

引用:王宁香,冯婷,李建华,李孙寒,杨涛,戴航.基于超高效液相色谱-串联质谱法结合网络药理学与分子对接技术探究妇科止痒片治疗阴道炎的药理机制[J].中医药导报,2025,31(6):81-87,107.



基于超高效液相色谱-串联质谱法结合 网络药理学与分子对接技术探究妇科止痒片 治疗阴道炎的药理机制*

王宁香¹,冯 婷¹,李建华¹,李孙寒¹,杨 涛^{1,2},戴 航¹

(1.广西中医药大学药学院,广西 南宁 530200;
2.广西特色中药现代产业学院,广西 南宁 530200)

[摘要] 目的:基于超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)结合网络药理学及分子对接技术分析妇科止痒片治疗阴道炎的有效成分、作用机制。方法:采用UPLC-MS/MS鉴定妇科止痒片的化学成分,利用网络药理学筛选妇科止痒片治疗阴道炎的关键成分和核心靶点,并利用分子对接技术对其进行验证。结果:共得到妇科止痒片成分20种,均有抑菌抗炎效果,其中活性成分14个,阴道炎疾病相关基因1 886个,药物与疾病存在166个交集基因。作用于阴道炎的关键靶点为丝氨酸/苏氨酸激酶1(Akt1)、肿瘤坏死因子(TNF)、表皮生长因子受体(EGFR)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、缺氧诱导因子-1α(HIF-1α)等,京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析显示妇科止痒片治疗阴道炎可能涉及癌症通路、磷脂酰肌醇3-激酶-丝氨酸/苏氨酸激酶(PI3K-Akt)信号通路、表皮生长因子受体(ERBB)信号通路、糖尿病并发症中的高级糖基化终末产物-受体(AGE-RAGE)信号通路。分子对接结果显示核心活性成分与关键靶点均有较好的结合效果,其中人血草碱与MMP-9的结合能为-45.6 kJ/mol。结论:妇科止痒片抗炎药效成分主要为六氢吡啶羧酸、异嗪皮啶、四氢药根碱、原阿片碱、人血草碱、洋川芎内酯H、四氢小檗碱、药根碱、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、大豆昔元、(-)-松脂素、羟苯乙酯、羟基芫花素,妇科止痒片可通过多成分、多通路、多靶点治疗阴道炎。

[关键词] 阴道炎;妇科止痒片;超高效液相色谱-串联质谱;网络药理学;分子对接

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2025)06-0081-07

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.06.014

Exploring the Pharmacological Mechanism of Gynecological Antipruritic Tablets in Treating Vaginitis Based on UPLC-MS/MS Combined with Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

WANG Ningxiang¹, FENG Ting¹, LI Jianhua¹, LI Sunhan¹, YANG Tao^{1,2}, DAI Hang¹

(1. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning Guangxi 530200, China; 2. Guangxi College of Characteristic Traditional Chinese Medicine Modern Industry, Nanning Guangxi 530200, China)

[Abstract] Objective: To analyze the active components and mechanism of Gynecological Antipruritic Tablets in treating vaginitis based on ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS), network pharmacology, and molecular docking technology. Methods: UPLC-MS/MS was employed to identify the chemical components of Gynecological Antipruritic Tablets. Key components and core targets for treating vaginitis were screened using network pharmacology and further validated by molecular docking. Results: A total of 20 components were identified in Gynecological Antipruritic Tablets, all exhibiting antibacterial and anti-inflammatory effects, including 14 active ingredients. There were 1 886 vaginitis-related

*基金项目:广西高等学校千名中青年骨干教师培育计划(桂教教师[2020]58号);桂派中医药传承创新团队(2022B005)

通信作者:杨涛,男,教授,研究方向为中药药效成分研究与应用

genes, with 166 overlapping genes between the drug and the disease. Key targets for vaginitis treatment included serine/threonine kinase 1 (Akt1), tumor necrosis factor (TNF), epidermal growth factor receptor (EGFR), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α). Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis suggested that the therapeutic effect of Gynecological Antipruritic Tablets on vaginitis may involve pathways such as cancer signaling, phosphatidylinositol 3-kinase-serine/threonine kinase (PI3K-Akt) signaling, ERBB signaling, and advanced glycation end product-receptor (AGE-RAGE) signaling in diabetic complications. Molecular docking results demonstrated strong binding affinity between core active components and key targets, with chelerythrine and MMP-9 exhibiting a binding energy of -45.6 kJ/mol. Conclusion: The main anti-inflammatory components of Gynecological Antipruritic Tablets include pipercolic acid, isofraxidin, tetrahydrojatrorrhizine, protopine, chelerythrine, senkyunolide H, tetrahydroberberine, jatrorrhizine, berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride, daidzein, (-)-pinoresinol, ethylparaben, and hydroxy- genkwanin. Gynecological Antipruritic Tablets exert therapeutic effects on vaginitis through multiple components, pathways, and targets.

[Keywords] vaginitis; Gynecological Antipruritic Tablets; UPLC-MS/MS; network pharmacology; molecular docking

阴道炎是由不同疾病引起的多种阴道黏膜炎性疾病的总称,多见有白带增多、味臭、局部瘙痒或疼痛,严重影响着女性身体健康^[1]。阴道炎根据病因和病原体不同可分为十余种,常见的有细菌性阴道炎、念珠菌性阴道炎和滴虫性阴道炎,临幊上超过50%阴道炎为混合感染,发病率极高^[2]。阴道炎属于中医学中“阴疮”“带下”“阴蚀”“阴痒”等范畴。若辨证属湿热下注证,其治疗原则为祛湿止痒、清热解毒^[3]。目前中成药在改善阴道微生态及全身症状等方面疗效显著,可避免抗生素过度使用,已成为中医治疗阴道炎的重要临床手段^[4]。中医认为阴道炎多因湿热蕴结、感染邪毒所致,临幊上通常将清化湿邪、杀虫止痒作为治疗该病的关键^[5]。

妇科止痒片由败酱草、白花蛇舌草、蒲公英、茜草、横经席、延胡索(醋炙)、鸡血藤、当归8味中药材制成,具有清热燥湿、杀虫止痒等功效,用于治疗阴道炎湿热证患者。败酱草首载于《神农本草经》,主治暴热火疮赤气,疥瘡痘痔,马鞍热气^[6];白花蛇舌草清热解毒,利湿^[7];蒲公英清热解毒,消肿散结,利尿通淋^[8]。败酱草、蒲公英、白花蛇舌草均可清热解毒,且具有祛瘀止痛、消炎抗菌、利水消肿之效。此3味药共为主药,治疗阴道炎湿热证有良好的作用。横经席、茜草、鸡血藤、当归、延胡索具有通龙路、止痛、补肾等功效,共为帮药。

目前关于妇科止痒片中单味药材的活性成分、药理机制研究以及妇科止痒胶囊的成分含量测定研究已有报道,但是妇科止痒片治疗阴道炎的药理作用机制尚未见报道。本研究使用超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-MS/MS)检测妇科止痒片的成分并进行网络药理学分析,旨在揭示妇科止痒片治疗阴道炎的作用机制,从而为其基础研究及临床应用提供依据。

1 材 料

1.1 主要仪器 ACQUITY UPLC I Class system液相色谱仪(美国Waters公司,型号:I Class);SCIEX X500R QTOF质谱仪

(上海SCIEX爱博才思分析仪器,型号:AB SCIEX X500R);小型低温离心机(上海安亭科学仪器厂,型号:TDL-40B);超声波清洗器(深圳市结盟清洗设备有限公司,型号:JP-040);C₁₈色谱柱(美国Phenomenex公司,型号:Kinetex XB);MilliQ Advantage A10超纯水机(法国Merck Millipore公司,型号:IQ7000)。

1.2 药物与试剂 甲醇(美国Thermo Fisher公司,批号:F23N59205);妇科止痒片粉末为中药复方制剂妇科止痒片去包衣得到(广西万寿堂药业有限公司,批号:221004)。

2 方 法

2.1 妇科止痒片化学成分的鉴定

2.1.1 供试品溶液的制备 取妇科止痒片粉末10 mg于50 mL具塞锥形瓶中,精密加入20 mL超纯水,超声处理30 min,滤纸过滤,取续滤液,过0.22 μ m微孔滤膜,即得。

2.1.2 液相色谱及质谱条件 Phenomenex Kinetex XB-C₁₈反相色谱柱(100.0 mm×2.1 mm, 1.7 μ m);液相色谱条件:流动相为甲醇-水5%~95%梯度洗脱;流速0.4 mL/min;柱温40 $^{\circ}$ C, 进样量3 μ L。质谱条件:双喷雾TurboV离子源,正、负离子模式扫描。雾化气体为氮气,离子源温度为550 $^{\circ}$ C,去簇电压为80 V/-80 V,子离子碰撞能量为35 eV/-35 eV,离子源电压为4 500 V/-4 500 V,雾化气压力为55 psi,辅助气压力为55 psi,气帘气压力为35 psi。

2.1.3 数据库的建立 通过中国知网、PubMed和SciFinder等文献数据库检索妇科止痒片中各药材相关文献,并整合各药材所含化合物的化学名称、相对分子质量、分子式和分子结构等信息数据库,借助Chemical Book、pubchem等数据库下载所得化合物的mol文件,计算化合物在正离子模式下[M+H]⁺、[M+NH₄]⁺等离子形态的精确质荷比(带电体的电荷量和质量的比值)以及负离子模式下[M-H]⁻、[M+COOH]⁻等离子形态的精确质荷比。

2.1.4 成分鉴定和分析 通过SCIX OS数据处理系统查找质

谱响应较高成分的精确相对分子质量,与天然产物高分辨质谱数据库(natural products HR-MS 2.0)进行比对,获得候选化合物,然后通过二级碎片离子及母离子可能的断裂规律来确定其结构,结合峰面积(峰高与保留时间的积分值)探讨药理机制。

2.2 网络药理学分析

2.2.1 妇科止痒片活性成分与靶点筛选 经UPLC-MS技术,得到妇科止痒片中成分,并利用SwissADME平台(<http://www.swissadme.ch/>)对妇科止痒片各成分进行检索,以各成分在SwissADME平台中“GIabsorption”(胃肠道吸收)为“high”,“Druglikeness”(类药性)中“yes”数量≥3为条件,筛选得到其活性成分,并通过Swiss targetprediction平台(<http://www.swiss-targetprediction.ch/>)收集整理活性成分的相关蛋白靶点。

2.2.2 阴道炎疾病靶点的收集 以“vaginitis”“vaginalinfection”“vaginal inflammation”为关键词在GeneCards(<https://www.genecards.org/>)和OMIM(<https://www.omim.org/>)数据库中进行检索,其中GeneCards数据库以Relevance score值的中位数筛选后与OMIM数据库的疾病靶点结果合并,删除重复基因,得到阴道炎疾病相关靶点。

2.2.3 蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络的构建与分析 利用Venny 2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)获取妇科止痒片活性成分相关靶点基因与阴道炎疾病相关靶点的交集基因。通过String数据库(<https://cn.string-db.org/>),限定种属为Homo sapiens,置信度设为>0.4对交集基因进行PPI网络的构建,下载TSV文件,导入Cytoscape 3.9.1软件进行网络分析,得到各个靶点的度值(degree值),可视化处理后通过各节点的颜色深浅与形状大小反映degree值的变化,突出关键靶点。

2.2.4 “妇科止痒片-活性成分-靶点-阴道炎”网络的构建 将妇科止痒片活性成分、交集基因进行整理,利用Cytoscape 3.9.1软件创建“妇科止痒片-活性成分-靶点-阴道炎”网络图,并进行网络拓扑分析。degree值可反映网络中重要活性成分和关键作用靶点。通过软件可视化处理选用不同颜色和形状用于区分药物、靶点与疾病。

2.2.5 基因富集分析 采用DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>),限定种属为Homo sapiens,对妇科止痒片与阴道炎疾病的交集基因进行基因本体论(GO)功能富集分析与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析。

2.2.6 分子对接 使用PDB数据库(<https://www.rcsb.org/>)检索和下载关键靶蛋白的3D结构文件,用Pymol软件去除水分子和配体,制备蛋白质受体。同时利用PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载活性化合物3D结构sdf文件,使用Open Babel 3.1.1软件将其转成pdb文件。通过Autodock-Tools 1.5.6软件对蛋白和小分子配体进行加氢等操作,将处理后的关键靶点和药效成分结构导入AutodockTools 1.5.6软件中使用vina插件进行分子对接,选择结合能最低的模型用pymol2.3.0软件对结果进行可视化展示。

3 结 果

3.1 妇科止痒片的化学成分分析 经UPLC-MS检测,共得到妇科止痒片成分20个。(见表1)依据化学结构分类法对该20种化学成分进行分类,其包含8个生物碱类化合物、4个苯丙素类化合物、2个萜类化合物、3个黄酮类化合物、1个氨基酸类、1个亚氨基酸类及1个酯类化合物。经查阅文献(中国知网和PubMed数据库),除药根碱、原阿片碱、人血草碱及洋川芎内酯H外,其余药物均有抑菌作用,但药根碱、原阿片碱、人血草碱及洋川芎内酯H均有抗炎作用。

表1 妇科止痒片中化学成分表

编号	化合物分类	中文名称	英文名称	分子式	相对保留时间	离子模式	质荷比	峰面积
C1	氨基酸类	精氨酸L(+)	Arginine	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	0.57	[M+H] ⁺	175.108 2	358 300
C2	生物碱类	甜菜碱	Betaine	C ₅ H ₁₁ NO ₂	0.57	[M+H] ⁺	118.086 1	1 162 000
C3	亚氨基酸类	六氢吡啶羧酸	Pipecolinic acid	C ₆ H ₁₁ NO ₂	0.69	[M+NH ₄] ⁺	130.050 0	273 100
C4	萜类	银杏内酯	Ginkgolide	C ₂₀ H ₂₄ O ₁₁	4.17	[M+H] ⁺	442.264 1	67 630
C5	苯丙素类	绿原酸	Chlorogenic acid	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	4.70	[M+H] ⁺	355.102 9	161 500
C6	苯丙素类	6-羟基-7-甲氧基香豆素	Isoscopoletin	C ₁₀ H ₈ O ₄	8.29	[M+H] ⁺	193.049 7	139 200
C7	苯丙素类	异嗪皮啶	Isofraxidin	C ₁₁ H ₁₀ O ₅	9.49	[M+H] ⁺	223.061 1	85 620
C8	生物碱类	四氢药根碱	Tetrahydroatrorrhizine	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄	10.03	[M+H] ⁺	342.168 6	2 167 000
C9	生物碱类	原阿片碱	Protopine	C ₂₀ H ₁₉ NO ₅	10.42	[M+H] ⁺	354.132 6	1 577 000
C10	生物碱类	人血草碱	DL-Stylopine	C ₁₉ H ₁₇ NO ₄	12.10	[M+H] ⁺	324.122 5	1 636 000
C11	苯丙素类	洋川芎内酯H	Senkyunolide H	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	13.11	[M+H] ⁺	207.101 0	768 700
C12	生物碱类	四氢小檗碱	Canadine	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	13.28	[M+H] ⁺	340.153 5	1 076 000
C13	生物碱类	药根碱	Jatrorrhizine	C ₂₀ H ₂₀ NO ₄	14.53	[M+H] ⁺	338.137 8	2 283 000
C14	生物碱类	盐酸小檗碱	Berberine hydrochloride	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	15.99	[M+H] ⁺	336.123 4	757 500
C15	生物碱类	盐酸巴马汀	Palmatinechloride	C ₂₁ H ₂₂ ClNO ₄	16.47	[M+H] ⁺	352.153 0	4 782 000
C16	黄酮类	大豆昔元	Daidzein	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	17.64	[M+H] ⁺	255.065 7	90 770
C17	萜类	(-)-松脂素	Pinoresinol	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	19.86	[M+H] ⁺	341.138 9	112 000
C18	黄酮类	染料木昔	Genistin	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	23.67	[M+H] ⁺	433.113 8	113 800
C19	酯类	羟苯乙酯	Ethyl 4-hydroxybenzoate	C ₉ H ₁₀ O ₃	28.88	[M+H] ⁺	167.070 4	1 302 000
C20	黄酮类	羟基芫花素	Hydroxygenkwanin	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	29.96	[M+H] ⁺	301.141 5	435 500

3.2 妇科止痒片中活性成分以及相关靶点 依据“2.2.1”项下方法,对妇科止痒片的20种化学成分在SwissADME平台进行检索,得到14个活性成分,分别为六氢吡啶羧酸、异嗪皮啶、四氢药根碱、原阿片碱、人血草碱、洋川芎内酯H、四氢小檗碱、药根碱、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、大豆昔元、(-)-松脂素、羟苯乙酯及羟基芫花素。(见表2)删除重复靶点后,共获得活性成分的相关蛋白靶点260个。

表2 活性成分表

序号	名称	GI absorption	Druglikeness(Yes)数量)
C3	六氢吡啶羧酸	High	3
C7	异嗪皮啶	High	5
C8	四氢药根碱	High	5
C9	原阿片碱	High	5
C10	人血草碱	High	5
C11	洋川芎内酯H	High	5
C12	四氢小檗碱	High	5
C13	药根碱	High	5
C14	盐酸小檗碱	High	5
C15	盐酸巴马汀	High	5
C16	大豆昔元	High	5
C17	(-)-松脂素	High	5
C19	羟苯乙酯	High	4
C20	羟基芫花素	High	5

3.3 阴道炎疾病相关靶点 将GeneCards和OMIM数据库中收集得到的阴道炎疾病相关靶点进行整理,删除重复靶点,最终得到1 886个疾病相关靶点基因。

3.4 PPI网络 利用Venny 2.1.0对妇科止痒片中活性成分的相关靶点基因与阴道炎疾病相关靶点进行分析,得到交集基因166个,分别与9个妇科止痒片成分相关联。韦恩图见图1。经String数据库和Cytoscape 3.9.1软件对PPI网络进行拓扑分析和可视化处理。(见图2)由Cytoscape 3.9.1软件中的分析网络功能进行拓扑分析得到PPI网络中共包含166个节点,2 945条边,degree平均值为35.482,平均局部聚类系数为0.570。degree值越大,节点的颜色越深、形状越大,靶点基因的字体越大。靶点基因的degree值越大,表明蛋白之间相互作用越强,可能为妇科止痒片治疗阴道炎的关键靶点。其中排名前10的靶点基因分别为丝氨酸/苏氨酸激酶1(Akt1)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)、基质金属蛋白酶-9(Matrix metalloproteinase-9,MMP9)、缺氧诱导因子-1α(hypoxia-inducible factor 1-alpha,HIF-1α)、热休克蛋白90α家族A类成员1(Heat shock protein HSP 90-alpha,HSP90AA1)、转化生长因子-β1(transforming growth factor beta-1 proprotein,TGF-β1)、非受体酪氨酸激酶(proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src,SRC)、雌激素受体(estrogen receptor,ESR1)、雷帕霉素靶蛋白(serine/threonine-protein kinase mTOR,MTOR)。前10个靶点基因对应的degree值分别为62、57、56、55、54、53、50、46、45、43。关键靶点网络见图3。

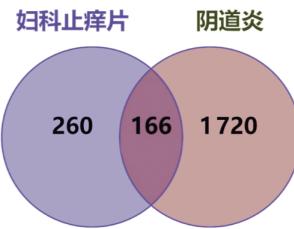


图1 韦恩图

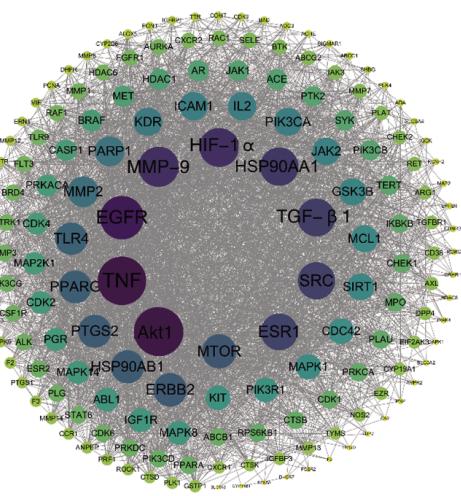


图2 妇科止痒片-阴道炎交集靶点PPI网络

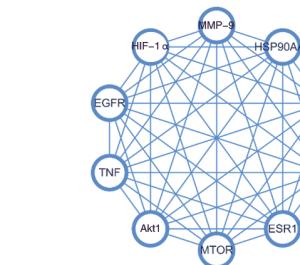


图3 妇科止痒片治疗阴道炎的关键靶点网络图

3.5 妇科止痒片-活性成分-靶点-阴道炎网络 由Cytoscape 3.9.1软件构建得到“妇科止痒片-活性成分-靶点-阴道炎”网络。(见图4)网络拓扑分析显示,该网络共有251个节点,其中蓝绿色六边形为妇科止痒片,蓝紫色正方形为妇科止痒片活性成分,黄绿色圆形为靶点基因,颜色越深则degree值越大。

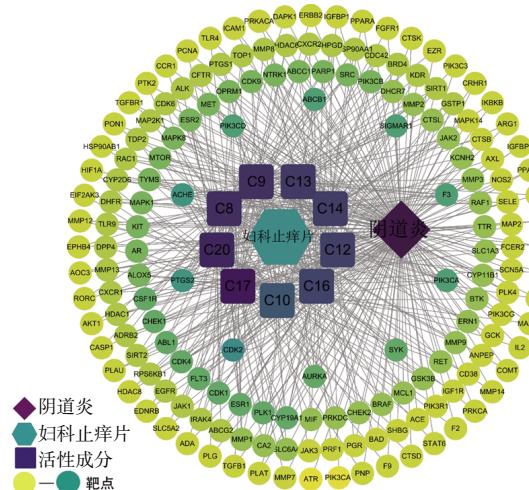


图4 妇科止痒片-活性成分-靶点-阴道炎网络图

将妇科止痒片活性成分按照degree值排序,degree值、介数中心性(betweenness centrality,BC)的平均值分别为43.333 00、0.028。活性成分的拓扑参数信息见表3。(-)-松脂素、羟基芫花素、四氢药根碱、原阿片碱、药根碱、盐酸小檗碱、四氢小檗碱、大豆苷元、人血草碱degree值均大于30。这9种成分可能是妇科止痒片治疗阴道炎的重要活性成分。周期蛋白依赖性蛋白激酶(cyclin-dependent kinase 2,CDK2)、前列腺素内过氧化物合酶2(prostaglandin G/H synthase 2,PTGS2)、乙酰胆碱酯酶(Acetylcholinesterase, AChE)、磷酸肌醇-3激酶(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit delta isoform,PIK3CD)、P-糖蛋白(ATP-dependent translocase, ABCB1)、西格玛非阿片类细胞内受体(sigma non-opioid intracellular receptor 1,SIGMAR1)、组织因子3(tissue factor,F3)、1类磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha isoform,PIK3CA)、酪氨酸激酶(tyrosine-protein kinase,SYK)、Akt等靶点与妇科止痒片各活性成分联系更为紧密,在治疗阴道炎过程中可能起着重要作用。

表3 妇科止痒片治疗阴道炎的核心活性成分

编号	BC	degree值
C17	0.049 049 196	55
C20	0.036 039 252	49
C8	0.031 551 545	47
C9	0.024 455 174	45
C13	0.024 498 311	42
C14	0.033 490 811	41
C12	0.018 057 553	40
C16	0.023 134 786	39
C10	0.011 257 789	32

3.6 基因富集分析 利用DAVID对妇科止痒片治疗阴道炎的166个潜在靶点基因进行GO富集分析和KEGG富集分析。以 $P<0.05$ 为筛选条件,得到773个GO条目,包括567个生物过程(biological process,BP),90个细胞组分(cellular component,CC),116个分子功能(molecular function,MF),将BP、CC、MF条目中count值排名前10的条目绘制成图。(见图5)BP主要涉及磷酸化(phosphorylation)、蛋白质磷酸化(protein phosphorylation)、蛋白质自磷酸化(protein autophosphorylation)、凋亡过程的负调控(negative regulation of apoptotic process)、对外源性刺激的反应(response to xenobiotic stimulus)、PI3-K/Akt信号通路的正调控作用(positive regulation of phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B signal transduction)、肽基-丝氨酸磷酸化(peptidyl-serine phosphorylation)、肽基-酪氨酸磷酸化(peptidyl-tyrosine phosphorylation)、基因表达的正调控(positive regulation of gene expression)、信号转导(signal transduction)等;CC主要涉及细胞质膜(plasma membrane)、细胞质(cytoplasm)、胞质溶胶(cytosol)、细胞核(nucleus)、膜(membrane)、核液(nucleoplasm)、胞外区(extracellular region)、细胞外间质(extracellular space)、细胞外泌体(extracellular exosome)、线粒体(mitochondrion)等;

MF主要涉及ATP结合(ATP binding)、蛋白酪氨酸激酶活性(protein tyrosine kinase activity)、蛋白激酶活性(protein kinase activity)、蛋白丝氨酸激酶活性(protein serine kinase activity)、蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性(protein serine/threonine kinase activity)、激酶活性(enzyme activity)、酶结合(enzyme binding)、相同蛋白结合(identical protein binding)、跨膜受体蛋白酪氨酸激酶活性(transmembrane receptor protein tyrosine kinase activity)、蛋白结合(protein binding)等。

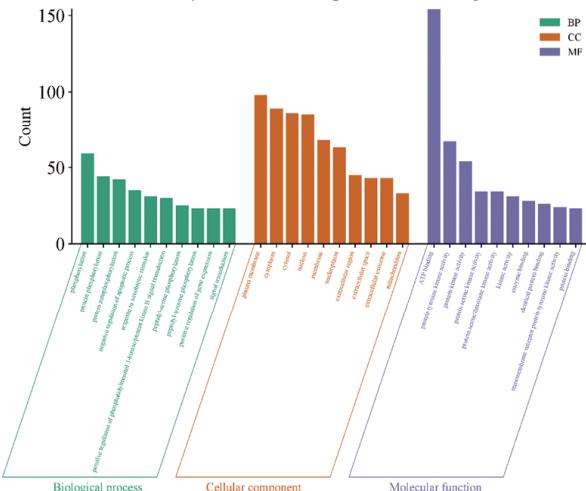


图5 妇科止痒片治疗阴道炎关键作用靶点的GO富集分析

筛选后得到37个KEGG条目,将“P值”降序排名前15的条目绘制成图。(见图6)KEGG通路中主要涉及癌症通路(pathways in cancer)、磷脂酰肌醇3-激酶-丝氨酸/苏氨酸激酶(phosphatidylinositol 3-kinase-Akt, PI3K-Akt)信号通路、表皮生长因子受体(erythroblastoleukemia viral oncogene homolog, ERBB)信号通路、糖尿病并发症中的高级糖基化终末产物-受体(advanced glycation end products-receptor for advanced glycation end products, AGE-RAGE)信号通路等,表明核心靶点基因可能是在多个通路共同作用下达到治疗阴道炎的效果。

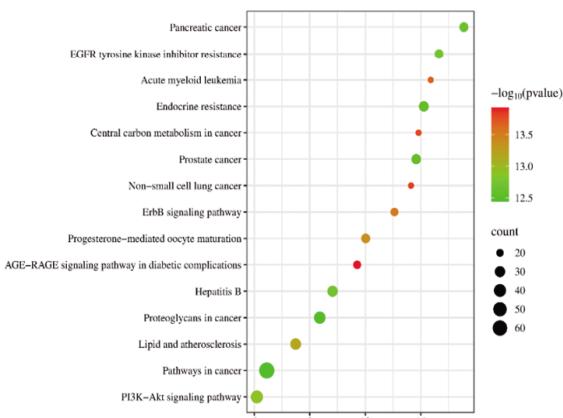


图6 妇科止痒片治疗阴道炎关键作用靶点的KEGG富集分析

3.7 分子对接 成分预测的基因中包含交集基因的成分共有9个(松脂素、羟基芫花素、四氢药根碱、原阿片碱、药根碱、盐酸小檗碱、四氢小檗碱、大豆苷元、人血草碱)。将9个成分与10个关键靶点(Akt1, TNF, EGFR, MMP9, HIF-1 α , HSP90AA1, TGF- β 1, SRC, ESR1, MTOR)在Autodock Tools中进行分子对

接。结果见表4。其对接最小结合能均小于-5 kcal/mol(1 kcal ≈ 4.185 85 kJ),表明核心活性成分与治疗关键基因结合能力良好。其中羟基芫花素、大豆昔元、人血草碱分别与MMP-9对接最为稳定,结合能分别为-36.4、-43.9、-45.6 kJ/mol;人血草碱与EGFR和MTOR结合能分别为-41.0、-39.7 kJ/mol,结合效果较好;药根碱与TNK(-38.5 kJ/mol)、四氢药根碱与EGFR(-37.7 kJ/mol)结合效果较好。

羟基芫花素与MMP-9在谷氨酸(glutamic acid, GLU)-227、甲硫氨酸(methionine, MET)-247、丙氨酸(alanine, ALA)-189、亮氨酸(leucine, LEU)-188处共形成6个氢键;大豆昔元与MMP-9在ALA-189、GLU-227、LEU-188、LEU-222、MET-247处共形成6个氢键;药根碱与TNK在天冬酰胺(asparagine, ASN)-112、精氨酸(arginine, ARG)-98处共形成3个氢键;四氢药根碱与EGFR在谷氨酰胺(glutamine, GLN)-791、MET-793处形成2个氢键。(见图7)结果表明筛选的核心成分

与核心靶点关联密切。

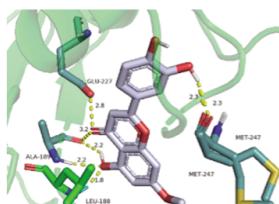
4 讨 论

妇科止痒片中含有14个活性成分,其中9个成分通过166个靶点基因发挥治疗阴道炎的作用。阴道炎主要由细菌、真菌、滴虫等侵袭机体所致,机制复杂,涉及多靶点多通路。中药具有活性成分丰富、不易产生耐药性等特点,可通过多靶点、多环节发挥作用,且中药毒副作用低,不易产生耐药性。妇科止痒片-活性成分-靶点-阴道炎网络图分析结果显示,松脂素、羟基芫花素、四氢药根碱、原阿片碱、药根碱、盐酸小檗碱、四氢小檗碱、大豆昔元及人血草碱是妇科止痒片治疗阴道炎的重要成分,这些成分多有抑菌抗炎作用。

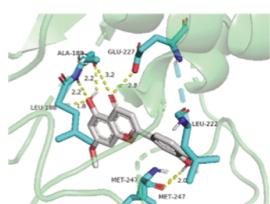
松脂素是一种植物来源的木质素,具有抗炎^[9]和抗病毒^[10]的药理作用,能降低炎症细胞中的白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)及环氧化酶-2(cyclooxygenase, COX-2)衍生的前列腺素E₂水平。羟基芫花素具有显著的抗炎、抗肿瘤、抗增殖和迁

表4 妇科止痒片活性成分与靶点的分子对接结合能

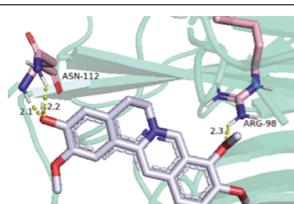
编号	结构式	结合能/(kJ/mol)									
		Akt1	TNK	EGFR	MMP-9	HIF-1 α	HSP90AA1	TGF- β 1	SRC	ESR1	MTOR
C17		-27.2	-37.7	-34.3	-35.6	-29.3	-35.6	-28.5	-34.7	-33.5	-29.7
C20		-26.4	-37.7	-36.4	-45.6	-32.2	-34.3	-28.0	-34.7	-30.5	-31.4
C8		-26.8	-37.7	-38.1	-31.4	-28.5	-31.8	-25.9	-35.1	-32.2	-29.7
C9		-30.5	-30.5	-35.6	-36.8	-33.9	-38.5	-28.5	-38.5	-35.1	-37.2
C13		-27.6	-38.5	-38.1	-31.8	-28.5	-31.8	-26.8	-34.7	-33.5	-31.0
C14		-27.2	-26.8	-38.9	-34.3	-29.7	-32.6	-24.3	-33.9	-33.1	-36.0
C12		-28.9	-29.3	-37.7	-34.3	-30.1	-33.9	-27.2	-37.7	-31.8	-33.1
C16		-27.2	-27.2	-32.6	-43.9	-28.0	-32.6	-25.1	-33.1	-37.2	-30.1
C10		-30.5	-30.5	-41.0	-45.6	-33.5	-37.7	-29.7	-37.7	-36.4	-39.7



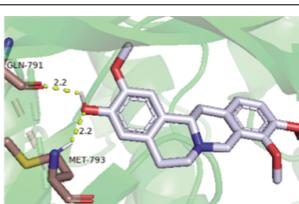
(a)C16-MMP-9



(b)C20-MMP-9



(C)C13-TNK



(D)C8-EGFR

图7 分子对接可视化结果

移作用,可通过调节PDK1/Akt/mTOR通路,抑制血小板衍生因子(platelet-derived growth factor,PDGF-BB)或TNF- α 处理的血管平滑肌细胞(VSMC)的异常增殖、迁移和炎症反应,诱导microRNA miR-320a的表达,抑制转录因子“叉头盒蛋白M1”(Forkhead box protein M1,FOXM1)和FOXM1调控的与上皮-间质转化相关的下游蛋白的表达,从而抑制肝癌细胞的生长和侵袭^[11-12]。药根碱具有抗糖尿病、抗菌、抗原虫、抗癌、抗肥胖和降血脂等作用。此外,药根碱还有中枢神经系统活性^[13],能抑制Traf2-和Nck-相互作用激酶(Traf2- and Nck-interacting kinase,TNIK),调节Wnt/ β -连环蛋白信号传导和上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)^[14]。原阿片碱具有抗炎、抗真菌、保护肝脏、神经保护及抗血栓形成等广泛的生物活性^[15-17],其抗炎机制可能与抑制COX-2活性阻断佛波酯(phorbolmyristate acetate,PMA)诱导有关^[18]。盐酸小檗碱具有抗肿瘤、抗炎、抑菌等药理作用^[19]。大豆昔元属于植物雌激素,与内源性雌激素相似,可与雌激素受体结合,产生拟雌激素样活性^[20]。除此之外大豆昔元对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌生长均有抑制作用^[21]。人血草碱具有活化、抗炎、抗纤维化和促进伤口愈合的活性,并且没有毒性作用^[22]。

PPI分析显示妇科止痒片可能与Akt1、TNF、EGFR、MMP-9、HIF-1 α 等多个靶点产生协同作用。Akt1在调节细胞生长和分裂及细胞凋亡抑制等多种过程中发挥着关键作用。大鼠功能失调性子宫出血模型子宫组织中Akt1、EGFR、HIF-1 α 的表达下调^[23]。除此之外,Akt1基因嵌合突变与Proteus综合征有密切关系^[24];TNF是有效的促炎因子,能降低阴道炎湿热蕴结证患者阴道分泌物中IL-2和TNF- α 水平^[25];EGFR-MAPK信号转导在外阴阴道念珠菌病发病机制中有重要作用^[26],可通过下调EGFR的过度表达,抑制输卵管上皮细胞凋亡和炎症反应,达到治疗输卵管炎性阻塞作用^[27]。上皮性卵巢癌患者血清中MMP-9高表达,与国际妇产科联盟(International Federation of Gynecology and Obstetrics,FIGO)分期、淋巴结转移、化疗敏感性有关,可作为卵巢癌诊疗中的重要参考指标^[28]。

GO、KEGG富集分析显示,妇科止痒片可通过调节多功能、多通路发挥治疗阴道炎的药效。PI3K/Akt信号通路的激活能提高细胞凋亡和炎症因子水平^[29]。酪氨酸激酶受体(receptor tyrosine-protein kinase erbB,ERBB)家族包括ERBB1(EGFR)、ERBB2(HER-2)、ERBB3、ERBB4。功能失调性子宫出血模型大鼠子宫组织中EGFR蛋白表达水平显著降低^[23]。

综上所述,妇科止痒片发挥治疗阴道炎的药效作用是一个多成分、多靶点、多通路的过程。

参考文献

- [1] 张萍.常见阴道炎症的治疗[J].中国慢性病预防与控制,2011,19(2):218-219.
- [2] 石一复,李娟清.阴道炎治疗进展及相关问题[J].国外医学(妇产科学分册),2007,34(5):295-297+313.
- [3] 《中成药治疗优势病种临床应用指南》标准化项目组.中成药治疗阴道炎临床应用指南(2022年)[J].中国中西医结合杂志,2023,43(8):901-910.
- [4] 苏莉.中西医结合治疗阴虚湿热型萎缩性阴道炎临床研究[J].光明中医,2018,33(16):2418-2420.
- [5] 朱迎萍.清热化湿外洗方治疗湿热下注型阴道炎临床观察[J].光明中医,2020,35(20):3147-3149.
- [6] 陈德兴,张玉萍,徐丽莉,等.神农本草经[M].福州:福建科学技术出版社,2012.
- [7] 国家中医药管理局中华本草编委会.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1999.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].北京:中国医药科技出版社,2020:367.
- [9] DURING A, DEBOUCHE C, RAAS T, et al. Among plant lignans, pinoresinol has the strongest antiinflammatory properties in human intestinal Caco-2 cells[J]. J Nutr, 2012, 142(10):1798-1805.
- [10] NOR AZMAN N S, HOSSAN M S, NISSAPATORN V, et al. Anti-infective activities of 11 plants species used in traditional medicine in Malaysia[J]. Exp Parasitol, 2018, 194:67-78.
- [11] CHEN P Y, LIN M S, CHEN C C, et al. The flavonoid hydroxykenwanin reduces inflammation and neointimalformation[J]. J Nutr Biochem, 2025, 135:109771.
- [12] CHOU L F, CHEN C Y, YANG W H, et al. Suppression of hepatocellular carcinoma progression through FOXM1 and EMT inhibition viahydroxykenwanin-induced miR-320a expression[J]. Biomolecules, 2019, 10(1):20.
- [13] ZHONG F R, CHEN Y, CHEN J, et al. Jatrorrhizine: A review of sources, pharmacology, pharmacokinetics and toxicity[J]. Front Pharmacol, 2022, 12:783127.
- [14] SUN Y F, GAO X Y, WU P P, et al. Jatrorrhizine inhibits mammary carcinoma cells by targeting TNIK mediated Wnt/ β -catenin signalling and epithelial-mesenchymal transition (EMT)[J]. Phytomedicine, 2019, 63: 153015.
- [15] 侯博,王晨燕,栗绍文,等.亚抑菌浓度博落回生物碱对ExPEC主要外膜蛋白和II型T-A系统表达的影响[J].微生物学通报,2022,49(6):2183-2192.
- [16] 钱玺丞,张稳,罗杰,等.博落回生物碱的提取工艺及其在动物养殖中的研究进展[J].黑龙江畜牧兽医,2024(15): 19-24.
- [17] 叶汉林,乔淦,王琳琳,等.原阿片碱通过线粒体凋亡途径抑制肝细胞癌生长[J].药学学报,2021,56(8):2223-2229.
- [18] KIM M, KIM H, KIM H. Anti-inflammatory effect of protopine through MAPK and NF- κ B signaling regulation in HepG2 cell[J]. Molecules, 2022, 27(14):4601.
- [19] 李佳颖,王晓婧,尚家起,等.抗分枝杆菌植物天然产物研究进展[J].中国抗生素杂志,2022,47(12):1225-1231.
- [20] TREECK O, ELEMENLER E, KRIENER C, et al. Polymorphisms in the promoter region of ESR2 gene and breast cancer susceptibility[J]. J (下转第107页)

[7] 郭倩倩,柳敏娜,刘天龙.没药甾酮药理作用研究进展[J].中医药学报,2022,50(4):115-118,F0003.

[8] 宋雪,刘思佳,孔玲,等.多基原药材龙胆和秦艽化学成分和药理作用研究概况[J].亚太传统医药,2023,19(7):210-215.

[9] 欧阳辉发,王友琴,赵淋仙,等.濒危药材羌活化学成分、药理作用、药代动力学研究进展及其应用分析[J].中药与临床,2023,14(4):105-111.

[10] 王艳丽,宁宇,丁莹.地龙的化学成分及药理作用研究进展[J].中医药信息,2022,39(12):86-89.

[11] 黄蒙蒙,周广涛,张霞,等.续断化学成分及药理作用研究进展[J].药学研究,2023,42(10):837-840.

[12] 吴娇,全芳超.黄芪的化学成分、药理作用及临床应用[J].滨州医学院学报,2024,47(1):68-75.

[13] 肖先,李春燕,刘晓龙,等.甘草的主要化学成分及药理作用研究进展[J].新乡医学院学报,2023,40(3):280-285.

[14] 王玉娟,董玉波,孙莎莎,等.基于HPLC-QAMS多指标成分定量测定联合化学计量学的津力达颗粒质量评价[J].中医药导报,2022,28(5):57-63,69.

[15] 赵鑫,李君君,权文越,等.基于熵权TOPSIS评价半夏不同干燥方法对质量的影响[J].中药材,2022,45(2):327-330.

[16] 范胜莲,刘光兴.不同干燥方法对红花中羟基红花黄色素A、山奈素及红花黄色素A含量的影响[J].中国药师,2020,23(6):1198-1200.

[17] 何广铭,彭致铖,吴晓纯,等.燐桃仁中D-苦杏仁苷的U-PLC含量测定研究[J].海峡药学,2020,32(10):60-63.

[18] 乔璐,张园园,王若晨,等.不同炮制方法对香附中香附烯酮和 α -香附酮的影响[J].中华中医药学刊,2022,40(1):49-53.

[19] 裴佳伟,王娅红,章建华,等.HPLC同时测定杜仲-川芎药对中的7种成分[J].华西药学杂志,2023,38(6):695-699.

[20] 张生杰,田志梅,曹雪芹,等.基于HPLC指纹图谱与多成分定量结合化学模式识别法评价不同产地白芍的质量[J].中医药导报,2021,27(1):51-57.

[21] 石欢,封燮,常雅晴,等.基于多成分含量测定和化学计量学的不同基原白芷药材质量评价研究[J].中草药,2023,54(11):3676-3684.

[22] 庞茜茜,岳威治,刘克勤,等.雪梨止咳糖浆中11个成分的含量测定及化学计量学分析[J].中国药房,2023,34(1):62-66.

[23] 张志鹏,邓李红,李美洲,等.基于化学模式识别和熵权TOPSIS法分析槐角不同部位的差异[J].中药材,2021,44(6):1415-1421.

[24] 李晓雨,李双凤,刘晓美,等.当归-川芎药对的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J].中草药,2024,55(4):1415-1426.

[25] 王凤霞,钱琪,李葆林,等.香附化学成分和药理作用研究进展及质量标志物(Q-Marker)预测分析[J].中草药,2022,53(16):5225-5234.

[26] 冯苗苗,李梦含,党琳洁,等.龙胆中龙胆苦苷的提取工艺及药理活性研究进展[J].山东化工,2023,52(8):104-107.

[27] 韵海霞,陈志.川西獐牙菜的研究进展[J].华西药学杂志,2020,35(5):567-571.

(收稿日期:2024-08-19 编辑:蒋凯彪)

(上接第87页) Steroid Biochem Mol Biol, 2009, 114 (3-5): 207-211.

[21] 管咏梅,叶盛航,周翔,等. β -环糊精-大豆昔元/PEG20000/Carbomer940纳米晶的制备及体外性质评价[J].中国中药杂志,2023,48(11):2949-2957.

[22] PIETRA D, BORGHINI A, BIANUCCI A M. In vitro studies of antifibrotic and cytoprotective effects elicited by proto-berberine alkaloids in human dermal fibroblasts[J]. Pharmacol Rep, 2015, 67(6):1081-1089.

[23] 何璎,凌勇根,赵洪庆,等.妇科断红饮胶囊改善大鼠功能失调性子宫出血的作用机制研究[J].中国药房,2022,33(23):2840-2844.

[24] 马明圣,刘华祯,张天楠,等.AKT1基因嵌合突变致Proteus综合征一例报告并文献复习[J].北京医学,2021,43(4):304-307.

[25] 张云,杜锋.参柏清热燥湿方对阴道炎疗效及IL-2、TNF- α 的变化[J].中医临床研究,2018,10(2):98-99.

[26] ZHANG J Y, PENG J W, LI D M, et al. Divergent EGFR/MAPK-mediated immune responses to clinical Candida pathogens in vulvovaginal candidiasis[J]. Front Immunol, 2022, 13:894069.

[27] 胡晓玲,张晓春,江晓兰,等.通管汤盆腔灌注对大鼠输卵管炎性阻塞性不孕模型病理及BCL-2、EGFR蛋白表达的影响[J].井冈山大学学报(自然科学版),2017,38(5):89-95.

[28] 马慧颖,刘翔宇,李文静,等.卵巢癌患者血清MMP-9和IL-8水平及其临床价值[J].现代妇产科进展,2021,30(8):571-574.

[29] AN M L, FU X P, MENG X, et al. PI3K/AKT signaling pathway associates with pyroptosis and inflammation in patients with endometriosis[J]. J Reprod Immunol, 2024, 162:104213.

(收稿日期:2024-10-28 编辑:蒋凯彪)