

基于网络药理学与分子对接技术研究淫羊藿治疗少弱精症的作用机制

方春燕¹, 叶玉龙², 叶乃菁¹, 申毅锋¹, 俞旭君^{1*}, 常德贵^{1*}

(1. 成都中医药大学附属医院, 代谢性疾病中医药调控四川省重点实验室, 成都 610075;

2. 四川省农业科学院茶叶研究所, 成都 610066)

[摘要] 目的:利用网络药理学、分子对接技术探究淫羊藿治疗少弱精症的有效成分及作用机制。方法:利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)筛选出淫羊藿主要活性成分及对应靶点基因;通过GeneCards、在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)获得少弱精症靶点基因;利用UniProt对所有基因进行校正;利用Cytoscape 3.9.0软件构建药物-活性成分-关键靶点调控网络,根据度值筛选关键活性成分;将活性成分与疾病共同靶点上传至STRING 11.5数据库构建淫羊藿靶蛋白-少弱精症靶蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,根据度值筛选关键蛋白靶点;利用DAVID数据库对关键靶点进行基因本体(GO)功能富集分析及京都基因与基因组百科(KEGG)通路富集分析;利用Protein Data Bank(PDB)数据库及TCMSP数据库获得靶蛋白和活性成分的分子结构,通过AutoDock Vina 1.1.2软件对活性成分及核心蛋白靶点进行分子对接;最后通过淫羊藿活性成分淫羊藿苷干预少弱精症模型大鼠,验证淫羊藿苷对蛋白靶点表达的影响。结果:从淫羊藿中筛选出23个活性成分,淫羊藿与少弱精症的共同关键靶点50个,核心靶点6个,包括肿瘤蛋白p53(TP53)、表皮生长因子受体(EGFR)、前列腺素G/H合酶2(PTGS2)、胱天蛋白酶(Caspase)-3、受体酪氨酸蛋白激酶erbB-2(ERBB2)、Caspase-9。GO功能富集与KEGG信号通路富集分析淫羊藿活性成分主要参与P53信号通路、癌症途径、细胞增殖和凋亡等。分子对接结果提示淫羊藿苷、槲皮素、8-异戊烯醇三个活性成分与靶蛋白结合能力较强。淫羊藿苷干预实验结果表明,与空白组比较,少弱精模型大鼠睾丸中靶蛋白表达显著下调;与少弱精症模型大鼠组比,淫羊藿苷可显著上调靶蛋白在淫羊藿苷组睾丸中靶蛋白的表达($P<0.05$)。结论:淫羊藿主要通过淫羊藿苷、8-(3-甲基丁-2-烯基)-2-苯基色酮、8-异戊烯醇,调节P53信号通路、癌症途径、细胞增殖和凋亡等路径发挥治疗少弱精症的作用。

[关键词] 淫羊藿; 少弱精症; 网络药理学; 分子对接; 实验验证

[中图分类号] R285;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)19-0194-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220712

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220322.1101.010.html>

[网络出版日期] 2022-03-23 11:22

Mechanism of Epimedii Folium in Treatment of Oligoasthenospermia Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

FANG Chunyan¹, YE Yulong², YE Naijing¹, SHEN Yifeng¹, YU Xujun^{1*}, CHANG Degui^{1*}

(1. Traditional Chinese Medicine (TCM) Regulating Metabolic Diseases Key Laboratory of

Sichuan Province, Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China;

2. Tea Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effective components and mechanism of Epimedii Folium in the treatment of oligoasthenospermia by using network pharmacology and molecular docking technique. **Method:**

[收稿日期] 2021-12-13

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(82104830);国家自然科学基金面上项目(81973647)

[第一作者] 方春燕,博士,从事发育生物学研究,E-mail:1039453631@qq.com

[通信作者] *俞旭君,博士,副教授,从事中西医结合泌尿男科及生殖研究,E-mail:20639179@qq.com;

*常德贵,博士,主任医师,从事中西医结合男科与生殖研究,E-mail:624440310@qq.com

The main active components and corresponding target genes of Epimedii Folium were screened out from Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). Target genes of oligospermia were obtained by GeneCards and Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) database. Uniprot was used to correct all genes. The drug-active component-key target regulatory network was constructed by Cytoscape3.9.0, and the key active components were screened out according to the degree value. The active components and common targets of the disease were uploaded to STRING 11.5 database to construct the Epimedii Folium and oligoasthenospermia target protein-protein interaction (PPI) network, and the key protein targets were screened out according to the degree value. The key targets of gene ontology (GO) functional enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed using DAVID database. Protein Data Bank (PDB) and TCMSP were used to obtain the molecular structure of target proteins and active components. AutoDock Vina 1.1.2 was used to perform molecular docking of the active components and the core protein targets. Finally, icariin, the active component of Epimedii Folium, was used to intervene in the rat model of oligoasthenospermia to verify the effect of icariin on the expression level of protein targets. **Result:** Twenty-three active components from Epimedii Folium were screened out, and 50 common targets and 6 core targets of oligoasthenospermia and Epimedii Folium were obtained, including tumor protein p53 (TP53), epidermal growth factor receptor (EGFR), prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2), cysteine aspartate-specific protease (Caspase)-3, erb-b2 receptor tyrosine kinase 2 (ERBB2), and caspase-9. Through GO enrichment and KEGG pathway enrichment analysis, the active components of Epimedii Folium were mainly involved in the P53 signaling pathway, the pathways in cancer, cell proliferation, and apoptosis, etc. Molecular docking results indicated that icariin, quercetin, and 8-isopentenol had strong binding ability to target protein. The results of icariin intervention experiment showed that as compared with the control group, the expression of target proteins in testis of rats with oligoasthenospermia was significantly down-regulated. As compared with the model group, icariin significantly up-regulated the expression of target protein in testis of rats with oligoasthenospermia ($P < 0.05$). **Conclusion:** Epimedii Folium treats oligoasthenospermia through regulating the P53 signaling pathway, the pathways in cancer, cell proliferation, and apoptosis by icariin, quercetin, and 8-isopentenol.

[Keywords] Epimedii Folium; oligoasthenospermia; network pharmacology; molecular docking; experimental verification

男性不育症为临床常见病,其已成为当今困扰全世界医者的难题。在工作压力增加、社会节奏加快、环境污染加重等诸多有害因素的共同作用下,男性生殖功能普遍遭受损害,其中以男性精子质量下降最为明显^[1]。我国男性的精液质量每年以1%的速度下降,少弱精子症已成为男科门诊常见病、多发病,占男性不育病因的50%左右,且其发病机制尚未完全清楚,已成为男科生殖系统疾病的研究热点和难点,严重影响男性生殖健康和人类自然繁衍^[1-2]。目前西医治疗少弱精症,主要是通过调节激素、降低精子氧化及提高精子活动力,多为经验性用药,且这些药物对于特发性男性不育少弱精症临床效果不佳^[3]。

中医药以其多成分、多靶点、多途径的独特优势,在少弱精症的治疗上发挥优势。淫羊藿始载于

《神农本草经》,主要功效为补肾壮阳,祛风除湿^[4]。成都中医药大学附属医院男科常德贵教授团队自1995年开始对弱精症进行研究,初期根据文献检索和专家临床经验总结出增精1号、增精2号、增精3号处方,经过多年临床筛选最终确定增精1号处方,从散剂到口服液最终形成片剂,申报成院内制剂强精片,由人参、当归、枸杞子、淫羊藿等7味中药组成。临床研究表明,应用强精片治疗少弱精症患者,每日3次,每次5片,1月为1疗程,共观察3个疗程。结果显示,强精片可通过增加少精子症患者精子密度、提高精子活力及正常形态精子率,以改善少精子症患者的生精功能^[5-6]。强精片还可显著改善弱畸精子症患者DNA碎片率、核蛋白不成熟度及卵泡浆内单精子显微注射受精率^[7-8]。报道采用淫羊藿颗粒治疗精液异常不育症患者,对照组采用五

子衍宗丸进行治疗,治疗后两组患者精液量比较差异无统计学意义,淫羊藿颗粒治疗组患者的精子密度和活动率优于对照组,淫羊藿颗粒治疗组总有效率明显高于对照组,表明淫羊藿用于治疗精液异常男性不育症的疗效显著,值得进一步广泛应用^[9]。采用自拟生精种子汤加减,方中以淫羊藿填精益髓,临床取得满意疗效^[10]。自拟含淫羊藿复方生精汤治疗少弱精子症60例,以左卡尼汀为对照组,结果显示治疗组精子各项指标明显提升^[11]。以上研究表明,淫羊藿对男性生殖系统疾病有较好治疗效果,但其药效物质基础和分子机制尚不明确^[12]。

网络药理学以药理学和药效学为角度,整合组学、药理学、系统生物学等,高通量筛选获得药物-基因-靶点-疾病的协同效应和潜在机制,探讨中医药多成分、多靶点、多途径的药理机制,了解特定疗效的潜在作用机制^[13-14]。本研究基于网络药理学、分子对接技术及实验验证多角度解析淫羊藿治疗少弱精症的作用靶点及作用机制,以期对淫羊藿治疗少弱精症的作用机制提供思路和理论基础。

1 材料

1.1 淫羊藿化学成分及相关靶点筛选 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <http://tcmssp.com/tcmssp.php>),以口服利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18作为筛选条件,检索淫羊藿的化学成分及其对应靶点,借助 UniProt 数据库(<http://www.uniprot.org/>)将所得靶点转化成对应基因名。

1.2 少弱精症相关靶点获取 以“oligoasthenospermia”少弱精症为关键词,挖掘基因名片数据库(GeneCards, <https://www.genecards.org>)、在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM, <http://www.omim.org>)中少弱精症的潜在靶点。将所有筛选结果合并去重后得到少弱精症的相关基因。使用 Venny 2.1.0 将淫羊藿靶基因与少弱精症靶基因取交集得到淫羊藿治疗少弱精的靶基因,用于后续研究。

2 方法

2.1 药物-活性成分-基因靶点-疾病网络的构建 将上述获得的淫羊藿治疗少弱精症的活性成分及相关靶点通过 Cytoscape 3.9.0 软件构建淫羊藿-活性成分-靶点-疾病网络图,初步研究淫羊藿治疗少弱精症的药理作用和机制。

2.2 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建 为了研究靶点蛋白的相互作用,确定淫羊藿作用靶点

群,将药物靶点基因上传至在线 STRING 11.5 (<https://string-db.org>),构建由导入基因表达产物组成的 PPI 网络互作图。

2.3 淫羊藿-少弱精症靶点功能与通路的富集分析

将淫羊藿治疗少弱精症的靶点录入 DAVID 数据库,研究淫羊藿靶点基因本体(GO)生物过程富集分析;再进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)代谢通路富集分析,诠释淫羊藿靶点抗少弱精症的生物过程, Metascape 中列表与背景选择“Homo Sapiens”操作。利用微生物平台(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)对数据进行可视化。

2.4 分子对接

基于 2.1 项的分析结果选取 6 个淫羊藿核心化合物,导入 TCMSP 数据库中筛选得化合物分子结构,以 MOL2 格式导出并保存。根据 PPI 网络筛选得到 6 个核心靶蛋白,通过蛋白结构数据库(PDB)获得蛋白 3D 结构,以 PDB 格式导出并保存。采用 AutoDock Vina 1.1.2 软件进行分子对接工作,在对接开始之前,使用 PyMOL 2.5 对所有受体蛋白进行处理,包括去除水分子,盐离子及小分子。并使用 PyMOL 插件 center_of_mass.py 定义对接盒子的中心,并使对接盒子包裹蛋白活性位点。此外,使用 ADFRsuite 1.0 将所有处理好后的小分子及受体蛋白转换为 AutoDock Vina 1.1.2 对接必须的 PDBQT 格式。对接时,全局搜索的详尽度设为 20,其余参数保持默认设置。输出的打分最高的对接构象被认为是结合构象,最后使用 PyMOL 2.5 对接结果进行可视化分析。

2.5 实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测 SD 大鼠睾丸组织中核心靶蛋白 mRNA

2.5.1 实验动物 SPF 级健康雄性 SD 大鼠,体质量 180~220 g,30 只,4~7 周龄,由成都达硕实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(川)2015-030。实验前动物适应性饲养 1 周。动物实验按照成都中医药大学实验动物学部福利和伦理原则操作。

2.5.2 仪器与试剂 qTOWER3G 型 Real-time PCR (德国耶拿公司),SSA-II 型精子质量分析仪(北京穗加);淫羊藿苷(四川科斯腾生物科技有限公司,批号 CONST210202,纯度≥98%);环磷酰胺(江苏恒瑞医药有限公司,批号 20092225);大鼠肿瘤蛋白 P53 (TP53)、表皮生长因子受体(EGFR)、前列腺素 G/H 合酶 2 (PTGS2)、胱天蛋白酶(Caspase)-3、受体酪氨酸蛋白激酶 erbB-2 (ERBB2)、Caspase-9 引物,由华大基因公司设计并合成。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参进行荧光定量实验,利用 PCR 扩

扩增仪进行扩增反应, 95 °C 预变性 4 min; 95 °C 变性 15 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 扩增 30 s, 40 个循环。每

一个实验样品进行 3 个生物学重复, 实验数据以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行计算, 引物序列详见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primers sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
TP53	上游 CTTCTCAAAAGTCTAGAGCCAC	389
	下游 GCCGGTGTAGGAGCTGCTG	
EGFR	上游 AACTCATGCCCTATGGTTGC	102
	下游 GTTCATGCCCTTTGCAATCT	
PTGS2	上游 TGCCTGGTCTGATGATGATG	280
	下游 GGGGTGCCAGTGATAGAGTG	
Caspase-3	上游 TGGGACTGATGAGGAGA	125
	下游 ACTGGATGAACCACGAC	
ERBB2	上游 GCGGTTACCCACCAGAGTG	395
	下游 CCCTGCTGGGGTACCAGATA	
Caspase-9	上游 GCTTCTCTGCCACTGTACTACTGA	339
	下游 GGAAGAATTAGCCCTTCTGGTAAC	
GAPDH	上游 CACCCACTCCTCCACCTTTGA	186
	下游 TCTCTCTTCTCTTGTGCTCTTGC	

2.5.3 动物分组与给药 将 30 只 SD 雄性大鼠按随机数字表分为 3 组, 每组 10 只, 即空白组、模型组、淫羊藿苷组。模型组及淫羊藿苷组进行腹腔注射环磷酰胺 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 连续注射 7 d, 空白组注射等量生理盐水。造模成功标准参考文献[15], 造模前后, 使用电刺激法收集小鼠精液标本, 若是造模后小数的精液密度及活力较造模前明显下降且数据具有统计学意义 ($P < 0.05$), 即为造模成功。参考文献[16]淫羊藿苷组环磷酰胺处理后给予淫羊藿苷 ($3.6 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) 灌胃, 该剂量可有效改善雄性生殖系统, 连续 30 d, 每天 1 次。

2.5.4 精子常规检测 利用数码彩色精子质量检测系统对大鼠精子密度、精子活力、精子活率等指标进行测定。采用 GraphPad Prism 7.00 软件进行统计学显著性分析。

2.5.5 Real-time PCR 检测 mRNA 表达情况 取睾丸组织保存于 RNAsafer 中, 使用匀浆机破碎组织。使用总 RNA 提取 E.Z.N.A. Total RNA Kit I (美国 OMEGA 公司, 货号 R6834-01 50 preps) 提取组织中总 RNA, 使用 RT reagent Kit (日本 Takara 公司, 货号 RR037A) 将 RNA 逆转录为模板 cDNA, 使用 SYBR green master mix 试剂盒 [翌圣生物科技(上海)股份有限公司, 货号 11201ES03] 进行 Real-time PCR 反应。以 GAPDH 为内参基因, 实验数据以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进

行计算。

3 结果

3.1 淫羊藿活性成分及靶点的获取 利用 TCMSP 数据库检索淫羊藿, 共得到 130 个化合物, 设置 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 为筛选条件, 获得 23 个活性化学成分, 包括 22, 23-二氢菜子甾醇、三溴乙酸乙酯、食脂素、金圣草黄素、木犀草素、谷甾醇、 β -谷甾醇、24-表氨基酯、8-异戊烯醇、C-高海桐素, 1, 6-二脱氢-3, 15, 16-三甲氧基-, (3β)、淫羊藿苷、脱水甘油 3-O- α -L-鼠李糖苷、山柰酚、乙酸亚油醇脂、脱水淫羊藿素、淫羊藿 C、淫羊藿 A、淫羊藿 E、槲皮素、8-(3-甲基丁-2-烯基)-2-苯基色酮、1, 2-双(4-羟基-3-甲氧基苯基)丙烷-1, 3-二醇、6-羟基-11, 12-二甲氧基-2, 2-二甲基-1, 8-二氧代-2, 3, 4, 8-四氢-1H-异色素 no[3, 4-h] 异喹啉-2-酮、橄榄树脂素、淫羊藿苷 A7。利用 TCMSP 数据库得到 23 个活性成分所对应的潜在靶点蛋白, 并在 Uniprot 数据库中对靶点蛋白进行校正和去重后, 共筛选出 218 个靶点, 见表 2。

3.2 少弱精症的作用靶点及淫羊藿活性成分关键靶点筛选 利用 GeneCards 数据库、OMIM 数据库检索少弱精症靶蛋白, 整合去重后得到少弱精症相关靶蛋白 770 个。将 23 个淫羊藿活性成分对应的潜在靶蛋白与少弱精症相关蛋白匹配后取交集, 得到 50 个重复靶点对应 21 个淫羊藿活性成分, 表明

表2 淫羊藿有效化学成分

Table 2 Effective ingredients of Epimedii Herb

编号	化合物名称	OB/%	DL
YYH1	22,23-二氢菜子甾醇 24-epicampesterol	37.58	0.71
YYH2	三溴乙酸乙酯 linoleyl acetate	42.10	0.20
YYH3	β -谷甾醇 poriferast-5-en-3beta-ol	36.91	0.75
YYH4	食脂素 DFV	32.76	0.18
YYH5	金圣草黄素 chryseriol	35.85	0.27
YYH6	8-异戊烯醇 8-isopentenyl-kaempferol	38.04	0.39
YYH7	谷甾醇 sitosterol	36.91	0.75
YYH8	山柰酚 kaempferol	41.88	0.24
YYH9	olivil	62.23	0.41
YYH10	脱水淫羊藿素 anhydroicaritin	45.41	0.44
YYH11	C-高海桐素, 1,6-二脱氢-3,15,16-三甲氧基-, (3 β)C-homoerythrinan, 1,6-didehydro-3,15,16-trimethoxy-, (3.beta.)-	39.14	0.49
YYH12	淫羊藿 AYinyanghuo A	56.96	0.77
YYH13	淫羊藿 C yinyanghuo C	45.67	0.50
YYH14	淫羊藿 E yinyanghuo E	51.63	0.55
YYH15	6-羟基-11,12-二甲氧基-2,2-二甲基-1,8-二氧化-2,3,4,8-四氢-1H-异色素 no[3,4-h]异喹啉-2-鎓 6-hydroxy-11,12-dimethoxy-2,2-dimethyl-1,8-dioxo-2,3,4,8-tetrahydro-1H-isochromeno[3,4-h]isoquinolin-2-ium	60.64	0.66
YYH16	8-(3-甲基丁-2-烯基)-2-苯基色酮 8-(3-methylbut-2-enyl)-2-phenyl-chromone	48.54	0.25
YYH17	脱水甘油 3-O- α -L-鼠李糖苷 anhydroicaritin-3-O- α -L-rhamnoside	41.58	0.61
YYH18	1,2-双(4-羟基-3-甲氧基苯基)丙烷-1,3-二醇 1,2-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propan-1,3-diol	52.31	0.22
YYH19	淫羊藿苷 icariin	41.58	0.61
YYH20	淫羊藿苷 A7 icariside A7	31.91	0.86
YYH21	木犀草素 luteolin	36.16	0.25
YYH22	橄榄树脂素 magnograndiolide	63.71	0.19
YYH23	槲皮素 quercetin	46.43	0.28

这些靶点与淫羊藿治疗少弱精症密切相关,见增强出版附加材料。

3.3 淫羊藿活性成分-基因靶点-少弱精症网络构建 利用 Cytoscape 3.9.0 软件,构建淫羊藿活性成分-少弱精症靶点网络图。结果显示,淫羊藿通过 21 个活性成分作用于 50 个淫羊藿-少弱精症共同靶点,这 50 个蛋白靶点可能与淫羊藿治疗少弱精症相关,该网络由 442 个节点和 221 个条边构成,表明淫羊藿治疗少弱精症多成分、多靶点的特征。图中浅蓝色长方形代表少弱精症,浅红色倒三角代表淫羊藿,绿色椭圆代表淫羊藿活性成分,橘色椭圆代表淫羊藿-少弱精症共同靶点,见增强出版附加材料。

3.4 PPI 网络构建 将 50 个与淫羊藿治疗少弱精症关键靶点导入 STRING 数据库中,隐藏 1 个无相互作用的节点,得到 PPI 网络。将 PPI 网络图导入 Cytoscape 3.9.0 软件中,结果显示 49 个蛋白发生相互作用,产生 864 个节点,432 个蛋白之间相互作用

的边。根据 Degree 值筛选出排名前 30 的核心靶蛋白, Y 轴为基因名, X 轴为相应基因邻接节点数目。在 NCBI 上查阅这 30 个基因的空间表达模式,选取在睾丸中高量表达的 6 个核心靶蛋白进行功能注释,分别为细胞肿瘤抗原 P53(TP53)、表皮生长因子受体(EGFR)、前列腺素 G/H 合酶 2 (PTGS2)、Caspase-3、受体酪氨酸蛋白激酶 erbB-2(ERBB2)、Caspase-9。蛋白质分子之间的相关性结果表明,这 6 个蛋白质可能是淫羊藿改善少弱精症精子质量的关键靶点。见增强出版附加材料。

3.5 GO 功能富集分析 利用 DAVID 数据库对淫羊藿治疗少弱精症的 50 个核心蛋白靶点进行在线 GO 富集分析,设定筛选标准 $P < 0.01$ 。结果显示,50 个核心蛋白富集到 298 个生物过程(BP),59 个分子功能(MF),25 个细胞组成(CC),据此绘制 GO term BP、CC、MF 三合一二级分类柱状图, Y 轴为富集基因数目, X 轴表示富集通路,每个通路按照基因

数目由多到少排序。按照 P 值升序排列, 筛选前 20 个 GO 注释, 见表 3 和增强出版附加材料。结果显示, 16 个与生物过程相关, 1 个与细胞组成, 3 个与分子功能相关。富集的 GO 功能主要包括酶结合、

一氧化氮生物合成正调控、同蛋白结合、有毒物质反应、细胞增殖负调控、药物反应、抗生素反应、凋亡、凋亡负调控等。结果表明淫羊藿通过多种机制治疗少弱精症。

表 3 淫羊藿治疗少弱精症潜在靶点 GO 条目

Table 3 GO functional enrichment analysis of common targets

分类	生物过程	基因数/个	%	P
分子功能	酶结合 enzyme binding	16	32.7	1.20×10^{-14}
生物学过程	一氧化氮生物合成正调控 positive regulation of nitric oxide biosynthetic process	8	16.3	2.90×10^{-11}
分子功能	同蛋白结合 identical protein binding	16	32.7	1.20×10^{-9}
生物学过程	有毒物质反应 response to toxic substance	8	16.3	4.10×10^{-9}
生物学过程	细胞增殖负调控 negative regulation of cell proliferation	12	24.5	1.10×10^{-8}
生物学过程	药物反应 response to drug	11	22.4	1.20×10^{-8}
生物学过程	抗生素反应 response to antibiotic	6	12.2	2.90×10^{-8}
生物学过程	凋亡 apoptotic process	13	26.5	4.50×10^{-8}
生物学过程	凋亡负调控 negative regulation of apoptotic process	12	24.5	4.70×10^{-8}
生物学过程	xenobiotic metabolic process	7	14.3	8.70×10^{-8}
分子功能	heme binding	8	16.3	1.10×10^{-7}
生物学过程	positive regulation of transcription, DNA-templated	12	24.5	1.60×10^{-7}
生物学过程	intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage	6	12.2	2.20×10^{-7}
生物学过程	response to estradiol	7	14.3	2.20×10^{-7}
生物学过程	positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	15	30.6	3.70×10^{-7}
生物学过程	cellular response to organic cyclic compound	6	12.2	6.90×10^{-7}
生物学过程	positive regulation of gene expression	9	18.4	6.90×10^{-7}
生物学过程	cellular response to lipopolysaccharide	7	14.3	7.90×10^{-7}
生物学过程	response to glucocorticoid	6	12.2	1.10×10^{-6}
细胞组成	extracellular space	16	32.7	1.10×10^{-6}

3.6 KEGG 信号通路富集分析 为了揭示淫羊藿治疗少弱精症的相关通路, 对 50 个靶点通过 DAVID 数据库进行 KEGG 分析, 得到与淫羊藿改善少弱精症精子质量的 83 条相关通路。根据基因富集数筛选前 20 条途径绘制气泡图, 包括癌症的途径、microRNA 与癌症、HIF-1 信号通路、癌症中的蛋白多糖、前列腺癌、PI3K/Akt 信号通路、P53 信号通路、肿瘤坏死因子信号通路、膀胱癌、大肠癌、凋亡等。见增强出版附加材料。

3.7 淫羊藿活性成分与少弱精症相关核心蛋白的分子对接 利用分子对接技术对网络药理学结果进一步分析。根据淫羊藿活性成分-基因靶点-少弱精症网络筛选得到 6 个活性成分, 分别为槲皮素、淫羊藿苷、山柰酚、8-(3-甲基丁-2-烯基)-2-苯基色酮、脱水淫羊藿素、8-异戊烯醇。根据 PPI 结果, 选取度值排名前 10 的蛋白, 再跟进各个蛋白在精巢中的表

达情况, 选取 6 个蛋白, 分别为 TP53、EGFR、PTGS2、Caspases-3、ERBB2、Caspases-9, 作为对接靶蛋白, 见表 4。结果显示, 活性成分与靶点蛋白的结合能介于 $-6.2 \sim -9.2 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ($1 \text{ cal} \approx 4.186 \text{ J}$), 结合能越低, 表明活性成分与少弱精症核心蛋白靶点之间亲和力越高见增强出版附加材料。对结果进一步分析发现, 淫羊藿苷、8-(3-甲基丁-2-烯基)-2-苯基色酮、8-异戊烯醇 3 个活性成分与核心蛋白结合能力较强。

3.8 淫羊藿苷对环磷酸胺诱导的少弱精症模型大鼠睾丸中 TP53、EGFR、PTGS2、Caspase-3、ERBB2、Caspase-9 mRNA 表达量的影响 根据上述结果, 选取结合能力较优良的化合物单体淫羊藿苷, 通过对各组大鼠精子质量比较, 检测淫羊藿苷对大鼠精子质量的影响。结果显示, 少弱精症模型组和淫羊藿苷组的精子密度、精子活率及精子活力均明显低

表4 淫羊藿主要活性成分与核心靶点的分子对接评分

成分	TP53	PTGS2	ERBB2	EGFR	Caspases-9	Caspases-3
8-(3-甲基丁-2-烯基)-2-苯基色酮	-7.6	-9.2	-7.0	-7.1	-7.4	-7.7
8-异戊烯醇	-10.6	-9.5	-6.9	-7.4	-6.6	-7.6
脱水淫羊藿素	-8.5	-8.0	-7.0	-7.5	-6.6	-7.3
淫羊藿苷	-8.6	-8.7	-7.3	-8.5	-7.9	-9.2
槲皮素	-7.7	-8.7	-6.6	-7.1	-6.2	-7.5
山柰酚	-7.8	-9.0	-6.6	-8.0	-6.4	-7.5

于空白组($P<0.05$);淫羊藿苷组大鼠精子密度、精子活率和活力均明显高于模型组($P<0.05$),见表5。

由结果可知,淫羊藿苷可改善少弱精症模型大鼠的精子质量。

表5 各组大鼠精液质量比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg	密度($\times 10^6$ 个/mL)	精子活率/%	精子活力/%
空白组		42 \pm 4.35	60.55 \pm 5.12	41.22 \pm 5.34
模型组	0.050	215 \pm 3.76 ^{1,2)}	25.63 \pm 4.31 ¹⁾	15.04 \pm 4.27 ¹⁾
淫羊藿苷组	36	20 \pm 6.78 ^{1,2)}	29.32 \pm 6.61 ^{1,2)}	20.40 \pm 3.98 ^{1,2)}

注:与对照组比较¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$

与空白组比较,模型组大鼠睾丸组织内,6个核心靶基因TP53、EGFR、PTGS2、Caspases-3、ERBB2、Caspases-9的mRNA表达量均显著上调($P<0.01$);与模型组相比,淫羊藿苷组大鼠睾丸组织中TP53、

EGFR、PTGS2、Caspase-3、ERBB2、Caspase-9的mRNA表达量均显著下调($P<0.01$),见表6。以上结果表明,淫羊藿苷可通过调控上述6个核心基因表达改善少弱精症大鼠精子质量。

表6 淫羊藿苷对核心靶点基因表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TP53	Caspase-9	Caspase-3	ERBB2	EGFR	PTGS2
空白组		0.617 \pm 0.020	0.599 \pm 0.013	0.606 \pm 0.008	0.568 \pm 0.004	0.292 \pm 0.021	0.040 \pm 0.016
模型组	0.050	1.052 \pm 0.225 ¹⁾	1.280 \pm 0.088 ¹⁾	1.156 \pm 0.028 ¹⁾	0.958 \pm 0.054 ¹⁾	0.593 \pm 0.023 ¹⁾	0.126 \pm 0.005 ¹⁾
淫羊藿苷干预组	36	0.808 \pm 0.016 ²⁾	0.946 \pm 0.046 ^{1,2)}	0.953 \pm 0.049 ^{1,2)}	0.765 \pm 0.021 ^{1,2)}	0.464 \pm 0.047 ²⁾	0.080 \pm 0.003 ^{1,2)}

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.01$

4 讨论

男性不育为男科常见疾病之一,近20年由于自然和社会环境变化,和诸多不良因素的影响,男性不育患者发病率呈上升趋势。临床上导致男性不育常见病因主要是少弱精症,表现为精子密度和精子活力低,少弱精症占男性不育患者的70%^[17]。目前,绝大部分男性不育症患者的发病机制及病因尚不完全明确,通过西医治疗特发性男性不育的效果欠佳。近年研究表明淫羊藿中药复方在治疗少弱精症及其他男科疾病中起到了积极作用。但对于淫羊藿治疗少弱精症的机制尚不明确。

本研究通过网络药理学对淫羊藿治疗男性少

弱精症的机制进行研究,构建淫羊藿活性成分-关键蛋白靶点网络图,发现槲皮素、淫羊藿苷、山柰酚、8-(3-甲基丁-2-烯基)-2-苯基色酮、脱水淫羊藿素、8-异戊烯醇这6种活性物质的节点度值较高,推测这些活性物质在治疗少弱精症发挥了重要的作用。通过对50个关键蛋白基序GO功能富集和KEGG通路分析,推测淫羊藿活性成分的靶点可能是通过调控P53信号通路、癌症途径、细胞增殖和凋亡等,达到改善少弱精症精子质量的作用。

通过PPI网络分析的到的6个靶点TP53、EGFR、PTGS2、Caspase-3、ERBB2、Caspase-9,其中TP53是P53信号通路的关键成分^[18]。TP53是一个

肿瘤抑制基因,被称为“基因组守护者”,为一段能编码393个氨基酸残基的转录因子,与基因组DNA特异性结合从而调控靶基因表达,通过多种生物学过程调控细胞凋亡^[19-22]。细胞凋亡是一个细胞程序性死亡的过程,是精子正常发生所必需的。在精子发生过程中,细胞凋亡维持着生殖细胞的恒定数量,有助于实现最佳的生精细胞-支持细胞比例,并消除携带受损DNA的缺失生精细胞。因此,细胞凋亡在正常精子产量中起着重要作用。然而,生殖细胞过度凋亡往往导致男性不育^[23]。人类精液研究表明,肥胖型男性精子质量下降的部分原因是Sirt1表达下调和P53乙酰化^[24-27]。YAN等^[28]研究表明垂体腺苷酸环化酶激活肽可通过激活蛋白激酶A(PKA)/环磷腺苷效应元件结合蛋白(CREB)/沉默信息调节因子1(Sirt1)/P53信号通路减少生精细胞的凋亡,从而防止肥胖诱导的男性生殖损伤。LI等^[29]利用比较蛋白质组学和转录组学联合分析方法表明,重离子辐射诱导的DNA损伤可通过P53信号通路介导精原细胞凋亡,导致男性不育。

EGFR是上皮生长因子细胞增殖和信号转导的受体,与肿瘤细胞增殖、血管发生、及细胞凋亡的抑制相关。已有研究表明EGFR在人附睾中表达,通过免疫细胞化学实验显示,EGFR被定位于基底细胞、主细胞及相邻的主细胞之间。在无精子症患者中,EGFR在附睾中的表达降低^[30]。生精小管壁中的饰胶蛋白聚糖具有干扰生长因子信号的能力,在精子发生受损的男性中,饰胶蛋白聚糖在短时间内可显著增加磷酸化EGFR的表达,进而诱导强烈的有丝分裂反应,表明饰胶蛋白聚糖干扰睾丸管周细胞的GFRs信号,导致人睾丸旁分泌信号通路失衡^[31]。端粒缩短被认为是细胞衰老的标志,受多种信号通路调控。通过生物信息学分析显示,补充抗氧化剂可以激活精子中与端粒功能相关的分子表达,如激酶EGFR、MAPK3,转录因子CCNE1、H2AX、MYC、RB1和TP53,表明抗氧化剂对精子端粒维持相关的转录因子和激酶在男性因素不育的治疗过程中具有有益的作用^[32]。

Caspase以非活性酶原形式表达,并参与响应促凋亡信号而触发的级联反应。迄今为止,已有14种半胱天冬酶参与人类凋亡途径级联反应。其中,Caspase-3被认为是一种主要的执行蛋白酶。Caspase级联的适当调节在精子分化和睾丸成熟中起着重要作用。Caspase参与了多种男性疾病的发病机制,如精子发生障碍、精子活力降低和精子

DNA断裂水平升高、睾丸扭转、精索静脉曲张和免疫性不孕^[33-37]。

本研究结果表明,较空白组,少弱精症模型大鼠睾丸组织中,靶蛋白的表达均显著上调;淫羊藿苷干预少弱精症模型大鼠后,与空白组比较,潜在靶点的表达均显著下调,提示淫羊藿苷可下调少弱精症模型大鼠中靶蛋白的表达。淫羊藿苷是淫羊藿的主要活性成分之一,属于黄酮醇苷类化合物。研究表明淫羊藿苷在调节细胞凋亡、炎症反应及氧化应激等方面具有重要的作用,同时其在生殖系统疾病的治疗过程中也具有重要的药理作用。淫羊藿苷可以促进视黄酸诱导的P19细胞增殖和向生精细胞方向分化进程^[36],对酒精损伤小鼠睾丸生精细胞具有保护作用^[39]。淫羊藿苷对环磷酰胺诱导产生的生精障碍大鼠睾丸生精小管结构有明显改善作用,减少生精细胞凋亡,促进精子发生,且血清中睾酮水平显著提高,推测其可能是通过抑制TP53基因的表达,抑制活性氧产生,进而抑制Caspase-3激酶的活化,达到抑制细胞凋亡的作用^[40]。由此说明,淫羊藿苷治疗少弱精症的机制可能是通过淫羊藿有效化学成分通过调控与细胞凋亡相关蛋白及信号通路的表达,抑制生精细胞凋亡,达到改善少弱精症精子质量的作用。

综上所述,本研究对传统补益类中药淫羊藿进行了多方面、多角度的研究,初步阐释了淫羊藿对抗少弱精作用的机制。通过淫羊藿活性成分-基因靶点-少弱精症网络预测淫羊藿治疗少弱精症的药效物质基础可能是槲皮素、淫羊藿苷、山柰酚、8-(3-甲基丁-2-烯基)-2-苯基色酮、脱水淫羊藿素、8-异戊烯醇,通过关键靶点TP53、EGFR、PTGS2、Caspase-3、ERBB2、Caspase-9在P53信号通路、癌症途径、细胞增殖和凋亡上发挥重要作用,表明淫羊藿是通过多成分、多靶点、多通路发挥治疗少弱精症的作用,可为后期的作用机制研究及临床应用提供一定的参考依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] MEINHARDT A, DEJUCQ-RAINSFORD N, BHUSHAN S. Testicular macrophages: Development and function in health and disease [J]. Trends Immunol, 2022, 43(1):51-62.
- [2] AGARWAL A, BASKARAN S, PAREKH N, et al. Male infertility [J]. Lancet, 2021, 397(10271): 319-333.

- [3] BRACKE A, PEETERS K, PUNJABI U, et al. A search for molecular mechanisms underlying male idiopathic infertility[J]. *Reprod Biomed Online*, 2018, 36(3):327-339.
- [4] 王丹,贾德贤,李真真,等. 淫羊藿的安全性评价与风险控制措施探讨[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(8): 1715-1723.
- [5] 常德贵,张培海,胡志萍,等. 增精1号胶囊对少精子症患者精子动态及形态的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2009, 29(11):1029-1030.
- [6] 吴坤. 基于TGF- β_1 /Smads通路探讨强精片对肾虚血瘀型弱精症患者精子活力的调控机制[D]. 成都:成都中医药大学, 2018.
- [7] 张培海,李俊君,阳方,等. 强精片对弱畸精子症患者精子DNA完整性及ICSI结局的影响[J]. *中国男科学杂志*, 2018, 32(5):51-54.
- [8] 李俊君,董良,谭琨,等. 补肾活血法改善精子DNA完整性损伤临床研究[J]. *亚太传统医药*, 2021, 17(8):79-83.
- [9] LI J, ZHAO P, YANG L, et al. System biology analysis of long-term effect and mechanism of Bufei Yishen on COPD revealed by system pharmacology and 3-omics profiling[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:25492.
- [10] 何晨,贺敬霞,田茜,等. 淫羊藿中活性成分淫羊藿苷提取工艺研究现状[J]. *亚太传统医药*, 2016, 12(2): 55-57.
- [11] 路宇仁,陈映冰,崔元璐,等. 淫羊藿苷药理作用研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(17): 209-220.
- [12] 杨席伟,王佳,杨毅坚. 淫羊藿主要活性成分在泌尿生殖系统应用研究进展[J]. *云南中医中药杂志*, 2020, 41(3):92-96.
- [13] 李倩,吴雍真,柴艺汇,等. 基于网络药理学研究淫羊藿改善心肌重塑的有效成分和作用机制[J]. *辽宁中医杂志*, 2021, 48(7):187-191,后插9.
- [14] 王子怡,王鑫,张岱岩,等. 中医药网络药理学:《指南》引领下的新时代发展[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(1):7-17.
- [15] 纪智勇,姚晨成,赵晶鹏,等. 左卡尼汀对睾丸生精功能损伤模型小鼠保护作用的研究[J]. *上海医学*, 2021, 44(5):316-320.
- [16] 覃光辉,王骁,姚重华,等. 淫羊藿苷对雷公藤多苷模型小鼠睾丸病理损伤的影响[J]. *中医药导报*, 2009, 15(7):8-10.
- [17] 朱彤,吴媛媛,陈素华,等. 无精子症及少弱精子症2436例患者的细胞遗传学病因分析[J]. *现代妇产科进展*, 2017, 26(6): 422-425.
- [18] HERNÁNDEZ BORRERO L J, EL-DEIRY W S. Tumor suppressor p53: Biology, signaling pathways, and therapeutic targeting [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1876(1):188556.
- [19] HAUPT Y, MAYA R, KAZAZ A, et al. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53 [J]. *Nature*, 1997, 387(6630):296-299.
- [20] KHOURY M P, BOURDON J C. The isoforms of the p53 protein[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2(3):a000927.
- [21] MAXIMILIAN V, SANYAL S. p53 isoforms and their implications in cancer[J]. *Cancers*, 2018, 10(9): 288.
- [22] TANG Q, SU Z, GU W, et al. Mutant p53 on the path to metastasis[J]. *Trends Cancer*, 2020, 6(1):62-73.
- [23] ZHU X, CHEN S, JIANG Y, et al. Analysis of miRNA expression profiles in melatonin-exposed GC-1 spg cell line[J]. *Gene*, 2018, 642:513-521.
- [24] BACHIR B G, JARVI K. Infectious, inflammatory, and immunologic conditions resulting in male infertility [J]. *Urol Clin North Am*, 2014, 41(1):67-81.
- [25] COHEN H Y, MILLER C, BITTERMAN K J, et al. Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase[J]. *Science*, 2004, 305(5682):390-392.
- [26] HASEGAWA K, YOSHIKAWA K. Necdin regulates p53 acetylation via Sirtuin1 to modulate DNA damage response in cortical neurons[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(35):8772-8784.
- [27] JANG J, HUH Y J, CHO H J, et al. SIRT1 Enhances the survival of human embryonic stem cells by promoting DNA repair[J]. *Stem Cell Reports*, 2017, 9(2):629-641.
- [28] YAN Q, HUANG H, LU S, et al. PACAP ameliorates fertility in obese male mice via PKA/CREB pathway-dependent Sirt1 activation and p53 deacetylation[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(10):7465-7483.
- [29] LI H, ZHANG H, HUANG G, et al. Heavy ion radiation-induced DNA damage mediates apoptosis via the Rpl27a-Rpl5-MDM2-p53/E2F1 signaling pathway in mouse spermatogonia[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, 201:110831.
- [30] DUBÉ E, DUFRESNE J, CHAN P T, et al. Epidermal growth factor regulates connexin 43 in the human epididymis: Role of gap junctions in azoospermia[J]. *Hum Reprod*, 2012, 27(8):2285-2296.
- [31] ADAM M, SCHWARZER J U, KÖHN F M, et al. Mast cell tryptase stimulates production of decorin by human testicular peritubular cells: Possible role of decorin in male infertility by interfering with growth factor signaling[J]. *Hum Reprod*, 2011, 26(10):2613-2625.
- [32] PANNER SELVAM M K, BASKARAN S, SIKKA S C. Telomere signaling and maintenance pathways in

- spermatozoa of infertile men treated with antioxidants: An in silico approach using bioinformatic analysis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 768510.
- [33] SAID T M, PAASCH U, GLANDER H J, et al. Role of caspases in male infertility[J]. *Hum Reprod Update*, 2004, 10(1): 39-51.
- [34] HE L, GONG H, YOU S, et al. miRNA-138-5p suppresses cigarette smoke-induced apoptosis in testicular cells by targeting Caspase-3 through the Bcl-2 signaling pathway[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2021, 35(7): e22783.
- [35] ZHAO W, LIU J, WANG D, et al. Effect of silencing HIF-1 α gene on testicle spermatogenesis function in varicocele rats[J]. *Cell Tissue Res*, 2019, 378(3): 543-554.
- [36] ZENG Q, YI H, HUANG L, et al. Long-term arsenite exposure induces testicular toxicity by redox imbalance, G₂/M cell arrest and apoptosis in mice[J]. *Toxicology*, 2019, 411: 122-132.
- [37] JIANG Q, WANG F, SHI L, et al. C-X-C motif chemokine ligand 10 produced by mouse Sertoli cells in response to mumps virus infection induces male germ cell apoptosis[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3146.
- [38] 牛长敏, 夏蒙蒙, 钟亚楠, 等. 巴戟天多糖和淫羊藿苷促进视磺酸诱导的P19细胞增殖和分化[J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(12): 2881-2886.
- [39] 刘忠平, 李质馨, 潘晓燕, 等. 淫羊藿苷对酒精损伤小鼠睾丸生精细胞凋亡的影响[J]. *中国妇幼保健*, 2014, 29(15): 2438-2440.
- [40] 高学勇, 林珊, 韩咪莎. 淫羊藿苷对环磷酰胺诱导生精障碍大鼠下丘脑-垂体-睾丸轴的影响[J]. *解剖学杂志*, 2018, 41(2): 147-151.

[责任编辑 顾雪竹]

·书讯·

舒肝解郁胶囊联合噻托溴铵减轻尘肺合并慢性阻塞性肺引起的抑郁症 ——评《中国药典2020年版四部通则》

尘肺一种常见的职业病,在生产活动中长期吸入生产性粉尘(灰尘),并在肺内滞留而引起的肺组织弥漫性纤维化,慢性阻塞性肺(慢阻肺)疾病是尘肺病比较常见的并发症,其中抑郁是临床常见的合并症。针对尘肺合并慢阻肺伴抑郁症状研究较多,虽起到了一定的积极作用,但对于该类患者来说,实际疗效水平和康复程度仍有待提高,临床表明舒肝解郁胶囊联合噻托溴铵治疗尘肺合并慢阻肺伴抑郁症状具有良好的效果,有效提高患者的生活质量,该治疗思路值得借鉴推广。

《中华人民共和国药典2020年版四部通则》简称《中国药典》,国家药典委员会主编,中国医药科技出版社2019年4月出版。该书包括凡例、正文及通则(本版药典对各部药典共性附录进行整合,将原附录更名为通则),是药品研制、生产、经营、使用和监督管理等均应遵循的法定依据。所有国家药品标准应当符合中国药典凡例及附录的相关要求。《中国药典》分为四部出版,一部收载药材和饮片、植物油脂和提取物、成方制剂和单味制剂等。二部收载化学药品、抗生素、生化药品及放射性药品等。三部收载生物制品。四部收载通则,包括制剂通则、检验方法、指导原则等。本版药典在保持科学性、先进性、规范性和权威性的基础上,充分借鉴了国际先进技术和经验,客观反映了中国当前医药工业、临床用药及检验技术的水平,必将在提高药品质量过程中起到积极而重要的作用,并将进一步扩大和提升我国药典在国际上的积极影响。该文结合第二部化学药品的相关知识点,对于尘肺合并慢阻肺的药物治疗主要包括抗胆碱能药、支气管舒张药、糖皮质激素等。噻托溴铵吸入剂属于长效吸入性抗胆碱能药物,为异丙托溴铵的衍生物,具有可长时间持续治疗及舒张血管的特点。噻托溴铵对3类毒蕈碱具有相似的亲和力,但他与M₁, M₃毒蕈碱受体亲和力比M₂毒蕈碱受体亲和力更强,而且与毒蕈碱M₁, M₃受体解离缓慢,能够长时间阻滞胆碱能神经介导的支气管平滑肌收缩,使其成为一种长效的抗胆碱能药物,具有持久的支气管扩张作用,而且噻托溴铵由于含有季铵基团,不易透过血脑屏障,可避免中枢神经系统的不良反应。同时,噻托溴铵还可抑制乙酰胆碱相关性趋化活性因子释放,降低炎症细胞反应,从而减少气道的不良反应。目前针对尘肺合并慢阻肺伴抑郁症状的主要治疗措施仍以药物干预为主,药物治疗中选择性5-羟色胺(HT)再摄取抑制剂(SSRIs)类药物,因其不良反应少的优点被推荐用于抑郁症治疗的一线用药。舒肝解郁胶囊是国内首个获批适应症为轻、中度单相肝郁脾虚抑郁症者,在治疗抑郁障碍的应用中积累了丰富的临床证据。舒肝解郁胶囊主要成分由贯叶金丝桃、刺五加的提取物组成,其疗效及安全性在临床上已经得到证实。Meta分析发现,无论从治愈率、有效率均反映舒肝解郁胶囊疗效与其他抗抑郁药物效果相当,而在汉密尔顿抑郁(HAMD)量表减分方面舒肝解郁胶囊优于其他抗抑郁药物。舒肝解郁胶囊的抗抑郁作用可能与调节5-HT、多巴胺和去甲肾上腺素等神经递质地释放有关,通过提高突触间隙单胺递质的浓度及通过调节下丘脑-垂体-肾上腺轴功能、提高神经营养因子水平发挥抗抑郁作用。舒肝解郁胶囊联合噻托溴铵能够有效改善肺功能指标、提高临床总有效率,增加肺通气量并且改善患者抑郁症状、调节免疫功能、降低气道阻力和诱导痰细胞因子水平。在研究中,舒肝解郁胶囊联合噻托溴铵在提高肺功能指标均优于单独服用舒肝解郁胶囊或噻托溴铵,联合治疗能够显著降低血清降钙素原及BNP水平,能够快速缓解气道痉挛症状,缓解慢阻肺病情发展,改善肺功能。

《中国药典2020年版四部通则》对于保障公众用药安全有效,推进医药产业升级和产品提质具有重要意义。

[基金项目] 河北省邢台市科技计划项目(2019ZC122)

(作者吕振华¹, 范晓静², 李文雯¹, 1. 华北医疗健康集团邢台总医院, 河北 邢台 054000; 2. 河北省内丘县人民医院, 河北 邢台 054000)