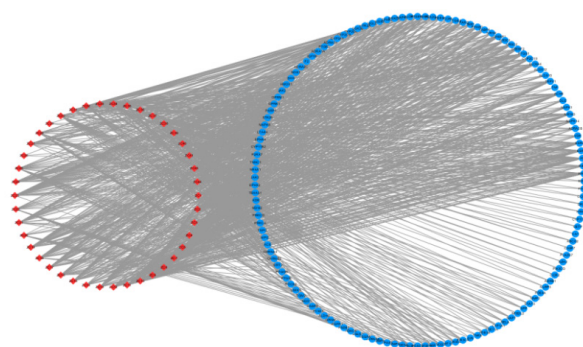


图3 扎冲十三挥发油化学成分-作用靶点网络图  
Figure 3. Chemical constituents and target network of volatile oil of Zhachong-thirteen

注：红色为化学成分，蓝色为作用靶点

表2 扎冲十三挥发油治疗缺血性脑卒中的活性成分信息

Table 2. Information of active components of volatile oil of Zhachong-thirteen in the treatment of ischemic stroke

活性成分	degree值	活性成分	degree值
9,12,15-十八碳烯酸	40	β-细辛醚	30
古巴烯	38	榄香素	30
异丁香酚甲醚	37	2-茨醇	30
α-蒎烯	34	芳樟醇	30
α-松油醇	33	蓝桉醇	29
4-松油烯醇	33	香橙烯氧化物-2	29
2-甲基-5-异丙基-二环[3.1.0]己烷-2-醇	33	伞花烃	29
(+)-4-萜烯	33	十四烷酸	28
3-萜烯	33	γ-雪松烯	28
肉豆蔻醚	32	丁香酚	28
反式异丁香酚	32	皮蝇磷	28
甲基丁香酚	32	γ-细辛醚	26
氧化石竹烯	31	7,8-二氢紫罗兰酮	26
桉油烯醇	31	樟脑	25
黄樟素	31	愈创木醇	24
D-柠檬烯	31	β-愈创木烯	24
α-细辛脑	40	去氢木香内酯	22

表3 扎冲十三挥发油治疗缺血性脑卒中的关键靶点

Table 3. The key targets of the treatment of ischemic stroke with volatile oil of Zhachong-thirteen

靶点	度值	介数中心性	接近中心性
肿瘤坏死因子 (TNF)	29	0.005767	1
缺氧诱导因子1α (HIF1A)	29	0.005767	1
血管内皮生长因子A (VEGFA)	29	0.005767	1
肿瘤蛋白P53 (TP53)	29	0.005767	1
白蛋白 (ALB)	29	0.005767	1
胱天蛋白酶3 (CASP3)	29	0.005767	1
前列腺素内过氧化物合成酶2 (PTGS2)	29	0.005767	1
转录因子 (JUN)	29	0.005767	1
基质金属蛋白酶9 (MMP-9)	29	0.005767	1
白细胞介素6 (IL-6)	29	0.005767	1
表皮生长因子受体 (EGFR)	29	0.005767	1
信号转导和转录激活因子3 (STAT3)	28	0.004655	0.966667
丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK3)	28	0.004859	0.966667
白细胞介素8 (IL-8)	27	0.003883	0.935484
V-Rel网状内皮增生病毒癌基因同源物A (RELA)	26	0.003129	0.90625
过氧化物酶体增殖物激活受体γ (PPARG)	26	0.003543	0.90625
一氧化氮合成酶-3(内皮型) (NOS3)	26	0.002773	0.90625
细胞间黏附分子-1 (ICAM1)	25	0.002812	0.878788

续表3

靶点	度值	介数中心性	接近中心性
丝裂原激活蛋白激酶8 (MAPK8)	25	0.002591	0.878788
雌激素受体1 (ESR1)	25	0.003348	0.878788
Janus激酶2 (JAK2)	24	0.002099	0.852941
丝裂原激活蛋白激酶14 (MAPK14)	24	0.002242	0.852941
基质金属蛋白酶2 (MMP-2)	24	0.002269	0.852941
丝裂原激活蛋白激酶1 (MAPK1)	23	0.002146	0.828571
血管细胞粘附因子1 (VCAM1)	23	0.001335	0.828571
过氧化物酶体增殖物激活受体A (PPARA)	22	0.001384	0.805556
激酶插入域受体 (KDR)	22	0.001573	0.805556
雄激素受体 (AR)	21	0.000853	0.783784
血管紧张素转化酶2 (ACE2)	21	0.001074	0.783784
双微体同源基因2 (MDM2)	21	0.000839	0.783784

大, 该节点则越大, 颜色也越深, 反之亦然。其中肿瘤坏死因子 (TNF)、表皮生长因子受体 (EGFR)、转录因子 (JUN)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、肿瘤蛋白 P53 (TP53)、白蛋白 (ALB)、基质金属蛋白酶 9 (MMP-9)、缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (HIF1A)、胱天蛋白酶 3 (CASP3)、前列腺素内过氧化物合成酶 2 (PTGS2)、白细胞介素 6 (IL-6)、信号转导和转录激活因子 3 (STAT3) 等与其他蛋白关系密切。

### 2.2.3 富集分析

将 30 个关键靶点输入 DAVID 数据库完成 GO 功能富集分析, 筛选出  $P < 0.05$  的条目, 得

到 290 个生物过程、28 个细胞组分、51 个分子功能, 共 369 个 GO 功能条目, 均以排名前 10 的条目制图, 见图 5。结果提示, 靶点重点集中在血管生成、凋亡过程的正调控、RNA 聚合酶 II 启动子对转录的正调控和细胞对活性氧的反应等生物过程 (BP); 着重集中在胞质、核染色质、核浆等细胞组分 (CC); 着重起到转录调控区序列特异性 DNA 结合、转录因子结合、酶结合等分子功能 (MF)。

采用 DAVID 数据库完成 KEGG 信号通路富集分析, 筛选出  $P < 0.05$  的条目, 得到 126 条信号通路, 以排名前 20 的条目制图, 见图 6。其重点涉及的通路有肿瘤坏死因子信号通路、IL-17 信号通路、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用、脂质和动脉粥样硬化、癌症通路等。

### 2.3 分子对接结果

利用度值靠前的 TNF、HIF1A、VEGFA、TP53、ALB、CASP3、PTGS2、JUN、MMP-9、IL-6、EGFR、STAT3 关键靶点与关键活性成分做分子对接, Libdock score 越高, 反映出分子对接结合力越强, 对接结果见表 4。除  $\alpha$ -蒎烯与关键靶点、TNF 与活性成分对接情况欠佳外, 其他大多数成分都能与靶点蛋白形成较好的对接, 这其中 MMP-9 与甲基丁香酚、肉豆蔻醚、丁香酚、 $\alpha$ -细辛醚, STAT3 与肉豆蔻醚、 $\alpha$ -细辛醚的 Libdock score 相对较高, 反映出分子结合力很强。对接效果图见图 7。

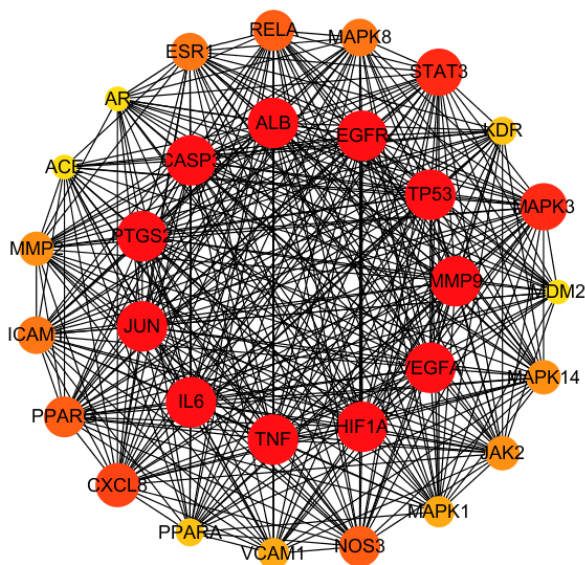


图4 PPI蛋白互作网络图

Figure 4. PPI protein interaction network

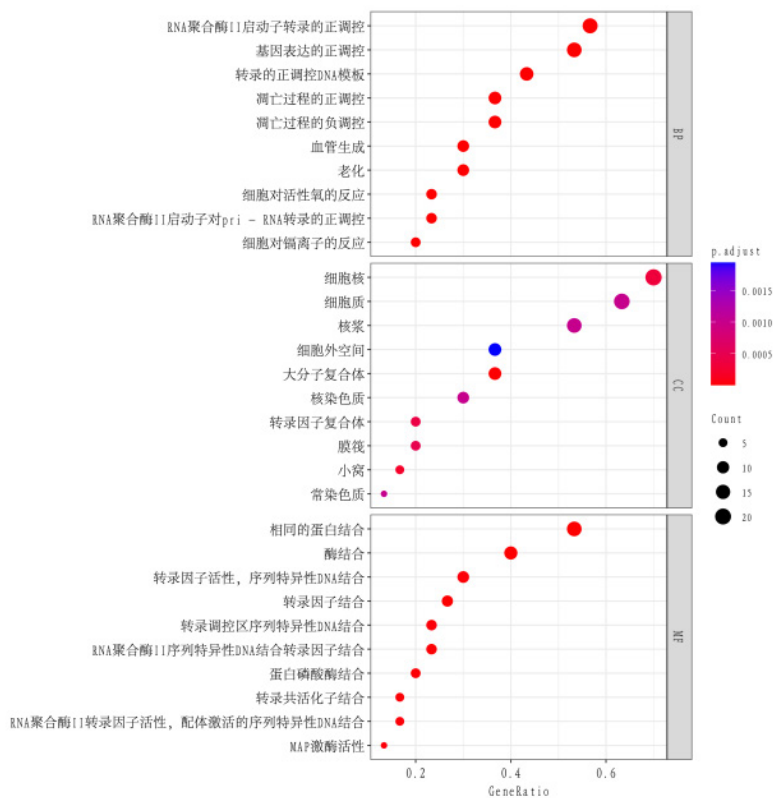


图5 GO功能富集分析气泡图

Figure 5. Bubble map of GO functional enrichment analysis

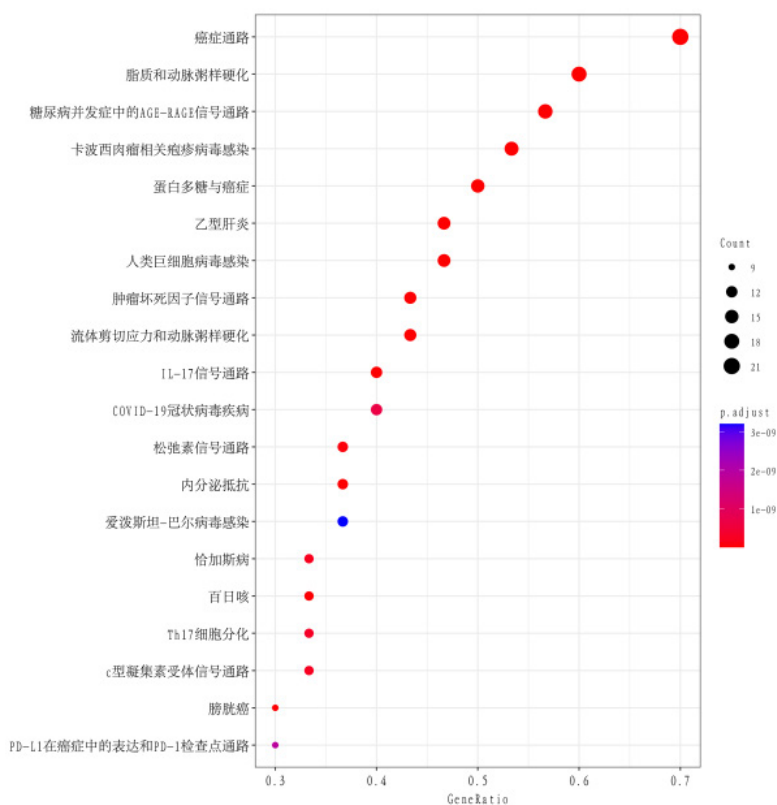


图6 KEGG通路富集分析气泡图

Figure 6. Bubble map of KEGG channel enrichment analysis

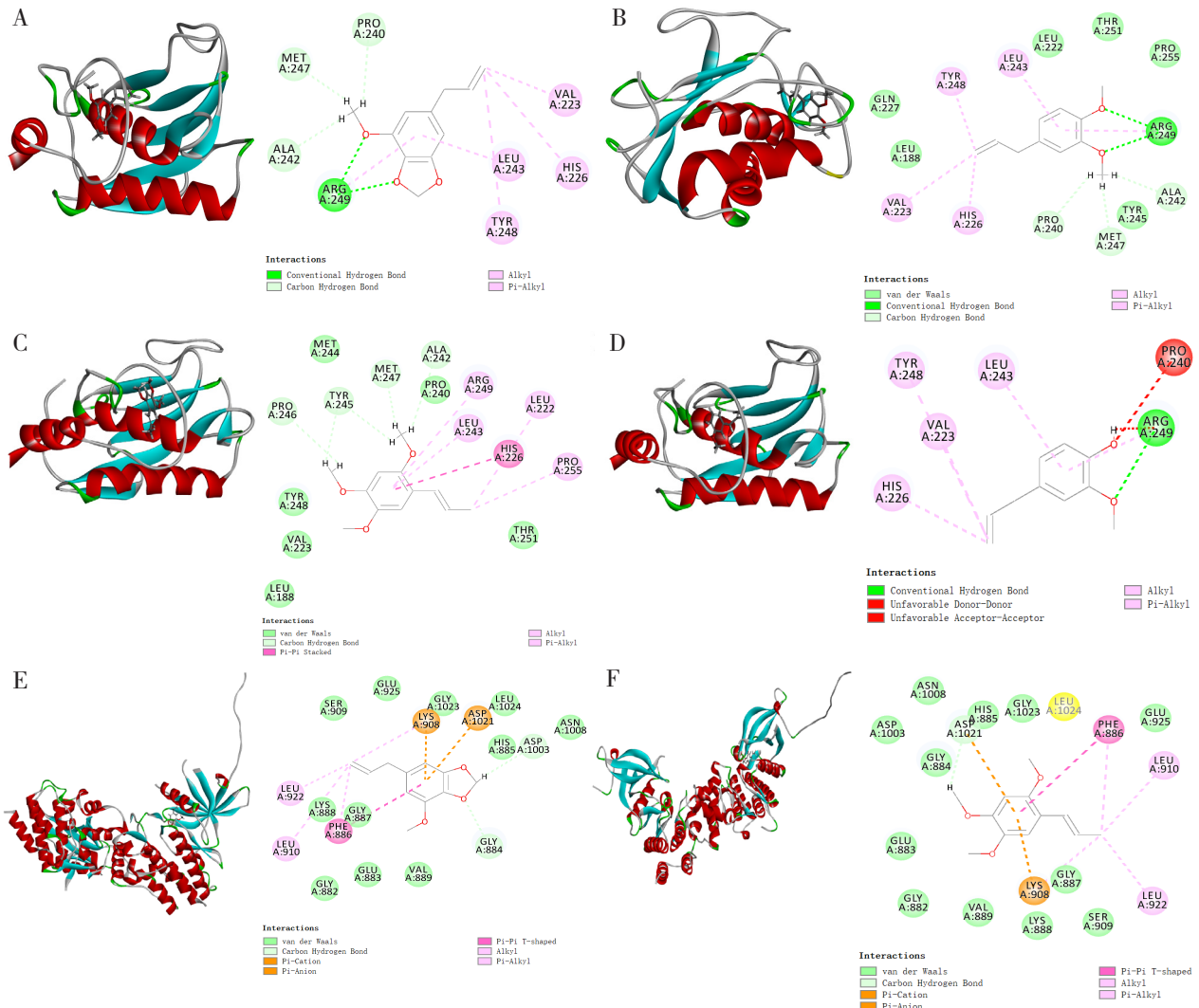


表4 扎冲十三挥发油治疗缺血性脑卒中主要活性成分的分子对接结果

Table 4. Molecular docking results of main active components of volatile oil of Zhachong–hirteen in the treatment of ischemic stroke

活性成分	靶点											
	TNF (2AZ5)	HIF1A (4H6J)	VEGFA (5DN2)	TP53 (5O1F)	ALB (1N5U)	CASP3 (2XZD)	PTGS2 (5IKT)	JUN (610J)	MMP-9 (6ESM)	IL-6 (1ALU)	EGFR (2N5S)	STAT3 (6SM8)
丁香酚	57.01	82.48	75.22	73.46	87.77	84.16	79.12	74.01	101.48	74.57	64.84	88.54
甲基丁香酚	55.88	82.44	71.37	74.42	80.28	84.08	80.85	67.90	104.17	70.16	64.55	89.75
D-柠檬烯	-	67.07	60.58	58.51	67.27	68.24	71.73	58.49	82.62	60.38	53.53	69.54
肉豆蔻醚	77.56	87.59	76.04	79.51	88.46	91.42	88.53	75.58	109.77	75.72	72.14	101.32
芳樟醇	65.01	76.37	69.22	64.38	74.18	77.48	76.23	68.15	88.08	60.38	65.45	77.55
β-细辛醚	-	71.31	48.94	65.80	53.06	78.53	67.95	61.48	94.54	56.49	47.30	82.01
α-细辛醚	-	82.66	65.08	79.58	80.97	81.61	79.12	71.43	102.98	49.84	56.71	100.21
α-蒎烯	-	55.46	55.00	53.38	58.07	61.99	62.81	61.16	58.81	58.45	48.87	49.04

注：“-”表示活性成分与靶点未呈现处出对接效果



A. MMP9-肉豆蔻醚 B. MMP9-甲基丁香酚 C. MMP9-α-细辛醚 D. MMP9-丁香酚 E. STAT3-肉豆蔻醚 F. STAT3-α-细辛醚

图7 扎冲十三挥发油治疗缺血性脑卒中部分关键活性成分分子对接3D效果图及2D细节图

Figure 7. 3D effect diagram and 2D detail diagram of molecular docking of some key active components of volatile oil of Zhachong–hirteen in the treatment of ischemic stroke

### 3 讨论

动物实验显示, 扎冲十三味丸可通过作用于 TNF- $\alpha$  等炎症因子发挥抗炎作用减轻炎症反应对脑组织的损伤<sup>[28]</sup>; 通过抗凝血作用, 延长脑部血栓的形成时间<sup>[29]</sup>; 通过调节神经细胞凋亡, 降低缺血脑组织细胞凋亡百分率, 对脑组织缺血损伤有保护作用<sup>[30]</sup>。扎冲十三味丸中含有大量的丁香酚、 $\beta$ -细辛醚、去氢木香内酯等挥发性成分<sup>[31]</sup>。GC-MS 分析表明, 扎冲十三挥发油中主要含有丁香酚、甲基丁香酚、 $\beta$ -细辛醚、 $\alpha$ -细辛醚、去氢木香内酯、肉豆蔻醚等成分, 对这些成分进行网络药理学成分靶点预测, 查找到活性成分 42 个、与缺血性脑卒中疾病共同的潜在作用靶点 159 个, 多数活性成分都与治疗缺血性脑卒中相关, 可起到神经保护作用, 其中丁香酚含量最大。实验研究表明, 丁香酚通过发挥抗氧化、抗炎等作用, 能显著减轻脑缺血/再灌注的神经系统功能受损, 能够提供很好的神经保护作用<sup>[24]</sup>;  $\alpha$ -细辛醚通过改善神经功能, 减少梗塞体积, 从而减轻缺血性脑卒中的症状<sup>[25]</sup>;  $\beta$ -细辛醚通过抑制 TNF- $\alpha$  在划痕损伤小鼠神经细胞中的表达, 调节神经元凋亡和促进轴突再生, 能够降低局灶性脑缺血大鼠脑组织水分含量, 减少脑梗死面积, 能使海马神经元存活率上升, 对缺血性脑损伤产生保护作用<sup>[26-27]</sup>; 芳樟醇可减少炎症, 并对小胶质细胞产生有效作用<sup>[32]</sup>; 甲基丁香酚在大鼠脑缺血模型中, 通过抑制自由基的产生和一氧化氮产生, 降低了诱导一氧化氮合酶的蛋白质表达<sup>[33]</sup>。 $\alpha$ -蒎烯通过减弱神经炎症和抑制细胞凋亡, 在缺血性脑卒中发病中发挥神经保护作用<sup>[34]</sup>。

PPI 蛋白互作分析筛选出 MMP-9、TNF、HIF1A、STAT3 等 30 个关键靶点, 多数与血管再生、炎症反应、神经保护作用相关。由 GO 功能及 KEGG 通路富集分析可知, 扎冲十三挥发油主要参与血管生成、凋亡过程的正调控以及细胞对活性氧的反应、酶结合、转录因子结合等生物过程和发挥分子功能, 其主要参与癌症通路、调控脂质和动脉粥样硬化、肿瘤坏死因子信号通路、乙型肝炎、IL-17 信号通路、c 型凝集素受体信号通路等通路。VEGFA 属于 VEGF 家族基因, 能够促进血管内皮细胞生成与增殖, 进而保护神经, 诱导缺血损伤的脑血管再生<sup>[35-36]</sup>; MMP-9 参与到

早期的脑缺血再灌注损伤后脑水肿的形成及再灌注损伤, 调节 MMP-9 水平对组织形成、脑神经元网络再塑造和血脑屏障完整性极其重要, 发挥了神经保护的功能<sup>[37]</sup>; HIF1A 可诱导侧支循环从而减少大鼠脑梗死症状<sup>[38]</sup>; TNF 是动脉粥样硬化炎症过程中的重要细胞因子, 是神经炎症极其重要的介质, 而炎症反应是病理生理过程的重要环节, 可通过降低炎症细胞因子 TNF- $\alpha$  水平, 进而抑制神经变性和炎症损伤, 改善脑组织局部环境<sup>[39-40]</sup>; 可通过影响脑缺血再灌注损伤区域的 STAT3 的表达发挥神经保护作用<sup>[41]</sup>。研究发现, VEGF、MMP-9、STAT3 的表达程度与缺血性脑卒中症状的严重程度及预后效果有着一定的关系<sup>[42-43]</sup>。实验表明, 动脉粥样硬化是导致缺血性脑部疾病的重要原因, 动脉粥样硬化通路通过调节包括 VEGF、MMP-9 等因子水平, 影响致氧化应激和炎症反应的发生, 发挥抗凝血作用, 从而减少血栓的形成<sup>[44-45]</sup>。分子对接除结果表明除  $\alpha$ -蒎烯与关键靶点对接效果较差外, 其余关键活性成分与关键靶点呈现出相对较好的对接效果。

结果表明, 扎冲十三挥发油中丁香酚、 $\beta$ -细辛醚、 $\alpha$ -细辛醚、甲基丁香酚等活性成分可能作用于 VEGFA、MMP-9、TNF、STAT3、HIF1A、PTGS2 等关键靶点, 通过参与凋亡过程的调控、血管生成等生物过程, 在参与调控肿瘤坏死因子信号通路、IL-17 信号通路、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用、脂质和动脉粥样硬化等多个通路中, 发挥抗炎、抗血栓、抗氧化作用、调节细胞凋亡、促进血管再生等, 起到神经保护作用, 达到防治缺血性脑卒中的目的。扎冲十三挥发油中的不同活性成分通过不同的靶点作用于完全相同或各不相同的信号传导通路, 这也就意味着扎冲十三挥发油的靶点在治疗疾病上有着协同起效作用, 从而更好的发挥药物疗效作用; 而扎冲十三挥发油中的活性成分也并不都是有效的药物成分, 也就是说并不一定都能够很好的发挥治疗疾病的功效。阐明扎冲十三挥发油治疗缺血性脑卒中是在多成分-多靶点-多信号通路的复杂作用机制下发挥疗效的。

综上所述, 本文借助 GC-MS 技术、网络药理学、分子对接, 初步探究了扎冲十三挥发油治疗缺血性脑卒中的化学成分及可能作用机制, 揭示成分、靶点、疾病、通路之间复杂的关系, 提

示扎冲十三挥发油通过多成分、多靶点、多通路协同发挥治疗缺血性脑卒中的作用,旨在为扎冲十三挥发油治疗缺血性脑卒中的后续实验研究奠定良好基础。

## 参考文献

- Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, et al. Heart disease and stroke statistics--2011 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2011, 123(4): e18-e209. DOI: 10.1161/CIR.0b013e3182009701.
- 杜仁峰, 余波, 潘丹红, 等. 缺血性脑卒中血脑屏障受损及修复的神经炎症性机制研究进展[J]. *华西医学*, 2022, 37(4): 622-626. [Du RF, Yu B, Pan DH, et al. Research progress on the neuroinflammatory mechanism of blood-brain barrier damage and repair in ischemic stroke[J]. *Western China Medicine*, 2022, 37(4): 622-626.] DOI: 10.7507/1002-0179.202106277.
- 方彬宇, 朱婷, 张淑霞, 等. 三七皂苷抗缺血性脑卒中的分子机制研究进展[J]. *中华全科医学*, 2022, 20(6): 1027-1030,1048. [Fang BY, Zhu T, Zhang SX, et al. Research progress of molecular mechanism of panax notoginseng saponins against ischemic stroke[J]. *Chinese Journal of General Practice*, 2022, 20(6): 1027-1030,1048.] DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.002516.
- 刘跃辉, 刘海萍, 黎雨衫, 等. 蒙药扎冲十三味丸对急性缺血性卒中脑组织保护作用的研究进展[J]. *山东医药*, 2018, 58(26): 92-94. [Liu YH, Liu HP, Li YX, et al. Research progress of Zhacheng Shisanwei Pills of Mongolian Medicine on the protection of brain tissue in acute ischemic stroke[J]. *Shandong Medical Journal*, 2018, 58(26): 92-94.] DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.26.028.
- 汤文莉. 用扎冲十三味丸治疗缺血性脑卒中的效果分析[J]. *当代医药论丛*, 2016, 15(15): 110-111. [Tang WL. Effect analysis of Zhachong Shisanwei pills in the treatment of ischemic stroke[J]. *Contemporary Medicine Forum*, 2016, 15(15): 110-111.] DOI: 10.3969/j.issn.2095-7629.2016.15.085.
- 中华人民共和国原卫生部药品标准. 蒙药分册[S]. 1998: 70.
- 徐飞飞. 石菖蒲挥发油成分 $\alpha$ -细辛醚对脑缺血再灌注损伤的保护作用及其机制研究[D]. 山西晋中: 山西中医药大学, 2021.
- 徐飞飞, 李钦青, 楚世峰, 等. 石菖蒲挥发油中主要成分 $\alpha$ -和 $\beta$ -细辛醚的神经药理学作用及机制研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(11): 1969-1979. [Xu FF, Li QQ, Chu SF, et al. Research progress on neuropharmacological action and mechanism of alpha-asarone and beta-asarone in volatile oil of *Acorus calamus*[J]. *Natural Products Research and Development*, 2020, 32(11): 1969-1979.] DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.11.021.
- Barboza JN, da Silva Maia Bezerra Filho C, Silva RO, et al. An Overview on the anti-inflammatory potential and antioxidant profile of eugenol[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 3957262. DOI: 10.1155/2018/3957262.
- Lin X, Peng Z, Su C. Potential anti-cancer activities and mechanisms of costunolide and dehydrocostuslactone[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(5): 10888-10906. DOI: 10.3390/ijms160510888.
- 李懿轩, 王滨, 麻春杰, 等. 中蒙医药对大鼠脑缺血/再灌注损伤影响的研究进展[J]. *中国民族民间医药*, 2015, 24(4): 35-38. [Li YX, Wang B, Ma CJ, et al. Research progress of the effects of Chinese and Mongolian medicine on cerebral ischemia or reperfusion injury in rats[J]. *Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy*, 2015, 24(4): 35-38.] DOI: CNKI:SUN:MZMJ.0.2015-04-019.
- 杨彩静, 顾艳丽, 李君, 等. 扎冲十三挥发油提取包含工艺优化试验[J]. *现代中药研究与实践*, 2020, 34(2): 44-48. [Yang CJ, Gu YL, Li J, et al. Study on extraction process of volatile oil from zhachong-thirteen and inclusion preparation of  $\beta$ -cyclodextrin[J]. *Modern Research and Practice on Chinese Medicines*, 20, 34(2): 44-48.] DOI: 10.13728/j.1673-6427.2020.02.009.
- 田宇, 江汉美, 邸江雪, 等. HS-SPME-GC-MS 联用分析丁香、肉桂及其药对挥发性成分变化[J]. *中国医院药学杂志*, 2021, 41(9): 912-916. [Tian Y, Jiang HM, Di JX, et al. HS-SPME-GC-MS combining for analyzing the changes in volatile components of cloves, cinnamon and their drug pairs[J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 2021, 41(9): 912-916.] DOI: 10.13286/j.1001-5213.2021.09.08.
- 陈飞龙, 刘莉. 丁香普通粉及超微粉中挥发油的化学成分研究[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(12): 3056-3057. [Chen FL, Liu L. Analysis on the chemical compositions of the volatile oil from ultramicro-powder and common grinding powder of flos caryophylli[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2010, 21(12): 3056-3057.]



- DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2010.12.009.
- 15 侯鹏飞, 陈文星, 赵新慧, 等. 木香挥发性成分气质联用分析及其抑制血小板聚集作用的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(7): 26-30. [Hou PF, Chen WX, Zhao XH, et al. Analysis of chemical composition of the essential oil from radix aucklandiae by GC-MS and the effect on platelet aggregation[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2008, 14(7): 26-30.] DOI: 10.3969/j.issn.1005-9903.2008.07.011.
  - 16 叶耀辉, 马亚男, 乔欣. 木香挥发油超声辅助提取工艺优化及其化学成分分析 [J]. 现代食品科技, 2021, 37(3): 139-146. [Ye YH, Ma YN, Qiao X. Optimization of ultrasonic-assisted extraction process and analysis of chemical constituents of essential oil of Radix sapientis[J]. Modern Food Science & Technology, 2021, 37(3): 139-146.] DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.3.0845.
  - 17 张根荣, 胡静, 丁斐, 等. 肉豆蔻挥发性成分的气相色谱/质谱分析 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(11): 2596-2598. [Zhang GR, Hu J, Ding F, et al. Analysis of volatile components of Nutmeg by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2016, 27(11): 2596-2598.] DOI: CNKI:SUN:SZGY.0.2016-11-014.
  - 18 赵祥升, 黄立标, 陈宏降, 等. 肉豆蔻叶和种仁挥发油 GC-MS 分析 [J]. 现代中药研究与实践, 2012, 26(3): 69-72. [Zhao XS, Huang LB, Chen HJ, et al. GC-MS analysis of volatile oil from leaves and seeds of myristica fragrans houtt[J]. Research and Practice on Chinese Medicines, 2012, 26(3): 69-72.] DOI: 10.13728/j.1673-6427.2012.03.020.
  - 19 罗超华, 李俊. 气相色谱-质谱联用法分析石菖蒲挥发油中的化学成分 [J]. 中国处方药, 2014, 12(9): 120-121. [Luo CH, Li J. Analysis of chemical constituents in volatile oil of acorus calamus by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of China Prescription Drug, 2014, 12(9): 120-121.] DOI: 10.3969/j.issn.1671-945X.2014.09.103.
  - 20 赵华杰, 葛丽霞, 颜冰, 等. 诃子挥发性成分的提取与分析 [J]. 香料香精化妆品, 2020 (5): 1-4,10. [Zhao HJ, Ge LX, Yan B, et al. Extraction and analysis of volatile components in terminalia chebula[J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2020(5): 1-4,10.] DOI: 10.3969/j.issn.1000-4475.2020.05.001.
  - 21 郭晓玲, 田佳佳, 高晓霞, 等. 不同产区沉香药材挥发油成分 GC-MS 分析 [J]. 中药材, 2009, 32(9): 1354-1358. [Guo XL, Tian JJ, Gao XX, et al. Analysis of volatile oil components of Aloes from different producing areas by GC-MS[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2009, 32(9): 1354-1358.] DOI: 10.3321/j.issn:1001-4454.2009.09.006.
  - 22 梁勇, 典灵辉, 方昆阳, 等. 甘草挥发性成分 GC-MS 分析 [J]. 西北药学杂志, 2005, 20(1): 3-5. [Liang Y, Dian LH, Fang KY, et al. GC-MS analysis of volatile constituents of Glycyrrhiza uralensis Fisch[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2005, 20(1): 3-5.] DOI: 10.3969/j.issn.1004-2407.2005.01.001.
  - 23 赵艳艳, 房志坚. 一种新的人工结香沉香挥发油成分 GC-MS 分析 [J]. 中药材, 2013, 36(6): 929-933. [Zhao YY, Fang ZJ. Analysis of volatile oil components of a new artificial Aloes by GC-MS[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2013, 36(6): 929-933.] DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2013.06.026.
  - 24 陶莉, 望运玲, 武双婵, 等. 丁香酚对大鼠局灶性脑缺血/再灌注神经保护作用的不同产区沉香药材挥发油成分 GC-MS 分析研究 [J]. 中国药理学通报, 2013, 29(8): 1146-1150. [Tao L, Wang YL, Wu SC, et al. Neuroprotective effect of eugenol on focal cerebral ischemia/reperfusion in rats[J]. Chinese Pharmacology Bulletin, 2013, 29(8): 1146-1150.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2013.08.024.
  - 25 Zhang K, Liu Q, Luo L, et al. Neuroprotective effect of alpha-asarone on the rats model of cerebral ischemia-reperfusion stroke via ameliorating glial activation and autophagy[J]. Neuroscience, 2021, 473: 130-141. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2021.08.006.
  - 26 Yi M, Wang D, Chen Y, et al.  $\beta$ -Asarone suppresses TNF- $\alpha$  expression through DNA methylation and c-Jun-mediated transcription modulation in scratch-injured neuronal cells[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2021, 35(7): e22798. DOI: 10.1002/jbt.22798.
  - 27 李晓明. 石菖蒲活性成分调控神经元凋亡通路抑制脑缺血再灌注损伤的研究 [D]. 黑龙江省齐齐哈尔: 齐齐哈尔医学院, 2014.
  - 28 田彩云, 张浩楠, 何静波, 等. 嘎日迪-13 对局灶性脑缺血大鼠 NSE、TNF- $\alpha$ 、IL-6 表达的影响 [J]. 中草药, 2015, 46(5): 716-720. [Tian CY, Zhang HN, He JB, et al. Effect of Gridi-13 on expression of NSE, TNF- $\alpha$ , and IL-6

- after focal cerebral ischemia in rats[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2015, 46(5): 716–720.] DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.05.017.
- 29 张浩南, 杨玉梅, 张东, 等. 扎冲十三味不同工艺处方对脑缺血的保护作用[J]. *包头医学院学报*, 2011, 27(1): 17–18, 21. [Zhang HN, Yang YM, Zhang D, et al. Protective effects of different process prescriptions of Zhachong XIII on cerebral ischemia[J]. *Journal of Baotou Medical College*, 2011, 27(1): 17–18, 21.] DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2011.01.010.
- 30 陶春, 翟景波, 刘鑫, 等. 蒙成药扎冲十三味丸对大鼠脑缺血组织细胞凋亡的影响[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2013, 30(7): 642–644. [Tao C, Zhai JB, Liu X, et al. Effect of Mongolian medicine Zhachong Shisan Wei Pill on apoptosis of ischemic brain cells in rats[J]. *Journal of Apoplexy and Nervous Diseases*, 2013, 30(7): 642–644.] DOI: 10.19845/j.cnki.zfysjbbz.2013.07.018.
- 31 宝鲁尔, 陈红梅, 吴杰斯, 等. 一测多评法同时测定蒙药扎冲十三味丸中4种成分的含量[J]. *中国药理学杂志*, 2022, 57(1): 69–75. [Bao LE, Chen HM, Wu JS, et al. Simultaneous determination of four components in Zhachong shisanwei pills by QAMS[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2022, 57(1): 69–75.] DOI: 10.11669/cpj.2022.01.010.
- 32 Barrera-Sandoval AM, Osorio E, Cardona-Gómez GP. Microglial-targeting induced by intranasal linalool during neurological protection postischemia[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 857: 172420. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172420.
- 33 Choi YK, Cho GS, Hwang S, et al. Methyleugenol reduces cerebral ischemic injury by suppression of oxidative injury and inflammation[J]. *Free Radic Res*, 2010, 44(8): 925–935. DOI: 10.3109/10715762.2010.490837.
- 34 Khoshnazar M, Parvardeh S, Bigdeli MR. Alpha-pinene exerts neuroprotective effects via anti-inflammatory and anti-apoptotic mechanisms in a rat model of focal cerebral ischemia-reperfusion[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2020, 29(8): 104977. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104977.
- 35 Rosenstein JM, Krum JM, Ruhrberg C. VEGF in the nervous system[J]. *Organogenesis*, 2010, 6(2): 107–114. DOI: 10.4161/org.6.2.11687.
- 36 Moon S, Chang MS, Koh SH, et al. Repair mechanisms of the neurovascular unit after ischemic stroke with a focus on VEGF[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(16): 8543. DOI: 10.3390/ijms22168543.
- 37 Rempe RG, Hartz AMS, Bauer B. Matrix metalloproteinases in the brain and blood-brain barrier: Versatile breakers and makers[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2016, 36(9): 1481–1507. DOI: 10.1177/0271678X16655551.
- 38 Anan M, Abe T, Shimotaka K, et al. Induction of collateral circulation by hypoxia-inducible factor 1alpha decreased cerebral infarction in the rat[J]. *Neurol Res*, 2009, 31(9): 917–922. DOI: 10.1179/174313209X383231.
- 39 Um JY, An NH, Kim HM. TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms in cerebral infarction[J]. *J Mol Neurosci*, 2003, 21(2): 167–171. DOI: 10.1385/JMN:21:2:167.
- 40 周云, 屠思维, 傅美香. 决明子水提取物对脑缺血/再灌注损伤大鼠的脑保护作用及对cGAS/STING通路的影响[J]. *中国药师*, 2021, 24(10): 1823–1828. [Zhou Y, Tu SW, Fu MX. Protective effects of aqueous extract of semen cassiate on cerebral ischemia/reperfusion injury in rats and its influence on cGAS/STING pathway[J]. *China Pharmacist*, 2021, 24(10): 1823–1828.] DOI: 10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2021.10.009.
- 41 Wang S, Zhou J, Kang W, et al. Tocilizumab inhibits neuronal cell apoptosis and activates STAT3 in cerebral infarction rat model[J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2016, 16(2): 145–150. DOI: 10.17305/bjbm.2016.853.
- 42 万梅, 周志明. VEGF和MMP-9与缺血性脑卒中关系的研究进展[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2015, 20(3): 344–348. [Wan M, Zhou ZM. Research progress in effects of VEGF and MMP-9 on ischemic stroke[J]. *Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2015, 20(3): 344–348.] <https://d.wanfangdata.com.cn/periodical/zgleylxzyzx201503022>.
- 43 Chen D, Wei L, Liu ZR, et al. Pyruvate kinase M2 increases angiogenesis, neurogenesis, and functional recovery mediated by upregulation of STAT3 and focal adhesion kinase activities after ischemic stroke in adult mice[J]. *Neurotherapeutics*, 2018, 15(3): 770–784. DOI: 10.1007/s13311-018-0635-2.
- 44 张坤, 曾庆鑫. 血清转化生长因子-β1水平与短暂性脑缺血发作患者颈动脉粥样硬化的关系[J]. *包头医学院学报*, 2017, 33(3): 84–86. [Zhang K, Zeng QX. The correlation between serum transforming growth factor-β1 level and carotid atherosclerosis in TIA patients[J]. *Journal*



- of Baotou Medical College, 2017, 33(3): 84–86.] DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2017.03.042.
- 45 潘晓蓉, 鲁亦捷, 姜坤. 化痰消斑汤治疗颈动脉粥样硬化性脑梗死的临床研究及对 hs-CRP、VEGF、MMP-9 因子的影响 [J]. 贵州医药, 2018, 42(9): 1054–1056. [Pan XR, Lu YJ, Jiang K. Clinical study of Huayu Xiaoban Decoction in the treatment of carotid

atherosclerotic cerebral infarction and its effect on hs-CRP, VEGF and MMP-9 factors [J]. Guizhou Medical Journal, 2018, 42(9): 1054–1056.] DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2018.09.010.

收稿日期: 2022 年 08 月 05 日 修回日期: 2022 年 10 月 20 日  
本文编辑: 钟巧妮 周璐敏