

芪苓温肾消囊方化学成分及其治疗多囊卵巢综合征的作用机制分析

王云丹^{1,2,3}, 张依倩^{2,3}, 郝磊^{2,3}, 王玉^{2,3,4}, 霍志鹏^{2,3,5}, 何毅^{2,3*}, 舒畅^{1*}

(1. 中国药科大学药学院, 南京 211198;

2. 天士力医药集团股份有限公司研究院现代中药开发中心, 天津 300410;

3. 天士力医药集团股份有限公司创新中药关键技术国家重点实验室, 天津 300410;

4. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 5. 天津中医药大学中药学院, 天津 301617)

[摘要] 目的:系统分析芪苓温肾消囊方(QLWS)方的化学成分,探讨该方治疗多囊卵巢综合征(PCOS)的关键活性成分及作用机制。方法:结合对照品比对和文献及数据库,采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱法(UPLC-Q-TOF/MS^E)对QLWS方化学成分进行系统分析与鉴定。采用中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)及SwissADME平台筛选活性成分并进行网络药理学分析。通过SwissTargetPrediction、GeneCards、疾病相关基因与突变位点数据库(DisGeNET)、DrugBank等数据库获取该方治疗PCOS的潜在成分及靶点。借助STRING数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络筛选核心靶点。利用DAVID数据库对核心靶点进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。运用MOE 2019进行分子对接。结果:从QLWS方中鉴定成分90个,经筛选得到32个活性成分和45个核心靶点。GO功能富集分析共得到429个条目,KEGG通路富集分析共得到110个条目,主要涉及磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路、雌激素信号通路、缺氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路等。分子对接结果显示QLWS方中的关键活性成分淫羊藿苷、丹酚酸A/B/C、汉黄芩素、木兰花碱等可能通过调节促分裂原活化的蛋白激酶1(MAPK1)、表皮生长因子受体(EGFR)、促分裂原活化的蛋白激酶3(MAPK3)等靶点发挥治疗PCOS的作用。结论:该研究基于液质联用技术及网络药理学技术初步预测了QLWS方中多个活性成分通过作用于多靶点、多通路治疗PCOS,为阐明全方的药效物质基础及作用机制研究提供思路与参考。

[关键词] QLWS方; 多囊卵巢综合征; 网络药理学; 超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱; 分子对接; 作用机制

[中图分类号] R285;R289;R22;R2-031;R33 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2022)08-0183-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220516

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220221.1707.003.html>

[网络出版日期] 2022-02-22 14:05

Chemical Components and Mechanism of Qiling Wenshen Formula in Treating Polycystic Ovary Syndrome

WANG Yun-dan^{1,2,3}, ZHANG Yi-qian^{2,3}, HAO Lei^{2,3}, WANG Yu^{2,3,4}, HUO Zhi-peng^{2,3,5},

HE Yi^{2,3*}, SHU Chang^{1*}

(1. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China;

2. Development Center of Modern Chinese Medicine, Research Institute of

Tasly Holding Group Co. Ltd., Tianjin 300410, China;

3. State Key Laboratory of Critical Technology in Innovative Chinese Medicine,

Tasly Pharmaceutical Group Co. Ltd., Tianjin 300410, China;

[收稿日期] 2021-11-05

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2017ZX09301005)

[第一作者] 王云丹,在读硕士,从事药物分析研究,E-mail:cpuwudan@163.com

[通信作者] *何毅,博士,从事中药新药开发与研究,Tel:022-86343860,E-mail:heyi@tasly.com;

*舒畅,副教授,从事药物分析研究,E-mail:shuchang@cpu.edu.cn

4. School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China;
5. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

[Abstract] **Objective:** To systematically analyze the chemical components of QiLing Wenshen (QLWS) formula and explore the key active components and mechanism of the formula in the treatment of polycystic ovary syndrome (PCOS). **Method:** The chemical components of QLWS formula were systematically identified by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS^E) combined with comparison with reference substances, literature data, and databases. Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and SwissADME were employed to screen the active components for network pharmacological analysis. SwissTargetPrediction, GeneCards, DisGeNET, and DrugBank were used to obtain the potential components and targets of the formula for the treatment of PCOS. The protein-protein interaction (PPI) network was constructed via STRING database for further screening of the core targets. Gene ontology (GO) annotation and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment of core targets were carried out with DAVID database. Molecular docking was performed in MOE 2019. **Result:** A total of 90 components of QLWS formula were identified, and 32 active components and 45 core targets for treating PCOS were obtained. GO annotation obtained 429 terms and KEGG pathway enrichment screened out 110 signaling pathways, mainly involving phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway, estrogen signaling pathway, and hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) signaling pathway. The molecular docking revealed that key active components in QLWS formula were icariin, salvianolic acid A\B\C, wogonin, magnoflorine, etc., which may play a role in treating PCOS through regulating mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1), epidermal growth factor receptor (EGFR), mitogen-activated protein kinase 3 (MAPK3), etc. **Conclusion:** This study preliminarily predicted that several key active components of QLWS formula could treat PCOS via multiple targets and multiple pathways based on UPLC-Q-TOF/MS^E and network pharmacology, which could provide ideas and references for the study of pharmacodynamic material basis and mechanism of action of the formula.

[Keywords] QiLing Wenshen formula; polycystic ovary syndrome; network pharmacology; ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry; molecular docking; mechanism of action

多囊卵巢综合征(PCOS)是多发于青春期及育龄期女性的一种内分泌疾病,诱发女性不孕,长期患病会增加Ⅱ型糖尿病、高血压、子宫内膜炎等并发症的患病风险^[1],全球育龄女性患病率为5%~10%^[2]。PCOS病因不明,多数观点认为是环境与遗传共同作用的结果,与下丘脑-垂体-卵巢轴功能失调为主的神经内分泌紊乱^[3]、慢性低度炎症^[4]、基因多态性^[5]、糖脂代谢紊乱^[6]、氧化应激^[7]等诸多因素相关。

PCOS主要病症表现为胰岛素抵抗、高雄激素血症和排卵障碍等,常伴有多毛、肥胖、闭经等症状,具有高度临床异质性。各国PCOS诊断标准不一,我国在参考国外相关指南及共识的基础上,结合中国患者情况、临床研究及诊疗经验,制定了

PCOS中国诊疗指南^[8]。该指南分别对青春期、育龄期及围绝经期女性的PCOS诊断明确了不同指标,在符合指标同时,对其他可能引起这些指标出现的疾病逐一排除才能最终确诊PCOS。当前治疗PCOS的常用药物多以避孕药(如达英-35)、胰岛素增敏剂(如二甲双胍、罗格列酮)、排卵诱导剂(如来曲唑、克罗米芬)为主^[9-10],然而此类药物只针对PCOS某些单一症状,缺少满足临床需求的全面治疗药物。

中医古籍中无多囊卵巢综合征的病名,根据临床症状可归属于“闭经”“不孕”“月经后期”等范畴^[11]。中医辨证分型根据其不同特点将PCOS分为多种证型^[12],揭示肾、脾、肝三者功能失调是PCOS病因之本,血瘀、痰湿、肝郁是其主要病理产物。在

治疗 PCOS 组方配伍的研究中发现,治疗 PCOS 多从补肾活血、健脾化痰、补气养肝等方面入手^[13]。而肾虚痰湿型在 PCOS 患者中最为常见,故以补肾药与化痰药联用,标本兼顾施治的补肾化痰法为目前治疗 PCOS 的基本原则与方法^[14]。

芪苓温肾消囊方(QLWS)原名补肾化痰方,是由黑龙江中医药大学附属第一医院妇产科侯丽辉教授基于 PCOS 中医病机“痰壅胞宫”理论^[15-17]经过十余年临床实践及试验提出的临床经验方^[18],临床疗效确切,多项研究表明该方具有改善脾虚痰湿证候^[19]、高雄激素血症^[20]、调节脂质代谢紊乱,纠正胰岛素抵抗^[21]等疗效;同时,该方能显著改善 PCOS 患者的子宫内膜容受性,调节生殖内分泌水平,促进月经及排卵恢复正常^[22-23]。全方由 5 味药材组成,以黄芪为君药,淫羊藿为臣药,茯苓、苍术为佐药,丹参为使药。黄芪益气健脾祛痰,淫羊藿温补肾阳,茯苓利水渗湿,苍术燥湿健脾,丹参活血化瘀、温经养血,全方共奏补肾健脾,化痰化痰之功效。目前关于该方的临床疗效已有较多报道,但作用机制尚未明确。本研究从全方物质基础研究出发,利用 UPLC-Q-TOF/MS^E 技术鉴定该方化学成分,并利用网络药理学及分子对接技术筛选关键成分及核心靶点,为阐明全方的药效物质基础及进一步探究 QLWS 方治疗 PCOS 的作用机制研究提供思路与参考。

1 材料

1.1 药材与药品 黄芪(甘肃天士力中天药材有限公司,批号 Y18012201),淫羊藿(河北蔺氏盛泰药业有限公司,批号 2005011740),苍术、茯苓(安徽省永香中药饮片公司,批号分别为 200101、190401),丹参(陕西天士力植物药业有限责任公司,批号 C119040201)经天士力研究院高级工程师张依倩鉴定分别为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus mongholicus* 的干燥根、小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicornum* 的干燥叶、菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* 的干燥根茎、多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* 的干燥菌核,唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* 的干燥根和根茎。

淫羊藿苷、绿原酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、金丝桃苷、丹酚酸 B、芒柄花素、黄芪甲苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110737-202017、110753-202018、111920-201907、111521-201809、111562-201917、111703-201504、110781-202118,纯度依次为 98.1%、96.1%、96.8%、94.9%、96.6%、

97.9%、96.8%),朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、毛蕊异黄酮、淫羊藿次苷 I、丹酚酸 A、宝藿苷 I、刺芒柄花苷对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号分别为 MUST-20080304、MUST-20080403、MUST-20080310、MUST-200902110、MUST-20051311、MUST-20101310、MUST-21012410、MUST-20041101,纯度依次为 98.13%、99.23%、99.11%、99.89%、99.45%、98.56%、98.66%、98.54%),苍术苷 A(成都德思特生物科技有限公司,批号 DUST201106-077,纯度 99.64%),箭藿苷 B、鼠李糖基淫羊藿次苷 II 对照品(成都格利普生物科技有限公司,批号分别为 21040604、20121002,纯度分别为 96.00%、99.30%)。

1.2 仪器与试剂 ACQUITY UPLC 型超高效液相色谱仪、Synapt G2 Q-TOF 型质谱仪(美国 Waters 公司),ST16R 型高速冷冻离心机(德国 Thermo Fisher 公司),XS205DU 型电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司),Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司),KQ-500DV 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),亮氨酸-脑啡肽(美国 Waters 公司,批号 W26031412),质谱级乙腈和甲酸、色谱级甲醇(德国 Merck 公司),娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司),其他试剂均为分析纯。

1.3 数据库与软件 中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP, <https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>), SwissADME 平台(<http://www.swissadme.ch/>), SwissTargetPrediction 平台(<http://www.swisstargetprediction.ch/>), 全球蛋白质资源数据库(UniProt, <https://www.uniprot.org/>), GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>), 疾病相关基因与突变位点数据库(DisGeNET, <https://www.disgenet.org/>), DrugBank 数据库(<https://go.drugbank.com/>), 微生物在线作图(<http://www.bioinformatics.com.cn/>), STRING 数据库(<https://www.string-db.org/>), DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>), PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), RCSB PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>); ChemBioDraw 14.0、Cytoscape 3.8.0、MOE 2019、Masslynx 4.1。

2 方法

2.1 QLWS 方中成分的 UPLC-Q-TOF/MS^E 分析

2.1.1 全方供试品溶液的制备 称取黄芪、淫羊藿、苍术、茯苓、丹参适量,加水适量回流提取 3 次,每次 1 h,得 QLWS 全方提取液。精密移取 5 mL 提取液至 10 mL 量瓶中,用 80% 甲醇定容至刻度线,

摇匀,以 $12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 高速离心 $10\ \text{min}$ (半径 $9.8\ \text{cm}$),取上清液过 $0.22\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜,即得。

2.1.2 单味药溶液的制备 称取 QLWS 方中各单味药材,按处方工艺加适量水单独回流提取3次,每次 $1\ \text{h}$,得各单味药材提取液。按 2.1.1 项下方法处理提取液,得各单味药材供试品溶液。

2.1.3 对照品溶液的制备 精密称定各对照品淫羊藿苷、绿原酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、金丝桃苷、丹酚酸 B、芒柄花素、黄芪甲苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、毛蕊异黄酮、刺芒柄花苷、淫羊藿次苷 I、丹酚酸 A、宝藿苷 I、苍术苷 A、箭藿苷 B、鼠李糖基淫羊藿次苷 II 于同一 $25\ \text{mL}$ 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,制成各对照品质量浓度均为 $20\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.1.4 检测条件 色谱条件: ACQUITY UPLC BEH Shield RP₁₈ ($2.1\ \text{mm}\times 100\ \text{mm}, 1.7\ \mu\text{m}$) 色谱柱。流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱 ($0\sim 5\ \text{min}, 5\%\text{B}; 5\sim 10\ \text{min}, 5\%\sim 16\%\text{B}; 10\sim 12\ \text{min}, 16\%\text{B}; 12\sim 13\ \text{min}, 16\%\sim 18\%\text{B}; 13\sim 35\ \text{min}, 18\%\sim 35\%\text{B}; 35\sim 38\ \text{min}, 35\%\sim 60\%\text{B}; 38\sim 40\ \text{min}, 60\%\sim 99\%\text{B}; 40\sim 41\ \text{min}, 99\%\text{B}; 41\sim 43\ \text{min}, 99\%\sim 5\%\text{B}; 43\sim 50\ \text{min}, 5\%\text{B}$)。流速 $0.4\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温 $30\ ^\circ\text{C}$,进样量 $2\ \mu\text{L}$ 。

质谱条件:采用电喷雾离子源(ESI),全信息串联质谱(MS^E) 在正、负离子模式下扫描,扫描范围 $m/z\ 50\sim 1\ 200$ 。毛细管电压 $2.3\ \text{kV}$,锥孔电压 $40\ \text{V}$,高纯氩气(Ar)为碰撞气。雾化气体(N_2)流速 $50\ \text{L}\cdot\text{h}^{-1}$,脱溶剂气体(N_2)流速 $800\ \text{L}\cdot\text{h}^{-1}$,脱溶剂气温度 $350\ ^\circ\text{C}$,离子源温度 $120\ ^\circ\text{C}$ 。低能量扫描无碰撞能,高能量 MS^E 模式扫描碰撞能 $20\sim 60\ \text{eV}$,干燥气温度 $350\ ^\circ\text{C}$;干燥气流速 $10\ \text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 。以质量浓度 $2\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的亮氨酸-脑啡肽 ($m/z\ 554.261\ 5[\text{M}-\text{H}]^-$, $m/z\ 556.277\ 1[\text{M}+\text{H}]^+$) 实时校正,流速 $10\ \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

2.2 活性成分筛选及作用靶点预测 利用 TCMSPP 数据库及 SwissADME 平台对 2.1 项下鉴定得到的全方化学成分进行活性筛选,对符合下列条件之一的成分予以纳入:①该化合物的口服生物利用度(OB) ≥ 30 ,类药性(DL) ≥ 0.18 ;②该化合物符合 Lipinski 类药性预测;③属于 2020 年版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)中收录的指标成分。利用 PubChem 数据库将筛选得到的成分进行结构确认,获取其 2D 结构及 Canonical SMILES,将其导入基于分子 2D 和 3D 相似性测量评分的 SwissTargetPrediction 平台^[24],预测得到化合物潜在

靶点,并查阅相关文献对靶点信息进行补充,整合去重,并利用 UniProt 将其规范统一为相应的“Gene Symbol”。

2.3 QLWS 方治疗 PCOS 相关靶点筛选 在 GeneCards 及 DisGeNET 数据库分别以“polycystic ovarian syndrome”“PCOS”为关键词检索,通过 DrugBank 补充治疗 PCOS 的临床一线西药作用靶点。经 GeneCards 相关性评分(Score)筛选后合并 3 个数据库的检索结果,对文献中报道的疾病相关靶点纳入予以补充^[25],整合去重,用 UniProt 将蛋白标准化命名。采用 Venn 图将得到的疾病靶点与活性成分靶点取交集,初步得 QLWS 方治疗 PCOS 的潜在作用靶点。

2.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建及核心靶点的筛选 为了更全面地探究药物与疾病相关蛋白间的互作关系,将交集靶点导入 STRING 数据库,限定物种为“Homo sapiens”,设置蛋白质最小相互作用阈值为 0.40,并将得到的 PPI 的 tsv 格式文件导入软件 Cytoscape 3.8.0 进行 PPI 网络构建及计算,根据网络分析计算得到度值进一步筛选核心靶点。

2.5 基因本体(GO)功能与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 为了更好地预测中药复方组分治疗疾病的分子机制,将筛选得到的核心靶点进行 GO 分析和 KEGG 分析。将核心靶点以 Gene List 形式导入 DAVID 数据库,设定物种为“Homo sapiens”,以错误发现率(FDR) ≤ 0.01 为富集标准,将得到的结果可视化。

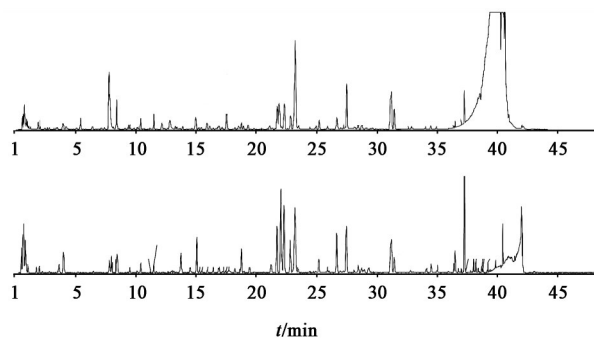
2.6 成分-靶点-通路网络构建 将 2.5 项下得到的排名前 20 条通路与 2.4 项下筛选得到的核心靶点反向对应其活性作用成分整合并导入 Cytoscape 3.8.0 构建成分-靶点-通路网络,并利用软件内置的网络分析功能计算各个节点的网络拓扑参数,进一步明确该方治疗 PCOS 的关键成分及核心靶点。

2.7 核心靶点-关键成分分子对接评价 通过 RCSB PDB 蛋白数据库下载备选核心靶点的高分辨率晶体结构,保存为 PDB 格式。将候选关键成分的结构通过软件 ChemBioDraw 14.0 保存为 sdf 格式。利用 MOE 2019 进行分子对接,以对接评分作为评估蛋白靶点与关键成分结合能大小的指标。对接评分为负值,说明该分子能与蛋白自发结合,且得分越低,亲和力越强,所形成的蛋白-小分子复合物象越稳定。

3 结果

3.1 QLWS方的化学成分解析 采用软件Masslynx 4.1对UPLC-Q-TOF/MS^E得到的数据进行采集和处理,找出每个成分对应的准分子离子峰,结合碎片离子及单味药质谱信息,经对照品比对及TCMSP数据库、PubChem数据库、参考文献分析^[26-37],最终从QLWS方全方供试品溶液中鉴定出90个成分,正负离子模式下的基峰离子色谱图(BPI图)见图1。按照结构母核分类,成分包括黄酮类50个、酚酸类11个、苯丙素类8个、三萜皂苷4个、生物碱类1个、倍半萜类1个,其他类化合物15个;按照药材归属分类,16个来源于黄芪,54个来源于淫羊藿,14个来源于丹参,8个来源于苍术,未归属成分1个,其中淫羊藿与苍术有3个共有成分。

3.2 活性成分筛选及靶点预测 基于2020年版《中国药典》,并结合在TCMSP数据库及SwissADME平台设定的筛选条件,最终从所鉴定



注:A. 正离子模式;B. 负离子模式

图1 QLWS方的UPLC-Q-TOF/MS^E基峰离子色谱

Fig. 1 Base peak intensity chromatograms of QLWS formula by UPLC-Q-TOF/MS^E

的90个成分中筛选出32个活性成分,包括黄芪8个、淫羊藿9个、丹参10个、苍术2个,苍术和淫羊藿共有3个活性成分,类别主要为黄酮类、酚酸类及苯丙素类等,见表1。利用SwissTargetPrediction平台预测及UniProt校正后去重共得到411个靶点。

表1 QLWS方中活性成分定性分析及药材归属

Table 1 Qualitative analysis and attribution of active components in QLWS formula

峰号	t_R /min	名称	分子式	实测值(m/z)	误差($\times 10^{-6}$)	MS ^E	药材归属及标记
1	1.99	丹参素 ^[26]	$C_9H_{10}O_5$	197.045 1[M-H] ⁻	-2.26	179.034 4, 151.038 5, 135.044 6	DS1
				221.042 5[M+Na] ⁺	2.01	-	
2	2.39	D-色氨酸 ^[27]	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	205.097 1[M+H] ⁺	-0.28	188.071 4, 170.060 9, 159.093 0, 146.060 8	CZ1
3	3.32	苍术苷A ¹⁾	$C_{21}H_{36}O_{10}$	493.228 9[M+HCOO] ⁻	-0.30	447.221 8, 322.912 1, 254.924 9	CZ2
				471.219 9[M+Na] ⁺	-0.38	-	
4	3.60	原儿茶醛 ^[26]	$C_7H_6O_3$	137.025 0[M-H] ⁻	4.27	-	DS2
5	4.01	新绿原酸 ^[27-28]	$C_{16}H_{18}O_9$	353.087 6[M-H] ⁻	-0.58	191.055 5, 179.034 3, 135.044 2	A1
				377.084 6[M+Na] ⁺	0.76	-	
7	6.50	5- <i>p</i> -coumaroylquinic acid ^[28]	$C_{16}H_{18}O_8$	337.092 9[M-H] ⁻	0.03	191.056 1, 173.045 3, 163.039 7	YYH1
8	7.73	木兰花碱 ^[29]	$C_{20}H_{23}NO_4$	340.156 3[M-H] ⁻	2.56	191.053 2	YYH2
				342.170 0[M+H] ⁺	0.03	297.112 0, 282.088 1, 265.085 8, 237.090 6	
9	7.98	隐绿原酸 ^[30]	$C_{16}H_{18}O_9$	353.086 4[M-H] ⁻	-3.98	191.054 8, 179.034 6, 173.044 5, 93.034 6	A2
10	8.06	阿魏酸 ^[31]	$C_{10}H_{10}O_4$	193.050 7[M-H] ⁻	0.36	149.061 1	DS3
11	8.40	咖啡酸 ^[31]	$C_9H_8O_4$	179.035 3[M-H] ⁻	1.79	135.044 5	DS4
12	8.45	绿原酸 ¹⁾	$C_{16}H_{18}O_9$	353.087 0[M-H] ⁻	-2.28	191.055 5, 179.034 3, 161.024 1, 127.040 6	A3
				377.085 3[M+Na] ⁺	2.61	-	
13	9.52	3- <i>O</i> - <i>p</i> -coumaroylquinic acid ^[32]	$C_{16}H_{18}O_8$	337.092 7[M-H] ⁻	-0.56	173.044 6, 163.040 5, 119.049 1, 93.033 6	YYH3
				361.090 1[M+Na] ⁺	1.94	-	
16	11.49	毛蕊异黄酮苷 ¹⁾	$C_{22}H_{22}O_{10}$	491.119 0[M+HCOO] ⁻	-1.02	283.061 2	HQ1
				469.111 1[M+Na] ⁺	1.22	285.076 2, 270.052 8, 137.024 6	

续表 1

峰号	t_R/min	名称	分子式	实测值(m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	MS ^E	药材归属 及标记
17	12.61	丹酚酸 F ^[33]	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	313.071 5[M-H] ⁻	-0.83	269.083 1、109.027 7	DS5
24	15.27	丹酚酸 D ^[34]	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	417.083 9[M-H] ⁻ 441.079 5[M+Na] ⁺	2.83 0.61	373.091 9、197.044 8、175.037 5 -	DS6
25	15.35	汉黄芩素 ^[35]	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285.076 2[M+H] ⁺ 283.060 3[M-H] ⁻	1.56 -3.16	270.053 4 268.036 9	HQ2
26	15.94	芒柄花苷 ¹⁾	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	475.125 2[M+HCOO] ⁻ 453.116 6[M+Na] ⁺	1.29 2.17	272.068 2、252.043 4 269.081 1、254.057 8、137.023 8	HQ3
29	16.86	9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷 ^[35]	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₀	485.141 4[M+Na] ⁺	-0.89	323.084 1	HQ4
30	16.91	迷迭香酸 ^[33]	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	359.076 7[M-H] ⁻	-1.50	197.045 9、179.033 2、161.024 3	DS7
40	18.95	2'-羟基-3',4'-二甲氧基异黄烷-7-O-β-D-葡萄糖苷 ^[36]	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₀	463.160 4[M-H] ⁻	-1.23	301.110 0、286.083 8、271.056 7、193.050 6	HQ5
41	19.43	丹酚酸 A ¹⁾	C ₂₆ H ₂₂ O ₁₀	493.112 3[M-H] ⁻ 517.108 0[M+Na] ⁺	-3.49 -4.89	383.111 2、295.059 6 359.049 6	DS8
43	21.22	毛蕊异黄酮 ¹⁾	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285.075 9[M+H] ⁺ 283.060 8[M-H] ⁻	0.51 -1.40	270.052 5、253.049 8 268.036 9、239.033 0、211.039 4	HQ6
44	21.71	朝藿定 A ¹⁾	C ₃₉ H ₅₀ O ₂₀	837.279 7[M-H] ⁻ 861.278 7[M+Na] ⁺	-3.07 -0.09	675.229 1、366.110 4、351.086 6 531.186 3、369.132 8、313.070 5	YYH4
45	22.04	丹酚酸 B ¹⁾	C ₃₆ H ₃₀ O ₁₆	717.145 5[M-H] ⁻ 741.141 5[M+Na] ⁺	-0.85 -1.51	519.093 1、339.051 2、321.040 4、295.060 4 521.107 2、323.054 7	DS9
46	22.27	朝藿定 B ¹⁾	C ₃₈ H ₄₈ O ₁₉	807.271 2[M-H] ⁻ 831.268 6[M+Na] ⁺	-0.63 0.46	645.219 1、366.110 4、351.087 4 531.186 0、369.133 4、313.070 6	YYH5
47	22.82	朝藿定 C ¹⁾	C ₃₉ H ₅₀ O ₁₉	867.291 4[M+HCOO] ⁻ 845.285 2[M+Na] ⁺	-1.65 1.58	659.232 1、367.115 8、351.085 5、323.091 2 531.186 6、369.133 8、313.070 9	YYH6
48	23.20	淫羊藿苷 ¹⁾	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₅	721.234 3[M+HCOO] ⁻ 677.245 0[M+H] ⁺	-0.87 1.47	529.171 0、513.177 6、409.129 4、367.118 8 531.187 3、369.134 5、313.071 7	YYH7
54	25.80	丹酚酸 C ^[31]	C ₂₆ H ₂₀ O ₁₀	491.096 5[M-H] ⁻	-3.81	293.045 2、249.057 2	DS10
65	29.30	刺芒柄花素 ¹⁾	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	267.065 4[M-H] ⁻ 269.081 1[M+H] ⁺	-3.30 0.97	252.042 0、223.039 8、195.044 0 254.054 9、237.051 7	HQ7
66	29.48	黄芪甲苷 ¹⁾	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	829.456 3[M+HCOO] ⁻ 807.452 0[M+Na] ⁺	-3.39 2.30	783.461 9 627.288 9	HQ8
84	30.48	宝藿苷 I ¹⁾	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₀	513.178 0[M-H] ⁻ 537.173 5[M+Na] ⁺	2.69 0.69	366.111 0、351.087 5、323.092 2 369.132 6、313.070 7	YYH8
89	38.80	脱水淫羊藿素 ^[37]	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	367.120 2[M-H] ⁻	4.06	352.091 1、116.928 2	YYH9

注: ¹⁾对照品比对; DS. 丹参; CZ. 苍术; HQ. 黄芪; YYH. 淫羊藿; A. 苍术与淫羊藿共有

3.3 QLWS 方治疗 PCOS 相关靶点筛选 在 GeneCards 中共检索得到 2 782 个与 PCOS 相关的靶点, 选择 Score \geq 6.95 (中位数) 的靶点共 1 391 个, 结合 DisGeNET 及 DrugBank 数据库筛选及文献补充, 去重, 最终得到 1 972 个疾病相关靶点。将 QLWS

方的 411 个活性成分靶点与 PCOS 的 1 972 个疾病靶点取交集得 177 个共有靶点, 见增强出版附加材料, 二者交集即为该方治疗 PCOS 的潜在靶点。见增强出版附加材料。

3.4 PPI 的构建及核心靶点的筛选 将成分和疾病

共有靶点177个导入STRING数据库,下载PPI网络的tsv格式文件并导入软件Cytoscape 3.8.0,对游离于网络外的4个靶点予以剔除后得到由173个节点、2 573条边构成的PPI网络。根据网络分析结果,利用度值中位数筛选得核心靶点,筛选过程见增强出版附件材料。经两轮筛选最终得到由45个节点、761条边构成的核心靶点互作网络。根据核心靶点的度值对其进行可视化分析,见增强出版附加材料。图中节点的圆圈越大,颜色越接近红色则说明该节点在整个网络中与其他蛋白作用越强,关系越紧密,提示转录因子AP-1(JUN)、胱天蛋白酶-3(Caspase-3)、血管内皮生长因子A(VEGFA)等靶点可能在QLWS方治疗PCOS中发挥重要作用。

3.5 GO功能与KEGG通路富集分析 GO功能富集分析主要从生物过程(BP)、分子功能(MF)以及细胞组成(CC)进行基因注释。GO功能富集分析共得到429个条目,包括315条生物过程、71条分子功能及43条细胞组成,以FDR值较小的前10条作图,见增强出版附加材料。生物过程的结果显示QLWS方发挥治疗PCOS的作用靶点主要与RNA聚合酶II启动子转录的正调控、ERK1和ERK2级联正调控、蛋白质磷酸化的正向调节等有关,分子功能涉及酶结合、蛋白磷酸酶结合、蛋白质结合、激酶活性等,细胞组成富集结果提示该方的成分主要作用于细胞质核周区、细胞质基质、细胞核、质膜等部位。KEGG通路富集分析共得到110个条目,选取FDR

值较小的前20条进行可视化。核心靶点主要富集在癌症信号通路、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路、雌激素信号通路、缺氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路、ErbB信号通路等。

3.6 成分-靶点-通路网络构建 通过Cytoscape构建的“成分-靶点-通路”网络共由88个节点、418条边组成,见增强出版附加材料。内层红色节点代表潜在靶点,第二层节点代表不同药材的活性成分,外层蓝色节点代表信号通路。节点面积越大,说明其在整个网络中发挥的重要程度越高。经过Cytoscape 3.8.0中Network Analyzer分析,度值排名靠前的成分木兰花碱、汉黄芩素、迷迭香酸、咖啡酸、阿魏酸、脱水淫羊藿素、苍术苷A、丹酚酸B、淫羊藿苷等可能为QLWS方中起效的重要活性成分,成分网络拓扑分析结果见表2。度值排名靠前的潜在靶点丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1)、丝裂原活化蛋白激酶3(MAPK3)均属于丝裂原活化蛋白激酶家族,这一类蛋白激酶通过细胞信号转导参与细胞增殖、分化、凋亡等关键过程。除此之外,表皮生长因子受体(EGFR)、磷脂酰肌醇-3-激酶调节亚基1(PIK3R1)、磷脂酰肌醇-3-激酶催化亚单位 α (PIK3CA)、蛋白激酶C α (PRKCA)、HRAS、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)均为较重要的靶点。该图也反映出中药复方中的多成分共同作用于多靶点从而达到治疗疾病的目的。

表2 QLWS方中主要活性成分网络节点参数

Table 2 Main active components network node parameters of QLWS formula

标记	名称	度值	中介中心性	紧密中心性
YYH2	木兰花碱	14	0.029 2	0.437 2
HQ2	汉黄芩素	12	0.030 0	0.455 5
DS7	迷迭香酸	9	0.010 8	0.400 9
DS4	咖啡酸	9	0.009 7	0.408 5
DS3	阿魏酸	8	0.012 9	0.424 4
YYH9	脱水淫羊藿素	6	0.005 1	0.364 0
CZ2	苍术苷A	6	0.003 3	0.346 6
DS6	丹酚酸D	5	0.005 0	0.341 2
DS10	丹酚酸C	5	0.003 6	0.338 5
DS9	丹酚酸B	5	0.002 2	0.355 1
HQ3	芒柄花苷	5	0.003 8	0.343 9
YYH1	5- <i>p</i> -coumaroylquinic acid	4	0.004 4	0.358 0
DS8	丹酚酸A	4	0.003 6	0.346 6
YYH7	淫羊藿苷	4	0.006 4	0.358 0

3.7 分子对接 为了验证网络药理学筛选成分及靶点结果的可靠性,分别选取成分-靶点-通路网络中度值大于中位数(>3)的活性成分与在网络中度值排名前三(>20)的核心靶点 MAPK1(PDBID: 1PMD)、EGFR(PDBID: 5FED)、MAPK3(PDBID: 4QTB),结合PPI网络分析及文献中与疾病相关性强的靶点对其予以补充,分别为肿瘤坏死因子(TNF)(PDBID: 2AZ5)、VEGFA(PDBID: 4AG8)、JUN(PDBID: 3PTG)、Caspase-3(PDBID: 3H0E)、雌激素受体 α (ESR1)(PDBID: 5FQV)。将上述成分与靶点进行对接,共得到112组对接结果。结合能均 $<0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ($1 \text{ kcal}\approx 4.186 \text{ kJ}$),说明所筛选出的关键成分均能与核心靶点自发结合;结合能 $<-5.0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ 的有108组,占有所有组的96.42%;结合能 $<-7.0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ 的共55组,占49.11%,表明大多数QLWS方的成分与筛选出的核心靶点结合较好。结合能较低的丹酚酸B、淫羊藿苷、丹酚酸A、丹酚酸C等成分可能为QLWS方治疗PCOS的关键成分。构建部分活性成分与核心靶点的结合最优构象,见增强出版附加材料。

4 讨论

本研究基于UPLC-Q-TOF/MS技术,在正负离子模式下解析出QLWS方中的90个化学成分,成分以黄酮类、酚酸类、苯丙素类为主,多来源于方中黄芪、淫羊藿、丹参3味药材。在本实验中未检测到茯苓的成分,然而茯苓多糖在抗炎、抗氧化及降低血糖方面有明显的活性^[38],故需进一步开发新方法对其进行表征。结合前期实验结果、Linpinski规则及2020年版《中国药典》,共筛选得到32个潜在活性成分。“成分-靶点-通路”网络显示的该方中的关键成分包括淫羊藿黄酮类、木兰花碱、汉黄芩素以及丹酚酸类成分等。有文献指出淫羊藿总黄酮能显著降低睾酮(T)与黄体生成素(LH)的水平从而改善高雄激素血症与卵巢功能^[39]。其中,淫羊藿苷具有雌激素样作用,可有效促进卵巢颗粒细胞的增殖,并显著提高颗粒细胞分泌雌二醇的水平^[40]。木兰花碱药理活性广泛,具有降血糖、抗炎、抗氧化等活性^[41]。研究发现木兰花碱能增强胰岛素抵抗模型鼠对葡萄糖的摄取和利用,改善胰岛素抵抗(IR),对脂多糖诱导的炎症有抑制作用^[42-43]。汉黄芩素通过下调促炎因子、抑制促炎基因的表达能达到抗炎效果^[44],从而改善PCOS患者的慢性炎症。丹酚酸类成分具有清除自由基及抗脂质氧化活性^[45],其中丹酚酸B在抑制过氧化损伤的同时亦能调节某些脂

肪因子的表达,降低游离脂肪酸、提高胰岛素受体敏感性从而改善糖脂代谢紊乱及IR^[46-47]。本研究分子对接结果也显示丹酚酸A/B/C与部分核心靶点亲和力较强。推测QLWS方主要通过淫羊藿苷、木兰花碱、汉黄芩素、丹酚酸A\B\C等成分发挥治疗PCOS的作用。

经PPI网络分析及“成分-靶点-通路”网络拓扑分析得到QLWS方治疗PCOS的核心靶点主要包括MAPK1、EGFR、MAPK3、TNF、VEGFA、JUN、Caspase-3、ESR1等。表皮生长因子(EGF)是一类促细胞分裂因子,EGF及EGFR在生殖系统中广泛存在。研究表明EGF与卵母细胞的发育成熟有关,对雌二醇等卵巢甾体激素水平有调节作用^[48],并通过PI3K/Akt信号通路引起Akt磷酸化水平升高从而促进小鼠卵巢颗粒细胞增殖^[49],改善排卵障碍。TNF是一种炎性细胞因子,MOHAMMADI等^[50]通过实验证明降低卵巢组织中炎症因子TNF- α 可以有效改善PCOS模型大鼠的排卵障碍,提示TNF可能为PCOS的潜在治疗靶点。VEGF是一种血管内皮细胞有丝分裂原,在与相应受体结合后有促进血管新生和增加血管通透性的作用。BAO等^[51]指出PCOS患者VEGF血清水平明显高于正常人,且不同种族地区的患者之间存在单核苷酸多态性,提示研究中应重视个体化诊断与治疗。LIU等^[52]基于基因芯片技术发现JUN在PCOS患者的脂肪组织中差异表达,并提出其参与Wnt信号通路在PCOS发病中发挥重要作用。由IR引起的高胰岛素血症影响子宫内膜功能会造成女性流产或不孕,此过程受到ESR1、雌激素受体 β (ESR2)的特异性调控。来曲唑通过增加ESR1的表达,使子宫内膜厚度增加,改善子宫内膜容受性,提高胚胎着床成功率^[53]。Caspase蛋白家族为细胞凋亡进程的关键蛋白,其中Caspase-3是多种途径介导细胞凋亡的下游共同执行蛋白^[54],活性氧积累引起的氧化应激会激活线粒体介导的细胞凋亡途径,引发Caspase级联反应,最终激活Caspase-3,加速卵巢颗粒细胞凋亡,从而导致卵泡闭锁、无优势卵泡排出。

KEGG通路富集分析发现QLWS方治疗PCOS的关键通路主要涉及癌症信号通路、PI3K/Akt信号通路、HIF-1信号通路、ErbB信号通路、雌激素信号通路等。PCOS是子宫内膜癌产生的重要诱因,VILLAVICENCIO等^[55]的研究指出PCOS患者子宫内膜的异常增生与PI3K/Akt信号通路中Akt过度磷酸化有关。PI3K/Akt信号通路也与IR、糖尿病、调

节代谢十分相关,PCOS患者产生IR的可能机制为胰岛素受体底物(IRS)基因突变、PI3K活性异常、葡萄糖转运障碍如转运蛋白GLUT4的活性及数量异常,而补肾化痰方通过调控此通路中某些蛋白的表达可改善PCOS大鼠的IR症状^[56]。缺氧诱导因子HIF-1在哺乳动物机体缺氧状态下稳定表达,研究表明HIF-1 α 介导内皮素(ET)-2的转录激活和表达,可对大鼠卵巢排卵产生影响。PCOS大鼠卵巢中由HIF脯氨酰羟化酶活性增加引起HIF-1 α 及ET-2的表达水平均下降,提示HIF-1蛋白降解可能参与PCOS的形成^[57]。雌激素通过与其不同受体结合介导不同的细胞生理功能。雌激素受体及雌二醇合成相关酶功能的异常是引起PCOS及子宫内膜异位症的重要因素^[58]。丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)是在卵母细胞的减数分裂及成熟中起重要调控作用的一类蛋白激酶,许爱霞等^[59]研究表明原癌基因C-erbB-2可能存在于MAPK及蛋白激酶C(PKC)上游,对其充分激活从而启动原始卵泡生长发育。

综上所述,本研究基于UPLC-Q-TOF/MS^E技术对QLWS方中的化学成分进行定性表征,并利用网络药理学和分子对接技术对该方治疗PCOS的潜在物质基础进行了探索性研究。推测该方中淫羊藿苷、丹酚酸A\B\C、汉黄芩素、木兰花碱等成分通过调节MAPK1、EGFR、MAPK3、TNF、VEGFA等靶点发挥治疗PCOS的作用。其中主要涉及抑制炎症微环境、改善子宫内膜容受性、减少氧化应激及过氧化损伤、调控糖脂代谢及颗粒细胞凋亡等过程。本研究通过QLWS方治疗PCOS机制的探究,为后续结合体内外实验的作用机制深度研究提供思路与参考。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] YU J, YU C Q, CAO Q, et al. Consensus on the integrated traditional Chinese and Western medicine criteria of diagnostic classification in polycystic ovary syndrome (draft) [J]. *J Integr Med*, 2017, 15 (2): 102-109.

[2] 袁莹莹,赵君利. 多囊卵巢综合征流行病学特点[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2019, 35(3): 261-264.

[3] HAYDEN B J, BALEN A H. The role of the central nervous system in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome[J]. *Minerva Ginecol*, 2006, 58(1): 41-54.

[4] YANG Y, QIAO J, LI M. Study on the correlation between low-grade chronic inflammation and pathogenesis of polycystic ovary syndrome [J]. *Fertil Steril*, 2007, 88(S1): S58-S58.

[5] ZHU J, WITTEMAN L B L, LINDGREN C, et al. A genetically defined male counterpart of polycystic ovary syndrome: evidence for ovarian-independent pathogenesis [J]. *J Endocr Soc*, 2021, 5 (Suppl 1): A773-A774.

[6] 李玉婷. 多囊卵巢综合征患者糖脂代谢的临床研究[D]. 广州:南方医科大学, 2013.

[7] EBRAHIMI F, ROSTAMI S, NEKOONAM S, et al. The effect of astaxanthin and metformin on oxidative stress in granulosa cells of BALB C mouse model of polycystic ovary syndrome [J]. *Reprod Sci*, 2021, 28 (10): 2807-2815.

[8] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组. 多囊卵巢综合征中国诊疗指南[J]. *中华妇产科杂志*, 2018, 53(1): 2-6.

[9] 辛俊英. 多囊卵巢综合征药物治疗的研究进展[J]. *当代医学*, 2012, 18(31): 17-19.

[10] ROCCA M L, VENTURELLA R, MOCCIARO R, et al. Polycystic ovary syndrome: chemical pharmacotherapy [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2015, 16(9): 1369-1393.

[11] 刘宇新,侯丽辉,吴效科. 多囊卵巢综合征中医病因病机[J]. *天津中医药*, 2009, 26(2): 123-124.

[12] 张阳,凌娜,张国华,等. 基于深度学习多囊卵巢综合征辨证分型的构建与实现[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2019, 21(5): 13-16.

[13] 侯阿美,储继军. 基于数据挖掘的中医药治疗多囊卵巢综合征的用药规律分析[J]. *西南医科大学学报*, 2021, 44(4): 392-398.

[14] 孟家宁,王昕. 补肾化痰法治疗多囊卵巢综合征研究进展[J]. *实用中医内科杂志*, 2020, 34(11): 18-22.

[15] 侯丽辉,王晓冰,吴效科. 从"痰壅胞宫"病机理论论多囊卵巢综合征排卵障碍[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2008, 14(10): 725-726.

[16] 王波,侯丽辉,吴效科. "天癸失序,痰壅胞宫"——PCOS生殖藏象病理探析[J]. *世界中西医结合杂志*, 2009, 4(11): 768-771.

[17] 杨新鸣,王淑言,邹红,等. 多囊卵巢综合征"痰壅胞宫"的形态学特征[J]. *中医药信息*, 2011, 28(5): 26-29.

[18] 鲁彩霞. 补肾化痰方治疗痰湿型多囊卵巢综合征临床和代谢组学研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2014.

[19] 任那,刘翠翠,侯丽辉. 穴位埋线联合补肾化痰方治疗痰湿内盛型肥胖的疗效观察[J]. *中医药学报*, 2020, 48(2): 54-58.

[20] 尹倩,侯丽辉,刘颖华,等. 补肾化痰方对多囊卵巢综合征患者高雄激素血症影响的临床观察[J]. *上海中医药杂志*, 2015, 49(8): 53-55, 70.

[21] 鲁彩霞,苑程鲲,侯丽辉. 补肾化痰方治疗胰岛素抵

- 抗PCOS的临床研究[J]. 中医学报, 2015, 43(6): 58-61.
- [22] 牛静云, 侯丽辉, 李妍, 等. 补肾活血方治疗肾虚血瘀型多囊卵巢综合征闭经患者的效果[J]. 中国医药导报, 2017, 14(23): 175-178.
- [23] 尹倩, 侯丽辉, 葛军, 等. 补肾化痰方对肥胖型多囊卵巢综合征不孕患者子宫内腔容受性的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2015, 10(11): 1541-1544, 1558.
- [24] DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47 (W1): W357-W364.
- [25] XU Y, PAN C S, LI Q, et al. The ameliorating effects of Bushen Huatan granules and Kunling Wan on polycystic ovary syndrome induced by dehydroepiandrosterone in rats [J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 525145.
- [26] 孙宁宁, 张可佳, 耿婉丽, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS的加参片提取物化学成分分析[J]. 中草药, 2018, 49(2): 293-304.
- [27] 周洁, 汤维维, 陈君. 基于UPLC-QTOF-MS/MS法的茅苍术与北苍术化学成分分析[J]. 药学与临床研究, 2020, 28(5): 321-328.
- [28] 于雪娥, 秦建平, 李家春, 等. 基于UPLC/Q-TOF-MS/MS技术快速分析淫羊藿总黄酮胶囊中的化学成分[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(24): 4587-4597.
- [29] 马文娟, 姚广哲, 贾琪, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS法定性分析淫羊藿中的化学成分[J]. 中药材, 2019, 42(7): 1554-1559.
- [30] 王媛, 袁磊, 李遇伯, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS的淫羊藿化学成分分析[J]. 中草药, 2017, 48(13): 2625-2631.
- [31] 陈嘉慧, 张雅心, 刘孟华, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的丹参水提液全成分分析[J]. 广东药科大学学报, 2020, 36(1): 1-9.
- [32] 甘井山, 马艳, 王宗艳, 等. 淫羊藿中化学成分的UPLC/Q-TOF-MS分析[J]. 现代药物与临床, 2014, 29(4): 349-352.
- [33] LIU A H, GUO H, YE M, et al. Detection, characterization and identification of phenolic acids in Danshen using high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1161(1/2): 170-182.
- [34] LI W, POLACHI N, WANG X, et al. A quality marker study on salvianolic acids for injection [J]. *Phytomedicine*, 2018, 44: 138-147.
- [35] 芮雯, 冯毅凡, 石忠峰, 等. 不同产地黄芩药材的UPLC/Q-TOF-MS指纹图谱研究[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(4): 607-611, 642.
- [36] 信悦, 白晶. 复方黄芪生脉饮化学成分的UPLC-Q-TOF/MS分析[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2021, 37(1): 21-25, 78.
- [37] ZHAO H Y, SUN J H, FAN M X, et al. Analysis of phenolic compounds in Epimedium plants using liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1190(1/2): 157-181.
- [38] 邓桃妹, 彭代银, 俞年军, 等. 茯苓化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中草药, 2020, 51(10): 2703-2717.
- [39] 徐彩生, 罗丽莉, 曾如辉, 等. 淫羊藿总黄酮对多囊卵巢综合征大鼠性激素水平的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2013, 38(2): 147-150.
- [40] 李美玲. 淫羊藿苷通过调节卵巢颗粒细胞增殖与分泌功能改善DOR患者IVF助孕结局的临床与机制研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2020.
- [41] LIANG Y, XIE L, LIU K, et al. Bergapten: A review of its pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(11): 6131-6147.
- [42] 李佳川. 基于本草知识的酒蒸黄连“止消渴”系统研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2011.
- [43] 孙玲. 木兰花碱对LPS诱导的急性肺损伤的保护作用探讨[J]. 世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊), 2019, 19(29): 100-101.
- [44] 任晓东, 符伟, 张晓芸, 等. 天然产物汉黄芩素的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(9): 777-784.
- [45] 戈升荣, 俞一心, 谢更新. 丹酚酸的药理作用研究进展[J]. 中药材, 2002, 25(9): 683-686.
- [46] XIAO Z, LIU W, MU Y P, et al. Pharmacological effects of salvianolic acid b against oxidative damage [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 572373.
- [47] 黄鸣清. 丹酚酸B改善2型糖尿病大鼠IR作用及其机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2010.
- [48] 翁静. EGF与生殖[J]. 首都医科大学学报, 2001, 22(1): 91-93.
- [49] 马会明, 黑常春, 张永芳, 等. EGF通过PI3K/Akt通路介导小鼠卵巢颗粒细胞增殖[J]. 宁夏医科大学学报, 2014, 36(5): 483-486, 490.
- [50] MOHAMMADI S, KAYEDPOOR P, KARIMZADEH-BARDEI L, et al. The effect of curcumin on TNF- α , IL-6 and CRP expression in a model of polycystic ovary syndrome as an inflammation state [J]. *J Reprod Infertil*, 2017, 18(4): 352-360.
- [51] BAO L, SYED R, ALOAHD M S. Analysis of VEGF gene polymorphisms and serum VEGF protein levels contribution in polycystic ovary syndrome of patients [J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(6): 5821-5829.
- [52] LIU H Y, HUANG Y L, LIU J Q, et al. Transcription

- factor-microRNA synergistic regulatory network revealing the mechanism of polycystic ovary syndrome [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(5):3920-3928.
- [53] MEHDINEJADIANI S, AMIDI F, MEHDIZADEH M, et al. Effects of letrozole and clomiphene citrate on Wnt signaling pathway in endometrium of polycystic ovarian syndrome and healthy women [J]. *Biol Reprod*, 2019, 100(3):641-648.
- [54] KHALILZADEH B, SHADJOU N, KANBEROGLU G S, et al. Advances in nanomaterial based optical biosensing and bioimaging of apoptosis via Caspase-3 activity: a review [J]. *Mikrochim Acta*, 2018, 185(9):434.
- [55] VILLAVICENCIO A, GOYENECHÉ A, TELLERÍA C, et al. Involvement of Akt, Ras and cell cycle regulators in the potential development of endometrial hyperplasia in women with polycystic ovarian syndrome [J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 115(1):102-107.
- [56] 洪艳丽, 吴飞. 补肾化痰方对多囊卵巢综合征胰岛素抵抗Akt通路调控的实验研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2014, 34(2):230-234.
- [57] WANG F, ZHANG Z, WANG Z, et al. Expression and clinical significance of the HIF-1 α /ET-2 signaling pathway during the development and treatment of polycystic ovary syndrome [J]. *J Mol Histol*, 2015, 46(2):173-181.
- [58] TANG Z R, ZHANG R, LIAN Z X, et al. Estrogen-receptor expression and function in female reproductive disease [J]. *Cells*, 2019, 8(10):1123.
- [59] 许爱霞, 郑莉萍, 唐丹凤, 等. MAPK/PKC信号通路在原癌基因c-erbB₂调控原始卵泡启动生长中的作用 [J]. *生理学报*, 2009, 61(5):439-444.
- [责任编辑 顾雪竹]

· 书讯 ·

临床护理结合中西医方法治疗产后尿潴留的观察 ——《解除妇科病困扰》

产后疾病对女性身体的危害很大,会影响女性的身体健康,因此一定要重视起来,做到及时治疗和预防。产后尿潴留是阴道分娩后较为常见的妇产科并发症之一,产后尿潴留是指分娩过程中子宫压迫膀胱及盆腔神经丛,使膀胱肌麻痹而导致的一种病症,一般表现为产后6h小便点滴而下或闭塞不通,小腹胀急疼痛,下腹部膨隆,膀胱充盈而有触痛,属中医“癃闭”范畴。产妇因素体虚弱,气血不足,或产时劳力气伤,使气血运化功能平衡失调,或气机逆乱,或气滞血瘀,或脉络受损等致脾运化失司,肾固摄失司,肾与膀胱蒸腾不利,膀胱气化不利,三焦通调水道失常难以顺利排出尿液。妇产科采用中西医结合的方法治疗尿潴留,能够使患者的临床症状及生命体征获得有效改善。

《解除妇科病困扰》王黎明,孙玉国主编,由北京:金盾出版社2017年5月出版。本书分为十一章,以问答的形式,介绍了妇科经、带、胎、产后、杂证等常见妇科病,不仅叙述了疾病的诊断与病因机制,及妇产科病的中西医治疗方法、饮食调理及预防措施。着重介绍了中西医结合治疗产后尿潴留的护理及对患者不良情绪的影响,包括诱导排尿法,如产妇有尿意但小便排不出时,可用温开水冲洗尿道口解除尿道痉挛,或采用流水声诱导排尿反射。采用热敷法,用热毛巾或热水袋放置膀胱区,刺激膀胱收缩,或者在便盆内放热水,产妇坐在上面,使热气熏蒸会阴部,反射刺激膀胱肌壁,使膀胱逼尿肌收缩。药物疗法,以增强胆碱酯酶活性,兴奋膀胱逼尿肌,促进膀胱平滑肌收缩,促其排尿,如新斯的明, α 受体阻滞剂可通过阻断膀胱颈部的 α 受体使膀胱颈部松弛,通过阻断骨盆神经节中的双受体传导,促使女性膀胱逼尿肌收缩而排尿,如盐酸酚苄明,文献报道,使用开塞露,通过刺激直肠黏膜,使肠蠕动加快,反射性刺激膀胱肌壁,使膀胱逼尿肌收缩而引起排尿。导尿治疗,上述处理仍无效者可采取导尿管。对于急性尿潴留,第1次导尿量不得超过1000mL,以免造成膀胱内血管突然减压可致血管破裂出血,应适当保留尿管,每次放尿量在500mL左右为宜。中医理疗包括中医药治疗、针灸以及低频电刺激,提高膀胱肌肉兴奋性,以恢复膀胱功能。中药内服包括开宣肺气、升清降浊、疏肝理气、温阳益气,临床辨证论治根据患者具体情况开具个性化用药方案,已达到通利小便的目的。中医外治法包括针灸、温针灸、电针、艾灸、耳穴贴压、按摩等,主要机制是调理相关脏腑及经络的功能,达到利水渗湿、化气行水、调理气机、通利水道的目的。配合中医治疗后,患者大多能自主排尿并顺利拔除尿管,大多在拔除尿管后检查残余尿量恢复正常状态。产后尿潴留对女性患者产生不良情绪的影响,妇女在产后会伴随一系列的生理、心理因素及环境的变化,从而诱发产后抑郁症,如能早期识别并积极治疗,预后一般较好。产后患者对面尿潴留的困扰,同时还要面对工作压力,病患又无法向人倾诉,只好委屈自己,日久导致情绪低落,郁郁寡欢,悲伤烦躁等,不少患者出现产后抑郁的问题。产后抑郁症一般在产后6周内就会出现首次发病,产后6个月发病的现象较为多见。产后抑郁症是指产妇分娩后出现的自责、失眠、焦虑、悲伤、哭泣、烦躁等,可以出现幻觉或自杀等一系列症状。首先,产妇不要对诊断结果感到震惊和失望,因为他是可以治疗的;其次,鼓励新妈妈参与对尿潴留症状积极治疗;最后,产后抑郁虽然危急,但是做好预防,疾病的远期治疗效果还是不错的。让所有的孕产妇和家属都重视孕产妇的心理健康,缓解孕产妇心理压力,让孕产妇心理更健康,为母婴健康保驾护航。

《解除妇科病困扰》一书是妇产科疾病的入门书籍,由浅入深,通俗易懂。适合妇产科中、低年资医师及医学生使用。其知识内容十分适合想要深入学习妇科疾病的相关医师、护理人员及广大妇科病患者阅读和学习。

(作者郑红莲,景德镇市中医医院,江西景德镇333000)