

国家中药复方专利内治卵巢囊肿的用药规律与作用机制研究[△]

张凯民^{1*}, 萧绮俐², 郭桢玉³, 邓嘉颖⁴, 周慧萍⁵, 周子添⁶, 王君玉⁴, 黄江鑫⁷, 凌静⁸, 刘瑾^{8#} (1. 广州中医药大学第五临床医学院, 广州 510405; 2. 广州中医药大学第二临床医学院, 广州 510405; 3. 广州中医药大学第一临床医学院, 广州 510405; 4. 广州中医药大学公共卫生与管理学院, 广州 510006; 5. 广州中医药大学佛山临床医学院, 广东 佛山 528000; 6. 广州中医药大学第四临床医学院, 广州 510006; 7. 广州中医药大学针灸康复临床医学院, 广州 510006; 8. 深圳市中医院妇科, 广东 深圳 518033)

中图分类号 R932;R984

文献标志码 A

文章编号 1672-2124(2025)02-0165-08

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2025.02.009



摘要 目的:基于国家知识产权局专利数据库,系统分析内服中药复方专利治疗卵巢囊肿(OC)的用药规律及作用机制,并结合细胞实验验证相关结果。方法:筛选专利文献,构建中药复方数据集,分析得到核心药物。利用中药系统药理学数据库与分析平台和 GeneCards 数据库获取活性成分和靶点,通过 STRING 数据平台和 UniProt 数据库标准化处理。使用 Veeney 平台得到交集靶点,使用 Cytoscape 软件绘制网络图,使用 STRING 数据平台获取蛋白质-蛋白质相互作用网络,使用 Metascape 数据库进行富集分析,使用 AutoDockTools 软件进行分子对接,采用细胞增殖-毒性检测法检测细胞存活率,采用蛋白质印迹法检测蛋白表达量。结果:(1)纳入 104 篇专利文献,含 104 首处方和 351 种中药,确定三棱、莪术、当归、桃仁为核心药物。(2)筛选出 38 个治疗 OC 的交集靶点,关键活性成分包括刺芒柄花素、 β -谷甾醇和豆甾醇。核心靶点为前列腺素内酰胺合酶 2 (PTGS2)、半胱天冬酶 3 (CASP3)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)。基因本体功能富集分析得到激素反应、细胞器外膜及蛋白质结构域特异性结合等生物过程、分子功能及细胞组分。京都基因与基因组百科全书通路富集分析显示,白细胞介素 17、晚期糖基化终末产物 (AGE)-AGE 受体为主要信号通路。分子对接显示,活性成分与靶点蛋白结合稳定。(3)刺芒柄花素浓度为 20~80 $\mu\text{mol/L}$ 时对人卵巢颗粒细胞 (KGN) 无毒性,浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 时细胞存活率下降。与模型组 (5 $\mu\text{g/mL}$ 的脂多糖,孵育 12 h) 比较,刺芒柄花素组 (低、中、高剂量组) PTGS2、CASP3 蛋白表达显著降低 ($P<0.05$),刺芒柄花素高剂量组 PPARG 表达升高 ($P<0.05$),差异均有统计学意义。结论:通过数据挖掘分析发现,内治 OC 的中药复方专利多为活血行气、化痰消积类药物,其关键活性成分刺芒柄花素、 β -谷甾醇与豆甾醇主要作用于 PTGS2、CASP3 和 PPARG 等核心靶点;刺芒柄花素浓度在 20~80 $\mu\text{mol/L}$ 时对 KGN 细胞无明显生物毒性;刺芒柄花素能有效控制 KGN 细胞中靶点 PTGS2、CASP3 和 PPARG 的蛋白表达,以发挥治疗 OC 的功效。

关键词 卵巢囊肿; 中药复方专利; 数据挖掘; 网络药理学; 分子对接; 刺芒柄花素; 人卵巢颗粒细胞

Medication Rules and Mechanism of Internal Therapy of Traditional Chinese Medicine Compound Patents in the Treatment of Ovarian Cysts[△]

ZHANG Kaimin¹, XIAO Qili², GUO Zhenyu³, DENG Jiaying⁴, ZHOU Huiping⁵, ZHOU Zitian⁶, WANG Junyu⁴, HUANG Jiangxin⁷, LING Jing⁸, LIU Jin⁸ (1. The Fifth Clinical Medical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 2. the Second Clinical Medical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 3. the First Clinical Medical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 4. School of Public Health and Management, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 5. Foshan Clinical Medical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangdong Foshan 528000, China; 6. the Fourth Clinical Medical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 7. Clinical Medical College of Acupuncture and Rehabilitation, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 8. Dept. of Gynecology, Shenzhen Traditional Chinese Medicine Hospital, Guangdong Shenzhen 518033, China)

[△] 基金项目:广东省中医药局科研项目 (No. 20212197);深圳市“医疗卫生三名工程”项目资助 (No. SZZYSM202211006)

* 在读本科生。研究方向:肿瘤类、妇科类疾病的中医药研究。E-mail:marschueng@stu.gzucm.edu.cn

通信作者:主治医师。研究方向:生殖健康与生殖障碍的中医药研究。E-mail:345972193@qq.com

ABSTRACT **OBJECTIVE:** Based on the patent database of the China National Intellectual Property Administration, to systematically analyze the medication rules and mechanism of internal therapy of traditional Chinese medicine compound patents in the treatment of ovarian cysts (OC), so as to validate the relevant results through cell experiments. **METHODS:** The patent literature was screened to construct the data set of traditional Chinese medicine compound patents and obtain the core drugs after analysis. The Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform and GeneCards database were used to obtain active components and targets, STRING and UniProt were used to conduct standardized processing. Veeny was used to obtain intersecting targets, Cytoscape was used to draw the network, STRING was used to obtain protein-protein interaction network, Metascape was used to conduct enrichment analysis, AutoDockTools was used to conduct molecular docking, CCK-8 method was used to measure the cell viability and Western blotting was used to measure protein expression quantity. **RESULTS:** (1) A total of 104 patent studies including 104 formulas and 351 traditional Chinese medicine were enrolled, so that *Sparganii rhizoma*, *Curcumae rhizoma*, *Angelicae sinensis radix*, and *Persicae semen* were identified as the core drugs. (2) A total of 38 intersecting targets for the treatment of OC were screened out, the key active components included formononetin, β -sitosterol and stigmasterol. The core targets were PTGS2, CASP3 and PPARG. Biological processes, molecular functions and cellular components such as hormone response, organelle outer membrane and protein structural domain-specific binding were obtained from the Gene Ontology functional enrichment analysis. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway enrichment analysis indicated that interleukin 17 and advanced glycosylation end product (AGE)-AGE receptor were the major signaling pathways. Molecular docking indicated stable binding between active ingredient and target protein. (3) Formononetin showed no toxicity to KGN cells at the concentration of 20 $\mu\text{mol/L}$ to 80 $\mu\text{mol/L}$, while the cell survival rate decreased at the concentration of 100 $\mu\text{mol/L}$. Compared with the model group (5 $\mu\text{g/mL}$ of LPS, incubated for 12 h), the protein expression of PTGS2 and CASP3 reduced significantly ($P<0.05$) in the formononetin group (low, medium and high dose groups), and the expression of PPARG increased in the formononetin high-dose group ($P<0.05$), with statistically significant differences. **CONCLUSIONS:** Data mining analysis reveals that the internal therapy of most traditional Chinese medicine compound patents for the treatment of OC are drugs of blood-activating and Qi-promoting, stasis-eliminating and stagnation-removing, and the key active components including formononetin, β -sitosterol and stigmasterol mainly acts on the core targets such as PTGS2, CASP3 and PPARG. Formononetin shows no obvious toxicity to KGN cells at the concentration of 20 $\mu\text{mol/L}$ to 80 $\mu\text{mol/L}$. Formononetin can effectively control the protein expression of PTGS2, CASP3 and PPARG in KGN cells to fulfill the efficacy of OC treatment.

KEYWORDS Ovarian cysts; Traditional Chinese medicine compound patents; Data mining; Network pharmacology; Molecular docking; Formononetin; Human ovarian granulosa cells

卵巢囊肿(ovarian cysts, OC)是指卵巢内或其表面形成的液体或固态(如肿瘤)填充的囊状结构,为妇科常见病,多见于育龄期女性^[1]。西医认为,OC多为良性,部分功能性OC可能伴随月经不调等症状,但这些症状多数会自然消失,对于具有潜在恶性风险的OC则需通过手术进行治疗^[1]。中医认为,OC为有形之包块,属于“癥瘕”的范畴,治疗以利水消肿、活血理气为主^[2]。《卵巢囊肿诊治中国专家共识》认为,中医药可作为治疗OC的有效药物选择^[1]。不同医家在遣方用药上存在差异,且尚未见利用国家专利数据库作为数据来源探讨中药内治OC的相关研究。因此,本研究基于国家专利数据库中内治OC的中药复方专利,进行数据挖掘与作用机制分析,以期临床内治OC提供参考。

1 资料与方法

1.1 资料来源

登录国家知识产权局主办的“专利检索及分析”平台(<https://pss-system.cponline.cnipa.gov.cn/>),在高级检索界面的检索范围中选择“发明”,在“发明名称”中输入“(黄体囊肿 OR 卵泡囊肿 OR 卵巢囊肿 OR 卵巢肿瘤) AND (中药 OR

方剂 OR 中药复方 OR 中医)”,检索时间为建库至2024年8月20日,最后进行专利查询并整合检索结果。

1.2 纳入与排除标准

(1)纳入标准:治疗OC的中药复方专利;有具体中药组成。(2)排除标准:非治疗人类OC的中药复方专利;非内服的中药复方专利;专利复方中组成不明确者;中药复方专利中的药物均未被《中药学》^[3]、《中药大辞典》^[4]、《中华本草》^[5]、《中华人民共和国药典:一部》(2020年版)^[6]收录;组方相同的中药复方专利,只录入1次。

1.3 数据统一与录入

将文献中的处方进行整理录入,建立数据库,并由双人进行筛选校对、第三者进行审核处理。依据《中药学》^[3]、《中药大辞典》^[4]、《中华本草》^[5]、《中华人民共和国药典:一部》(2020年版)^[6]的命名标准,将本研究中涉及的中药名称进行统一规范。如“土元”“地鳖”规范为“土鳖虫”等,药性“微寒”等归为“寒”等,药味“微苦”等归为“苦”等进行统计。

1.4 数据挖掘分析

应用WPS表格软件和SPSS Statistics 26.0软件分别进行

中药频次、性味归经的分析和高频中药的相关性分析(相关性分析可在一定程度上反映2个事物之间的相关程度),并使用 Hiplot[™] 生物医学可视化平台(<https://hiplot.com.cn>)可视化相关分析结果;应用 SPSS Modeler 18.0 软件进行关联规则分析,并使用 Cytoscape 3.10.0 软件可视化关联规则分析结果。最终,根据数据挖掘结果获得核心药物。

1.5 网络药理学分析

1.5.1 药物活性成分与作用靶点:在中药系统药理学数据库与分析平台(<https://old.tcm-sp-e.com>)中输入核心药物名称,以口服生物利用度(OR)≥30%、类药性(DL)≥0.18 为标准筛选活性成分,并得到其潜在作用靶点,再通过 STRING 数据平台(<https://cn.string-db.org>)和 UniProt 数据库(<https://uniprot.org>)对潜在作用靶点进行标准化处理。

1.5.2 疾病靶点:在 GeneCards 数据库(<https://genecards.org>)中输入“Ovarian Cysts”作为关键词检索疾病靶点。

1.5.3 药物-疾病交集靶点和核心药物-活性成分-交集靶点网络图:在 Veeney 2.1.0 平台(<https://bioinfo.p.cn.b.csic.es/tools/venny/>)导入核心药物活性成分作用靶点与疾病靶点,得到交集靶点。使用 Cytoscape 3.10.0 软件,将核心药物、活性成分、交集靶点等结果导入,进行数据分析,并导出“核心药物-活性成分-交集靶点”网络图与关键活性成分。

1.5.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)构建及核心靶点:在 STRING 数据平台中导入交集靶点,进行如下设置,选择“Multiple proteins”,物种选择“Homo sapiens”,将 minimum required interaction score 设置为 medium confidence(0.400),隐藏孤立蛋白,得到 PPI 文件,将 PPI 网络文件导入 Cytoscape 3.10.0 软件进行 PPI 网络图的绘制,并根据度值分析核心靶点。

1.5.5 富集分析:通过 Metascape 数据库(<http://metascape.org>),以 $P<0.01$ 作为筛选标准,对交集靶点进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析,获取相关细胞组分(CC)、生物过程(BP)、分子功能(MF)以及 KEGG 通路等信息。并将富集结果导入 Hiplot[™] 生物医学可视化平台进行相关图片的绘制。

1.6 分子对接验证

通过 Protein Data Bank 数据库(<http://www.rcsb.org/>)下载核心靶点蛋白的晶体结构文件,使用 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)获取关键活性成分结构文件,使用 PyMol 3.0.3 软件对下载的核心靶点蛋白的非目标基因多肽链进行“remove”处理和删除无关小分子配体,最后导入 AutoDockTools 1.5.7 软件,在“去水”“加氢”后进行分子对接分析。

1.7 细胞实验

1.7.1 细胞:人卵巢颗粒细胞(KGN),购自武汉普诺赛生命科技有限公司,批号为 CL-0603。在 37℃、5%CO₂、饱和湿度条件下,使用 KGN 细胞专用培养基进行细胞培养,细胞贴壁生长,取第3代处于对数生长期且状态稳定的细胞进行实验。

1.7.2 药物:根据网络药理学与分子对接结果,选择刺芒柄花素作为治疗药物。刺芒柄花素(成都德思特生物技术有限

公司,货号:DM0011,纯度≥98%)。

1.7.3 主要仪器与试剂:KGN 细胞专用培养基、0.25%胰蛋白酶溶液(武汉普诺赛生命科技有限公司,货号:CM-0603、PB180226);增强型细胞活力检测试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,货号:E-CK-A362);兔抗前列腺素内酰胺合酶(PTGS)2 抗体、兔抗过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG) 抗体、兔抗半胱天冬酶 3 (CASP3) 抗体及兔抗 GAPDH 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司,货号:#12282、#2435、#9662 及 #2118);抗免疫球蛋白 G 多克隆抗体(英国 Abcam 公司,货号:ab313801);RIPA 裂解液、磷酸盐缓冲溶液、双分磷酸蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号:P0013B、ST447-1L、P0011);十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳制备试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号:P0012A);Amersham Imager 600 型超灵敏化学发光成像仪[通用电气医疗(中国)有限公司];1510 型全波长酶标仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司];E0460 型二氧化碳培养箱(上海碧云天生物技术有限公司)。

1.7.4 实验分组:蛋白质印迹实验分为5组,包括正常组、模型组(5 $\mu\text{g/mL}$ 的脂多糖,孵育 12 h),刺芒柄花素高、中及低浓度组(分别为 80、40、20 $\mu\text{mol/L}$,培养 24 h);细胞增殖-毒性检测(CCK-8)法则分为实验组(含细胞、培养基、CCK-8 溶液和药物);对照组(含细胞、培养基、CCK-8 溶液,不含药物);空白组(含培养基、CCK-8 溶液,不含细胞、药物)。

1.7.5 CCK-8 法检测刺芒柄花素干预 KGN 细胞的给药浓度:取对数生长期 KGN 细胞,在 96 孔细胞培养板中按 5×10^3 个细胞/孔接种,每组 5 个复孔,每孔 100 μL 。在 37℃、5%CO₂、饱和湿度条件下培养 24 h 后给药,实验组根据药物浓度分为 0、20、40、80 及 100 $\mu\text{mol/L}$ 组,给药 24 h 后加入 10 μL 的 CCK-8 试剂,1 h 后测定细胞在 450 nm 波长下的吸光度值。细胞存活率(%)=[(实验组吸光度-空白组吸光度)/(对照组吸光度-空白组吸光度)] $\times100\%$ 。

1.7.6 蛋白质印迹法检测 PTGS2、CASP3 和 PPARG 蛋白表达:使用 RIPA 裂解液裂解细胞,采用 BCA 法测定蛋白浓度。上样,凝胶电泳后将蛋白转膜,用脱脂奶粉封闭 2 h,在 4℃下加一抗孵育过夜,TBST 清洗 3 次后,加入相应二抗(1:1 000)室温(22℃)避光孵育 1 h,TBST 清洗 3 次后显影。使用 Image J 软件进行条带灰度值测定。一抗浓度为 PTGS2(1:1 000)、CASP3(1:1 000)、PPARG(1:1 000)、GAPDH(1:1 000)。

1.7.7 统计学方法:运用 GraphPad Prism 8.0.2 软件对获得数据进行统计学分析与制图。吸光度数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,灰度值数据以各模型组原始数据均值为标准进行归一化处理;采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行统计学分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 数据挖掘结果

2.1.1 中药复方专利检索结果:对检索得到的专利文献去重并根据纳入与排除标准筛选后,共纳入专利文献 104 篇,包含处方 104 首,中药 351 味,总使用频次为 1 524 次。

2.1.2 中药统计分析:根据齐夫定律^[7]可知,高频药物(频次≥5次)共有66种,累计出现1030次,占67.59%。其中用药频次排序居前10位的中药依次为当归、桃仁、莪术、赤芍、三棱、茯苓、桂枝、甘草、黄芪和夏枯草,均为内治OC的常用中药,见表1。药性方面,温性最多,共占36.22%;药味方面,苦(微苦)味最多,共占55.31%;归经方面,以入肝经最多,共占66.27%,见图1(A)。

表 1 高频中药(部分)使用频次统计							
序号	药物	频次数	占比/%	序号	药物	频次数	占比/%
1	当归	43	2.82	6	茯苓	33	2.17
2	桃仁	41	2.69	7	桂枝	28	1.84
3	莪术	39	2.56	8	甘草	27	1.77
4	赤芍	37	2.43	9	黄芪	27	1.77
5	三棱	36	2.36	10	夏枯草	27	1.77

2.1.3 高频中药关联规则分析:使用SPSS Modeler 18.0统计软件中的Apriori算法构建数据模型,设定最低条件支持度为15.0%、最小规则置信度为80.0%、最大前项数为3进行关联规则分析,并使用Cytoscape 3.10.0软件得到关联规则可视化网络图,见图1(B)。结果显示,共得到11种核心药物组合,且提升度均>1,具有统计学意义。分析结果已按置信度百分比排序,发现三棱-莪术-当归的关联程度较强,为重要的药物组合,见表2。

2.1.4 高频中药相关性分析:为了解高频中药之间的关系,

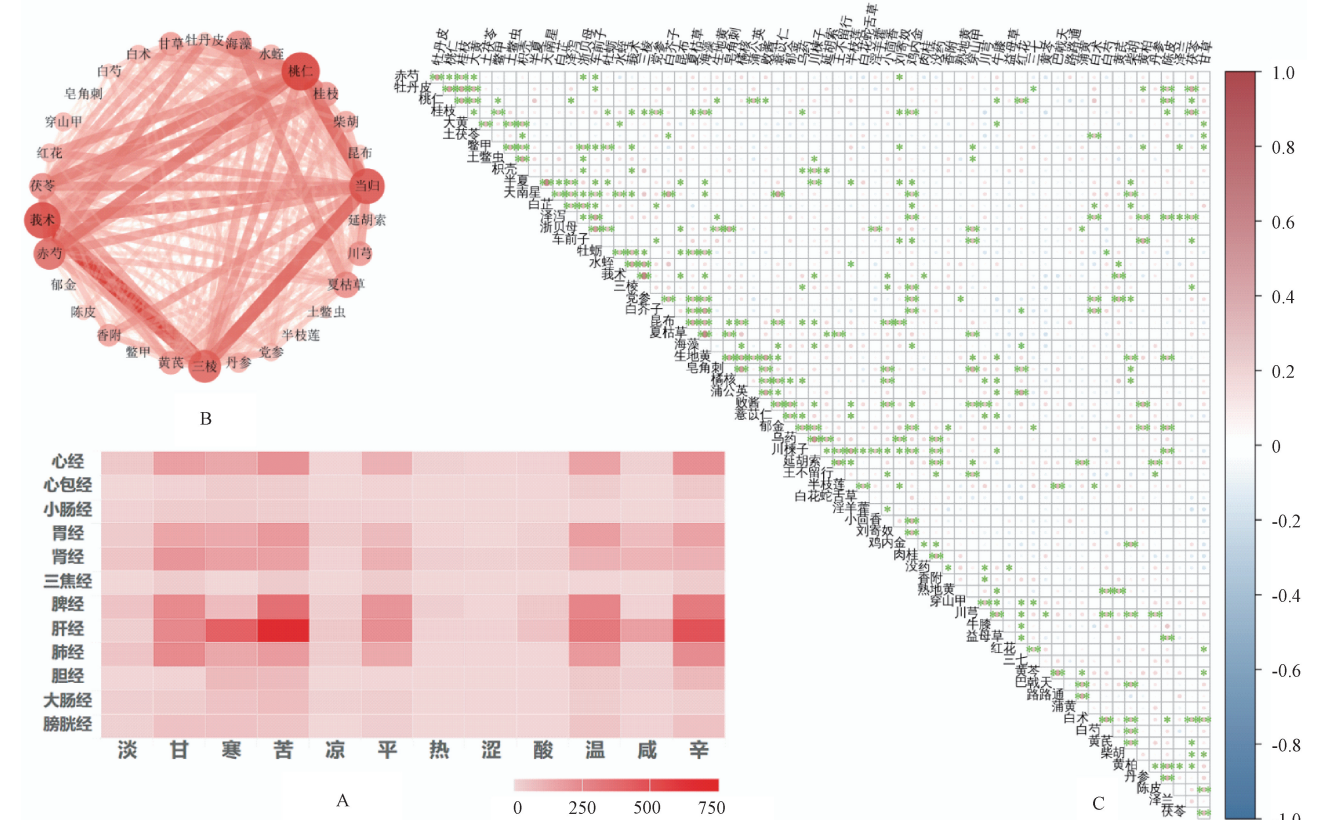
表 2 高频中药(频次≥5次)关联规则分析

后项	前项	支持度/%	置信度/%	增益
三棱	莪术 and 当归	19.42	90.00	2.58
莪术	水蛭 and 三棱	15.53	87.50	2.31
三棱	水蛭 and 莪术	16.50	82.35	2.36
桃仁	牡丹皮 and 赤芍	16.50	82.35	2.07
桃仁	桂枝 and 茯苓	16.50	82.35	2.07
桃仁	牡丹皮	21.36	81.82	2.06
莪术	三棱 and 当归	21.36	81.82	2.16
莪术	茯苓 and 三棱	15.53	81.25	2.15
三棱	茯苓 and 莪术	15.53	81.25	2.32
莪术	三棱 and 桃仁	15.53	81.25	2.15
三棱	莪术 and 桃仁	15.53	81.25	2.32

对高频中药进行相关性分析,依据Pearson相关系数对结果进行排序,得到相关系数较高的有莪术-三棱(相关系数为0.603)、半夏-天南星(相关系数为0.592)等,再结合上文的高频中药分析结果与高频中药关联规则分析结果,选择三棱、莪术、当归、桃仁为核心药物,见表3、图1(C)。

2.2 网络药理学结果

2.2.1 活性成分及靶点筛选结果:根据筛选条件检索、去重,得到潜在活性成分21个,活性成分作用靶点86个,标准化基因86个。核心药物之间的共有活性成分为MOL000449、MOL000358、MOL000296,见表4。通过检索“Ovarian Cysts”得到靶点4239个,选取相关度>中位数(即>2.5379),得到疾病靶点共2120个。将核心药物活性成分作用靶点和疾病靶点



A. 中药性味归经图,横坐标代表药物的性味,纵坐标代表药物的归经,颜色越深则出现频次越高;B. 关联规则可视化网络图,图中连线粗细及深浅代表关联强度的大小,药物圆圈的大小及颜色深浅代表药物频次的高低;C. 高频中药相关性分析,图中圆圈越大、颜色越红、星数越多则 Pearson 相关系数越大。

图 1 数据挖掘部分(性味归经、关联规则分析、相关性分析)

表 3 高频中药(频次≥5 次)相关系数排序居前 10 位的药对

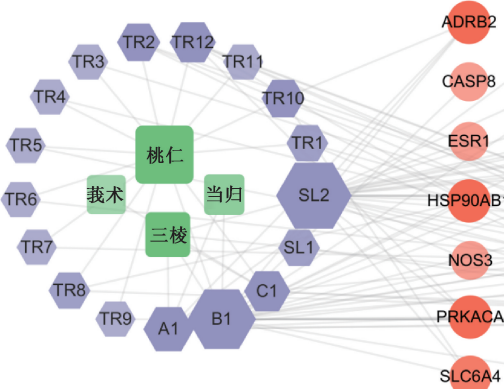
序号	药物组合	相关系数	序号	药物组合	相关系数
1	莪术-三棱	0.603	6	浙贝母-车前子	0.463
2	半夏-天南星	0.592	7	薏苡仁-天南星	0.451
3	夏枯草-海藻	0.589	8	赤芍-牡丹皮	0.449
4	乌药-川楝子	0.510	9	桃仁-牡丹皮	0.447
5	皂角刺-橘核	0.468	10	土鳖虫-枳壳	0.431

表 4 共有活性成分

分子编号	名称	药物	图 2 网络图编号
MOL000449	豆甾醇(stigmasterol)	三棱、当归	A1
MOL000358	β -谷甾醇(beta-sitosterol)	三棱、当归、桃仁	B1
MOL000296	常春藤皂苷元(hederagenin)	三棱、莪术、桃仁	C1

共取交集,筛选出 PTGS1、PTGS2、孕激素受体(PGR)、热休克蛋白 90 α 家族 B 成员 1(HSP90AB1)、磷脂酰肌醇-3-激酶催化亚基 γ (PIK3CG)等 38 个交集靶点。

2.2.2 核心药物-活性成分-交集靶点网络构建与分析:将“2.2.1”项下获得的核心药物、活性成分、交集靶点导入 Cytoscape 3.10.0 软件,生成核心药物-活性成分-交集靶点网络



绿色正方形节点为核心药物;紫色六边形节点为活性成分;六边形越大代表其节点度值越高;红色色圆形节点为交集靶点;节点的圆形尺寸越大、颜色越深,表示其节点度值越高;每条边表示活性成分、交集靶点与核心药物之间的相互作用关系。

图 2 核心药物-活性成分-交集靶点网络图

2.2.3 PPI 的构建:为探究核心药物活性成分与疾病交互部分关键靶点之间的联系,将 38 个交集靶点导入 STRING 数据平台,构建 PPI 网络。将 PPI 数据文件导入 Cytoscape 3.10.0 软件进行 PPI 网络图的绘制,使用“Network Analyzer”工具对 PPI 网络进行拓扑分析,根据度值由高至低排序,发现居前 10 位的靶点包括 PTGS2、半胱天冬酶 3(CASP3)、PPARG、B 细胞淋巴瘤 2(BCL2)、雌激素受体 1(ESR1)、JUN 原癌基因(JUN)、转化生长因子 β 1(TGFB1)、糖原合酶激酶 β 3(GSK3B)、去乙酰化酶 1(SIRT1)、HSP90AB1,见图 3、表 7。

2.2.4 GO 功能与 KEGG 通路富集分析:在 GO 功能富集分析中,根据 P 值筛选出前 10 位的 BP、CC 和 MF 条目,绘制条状图进行展示,见图 4(A)。在 KEGG 通路富集分析中,根据 P 值筛选出前 10 位的通路,通过气泡图进行可视化展示,见图 4(B)。结果显示,核心药物参与的 BP 主要包括激素反应、管状结构发生等;CC 方面主要作用于细胞器外膜、外膜等;在 MF 上主要与蛋白质结构域特异性结合、雌激素反应元件结合等相关;主要涉及白细胞介素 17(IL-17)、晚期糖基化终末产物(AGE)-AGE 受体(RAGE)等信号通路。

图,该图含有 59 个节点、99 条边,经过分析后,取度值排序居前 5 位的活性成分作为关键成分,见表 5—6、图 2。

表 5 核心药物-活性成分-交集靶点网络图中度值排序居前 5 位的活性成分

分子编号	图 2 网络图编号	名称	度值
MOL000392	SL2	刺芒柄花素(formononetin)	26
MOL000358	B1	β -谷甾醇(beta-sitosterol)	21
MOL000449	A1	豆甾醇(stigmasterol)	9
MOL001368	TR12	3-对香豆酰基奎宁酸(3-O-p-coumaroylquinic acid)	6
MOL000296	C1	常春藤皂苷元(hederagenin)	6

表 6 核心药物-活性成分-交集靶点网络图中度值排序居前 5 位的靶点

靶点	靶点名称	闭合中心性	度值
PTGS2	prostaglandin G/H synthase 2	0.552 38	14
PGR	progesterone receptor	0.374 19	7
PTGS1	prostaglandin G/H synthase 1	0.487 39	7
PRKACA	mRNA of PKA catalytic subunit C-alpha	0.456 69	4
HSP90AB1	heat shock protein 90	0.442 75	4

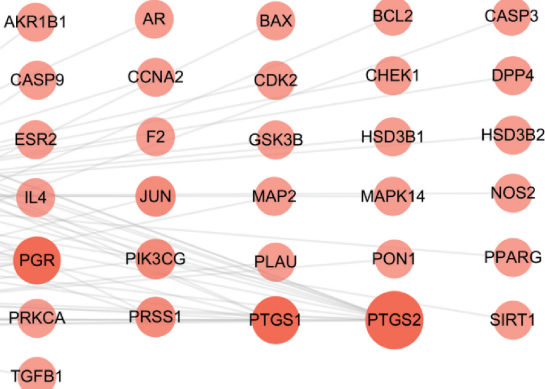


表 7 PPI 网络中度值排序居前 10 位的核心靶点

靶点	靶点名称	度值
PTGS2	prostaglandin G/H synthase 2	28
CASP3	Caspase-3	28
PPARG	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	27
BCL2	apoptosis regulator Bcl-2	27
ESR1	estrogen receptor	27
JUN	transcription factor AP-1	26
TGFB1	transforming growth factor beta-1	25
GSK3B	glycogen synthase kinase-3 beta	24
SIRT1	NAD-dependent deacetylase sirtuin-1	22
HSP90AB1	heat shock protein 90	22

2.3 分子对接结果

将核心药物-活性成分-交集靶点网络分析中度值排序居前 3 位的关键活性成分与 PPI 网络中度值排序居前 3 位的核心靶点进行分子对接验证。由分子对接的结果可知,除了 PPARG(8BF1)与 β -谷甾醇的最小结合能 >-20.92 kJ/mol 外,其余成分的最小结合能均 <-20.92 kJ/mol,表明配体分子与受体蛋白之间结合构象稳定,见表 8。

2.4 细胞实验结果

2.4.1 刺芒柄花素对 KGN 细胞存活率的影响:CCK-8 法结果

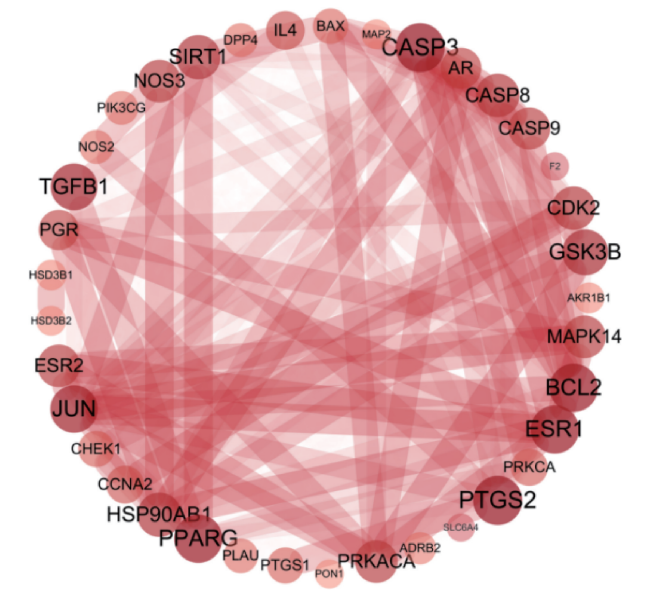
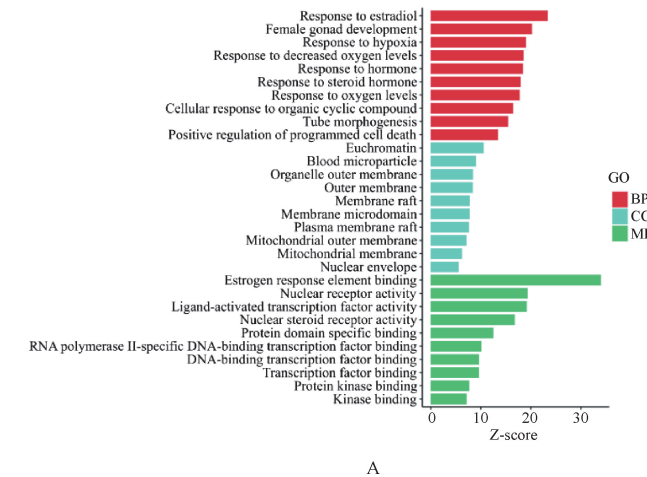


图3 PPI网络图



A. GO 功能富集分析条状图

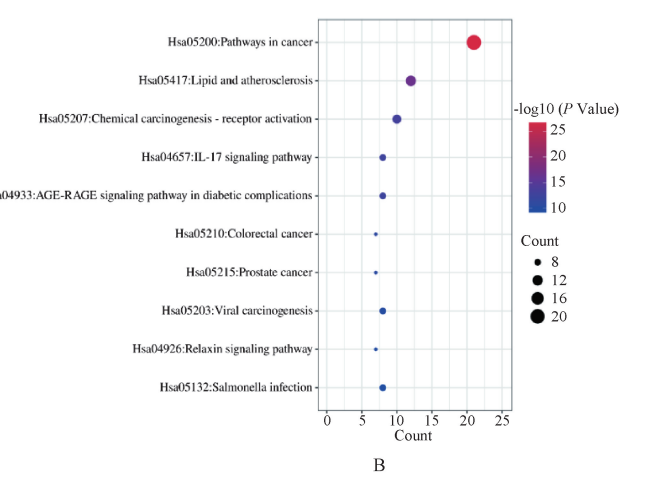
靶点	PDB 编号	结合能/(kJ/mol)		
		刺芒柄花素	β -谷甾醇	豆甾醇
PTGS2	5F19	-22.76	-22.89	-25.65
CASP3	2J33	-29.00	-27.99	-26.90
PPARG	8BF1	-26.82	-19.66	-26.99

显示,刺芒柄花素在 20~80 $\mu\text{mol/L}$ 时对 KGN 细胞并无明显生物毒性;与 0 $\mu\text{mol/L}$ 相比,用药浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 时,KGN 细胞存活率明显降低,见图 5(A)。因此,选择 80、40 及 20 $\mu\text{mol/L}$ 作为药物浓度进行后续实验,分别为高、中及低剂量组。

2.4.2 刺芒柄花素对 KGN 细胞中 PTGS2、CASP3、PPARG 蛋白表达的影响:蛋白质印迹法检测结果表明,与模型组相比,刺芒柄花素治疗组 PTGS2、CASP3 蛋白表达量显著降低,差异有统计学意义 ($P<0.05$),PPARG 蛋白表达量在刺芒柄花素高剂量组中显著升高,差异有统计学意义 ($P<0.05$);其中刺芒柄花素低、中及高剂量组 PTGS2、CASP3 蛋白表达量逐渐降低,PPARG 蛋白表达量逐渐升高,见图 5(B—C)。

3 讨论

OC 为妇科常见病,全球约有 7% 的女性在其一生中患此病^[8]。西医对 OC 的治疗手段多为手术治疗^[1]。但手术治疗



B. KEGG 通路富集分析气泡图。

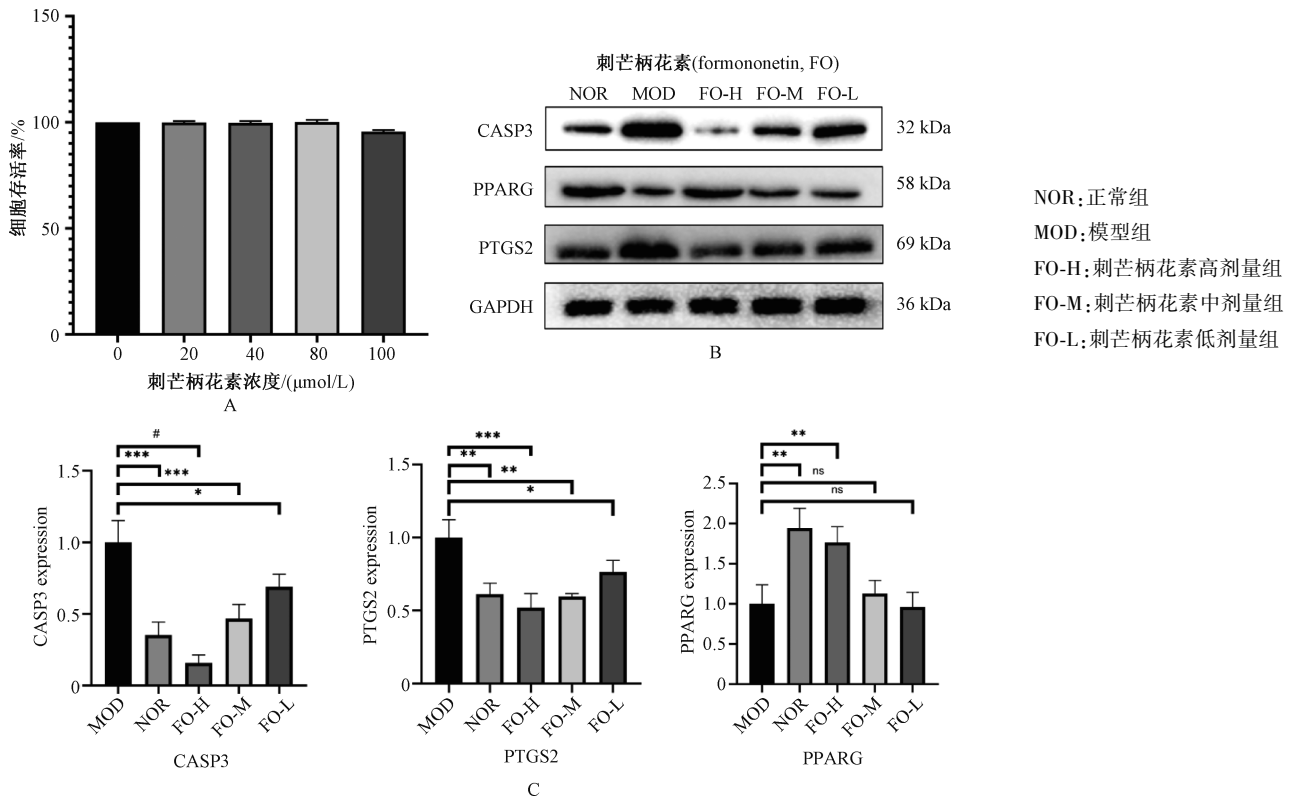
图4 富集分析结果

可能会引起严重的不良反应,如卵巢功能不全或衰竭等问题^[8]。药物在 OC 的治疗中具有主要地位,并且中医药在一定程度上弥补了 OC 从早期小病灶向手术期病灶转变过程中“窗口期”治疗的不足^[9]。因此,本研究旨在系统挖掘内治 OC 的国家中药复方专利用药规律,深入探讨其潜在的分子机制,并验证其治疗 OC 的相关理论。

本研究对 104 条中药复方专利中的 351 味中药进行了分析,结果显示,使用频次 ≥ 5 次的高频中药共有 66 味,累计出现 1 030 次,占总频次数的 67.59%。对药物的性味归经进行分析发现,治疗 OC 的中药以苦(微苦)味药为主,其次为辛味药;药性以温性居多;主要入肝经和脾经。中医理论认为,苦味药具有清泄、燥湿、坚阴之效,辛味药具有行气、发散、活血之功^[3]。OC 的病因主要在于肝脾失调、痰瘀交阻,因此,治疗的关键在于活血祛瘀、疏肝健脾^[2]。由此可见,苦、辛味及入肝、

脾经等中药的应用与 OC 的病机高度契合,也符合中医药治疗该病的原则。关联规则分析结果表明,“三棱-莪术-当归”这一组合具有较强的关联性。三棱味辛、苦,性平,具有破血行气、消积止痛的功效;莪术味辛、苦,性温,具有行气破血、消积止痛的功效;当归味甘、辛,性温,具有补血活血、调经止痛的功效^[3]。提示临床用药时可以此组合为基础进行加减调整。结合高频中药的分析结果与相关性分析的综合考量,最终选定三棱、莪术、当归、桃仁作为核心药物。上述 4 药均为活血之要药,合用可共奏活血行气、化瘀消积的功效,证明此选方(三棱、莪术、当归、桃仁)的正确性。

为深入探索核心药物治疗 OC 的潜在作用机制,本研究通过结合网络药理学与分子对接对核心药物进行系统性分析^[10]。推测核心药物中的活性成分主要为刺芒柄花素、 β -谷甾醇与豆甾醇等,并通过 IL-17、AGE-RAGE 等多条信号通路对



A. 刺芒柄花素对 KGN 细胞存活率的影响($n=5$); B. 靶点 PTGS2、CASP3 和 PPARG 在各组 KGN 上的蛋白表达水平; C. 靶点 PTGS2、CASP3 和 PPARG 在 KGN 上的蛋白表达量,与模型组相比, * $P<0.05$, # $P<0.0001$, $^{ns}P>0.05$ 。

图 5 细胞实验结果

治疗 OC 的核心靶点 PTGS2、CASP3 和 PPARG 等发挥抗炎、抗肿瘤作用。由上述分析可知,核心药物在治疗 OC 的过程中,通过多分子调控多个信号通路,涉及多种 BP,展现出极为复杂的机制。这一治疗过程不仅涵盖了 BP、MF 及 CC 等多个层面,还体现了各作用通路之间的相互影响和协同作用。这种多层次、全方位的治疗方式,与中医所倡导的整体观念高度一致。

研究指出,刺芒柄花素具有多种生物活性,包括抗炎和抗肿瘤作用^[11-12]。Porter 等^[13]进一步揭示了 CASP3 的过表达可能会影响细胞凋亡过程,从而促进肿瘤细胞的快速增殖。有研究表明,在卵巢肿瘤患者中,PTGS2 的表达显著增加,并且其高表达通常与卵巢肿瘤的不良预后密切相关^[14]。PPARG 激动剂能够上调 PPARG 的表达,从而抑制肿瘤干细胞的存活^[15-18]。基于以上研究结果,推测刺芒柄花素可能通过与 PTGS2、CASP3 和 PPARG 等关键靶点的相互作用,发挥其抗炎功效,从而达到治疗 OC 的目的。

因此,本研究基于上述内容进行细胞实验并予以验证。细胞实验结果显示,刺芒柄花素浓度在 20~80 $\mu\text{mol/L}$ 时对 KGN 细胞并无明显生物毒性,且其在此剂量范围内可显著下调 KGN 细胞内靶点 PTGS2、CASP3 的蛋白表达量与上调靶点 PPARG 的蛋白表达量,与前文所述的相关研究相符合^[11-18],表明刺芒柄花素可通过控制 KGN 细胞内 PTGS2、CASP3 和 PPARG 蛋白表达,进而抑制 KGN 细胞的快速增殖与存活,最终达到治疗 OC 的目的。

综上所述,通过数据挖掘发现内治 OC 的国家中药复方专

利常用三棱、莪术、当归和桃仁等药物。网络药理学分析发现,以上药物主要通过刺芒柄花素 β -谷甾醇、豆甾醇等关键活性成分作用于 PTGS2、CASP3 和 PPARG 等靶点,发挥抗炎、抗肿瘤作用。细胞实验证实了刺芒柄花素能有效控制 KGN 细胞中靶点 PTGS2、CASP3 和 PPARG 蛋白表达,以达到治疗 OC 的目的。本研究存在一定的局限性,只通过体外实验验证了相关结论,方法较为单一,但以上数据及分析仍可为后续相关研究提供参考。

参考文献

- [1] 中国医师协会妇产科医师分会妇科肿瘤学组. 卵巢囊肿诊治中国专家共识(2022 年版)[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2022, 38(8): 814-819.
- [2] 尤俊文, 贾孟辉. 桂枝茯苓丸联合加味逍遥丸对单纯性卵巢囊肿患者的临床疗效[J]. 中成药, 2019, 41(11): 2651-2655.
- [3] 唐德才等. 中药学[M]. 北京:人民卫生出版社,2021: 1-389.
- [4] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2014: 1-3875.
- [5] 王笑频等. 中华本草[M]. 北京:人民卫生出版社,2023: 1-5291.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2020 年版. 北京:中国医药科技出版社,2023: 1-404.
- [7] 杨明. 保胎中药用药规律及保胎方药对作用机制研究[D]. 广州:广州中医药大学,2019.
- [8] 刘秀, 刘海元, 史宏晖, 等. 妇科单孔腹腔镜卵巢囊肿剔除术对卵巢功能的影响[J]. 中华腔镜外科杂志(电子版), 2016, 9(6): 375-377.

(下转第 175 页)