

抗幽门螺杆菌活性挥发油的筛选、药效物质分析及其作用机制预测

刘傲蕾^{1, 3, 4}, 杨艳芳^{1, 2, 3, 4}, 孙赛宇¹, 曾 景^{1, 3, 4}, 吴和珍^{1, 2, 3, 4*}, 彭 方^{5*}

1. 湖北中医药大学 药学院, 湖北 武汉 430065
2. 湖北时珍实验室, 湖北 武汉 430065
3. 现代中药与民族药湖北省工程研究中心, 湖北 武汉 430065
4. 中药资源与中药化学湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430065
5. 武汉药品医疗器械检验所, 湖北 武汉 430073

摘要: **目的** 探讨抗幽门螺杆菌 (HP) 活性挥发油的药效物质, 初步预测潜在活性成分及其作用机制。**方法** 微量稀释法 (96 微孔板) 测定丁香、广藿香、紫苏、牛至、枳实、厚朴、薄荷、肉桂 8 种挥发油对 HP 的抑制率, 筛选出抑菌活性最强的 3 种挥发油。气相色谱-质谱法联用 (GC-MS) 分析 3 种挥发油的化学成分, 利用 TCMSP、Swiss Target Prediction、PubChem 数据库获取 3 种挥发油主要活性成分及其对应靶点信息; 网络药理学技术预测其潜在活性成分、相关通路及关键靶点; AUTO DOCK Vina 软件对核心成分及关键靶点基因进行分子对接, 初步验证潜在活性成分及关键靶点。**结果** 广藿香、牛至和肉桂挥发油抑制 90% 细菌生长的最低药物浓度 (MIC₉₀) 分别为 0.250、0.250、0.125 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$, 具有较强的抑菌活性; 从以上 3 种挥发油中分别鉴定出 27、26、15 个化学成分, 共筛选出 15 个活性成分, 涉及 232 个基因靶点, 影响了与抑制 HP 相关的癌症通路、化学致癌-受体激活及 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药性等 275 条信号通路; 分子对接验证结果显示 3 种挥发油抗 HP 与 SRC 蛋白密切相关, 15 个活性成分与关键靶点 SRC 的结合较为稳定。**结论** 广藿香、牛至、肉桂 3 种活性挥发油通过多成分、多靶点、多通路的形式发挥抗 HP 作用。

关键词: 挥发油; 抗幽门螺杆菌活性; SRC; 微量稀释法; GC-MS; 网络药理学; 丁香; 广藿香; 紫苏; 牛至; 枳实; 厚朴; 薄荷; 肉桂

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 06-1199-18

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.06.004

Screening of anti-*Helicobacter pylori* active volatile oils, analysis of pharmacodynamic substances and prediction of their mechanism of action

LIU Aolei^{1, 3, 4}, YANG Yanfang^{1, 2, 3, 4}, SUN Saiyu¹, ZENG Jing^{1, 3, 4}, WU Hezhen^{1, 2, 3, 4}, PENG Fang⁵

1. Faculty of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China
2. Hubei Shizhen Laboratory, Wuhan 430065, China
3. Modern Engineering Research Center of Traditional Chinese Medicine and Ethnic Medicine of Hubei Province, Wuhan 430065, China
4. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Resources and Chemistry of Hubei Province, Wuhan 430065, China
5. Wuhan Institute for Drug and Medical Device Inspection, Wuhan 430073, China

Abstract: Objective To screen the volatile oils with anti-*Helicobacter pylori* (HP) activity from eight plant volatile oils, to explore their pharmacodynamic substances, and to preliminarily predict the potential active components and their mechanisms of action.

Methods The inhibition rates of eight volatile oils against HP were determined by microdilution (96 microtiter plate), and the top three volatile oils with antibacterial activity were screened out. The chemical compositions of the three volatile oils were analyzed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), and the information of the three volatile oils and their corresponding targets

收稿日期: 2024-01-11

基金项目: 国家重点研发计划中医药现代化研究重点专项(2017YFC1701000)

第一作者: 刘傲蕾, 硕士研究生, 研究方向为中药的品种、质量及资源的开发。E-mail: AoleiLiu@163.com

*共同通信作者: 吴和珍, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药的品种、质量及资源的开发。E-mail: hezh_wu@163.com

彭 方, 学士, 主管中药师, 研究方向为中药质量分析。E-mail: 46402181@qq.com

were obtained by using TCMS, Swiss Target Prediction, and Pub Chem databases; Network pharmacology techniques were used to predict the potential active ingredients, related pathways and key targets; AUTO DOCK vina software was used to perform molecular docking on the genes of the core ingredients and key targets, and the potential active ingredients and key targets were preliminarily verified. **Results** The minimum inhibitory concentration (MIC_{90}) of volatile oils of *Pogostemonis Herba*, *Origani Herba*, and *Cinnamomi Cortex* were 0.250, 0.250 and $0.125 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively, with strong bacteriostatic activity. The three volatile oils identified 27, 26 and 15 chemical components respectively, and a total of 15 active components were screened, including 232 gene targets, affecting pathways in cancer, chemical carcinogenesis-receptor activation and EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance (EGFR), which are related to the inhibition of HP. Comparative molecular docking validation showed that the three volatile oils against HP were closely related to SRC proteins, and the 15 active ingredients obtained from the screening showed more stable binding to the key target SRC. **Conclusion** The three active volatile oils (*Pogostemonis Herba*, *Origani Herba*, and *Cinnamomi Cortex*) exerted anti-HP effects through multi-components, multi-targets and multi-pathways, which provided a scientific basis for further elucidation of the anti-HP mechanism of volatile oils.

Key words: volatile oil; anti-*Helicobacter pylori* activity screening; SRC; microdilution method; GC-MS; network pharmacology; *Caryophylli Flos*; *Pogostemonis Herba*; *Perillae Folium*; *Origain Herba*; *Aurantii Fructus Immaturus*; *Magnoliae Officinalis Cortex*; *Menthae Haplocalycis Herba*; *Cinnamomi Cortex*

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, HP)是一种微需氧的革兰阴性菌,可定植于胃上皮黏膜,为消化道溃疡的病因之一。HP感染率居高不下,全世界约半数人口存在HP感染,且90%的恶性胃肿瘤与HP感染有关^[1]。2017年10月27日,HP被世界卫生组织国际癌症研究机构列为一类致癌物。尽管随着公共卫生情况改善和社会经济的发展,HP感染率有所减少,但HP感染会引发一系列炎症驱动的疾病,HP仍然是最常见的细菌病原体^[2]。

中药挥发油是一种广泛存在的植物次生代谢产物。其相对分子质量较小,气味强烈,在常温下易挥发,含有萜类、脂肪族、芳香族化合物及含氧衍生物等成分,具有抗菌、抗炎、提高免疫力、抗氧化等多种生物学活性^[3-4]。近年来挥发油在食品、医药、畜牧业领域的应用正在逐步受到关注^[5]。《中国药典》(2020年版)一部收载有丁香罗勒油、八角茴香油、广藿香油、牡荆油等10余种中药挥发油^[6]。

紫苏、丁香、广藿香、牛至、枳实、厚朴6种中药含有较丰富的挥发油,且归胃经或多用于行气和胃止呕等,可能与治疗胃部疾病相关;诸多学者研究表明,薄荷挥发油、肉桂挥发油、广藿香挥发油及牛至挥发油有较广泛的抗菌作用,且肉桂挥发油、广藿香挥发油对HP有抗菌作用^[7-8],但其抗HP作用仅初步检测最小抑菌浓度(MIC)、抑菌圈等,缺少抑菌物质基础及作用机制的深入研究。本研究选用丁香、广藿香、紫苏、牛至、枳实、厚朴、薄荷、肉桂这8种常见中药,测定其挥发油对HP的抑制90%细菌生长的最低药物浓度(MIC_{90}),根据 MIC_{90} 筛选出抑菌效果较好的3种挥发油,再结合气相色谱法-质谱

法联用(GC-MS)分析3种挥发油中所含化学成分,进一步通过网络药理学分析和分子对接验证,预测其潜在抗HP活性成分及其作用机制,为后续研究提供实验依据。

1 材料

1.1 主要数据库及软件

本研究所涉及数据库及软件相关信息见表1。

1.2 主要试剂

分析纯无水乙醇(批号20230123),由国药集团化学试剂有限公司提供;脑心培养液(批号HB8478)、哥伦比亚血琼脂基础(批号HB0124)和无菌脱纤维羊血(批号1001339-1),均由青岛海博生物科技有限公司提供;细菌冻存液(批号080723240305),由武汉碧云天生物技术有限公司提供。

1.3 主要药材饮片

主要药材相关信息见表2。本研究所用中药饮片经湖北中医药大学药学院生药学教研室吴和珍教授鉴定均为正品,饮片样本保存于湖北中医药大学中药资源与中药化学湖北省重点实验室。

1.4 试验菌株

HP菌株购自宁波明舟生物科技有限公司,菌种编号为B84182(ATCC43504)。

1.5 主要仪器

见表3。

2 方法

2.1 挥发油对HP抗菌活性筛选

2.1.1 试验菌株的培养 所有操作均在严格无菌条件下进行。在垂直层流洁净工作台中取出长有

表 1 数据库/软件相关信息
Table 1 Database/software-related information

数据库/软件名称	网址
中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)	https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php
NIST Chemistry WebBook	https://webbook.nist.gov/chemistry/
PubChem	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
Swiss Target Prediction	http://www.swisstargetprediction.ch/
Pharm Mapper	http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/
Gene Cards	https://www.genecards.org/
UniProt	https://www.uniprot.org/
Venny2.1.0	https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html
DAVID	https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp
Omicshare tool	https://www.omicshare.com/book/
STRING	https://cn.string-db.org/
KOBAS3.0	http://kobas.cbi.pku.edu.cn/
RSCB PDB	https://www.rcsb.org/
PubMed	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/
bioinformatics	http://www.bioinformatics.com.cn/
Cytoscape 3.10.1	software
AUTO DOCK Vina	software

表 2 主要药材饮片
Table 2 Main medicinal herbs

药材	产地	生产批号	厂家
广藿香(<i>Pogostemonis Herb</i>)	广东	B21100801-01	湖北天济药业有限公司
紫苏(<i>Perillae Folium</i>)	河北	20210201	新疆和济中药饮片有限公司
牛至(<i>Origain Herba</i>)	湖北	2020年8月自采	—
肉桂(<i>Cinnamomi Cortex</i>)	广西	20220601	湖北辰美药业中药有限公司
薄荷(<i>Menthae Haplocalycis Herba</i>)	安徽	211101	湖北瑞聚生物科技公司
丁香(<i>Caryophylli Flos</i>)	安徽	20210111	湖北辰美药业中药有限公司
枳实(<i>Aurantii Fructus Immaturus</i>)	四川	20210307	湖北辰美药业中药有限公司
厚朴(<i>Magnoliae Officinalis Cortex</i>)	四川	20210621	湖北辰美药业中药有限公司

透明针尖样菌落的平板,用一次性无菌接种环挑取一环菌落,置于0.9%氯化钠溶液中混匀,小心吸取少许菌液于紫外分光光度计下检测,调整菌液浓度为 1×10^8 CFU·mL⁻¹。吸取该菌液 200 μL 置于含5%脱纤维羊血琼脂平板上,放入4~5颗直径为4 mm的无菌玻璃珠,充分摇晃,使菌液均匀铺在平板表面。取出玻璃珠,将平板倒置放于培养箱,在37℃、含氧量为6%左右的微需氧、95%湿度环境中培养72 h。

2.1.2 挥发油的提取 分别取广藿香、牛至、薄荷、厚朴、丁香、肉桂、紫苏、枳实饮片各200 g,分别加2 000 g纯水与4 mm玻璃珠,回流提取6 h,收集挥发油提取器上层或下层挥发油,各挥发油得率分别

为1.02%、1.20%、0.32%、0.32%、1.15%、2.05%、0.90%、1.00%,除水后置于-20℃避光储存备用。该提取方法符合《中国药典》2020年版四部通则“2204挥发油测定法”项下的规定。”

2.1.3 挥发油最小抑菌浓度的测定 将培养好的细菌平板在层流洁净工作台中打开,用一次性无菌接种环挑取一环于无菌脑心肉汤培养基中,在37℃培养箱中培养至对数期生长期($A_{600}=0.5\sim0.8$)时用于受试。实验分为只加培养基和该浓度药物的阴性对照组、加同浓度菌液不加药物的生长对照组以及加固定浓度菌液和培养基稀释的不同浓度挥发油药液的给药组。调整菌液与药物浓度,使含药浓度梯度为8.000 0、4.000 0、2.000 0、1.000 0、0.500 0、

表3 主要仪器设备
Table 3 Main equipment

仪器名称	规格型号	生产厂家
挥发油提取器	轻、重油提取器	扬州市葵花玻璃仪器厂
万分之一天平	BS A224S-CW	北京赛多利斯仪器有限公司
十万分之一天平	BT25S	北京赛多利斯仪器有限公司
2.5 L圆底立式厌氧培养袋	HBYY007	青岛海博生物技术有限公司
2.5 L微需氧产气包	HBYY008	青岛海博生物技术有限公司
酶联免疫检测仪	SPARK 10M	瑞士 Tecan 公司
高压灭菌锅	LDZX-40	上海申安医疗器械厂
二氧化碳培养箱	INCO 246	德国 Memmert 公司
垂直层流洁净工作台	HCB-1300V	青岛海尔特种电器有限公司
倒置显微镜	CKX31	日本奥林巴斯光学株式会社
超低温冰箱	DW-86L828J	青岛海尔生物医疗股份有限公司
高速冷冻离心机	5810R	德国 Eppendorf 公司

0.250 0、0.125 0、0.062 5、0.031 3、0.015 6 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，菌液浓度为 1×10^5 CFU $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。将各组液体接种于96孔板中，每孔200 μL ，每个梯度设5个复孔，最外圈用无菌液体培养基平衡。微需氧条件下培养72 h，酶标仪在600 nm处检测吸光度 A 值，IBM SPSS Statistics 26计算抑菌率，并通过GraphPad Prism 8可视化。抑菌率计算公式如下：

$$\text{细菌抑制率} = (A_{\text{生长对照孔}} - A_{\text{给药孔}}) / (A_{\text{生长对照孔}} - A_{\text{阴性对照孔}})$$

当抑菌率达到90%以上时产生抑菌作用的最小浓度称为MIC₉₀。每次试验都设置3个96微孔板为平行试验，连续重复3次以上。

2.2 气相-质谱联用(GC-MS)分析挥发油化学成分

2.2.1 样品的制备 取活性筛选排名中活性最强的3种挥发油，即为GC-MS测定所用样品。

2.2.2 气质联用条件 气相色谱条件：TR-5MS毛细管气相色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm)；柱温为程序升温，初始温度60 $^{\circ}\text{C}$ ，保持7 min，以每分钟9 $^{\circ}\text{C}$ 的速率升温至150 $^{\circ}\text{C}$ ，保持2 min，再以每分钟2 $^{\circ}\text{C}$ 的速率升温至170 $^{\circ}\text{C}$ ，保持1 min，最后以每分钟25 $^{\circ}\text{C}$ 的速率升温至270 $^{\circ}\text{C}$ ，保持1 min。载气为高纯度氮($\geq 99.99\%$)，载气体积流量为1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ ，进样口温度230 $^{\circ}\text{C}$ ，进样量10 μL ，运行时间30 min。

质谱检测条件：EI源；离子源温度230 $^{\circ}\text{C}$ ；电离电压70 V；进样口温度250 $^{\circ}\text{C}$ ；质量扫描范围 m/z 40~600。

2.2.3 化学成分的比对与解析 GC-MS法得到总离子流图及二级谱图，再结合PubChem、NIST数据库中的标准谱图、文献中的碎片离子信息、出峰信息进行匹配，解析牛至挥发油、肉桂挥发油、广藿香

挥发油的化学成分。

2.3 网络药理学分析

2.3.1 化学成分的收集汇总 化学成分来源为质谱解析所得成分，参考“2.2项”下分析结果。

2.3.2 活性成分靶点收集汇总 利用TCMSP、PubChem数据库获取牛至挥发油、肉桂挥发油、广藿香挥发油主要成分及其对应靶点信息^[9]。在PubChem^[10]上根据Pub Chem CID或者CAS检索得到化合物对应结构并保存2D结构为SDF格式，将各化合物结构导入Swiss Target Prediction和Pharm Mapper查找对应活性成分的蛋白靶点；在Uniport数据库中将蛋白转化为对应基因的Gene Official Symbol，将所有活性成分靶点汇总，分别取并集得到各挥发油对应的活性成分靶点。在Gene Cards^[11]中以“*Helicobacter pylori*”为检索词检索得到HP相关的靶点信息。将挥发油活性成分靶点和HP相关靶点导入Venny2.1.0中取交集，得到挥发油-HP的交集靶点，认为是挥发油抑制HP的潜在靶点。

2.3.3 潜在靶点基因本体(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析及可视化 将挥发油抑制HP的潜在靶点导入DAVID数据库，进行GO分析和KEGG分析^[12-13]。将以上基因列表的功能注释和富集分析结果导入Omicshare数据库，以条图的形式绘制排名前10的GO富集条目，以气泡图的形式绘制排名前10的KEGG通路($P < 0.05$)。

2.3.4 化合物-靶点-通路(C-T-P)网络构建和蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建 为了探寻挥发油抑制HP过程中挥发油活性化合物、潜在靶蛋白

和HP相关通路之间的关系,将这3种数据处理后导入Cytoscape3.10.1^[13]中,构建C-T-P网络。将潜在靶点导入STRING^[14]数据库中,在Organisms一项中选择Homo Sapiens运行后得到PPI关系,下载TSV格式并将其导入Cytoscape 3.10.1中进行数据分析及可视化,得到PPI网络图。

C-T-P和PPI网络图中每个节点(node)代表化合物、潜在核心靶点和通路或靶点;两个节点之间的边(edge)代表节点之间的相互作用;节点的度值(degree)是对连接边数的计数^[15]。利用“Network analyser”功能进行拓扑分析,并根据网络结果中的degree值筛选得到核心基因,通常认为degree值大于中位值的靶点具有重要意义。

2.3.5 活性化合物与关键靶点的分子对接研究在PubChem中下载挥发油活性化合物的3D结构,RCSB PDB^[10]数据库中下载筛选得到的degree排名前5的靶点蛋白的3D结构。将小分子化合物进行能量最小化,大分子结构进行加氢、去水、清理蛋白等处理,在AUTO DOCK Vina中进行蛋白质大分子与化合物小分子对接。

2.4 数据分析

均采用SPSS 26.0软件进行数据分析,实验数据统计结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较,数据符合正态分布且方差齐采用单因素方差分析和 t 检验。

3 结果

3.1 中药挥发油的活性筛选

等倍稀释法(96微孔板)初步测定8种受试挥发油对于HP的抑制率,得到其MIC,如表4所示。根

表4 8种常见植物挥发油MIC₉₀

Table 4 MIC₉₀ of eight common volatile oils

名称	MIC ₉₀ /($\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$)
广藿香挥发油	0.250
紫苏挥发油	4.000
牛至挥发油	0.250
肉桂挥发油	0.125
薄荷挥发油	1.000
丁香挥发油	1.000
枳实挥发油	8.000
厚朴挥发油	8.000

据测得挥发油的MIC₉₀,选取MIC小于 $1.00 \mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的挥发油作为后续实验研究对象。广藿香挥发油、牛至挥发油和肉桂挥发油的MIC₉₀分别为0.250、0.250、0.125 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$,抗HP效果较好。将3种挥发油的 A_{600} 通过公式计算处理后做图,可见3种挥发油的抑菌率与浓度均呈现剂量依赖性,如图1所示。肉桂挥发油相比于其他7种挥发油具有最好的抑菌活性。

3.2 挥发油化学成分分析

从广藿香挥发油中共鉴定出27个化学成分,占总离子峰的92.35%;从牛至挥发油中共鉴定出26个化学成分,占总离子峰的97.43%;从肉桂挥发油中共鉴定出15个化学成分,占总离子峰的90.84%。具体成分信息见表5~7。各挥发油的GC-MS谱图见图2~4。

3.3 网络药理学结果

3.3.1 挥发油抗HP的潜在靶点筛选 在PubChem

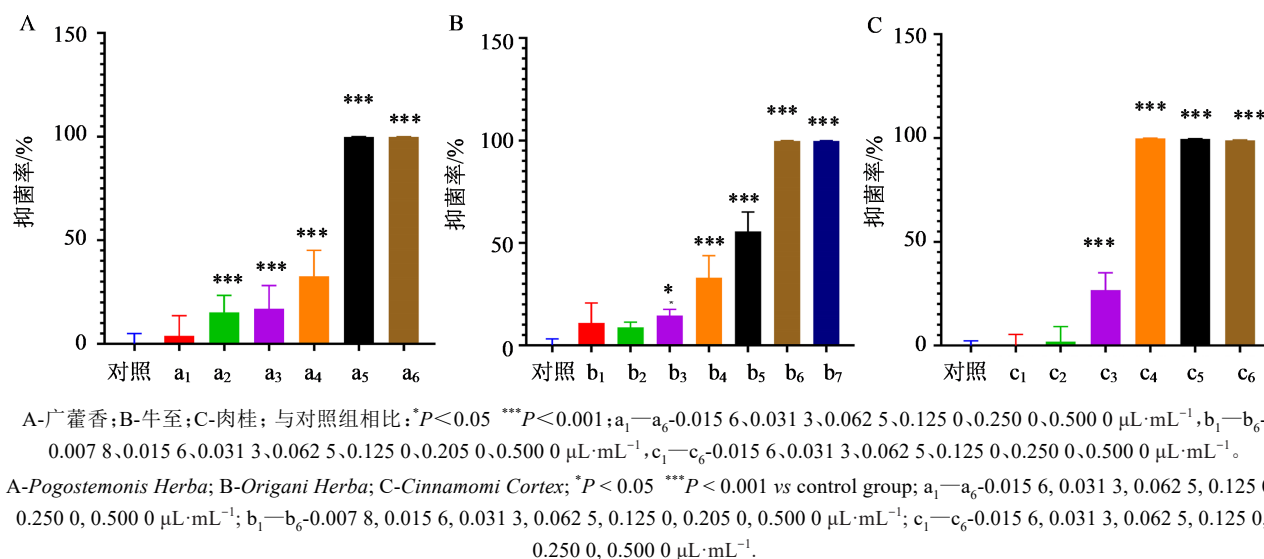


Fig. 1 Inhibition results of three kinds of volatile oil

表 5 广藿香挥发油化学成分信息
Table 5 Chemical composition information of patchouli volatile oil of *Pogostemonis Herba*

序号	成分名称	相对峰面积/%	<i>t_R</i> /min	CAS/ PubChemCID
1	(±)-柠檬烯[(+/-)-limonene]	0.68	13.17	138-86-3
2	4-萜品醇[(-)-terpinen-4-ol]	0.11	13.89	20126-76-5
3	萜品油烯(terpinolene)	0.88	14.27	586-62-9
4	异丁香酚(isoeugenol)	0.14	15.20	97-54-1
5	乙酸壬酯(nonyl acetate)	0.17	16.73	143-13-5
6	β-蛇麻烯[(1 <i>E</i> ,4 <i>E</i> ,8 <i>E</i>)-α-humulene]	0.06	17.25	5281520
7	α-布黎烯(α-bulnesene)	4.90	17.37	3691-11-0
8	β-石竹烯(β-caryophyllene)	3.52	17.99	87-44-5
9	葎草烯(humulene)	5.75	18.24	6753-98-6
10	西车烯(seychellene)	7.97	18.76	519743
11	α-愈创木烯(α-guaiene)	4.49	18.97	654486
12	(+)-长叶烯[(+)-longifolene]	4.14	19.03	475-20-7
13	愈创木-4,11-二烯(guaia-4,11-diene)	1.60	19.56	565709
14	广藿香烯(patchoulene)	7.59	19.76	560-32-7
15	β-愈创木烯(β-guaiene)	1.12	19.88	88-84-6
16	(+)-δ-杜松烯[(+)-δ-cadinene]	0.10	20.06	483-76-1
17	香树烯(alloaromadendrene)	0.20	20.23	10899740
18	α-古芸烯[(-)-α-gurjunene]	2.16	20.45	489-40-7
19	刺蕊草醇(pogostol)	2.17	21.63	21698-41-9
20	1-甲基-4-(6-甲基庚-1,5-二烯-2-基)环己烷[1-methyl-4-(6-methylhepta-1,5-dien-2-yl)cyclohexane]	4.48	21.94	869843-05-0
21	氧化石竹烯(caryophyllene oxide)	2.47	22.37	1139-30-6
22	法尼醇(farnesol)	2.89	22.97	4602-84-0
23	桉油烯醇(spathulenol)	1.07	23.47	6750-60-3
24	榄香烯(β-elemene)	0.37	23.98	33880-83-0
25	百秋李醇(patchouli alcohol)	31.32	25.23	5986-55-0
26	广藿香酮(pogostone)	1.81	26.58	23800-56-8
27	widdrol	0.19	28.79	6892-80-4

中获得活性成分的 2D 化学结构式, 导入 Swiss Target Prediction 数据库, 分析后选取 Probability>0 的靶点, 将所有化合物的靶点去重后整合。得到广藿香挥发油活性成分靶点 201 个; 牛至挥发油活性成分靶点 286 个; 肉桂挥发油活性成分靶点 168 个。以“*Helicobacter pylori*”为检索词在 Gene Cards 中获得 HP 相关靶点 2 287 个。将挥发油活性成分靶点和 HP 相关靶点导入 Venny2.1.0, 在 Venny2.1.0 中获得广藿香挥发油活性成分靶点与 HP 相关靶点的交集靶点 77 个; 牛至挥发油活性成分靶点与 HP 相关靶点的交集靶点 96 个; 肉桂挥发油活性成分靶点与 HP 相关靶点的交集靶点 59 个, 如图 5 所示。将这些靶点列为挥发油抗 HP 的潜在靶点。

3.3.2 潜在靶点的生物功能和通路富集分析

(1) 广藿香潜在靶点的生物功能和通路富集分析: 通过 DAVID 数据库对广藿香挥发油的 77 个潜在靶点进行 GO 分析。选取 *P*<0.05 的条目, 广藿香挥发油总共富集到 431 条 GO 条目, 其中生物过程 (BP) 有 302 条 (70.07%), 细胞组分 (CC) 有 88 条 (20.42%), 分子功能 (MF) 有 41 条 (9.51%)。选取前 20 条目进行可视化分析, 如图 6 所示。根据 GO 分析富集结果可知, 靶点主要富集在细胞增殖的正向调节 (positive regulation of cell proliferation, GO: 0008284)、凋亡过程的负调控 (negative regulation of apoptotic process, GO: 0043066)、MAP 激酶活性的正向调节 (positive regulation of MAP kinase

表 6 牛至挥发油化学成分信息
Table 6 Chemical composition information of volatile oil of *Origanum Herba*

顺序	成分名称	相对峰面积/%	RT/min	CAS/ PubChemCID
1	α -蒎烯(α -pinene)	1.72	6.57	80-56-8
2	莰烯(camphene)	0.35	7.63	79-92-5
3	1-辛烯-3-醇(1-octen-3-ol)	0.16	9.04	3391-86-4
4	β -蒎烯[(-)- β -pinene]	4.70	9.04	18172-67-3
5	α -侧柏酮(α -thujone)	0.53	9.91	546-80-5
6	对伞花烃(p-cymene)	22.83	10.40	99-87-6
7	3-蒎烯(3-carene)	11.31	11.16	13466-78-9
8	1-甲基-4-(1-甲基乙烯基)-环己烷[1-methylene-4-(1-methylvinyl)-cyclohexane]	0.41	11.73	499-97-8
9	4-萜烯醇[4-terpineol, (+/-)-]	1.98	12.12	562-74-3
10	龙脑(isoborneol)	6.09	13.92	6627-72-1
11	4-异丙基苯甲酸(4-isopbenzoic acid)	12.37	14.99	536-66-3
12	甲基丁香酚(methyleugenol)	0.07	15.54	93-15-2
13	香荆芥酚(carvacrol)	17.41	16.19	499-75-2
14	麝香草酚(thymol)	6.18	16.32	89-83-8
15	香芹酚乙酸酯(carvacryl acetate)	1.49	17.07	6380-28-5
16	肉豆蔻醚(myristicin)	0.37	17.20	607-91-0
17	β -波旁烯(β -bourbonene)	0.52	17.35	5208-59-3
18	β -石竹烯(β -caryophyllene)	5.93	18.03	87-44-5
19	葎草烯(humulene)	0.50	18.74	6753-98-6
20	丁香酚(eugenol)	0.23	19.62	97-53-0
21	β -金合欢烯(β -farnesene)	0.44	19.73	18794-84-8
22	(+)- δ -杜松烯[(+)- δ -cadinene]	1.21	20.07	483-76-1
23	α -柏木烯(α -cedrene)	0.15	20.16	469-61-4
24	α -古芸烯[(-)- α -gurjunene]	0.06	20.48	489-40-7
25	洋芹脑(apiole)	0.13	21.80	523-80-8
26	氧化石竹烯(caryophyllene oxide)	0.29	21.96	1139-30-6

activity, GO: 0043406) 等 BP, 酶结合(enzyme binding, GO: 0019899)、甾体结合(steroid binding, GO: 0005496)、RNA 聚合酶 II 转录因子活性、配体激活序列特异性 DNA 结合(RNA polymerase II transcription factor activity, ligand-activated sequence-specific DNA binding, GO: 0004879)等 MF 和细胞质(cytoplasm, GO: 0005737)、细胞溶质(cytosol, GO: 0005829)、核质(nucleoplasm, GO: 0005654)等 CC 过程密切相关。

通过 DAVID 数据库对 77 个潜在靶点进行 KEGG 分析。选取 $P<0.05$ 的条目, 总共富集到 92 条 KEGG 通路, 将前 10 条结果用气泡图可视化, 如图 7-A 所示。KEGG 富集分析结果显示, 广藿香挥发油抗 HP 的潜在靶点主要富集在以下几条信号通路: 癌症通路(pathways in cancer)、化学致癌-受体

激活(chemical carcinogenesis-receptor activation)、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药(EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance)、癌症中的蛋白聚糖(proteoglycans in cancer)、化学致癌物-受体氧化类(chemical carcinogenesis-receptor oxygen species)。

(2)牛至潜在靶点的生物功能和通路富集分析: 通过 DAVID 数据库对牛至挥发油的 96 个潜在靶点进行 GO 分析。选取 $P<0.05$ 的条目, 牛至挥发油总共富集到 451 条 GO 条目, 其中 BP 有 322 条(71.40%), CC 有 46 条(10.20%), MF 有 83 条(18.40%)。选取前 20 条目进行可视化分析, 如图 8 所示。

根据 GO 分析富集结果可知, 靶点主要富集在蛋白磷酸化(protein phosphorylation, GO: 0006468)、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调

表7 肉桂挥发油化学成分信息
Table 7 Chemical composition information of volatile oil of *Cinnamomi Cortex*

序号	成分名称	相对峰面积/%	t_R /min	CAS/ PubChemCID
1	苯甲醛(benzaldehyde)	2.10	8.61	100-52-7
2	4-萜烯醇[4-terpineol, (+/-)-]	0.34	12.12	562-74-3
3	桂皮醛(cinnamaldehyde)	68.25	16.22	104-55-2
4	α -布黎烯(α -bulnesene)	4.09	17.18	3691-11-0
5	β -瑟林烯(β -selinene)	0.52	17.38	17066-67-0
6	葎草烯(humulene)	0.20	18.72	6753-98-6
7	α -布黎烯(α -bulnesene)	1.73	19.07	3691-11-0
8	丁香酚(eugenol)	4.46	19.62	97-53-0
9	β -愈创木烯(β -guaiene)	3.24	20.07	88-84-6
10	邻羟基苯甲酸甲酯(methylsalicylate)	1.93	20.24	119-36-8
11	α -古芸烯[(-)- α -gurjunene]	0.54	20.47	489-40-7
12	肉桂酸甲酯(methylcinnamate)	2.03	20.84	103-26-4
13	顺-顺-金合欢醇(cis, cis-farnesol)	0.32	22.54	16106-95-9
14	α -柏木烯(α -cedrene)	0.65	23.20	469-61-4
15	香橙烯[(+)-aromadendrene]	0.44	23.81	489-39-4

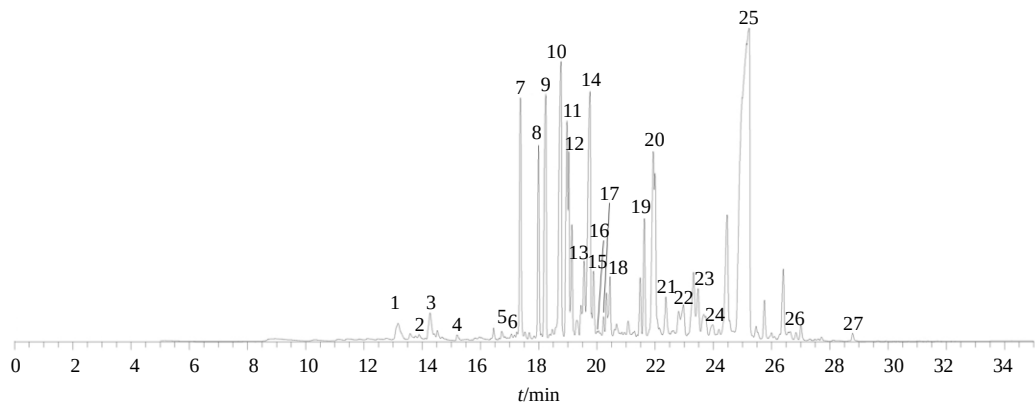


图2 广藿香挥发油的GC-MS谱图
Fig. 2 GC-MS spectrum of volatile oil of *Pogostemonis Herba*

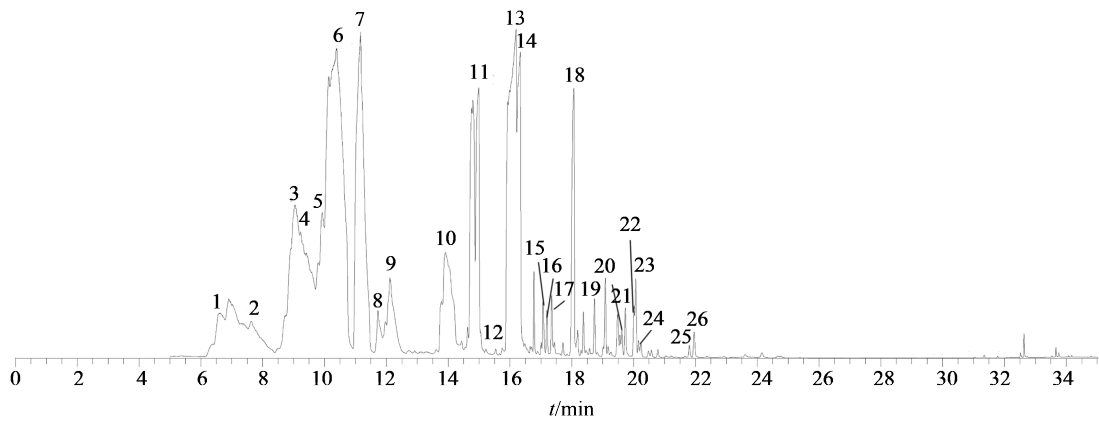


图3 牛至挥发油 GC-MS谱图
Fig. 3 GC-MS spectrum of volatile oil of *Origani Herba*

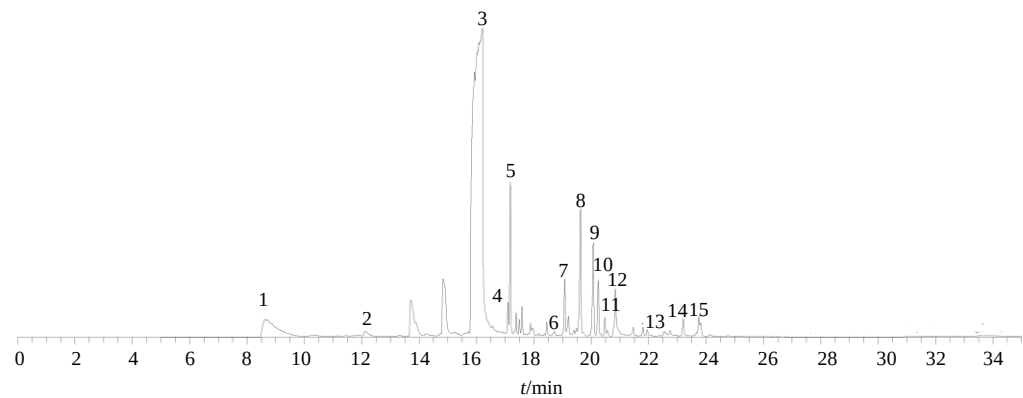


图 4 肉桂挥发油 GC-MS 谱图
Fig. 4 GC-MS spectrum of volatile oil of *Cinnamomi Cortex*

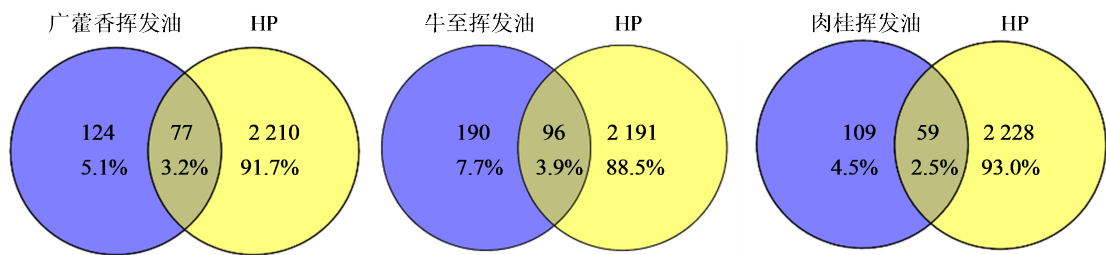


图 5 挥发油与 HP 交集靶点
Fig. 5 Potential target obtained by volatile oil with HP

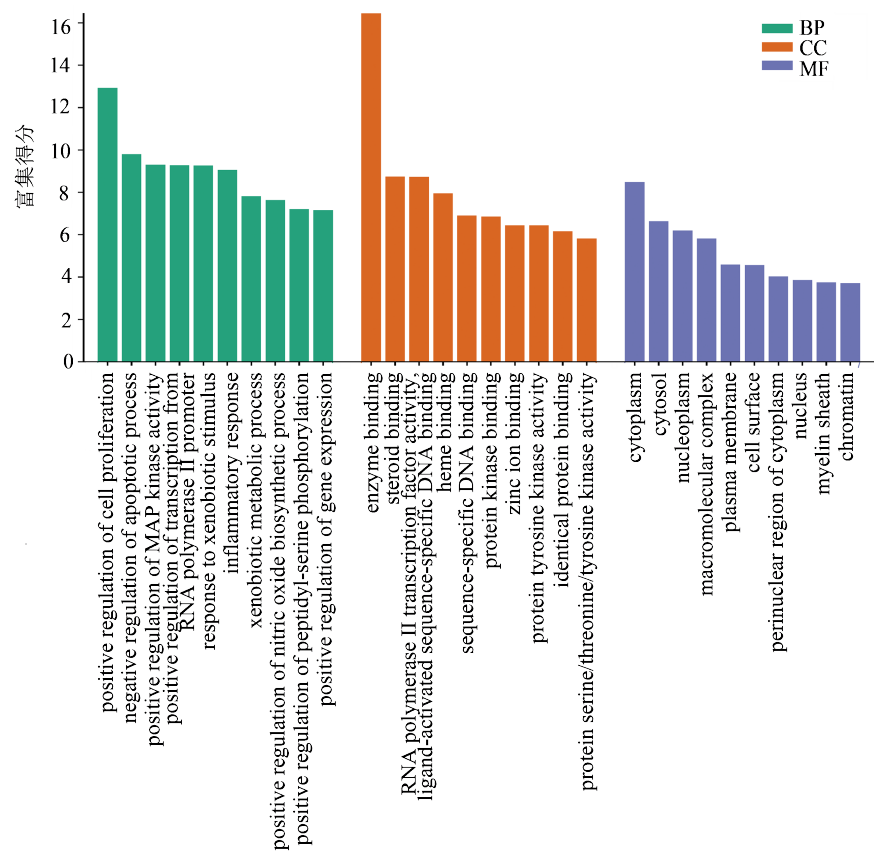
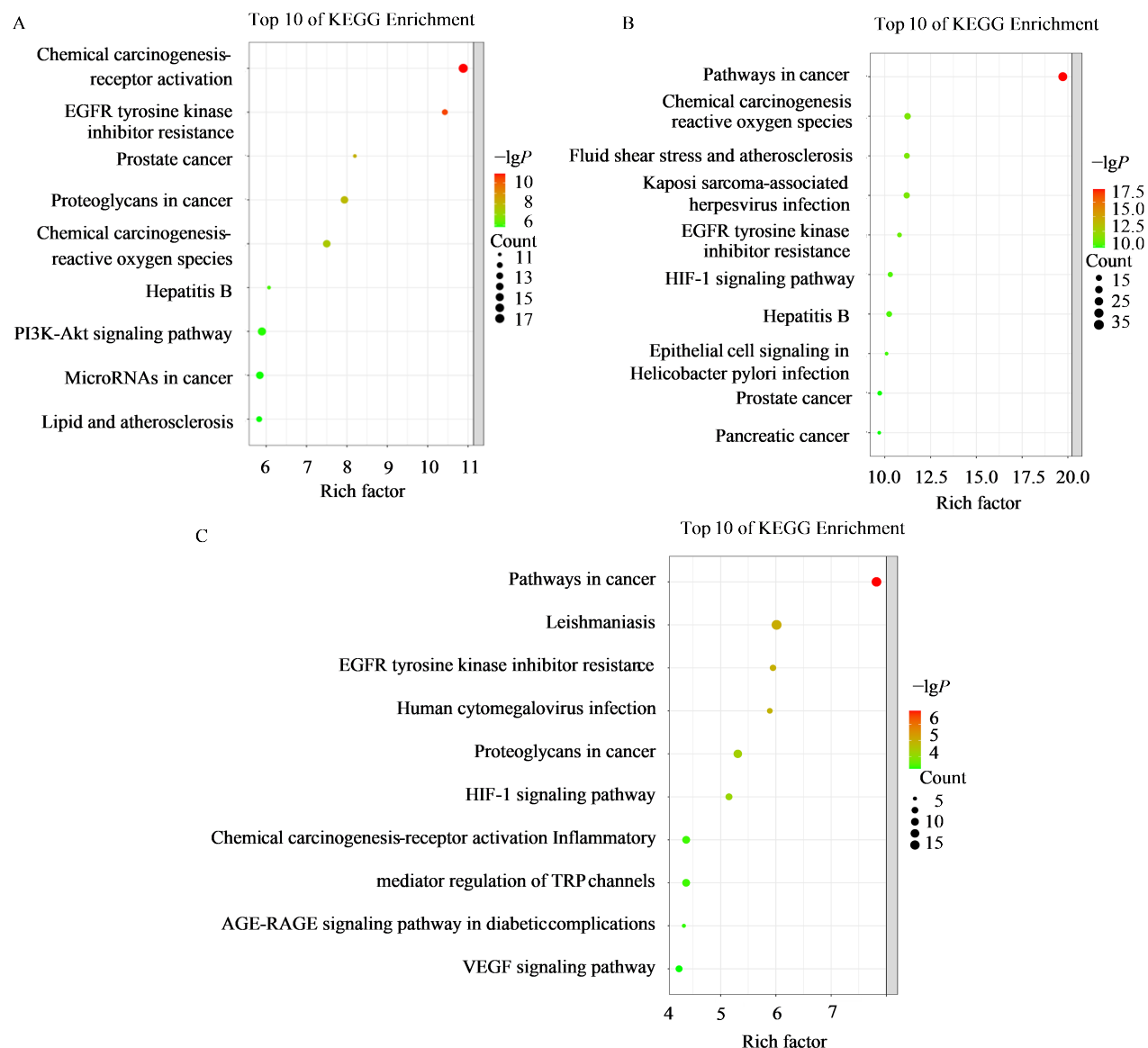


图 6 广藿香挥发油潜在靶点 GO 富集可视化图
Fig. 6 Visualization of GO enrichment of potential target of volatile oil of *Pogostemonis Herba*



A-广藿香;B-牛至;C-肉桂。

A-*Pogostemonis Herba*; B-*Origani Herba*; C-*Cinnamomi Cortex*.

图 7 挥发油潜在靶点 KEGG 富集可视化图

Fig. 7 Visualization of KEGG enrichment of potential target of volatile oil

控 (negative regulation of apoptotic process, GO: 0045944)、MAP 激酶活性的正向调节 (positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter, GO: 0043406) 等 BP 过程, 蛋白激酶活性的 (protein kinase activity, GO: 0004672), 酶结合 (enzyme binding, GO: 0019899); 蛋白丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性 (protein serine/threonine/tyrosine kinase activity, GO: 0004712) 等 MF, 和细胞溶质 (cytosol, GO: 0005829)、细胞质 (cytoplasm, GO: 0005737)、核质 (nucleoplasm, GO: 0005654) 等 CC 过程密切相关。

通过 DAVID 数据库对 96 个潜在靶点进行

KEGG 分析。选取 $P < 0.05$ 的条目, 总共富集到 131 条 KEGG 通路, 将前 10 条结果用气泡图可视化, 如图 7-B 所示。KEGG 富集分析结果显示, 牛至挥发油抗 HP 的潜在靶点主要富集在以下几条信号通路: 癌症通路 (Pathways in cancer)、化学致癌-活性氧 (Chemical carcinogenesis-reactive oxygen species)、流体剪切力与动脉粥样硬化 (Fluid shear stress and atherosclerosis)、卡波氏肉瘤相关疱疹病毒感染 (Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection)、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药 (EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance)。

3.3.3 肉桂核心靶点的生物功能和通路富集分析

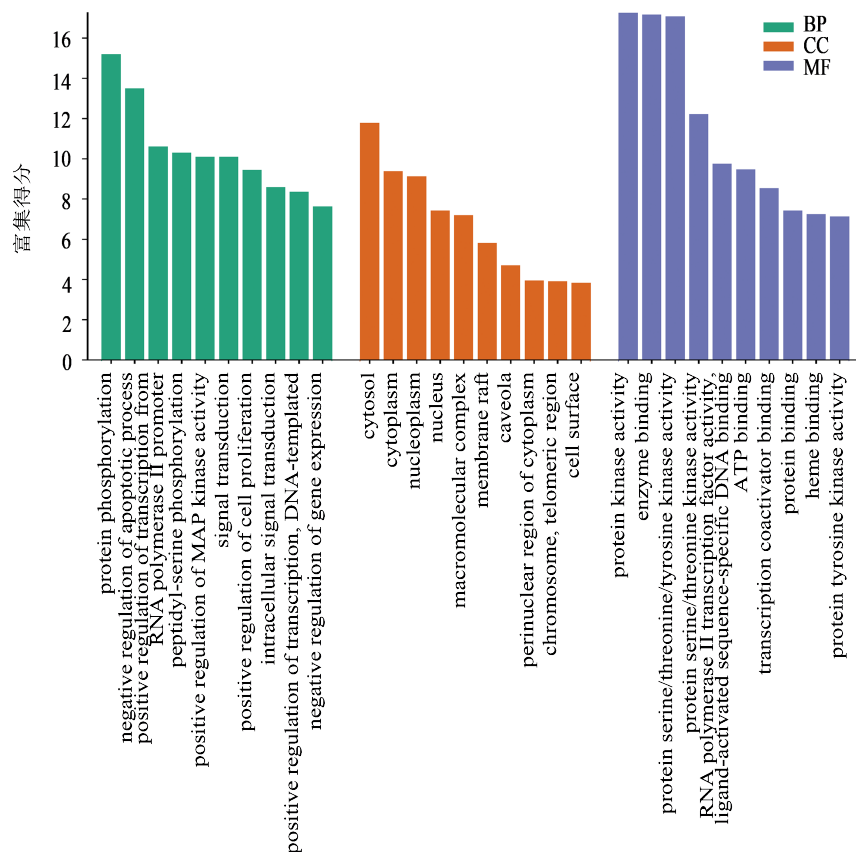


图8 牛至挥发油潜在靶点GO富集可视化图

Fig. 8 Visualization of GO enrichment of potential target of volatile oil of *Origani Herba*

通过DAVID数据库对肉桂挥发油的59个潜在靶点进行GO分析。选取 $P < 0.05$ 的条目,肉桂挥发油总共富集到264条GO条目,其中BP有175条(66.29%),CC有26条(9.85%),MF有63条(23.86%)。选取前20条目进行可视化分析,如图9所示。根据GO分析富集结果可知,靶点主要富集在细胞增殖的正向调节(positive regulation of cell proliferation, GO:0008284)、磷脂酰肌醇3-激酶信号的正向调节(positive regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling, GO:0014068)、RNA聚合酶II的转录负调控促进(positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter, GO:0000122)等BP过程,酶结合(enzyme binding, GO:0019899),锌离子结合(zinc ion binding, GO:0008270),RNA聚合酶II转录因子活性,配体激活序列特异性DNA结合(RNA polymerase II transcription factor activity, ligand-activated sequence-specific DNA binding, GO:0004879)等MF,和细胞质(cytoplasm, GO:0005737)、核质(nucleoplasm, GO:0005654)细胞溶质(cytosol, GO:0005829)等CC过程密切相关。

通过DAVID数据库对59个潜在靶点进行KEGG分析。选取 $P < 0.05$ 的条目,总共富集到52条KEGG通路,将前10条结果用气泡图可视化,见图7-C。

KEGG富集分析结果显示,肉桂挥发油抗HP的潜在靶点主要富集在以下几条信号通路:癌症通路(Pathways in cancer)、利什曼病(Leishmaniasis)、EGFR酪氨酸激酶抑制剂耐药性(EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance)、人巨细胞病毒(Human cytomegalovirus infection)、癌症中的蛋白聚糖(Proteoglycans in cancer)。

3.3.4 PPI网络和C-T-P网络构建

(1) 广藿香挥发油核心PPI网络和C-T-P网络构建:通过Cytoscape 3.10.1软件对广藿香挥发油抑制HP的活性化合物、潜在靶点和富集通路构建网络分析,得到C-T-P网络图,如图10-A所示。网络图中橙色节点表示27个化合物,浅蓝色节点表示富集结果前10条信号通路,紫色节点表示77个潜在靶点。靶点节点的大小随着degree值的大小而变化,二者呈正相关,靶点的节点颜色也与随着degree值的增大而加深。在STRING数据库中导入77个

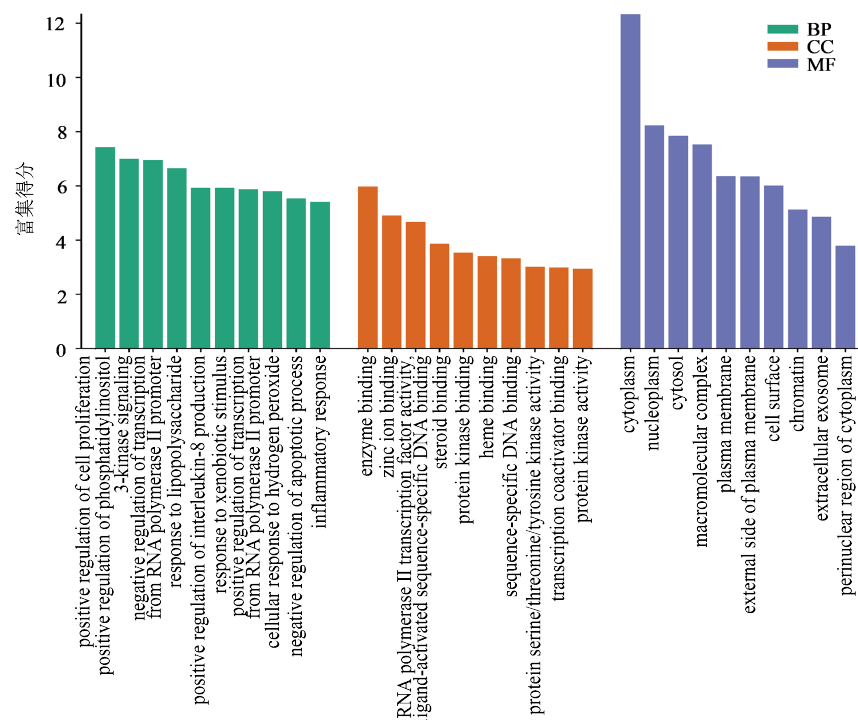


图 9 肉桂挥发油潜在靶点 GO 富集可视化图

Fig. 9 Visualization of GO enrichment of potential target of volatile oil of *Cinnamomi Cortex*

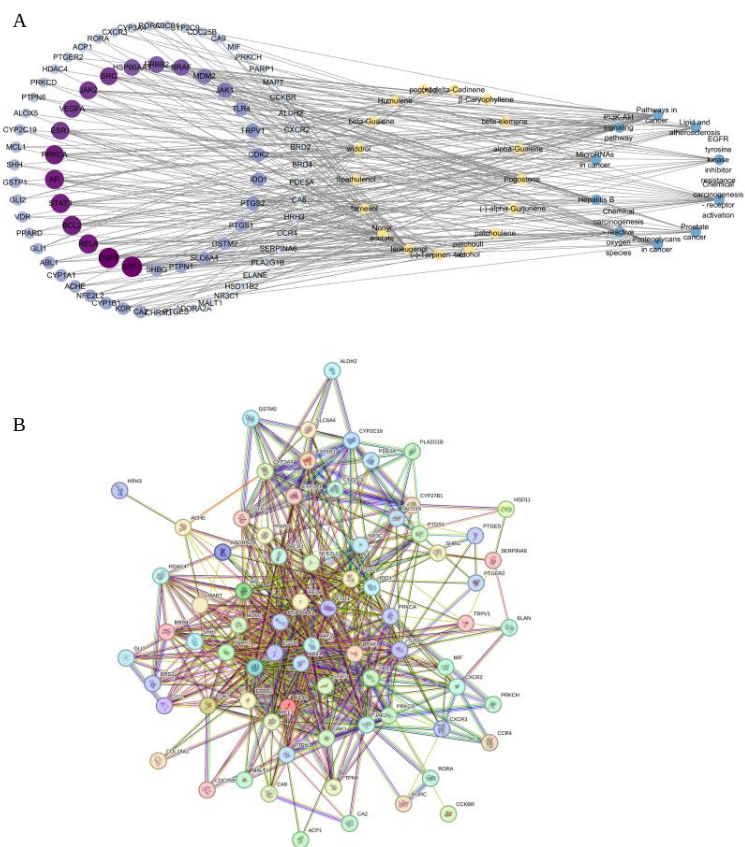


图 10 广藿香挥发油 C-T-P(A)和 PPI(B)网络图

Fig. 10 C-T-P (A) and PPI (B) network diagram of olatile oil of *Pogostemonis Herba*

核心靶点,得到 PPI 网络图,如图 10-B 所示。在 Cytoscape 3.10.1 中利用“Network analyser”功能筛选得到 C-T-P 网络图中 degree 值排序前 10 节点;将 STRING 数据库下载的 PPI 网络图 TSV 格式导入 Cytoscape 3.10.1 中利用“Network analyser”功能筛选得到 PPI 网络图中 degree 值排序前 5 节点,如表 8 所示。

根据 C-T-P 相关性排名,广藿香挥发油抑制 HP 的潜在靶点 degree 值排名前 10 名所对应的靶点如表所示,结合成分 degree 值排名与相对含量及质量标准等结果,广藿香挥发油抗 HP 活性排名前 5 的成分为百秋李醇、广藿香烯、异丁香酚、乙酸壬酯、Widdol。结合 PPI 结果,进一步得到 STAT3、SRC、RELA 是广藿香挥发油抑制 HP 排名前 3 的关键作用靶点。

(2) 牛至挥发油核心 PPI 网络和 C-T-P 网络构建:牛至挥发油中相关成分、靶点、通路、蛋白筛选处理过程同广藿香挥发油,得到 C-T-P 网络图,如图 11-A 所示。网络图中黄色节点表示 26 个化合物,浅

表 8 广藿香挥发油 C-T-P 和 PPI 分析 degree 排名前 10 靶点信息

Table 8 Top 10 targets of volatile oil of *Pogostemonis Herba* C-T-P and PPI analysis degree ranking information

基因	度值	来源	基因	度值	来源
STAT3	41	PPI	EGFR	10	C-T-P
PTGS2	36	PPI	AKT1	10	C-T-P
SRC	34	PPI	AR	9	C-T-P
TLR4	29	PPI	PRKCA	9	C-T-P
RELA	25	PPI	BCL2	9	C-T-P
PARP1	20	PPI	STAT3	9	C-T-P
MDM2	19	PPI	RELA	9	C-T-P
HSP90AA1	17	PPI	ESR1	8	C-T-P
ESR1	17	PPI	JAK2	8	C-T-P
NFE2L2	16	PPI	SRC	8	C-T-P

蓝色节点表示富集结果前 10 条信号通路,绿色节点表示 96 个潜在靶点。PPI 网络图如图 11-B 所示;C-T-P 和 PPI 网络图 degree 值分析结果如表 9 所示。

结合成分 degree 值排名与相对含量及质量标准

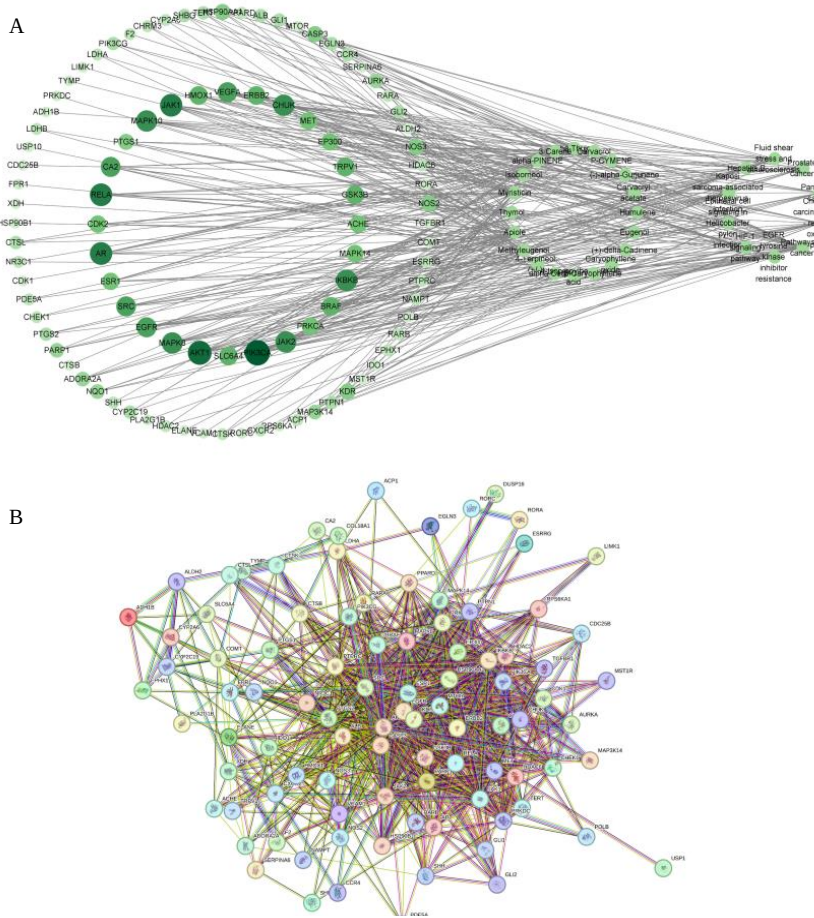


图 11 牛至挥发油 C-T-P(A)和 PPI(B)网络图
Fig. 11 C-T-P (A) and PPI (B) network diagram of volatile oil of *Origanum Herba*

表9 牛至挥发油 C-T-P和PPI分析degree排名前10靶点信息

Table 9 Top 10 targets of volatile oil of *Origanum Herba* C-T-P and PPI analysis degree ranking information

靶点	度值	来源	靶点	度值	来源
AKT1	65	PPI	PIK3CA	12	C-T-P
CASP3	59	PPI	AKT1	11	C-T-P
EGFR	57	PPI	AR	10	C-T-P
ALB	57	PPI	JAK1	10	C-T-P
ESR1	56	PPI	RELA	10	C-T-P
HSP90AA1	52	PPI	JAK2	9	C-T-P
SRC	46	PPI	MAPK8	9	C-T-P
MTOR	45	PPI	MAPK10	9	C-T-P
PTGS2	44	PPI	IKBKB	9	C-T-P
GSK3B	44	PPI	CHUK	9	C-T-P
			SRC	9	C-T-P
			EGFR	9	C-T-P

等结果,牛至挥发油抗HP活性排名前5名的成分为麝香草酚、香荆芥酚、洋芹脑、肉豆蔻醚、甲基丁香酚。结合C-T-P、PPI分析结果,进一步得到AKT1、

EGFR、SRC是牛至挥发油抗HP排名前3的关键作用靶点。

(3) 肉桂挥发油核心PPI网络和C-T-P网络构建:肉桂挥发油中相关成分、靶点、通路、蛋白筛选处理过程同广藿香挥发油,得到C-T-P网络图,如图12-A所示。网络图中黄色节点表示15个化合物,浅蓝色节点表示富集结果前十条信号通路,绿色节点表示59个潜在靶点。PPI网络图如图12-B所示;C-T-P和PPI网络图degree值分析结果如表10所示。

结合成分degree值排名与相对含量及质量标准等结果,肉桂挥发油抗HP活性排名前5的成分为桂皮醛、苯甲醛、丁香酚、4-萜烯醇、顺-顺-金合欢醇。结合C-T-P、PPI分析结果,进一步得到PTGS2、ESR1、SRC是肉桂挥发油抗HP的排名前3个的关键作用靶点。

3.4 分子对接验证

通过AUTO DOCK Vina,选取degree值排名前3的关键活性成分与关键作用靶点进行对接。一般情况下,最优对接结果中的蛋白质氨基酸残基和分

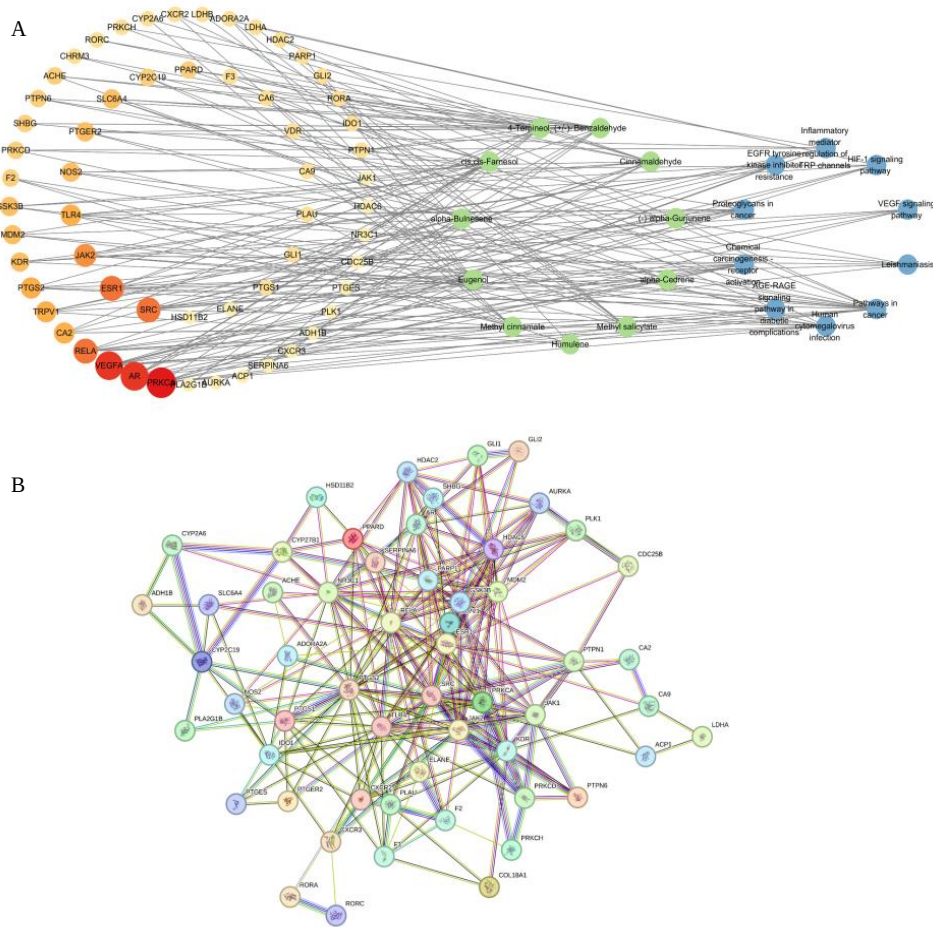


图12 肉桂挥发油 C-T-P(A)和PPI(B)网络图

Fig. 12 C-T-P (A) and PPI (B) network diagram of *Cinnamomi Cortex*

表10 肉桂挥发油 C-T-P 和 PPI 分析 degree 排名前10靶点信息

Table 10 Top 10 targets of volatile oil of *Cinnamomi Cortex* C-T-P and PPI analysis degree ranking information

靶点	度值	来源	靶点	度值	来源
ESR1	27	PPI	PRKCA	10	C-T-P
PTGS2	26	PPI	AR	9	C-T-P
SRC	25	PPI	VEGFA	9	C-T-P
TLR4	21	PPI	ESR1	7	C-T-P
GSK3B	20	PPI	SRC	7	C-T-P
NR3C1	18	PPI	RELA	7	C-T-P
MDM2	18	PPI	JAK2	6	C-T-P
RELA	18	PPI	CA2	5	C-T-P
JAK2	18	PPI	TRPV1	5	C-T-P
KDR	17	PPI	TLR4	5	C-T-P
		PPI	PTGS2	5	C-T-P

子配体主要发生在氢键、 π - π 共轭体系、阳离子相互作用之间。通常认为化合物与蛋白质结合的自由能 $\leq -16.7 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 时对接效果较好, 结合较稳定^[14]。矩阵热图(图13)结果显示广藿香挥发油中乙酸壬酯与3个受体 STAT3、SRC、RELA 对接分数最高; 牛至挥发油中洋芹脑与3个受体 AKT1、EGFR、SRC 对接分数最高; 肉桂挥发油中顺-顺-金合欢醇与3个受体 PTGS2、ESR1、SRC 对接分数最高。3种挥发油中的关键活性成分与 SRC 总对接分数较高, 显示出良好的对接活性。进一步分析发现, SRC 与3种挥发油抗 HP 机制密切相关, 与各关键化合物的对接较为稳定, 说明 SRC 与3种挥发油抑制 HP 机制有着密不可分的关系。

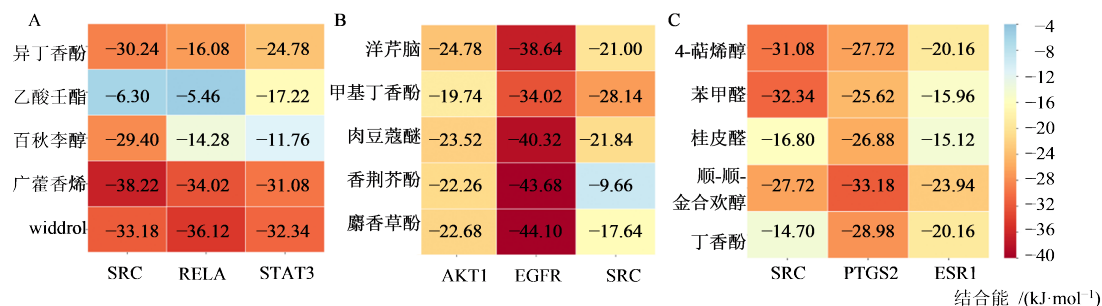
4 讨论

本研究通过等倍稀释法(96微孔板)测定了8种挥发油的体外抑菌效果。根据 MIC_{90} 筛选得到了效果较好的3种挥发油, 分别是广藿香挥发油、牛至挥

发油、肉桂挥发油。其中肉桂挥发油抑制 HP 的活性最强。利用 GC-MS 联用技术, 得到了3种挥发油主要的化学成分。结合网络药理学分析, 认为广藿香、牛至及肉桂挥发油中抗 HP 活性排名前5的化学成分分别为百秋李醇、广藿香烯、异丁香酚、乙酸壬酯、Widdrol, 麝香草酚、香荆芥酚、洋芹脑、肉豆蔻醚、甲基丁香酚、苯甲醛、丁香酚、4-萜烯醇、桂皮醛、顺-顺-金合欢醇。实验结果与文献研究相关性较高^[17-23]。

对比分析3种挥发油抗 HP 网络药理学实验结果, 发现了许多相似之处。GO 分析表明, 3种挥发油抗 HP 相关靶点均与细胞溶质、细胞质、核质3种细胞组成密切相关; KEGG 分析显示, 3种挥发油抗 HP 相关靶点均与癌症通路最为相关; C-T-P 和 PPI 分析表明, 肉瘤原癌基因(Sarcoma proto-oncogene, SRC)为3种挥发油抗 HP 的关键靶点, 且 SRC 与各潜在活性成分对接结合较好, 初步验证了 SRC 的关键作用。

SRC 是 Harold Varmus 和 Mike Bishop 在 1976 年发现的第1个致癌基因, 这一发现确立了激活细胞原癌基因突变可导致癌症的概念^[24]。SRC 蛋白酪氨酸激酶家族由11个成员组成, 包括 Src、Fyn、Yes、Lyn、Hck、Fgr、Blk、Lck、Brk、Srm 和 Frk^[24]。SRC 蛋白激酶广泛表达于正常组织的细胞中, 在调控信号转导中发挥关键作用。SRC 表达过量时可能会诱导癌症的产生。因此, SRC 及相关蛋白与大量人类恶性肿瘤的发生、细胞生长、进展和转移密切相关^[25-26]。不同学者从多个角度验证了 SRC 家族与 HP 相关性胃炎/胃癌的联系^[27-28]。赵大鹏等^[29]研究发现 Cag A 蛋白进入细胞后, 激活了 SRC 信号途径, 并最终导致 CIP2A 的表达上调, 证明了 SRC 与胃癌相关。陈帅印等^[30]发现 HP 分泌的 Cag A 蛋白与 SRC 家族激酶、ENO1 蛋白的高表达有关。澳大



A: 广藿香; B: 牛至; C: 肉桂。

A: *Pogostemonis Herba*; B: *Origani Herba*; C: *Cinnamomi Cortex*.

图13 3种挥发油关键活性成分和关键靶点分子对接结果矩阵热图

Fig. 13 Matrix heat map of molecular docking results of key active ingredients and key targets of three kinds of volatile oil

利亚科学家Marshall自身口服HP诱发了急性胃炎,抗HP治疗后胃炎痊愈。试验结果证明了HP是引起胃炎的重要病原菌^[31]。

由于饮食习惯及体质原因,在亚洲地区有54.7%的HP感染率^[32],虽然现有抗生素三联、四联疗法作为临床常用抗HP药物,但是抗菌药物耐药率的持续升高导致常用根除治疗方案的成功率降低^[33]。国内外相关学者进行了诸多植物挥发油抗HP的研究。伊朗学者Tahereh Falsafi通过气质联用技术分析山杏挥发油中的成分,进一步研究挥发油中活性成分对HP的影响^[34]。Bergonzelli等^[35]通过对16种不同的挥发油抗HP的活性研究,提出可以将挥发油添加到饮食中,以提高药物治疗效果。Harmati等^[36]将几种的挥发油按不同比例混合,通过体内外实验,得到抗HP效果最好的混合挥发油组合及比例,为后续药物开发提供实验依据。吴碧青等^[37]通过体外抑菌试验研究大果木姜子挥发油对HP的抑制作用。杨玲等^[38]通过GC-MS技术分析乳香挥发油对HP抑菌活性成分研究。

本研究以系统生物学理论为基础,通过对药物和疾病进行多平台、多软件、多途径的分析和探索,找到活性挥发油抑制HP的潜在活性成分、信号通路、作用靶点等相关信息,为深入探索其机制提供初步的依据。后续本实验室将围绕中药挥发油抗HP药效物质基础及作用机制开展进一步深入研究,以期以中药挥发油抗HP型胃炎临床应用提供理论依据,为以中药挥发油及其活性成分为组方的创新中药新药的开发奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Hooi J K Y, Lai W Y, Ng W K, et al. Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection: Systematic review and meta-analysis [J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(2): 420-429.
- [2] 钟子劭, 徐包慧, 陆红, 等. 世界胃肠病学组织全球指南:幽门螺杆菌 [J]. *胃肠病学*, 2021, 26(9): 540-553.
Zhong Z S, Xu B H, Lu H, et al. World gastroenterology organisation global guidelines: *Helicobacter pylori* [J]. *Chin J Gastroenterol*, 2021, 26(9): 540-553.
- [3] 吴梦琪, 徐焕华, 胡鹏翼, 等. 中药挥发油安全性研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(20): 6626-6635.
Wu M Q, Xu H H, Hu P Y, et al. Research progress on safety of essential oils from traditional Chinese medicine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(20): 6626-6635.
- [4] Seow Y X, Yeo C R, Chung H L, et al. Plant essential oils as active antimicrobial agents [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2014, 54(5): 625-644.
- [5] 吴克刚, 崔绮嫦, 董艳, 等. 芳香植物精油对食品常见腐败微生物抗菌活性的研究 [J]. *现代食品科技*, 2017, 33(4): 120-127, 81.
Wu K G, Cui Q C, Dong Y, et al. Antimicrobial effects of edible plant essential oils on common food spoilage microorganisms [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2017, 33(4): 120-127, 81.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2020年版. 北京: 中国医药科学出版社, 2020: 415-423
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume 1. 2020. BEIJING: China Medical Science Publishing House 2020: 415-423.
- [7] 黄方, 黄莉璇, 吴彬, 等. 肉桂醛调节 Shh/Gli1 信号通路对幽门螺旋杆菌胃炎大鼠胃黏膜损伤的影响[J]. *安徽医学*, 2024, 45(02): 135-141.
Huang F, Huang L X, WU B, et al. Effect of cinnamaldehyde on the regulation of Shh/Gli1 signaling pathway on gastric mucosal injury in *Helicobacter pylori* gastritis rats [J]. *Anhui Med* 2024, 45(2): 135-141.
- [8] 连大卫. 百秋李醇治疗幽门螺杆菌感染的相关胃炎作用及机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2017.
Lian D W. Study on the effect and mechanism of Bacitracinol in treating gastritis associated with *Helicobacter pylori* infection [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2017.
- [9] Ru J L, Li P, Wang J N, et al. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [10] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. «网络药理学评价方法指南»解读 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4119-4129.
Niu M, Zhang S Q, Zhang B, et al. Interpretation of Network Pharmacology Evaluation Method Guidance [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [11] Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards suite: From gene data mining to disease genome sequence analyses [J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2016, 54: 1.30.1-1.30.1.30.33.
- [12] Sherman B T, Hao M, Qiu J, et al. DAVID: A web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021update) [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(W1): W216-W221.
- [13] 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.

- [14] Szklarczyk D, Gable A L, Nastou K C, et al. The STRING database in 2021: Customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets [J]. Nucleic Acids Res, 2021, 49(D1): D605-D612.
- [15] 李文达, 张少婷, 方婷, 等. 基于网络药理学探讨黄精治疗阿尔茨海默病的作用机制 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(24): 4242-4248.
- Li W D, Zhang S T, Fang T, et al. The mechanism of *Polygonatum* in the treatment of Alzheimer's disease based on network pharmacology [J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis, 2021, 19(24): 4242-4248.
- [16] 张莹. 黄连抗肺腺癌药效物质基础及其作用机制研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2022.
- Zhang Y. The study on therapeutic basis and effective mechanism of *Coptis Rhizoma* in treatment of lung adenocarcinoma [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2022.
- [17] 古卓强, 梁文辉. 牛至油不同复配组合的体外联合抗菌作用及机理研究 [J]. 广东药科大学学报, 2023, 39(3): 54-59.
- Gu Z Q, Liang W H. Study on the combined antibacterial effect and mechanism of different combinations of origanum oil *in vitro* [J]. J Guangdong Pharm Univ, 2023, 39(3): 54-59.
- [18] 祝茜茜, 黄森兰, 宋芝超, 等. 热性中药挥发油透皮促渗能力与倍半萜角质层贮库效应的相关性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(23): 7742-7750.
- Zhu X X, Huang S L, Song Z C, et al. Correlation between penetration enhancement ability and stratum corneum reservoir effect of sesquiterpenes of essential oils from traditional Chinese medicine with hot property [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2023, 54(23): 7742-7750.
- [19] 廖正根, 温佳豪, 徐希强, 等. 肉桂挥发油化学成分及其体外抗菌、抗氧化、抗肿瘤生物活性研究 [J]. 中药药理与临床, 2024, 40(1): 69-76.
- Liao Z G, Wen J H, Xu X Q, et al. Chemical constituents and *in vitro* antibacterial, antioxidant, and antitumor biological activities of essential oil from *Cinnamomum cassia* presl [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2024, 40(1): 69-76.
- [20] 许玮华, 李晓锋, 彭涛兴, 等. 三种广藿香油的化学成分及非靶向代谢组学分析 [J]. 上海中医药大学学报, 2023, 37(5): 19-30.
- Xu W H, Li X F, Peng T X, et al. Chemical composition and metabolomics analysis of non-targeted metabolites of three patchouli oils [J]. Acad J Shanghai Univ Tradit Chin Med, 2023, 37(5): 19-30.
- [21] 陈欣, 陈巧兰, 吴泽吟, 等. 气相色谱-高分辨质谱联用法分析广藿香挥发油成分 [J]. 农业与技术, 2022, 42(22): 19-22.
- Chen X, Chen Q L, Wu Z Y, et al. Analysis of volatile oil from *Pogostemon cablin* by gas chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. Agric Technol, 2022, 42(22): 19-22.
- [22] 宫海燕, 欧依塔, 巩雪俐, 等. 牛至挥发油化学成分鉴定及其主要成分对临床病原菌的抑制作用研究 [J]. 化学研究与应用, 2023, 35(10): 2470-2476.
- Gong H Y, Ou Y T, Gong X L, et al. Identification of chemical constituents of essential oil and its inhibitory effect on clinical pathogens of main ingredients from *Origanum vulgare* L [J]. Chem Res Appl, 2023, 35(10): 2470-2476.
- [23] Caner A, Asik E, Ozpolat B. SRC signaling in cancer and tumor microenvironment [J]. Adv Exp Med Biol, 2021, 1270: 57-71.
- [24] Kumar A, Jaggi A S, Singh N. Pharmacology of Src family kinases and therapeutic implications of their modulators [J]. Fundam Clin Pharmacol, 2015, 29(2): 115-130.
- [25] Dehm S M, Bonham K. SRC gene expression in human cancer: The role of transcriptional activation [J]. Biochem Cell Biol, 2004, 82(2): 263-274.
- [26] Moroco J A, Craigo J K, Iacob R E, et al. Differential sensitivity of Src-family kinases to activation by SH3 domain displacement [J]. PLoS One, 2014, 9(8): e105629.
- [27] 王晓勇. 1. 不同病理类型早期胃癌生物学行为的差异研究 2. Toll样受体在幽门螺杆菌致胃癌中的作用研究 [D]. 南京: 南京医科大学, 2018.
- Wang X Y. 1. Study on the difference of biological behavior of early gastric cancer in different pathological types 2. Study on the role of Toll-like receptor in gastric cancer caused by *Helicobacter pylori* [D]. Nanjing: Nanjing Medical University, 2018.
- [28] 朱海涛, 郑志超, 张剑军, 等. 幽门螺杆菌通过激活磷脂酰肌醇3-激酶信号来调节细胞迁移 [J]. 中国微生态学杂志, 2014, 26(3): 265-268.
- Zhu H T, Zheng Z C, Zhang J J, et al. *Helicobacter pylori* regulates cellular migration and apoptosis by activation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling [J]. Chin J Microecol, 2014, 26(3): 265-268.
- [29] 赵大鹏. 幽门螺杆菌感染以及高盐和多酚的刺激对增殖相关蛋白CIP2A表达的影响 [D]. 济南: 山东大学, 2010.
- Zhao D P. Effects of *Helicobacter pylori* infection and stimulation of high salt and polyphenols on the expression of proliferation-related protein CIP2A [D]. Jinan: Shandong University, 2010.

- [30] 陈帅印. 幽门螺杆菌 CagA 蛋白调控 α -烯醇酶表达的机制 [D]. 郑州: 郑州大学, 2015.
Chen S Y. Mechanism of *Helicobacter pylori* CagA protein regulating α -enolase expression [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2015.
- [31] 刘恩岐. 人类疾病动物模型 [M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社. 2014.
Liu E Q. *Animal Modelling of Human Diseases* [M]. Beijing: People's Health Publishing House. 2014.
- [32] Katelaris P, Hunt R, Bazzoli F, et al. *Helicobacter pylori* world gastroenterology organization global guideline [J]. J Clin Gastroenterol, 2023, 57(2): 111-126.
- [33] *Helicobacter pylori* Study Group, Chinese Society of Gastroenterology, Chinese Medical Association. 2022 中国幽门螺杆菌感染治疗指南 [J]. 胃肠病学, 2022, 27(3): 150-162.
Helicobacter pylori Study Group, Chinese Society of Gastroenterology, Chinese Medical Association. 2022 Chinese national clinical practice guideline on *Helicobacter pylori* eradication treatment [J]. Chin J Gastroenterol, 2022, 27(3): 150-162.
- [34] Falsafi T, Moradi P, Mahboubi M, et al. Chemical composition and anti-*Helicobacter pylori* effect of *Satureja bachtiarica* Bunge essential oil [J]. Phytochemistry, 2015, 22(1): 173-177.
- [35] Bergonzelli G E, Donnicola D, Porta N, et al. Essential oils as components of a diet-based approach to management of *Helicobacter* infection [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(10): 3240-3246.
- [36] Harmati M, Gyukity-Sebestyen E, Dobra G, et al. Binary mixture of *Satureja hortensis* and *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* essential oils: *In vivo* therapeutic efficiency against *Helicobacter pylori* infection [J]. Helicobacter, 2017, 22(2): e12350.
- [37] 吴碧清, 吴贤倩, 陈丽玄, 等. 苗药大果木姜子挥发油对幽门螺杆菌的体外抑菌实验研究 [J]. 中国民族民间医药, 2020, 29(24): 7-11.
Wu B Q, Wu X Q, Chen L X, et al. Extrasomatic antibacterial test of volatile oil isolated from Miao ethnic herb *Cinnamomum migao* H. W. Li for *Helicobacter pylori* [J]. Chin J Ethnomed Ethnophar 2020, 29(24): 7-11.
- [38] 杨玲, 林龙飞, 刘宇灵, 等. 熏鲁香、乳香挥发油成分 GC-MS 分析及幽门螺杆菌抑菌活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(5): 1141-1147.
Yang L, Lin L F, Liu Y L, et al. GC-MS analysis of volatile oil components of Mastiche and Olibanum and study on antibacterial activity of *Helicobacter pylori* [J]. China J Chin Mater Med, 2021, 46(5): 1141-1147.

[责任编辑 齐静雯]