

基于 UPLC-Q-TOF/MS 整合网络药理学探讨通爽方治疗良性前列腺增生的效应机制

★ 戴诗琪^{1,2} 赵金辉^{1,2} 林志兴¹ 李军茂^{1,2} 罗晓健^{1,2} 饶小勇^{1,2} (1. 江西中医药大学 南昌 330004; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心 南昌 330006)

[摘要] 目的: 探究通爽方治疗良性前列腺增生(BPH)的有效成分和潜在机制。方法: 采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF/MS)测定通爽方提取物的主要成分,通过Swiss Target、OMIM数据库筛选成分靶点,运用GeneCards、OMIM等数据库筛选疾病靶点,利用STRING平台构建PPI网络选取关键靶点,利用Metascape数据库对药物和疾病共有靶点进行GO和KEGG通路富集,通过Cytoscape 3.9.1软件构建“药物-成分-靶点-疾病”网络,并利用AutoDock软件对成分与核心靶点进行分子对接筛选出有效成分。结果: 通爽方提取物中共鉴定出36个化合物。网络药理学分析发现通爽方成分靶点713个,疾病靶点1667个,交集靶点218个,筛选出5个核心靶点(GAPDH、TP53、TNF、PTGS2、ESR1)。分子对接结果显示黄豆苷元、苯乙烯、 β -紫罗兰酮、山柰酚、槲皮素、杯苋甾酮、间伞花炔、杨梅素、芒柄花素、7-甲氧基香豆素与5个核心靶点具有较好的结合能力。结论: 通爽方治疗BPH的活性成分为黄豆苷元、苯乙烯、 β -紫罗兰酮、山柰酚、槲皮素、杯苋甾酮、间伞花炔、杨梅素、芒柄花素、7-甲氧基香豆素,其机制可能与这些成分作用于GAPDH、TP53、TNF、PTGS2、ESR1等靶点调控有关。

[关键词] 通爽方; 良性前列腺增生; 超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R284 文献标志码: A DOI: 10.20140/j.2095-7785.2025.05.18

Study on the Effect Mechanism of Tongshuang Prescription in the Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia Based on UPLC-Q-TOF/MS Integrated Network Pharmacology

DAI Shiqi^{1,2}, ZHAO Jinhui^{1,2}, LIN Zhixing^{1,2}, LI Junmao^{1,2}, LUO Xiaojian^{1,2}, RAO Xiaoyong^{1,2}

1. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China.

[Abstract] **Objective:** To investigate the active ingredients and potential mechanism of Tongshuang prescription in the treatment of benign prostatic hyperplasia (BPH). **Methods:** Ultra performance liquid chromatography-quadruple-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS) was used to determine the main components of Tongshuang prescription. Swiss Target and OMIM databases were used to screen the target of Tongshuang prescription. GeneCards and OMIM databases were used to screen the disease target. STRING platform was used to construct PPI network to select the key target. Metascape database was used to enrich GO and KEGG pathways for the common targets of drugs and diseases. The mechanism of Tongshuang prescription in the treatment of BPH was discussed. In addition, Cytoscape 3.9.1 software was used to construct the "drug-component-target-disease" network, and AutoDock software was used to molecularly dock the components with the core targets to select the active ingredients. **Results:** A total of 36 compounds were identified. Network pharmacological analysis revealed 713 Tongshuang prescription component targets, 1667 disease targets, and 218 intersection targets, and five core targets (GAPDH, TP53, TNF, PTGS2, ESR1) were selected. Molecular docking results showed that daidzein, styrene, β -ionone, kaempferol, quercetin, amaranth sterone, m-Cymen, myricetin, formonetin, and 7-methoxycoumarin had good binding ability to five core targets. **Conclusion:** Daidzein, styrene, β -ionone, kaempferol, quercetin, amaranth sterone, m-Cymen, myricetin, formonetin and 7-methoxycoumarin are the active components of Tongshuang prescription in the treatment of BPH, and the mechanism may be related to the action of these components on GAPDH, TP53, TNF, PTGS2 and ESR1 target regulation.

[Keywords] Tongshuang Prescription; Benign Prostatic Hyperplasia; Ultra Performance Liquid Chromatography-Quadruple-Time of Flight Mass Spectrometry; Network Pharmacology; Molecular Docking

基金项目: 南昌市高层次科技创新人才“双百计划”(洪科字[2022]321号)。

通信作者: 饶小勇, 博士, 教授。E-mail: rxy1014@163.com。

通爽方来源于《普济方》的蝼蛄散,经化裁为老中医临床经验方,由蝼蛄、盐沙苑子、川牛膝、海金沙、肉桂5味中药组成。方中重用蝼蛄取其通利小便之强大功能^[1],盐沙苑子补益肾气、固精缩尿,二者为君药,合用改善夜尿频和小便不利;川牛膝补益肝肾、通淋利尿为臣药;海金沙清热解毒、利尿通淋,专治尿赤、小便不利为佐药;肉桂温补命门肾火、回阳散寒,以助气化功能,使小便不利得解为使药;五药合用共奏补肾利湿、通利小便之功效。该方临床用于治疗良性前列腺增生(benign prostatic hyperplasia, BPH),可有效改善BPH的临床症状且无明显不良反应。然而,本方有效成分和作用机制尚不明确,需采用现代技术对其解析。因此,本文采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF/MS)定性分析技术,系统分析通爽方的化学成分,并结合网络药理学和分子对接技术对其治疗BPH的药效成分与作用机制进行探讨,以期为后续的医院制剂开发与新药研制奠定基础。

1 仪器

LC-30AD超高效液相色谱系统(日本岛津公司);Triple-TOFTM5600型质谱仪(美国AB Sciex公司,包括Analyst TF1.6数据采集工作站和Peakview1.2数据分析软件);HC-3018R高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);CP225D十万分之一电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);KQ250DB型数控超声清洗器(巩义市予华仪器有限公司)。

2 试药与试剂

蝼蛄(批号210918,产地安徽)、盐沙苑子(批号230220,产地陕西)、川牛膝(批号230528,产地四川)、肉桂(批号221025,产地广东)、海金沙(批号210902,产地江西)以上饮片均购自江西江中中药饮片有限公司;沙苑子昔A对照品(批号11803-201704,纯度 $\geq 99.1\%$)、杯苋甾酮对照品(批号111804-202206,纯度 $\geq 99.8\%$)、肉桂酸对照品(批号110786-201604,纯度 $\geq 99.8\%$)、桂皮醛对照品(批号110710-101123,纯度 $\geq 99.8\%$)以上对照品均购于中国食品药品检定研究院。甲醇、乙腈(色谱纯, Fisher Scientific, Fairlawn, NJ, 美国),蒸馏水(屈臣氏集团),其余试剂均为分析纯。

3 通爽方化学成分分析

3.1 供试品溶液制备

精密称取蝼蛄43.2 g、沙苑子43.2 g、川牛膝

28.8 g、海金沙14.4 g、肉桂14.4 g,加10倍水,煎煮1 h,滤过,药渣再加5倍水,煎煮0.5 h,趁热滤过,合并滤液,浓缩,生药质量浓度约为1.0 g/mL,即为通爽方浓缩液。

3.2 色谱条件及质谱条件

3.2.1 色谱条件 采用ACQUITY UPLC BEH C₁₈色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm),流动相乙腈(B)-0.1%磷酸水溶液(A)梯度洗脱(0~2 min, 10%→15%B; 2~4 min, 15%→18%B; 4~8 min, 18%→20%B; 8~10 min, 20%→25%B; 10~12 min, 25%→28%B; 12~14 min, 28%→30%B; 14~16 min, 30%→35%B; 16~17 min, 35%→90%B; 17~27 min, 90%B; 27~28 min, 90%→10%B; 28~40 min, 10%B),柱温40℃,进样量2 μL,流速0.3 mL/min。

3.2.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),正、负离子模式扫描;喷雾电压(ISVF):-4 500 V;雾化气温度(TEM):500℃;气帘气(CUR)压力:30 psi;雾化器(GS1)和辅助气(GS2)压力:55 psi;去簇电压(DP):-100 V;碰撞能(CE):30 eV;碰撞能叠加:±15 eV;质量扫描范围(*m/z*):80~1 250。

3.3 数据处理

数据库:Swiss Target Prediction(<http://www.swisstargetprediction.ch/>);UniProt(<https://www.uniprot.org/>);人类孟德尔遗传数据库(OMIM,<https://www.omim.org/>);STRING(<https://cn.string-db.org/>);Metascape(<https://metascape.org/gp/>);蛋白数据库RCSB PDB(<https://www.rcsb.org/>)。软件:Cytoscape 3.9.1、AutoDock、PyMOL。

将原始数据导入PeakView 1.2软件中进行峰提取,保留时间校正等预处理,处理后的质谱数据与PubChem数据库中相对分子量和二级碎片离子进行匹配。此外,查阅通爽方中各药材化学成分相关文献及收集其化学成分二级离子碎片等信息,对鉴定的成分进一步验证比对。

4 网络药理学及分子对接研究

4.1 通爽方治疗BPH潜在靶点的获取

将已鉴定的化合物导入Swiss Target Prediction数据库获取潜在的靶点。以“benign prostatic hyperplasia”为关键词,在GeneCards、OMIM数据库中收集汇总BPH相关靶点,获得两者交集靶点为通爽方治疗BPH的潜在靶点。

4.2 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络图的构建和核心靶点的筛选

将交集靶点上传至STRING平台以TSV格式

获得 PPI 网络 (物种选择 “Homo sapiens”, 置信度 >0.9), 导入 Cytoscape 3.9.1 软件进行可视化分析, 根据度中心性 (DC)、紧密中心性 (CC)、介数中心性 (BC) 筛选关键靶点。

4.3 交集靶点 GO 和 KEGG 信号通路富集

使用 Metascape 数据库对交集靶点进行 GO 和 KEGG 分析, 物种与背景设置均为 “Homo sapiens”, 设定阈值 $P < 0.01$, 其中 GO 功能分析包括生物过程 (biology process, IBP)、分子功能 (molecular function, MF) 和细胞组成 (cellular componet, CC), 运用微生信平台对通爽方治疗 BPH 靶点的富集通路进行可视化分析。

4.4 通爽方 - 成分 - 交集靶点 - BPH 疾病可视化图的构建

使用 Cytoscape 3.9.1 软件构建通爽方 - 成分 -

交集靶点 - BPH 疾病模型, 以节点表示药物、化学成分、靶点和疾病, 以边来表示节点之间相互作用的关系。

4.5 关键成分与核心靶点的分子对接

通过 TCMSP 数据库下载通爽方中已鉴定成分的 MOL2 结构。在蛋白质数据库 (PDB) 下载关键靶点蛋白的 X 射线晶体结构保存为 PDB 格式, 并将其导入 PyMOL 软件进行处理。利用 AutoDock 软件对已鉴定的成分与核心靶点进行对接并分析其结果。

5 结果

5.1 化学成分分析

通爽方正负模式下总离子流图如图 1 所示, 通过质谱信息进行对比分析, 利用化学成分库及参考文献进行结构鉴定, 共得到 36 种化合物。见表 1。

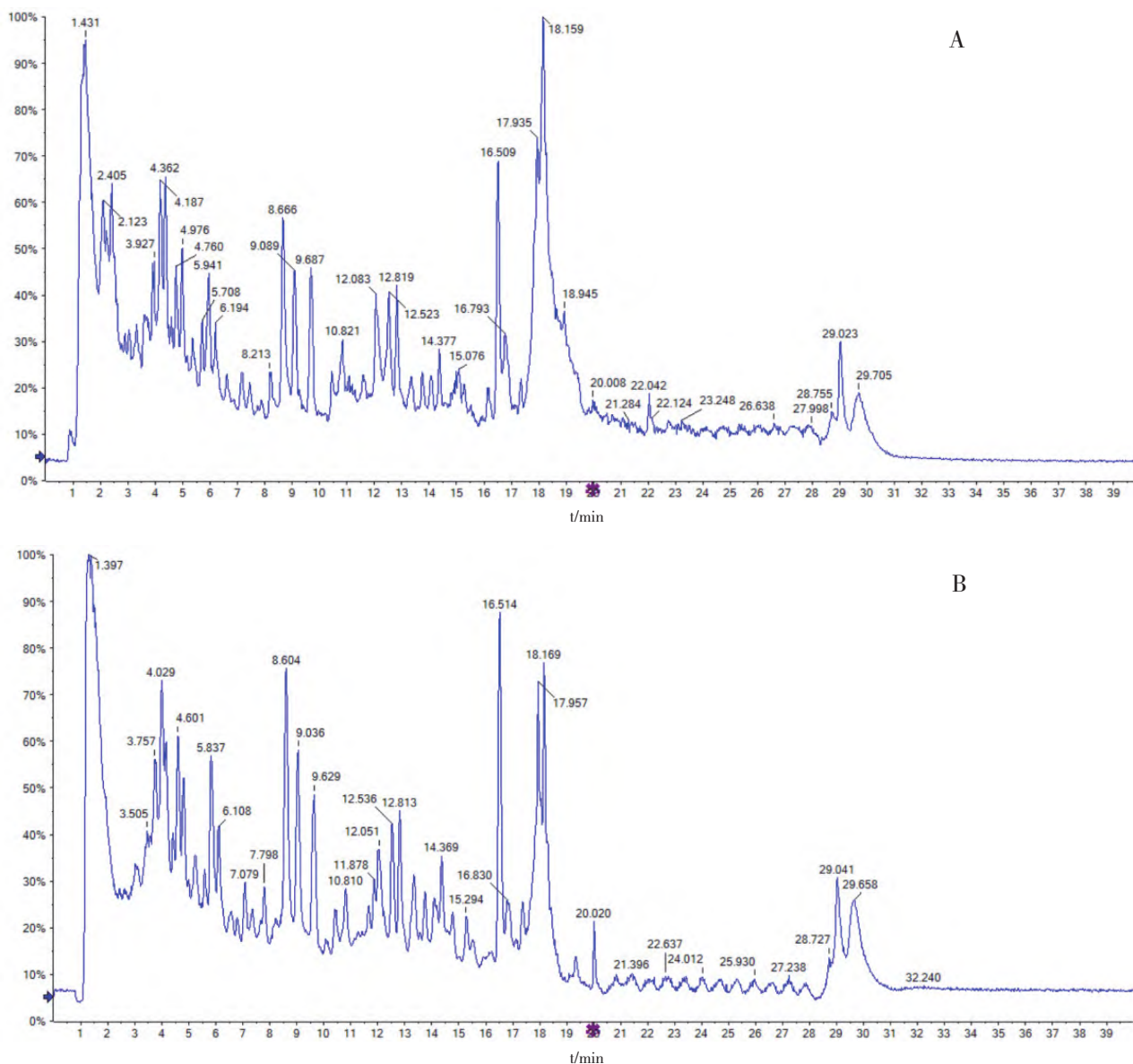


图1 通爽方正离子模式 (A) 和负离子模式 (B) 总离子流图

表1 通爽方中化学成分定性分析及药材归属

| 序号 | MOLID | 命名 | 化学式 | 分子式 | 保留时间/min | 模式 | m/z | 误差/ppm | 归属 | 参考文献/数据库 |
|----|-----------|------|--------------|---|----------|--------------------|-----------|--------|---------------|----------|
| 1 | MOL002888 | A5 | 2-甲氧基苯甲醛 | C ₈ H ₈ O ₂ | 1.91 | [M+H] ⁺ | 137.059 7 | -4.9 | 蜈蚣、海金沙、肉桂 | PubChem |
| 2 | MOL000069 | A1 | 棕榈酸 | C ₁₆ H ₃₂ O ₂ | 17.83 | [M+H] ⁺ | 257.247 5 | -0.8 | 蜈蚣、沙苑子、川牛膝、肉桂 | [2] |
| 3 | MOL000098 | A2 | 槲皮素 | C ₁₅ H ₁₀ O ₇ | 5.89 | [M+H] ⁻ | 303.049 9 | -1.4 | 沙苑子、川牛膝、 | [3][4] |
| 4 | MOL000422 | A6 | 山柰酚 | C ₁₅ H ₁₀ O ₆ | 5.90 | [M+H] ⁺ | 287.055 | -1.1 | 沙苑子、海金沙、 | [5] |
| 5 | MOL002881 | A8 | 鼠李糖苷 | C ₁₆ H ₁₂ O ₆ | 18.05 | [M+H] ⁻ | 299.056 1 | 6.2 | 沙苑子、海金沙 | PubChem |
| 6 | MOL000417 | A9 | 毛蕊花素 | C ₁₆ H ₁₂ O ₅ | 12.05 | [M+H] ⁺ | 285.075 8 | -0.5 | 沙苑子、海金沙 | [6] |
| 7 | MOL000131 | A10 | 亚油酸 | C ₁₈ H ₃₂ O ₂ | 18.47 | [M+H] ⁺ | 281.247 5 | -1.4 | 肉桂、沙苑子 | [7] |
| 8 | MOL000432 | SYZ3 | 亚麻酸 | C ₁₈ H ₃₀ O ₂ | 18.30 | [M+H] ⁺ | 279.198 8 | -0.2 | 沙苑子 | [2] |
| 9 | MOL009278 | SYZ4 | 落叶松苷 | C ₁₆ H ₁₂ O ₈ | 11.99 | [M+H] ⁻ | 331.045 9 | 5.8 | 沙苑子 | PubChem |
| 10 | MOL009289 | SYZ5 | 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀ | 5.71 | [M+H] ⁺ | 447.128 6 | -1.3 | 沙苑子 | [8] |
| 11 | / | SYZ6 | 沙苑子苷 A | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₈ | 9.69 | [M+H] ⁻ | 624.169 0 | -0.2 | 沙苑子 | 对照品 |
| 12 | MOL002008 | SYZ1 | 杨梅素 | C ₁₅ H ₁₀ O ₈ | 4.19 | [M+H] ⁺ | 319.044 8 | 0.2 | 沙苑子 | [4] |
| 13 | MOL000392 | SYZ2 | 芒柄花素 | C ₁₆ H ₁₂ O ₄ | 17.14 | [M+H] ⁺ | 269.080 8 | -1.8 | 沙苑子 | PubChem |
| 14 | MOL012288 | CNX2 | 杯苋甾酮 | C ₂₉ H ₄₄ O ₈ | 8.66 | [M+H] ⁺ | 521.310 9 | -0.2 | 川牛膝 | 对照品 |
| 15 | / | CNX3 | 2β-羟基熊果酸 | C ₃₀ H ₄₈ O ₄ | 16.50 | [M+H] ⁺ | 473.362 5 | -0.9 | 川牛膝 | [9] |
| 16 | MOL001999 | CNX4 | 东莪酮 | C ₁₁ H ₁₀ O ₄ | 8.47 | [M+H] ⁺ | 207.065 2 | -2.3 | 川牛膝 | PubChem |
| 17 | MOL012542 | CNX5 | β-蜕皮甾酮 | C ₂₇ H ₄₄ O ₇ | 7.06 | [M+H] ⁺ | 481.316 0 | -1.8 | 川牛膝 | [10] |
| 18 | / | CNX6 | 厚朴三酚 | C ₁₅ H ₁₄ O ₃ | 13.23 | [M+H] ⁺ | 243.101 6 | -1.5 | 川牛膝 | [9] |
| 19 | MOL004564 | CNX7 | 山柰素 | C ₁₆ H ₁₂ O ₆ | 18.05 | [M+H] ⁻ | 299.056 1 | 6.2 | 川牛膝 | [9] |
| 20 | MOL004369 | CNX8 | 槲皮素 3-O-鼠李糖苷 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁ | 7.08 | [M+H] ⁻ | 447.093 3 | 5.5 | 川牛膝 | [9] |
| 21 | MOL004617 | CNX1 | 7-甲氧基香豆素 | C ₁₀ H ₈ O ₃ | 11.29 | [M+H] ⁺ | 509.347 3 | -0.6 | 川牛膝 | [9] |
| 22 | MOL000219 | A3 | 苯甲酸 | C ₇ H ₆ O ₂ | 2.02 | [M+H] ⁺ | 123.044 1 | -8.6 | 海金沙、肉桂 | PubChem |
| 23 | MOL002878 | A4 | 环辛酮 | C ₈ H ₁₄ O | 18.32 | [M+H] ⁻ | 127.111 7 | -1.1 | 海金沙、肉桂 | PubChem |
| 24 | MOL000057 | A7 | 邻苯二甲酸二异丁酯 | C ₁₆ H ₂₂ O ₄ | 18.79 | [M+H] ⁺ | 279.159 1 | -0.3 | 海金沙、肉桂 | PubChem |
| 25 | MOL002363 | HJS1 | β-紫罗兰酮 | C ₁₃ H ₂₀ O | 6.51 | [M+H] ⁺ | 193.158 7 | -3.6 | 海金沙 | PubChem |
| 26 | MOL002883 | HJS2 | 油酸乙酯 | C ₂₀ H ₃₈ O ₂ | 20.09 | [M+H] ⁺ | 311.294 5 | -1.1 | 海金沙 | PubChem |
| 27 | MOL000414 | HJS3 | 顺式-咖啡酸 | C ₉ H ₈ O ₄ | 3.88 | [M+H] ⁻ | 181.049 5 | -6.8 | 海金沙 | [5] |
| 28 | MOL002295 | RG1 | 肉桂酸 | C ₉ H ₈ O ₂ | 6.28 | [M+H] ⁻ | 147.045 2 | 7.8 | 肉桂 | [11] |
| 29 | MOL001739 | RG2 | 棕榈油酸 | C ₁₆ H ₃₀ O ₂ | 18.02 | [M+H] ⁻ | 255.231 9 | -1.0 | 肉桂 | [9] |
| 30 | MOL002225 | RG3 | 肉桂醇 | C ₉ H ₁₀ O | 15.69 | [M+H] ⁺ | 135.080 4 | -6.2 | 肉桂 | [7] |
| 31 | MOL000249 | RG4 | 肉桂酸甲酯 | C ₁₀ H ₁₀ O ₂ | 15.69 | [M+H] ⁺ | 163.075 4 | -3.4 | 肉桂 | [7] |
| 32 | MOL000250 | RG5 | 肉桂醛 | C ₉ H ₈ O | 13.03 | [M+H] ⁺ | 133.064 8 | -4.4 | 肉桂 | [11] |
| 33 | MOL000431 | RG6 | 香豆素 | C ₉ H ₆ O ₂ | 8.48 | [M+H] ⁺ | 147.044 1 | -3.8 | 肉桂 | [7] |
| 34 | MOL000699 | RG7 | m-Cymene | C ₁₀ H ₁₄ | 12.64 | [M+H] ⁺ | 135.116 8 | -4.6 | 肉桂 | PubChem |
| 35 | MOL000704 | RG8 | 苯乙烯 | C ₈ H ₈ | 13.04 | [M+H] ⁺ | 105.069 9 | -4.5 | 肉桂 | PubChem |
| 36 | MOL000390 | CNX9 | 黄豆苷元 | C ₁₅ H ₁₀ O ₄ | 10.59 | [M+H] ⁻ | 253.052 0 | -1.9 | 肉桂 | [8] |

5.2 网络药理分析

5.2.1 通爽方治疗 BPH 潜在靶点的获得 按照“4.1”项下方法筛选检索得到通爽方 36 个化学成分的 713 个潜在靶点, 与 1 667 个 BPH 疾病靶点, 通过 Venn 图取交集得到 218 个通爽方治疗 BPH 潜在治疗靶点。见图 2。

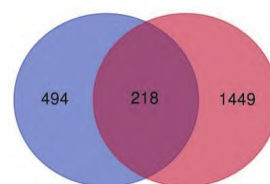


图2 药物与疾病靶点Venn图

5.2.2 通爽方治疗BPH潜在靶点的PPI网络图构建 通过STRING数据库,将筛选得到218个交集靶点进行分析,利用Cytoscape 3.9.1设置节点的大小、颜色随degree大小变化,构建PPI网络图,结果见图3。该网络图共43个点、1456条边,根据DC、CC、BC均值大于其平均值进行筛选,其中GAPDH、TP53、TNF、PTGS2、ESR1排名靠前的可能为通爽制剂治疗BPH的关键靶点。通过检索DisGeNET,获得关键治疗靶点对应的蛋白质类型及药物归属,结果见表2。



图3 通爽方治疗BPH靶点蛋白的PPI网络图

表2 通爽方治疗靶点对应的蛋白质类型及药物归属

| Uniprot 编号 | 基因符号 | 度中心性 | 介数中心性 | 接近中心性 | 蛋白质名称 | 蛋白质类别 | 归属 |
|------------|-------|------|-------------|----------|---------------|-------|------------|
| P04406 | GAPDH | 290 | 2 399.973 8 | 0.004 52 | 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 | 无 | 海金沙、肉桂 |
| P04637 | TP53 | 258 | 1 094.918 9 | 0.004 22 | 细胞肿瘤抗原 p53 | 转录因子 | 肉桂 |
| P01375 | TNF | 258 | 1 054.911 3 | 0.004 22 | 肿瘤坏死因子 | 信号 | 肉桂 |
| P35354 | PTGS2 | 206 | 744.840 5 | 0.003 80 | 前列腺素 G/H 合酶 2 | 酶 | 肉桂、沙苑子、川牛膝 |
| P03372 | ESR1 | 216 | 1 061.963 4 | 0.003 86 | 雌激素受体 | 核受体 | 肉桂、沙苑子 |
| P05231 | IL6 | 252 | 909.495 3 | 0.004 17 | 白细胞介素-6 | 无 | 肉桂、海金沙、川牛膝 |
| P02768 | ALB | 264 | 1 434.935 5 | 0.004 27 | 白蛋白 | 转运体 | 肉桂、沙苑子、海金沙 |
| P01584 | IL1B | 222 | 550.996 2 | 0.003 92 | 白细胞介素 1 β | 无 | 肉桂、海金沙 |
| P42574 | CASP3 | 208 | 371.960 6 | 0.003 82 | 半胱天冬酶-3 | 酶 | 肉桂、海金沙、沙苑子 |
| P01308 | INS | 250 | 1 301.694 7 | 0.004 15 | 胰岛素 | 无 | 肉桂、沙苑子、海金沙 |

5.2.3 GO 功能与 KEGG 通路富集分析 对218个潜在治疗靶点的GO和KEGG富集分析,生物过程富集前3位为激素反应、对外源性刺激的反应、细胞对脂质的反应;细胞组分富集前3位为泡腔、细胞质核周区、膜筏;分子功能富集前3位为氧化还

原酶活性、核受体活性、血红素结合,KEGG富集分析如图所示,包含癌症通路、花生四烯酸代谢、脂质和动脉粥样硬化、PI3K-Akt信号通路、化学致癌作用-受体激活、HIF-1信号通路、癌症中的MicroRNA、类固醇激素生物合成等。见图4。

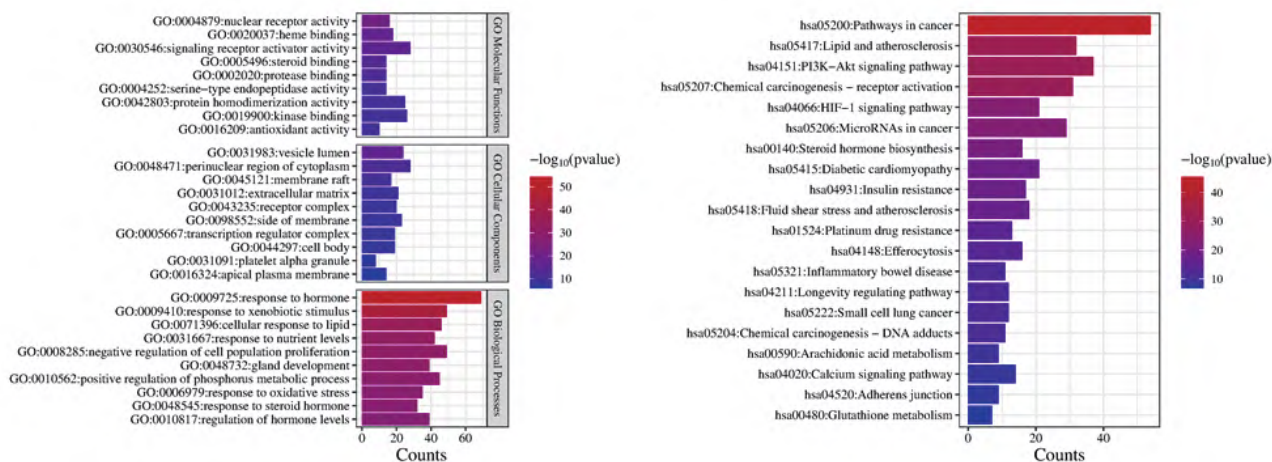


图4 通爽方治疗BPH的GO和KEGG富集分析

5.2.4 “药物-成分-靶点-疾病”可视化图的分析 利用Cytoscape 3.9.1构建出“药物-成分-靶点-疾病”网络图,其中根据化合物degree值,得到通

爽方治疗BPH前5名的潜在活性成分为黄豆苷元、苯乙烯、山柰酚、槲皮素、肉桂酸甲酯,推测这些成分为通爽方治疗BPH的关键活性成分。见图5。

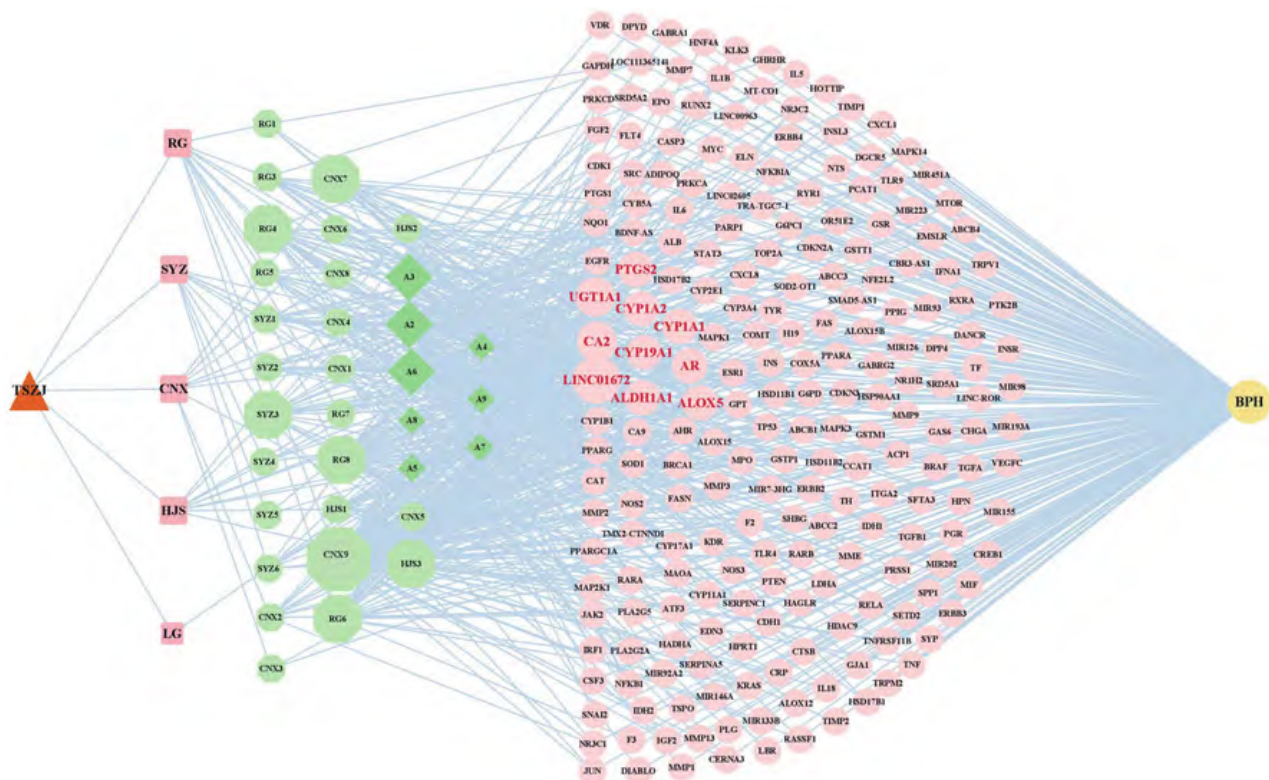


图5 “药物-成分-靶点-疾病”网络图

5.2.5 分子对接 根据 PPI 网络结果,选择关键靶点与 36 个化合物进行对接,当配体与受体结合时,通常认为结合能越低,配体与靶蛋白的结合亲和力越高,结合能 ≤ -5.0 kcal/mol 的药物分子与靶点具有较好的结合活性^[12-13]。筛选出 9 个总体对接结果较好的成分运用 Omic-Share (<https://www.omicshare.com/>) 在线绘制热图。见图 6。对接结果显示黄豆苷元、苯乙烯、 β -紫罗兰酮、山柰酚、槲皮素、杯苋甾酮、间伞花烃、杨梅素、芒柄花素、7-甲氧基香豆素具有较强结合活性。见图 7。

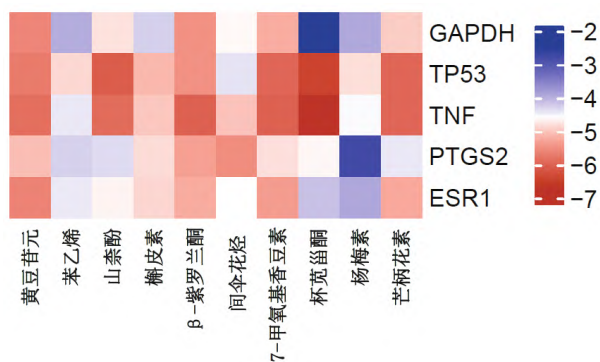
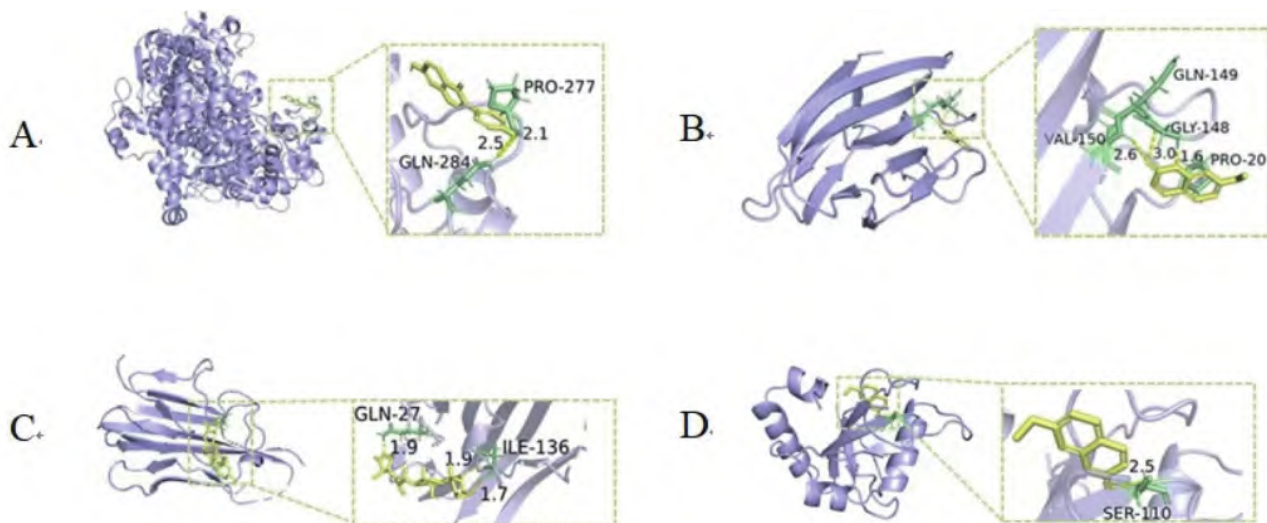


图6 通爽方治疗BPH的分子对接热图



注: A.黄豆苷元与PTGS2相互作用; B.7-甲氧基香豆素与TNF相互作用; C.杯苋甾酮与TNF相互作用; D.7-甲氧基香豆素与TP53相互作用。

图7 通爽方治疗BPH的部分分子对接示意图

6 讨论

在网络药理学研究中根据“药物-成分-靶点-疾病”网络构建图和分子对接结果分析,推测通爽方治疗BPH的关键活性成分为黄豆苷元、苯乙烯、 β -紫罗兰酮、山柰酚、槲皮素、杯苋甾酮、间伞花烃、杨梅素、芒柄花素、7-甲氧基香豆素、肉桂酸甲酯,这些成分具有抗炎、抗氧化等作用。这些成分可能是通过GAPDH、TP53、TNF、PTGS2、ESR1、IL-6等靶点作用于癌症通路、花生四烯酸代谢等信号通路来治疗良性前列腺增生。TP53基因是一种肿瘤抑制蛋白,实验结果表明前列腺重量减轻,酶联免疫方法检测显示血清TP53蛋白表达增加^[14]。GAPDH基因编码是甘油醛-3-磷酸脱氢酶蛋白家族的一个成员,其在前列腺中普遍表达。TNF基因一种多功能促炎细胞因子,又被称为TNF- α ,属于肿瘤坏死因子(TNF)超家族,这种细胞因子主要由巨噬细胞分泌,它可以结合其受体TNFRSF1A/TNFR1和TNFRSF1B/TNFR2,从而通过其受体发挥作用。诱导型前列腺素-内过氧化物合酶(PTGS2),也称为环氧合酶COX-2,是花生四烯酸转化为前列腺素的关键酶,正常生理状况下,在大多数组织细胞不表达,但在炎症等病理反应过程中,其表达迅速上调,同时COX-2在人类致癌作用中起作用,并在前列腺癌组织中过度表达^[15]。实验结果显示,BPH大鼠前列腺组织中PTGS2 mRNA水平显著上升^[16]。ESR1是雌激素 α 受体,前列腺在发育期和成年期会表达雌激素受体基因ESR1和ESR2,ESR1中XbaI和Pvu两个位点具有多态性特征,该位点可促使中老年男性前列腺组织增生,有癌变风险^[17]。在晚期前列腺癌患者中经常观察到血清IL-6水平升高。然而,IL-6调节的确切机制在很大程度上仍然未知^[18]。

本文采用UPLC-Q-TOF/MS和网络药理学相结合的研究方法,探索了通爽方治疗BPH的潜在有效成分和作用机制,可为通爽方的质量控制、药效物质基础及作用机制研究提供参考,但网络药理学预测为理论研究,数据库收录有限,君药蜈蚣含有大量蛋白质和脂肪酸,UPLC-Q-TOF/MS未能检测出其成分,研究结果仍存在一定的局限性。因此,后续还需通过体内外活性评估和药理试验验证有效性,从而为新药研发奠定基础。

参考文献

[1] 陈元, 聂诗忠, 李漾明. 自拟蜈蚣汤治疗前列腺肥大所致癃闭[J].

中国民族民间医药杂志, 2005, 14(4): 230.

- [2] 贺奥城, 郎一帆, 黄智超, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS的显齿蛇葡萄化学成分分析[J]. 中药材, 2024, 47(8): 1986-1994.
- [3] CHEN S, LI M H, ZHENG G Y, et al. Metabolite profiling of 14 Wuyi rock tea cultivars using UPLC-QTOF MS and UPLC-QqQ MS combined with chemometrics[J]. *Molecules*, 2018, 23(2): 104.
- [4] 韩沙沙, 郑伟, 南易, 等. 基于UHPLC-Q-TOF/MSE技术分析武夷岩茶的化学成分[J]. 现代食品科技, 2022, 38(6): 234-247, 190.
- [5] 蔡嵘鑫. 基于UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS技术研究中药酚酸RAF抗氧化机制[D]. 广州: 广州中医药大学, 2020.
- [6] 孙志, 赵灵灵, 左莉华, 等. UHPLC-Q-Orbitrap HRMS鉴定丹通脑胶囊中多种化学成分[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(2): 191-199.
- [7] 刘琛. 樟属传统药物肉桂、桂枝和锡兰肉桂整体质量控制研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2020.
- [8] 卢洋, 邓小惠, 吴梦瑶, 等. 基于UPLC-Q-Orbitrap-HRMS技术的葛根-丹参药对化学成分分析[J]. 中南药学, 2024, 22(9): 2380-2386.
- [9] 晏露婷, 宋永贵, 艾志福, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术结合多元统计分析比较不同品种牛膝药材化学成分的差异[J]. 中草药, 2024, 55(7): 2160-2174.
- [10] 闫占宽, 张敏, 刘钦伟, 等. 五神汤化学成分鉴定及京尼平苷酸、秦皮甲素、咖啡酸、木犀草苷、 β -蜕皮甾酮和毛蕊花糖苷定量检测[J]. 药物评价研究, 2023, 46(5): 1047-1056.
- [11] 陈可点, 马兆臣, 蔡冰冰, 等. 基于UHPLC-Q Exactive Orbitrap HRMS的如意珍宝丸体内外成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(24): 78-84.
- [12] HSIN K Y, GHOSH S, KITANO H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83922.
- [13] SZKLARCZYK D, MORRIS J H, COOK H, et al. The STRING database in 2017: quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(d1): D362-D368.
- [14] 李晓石, 李世宾, 刘芬. 基于网络药理学研究茵陈治疗良性前列腺增生症的作用机制[J]. 天津医科大学学报, 2023, 29(6): 604-608, 621.
- [15] SHAHEDI K, LINDSTRÖM S, ZHENG S L, et al. Genetic variation in the COX-2 gene and the association with prostate cancer risk[J]. *International Journal of Cancer*, 2006, 119(3): 668-672.
- [16] 池宁娟, 刘明义, 冯娟, 等. 如意金黄贴对良性前列腺增生大鼠TGF β 1、PTGS2 mRNA及相关蛋白的影响[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(19): 4831-4834.
- [17] 陈少峰, 耿强, 赵丰, 等. 当归贝母苦参丸治疗良性前列腺增生的作用机制研究[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2022, 55(6): 23-30.
- [18] SHIDA Y, IGAWA T, HAKARIYA T, et al. p38MAPK activation is involved in androgen-independent proliferation of human prostate cancer cells by regulating IL-6 secretion[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2007, 353(3): 744-749.

(收稿日期: 2025-01-12) 编辑: 齐娅汝