

基于网络药理学、分子对接及实验验证探究六味地黄丸改善卵巢功能下降的分子机制

马晓晴^{2,3}, 仲佳雯^{2,3}, 姜波^{2,3}, 张文燕^{2,3}, 余婷^{2,3}, 李晓荣^{1*}

1. 宁夏医科大学总医院, 宁夏 银川 750003

2. 宁夏医科大学 中医学院, 宁夏 银川 750004

3. 宁夏医科大学 中医燥证教育部重点实验室, 宁夏 银川 750004

摘要: **目的** 通过网络药理学和实验验证分析六味地黄丸改善卵巢功能下降的有效成分和分子机制。 **方法** 利用中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP)、Swisstarget、Uniprot 数据库筛选六味地黄丸的有效化学成分和靶点, 从 Genecards、DisGeNET 数据库中获取卵巢储备功能下降和早发性卵巢功能不全的相关靶点, 制成 Venn 图得到药物-疾病的交集靶点。使用 STRING 进行蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 分析, 并使用 Cytoscape 软件构建 PPI 网络和药物成分-靶标网络, 使用 DAVID 数据库对交集基因进行基因本体 (GO) 注释及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。进行分子对接以确定生物活性组分与靶标之间的结合活性。通过环磷酸腺苷制备卵巢功能下降小鼠模型, 对网络药理学分析所预测的六味地黄丸干预卵巢功能下降的潜在机制进行实验验证。 **结果** 六味地黄丸共筛选出 74 种活性成分、485 个潜在靶点。卵巢功能下降与六味地黄丸之间存在 123 个共同的治疗靶点, 通过对这些共同靶点的进一步分析, 共富集出 1 307 个 GO 过程以及 181 条 KEGG 信号通路。分子对接结果显示六味地黄丸主要有效成分尤其是泽泻醇 B 与关键靶点具有良好的结合能力。动物实验结果表明六味地黄丸可显著影响卵巢功能下降模型小鼠的磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)、丝氨酸和苏氨酸激酶 (AKT)、表皮生长因子受体 (EGFR) 基因和蛋白的表达。 **结论** 六味地黄丸能够通过其多种成分作用于多个靶点, 并通过多种途径对抗卵巢功能减退。PI3K/Akt 信号通路和 EGFR 靶点在治疗过程中发挥重要作用。

关键词: 网络药理学; 六味地黄丸; 卵巢功能下降; 分子对接; 泽泻醇 B; PI3K/Akt 信号通路; EGFR

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2026)09-3098-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.09.011

Molecular mechanism of Liuwei Dihuang Pills in improving ovarian dysfunction based on network pharmacology, molecular docking, and experimental verification

MA Xiaoping^{2,3}, ZHONG Jiawen^{2,3}, JIANG Bo^{2,3}, ZHANG Wenyan^{2,3}, YU Ting^{2,3}, LI Xiaorong¹

1. General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750003, China

2. School of Traditional Chinese Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China

3. Ministry of Education Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine on Dryness Syndrome, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China

Abstract: Objective To analyze the active ingredients and molecular mechanisms by which Liuwei Dihuang Pills improves decreased ovarian function through network pharmacology and experimental validation. **Methods** The TCMSP, Swisstarget, and Uniprot databases were used to screen Liuwei Dihuang Pills' active chemical components and targets. Relevant targets for diminished ovarian reserve and premature ovarian insufficiency (POI) were obtained from the Genecards and DisGeNET databases, and a Venn diagram was created to identify overlapping drug-disease targets. Protein-protein interaction (PPI) analysis was performed using STRING, and PPI networks and drug component-target networks were constructed using Cytoscape software. GO and KEGG enrichment analyses were conducted on the intersecting genes through the DAVID database. Molecular docking was used to determine the binding activity between bioactive components and targets. The potential mechanisms of Liuwei Dihuang Pills on decreased ovarian function predicted by network

收稿日期: 2026-03-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82260947); 宁夏自然科学基金资助项目 (2023AAC05059)

作者简介: 马晓晴, 女, 硕士研究生, 研究方向为中医药治疗不孕不育。E-mail: m18253873658@163.com

*通信作者: 李晓荣, 女, 主任医师, 临床医学博士, 研究方向为中西医结合治疗不孕不育。E-mail: lixiaorong850901@163.com

pharmacology were experimentally validated. **Results** A total of 74 active ingredients and 485 potential targets of Liuwei Dihuang Pills were identified. There were 123 shared therapeutic targets between decreased ovarian function and Liuwei Dihuang Pills. Further analysis of these common targets enriched 1 307 GO items and 181 KEGG pathways. Molecular docking results showed that the main compounds of Liuwei Dihuang Pills, especially alisol B, had good binding ability with key targets. Animal experiments indicated that Liuwei Dihuang Pills significantly affected the expression of PI3K, Akt, and EGFR genes and proteins. **Conclusion** Liuwei Dihuang Pills can act on multiple targets through various components and counteract ovarian function decline through multiple pathways. Additionally, the study highlights the potential importance of the PI3K/Akt signaling pathway and EGFR targets in the treatment process.

Key words: network pharmacology; Liuwei Dihuang Pills; decline of ovarian function; molecular docking; alisol B; PI3K/Akt signaling pathway; EGFR

卵巢功能下降是一个复杂且逐渐发展的过程,具体可以分为卵巢储备功能下降和早发性卵巢功能不全(POI)2种情况。这2种情况虽然都属于卵巢功能下降的范畴,但它们发展过程和影响却各不相同。卵巢储备功能下降是一种卵巢功能障碍,影响约10%的不孕女性,其症状通常包括卵母细胞数量或质量下降以及生殖内分泌功能障碍。卵巢储备功能下降的发病率正在逐年增长且呈年轻化趋势,若不进行干预,1~6年后便会发展成卵巢早衰^[1]。POI是一种常见的生殖内分泌疾病,定义为40岁之前卵巢功能停止,其临床特征是月经稀发或闭经伴卵泡刺激素(FSH) $>25\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$ 升高和雌二醇(E_2)降低^[2]。目前卵巢早衰被认为是FSH $>40\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$ 的POI的终末期。这些疾病的成因可能包括遗传、自身免疫性疾病、感染、手术损伤等多种因素^[3],严重时不仅会导致不孕,还可能引发更年期提前、骨质疏松、心血管疾病等一系列健康问题^[4]。激素替代疗法是临床上最常使用的治疗方法,但研究发现它与乳腺癌、卵巢癌和心血管疾病发生的风险有关^[5],因此迫切需要寻求治疗卵巢功能下降的新方案。

中医药在治疗卵巢功能方面具有自己的独特优势,中医理论认为,肾主生殖,而六味地黄丸是滋阴补肾的经典方剂,由熟地黄、山茱萸、山药、泽泻、牡丹皮和茯苓6味药组成。此外,现代医学也对六味地黄丸治疗卵巢功能的效果给予了肯定。研究表明,六味地黄丸可以显著提高女性的雌激素水平,增大卵巢体积改善卵巢功能^[6]。网络药理学从整体和系统的角度将传统的中医研究模式从“单药单靶点”转变为“多组分、多靶点、多路径”,揭示了“药物-基因-靶点”之间的相互作用^[7]。通过构建网络药理学网络拓扑图,可以明确中药的作用特点和药物相容性机制,提高中药复方临床应用的科学性^[8]。对揭示中药和复方方剂的内在机制具有重要意义,为著名经典方剂的研究方向提供了更多选

择^[9]。因此,本研究利用网络药理学预测六味地黄丸治疗卵巢功能下降的关键成分和潜在靶点,并采用分子对接和动物实验进行初步验证。

1 材料

1.1 动物

雌性SPF级6~8周龄ICR小鼠购自宁夏医科大学动物实验中心,体质量(20 ± 2)g,生产许可证号SCXK(宁)2015-0001,小鼠置于恒温环境中适应性喂养1周。该动物研究由宁夏医科大学实验动物中心理论委员会获得批准,伦理审查编号IACUC-NYLAC-2023-070。

1.2 主要药品与试剂

环磷酰胺(美国MCE公司,货号HY-17420);六味地黄丸(北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂,货号22031004);苏木素伊红染色液(北京中杉金桥生物技术有限公司,货号BSBA-4025),小鼠FSH、促黄体生成素(LH)、抗苗勒管激素(AMH)、 E_2 的ELISA试剂盒(上海江莱生物科技有限公司,货号JL10239、JL10432、JL20476、JL11790);磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)、丝氨酸和苏氨酸激酶(Akt)、p-Akt(武汉三鹰生物技术有限公司,货号60225-1-IG、10176-2-AP、66444-1-Ig)、p-PI3K(Affinity Biosciences公司,货号AF3241)、表皮生长因子受体(EGFR)、p-EGFR抗体(MCE公司,货号YA468、AF3048);RNA提取试剂盒(山东思科捷生物技术有限公司,货号AC0201);全蛋白提取试剂盒(沈阳万类生物科技有限公司,货号WLA019);BCA蛋白定量试剂盒(江苏凯基生物科技股份有限公司,货号KGB2101-500);快速封闭液(上海雅酶生物医药科技有限公司,货号PS108P);ECL发光液(沈阳万类生物科技有限公司,货号WLA006a)。

1.3 仪器

Multiskan GO 1510 酶标仪(赛默飞世尔科技公

司); 9700 PCR 仪器(美国 ABI 公司); GelDoc XR+ 凝胶成像仪(美国 BIO-RAD 公司); 孵育箱(上海跃进医疗器械有限公司)。

2 方法

2.1 网络药理学预测

2.1.1 六味地黄丸活性成分的筛选和收集 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>), 根据口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和药物相似性(DL) ≥ 0.18 , 筛选出熟地黄、山茱萸、山药、泽泻、牡丹皮和茯苓的所有活性成分。将获得的药物靶点通过 SwissTarget Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch>) 数据库和 Uniprot (<http://www.uniprot.org/>) 数据库转换为基因名称。

2.1.2 卵巢功能下降靶点获取 将关键词“diminished ovarian reserve”“premature ovarian insufficiency”分别录入 DisGeNET (<https://www.disgenet.org/>)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 数据库, 合并删除重复值根据评分筛选出前 2 000 个基因。所有基因通过 UniProt 数据库以获得 Uniprot ID。Cytoscape 3.9.1 软件(<https://cytoscape.org/>)生成六味地黄丸治疗卵巢功能下降的活性成分-靶标网络。

2.1.3 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建 微生物信(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)平台 Venn 图导入药物和疾病基因, 获得交集基因。将交集基因导入 STRING (<https://string-db.org/>), 选择“Homo sapiens”, 交互得分设置为 0.9 并将图片、数据导出, 数据导入 Cytoscape 绘制 PPI 网络图, 使用 CytoNCA 工具分析网络拓扑参数, 包括度(degree)值、介数中心性(BC)和接近中心性(CC), 挖掘网络模块中的重要节点。

2.1.4 基因本体(GO)注释及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>)中导入药物和疾病的交集基因, 进行 GO 和 KEGG 富集分析, 其中 GO 相关主要由生物过程(BP)、细胞成分(CC)和分子功能(MF)组成。选择 P 值最小的前 10 个 GO 数据和前 20 个 KEGG 通路, 并导入微生物信平台以绘制条形图和气泡图。

2.1.5 分子对接 选择活性成分-靶标网络中具有 Degree 值前 5 的化合物作为配体, 并在 TCMSP 数据库中下载化合物的分子结构。计算 Cytoscape 中 PPI 网络的 BC、CC、Degree 值, 按其中位数筛选, 然后使用 Cytoscape 插件筛选排名前 10 的核心靶

点, 将其排名前 6 的靶点导入蛋白质数据库(PDB, <https://www.rcsb.org/>), 选择适合对接的目标蛋白作为受体。选择受体蛋白和药物配体使用 AutoDock Vina 进行计算机虚拟分子对接。亲和力代表配体与受体的结合能力, 亲和力绝对值越大, 说明结合能力越好。并使用 PyMOL (<https://www.pymol.org/>) 软件可视化结果。

2.2 实验验证

2.2.1 药物制备 六味地黄丸水蜜丸根据说明书, 按成人体质量 70 kg 计算, 成人每天用量为 12 g, 采用人和小鼠体表面积换算法为 $1.56 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 以此作为药物低剂量进行 ig, 高剂量使用 $3.12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 进行 ig。算得 20 g 小鼠六味地黄丸的用量为 30.24 mg, ig 体积为 0.2 mL, 每粒六味地黄丸约 0.2 g, 将 1 粒六味地黄丸水蜜丸溶于 1.3 mL 0.9%氯化钠溶液中, 充分溶解, 制成混悬液, 保存在 4 °C 冰箱中备用。

2.2.2 分组 筛选出正常动情周期的 60 只小鼠, 随机分为对照组, 模型组, 六味地黄丸低、高剂量组, 每组 15 只。除对照组外, 其余各组小鼠一次性 ip 环磷酰胺 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 制备卵巢功能下降小鼠模型, 以动情周期紊乱为造模成功, 造模成功后六味地黄丸组进行药物干预 28 d, 对照组和模型组 ig 等量的 0.9%氯化钠溶液。ig 结束后处死, 取材, 进行后续苏木精-伊红(HE)染色、ELISA、实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)、Western blotting 等检测。

2.2.3 HE 染色 小鼠取材后将一侧卵巢固定于 4% 多聚甲醛中 24 h, 后用流水冲洗一夜, 进行脱水包埋。包埋完石蜡切片按步骤进行脱水染色, 显微镜下观察卵巢形态。

2.2.4 ELISA 检测 小鼠进行摘眼球取血, 放入 1.5 mL 离心管中, 静置 1~2 h, 4 °C、3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清, 血清分装避免检测时反复冻融。按试剂盒说明书步骤进行相关检测。

2.2.5 qRT-PCR、Western blotting 检测相关 mRNA 和蛋白表达 卵巢组织提取 RNA 和蛋白进行 qRT-PCR 与 Western blotting。qRT-PCR 包含逆转录和定量 PCR 2 个步骤。在逆转录阶段, RNA 被逆转录成 cDNA, 然后在定量 PCR 阶段, 通过特定的引物对 cDNA 进行扩增, 并实时监测荧光信号的变化, 以 GAPDH 作为内参, 采用以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行相对定量分析。Western blotting 首先将蛋白质样品进行凝胶电泳分离, 然后将分离后的蛋白质转移 PVDF 膜上, 再用抗体进行检测, 最后发光液进行显影。引物序列见表 1。

表 1 引物设计序列
Table1 Primer design sequences

基因名称	上游	下游	长度/bp
PI3K	GGGAGCAGCAACCGAAACAAAG	CCACTACGGAGCAGGCATAGC	109
AKT	GCCTGAGGAGCGGAAGAATG	GAGCCTGATCGGAAGTCCATCG	96
EGFR	AGACAGCTTCTTGCAGCGAT	GTTTCCCCCTCTGGAGATGC	201

2.3 统计分析 所有统计数据均使用 GraphPad Prism9.0 进行分析。两组间差异采用 *t* 检验法测量，两组间比较采用单因素方差分析评估。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，统计学显著性定义为 $P < 0.05$ 。

3 结果

3.1 六味地黄丸的活性成分和靶标预测

在 TCMSP 数据库中检索筛选出 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 的活性成分，六味地黄丸共鉴定出 74 种活性成分，其中山茱萸成分 20 种，山药成分 16 种，牡丹皮成分 11 种，茯苓成分 15 种，泽泻成分 10 种，熟地黄成分 2 种。化合物豆甾醇同时存在于山药、山茱萸中，谷甾醇同时存在于泽泻、牡丹皮、山茱萸中。在 PubChem 数据库中检索了 74 种化合物对应的 SMILES，并将其导入 SwissTarget Prediction，并结合 Uniprot 数据库进行补充最后共获得 485 个六味地黄丸活性成分的潜在靶点。将 74 个化合物与 485 个靶点构建网络，按照 Degree 值从高到低排序，截取 degree 值前 10 位的化合物即为核心化合物。见表 2。

表 2 六味地黄丸成分靶标网络中的化合物

Table 2 Compounds in target network of Liuwei Dihuang Pills ingredients

化合物	BC	CC	Degree
槲皮素	0.30	0.40	136
海风藤酮	0.21	0.38	101
山茱萸醇	0.17	0.38	101
泽泻醇B	0.15	0.38	101
泽泻醇C	0.15	0.39	101
3- β -羟基-24-亚甲基-8-萜-21-烯酸	0.15	0.39	92
茯苓酸C	0.08	0.37	72
茯苓酸	0.12	0.37	72
豆甾醇	0.02	0.36	56
山柰酚	0.05	0.36	53

3.2 疾病靶点预测及交集基因获取

通过 DisGeNET 和 GeneCards 数据库获得卵巢功能下降的疾病靶点，获得靶点数量分别为 342 和 7 775 个。所有靶标均由 Uniprot 筛选和标准化，然

后筛选得分较高的前 2 000 个基因，去除重复项，共获得 1 807 个疾病靶点。将 485 个药物靶点和 1 807 个疾病靶点取交集，获得交集基因 123 个。

3.3 交集基因的 PPI 网络构建

将 123 个交集靶点输入 STRING 网站，设置最低交互得分为 >0.9 。得到了 200 个靶标，并通过 Cytoscape 制作成 PPI 网络图（图 1）。删除游离靶点，计算出 BC、CC、Degree 值，筛选大于中位数的靶点，然后用 Cytohubba 插件筛选 Degree 值从大到小排名前 10 的核心靶点，其中排名前 6 的靶点为：肿瘤蛋白 p53（TP53）、非受体酪氨酸激酶（SRC）、丝氨酸/苏氨酸激酶 1（AKT1）、磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α （PIK3CA）、热休克蛋白（HSP90AA1）、EGFR（表 3）。

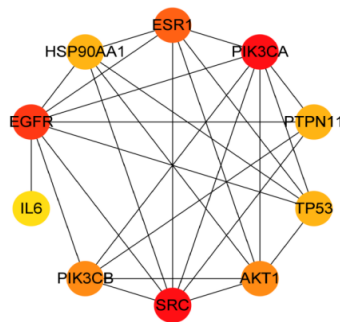


图 1 交集靶点的 PPI 网络图

Fig. 1 PPI network of overlapping targets

表 3 药物-疾病交集核心靶点

Table 3 Drug-disease intersection core targets

编号	靶点	BC	CC	Degree
1	TP53	47	0.161 367 25	47
2	SRC	40	0.157 976 66	40
3	AKT1	34	0.159 591 20	34
4	PIK3CA	31	0.155 317 52	31
5	HSP90AA1	30	0.157 364 34	30
6	EGFR	29	0.158 841 94	29
7	PIK3CB	29	0.150 370 37	29
8	ESR1	27	0.158 593 74	27
9	IL6	26	0.153 092 01	26
10	PTPN11	25	0.148 391 81	25

3.4 GO 分析和 KEGG 通路富集分析

将交集靶点输入微生信平台, 进行 GO 和 KEGG 富集分析, 筛选 P 值前 10 作 CC、MF 和 BP 的柱形图(图 2), BP 共富集 1 008 个条目, 前 3 分别是对外来生物刺激的反应、凋亡信号通路的调控、细胞对脂质的反应; CC 共富集 114 个条目, 前 3 分别是高分子复合物、膜筏、受体复合体; MF 共富集 185 个条目, 排名前 3 为蛋白质丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、酶结

合、相同蛋白质结合。KEGG 通路分析后获得 181 条信号通路, 主要富集的有癌症通路、PI3K-Akt 信号通路、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路等(前 20 名的气泡图)。

3.5 分子对接验证

为了进一步探究六味地黄丸 Degree 值前 6 化合物与核心通路中相关基因之间的相互作用, 进行了进一步的分子对接模拟。通过对接模拟, 预测了排

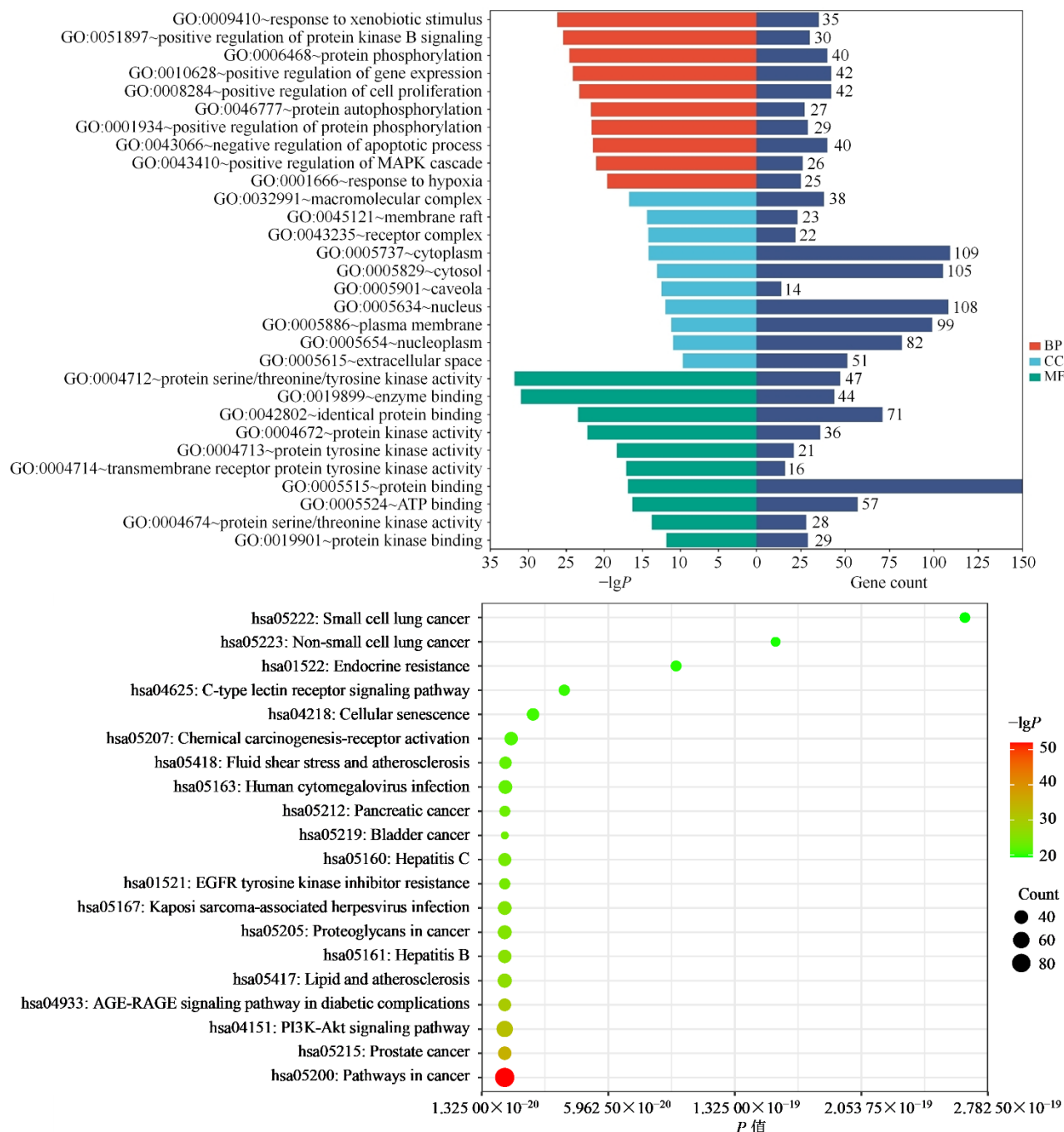


图 2 GO 和 KEGG 富集分析
Fig. 2 GO and KEGG enrichment analysis

名前 5 位的化合物 (槲皮素、海风藤酮、山药醇、泽泻醇 B、泽泻醇 C) 与核心靶蛋白 (TP53、SRC、AKT1、PIK3CA、HSP90AA1、EGFR) 之间的结合亲和力。从 PDB 蛋白数据库中检索 TP53、SRC、AKT1、PIK3CA、HSP90AA1、EGFR 后, 得到 6shz、1o43、6hhj、6pys、8x2r 和 5ug9 蛋白的三维结构。结合能是评价活性成分与靶标是否具有良好结合活性的重要指标。结合能越低, 结合活性越强。对接分数表明, 每组的结合能均小于 $-20.9 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ (图 3), 表明生物活性组分和核心靶标具有良好的结合活性。从结果中发现, 化合物泽泻醇 B 与核心蛋白的结合能力均较高, 故使用 Pymol 可视化并分析泽泻醇 B 与核心蛋白的对接结果 (图 4)。该模拟从分子对接水平验证了六味地黄丸对卵巢功能下降的治疗效果。

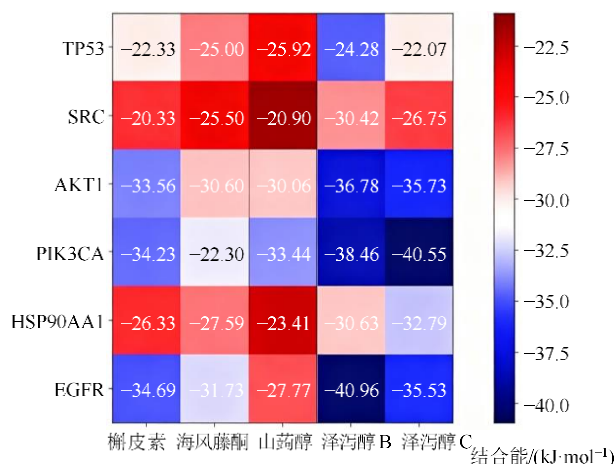


图 3 分子对接结合能热图

Fig. 3 Heatmap of molecular docking binding energy

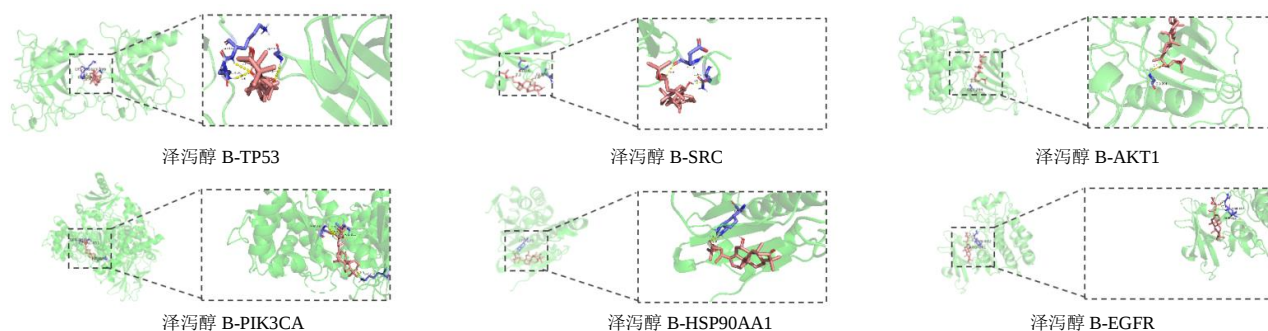


图 4 泽泻醇 B 和蛋白质靶标对接结果可视化

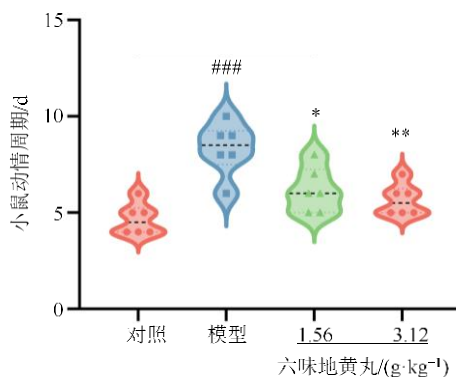
Fig. 4 Visualization of docking results between alisol B and protein targets

3.6 六味地黄丸能够显著改善卵巢功能下降小鼠动情周期的不规律性

环磷酸胺造模后连续 1 周阴道涂片监测小鼠的动情周期, 模型组小鼠动情周期紊乱则造模成功。而在六味地黄丸干预 28 d 后, 再次阴道涂片观察小鼠的动情周期, 发现对照组动情周期为 4~6 d, 模型组动情周期为 7~10 d, 明显长于对照组 ($P < 0.05$), 主要表现为动情期和间期, 六味地黄高剂量组动情周期为 5~8 d, 明显比模型组短 ($P < 0.05$), 见图 5。所有数据都表明, 六味地黄丸对小鼠的动情周期紊乱现象有明显的改善作用。

3.7 六味地黄丸可改善卵巢功能下降小鼠卵巢组织病理状态

经过 HE 染色并在光学显微镜下对小鼠卵巢的组织学形态进行观察后, 在对照组小鼠的卵巢中, 可见成熟卵泡颗粒细胞层较为丰富, 同时有少量闭锁卵泡和多个黄体存在。而在模型组小鼠的卵巢中,



与对照组比较: ### $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。
$P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.

图 5 各组小鼠动情周期平均时长比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Fig. 5 Comparison of average estrous cycle length in mice of each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

颗粒细胞排列显得较为紊乱。在六味地黄丸低剂量组小鼠的卵巢中, 观察到成熟卵泡颗粒细胞存在轻

微紊乱,且闭锁卵泡数量较多。而在六味地黄丸高剂量组中,颗粒细胞的排列则显得规则有序,且层数较多(图6)。

3.8 六味地黄丸调节卵巢功能下降小鼠内分泌系统的平衡

为研究六味地黄丸对血清 FSH、LH、E₂ 和 AMH 水平的影响,通过 ELISA 检测血清 FSH、LH、E₂ 和 AMH 水平。如图 7 所示,与对照组相比,模型组 FSH、LH 显著增加 ($P<0.001$),而 E₂ 和 AMH

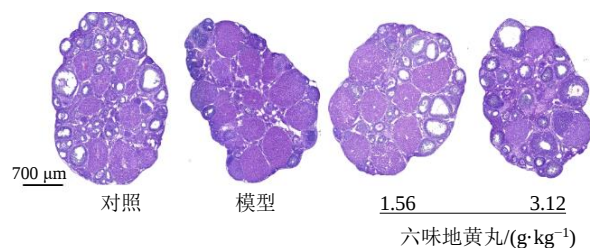
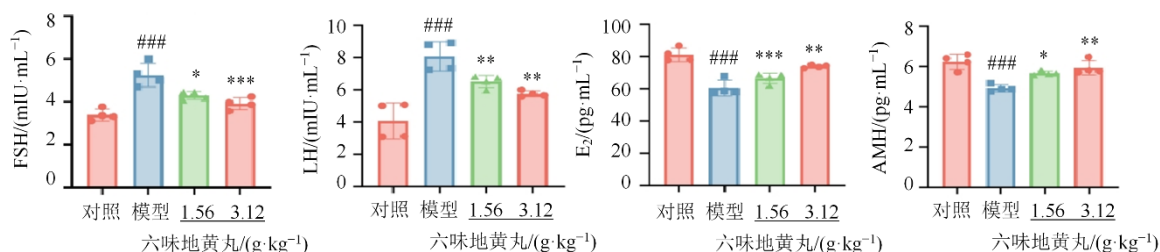


图 6 显微镜下小鼠卵巢形态 (×40)

Fig. 6 Mouse ovary morphology under microscope (×40)



与对照组比较: ### $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ 。

*** $P<0.001$ vs control group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs model group.

图 7 小鼠血清激素水平变化 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 7 Changes in hormone levels in mouse serum ($\bar{x} \pm s, n=6$)

水平显著降低 ($P<0.001$)。经过六味地黄丸低、高剂量干预治疗后, FSH、LH 显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001), 而 E₂、AMH 水平与模型组相比显著增加 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)。以上结果表明, 六味地黄丸可以调节卵巢功能下降小鼠的血清激素水平。

3.9 qRT-PCR 和 Western blotting 检测核心靶点 PI3K、Akt、EGFR 的相对表达量

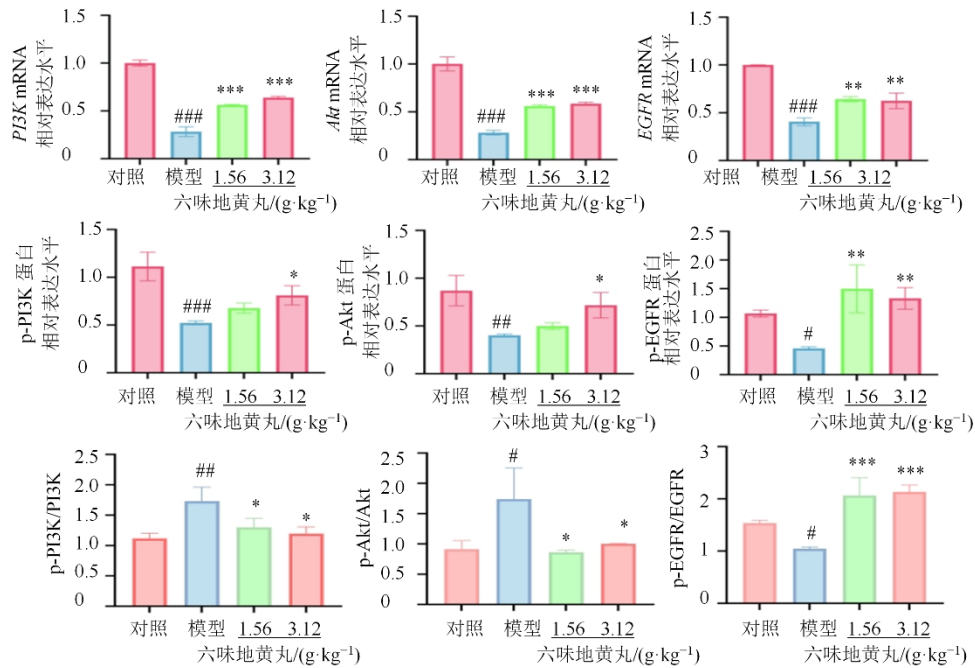
qRT-PCR 和 Western blotting 是核心靶点 PI3K、Akt、EGFR 的有效定量方式。通过以上 2 种方式结果表明, 与对照组相比, 模型组中 PI3K、AKT、EGFR mRNA 的表达水平显著下降 ($P<0.001$), p-PI3K、p-Akt、p-EGFR 蛋白表达水平也显著下降 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001); 与模型组相比, 六味地黄丸低、高剂量组中 PI3K、AKT、EGFR mRNA 的表达水平显著上升 ($P<0.01$ 、 0.001), p-PI3K、p-Akt、p-EGFR 蛋白表达水平也显著提高 ($P<0.05$ 、 0.01)。见图 8、9。

4 讨论

随着现代社会的快速发展, 人们的生活节奏愈发加快, 导致生育问题逐渐凸显, 成为许多家庭关注的焦点。其中, 卵巢功能下降作为影响生育的重要因素之一, 越来越受到人们的重视^[10]。卵巢功能下降是指女性卵巢在生育年龄阶段出现功能减退

的现象, 这往往导致女性的生育能力下降。这一现象与多种因素密切相关, 如年龄、遗传、生活习惯等^[11]。当前西医对于卵巢功能下降的治疗方法, 尽管已经取得了一定的进展, 但主要还是依赖于激素替代疗法。然而, 这种方法虽然能够暂时缓解患者的症状, 却并不能从根本上解决卵巢问题而且还存在一定的风险。长期使用激素替代疗法, 可能会增加患者患乳腺癌、子宫内膜癌等妇科肿瘤的风险^[12]。因此, 寻找一种安全有效的中药治疗方法显得尤为重要。中医作为中国传统医学的瑰宝, 在改善卵巢功能方面有着丰富的经验和独特的理论。越来越多的研究表明, 中医治疗在改善卵巢功能方面具有显著效果。研究表明, 中医治疗可以显著提高卵巢的激素水平^[13], 改善卵巢的血液循环, 从而增强卵巢的功能。

六味地黄丸以滋阴补肾、填精益髓为主要功效, 深受历代医家与广大患者的推崇。近年来, 越来越多的研究表明, 六味地黄丸在治疗卵巢疾病方面^[14], 同样具有显著的作用。在中医理论中, 肾主藏精, 为先天之本, 与生殖、生长发育等密切相关。而卵巢作为女性的生殖器官, 其功能的正常与否, 与肾气的充盈与否密切相关^[15]。因此, 通过滋阴补肾、填精益髓可以调节女性内分泌, 促进卵巢功能



与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 8 核心靶点 mRNA 和蛋白表达 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 8 Core target mRNA and protein expression ($\bar{x} \pm s, n=6$)

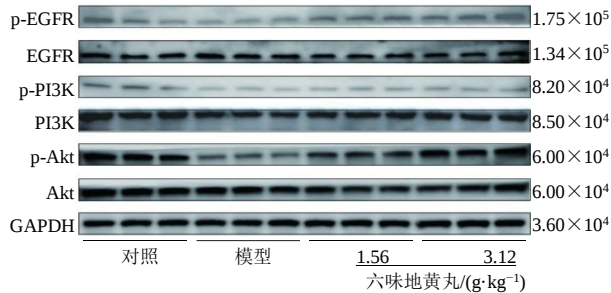


图 9 Western blotting 分析

Fig. 9 Western blotting analysis

的恢复与提升^[16]。此外,现代医学研究也证实了六味地黄丸在治疗卵巢疾病方面的疗效。1 项针对卵巢早衰患者的临床研究显示,服用六味地黄丸后,患者的雌激素水平得到显著提升,卵巢功能得到明显改善^[17]。同时,该方剂还能有效缓解因卵巢疾病引起的月经不调、潮热盗汗等症状,提高患者的生活质量^[18]。除了卵巢早衰,六味地黄丸在治疗其他妇科疾病方面同样具有广泛的应用。例如,对于卵巢癌^[19]、绝经后骨质疏松症^[20-21]、多囊卵巢综合征^[22-23]等常见疾病,六味地黄丸可以通过调节内分泌、改善卵巢微循环等方式,达到缓解症状、促

进康复的目的。

网络药理学作为一种新兴的研究方法,为探究中药方剂的作用机制提供了新的视角。通过网络药理学分析可以发现六味地黄丸中的多种活性成分与卵巢功能密切相关的靶点相互作用。这些靶点涉及雌激素合成与代谢、卵巢细胞增殖与凋亡等多个方面,共同构成了六味地黄丸改善卵巢功能下降的分子机制。具体来说,六味地黄丸中的熟地黄^[24]、山茱萸^[25]等药材富含多种黄酮类、多糖类等活性成分,这些成分能够调节雌激素水平,促进卵巢细胞的增殖与分化^[26]。同时,山药^[27]、泽泻^[28]等药材则具有抗炎、抗氧化等作用,有助于减轻卵巢组织的炎症反应,保护卵巢细胞免受氧化应激损伤。此外,茯苓^[29]、丹皮^[30]等药材还能够调节免疫系统,增强机体的免疫力,进一步促进卵巢功能的恢复。除了上述作用机制外,网络药理学还揭示了六味地黄丸中多种成分之间的协同作用。这些成分通过多途径、多靶点的方式,共同作用于卵巢功能相关的生物网络,从而实现改善卵巢功能下降的效果。这种协同作用使得六味地黄丸在治疗卵巢功能下降方面具有较高的疗效和较低的不良反

网络药理学分析发现药物与疾病共交集出 123

个靶点。这些靶点涉及多种 GO 过程和信号通路,是药物发挥疗效的关键环节。为了进一步筛选出其中最关键的靶点,采用了 Cytoscape 软件,最终确定了 6 个最关键的靶点,分别是 TP53、SRC、AKT1、PIK3CA、HSP90AA1 和 EGFR。通路主要富集在癌症通路、PI3K-Akt 信号通路、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药等。通过核心靶点和富集的通路发现六味地黄丸在治疗卵巢功能下降的过程中,可能主要依赖于对 PI3K/Akt 信号通路以及 EGFR 靶点的调节。PIK3CA 是 PI3K 家族的成员,负责调节细胞生长、代谢和存活等多个方面^[31]。而 AKT1 则是 PI3K 信号通路的关键下游分子,参与调控细胞增殖、凋亡和迁移等过程。在卵巢功能方面,PIK3CA 和 AKT1 扮演着重要的角色。PIK3CA 的突变或异常表达可能导致卵巢细胞的异常增殖或凋亡^[32],进而影响到卵巢的正常功能。AKT1 的激活能够促进卵泡的生长和成熟,为卵子的产生提供必要的条件。同时,AKT1 还能够调节卵巢颗粒细胞和间质细胞的增殖与分化,维持卵巢组织的正常结构和功能^[33]。研究表明,AKT1 能够调节卵巢激素合成酶的活性,影响激素的合成与分泌。因此,AKT1 的异常表达或功能失调可能导致卵巢激素分泌紊乱^[34],进而影响到女性的生育能力和生殖健康。PI3K/Akt 信号通路是一条重要的细胞信号转导途径,参与了多种细胞生物学过程,包括细胞生长、增殖、分化以及凋亡等^[35]。在卵巢中,PI3K/Akt 信号通路对于卵泡的发育、成熟以及排卵过程具有关键作用。研究表明,PI3K/Akt 信号通路的激活可以促进卵泡颗粒细胞的增殖和分化,从而维持卵泡的正常发育。此外,PI3K/Akt 还能通过调控卵泡膜细胞的功能,影响激素的合成与分泌,进而调节卵巢的内分泌功能^[36]。在卵巢功能下降的过程中,PI3K/Akt 信号通路的异常激活或抑制可能导致了卵巢功能的紊乱。而六味地黄丸通过其特有的药物成分,可能能够调节这一信号通路的活性,从而改善卵巢功能。EGFR 是一种膜受体,通过与其配体结合,触发细胞内信号传导通路,进而调控细胞增殖、分化和凋亡等生物学过程^[37]。在卵巢组织中,EGFR 的表达水平较高,提示其可能参与了卵巢功能的调节。研究表明,EGFR 在卵泡发育、卵母细胞成熟以及黄体形成等过程中均发挥着重要作用。EGFR 通过调控卵泡内细胞的增殖和分化,促进卵泡的正常发育^[38];同时,它还能影响卵母细胞的成熟过程,确保卵子的质量

和数量^[39];此外,EGFR 还参与黄体形成,维持卵巢的内分泌功能^[40]。PI3K/Akt 信号通路以及 EGFR 靶点可能是六味地黄丸治疗卵巢功能下降的重要通路和靶点。

为验证靶点和通路的准确性及潜在应用价值进行分子对接实验。选取排名前 5 位的化合物(槲皮素、海风藤酮、山药醇、泽泻醇 B 以及泽泻醇 C)与前 6 的核心靶点进行分子对接,结果显示每组的结合能均小于 $-20.9 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$,这意味着这些化合物与核心靶点之间存在着强烈的相互作用。同时,发现泽泻醇 B 与各核心靶点的结合能力均比较高。泽泻醇 B 是从泽泻中提取的一种活性成分,具有抗炎、抗氧化和调节激素水平等多种药理作用。泽泻醇 B 在治疗卵巢功能下降方面可能发挥了重要的作用。通过其抗炎^[41]、抗氧化^[42]和调节激素水平等多种药理作用,泽泻醇 B 有望为卵巢功能下降的女性带来福音。除了分子对接实验,还进行了动物实验验证,以便验证 PI3K/Akt 信号通路及 EGFR 核心靶点在六味地黄丸治疗卵巢功能下降中的关键作用。在动物实验中,首先使用环磷酸腺苷构建了卵巢功能下降的小鼠模型,动情周期、HE 染色、雌激素水平的检测验证了模型的成功。通过对小鼠体内 PI3K、AKT、EGFR 基因和蛋白质的表达水平进行检测,发现六味地黄丸能够显著影响这些关键因子的表达。通过动物实验,成功地验证了 PI3K/Akt 信号通路及 EGFR 核心靶点在六味地黄丸治疗卵巢功能下降中的重要作用。该低、高剂量在小鼠体内未出现不良反应,肝肾功能正常,体质量正常,证明六味地黄丸在发挥保护卵巢功能的安全性。

六味地黄丸通过其多种活性成分、多个治疗靶点以及多种作用途径,可以有效地治疗卵巢功能下降。此外,PI3K/Akt 通路和 EGFR 靶点在治疗卵巢功能下降中的潜在作用也被进一步揭示,为未来的研究和治疗提供了新的方向,未来将利用基因敲除小鼠(如卵巢特异性 PIK3CA KO 小鼠)或加入特定的通路抑制剂(如 PI3K 抑制剂 LY294002),从而最终在因果层面上确证六味地黄丸依赖于该通路发挥作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhu Q Y, Li Y, Ma J H, et al. Potential factors result in diminished ovarian reserve: A comprehensive review [J]. J Ovarian Res, 2023, 16(1): 208

- [2] Jiao X, Meng T T, Zhai Y W, et al. Ovarian reserve markers in premature ovarian insufficiency: Within different clinical stages and different etiologies [J]. *Front Endocrinol*, 2021, 12: 601752.
- [3] Chae-Kim J J, Gavrilova-Jordan L. Premature ovarian insufficiency: Procreative management and preventive strategies [J]. *Biomedicines*, 2018, 7(1): 2.
- [4] Chon S J, Umair Z, Yoon M S. Premature ovarian insufficiency: Past, present, and future [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 672890.
- [5] Li Y, Yan M Y, Chen Q C, et al. Current research on complementary and alternative medicine in the treatment of premature ovarian failure: An update review [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 2574438.
- [6] 王旭, 陈诗琦, 张翔, 等. 六味地黄丸临床应用进展 [J]. *中国现代医生*, 2023, 61(20): 126-130.
- Wang X, Chen S Q, Zhang X, et al. Progress in clinical application of Liuwei Dihuang pill [J]. *China Mod Dr*, 2023, 61(20): 126-130.
- [7] Liu Y S, Li X, Chen C, et al. Exploration of compatibility rules and discovery of active ingredients in TCM formulas by network pharmacology [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(4): 572-588.
- [8] Zhang R Z, Zhu X, Bai H, et al. Network pharmacology databases for traditional Chinese medicine: Review and assessment [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 123.
- [9] Kong X B, Liu C X, Lu P, et al. Combination of UPLC-Q-TOF/MS and network pharmacology to reveal the mechanism of Qizhen Decoction in the treatment of colon cancer [J]. *ACS Omega*, 2021, 6(22): 14341-14360.
- [10] Farquhar C M, Bhattacharya S, Repping S, et al. Female subfertility [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5: 7.
- [11] 吴松宇, 杨润雨, 冯晓玲. 中医对卵巢储备功能下降的认知及针灸治疗现状 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2023, 18(4): 844-848.
- Wu S Y, Yang R Y, Feng X L. Cognition of traditional Chinese medicine on decreased ovarian reserve function and advances in acupuncture and moxibustion treatment [J]. *World J Integr Tradit West Med*, 2023, 18(4): 844-848.
- [12] Zhang G Q, Chen J L, Luo Y, et al. Menopausal hormone therapy and women's health: An umbrella review [J]. *PLoS Med*, 2021, 18(8): e1003731.
- [13] 刘鹏, 邢易, 郭权磊, 等. 温经汤调控活化转录因子 6/转录因子 C/EBP 同源蛋白通路抑制内质网应激改善卵巢储备功能下降模型的机制研究 [J]. *中草药*, 2025, 56(1): 121-132.
- Liu P, Xing Y, Guo Q L, et al. Mechanism of Wenjing Decoction regulating activating transcription factor 6/C/EBP homologous protein pathway and inhibiting endoplasmic reticulum stress to improve model of decreased ovarian reserve [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2025, 56(1): 121-132.
- [14] 孙萍, 王智慧, 张琪, 等. 化疗性卵巢早衰的中西医防治研究 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021, 27(11): 1838-1842.
- Sun P, Wang Z H, Zhang Q, et al. Prevention and treatment of chemotherapy-induced premature ovarian failure with traditional Chinese and western medicine [J]. *J Basic Chin Med*, 2021, 27(11): 1838-1842.
- [15] 贾志诚, 李永谦, 王培璇, 等. 中药缓解年龄相关卵巢功能减退的研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(11): 255-265.
- Jia Z C, Li Y Q, Wang P X, et al. Prevention and treatment of age-related ovarian hypofunction with traditional Chinese medicine: A review [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2023, 29(11): 255-265.
- [16] 岳晨, 肖学风, 秦文杰. 六味地黄丸治疗围绝经期综合征的临床研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2022, 45(4): 804-809.
- Yue C, Xiao X F, Qin W J. Research advances in clinical effect of Liuwei Dihuang Pill in treatment of menopausal syndrome [J]. *Drug Eval Res*, 2022, 45(4): 804-809.
- [17] 王新华, 朱世国, 丰平. 六味地黄丸联合雌激素治疗围绝经期综合征的临床效果 [J]. *临床合理用药*, 2023, 16(22): 24-26, 30.
- Wang X H, Zhu S G, Feng P. Clinical efficacy of Liuwei Dihuang Pills combined with estrogen in the treatment of perimenopausal syndrome [J]. *Chin J Clin Ration Drug Use*, 2023, 16(22): 24-26, 30.
- [18] 徐小倩, 朱谊, 王晓华. 六味地黄丸 (汤) 研究进展 [J]. *哈尔滨医药*, 2016, 36(4): 484-486.
- Xu X Q, Zhu Y, Wang X H. Research progress of Liuwei Dihuang Pill (decoction) [J]. *Harbin Med J*, 2016, 36(4): 484-486.
- [19] 曹知勇, 陈静芹, 吴小芳, 等. 基于网络药理学探讨六味地黄丸治疗卵巢癌的作用机制 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2022, 39(8): 1001-1009.
- Cao Z Y, Chen J Q, Wu X F, et al. Study on the mechanism of Liuweidihuang Pill in the treatment of ovarian cancer based on bioinformatics [J]. *J Shenyang Pharm Univ*, 2022, 39(8): 1001-1009.
- [20] Wang Q C, Huang P, Xia C J, et al. Network pharmacology-based strategy to investigate pharmacological mechanism of Liuwei Dihuang Pill

- against postmenopausal osteoporosis [J]. *Medicine*, 2022, 101(47): e31387.
- [21] 阮红良, 余冬梅, 孙绍裘. 六味地黄丸减轻绝经后骨质疏松症及疲劳的作用机制: 基于抑制表观调控分子 BRD4 通路 [J]. *南方医科大学学报*, 2023, 43(12): 1998-2005.
- Ruan H L, She D M, Sun S Q. Liuwei Dihuang Pills alleviates postmenopausal osteoporosis and fatigue in rats by inhibiting the epigenetic regulatory molecule BRD4 pathway [J]. *J South Med Univ*, 2023, 43(12): 1998-2005.
- [22] 闫雪, 马书鸽, 雷琼, 等. 六味地黄丸通过抑制 TGF- β 1/SMAD 信号通路对多囊卵巢综合征大鼠内分泌代谢的影响 [J]. *药物评价研究*, 2022, 45(12): 2494-2500.
- Yan X, Ma S G, Lei Q, et al. Effects of Liuwei Dihuang Pills on endocrine metabolism in rats with polycystic ovary syndrome by inhibiting TGF- β 1/SMAD signal pathway [J]. *Drug Eval Res*, 2022, 45(12): 2494-2500.
- [23] Xu D, Lu M, Liu Y, et al. An analysis of the clinical medication rules of traditional Chinese medicine for polycystic ovary syndrome based on data mining [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2023, 2023: 6198001.
- [24] Yen C, Zhao F, Yu Z C, et al. Interactions between natural products and tamoxifen in breast cancer: A comprehensive literature review [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 847113.
- [25] Telang N, Li G, Katdare M, et al. Inhibitory effects of Chinese nutritional herbs in isogenic breast carcinoma cells with modulated estrogen receptor function [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(5): 3949-3957.
- [26] 孙利辉, 丁樱, 韩姗姗, 等. 基于文献挖掘探讨中药减轻雷公藤雌性生殖毒性的规律分析 [J]. *中草药*, 2023, 54(6): 1886-1895.
- Sun L H, Ding Y, Han S S, et al. Analysis of regularity of traditional Chinese medicine for attenuating female reproductive toxicity of *Tripterygium wilfordii* based on literature mining [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(6): 1886-1895.
- [27] Khol M, Ma F Y, Lei L J, et al. A frontier review of nutraceutical Chinese yam [J]. *Foods*, 2024, 13(10): 1426.
- [28] 刘珊珊, 郭杰, 李宗艾, 等. 泽泻化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(7): 1578-1595.
- Liu S S, Guo J, Li Z A, et al. Advances in studies on chemical compositions of *Alismatis Rhizoma* and their biological activities [J]. *China J Chin Mater Med*, 2020, 45(7): 1578-1595.
- [29] [29] Chao C L, Huang H W, Su M H, et al. The lanostane triterpenoids in *Poria cocos* play beneficial roles in immunoregulatory activity [J]. *Life*, 2021, 11(2): 111.
- [30] Ekiert H, Klimek-Szczykutowicz M, Szopa A. *Paeonia × suffruticosa* (moutan peony)-A review of the chemical composition, traditional and professional use in medicine, position in cosmetics industries, and biotechnological studies [J]. *Plants*, 2022, 11(23): 3379.
- [31] Canaud G, Hammill A M, Adams D, et al. A review of mechanisms of disease across PIK3CA-related disorders with vascular manifestations [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2021, 16(1): 306.
- [32] Chang H J, Shin H S, Kim T H, et al. Pik3ca is required for mouse uterine gland development and pregnancy [J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0191433.
- [33] 石赞堃. AKT1 介导 FTH1 自噬降解在顺铂耐药卵巢癌中调控铁死亡敏感性的机制研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2023.
- Shi Z K. AKT1 participates in ferroptosis vulnerability by driving autophagic degradation of FTH1 in cisplatin resistant ovarian cancer [D]. Changchun: Jilin University, 2023.
- [34] 徐晶, 申丽媛, 屈清华. 基于 PI3K/AKT 通路探究柚皮素改善多囊卵巢综合征大鼠胰岛素抵抗的作用机制 [J]. *天津医药*, 2022, 50(3): 270-275.
- Xu J, Shen L Y, Qu Q H. Study on the mechanism of naringenin improving insulin resistance in rats with polycystic ovary syndrome based on PI3K/AKT pathway [J]. *Tianjin Med J*, 2022, 50(3): 270-275.
- [35] 叶凡, 张舒怡, 刘佳乐, 等. 左归丸调控 PI3K/AKT 信号通路的研究进展 [J]. *河南中医*, 2024, 44(3): 445-452.
- Ye F, Zhang S Y, Liu J L, et al. Research progress of regulation of PI3K/AKT signaling pathway with Yin-restoring pill [J]. *Henan Tradit Chin Med*, 2024, 44(3): 445-452.
- [36] 胡雯倩, 吴洁. 卵泡发育相关信号通路的研究进展 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2023, 31(9): 2256-2261, 2266.
- Hu L Q, Wu J. Research progress of the ovarian follicle development associated signaling pathways [J]. *Chin J Fam Plan*, 2023, 31(9): 2256-2261, 2266.
- [37] Sigismund S, Avanzato D, Lanzetti L. Emerging functions of the EGFR in cancer [J]. *Mol Oncol*, 2018, 12(1): 3-20.
- [38] Fang L L, Sun Y P, Cheng J C. The role of amphiregulin in ovarian function and disease [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2023, 80(3): 60.
- [39] 何翊阔, 潘阳阳, 张慧珠, 等. FSH 对牦牛卵母细胞 EGF、EGFR 表达及其细胞凋亡的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 2018, 49(9): 1899-1907.

- He H H, Pan Y Y, Zhang H Z, et al. The effects of follicle-stimulating hormone (FSH) on the expression of EGF and EGFR in yak oocytes and apoptosis [J]. Acta Vet Zootechnica Sin, 2018, 49(9): 1899-1907.
- [40] Arroyo A, Kim B, Yeh J. Luteinizing hormone action in human oocyte maturation and quality: Signaling pathways, regulation, and clinical impact [J]. Reprod Sci, 2020, 27(6): 1223-1252.
- [41] Zhang J, Luan Z L, Huo X K, et al. Direct targeting of sEH with alisol B alleviated the apoptosis, inflammation, and oxidative stress in cisplatin-induced acute kidney injury [J]. Int J Biol Sci, 2023, 19(1): 294-310.
- [42] Bi Liwei, Pang Haiyue, Chen Yupei, et al. Study on the antioxidant activity and content of 23 acetyl alismal B in three extracts of *Alisma orientalis* [J]. Chemical and Bioengineering, 2021, 38 (1): 34-37.

[责任编辑 齐静雯]