

• 药理与临床 •

基于分子对接技术虚拟筛选延胡索抗心肌缺血物质基础研究

黄启和¹, 周福军^{2,3}, 徐旭², 涂正伟⁴, 梁小娜⁵, 赵鑫¹, 孟凡翠^{2,6*}, 侯文彬^{2,3*}

1. 天津医科大学, 天津 300070

2. 天津药物研究院, 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

3. 天津药物研究院, 中药现代制剂与质量控制国家地方联合工程实验室, 天津 300193

4. 天津市南开医院, 天津 300100

5. 天津中医药大学, 天津 300193

6. 天津药物研究院, 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300193

摘要: **目的** 研究延胡索抗心肌缺血的物质基础及作用机制。**方法** 通过 TCMSP 平台筛选到符合条件的目标小分子化合物, 运用 Maesrt 11.1 分子对接软件筛选延胡索中与相应靶点蛋白对接较好的小分子化合物, 再运用 Cytoscape 3.6.1 构建多成分-靶点网络药理图, 通过拓扑学分析, 阐释其网络特征。**结果** 在 16 种心肌缺血靶点对接结果中, 8 种季铵碱化合物、1 种黄酮类、2 种叔胺碱类显示出了较好的对接结果。季铵碱类化合物和黄酮类槲皮素对接结果普遍优于叔胺碱类, 对接结果中季铵碱打分平均值高于叔胺碱的靶点蛋白有 10 种。网络药理学结果分析得知多化合物-靶点的网络异质性为 0.57, 平均相邻节点数 3.59, 特征网络长度 3.02, 网络中心度 0.21。**结论** 延胡索季铵碱类化合物黄连碱、巴马汀、去氢紫堇碱、药根碱、非洲防己碱、小檗碱, 黄酮类槲皮素可能是其治疗心肌缺血的物质基础, 延胡索治疗心肌缺血是多成分与多靶点相互作用的结果。

关键词: 延胡索; 季铵碱; 心肌缺血; 靶点; 分子对接; 网络药理学

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2019)10-2355-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.10.015

Virtual screening of material basis of *Corydalis Rhizoma* for treating myocardial ischemia based on molecular docking technologyHUANG Qi-he¹, ZHOU Fu-jun^{2,3}, XU Xu², TU Zheng-wei⁴, LIANG Xiao-na⁵, ZHAO Xin¹, MENG Fan-cui^{2,6}, HOU Wen-bin^{2,3}

1. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

3. National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of TCM, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

4. Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China

5. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

6. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design and Drug Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To study the material basis and mechanism of *Corydalis Rhizoma* in the treatment of myocardial ischemia by using molecular docking technology. **Methods** In this paper, the target small molecule compounds were screened by TCMSP platform, and Maesrt11.1 software was used to dock the small molecule compounds in *Corydalis Rhizoma* with the corresponding target protein. Cytoscape 3.6.1 was used to construct multi-component-target network pharmacology figure, and its network

收稿日期: 2018-12-22

基金项目: “十三五”国家重大专项: 花旗松素 1 类新药发现和综合评价关键技术及其应用研究 (2017ZX09301062); 国家自然科学基金重点项目 (81830111)

作者简介: 黄启和 (1991—), 男, 瑶族, 天津医科大学药学硕士研究生, 主要从事中药药效、新药设计研究。

Tel: (022)23006903 E-mail: h1776329123@163.com

*通信作者 侯文彬, 研究员, 从事中药新药研发工作。E-mail: houwb@tjipr.com

孟凡翠, 研究员, 从事药物设计与理论化学研究。E-mail: mengfc@tjipr.com

characteristics was elucidated by topology analysis. **Results** Among the 16 myocardial ischemia-related targets, 8 quaternary amine, 1 flavonoid, and 2 tertiary amine bases showed good docking results. The docking results of quaternary amine compounds and flavonoids were generally better than those of tertiary amines. In the docking results, there were 10 kinds of target protein in the quaternary amine base with higher quaternary amine base than tertiary amine base. The results of network pharmacology analysis showed that the network heterogeneity was 0.57, the average number of adjacent nodes was 3.59, the characteristic network length was 3.02, and the network centrality was 0.21. **Conclusion** *Corydalis Rhizoma* quaternary amine compounds such as coptisine, palmatine, dehydrocorybulbine, jatrorrhizine, columbamine, berberine, and quercetin may be the material basis for the treatment of myocardial ischemia. *Corydalis Rhizoma* treatment of myocardial ischemia is the result of the interaction between multi-component and multi-target.

Key words: *Corydalis Rhizoma*; quaternary amine; myocardial ischemia; target; molecular docking; network pharmacology

延胡索为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎。其味辛、苦，性温，归肝、脾经，具有活血、利气、止痛之功效，用于治疗胸胁、脘腹疼痛等疾病^[1]。延胡索中主要化学成分为生物碱类，包括叔胺碱和季铵碱，其中叔胺碱类研究较多，叔胺碱类物质主要起镇痛作用，季铵碱类物质研究报道较少，延胡索季铵碱可以起到抗心肌缺血的作用^[2-3]，但其具体的作用机制鲜有报道。分子对接方法（molecular docking method）是通过化学计量学方法模拟分子的几何结构和分子间作用力来进行分子间相互作用识别并预测受体-配体复合物结构的方法，分子对接技术是一种重要的计算机辅助药物分子设计手段，对于中药药效物质基础的高效、快速筛选，药效作用机制研究有重要意义^[4-5]。本研究运用分子对接技术研究延胡索作用于心肌缺血的活性分子的作用机制，并构建多成分-靶点蛋白网络模型，筛选延胡索抗心肌缺血物质基础，阐明中药具备多成分、多靶点的作用特点，为进一步探讨延胡索对心肌缺血疾病的治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 TCMSP 平台

UniProt 数据库 (<http://www.rcsb.org>)；DrugBank 数据库 (<http://www.drugbank.ca>)；BindingDB 数据库 (<http://www.bindingdb.org>)；PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org>)；ChemDraw Professional 15.0 软件；Chem3D 15.0 软件；薛定谔软件 Maestro 11.1；Cytoscape 3.6.1 软件。

1.2 延胡索目标化合物及已上市药物的收集与处理

通过传统中药药理数据库 TCMSP 平台收集延胡索的目标化合物，初步收集到 77 种小分子化合物结构。通过口服生物利用度 (OB) > 30%，类药性 (DL) > 0.18 筛选得到 33 种小分子化合物^[6]，其中叔胺碱 19 种、季铵碱 11 种、甾醇 1 种、有机酸 1

种、黄酮类 1 种。本对接实验选取已上市药曲美他嗪 (trimetazidine)^[7]、维拉帕米 (verapamil)^[8]、地尔硫卓 (diltiazem)^[9] 为参考。选取好的化合物通过 ChemDraw Professional 15.0 软件进行结构绘制，再转换成三维结构保存为 Mol 格式，在 Chem3D 15.0 软件界面进行化合物能量最小化处理，力场选择 MM2，完成能量最小化处理后保存备用。

1.3 心肌缺血相关靶点蛋白的选择

通过数据库 DrugBank 以及相关文献收集靶点蛋白^[10]，将查询到的靶点蛋白输入 UniProt 数据库获得靶点蛋白的官方命名，再通过 PDB 数据库选择结合了较好晶体结构的靶蛋白，并下载三维结构保存备用。

1.4 分子对接步骤、参数的设定以及受体活性口袋的确定

应用薛定谔分子对接软件 Protein preparation wizard 模块进行蛋白准备，加氢，加电荷，删掉水分子；蛋白受体格点创建以及活性口袋坐标的确定，以晶体结构中原配体为中心生成格点文件，盒子大小设为 1 nm (10 Å)，其他参数选择系统默认值。采用 LigPrep 模块进行配体处理，选择 Epik 方法产生 pH 7.0±2.0 所有的构象，其他的选择系统默认值；Ligand Docking 模块进行配体对接，Receptor grid 模块上选中已经创建好的受体蛋白格点，File name 模块上选中已经创建好的配体^[11-12]。

1.5 小分子化合物与靶点蛋白作用网络的构建

采用 Cytoscape 3.6.1 软件构建多成分和靶点网络模型。

2 结果

2.1 分子对接结果

心肌缺血相关的靶点信息见表 1，3 种已上市药物、目标化合物与靶点蛋白对接得分见表 2，其中靶点 STAT3 的对接结果未列出。药物成分与靶标的结合模式见图 1，化合物-靶点蛋白网络见图 2。

表 1 心肌缺血相关靶点

Table 1 Related targets of myocardial ischemia

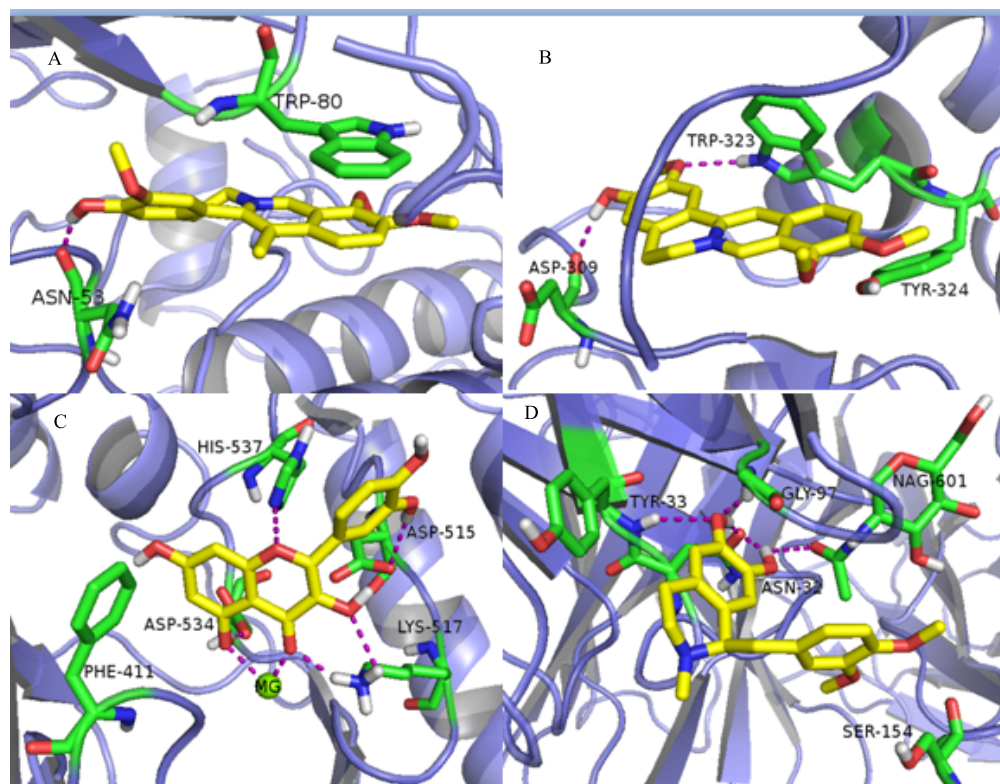
靶蛋白名称	代号	PDBID	UniprotID
细胞间黏附分子 1	ICAM1	1P53	P05362
肿瘤坏死因子	TNF- α	2AZ5	P01375
诱导性一氧化氮合酶	INOS	1VAF	P35228
抗凋亡蛋白	BCL2	1YSW	P10415
凋亡调控蛋白	BAX	2G5B	Q07812
信号转导及转录激活因子	STAT3	1BG1	P40763
半胱天冬酶 3	CASP3	3DEI	P42574
热休克蛋白	HSP70	3D2F	P17066
核转录因子	NF- κ B1	4G3D	P19838
ryanodine 受体 2	RYR2	3IM5	Q92736
丝氨酸/苏氨酸激酶 1	AKT1	3O96	P31749
c-Jun 氨基末端激酶	JNK1	3PZE	P45983
蛋白酶激活受体 2	PAR2	5NDZ	P55085
肌浆网钙 ATP 酶	ATP2A2	3TLM	P16615
半胱天冬酶 9	CASP9	1NW9	P55211
环氧化酶	COX2	3NTG	P00403

季铵碱类化合物中, 由表 2 和图 2 数据分析得知, 去氢紫堇达明 (dehydrocorydalmine)、非洲防己碱 (columbamine)、黄连碱 (coptisine)、去氢紫堇磷茎碱 (dehydrocorybulbine)、13-甲基巴马士宾 (13-methylpalmatrubine)、药根碱 (jatrorrhizine)、13-甲基去氢紫堇达明 (13-methyldehydrocorydalmine) 和小檗碱 (berberine) 8 种化合物获得较好的对接结果。去氢紫堇达明与 6 个靶点 (PAR2、BAX、NF- κ B1、CASP3、TNF- α 、RYR2) 具有较好结合。观察去氢紫堇达明与这几种靶标的结合模式可以发现其与靶标主要通过氢键 (H-bond)、 π - π 堆积 (π - π stacking) 和阳离子- π (cation- π) 等相互作用进行结合。例如, 在与 RYR2 的结合中, 去氢紫堇达明的羟基与 Leu92 形成氢键; 在与 BAX 的结合中, 其带正电荷氨基 Tyr100 形成 cation- π 相互作用; 在与 CASP3 的结合中, 其芳香环结构与 Phe256 之间形成 π - π 相互作用。

表 2 延胡索中与 5 个或 5 个以上靶点对接成功的化合物的 Docking Score 值

Table 2 Docking Score values for successful docking of compounds in *Corydalis Rhizoma* with five or more targets

化合物	Docking Score														
	AKT1	TNF- α	RYR2	JNK1	ICAM1	COX2	CASP9	CASP3	BCL2	PAR2	NF- κ B1	HSP70	BAX	ATP2A2	INOS
quercetin	-8.69	-6.73	-6.41	-8.62	-4.66	-8.53	-6.33	-6.69	-5.79	-5.87	-5.84	-7.31	-6.61	-8.18	-8.65
columbamine	-7.23	-6.67	-7.24	-8.00	-5.41	-10.04	-5.87	-6.73	-4.17		-5.00	-5.19	-5.02		-7.79
corydalmine		-5.82	-4.68			-4.29	-5.81	-5.88	-3.93		-4.24	-4.81	-5.19	-8.93	-5.83
dehydrocorybulbine	-8.41	-7.00	-5.29	-7.04	-3.73	-9.70	-6.10	-6.87	-3.71	-4.46	-4.71		-5.37	-8.29	-6.44
palmatine	-7.22	-5.29	-5.62	-6.86	-3.99	-8.62	-6.09	-7.30	-4.24		-3.87	-4.52	-5.66	-6.72	-6.35
tetrahydroprotapaverine	-7.56	-6.08	-5.51	-7.01	-4.86	-7.89	-6.73	-6.62	-5.14	-5.12	-5.05	-5.19	-6.35	-8.23	-6.52
dehydrocorydalmine		-6.88	-6.86		-4.51	-8.04	-5.80	-7.00	-4.36	-5.20	-5.30	-5.00	-5.75	-7.16	-6.27
dehydrocorydaline		-5.34		-7.40	-3.52		-5.40	-6.99	-3.97	-4.35		-4.69	-5.56	-7.17	-6.47
dihydrosanguinarine	-8.41	-6.90	-5.22	-8.23	-3.67	-8.12	-5.81	-6.78	-4.21		-4.66	-4.41	-5.11	-7.06	-5.71
clarkeanidine	-7.11	-5.79	-5.55	-7.21	-4.16	-8.37	-5.55	-6.30	-5.34	-5.53	-5.35	-4.53	-5.38	-8.44	-6.32
coptisine	-7.07	-6.94	-6.32	-8.26	-4.69	-8.82	-5.88	-6.96	-5.06	-4.46	-4.58	-5.19	-5.35	-6.76	-7.10
berberine	-7.10	-6.29	-5.63	-8.60	-3.95	-9.23	-6.20	-6.94	-3.69		-4.37	-5.29	-5.57	-7.31	-7.50
jatrorrhizine	-7.13	-6.62	-5.24	-6.70	-4.67	-9.31	-6.61	-6.62	-3.89		-3.83	-5.14	-5.53	-8.03	-5.47
(S)-(-)-tetrahydropalmatine	-6.54	-3.54	-5.20	-7.21	-3.24	-8.86	-5.61	-6.70	-4.34		-3.70	-5.44	-5.18	-7.67	-5.60
13-methylpalmatrubine	-7.97	-6.35	-6.00	-7.98	-4.33	-9.43	-5.62	-6.17	-5.48		-4.17	-5.10	-5.11	-7.77	-5.91
N-methylaureotetanine	-7.81	-6.64	-5.60	-7.48		-7.83	-5.90	-4.82	-3.50	-5.00	-5.10	-5.50	-4.83	-8.72	-5.62
stigmaterol	-7.72	-4.71	-4.02	-4.17	-2.41		-5.87	-5.81	-3.45		-3.38		-3.99	-3.72	
(S)-(+)-bulbocapnine	-7.63	-6.53	-5.25	-7.41	-3.67	-8.39	-5.87	-4.08	-4.38	-3.43	-3.96	-4.02	-5.68	-6.26	-5.76
13-methyldehydrocorydalmine	-7.29	-6.37	-5.32	-7.35	-4.61	-9.33	-6.06		-3.63	-5.14		-4.78	-5.91	-8.54	-6.45
cryptopin	-7.32			-5.92				-4.96			-3.84			-6.41	-5.41
(-)-alpha-N-methylcanadine	-6.25	-6.16	-5.65	-7.81	-3.63	-8.22	-5.93	-5.94	-3.67		-4.34	-3.63	-4.33	-6.56	-5.07
(+)-corydaline			-6.61	-5.09		-7.47	-6.05	-5.90	-3.95		-4.14	-4.24	-4.18	-8.05	
(+)-corynoline		-6.51	-6.30	-5.39	-3.44		-6.03	-4.62	-4.07		-4.93	-5.67	-4.14	-6.91	
saualtine	-6.31	-5.62	-6.80	-4.86	-4.06		-6.32	-5.90	-4.09		-4.91	-4.77	-4.71	-4.16	
(+)-bicuculline	-5.69	-4.85	-5.54	-6.07	-3.27	-6.68	-6.37	-5.50	-4.38	-3.71	-4.03	-4.77	-4.35	-7.48	-6.10
tetrahydrocoptisine	-8.03						-5.85								
capaurine		-5.23	-6.39	-7.18	-3.60	-7.15	-6.10	-6.40	-5.13	-3.86	-4.71	-5.44	-5.28	-8.36	-5.86
trimetazidine	-5.80	-5.56	-6.21	-6.03	-3.25	-7.09	-6.14	-4.64	-3.92	-5.24	-5.26	-6.01	-6.13	-7.64	-6.10
verapamil	-7.39	-5.36	-6.62	-3.68	-3.35		-5.49		-4.34	-2.30	-4.82	-6.22	-5.26	-6.86	-5.97
diltiazem	-5.45	-5.85	-5.92	-4.00	-3.01	-6.52	-6.61	-5.79	-3.51	-2.99	-2.99	-3.93	-5.92	-5.57	-5.23



A-去氢紫堇磷茎碱与 AKT1 B-药根碱与 CASP9 C-槲皮素与 NF- κ B1 D-四氢原罂粟碱与 BAX
A-dehydrocorybulbine with AKT1 B-jatrorrhizine with CASP9 C-quercetin with NF- κ B1 D-tetrapropapaverine with BAX

图 1 药物成分与靶标的结合模式

Fig. 1 Binding modes of selected compounds with selected targets

非洲防己碱与 COX2、JNK1、RYS2 和 ICAM1 结合较好，其羟基可以与靶标蛋白的残基形成氢键（如与 COX2 的 Tyr371），其环状结构可以与芳香性残基形成 π - π 堆积（如与 ICAM1 的 Trp395）。黄连碱与 ICAM1、TNF- α 、JNK1、CASP3 和 INOS 这 5 个靶点结合较好，其与靶标的主要作用方式是通过氢键和 π - π 堆积。去氢紫堇磷茎碱与 COX2、TNF- α 和 AKT1 结合较好，其与 AKT1 的结合模式见图 1-A。由图可见，去氢紫堇磷茎碱的羟基与 Asn53 的羰基形成 1 个氢键，同时其环状结构与 Trp80 形成 π - π 共轭。13-甲基巴马士宾与 3 个靶点（COX2、BCL2、AKT1）有较好结合，在与 BCL2 的结合中其氮正离子与 Asp100 的羧基形成盐桥。药根碱与 COX2、ICAM1、CASP9 结合较好。药根碱与 CASP9 的结合模式见图 1-B，可见药根碱的羟基与 Asp309 形成 1 个氢键，其甲氧基与 Trp323 形成 1 个氢键，同时其环上氮正离子可以与 Trp323 形成 cation- π 相互作用。13-甲基去氢紫堇达明与 ATP2A2、COX2、BAX 有较好结合，其与靶标的主要结合模式为 π - π 堆积。

小檗碱与 JNK1、CASP3 结合较好，其可以与 JNK1 的 Met111 形成氢键。在与 CASP3 的结合中，小檗碱占据了 Leu168、Tyr204 和 Phe256 形成的疏水空腔，同时还与 Phe256 形成 π - π 相互作用。综上所述，季铵碱类化合物与靶点蛋白之间的相互作用模式主要有氢键、 π - π 、cation- π 、疏水占据、盐桥等。这与这类化合物的结构有关，季铵碱类化合物均含有苯环结构、环上含有羟基取代基、且环上为带正电荷的氮原子，因此具备形成氢键、 π - π 、cation- π 及盐桥的条件。

槲皮素（quercetin）与 PAR2、BAX、NF- κ B1、JNK1、TNF- α 、RYS2、CASP9、AKT1、ICAM1、HSP70、BCL2 11 个靶点的对接结果较好。槲皮素是黄酮类化合物，含有 1 个羰基和 5 个羟基，即同时具备多个氢键受体和氢键供体，因此其与靶点蛋白的主要作用模式为氢键。图 1-C 为槲皮素 NF- κ B1 的结合模式，由图可见槲皮素的羰基氧和临近羟基的氧原子与 Mg^{2+} 螯合，羰基氧与 Lys517 形成 1 个氢键，同时其还可与 Asp515、Asp534、His537 形成氢键。

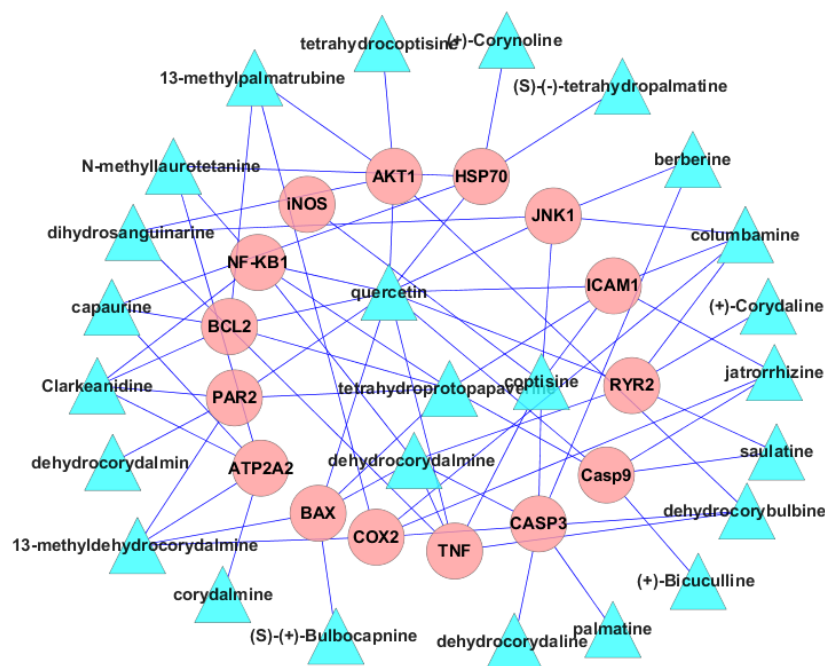


图 2 成分-蛋白靶点网络

Fig. 2 Component-protein target network

叔胺碱类化合物中与靶点结合较好的化合物较少,主要有四氢原罂粟碱(tetrahydroprotopaverine)和 clarkeanidine。其中,四氢原罂粟碱与 PAR2、BAX、NF-κB1、CASP9、ICAM1、BCL2 结合较好,而 clarkeanidine 与 PAR2、BAX、NF-κB1、ATP2A2、BCL2、COX2 结合较好。与季铵碱类化合物不同,叔胺碱类化合物的氮原子不带正电荷,因此其主要通过氢键及 π - π 共轭与靶蛋白相互作用。如在四氢原罂粟碱与 BAX 的结合中,其羟基与 Asn32、Gly97 和 Tyr33 形成氢键、其苯环结构与 Tyr33 形成 π - π 共轭(图 1-D)。

在 16 种心肌缺血靶点对接结果中,8 种季铵碱化合物、1 种黄酮类、2 种叔胺碱类显示出了较好的对接结果。季铵碱类化合物和黄酮类槲皮素对接结果普遍优于叔胺碱类,有 10 种靶点蛋白与季铵碱的对接打分平均值高于叔胺碱,分别是 AKT1、TNF- α 、RYR2、JNK1、ICAM1、COX2、CASP3、PAR2、BAX、ATP2A2。STAT3 仅与少数几个化合物对接成功,STAT3 空腔含有 Lys591、Arg609 等带正电荷的残基。季铵碱或叔胺碱类化合物空间体积较大且季铵碱类化合物带正电荷,因此这类化合物与 STAT3 的结合均较差

2.2 化合物-靶点蛋白网络及网络拓扑分析

利用 Cytoscape 3.6.1 作化合物和靶点蛋白相互作用的网络药理图^[13],结果见图 2,网络异质性为

0.57, 平均相邻节点数 3.59, 特征网络长度 3.02, 网络中心度 0.21, 从网络药理学结构图及拓扑参数可以看出,延胡索中小分子化合物存在着一个化合物与多靶点相互作用的情况,也存在着多个化合物与同一个靶点相互作用的情况,这体现出了中药的多成分能够与多靶点作用的特性。

3 讨论

对于延胡索的研究中,比较多的是研究了其中的叔胺类生物碱如延胡素乙素、延胡素甲素,大多研究的是其镇痛作用,季铵碱类研究较少。据以往的研究报道季铵碱类对心肌缺血有治疗作用,本研究通过分子对接手段辅以网络药理学相关知识,对延胡索治疗心肌缺血作用物质基础及机制进行探索。

中药治疗心肌缺血机制主要与清除氧自由基、减轻钙超载、改善能量代谢、干预炎症反应、调节血管内皮因子、抑制细胞凋亡有关^[14-15]。在清除氧自由基方面,诱导性一氧化氮合酶(iNOS)是一种合成血管内皮舒张因子 NO 的酶,适量的 NO 可以起到抑制血小板聚集、舒张冠脉、保护心肌细胞作用。iNOS 过量表达时可产生过量 NO,过量的 NO 与氧迅速反应产生大量氧自由基,从而会加重心肌细胞损伤。黄连碱与 iNOS 的结合,可能是抑制 iNOS 活性,减少氧自由基产生,减少由 iNOS 引发的血管内皮细胞凋亡,对抗心肌缺血梗死引起的炎症反

应, 以此达到治疗心肌缺血作用^[16]。

在抑制心肌细胞凋亡方面, Caspase 家族是细胞凋亡级联反应过程中重要的酶, 是细胞凋亡级联反应中重要一环, Caspase-3 是细胞凋亡的关键效应因子, 可以对部分关键性蛋白酶进行激活或灭活。小檗碱、巴马汀和药根碱能够与 Caspase-3、Caspase-9 很好结合, 可能是通过抑制 Caspase 级联反应, 导致部分关键性蛋白酶灭活, 使得凋亡反应的中间过程终止, 从而达到保护心肌细胞作用^[17-19]。Bcl-2/Bax 是一对与细胞凋亡密切相关的靶蛋白, Bcl-2 主要起抗凋亡作用, Bax 作用则相反, 起到一个促进凋亡的作用。四氢原罂粟碱与这 2 个靶点结合较好, 可能起到上调 Bcl-2 表达, 下调 Bax 表达作用, 通过改变 Bcl-2/Bax 比例, 抑制细胞色素 C 从线粒体释放, 从源头上终止了心肌细胞凋亡反应, 从而起到抗心肌缺血作用^[20]。

在干预炎症反应方面, 核转录因子 NF- κ B 不仅在免疫应答、细胞生长调控方面起着重要作用, 同时 NF- κ B 可以诱导表达 ICAM、IL 等炎症蛋白。槲皮素与核转录因子有较好结合, 可能是通过降低 NF- κ B 活性, 下调 HMGB1-TLR4-NF- κ B 信号通路, 继而抑制炎症因子 IL-6 和 IL-1 β 浓度, 达到抗心肌缺血作用^[21]。丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (Akt1) 是 PI3K-AKT 信号通路的一个重要的蛋白激酶, Akt1 的活化在心肌细胞缺血再灌注损伤保护过程中发挥重要作用, 去氢紫堇碱与 AKT1 结合后, 可能导致 Akt1 被激活, 进而起到抑制 Caspase 家族成员活性, 导致心肌细胞凋亡反应中间步骤终止, 达到保护心肌细胞作用。

在减轻钙超载方面, 叔胺碱 clarkeannidine 可能起到提高 ATP2A2 活性作用, 增强心肌细胞在缺血再灌注损伤后 ATP2A2 对 Ca^{2+} 摄取能力, 激活 PI3K/Akt 信号通路, 升高 Akt 磷酸化水平, 逆转内质网应激相关凋亡通路及活化下游的信号分子, 减轻舒张期心肌细胞内细胞钙超载^[22], 从而达到抗心肌缺血作用。

综合以上对接数据以及网络药理结构关系分析, 延胡索季铵碱类物质如黄连碱、巴马汀、去氢紫堇碱、药根碱、非洲防己碱、小檗碱, 黄酮类槲皮素可能是延胡索治疗心肌缺血的主要的物质基础。季铵碱类和黄酮类物质主要是通过氢键、 π - π 堆积、cation- π 、疏水占据与相关靶点相互作用, 从而发挥抗心肌缺血作用。黄连碱、小檗碱、巴马汀、

药根碱等季铵碱类化合物的抗心肌缺血作用已经被实验验证, 而非洲防己碱、13-甲基巴马士宾、13-甲基去氢紫堇达明则缺少心肌缺血药效方面的实验论证, 因此本研究结果可以为后续研究延胡索治疗心肌缺血物质基础提供思路和参考。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 程星烨. 延胡索抗心肌缺血活性部位物质基础研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学中国医学科学院, 2008.
- [3] 李秋月. 延胡索生物碱谱效关系及相互作用研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学中国医学科学院, 2014.
- [4] 李克宁, 郑惠婷, 王淑美, 等. 基于分子对接技术虚拟筛选葛根治疗脑卒中的物质基础研究 [J]. 中草药, 2018, 49(8): 1847-1853.
- [5] 潘婷婷, 周植星, 韩英梅, 等. 基于植物成分的蛋白酶激活受体 1 拮抗剂的虚拟筛选和实验筛选 [J]. 中草药, 2014, 45(10): 1427-1433.
- [6] 汝锦龙. 中药系统药理学数据库和分析平台的构建和应用 [D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2015.
- [7] Wu S, Chang G, Zhang D, *et al.* Trimetazidine protects against myocardial/reperfusion injury by inhibiting excessive autophagy [J]. *J Mol Med*, 2018, 96(8): 791-806.
- [8] Deng Y L, Zhao J Y, Quan X Q, *et al.* Verapamil suppress cardiac alternans and ventricular arrhythmias in acute myocardial ischemia via ryanodine receptor inhibition [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(6): 2712-2722.
- [9] Wei Y, Meng T, Sun C, *et al.* Protect effect of diltiazem on myocardial ischemic rats induced by isoproterenol [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1): 495-501.
- [10] Wishart D S, Knox C, Guo A C, *et al.* DrugBank: A comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration [J]. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(1): 668-672.
- [11] 蒋芦荻, 陈茜, 张燕玲, 等. 基于分子对接技术的高频降脂药对作用机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(12): 2413-2419.
- [12] Sastry G M, Adzhikirey M, Sherman W, *et al.* Prorein and ligand preparation parameters protocols and influence on virtual screening enrichments [J]. *J Comput Aided Mol Des*, 2013, 27(3): 221-234.
- [13] 董亚楠, 韩彦琪, 张铁军, 等. 基于网络药理学的六经头痛片治疗偏头痛的作用机制探讨 [J]. 中草药, 2017, 48(20): 4174-4180.
- [14] 李小龙. 灯盏花素的心肌保护作用及其机制研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2004.
- [15] 史春志. 大蒜素对大鼠心肌细胞缺氧/复氧、缺血/再灌注损伤保护作用及其机制研究 [D]. 武汉: 华中科技

- 大学, 2006.
- [16] Gong L L, Fang L H, Du G H, *et al.* Coptisine exert cardioprotective effect through anti-oxidative and inhibition of RhoA/Rho kinase pathway on isoproterenol-induced myocardial infarction in rat [J]. *Atherosclerosis*, 2012, 222(1): 50-58.
- [17] Yao Q, Xu D, Li H L, *et al.* Berberine promoted myocardial protection of postoperative patients through regulating myocardial autophagy [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 105(1): 1050-1053.
- [18] Kim Y M, Ha Y M, Jin Y C, *et al.* Palmatine from *Coptidis rhizoma* reduces ischemia reperfusion-mediated acute myocardial injury in the rat [J]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(8): 2097-2102.
- [19] Luo T, Zhang H, Wang H Q, *et al.* Neuroprotective effect of Jatrorrhizine on peroxide-induced cell injury and its potential mechanisms in PC12 cells [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 498(3): 227-231.
- [20] Badr R, Hashemi M, Javadi G, *et al.* Assessment of global ischemic/reperfusion and Tacrolimus administration on CA1 region of hippocampus: Gene expression profiles of BAX and BCL2 genes [J]. *Bratisl Med J*, 2016, 117(6): 358-362.
- [21] Dong L Y, Chen F, Xu M, *et al.* Quercetin attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury via downregulation of the HMGB1-TLR4-NF- κ B signaling pathway [J]. *AMJ Transl Res*, 2018, 10(15): 1273-1283.
- [22] 岳志杰, 石展, 杜昱蕾, 等. L-型钙通道自身调控异常参与缺血再灌注心肌钙超载的形成 [J]. *生理学报*, 2017, 69(6): 861-869.