

基于网络药理学和分子对接探讨苗药土大黄防治功能性子宫出血的作用机制

卢旭¹, 李玲², 张宁^{1,2*}

1. 贵州中医药大学 药学院, 贵州 贵阳 550025

2. 贵州中医药大学第一附属医院, 贵州 贵阳 550001

摘要: **目的** 利用网络药理学和分子对接的方法探讨苗药土大黄防治功能性子宫出血(DUB)的潜在作用机制。**方法** 基于文献研究筛选得到土大黄主要活性成分,利用 Swiss Target Prediction 平台预测土大黄的作用靶点,利用 OMIM、DrugBank、DisGeNet、GeneCards 数据库确定 DUB 的疾病靶点,并通过 Venny 2.1.0 在线工具将其与土大黄靶点取交集后获得土大黄防治 DUB 的潜在作用靶点;在 STRING 数据库进行蛋白互作网(PPI)分析,结合 Cytoscape 3.8.2 软件筛选关键靶点。将筛选得到的交集靶点导入 DAVID 数据库进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析。最后运用 AutoDock Tools 软件将筛选出的关键成分与关键靶点进行分子对接验证。**结果** 结合文献研究与 Swiss Target Prediction 平台筛选得到药物活性成分 26 个,药物靶点 392 个,疾病靶点 436 个,共同靶点 74 个;经 PPI 及网络拓扑分析后,获取核心靶点 7 个,分别是信号转导和转录激活因子 3(STAT3)、原癌基因酪氨酸蛋白激酶(SRC)、磷酸肌醇 3-激酶调节亚基 1(PIK3R1)、磷脂酰肌醇 3-激酶催化亚基 α (PIK3CA)、雌激素受体(ESR1)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1(AKT1)、转录因子 p65(RELA);经活性成分-核心靶点网络的构建及网络拓扑分析,得到土大黄防治 DUB 主要活性成分 9 个,分别是槲皮素、阿魏酸、豆蔻酸、羟基大黄素、决明子、大黄素甲醚、委陵菜酸、大黄酚、3,4-二羟基苯甲酸乙酯;GO 富集到基因功能 303 个($P<0.01$),KEGG 富集到基因通路 122 条($P<0.01$),结果表明,土大黄防治 DUB 的作用机制是通过调节低氧诱导因子-1(HIF-1)、磷酸化磷脂酰肌醇-3-激酶(p-PI3K)-蛋白激酶 B(Akt)等信号通路来发挥防治 DUB 的作用。分子对接验证结果显示,关键活性成分与核心靶点均可自发结合。**结论** 初步揭示了土大黄防治 DUB 的有效成分和可能的作用机制,并为深入研究药效物质基础、作用机制以及临床应用提供了科学参考。

关键词: 苗药土大黄;功能性子宫出血;网络药理学;分子对接;转录激活因子 3;原癌基因酪氨酸蛋白激酶;磷酸肌醇 3-激酶调节亚基 1

中图分类号: R285.5; R984

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2023)07-1597-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.07.007

Study on the mechanism of prevention and treatment of functional uterine bleeding by *Rumei Radix et Rhizoma* based on network pharmacology and molecular docking analysis

LU Xu¹, LI Ling², ZHANG Ning^{1,2}

1. College of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

2. The First Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, China

Abstract: **Objective** To explore the potential mechanism of *Rumei Radix et Rhizoma* in prevention of functional uterine bleeding(DUB) by network pharmacology and molecular docking methods. **Methods** The main active components of *Rumei Radix et Rhizoma* were screened based on literature study. The Swiss Target Prediction platform was used to predict the target of DUB, and the disease target was determined by OMIM, DrugBank, DisGeNet and GeneCards databases. The potential target of DUB control of *Rumei Radix et Rhizoma* was obtained by intersection of DUB target and *Rumei Radix et Rhizoma* target through Venny 2.1.0 online tool. Protein interaction network (PPI) analysis was performed on STRING database, combined with Cytoscape 3.8.2 software to screen key targets. The selected intersection targets were imported into DAVID database for GO biological function and KEGG enrichment analysis. Finally, AutoDock Tools software was used to verify the molecular docking between the selected key components

收稿日期: 2023-05-15

基金项目: 贵州省教育厅自然科学研究项目(黔教合 KY 字[2021]203)

作者简介: 卢旭, 女, 主要研究方向为中药及民族药的基础研究与开发。E-mail: 2764572801@qq.com

*通信作者: 张宁, 女, 副主任药师, 硕士生导师, 主要研究方向为中药及民族药的基础研究与开发。E-mail: znzyfy@163.com

and key targets. **Results** Based on literature study and Swiss Target Prediction platform, 26 drug active ingredients, 392 drug targets, 436 disease targets, and 74 common targets were identified. After protein interaction analysis (PPI) and network topology analysis, 7 core targets were obtained, which were STAT3, SRC, PIK3R1, PIK3CA, ESR1, AKT1, and RELA. Through the construction of the active ingredient-core target network and network topology analysis, 9 main active ingredients of *Rumei Radix et Rhizoma* control DUB were obtained. They are quercetin, ferulic acid, myrianthric acid, citreorosein, torachrysone, physcion, tormentic acid, chrysophanol, ethyl 3,4-dihydroxybenzoate; GO enriched 303 gene functions ($P < 0.01$), KEGG enriched 122 gene pathways ($P < 0.01$). The results showed that the mechanism of DUB prevention and control was through the regulation of HIF-1, PI3K-Akt and other signaling pathways. The results of molecular docking showed that both the key active ingredient and the core target could spontaneously bind. **Conclusion** This study preliminarily revealed the effective components and possible mechanism of action of *Rumei Radix et Rhizoma* in the prevention and treatment of DUB, and provided scientific reference for further study on the basis of effective substances, mechanism of action and clinical application.

Key words: *Rumei Radix et Rhizoma*; functional uterine bleeding; network pharmacology; molecular docking; STAT3; SRC; PIK3R1

功能失调性子宫出血 (DUB) 又称功能性子宫出血或功血, 是由于下丘脑-垂体-卵巢轴异常引起神经内分泌功能失调, 影响体内雌孕激素水平, 导致的非正常子宫出血^[1]。DUB 是一种临床常见妇科疾病, 占 10%~15%, 50% 发生在更年期, 30% 发生在生育期, 20% 发生在青春期。目前临床治疗 DUB 以止血为主要目标, 常用的办法是刮宫加激素治疗, 通过刮宫达到快速止血的目的^[2], 辅以对患者内分泌的调理, 在疗效和康复方面不能令人满意, 只能暂时性地压制临床症状的发展或者恶化, 常因防治不彻底导致复发, 因此亟需疗效确切的治疗药物。

苗药土大黄为蓼科植物尼泊尔酸模 *Rumex nepalensis* Spreng.、齿果酸模 *Rumex dentatus* L. 或羊蹄 *Rumex japonicus* Hoult. 的新鲜或干燥根及根茎, 苗药名“锐马欲”。药用始载于《神农本草经》: “味苦, 寒; 主头秃疥瘙, 除热女子阴蚀”。贵州少数民族及民间应用较多, 2022 年 7 月被收载于贵州苗族等少数民族药材目录 (第一批)。苗药土大黄味苦, 性寒, 具有清热解暑、止血收敛、杀菌止痒的功效, 临床用于防治热型痰、黄疸、便秘、疥疮、疥癣和多种出血症等疾病^[3-4], 对 DUB 有独特的防治作用^[5]。土大黄主要化合物包括蒽醌类、黄酮类、二苯乙烯类、萜及萜醌类成分^[4]。目前, 对于土大黄防治 DUB 研究及作用机制研究比较欠缺。本研究采用网络药理学结合分子对接技术初步探索土大黄对 DUB 的防治作用和可能的作用机制, 筛选并获得土大黄防治 DUB 的有效活性成分及作用靶点, 为其后续研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 土大黄活性成分及靶点筛选

由于中药系统药理学数据库与分析平台

(TCMSP) 数据库未收录“土大黄”, 查阅相关文献收集土大黄化学成分, 将化学成分通过 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 检索土大黄化学成分的 Canonical SMILES 号, 导入 Swiss Target Prediction 平台 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 进行 “Predict targets”, 点击 “send to Swiss ADME” 链接通过 Swiss ADME (<http://www.swissadme.ch>) 了解成分的胃肠道吸收性、类药性以及能否穿透血脑屏障; 其他 Pubchem 数据库未收录的化学成分, 将其化学结构式录入 Swiss Target Prediction 平台下的 Swiss ADME 功能项, 得到其 SMILES 号, 再进行 “run” 胃肠道吸收性和类药性等分析。Pharmacokinetics 项下 GI absorption 满足 High, 同时 Druglikeness 项下 Lipinski、Ghose、Veber、Egan、Muegge 5 项特性中 3 项为 Yes^[6], 筛选出成分作为候选活性成分, 将候选活性成分的 Canonical SMILES 结构导入 Swiss Target Prediction 平台 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>), 选择物种为 “Homo sapiens”, 查找活性成分所对应的药物靶点。对所得到的全部靶点进行筛选, 去除 $P=0$ 的靶点和重复靶点。利用 UniProt 数据库对所有靶基因名称进行校正, 获得靶点信息。

1.2 疾病 DUB 靶点检索及共有靶点筛选

以 “dysfunctional uterine bleeding” 为检索词, 利用 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org>) 获取 DUB 相关靶点, 依据 “Relevance score ≥ 10 ” 进行筛选, 在 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>)、DisGeNet 数据库 (<http://www.disgenet.org/>)、DrugBank 数据库 (<https://go.drugbank.com>) 中再次搜索 DUB 获得与其相关的靶点; 将挖掘得到的 DUB 相关靶点与土大黄靶点导入 Venny 2.1.0

(<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/>) 中进行匹配映射, 获得两者交集靶点即土大黄防治 DUB 的关键作用靶点。将交集靶点导入 String 数据库 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>) 中, 构建蛋白相互作用网络 (PPI), 蛋白物种设置为 “Homo sapiens”, 最低相互作用阈值设置为 “high confidence > 0.900”, 并隐藏游离的靶标, 其余参数保持默认设置, 进而得到土大黄防治 DUB 的 PPI 网络。

1.3 核心靶点的筛选

将 PPI 网络图下载 TSV 格式并上传至 Cytoscape 3.8.2 软件, 利用 “Analyze Network” 功能拓扑分析, 使用度值、介值中心度、紧密中心度 3 个拓扑参数同时满足排名前 10 作为筛选条件, 筛选出核心靶点。

1.4 “土大黄 - 活性成分 - 共有靶点” 的网络构建

将预测的土大黄靶点、药物活性成分、土大黄 - DUB 交集靶点导入 Cytoscape 3.8.2 软件中, 绘制 “土大黄 - 活性成分 - 共有靶点” 网络。利用 “Analyze Network” 功能进行拓扑分析, 使用度值、介值中心度、紧密中心度 3 个拓扑参数同时满足排名前 10 作为筛选条件, 筛选出核心活性成分。

1.5 基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析

使用 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>) 对共有靶点核心靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析, GO 生物功能分析主要包括生物过程

(BP)、细胞组分 (CC) 以及分子功能 (MF), 将这 3 组数据以 $P < 0.01$ 的条件分别进行筛选, 并各取前 10 个条目, 即组成 30 个条目在 “微生信” 在线绘图工具中制成柱状图进行可视化; KEGG 富集分析筛选出 $P < 0.01$ 的条目, 将前 20 条通路制成气泡图进行可视化。

1.6 核心成分与核心靶点的分子对接

在 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库中下载关键活性成分 3D 结构的 SDF 格式, 然后使用 openbabel 软件将化合物的 SDF 格式转化为 PDB 格式, 导入 Autodock Tools 1.5.7 软件中加氢后导出为 pdbqt 文件。在 PDB (<https://www.rcsb.org/>) 数据库中下载核心靶点蛋白文件, 使用 Pymol 软件去除水分子与配体, 使用 AutoDock Tools 1.5.7 软件进行加氢后导出 pdbqt 文件。最后, 将所得到的配体小分子和受体大分子一起导入 Autodock Tools 1.5.7 软件中, 计算得到相应的结合能数据。使用 Pymol 软件绘制土大黄关键活性成分与核心靶点蛋白之间的模式图, 将关键活性成分与各自对应打分最高的核心靶点分子对接进行可视化。

2 结果

2.1 土大黄有效成分与靶点的筛选

查阅文献获得土大黄相关活性成分 45 个, 通过 Swiss ADME 和 Swiss Target Prediction 平台预测后得到符合条件的活性成分 26 个, 见表 1。共 1 173 个靶点, 去除重复值得到 392 个潜在靶点。

表 1 土大黄活性成分

Table 1 Active ingredients of *Rumei Radix et Rhizoma*

编号	中文名	分子式	编号	中文名	分子式
1	大黄素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	14	3,4-二羟基苯甲酸乙酯	C ₉ H ₁₀ O ₄
2	大黄酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	15	没食子酸乙酯	C ₉ H ₁₀ O ₅
3	大黄素甲醚	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	16	反式对羟基肉桂酸	C ₉ H ₈ O ₃
4	大黄酸	C ₁₅ H ₈ O ₆	17	阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄
5	1,6,7-三羟基-3-甲氧基蒽醌	C ₁₄ H ₁₀ O ₆	18	槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇
6	1-(1,8-二羟基-3-甲基萘-2-基)乙酮	C ₁₃ H ₁₂ O ₃	19	决明子酮	C ₁₄ H ₁₄ O ₄
7	2,6-二羟基苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₄	20	1,2,3-苯三酚	C ₆ H ₆ O ₃
8	4-羟基苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₃	21	羟基大黄素	C ₁₅ H ₁₀ O ₆
9	2,6-二甲氧-4-羟基苯甲酸	C ₉ H ₁₀ O ₅	22	红灰青素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆
10	4-羟基-3-甲氧基苯甲酸	C ₈ H ₈ O ₄	23	1,7-二羟基-6-甲基蒽-9,10-二酮	C ₁₅ H ₁₀ O ₄
11	茶多酚	C ₆ H ₆ O ₂	24	千花木酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₆
12	丁香酸	C ₉ H ₁₀ O ₅	25	委陵菜酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₅
13	原儿茶醛	C ₇ H ₆ O ₃	26	2-甲氧基-6-乙酰基-7-甲基胡桃酮	C ₁₅ H ₁₀ O ₅

2.2 疾病靶点及共有靶点的筛选

通过 DisGeNet 数据库、DrugBank 数据库、GeneCard 数据库和 OMIM 数据库搜索 DUB 相关的疾病基因，最后得出 DisGeNet 数据库 17 个基因，DrugBank 数据库 52 个基因，GeneCard 数据库 348 基因、OMIM 数据库 50 个基因，共得到 467 个基因疾病靶点，删除重复值，获得 DUB 相关基因疾病靶点 436 个。使用 Venny 2.1.0 平台对 392 个土大黄药物靶点与 436 个疾病靶点进行互相映射，共获得交集靶点 74 个。

2.3 PPI 网络图的构建及核心靶点的筛选

将得到的土大黄与 DUB 74 个共有基因导入 STRING 数据库进行蛋白相互作用分析，结果显示，网络共包含 74 个节点，206 条边，平均节点度值为 5.57。保存其 TSV 格式导入到 Cytoscape 3.8.2 中进行拓扑分析，见图 1。共获得 62 个节点和 218 条节点之间的连线（剔除 4 个游离靶点）。图中节点的大小和颜色根据度值来显示，度值越大，节点越大颜色越深，即靶点的作用越重要。根据度值、介值中心度、紧密中心度同时排名前 10

位，筛选出 7 个核心靶点，分别为 STAT3、SRC、PIK3R1、PIK3CA、ESR1、AKT1、RELA，其拓扑分析结果见表 2。

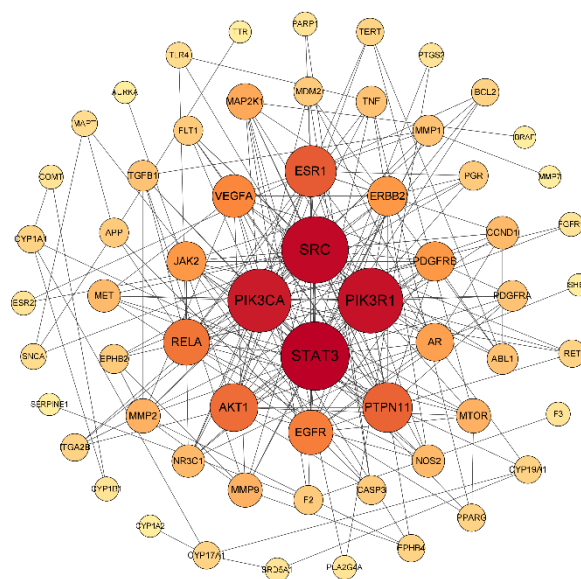


图 1 交集靶点 PPI 网络图

Fig. 1 PPI network diagram of intersection targets

表 2 土大黄防治 DUB 核心靶点基因的拓扑学分析结果

Table 2 Topological analysis results of core target genes of *Rumei Radix et Rhizoma* prevention and control of DUB

序号	核心靶点	核心靶点名称	度值	介值中心度	紧密中心度
1	STAT3	信号转导和转录激活因子 3	28	0.18	0.57
2	SRC	原癌基因酪氨酸蛋白激酶	27	0.21	0.58
3	PIK3R1	磷酸肌醇 3-激酶调节亚基 1	26	0.10	0.55
4	PIK3CA	磷脂酰肌醇 3-激酶催化亚基 α	25	0.09	0.55
5	ESR1	雌激素受体	18	0.27	0.53
6	AKT1	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1	16	0.09	0.50
7	RELA	转录因子 p65	15	0.10	0.50

2.4 “土大黄 - 活性成分 - 共有靶点”网络的构建

将土大黄及 26 个活性成分，74 个关键靶点导入 Cytoscape 3.8.2 软件中构建“土大黄 - 活性成分 - 共有靶点”网络图，见图 2。图中共包括 101 个节点（74 个圆形节点为核心靶点，26 个菱形节点活性成分，1 个六边形节点为苗药土大黄），278 条边。利用“Analyze Network”功能进行拓扑分析，度值、介值中心度、紧密中心度同时排名前 10 位的核心活性成分有 9 个，分别为槲皮素、阿魏酸、豆蔻酸、羟基大黄素、决明子酮、大黄素甲醚、委陵菜酸、大黄酚、3,4-二羟基苯甲酸乙酯，其拓扑分析结果

见表 3。

2.5 GO 功能富集分析

通过 David 数据平台进行 GO 功能富集分析，得显著性 GO 条目 303 个 ($P < 0.01$)，其中 BP 217 个条目，CC 30 个条目，MF 56 个条目，各选取前 10 个条目，共组成 30 个条目在“微生信”在线绘图工具中绘制 GO 功能注释分析柱状图，见图 3。结果显示，在土大黄有效成分防治 DUB 的潜在靶点中，BP 主要集中在信号传导(signal transduction)、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控(positive regulation of transcription from RNA polymerase II

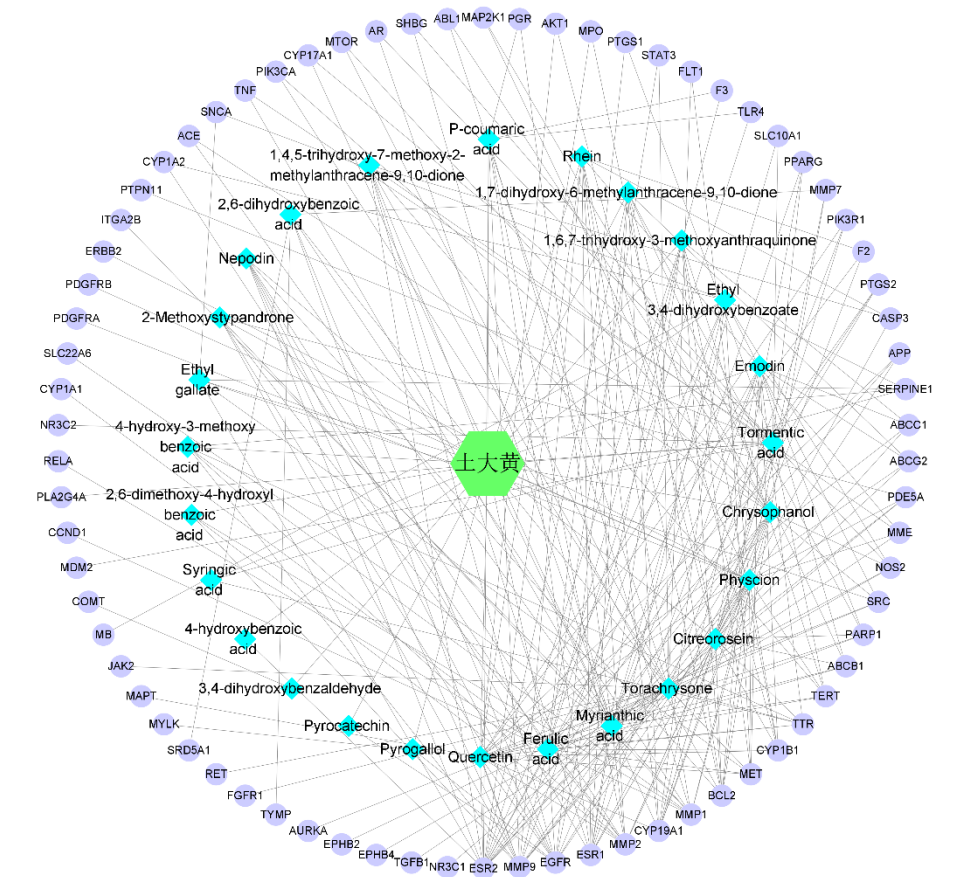


图 2 “土大黄 - 活性成分 - 共有靶点” 网络图

Fig. 2 Network diagram of “*Rumei Radix et Rhizoma* - active ingredients - common targets”

表 3 土大黄防治 DUB 核心成分的拓扑学分析结果

Table 3 Topology analysis results of core components of *Rumei Radix et Rhizoma* prevention and control of DUB

序号	核心靶点	核心成分中文名称	度值	介值中心度	紧密中心度
1	quercetin	槲皮素	22	0.11	0.43
2	ferulic acid	阿魏酸	22	0.14	0.43
3	myrianthic acid	豆蔻酸	21	0.11	0.43
4	citreorsein	羟基大黄素	20	0.07	0.43
5	torachryson	决明柯酮	20	0.16	0.43
6	physcion	大黄素甲醚	20	0.11	0.43
7	tormentic acid	委陵菜酸	17	0.10	0.42
8	chrysophanol	大黄酚	17	0.07	0.42
9	ethyl 3,4-dihydroxybenzoate	3,4-二羟基苯甲酸乙酯	12	0.05	0.40

promoter) 和对外源性刺激的反应 (response to xenobiotic stimulus) 等; CC 主要集中在质膜 (plasma membrane)、胞浆 (cytosol) 和细胞质 (cytoplasm) 等; MF 主要集中在蛋白结合 (protein binding)、相同蛋白结合 (identical protein binding) 和 ATP 结合 (ATP binding) 等。

2.6 KEGG 通路富集分析

通过 David 数据平台进行 KEGG 富集分析, 得到 122 条信号通路 ($P<0.01$), 选取排名前 20 的通路进行可视化处理, 绘制 KEGG 信号通路气泡图, 见图 4。结果显示, 土大黄有效成分防治 DUB 的潜在靶点主要涉及 HIF-1、PI3K-Akt 等信号通路。

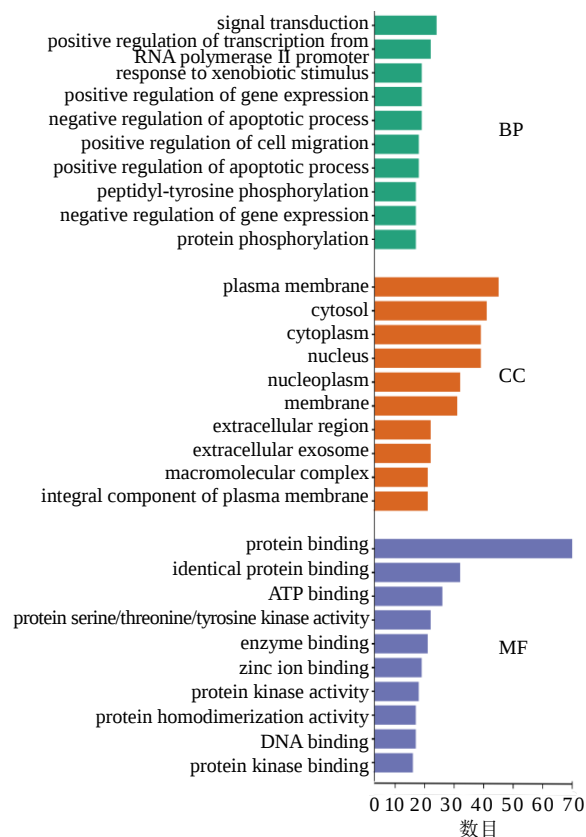


图 3 土大黄防治 DUB 的潜在靶点 GO 功能富集分析 (前 10)
Fig. 3 GO Function enrichment analysis of potential targets of *Rumei Radix et Rhizoma* prevention and control of DUB (top 10)

2.7 活性成分 - 核心靶点分子对接

将土大黄防治 DUB 的 9 个关键核心活性成分槲皮素、阿魏酸、豆蔻酸、羟基大黄素、决明柯酮、大黄素甲醚、委陵菜酸、大黄酚、3,4-二羟基苯甲酸乙酯分别与 7 个核心靶点 STAT3、SRC、PIK3R1、

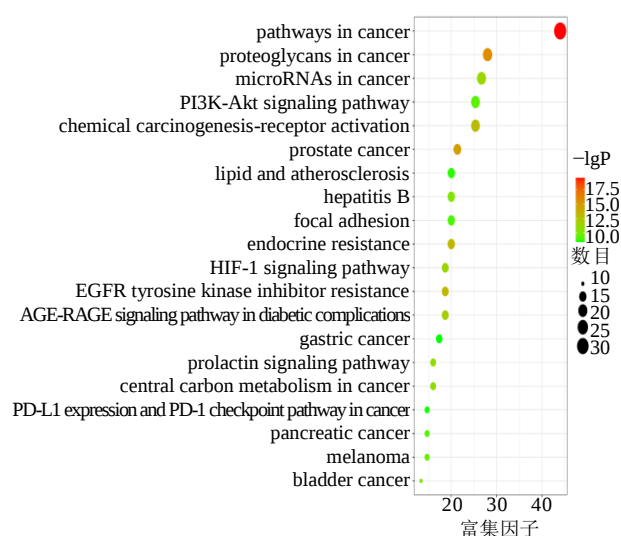


图 4 土大黄防治 DUB 的核心靶点 KEGG 富集分析 (前 20)

Fig. 4 KEGG enrichment analysis of core targets of *Rumei Radix et Rhizoma* prevention and control of DUB (top 20)

PIK3CA、ESR1、AKT1、RELA 进行分子对接, 其结合能均小于 0, 说明这 9 种活性成分均能与 7 种核心靶点自发相互结合, 见表 4, 其中大黄酚与 SRC 结合能最低, 结合能为-31.13 kJ/mol。委陵菜酸与 PIK3CA 结合能为-30.33 kJ/mol; 羟基大黄素与 RELA 结合能为-28.24 kJ/mol; 大黄素甲醚与 AKT1 结合能为-28.16 kJ/mol; 决明柯酮与 AKT1 结合能为-27.57 kJ/mol; 豆蔻酸与 SRC 结合能为-26.15 kJ/mol; 阿魏酸与 STAT3 结合能为-20.50 kJ/mol; 槲皮素与 SRC 结合能为-20.13 kJ/mol; 3,4-二羟基苯甲酸乙酯与 AKT1 结合能为-18.37 kJ/mol。选取 9 个关键活性成分与各自对应打分最高的核心蛋白可视化, 其结合模式见图 5。

表 4 苗药土大黄防治 DUB 的关键活性成分与核心蛋白结合能

Table 4 Binding energy of key active ingredients and core protein of *Rumei Radix et Rhizoma* prevention and control of DUB

活性成分	结合能/(kJ·mol ⁻¹)						
	STAT3 (5AX3)	SRC (2BDF)	PIK3R1 (4L23)	PIK3CA (7L1C)	ESR1 (7NFW)	AKT1 (3OS5)	RELA (3QXY)
槲皮素	-15.86	-16.99	-17.58	-18.45	-14.52	-20.13	-17.87
阿魏酸	-20.50	-17.61	-18.07	-16.78	-18.24	-19.33	-16.23
豆蔻酸	-20.25	-26.15	-21.59	-23.81	-19.12	-26.02	-26.02
羟基大黄素	-21.51	-19.83	-19.75	-21.42	-17.70	-26.11	-28.24
决明柯酮	-18.54	-22.72	-18.28	-24.31	-20.08	-27.57	-18.70
大黄素甲醚	-21.51	-24.69	-22.68	-21.76	-24.94	-28.16	-25.28
委陵菜酸	-24.77	-26.94	-24.77	-30.33	-25.31	-26.19	-5.61
大黄酚	-24.69	-31.13	-25.10	-26.28	-20.00	-30.25	-25.19
3,4-二羟基苯甲酸乙酯	-14.77	-15.15	-14.22	-17.57	-16.32	-18.37	-15.15

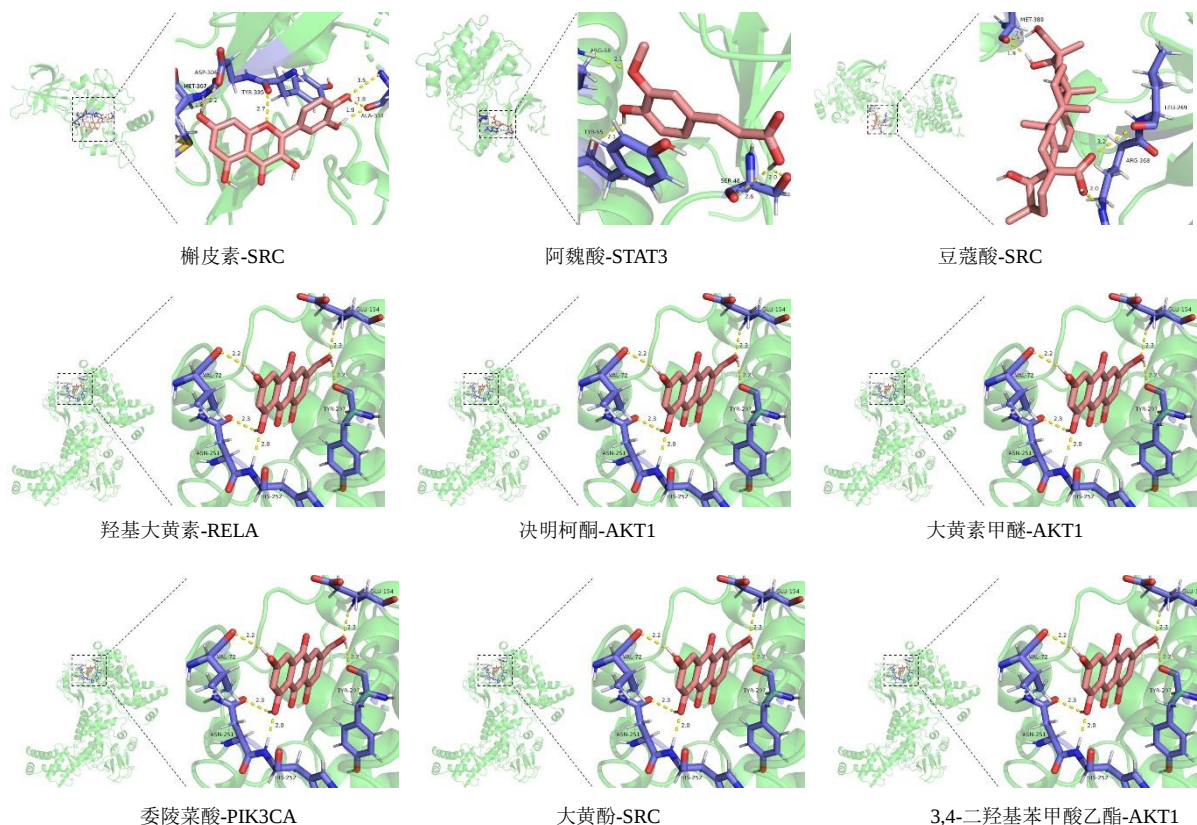


图5 关键活性成分与各自对应打分最高的核心靶点分子对接

Fig. 5 Docking of key active ingredients with their respective core target molecules with the highest scores

3 讨论

近年来, DUB 患者逐渐增多, 不仅会影响患者的生活与工作, 重者还会由于出血过多导致休克危及生命安全, 引起了社会和临床的广泛关注, 且目前 DUB 的病因和发病机制尚未完全明确。现代医学认为 DUB 主要与患者精神过度紧张、劳累、营养不良或代谢紊乱、环境及气候改变有关, 或与卵巢或黄体等因素所导致的内分泌紊乱有关, 进而引起子宫出血的症状^[7]。现在常用手术加激素治疗, 存在子宫内膜会变薄和药物不良反应多等缺点, 不能从根本上消除导致子宫异常出血的病因^[8]。中医学认为, DUB 属于“崩漏”的范畴, 《诸病源候论》指出“冲任之脉虚损, 不能约制其经血, 故血非时而下”, 其主要病机是冲任不固, 不能制约经血, 使子宫藏泻失常^[9], 特点多为虚实夹杂, 血热、血虚、血瘀并存, 故治法当凉血、补血、活血并用, 才能冲任得固, 血海得充, 达到血归其经的目的^[10]。土大黄属于清热药, 其主要用于因血分中有热而致的多种出血症, 经过民间多年应用及临床研究证明苗药土大黄防治 DUB 有特效^[11], 但其作用机制尚无

系统性研究。

经文献查阅并进行筛选后得到土大黄防治 DUB 主要活性成分 26 种, 最后筛选出大黄酚和槲皮素等 9 种土大黄防治 DUB 关键活性成分。有学者研究发现, 大黄酚口服或皮下注射, 可缩短血液凝固时间, 具有止血作用, 降低毛细血管的通透性, 改善血管脆性, 缩短凝血时间等^[12]; 大黄酚及大黄素通过干扰三磷酸肌醇 (IP3) 诱导的钙释放机制, 对激动剂诱导的血管收缩均有明显的抑制作用^[13]。槲皮素是一种具有多种生物活性的黄酮类化合物, 具有抗氧化、抗炎、抗菌、抗癌等药理活性^[14], 可以通过改变细胞周期进程、抑制细胞增殖、促进细胞凋亡、抑制血管扩张, 发挥抗肿瘤作用^[15]。研究表明, 槲皮素止血作用的增强与含量的增加有关^[16], 还能靶向抑制核因子- κ B 信号通路转导作用于 SRC, 发挥抗炎活性^[17]。此外, 槲皮素还能通过激活蛋白激酶 B (Akt) 磷酸化, 作用于磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) /Akt 信号通路, 减少氧化应激, 实现对血管内皮细胞的修复和保护作用^[18]。由此进一步探讨土大黄主要活性成分防治 DUB 的作用机制, PPI 分析

显示,土大黄可能与 STAT3、SRC、PIK3R1、PIK3CA、ESR1、AKT1、RELA 等多个靶点产生协同作用,这些靶点分别通过调控炎症反应、激素合成、增殖与凋亡来有效控制子宫出血^[19]。其中,AKT1 是 PI3K-Akt 信号通路的下游蛋白,在血小板的活化中起关键作用,其作为 Akt 的亚型,可参与代谢、增殖、细胞存活、生长和血管生成等多种生物学过程。实验研究表明,AKT1 基因缺陷小鼠与正常鼠相比,其出血时间增加,凝血时间延长,且血小板聚集、分泌和扩散受损^[20]。STAT3 属于 STAT 家族成员之一,在细胞增殖、分化、凋亡等过程中起着关键作用,可促进促血管生成的关键调节信号的生成,介导细胞的生长、凋亡等过程^[21],是一种参与肿瘤发生和组织损伤的常见信号传导机制,能够参与调节伤口愈合和癌症,包括细胞侵袭和迁移、血管生成、凝血调节和干扰素诱导基因的抑制^[22]。研究表明,STAT3 表达与外周血中的下肢深层静脉血栓形成有关^[23]。SRC 基因是 SRC 家族的成员之一,它是一种非受体酪氨酸激酶, SRC 异常活化可以通过多种途径刺激肿瘤细胞的生长、浸润、转移,从而诱导体内新的血管生成。SRC 家族激酶在介导血小板对血管损伤的快速反应中起核心作用^[24],磷酸化的 SRC 参与血小板黏附和聚集过程,并通过激活下游黏着斑信号通路等,参与黏着斑和血栓的形成,进而调节止血过程^[25]。以上研究表明,土大黄可能通过大黄酚和槲皮素等作用于 AKT1、STAT3、SRC 等靶点发挥止血的作用。

GO 功能富集结果显示苗药土大黄作用于 DUB 的核心靶点影响生物过程主要包括信号转导、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、基因表达的正向调节等,表明这些生物过程可能在 DUB 的发生和发展中体现了重要作用。KEGG 通路富集分析表明土大黄主要是通过调控 HIF-1、PI3K-Akt 信号通路治疗出血。低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 是 HIF-1 的活性亚基,又是调节亚基,与雌激素产生、血管生成、细胞增殖和炎症等相关基因表关系密切。在低氧状态下,机体可通过调节 HIF-1 信号通路来维持内环境的氧稳态,抑制血管生成^[19]。研究发现,HIF-1 α 可调控多种血管生成因子的表达,达到修复血管和止血作用^[26]。通过降低 HIF-1 α 的表达,降低模型大鼠炎症水平,并减缓血管的扩张及新生,能改变缺氧状态从而抑制血管新生^[27]。PI3K 为细胞内磷脂酰肌醇激酶,Akt 是 PI3K 信号传导中重要的下游效应

器,通过调控 PI3K-Akt 通路可以阻止血小板对纤维蛋白原的激活和黏附,抗血小板聚集,增强亲环素 A 的黏附,促进凝血因子的形成,从而发挥止血作用^[28-31]。徐薇等^[32]研究发现,通过调节子宫内膜组织 PI3K 信号通路的磷酸化水平促进组织细胞的抗炎作用和增殖作用,恢复血管功能,从而治疗子宫异常出血症。Zhang 等^[33]研究发现,小剂量脂多糖能够激活 PI3K-AKT 信号通路,增加糖胺聚糖颗粒分泌到子宫腔,以增加黏液层的厚度,从而保护子宫。以上结果表明土大黄可能通过槲皮素和大黄酚等活性成分作用于 AKT1、STAT3、SRC 等靶点,调控 HIF-1、PI3K-Akt 信号通路的信号表达从而介导血小板聚集、血栓形成,达到止血的目的。

综上所述,本研究通过应用网络药理学及分子对接技术的方法对土大黄活性成分、靶点和作用通路进行分析,表明土大黄防治 DUB 的是多成分、多靶点、多通路协同的结果。土大黄可能通过 AKT1、STAT3、SRC 等靶点主要作用于 HIF-1、PI3K-Akt 信号通路发挥防治 DUB 作用,为其后续进一步深入研究提供了基础和参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 解锦香,史斌琦,马世平,等.坤宁颗粒治疗功能性子宫出血的实验研究[J].中南药学,2023,21(4):940-944.
- [2] 张世应,孙绪举.围绝经期功能性子宫出血采用去氧孕烯炔雌醇(妈富隆)联合小剂量米非司酮治疗的临床疗效观察[J].中国妇幼保健,2020,35(9):1686-1689.
- [3] 朱晶晶,王峥涛,张朝凤,等.酸模属植物中化学成分及其药理活性研究进展[J].中草药,2008,39(3):450-454.
- [4] Sun Y, Lenon G B, Yang A W H. *Rumex japonicus* Houtt.: A phytochemical, pharmacological, and pharmacokinetic review [J]. *Phytother Res*, 2020, 34(6): 1198-1215.
- [5] 史连和.功能失调性子宫出血分型证治体会[J].江苏中医药,2012,44(7):33-34.
- [6] 季嘉城,袁敏艳,张硕,等.基于网络药理学方法和分子对接技术探讨刺梨治疗高血脂症的作用机制[J].中国药理学通报,2022,38(10):1572-1578.
- [7] 李岩.中医药治疗功能性子宫出血研究进展[J].中国中医药现代远程教育,2020,18(21):140-141.
- [8] 阮燕青.中西医结合治疗功能性子宫出血 50 例临床效果分析[J].当代医学,2013,19(23):148.
- [9] 覃光地,张斌.中医药治疗功能性子宫出血近况[J].湖南中医杂志,2017,33(7):214-216.

- [10] 周雄, 宣利江. 中药羊蹄的化学成分及药理作用研究概况 [J]. 浙江中医杂志, 2006, 41(3): 180-182.
- [11] 余文海. 羊年话“羊蹄” [J]. 江西中医药, 2003, 34(4): 35.
- [12] 张燕, 李治建, 夏木西努尔, 肖盖提, 等. 土大黄化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(3): 173-176.
- [13] 孙晓如, 周新新, 朱荔, 等. 中药羊蹄抑制激动剂诱导血管收缩活性成分的分离及药理活性研究 [J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 1999, 19(6): 488-490.
- [14] Zou H Y, Ye H Q, Kamaraj R, et al. A review on pharmacological activities and synergistic effect of quercetin with small molecule agents [J]. *Phytomedicine*, 2021, 92: 153736.
- [15] Tang S M, Deng X T, Zhou J, et al. Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects [J]. *Biomedecine Pharmacother*, 2020, 121: 109604.
- [16] 石典花, 戴衍朋, 苏本正, 等. 侧柏叶“炒炭存性”科学内涵初探 [J]. 中草药, 2020, 51(23): 5963-5971.
- [17] Hong Y H, Kim J H, Cho J Y. *Ranunculus bulumei* methanol extract exerts anti-inflammatory activity by targeting src/syk in NF- κ B signaling [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(4): 546.
- [18] 孙军, 温昌明, 张保朝, 等. 槲皮素通过调控 PI3K/Akt 信号通路对血管内皮祖细胞发挥保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(1): 85-89.
- [19] 何璿, 赵洪庆, 吴梦瑶, 等. 基于网络药理学及实验验证探究妇科断红饮胶囊治疗功能失调性子宫出血的作用机制 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2022, 24(11): 4444-4454.
- [20] Chen J H, De S, Damron D S, et al. Impaired platelet responses to thrombin and collagen in AKT-1-deficient mice [J]. *Blood*, 2004, 104(6): 1703-1710.
- [21] 黄骏文, 向文丽, 李浪. STAT3 对心肌细胞调控作用机制的研究进展 [J]. 山东医药, 2021, 61(22): 96-99.
- [22] Dauer D J, Ferraro B, Song L X, et al. Stat3 regulates genes common to both wound healing and cancer [J]. *Oncogene*, 2005, 24(21): 3397-3408.
- [23] Li N X, Sun J W, Yu L M. Retracted: Evaluation of the circulating microRNA-495 and Stat3 as prognostic and predictive biomarkers for lower extremity deep venous thrombosis [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(7): 5262-5273.
- [24] Senis Y A, Mazharian A, Jun M R. Src family kinases: At the forefront of platelet activation [J]. *Blood*, 2014, 124(13): 2013-2024.
- [25] 周颖欣, 黄宇虹, 黎慧琳, 等. 基于体内暴露及网络药理学探讨鞣花酸干预胃肠道出血的作用机制 [J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(9): 1153-1162.
- [26] 高洁, 陈运清. 缺氧诱导因子-1 和心血管疾病关系研究进展 [J]. 现代医药卫生, 2016, 32(23): 3634-3637.
- [27] 李达, 姜泉, 唐晓颇, 等. 基于 HIF-1 α /CXCL12/CXCR4/VEGF 信号通路探索中药复方调控 CIA 大鼠滑膜血管新生的机制 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2023, 29(4): 604-610.
- [28] Moore S F, van den Bosch M T J, Hunter R W, et al. Dual regulation of glycogen synthase kinase 3 (GSK3) α/β by protein kinase C (PKC) α and Akt promotes thrombin-mediated integrin α IIb β 3 activation and granule secretion in platelets [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(6): 3918-3928.
- [29] 黄曼婷, 吴焕林, 徐丹苹. 柚皮素通过环核苷酸通路拮抗血小板聚集的体外研究 [J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(7): 1306-1312.
- [30] Seizer P, Ungern-Sternberg S N, Schänberger T, et al. Extracellular cyclophilin A activates platelets via EMMPRIN (CD147) and PI3K/Akt signaling, which promotes platelet adhesion and thrombus formation *in vitro* and *in vivo* [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(3): 655-663.
- [31] Khezri M R, Varzandeh R, Ghasemnejad-Berenji M. The probable role and therapeutic potential of the PI3K/AKT signaling pathway in SARS-CoV-2 induced coagulopathy [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2022, 27(1): 1-10.
- [32] 徐薇, 刘秀华, 陈钢, 等. 柴胡止血液对置器子宫异常出血者 ERK1/2、PI3K 信号途径的影响 [J]. 四川中医, 2011, 29(1): 96-98.
- [33] Zhang M M, An L Y, Hu W X, et al. Mechanism of endometrial MUC₂ in reproductive performance in mice through PI3K/AKT signaling pathway after lipopolysaccharide treatment [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 231: 113177.

[责任编辑 金玉洁]