

亲和超滤-液质联用技术筛选补骨脂治疗子宫内膜癌的有效成分

蒋本贵¹, 陈思越², 钱文秀², 阎星旭^{2*}, 李遇伯^{2*}

1. 宁波大学附属妇女儿童医院, 浙江 宁波 315000

2. 天津中医药大学中药学院, 天津 301617

摘要: **目的** 采用亲和超滤-液质联用技术筛选补骨脂 *Psoralea Fructus* 中治疗子宫内膜癌的潜在活性成分。**方法** 以表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor erbB1, EGFR) 为靶蛋白, 将补骨脂水提液和 EGFR 蛋白液共同孵育, 利用基于亲和超滤原理的超速离心法和解离剂对活性配体进行分离和筛选, 借助超高效液相色谱-四级杆飞行质谱技术对与 EGFR 蛋白亲和的补骨脂化学成分进行鉴定, 并通过计算结合变化率比较活性成分与蛋白之间的结合能力。**结果** 共筛选得到 4 种与 EGFR 亲和的补骨脂活性成分, 通过对结合变化率进行比较, 发现 psorachalcone A 与 EGFR 蛋白结合变化率最大。**结论** 该研究为补骨脂防治子宫内膜癌的药效物质基础和作用机制研究提供了理论依据。

关键词: 补骨脂; 亲和超滤-液质联用; 子宫内膜癌; EGFR 蛋白; 活性成分; 补骨脂素; psorachalcone A; 补骨脂呋喃查耳酮; delta (1,3)-补骨脂酚

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)14-4663-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.14.004

Screening of effective components of *Psoralea Fructus* for endometrial cancer by affinity ultrafiltration chromatography-mass spectrometry

JIANG Bengui¹, CHEN Siyue², QIAN Wenxiu², YAN Xingxu², LI Yubo²

1. Ningbo Women and Children's Hospital, Ningbo 315000, China

2. School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Objective To screen the active components in the extract of Buguzhi (*Psoraleae Fructus*) for the treatment of endometrial cancer by ultra-filtration affinity-liquid chromatography-mass spectrometry. **Methods** With epidermal growth factor receptor erbB1 (EGFR) as the target protein, the aqueous extract of *Psoralea Fructus* and EGFR protein were incubated together, and the active ligands were separated and screened by ultracentrifugation and dissociation agent based on affinity ultrafiltration principle. The chemical components of *Psoralea Fructus* which are compatible with EGFR protein were identified, and the binding ability between active components and protein was compared by calculating the binding change rate. **Results** The result showed that four active components with EGFR affinity were screened out. By comparing the binding change rate, psorachalcone A has the largest binding change rate with EGFR protein. **Conclusion** Our work provides a theoretical basis for the study of the material basis and mechanism of *Psoralea Fructus* in preventing and treating endometrial cancer.

Key words: *Psoralea Fructus*; ultra-filtration affinity-liquid chromatography-mass spectrometry; endometrial cancer; EGFR protein; active components; psoralen; psorachalcone A; bakuchalcone; delta (1,3)-bakuchiol

子宫内膜癌是一种发生于子宫内膜的一种上皮性恶性肿瘤, 是女性常见的生殖器官恶性肿瘤之一, 仅次于乳腺癌、肺癌和结直肠癌^[1-3]。目前子宫内膜癌的发病机制主要与肥胖、代谢综合征、糖尿病、

多囊卵巢综合征等能导致高雌激素状态引起的子宫内膜增生有关^[4-6]。子宫内膜癌的治疗方法主要以手术切除子宫和双侧输卵管, 卵巢为主, 对于未生育的早期子宫内膜癌患者, 通常采用高剂量孕激素保

收稿日期: 2023-12-25

基金项目: 宁波市妇科疾病临床医学研究中心 (2024L002); 天津市科技局重大专项与工程计划项目 (21ZXJBSY00040)

作者简介: 蒋本贵, 男, 主任医师, 研究方向为盆底泌尿妇科及妇科肿瘤。E-mail: jiangbengui@126.com

*通信作者: 李遇伯, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为代谢组学、毒性评价。E-mail: yuboli1@163.com

阎星旭, 女, 硕士研究生, 药物分析学专业。E-mail: qianqianyan2010@163.com

守治疗以实现保留生育功能的目的^[7-8]。对于晚期患者,手术前要通过化疗缩小肿瘤体积,期间常使用孕激素、促性腺激素释放激素类似物等激素类药物和铂类、紫杉醇等化疗药物^[9-11]。但子宫内膜癌患者预后并不理想,化疗不敏感性或耐药性的情况也时有发生,随着肿瘤发病机制的深入研究,越来越多的靶点被证实与子宫内膜癌有关,也出现了对应的靶向药物^[12-13]。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor erbB1, EGFR)常常在子宫内膜癌中过度表达,有研究表明,EGFR 在子宫内膜癌分化程度,肌层浸润深度等的判断具有重要意义,同时 EGFR 也是其他补益类中药或药效成分治疗子宫内膜癌的直接靶蛋白之一,故提示 EGFR 可能是补骨脂防治子宫内膜癌的关键靶蛋白^[14-16]。

补骨脂是豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实,具有补肾壮阳、温脾止泻、纳气平喘的功效,临床上具有良好的抗肿瘤作用,其作用机制可能与抑制肿瘤细胞增殖、抑制肿瘤细胞转移、抑制肿瘤血管内皮生成和逆转多药耐药有关^[17-19]。有研究表明,补骨脂可作为雌激素受体的激动剂,作用于拥有雌激素受体的靶器官,如骨骼、生殖系统等,发挥雌激素样作用^[20-22]。因此,补骨脂对雌激素的调节作用使其可用于子宫内膜癌的早期治疗,然而补骨脂治疗子宫内膜癌的活性成分及作用机制尚未得到深入研究。

亲和超滤-液质联用法是一种能够实现快速药物筛选的分析方法,亲和超滤法首先利用靶蛋白实现中药特异性配体成分的高通量筛选,再结合超高压液相色谱-四级杆飞行质谱联用技术(ultra-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF/MS)对筛选出的化合物进行定性和定量分析,从而实现对活性成分的快速鉴定,相较于传统分析方法,该方法具有操作简便、检测灵敏,结果特异等特点^[23-25]。因此本研究以 EGFR 为靶蛋白,通过亲和超滤-液质联用技术筛选补骨脂治疗子宫内膜癌的活性成分,以期为进一步探究补骨脂治疗子宫内膜癌的作用机制奠定基础。

1 材料

1.1 药材

补骨脂(产地河南,批号 20211203)购自北京同仁堂天津平山道大药房有限公司,经天津中医药大学胡静副教授鉴定为豆科植物补骨脂 *P.*

corylifolia L. 的干燥成熟果实。

1.2 药品与试剂

对照品补骨脂素(质量分数>98%,批号 RFS-B06502006015),补骨脂二氢黄酮甲醚(质量分数>98%,批号 RFS-B07611804026)均购自成都瑞芬思德丹生物科技有限公司。EGFR(批号 1541-226TF1-16Q)购自北京百普赛斯生物科技股份有限公司;蒸馏水购自广州屈臣氏食品饮料有限公司;乙腈和乙酸均为色谱纯,乙腈购自美国 EMD Millipore 公司,乙酸购自美国 ROE 公司;0.01%磷酸盐缓冲液(分析级)购自上海麦克林生化科技有限公司。

1.3 仪器

TGL-20M 台式高速冷冻离心机(湖南赫西仪器装备有限公司);Waters ACQUITY UPLC 液相色谱仪、Waters Xevo G2 QTOF 质谱仪、ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm, 美国 Waters 公司);BT125D 型十万分之一电子分析天平(德国 Satorius 公司);YM-10 型超滤离心管(美国 GE Healthcare 公司)。

2 方法

2.1 补骨脂提取液的制备

依据本课题组已发表的补骨脂成分鉴定方法^[26],准确称取 5.0 g 补骨脂置于圆底烧瓶,分别用 50 mL 和 40 mL 的蒸馏水加热提取 2 次,每次 1 h。回流提取后合并滤液,并减压浓缩至 50 mL,以 12 000 r/min 离心 5 min,得到质量浓度为 0.1 g/mL 的补骨脂提取液,0.22 μm 滤膜滤过,待用。

2.2 混合对照品溶液的制备

精密称取补骨脂素与补骨脂二氢黄酮甲醚各 5 mg,加入蒸馏水配制质量浓度 0.05 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 EGFR 蛋白样品的制备

将 45 μg EGFR 溶于 450 μL PBS 缓冲液(0.01 mol/L, pH 7.4)并使其混合均匀,制备质量浓度为 100 μg/mL 的 EGFR 活性蛋白液。另取 100 μg/mL 的 EGFR 蛋白液 100 μL 置于 1.5 mL 离心管中,100 °C 水浴加热 30 min 使其失活,作为变性对照组以排除蛋白对成分的非特异性吸附。

2.4 亲和靶蛋白活性成分的筛选

依据本课题组已发表的亲和超滤实验方法^[27],取 50 μL 补骨脂提取液(0.1 g/mL),100 μL EGFR 蛋白溶液(100 μg/mL)和 50 μL PBS 缓冲液置于 1.5 mL 离心管中(总体积 200 μL),37 °C 共孵 30 min。

将孵育后的样品转移至 YM-10 超滤离心管中, 室温下 12 000 r/min 离心 15 min, 离心结束后加入 100 μ L PBS 缓冲液离心清洗 3 次, 以去除未结合的游离成分。将洗涤液倒出后, 向超滤离心管中加入 100 μ L 作为解离剂的 50% 甲醇-水溶液, 室温下静置反应 10 min。随后室温下 12 000 r/min 离心 15 min, 重复 2 次后, 收集洗脱液, 以释放出与 EGFR 结合的补骨脂潜在活性成分。亲和超滤-液质联用技术的实验流程如图 1 所示。为考察提取液和 EGFR 蛋白的相互作用强度, 设置了蛋白变性对照组, 蛋白变性对照组的操作过程同上。

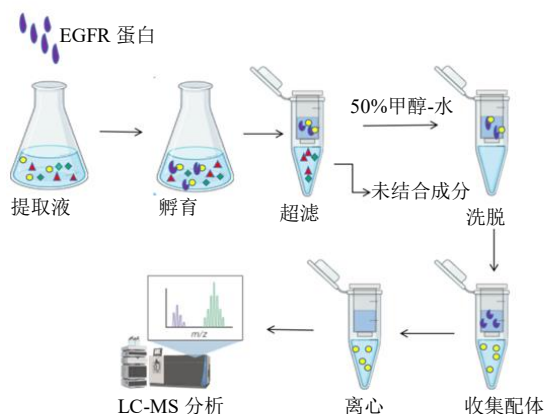


图 1 亲和超滤-液质联用技术的实验流程

Fig. 1 Experimental process of affinity ultrafiltration-liquid chromatography-mass spectrometry

2.5 UPLC-Q-TOF/MS 分析潜在活性成分

利用 UPLC-Q-TOF/MS 液质联用技术对补骨脂提取液和超滤后结合的化学成分进行鉴定分析。采用前期实验室已建立的补骨脂成分分析条件^[26]进行研究。

2.5.1 色谱条件 采用 Waters ACQUITY UPLC (Waters 公司, 美国) 进行分析, 所用的色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m, Waters 公司)。进样量 5 μ L; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 45 $^{\circ}$ C; 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱: 0~1 min, 1%~10% B; 1~3 min, 10%~18% B; 3~7 min, 18%~20% B; 7~9 min, 20%~46% B; 9~13 min, 46%~54% B; 13~17 min, 54%~58% B; 17~20 min, 58%~65% B; 20~23 min, 65%~75% B; 23~25 min, 75%~100% B; 25~27 min, 100% B; 27~28 min, 100%~1% B; 28~30 min, 1% B。

2.5.2 质谱条件 Waters Xevo G2 Q-TOF/MS 质谱

仪采用电喷雾离子源, 在正离子模式下进行检测分析, 毛细管电离电压为 2.0 kV, 去溶剂气体流速 800 L/h, 去溶剂气温度 450 $^{\circ}$ C, 测量扫描时间 0.2 s, 气体流量 3 mL/min, 碰撞能量 20~40 eV, 锥孔电压 40 V, 锥孔反吹氮气体积流量 50 L/h, 扫描范围 m/z 50~1 500。

2.6 结合变化率的计算

根据亲和超滤的鉴定结果, 利用补骨脂水提液与活性蛋白结合后化学成分的峰面积 (A_a)、补骨脂水提液与失活蛋白结合后化学成分的峰面积 (A_b) 和补骨脂水提液中化学成分的峰面积 (A_c), 计算活性成分与 EGFR 的结合变化率。

$$\text{结合变化率} = (A_a - A_b) / A_c$$

3 结果

3.1 补骨脂提取液成分鉴定

基于 MassLynx 4.1 (Version 4.1, Waters, 美国) 软件对在 UPLC-Q-TOF-MS 正离子模式下的补骨脂水提液的分子离子峰进行化学成分的鉴定, 水提物的基峰色谱 (base peak chromatogram, BPI) 图如图 2 所示; 使用补骨脂主要成分 (补骨脂素和补骨脂二氢黄酮甲醚) 的对照品配制混合对照品溶液进行测定, 以实现补骨脂中的化学成分的鉴定。通过将补骨脂提取液离子峰质谱信息与文献中碎片信息 and 对照品进行比对, 共在补骨脂提取液中鉴定出 19 种化学成分, 具体成分信息见表 1 所示。

3.2 亲和超滤-液质联用筛选亲和靶蛋白的补骨脂活性成分

取适量亲和超滤收集得到的活性成分混合溶液 and 蛋白变性对照组溶液, 用此条件进样分析, 利用 MassLynx 4.1 (Version 4.1, Waters, 美国) 软件对待测溶液的正离子模式下的 BPI 图进行提取 (图 3), 基于补骨脂提取液中已经确定的化学成分, 对活性成分混合溶液和蛋白变性对照组溶液 BPI 图中各色谱峰的相对分子质量、二级碎片信息对各个物质进行活性分子定性鉴定 (表 2), 并记录各个物质峰面积。共筛选得到 4 个化学成分, 分别是补骨脂素、psorachalcone A、补骨脂呋喃查耳酮和 delta (1,3)-补骨脂酚, 结构见图 4。以上 4 种物质可能是补骨脂治疗子宫内膜癌的潜在活性成分。

3.3 EGFR 蛋白亲和力的评价

通过比较补骨脂活性成分组和蛋白变性对照组超滤液中待测物的峰面积, 利用结合变化率公式计算筛选出的 4 种活性成分与 EGFR 蛋白的结合变

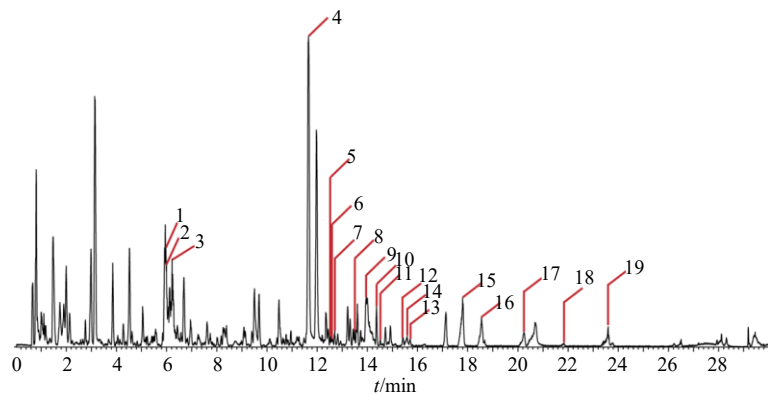


图 2 UPLC-Q-TOF-MS 正离子模式下补骨脂水提物的 BPI 图
Fig. 2 BPI diagram of water extract of *Psoraleae Fructus* under positive ions

表 1 正离子模式下补骨脂水提液 UPLC-Q-TOF-MS 成分分析

Table 1 Component analysis of water extract of *Psoraleae Fructus* by UPLC-Q-TOF/MS in positive ion mode

编号	中文名	分子式	t/min	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	加合物	误差 (×10 ⁻⁶)	二级碎片离子信息
1	补骨脂呋喃香豆精	C ₁₁ H ₆ O ₃	5.95	187.039 5	187.039 6	M+H	0.53	131.050 1, 143.050 7, 159.044 8, 115.054 7
2	补骨脂苷	C ₁₇ H ₁₈ O ₉	5.96	367.102 9	367.102 8	M+H	-0.27	205.049 9, 187.039 6, 131.049 6, 115.054 5
3	异补骨脂苷	C ₁₇ H ₁₈ O ₉	6.23	367.102 9	367.102 9	M+H	0	205.049 7, 187.038 9, 131.049 5, 115.054 3
4	补骨脂素*	C ₁₁ H ₆ O ₃	11.65	187.039 5	187.039 4	M+H	-0.53	131.046 2, 143.042 5, 159.112 8, 115.057 4
5	psorachalcone A	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	12.52	341.138 9	341.138 1	M+H	-2.35	149.025 0, 147.044 5, 269.076 4, 203.068 8
6	补骨脂呋喃查耳酮	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	12.61	341.138 9	341.138 3	M+H	-1.76	147.044 9, 119.085 3
7	补骨脂异黄酮醇	C ₂₀ H ₁₈ O ₅	12.72	339.123 2	339.122 1	M+H	-3.24	267.066 3, 321.118 4, 239.069 4, 137.025 3
8	delta (1,3)-补骨脂酚	C ₁₈ H ₂₂ O	13.58	255.174 9	255.174 5	M+H	-1.57	185.096 4, 199.111 3
9	补骨脂查耳酮	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	13.92	325.144 0	325.144 0	M+H	0.00	269.082 9, 147.045 9
10	新补骨脂异黄酮	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	14.37	323.128 3	323.128 6	M+H	0.93	255.066 2, 267.065 8, 239.072 2
11	异新补骨脂异黄酮	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	14.52	323.128 3	323.127 2	M+H	-3.40	267.065 8, 165.064 1, 239.068 1, 195.051 7
12	刺桐素 A	C ₂₀ H ₁₆ O ₄	15.41	321.112 7	321.111 2	M+H	-4.67	279.069 6, 137.023 2, 263.086 5
13	补骨脂定	C ₂₀ H ₁₆ O ₅	15.71	337.107 6	337.108 2	M+H	1.78	281.045 8, 253.052 5
14	psorachromene	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	15.63	323.128 3	323.127 9	M+H	-1.24	203.070 6, 147.044 2
15	补骨脂二氢黄酮甲醚*	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	17.80	339.159 6	339.159 0	M+H	-1.77	283.096 1, 271.096 3, 147.044 2, 219.101 6
16	补骨脂异黄酮 A	C ₂₅ H ₂₆ O ₄	18.55	391.190 9	391.191 0	M+H	0.26	267.065 1, 239.071 3, 255.067 6
17	4'-O-甲基补骨脂查耳酮	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	20.24	339.159 6	339.159 5	M+H	-0.29	271.095 6, 219.101 3, 283.096 2, 147.044 7
18	新补骨脂宁	C ₂₅ H ₂₄ O ₄	21.84	389.175 3	389.175 9	M+H	1.54	137.027 1, 321.109 8, 267.066 1
19	补骨脂酚	C ₁₈ H ₂₄ O	23.60	257.190 5	257.189 9	M+H	-2.33	201.047 6, 173.098 0, 107.049 5, 187.075 7

*表示该化学成分通过对照品比对指认。

*confirmed by reference substance.

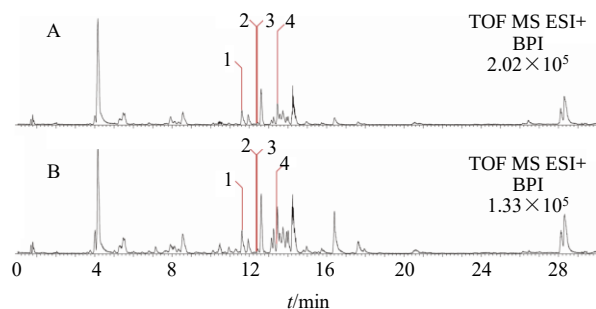


图 3 UPLC-Q-TOF-MS 正离子模式下补骨脂活性成分 (A) 与蛋白变性对照组溶液 (B) 活性成分的 BPI 图

Fig. 3 BPI diagram of active ingredients of psoralen (A) and protein denaturation control solution (B) in positive ions

表 2 活性成分混合溶液的 UPLC-Q-TOF/MS 成分分析

Table 2 UPLC-Q-TOF/MS analysis of active ingredient mixture solution

编号	化合物	分子式	t/min	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	加合物	误差 ($\times 10^{-6}$)	二级碎片离子信息
1	补骨脂素	C ₁₁ H ₆ O ₃	11.62	187.039 5	187.040 8	M+H	6.95	131.051 3, 143.051 0, 159.047 8, 115.056 0
2	psorachalcone A	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	12.49	341.138 9	341.139 7	M+H	2.35	149.025 5, 147.046 2, 269.093 2, 203.076 1
3	补骨脂呋喃查耳酮	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	12.58	341.138 9	341.139 3	M+H	1.17	147.048 1, 119.087 0
4	delta (1,3)-补骨脂酚	C ₁₈ H ₂₂ O	13.41	255.174 9	255.176 8	M+H	7.45	185.103 0, 199.112 0

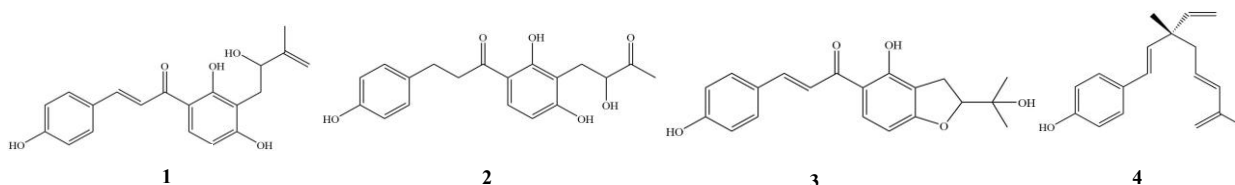


图 4 补骨脂活性成分的化学结构

Fig. 4 Chemical structures of active ingredient of *Psoraleae Fructus*

研究证明, EGFR 在子宫内膜癌中表达水平较正常子宫内膜组织明显升高, EGFR 高表达与子宫内膜癌的分期、分化、分型和淋巴结转移相关, 且患者较差的预后与 EGFR 的表达量呈正相关^[29-30]。因此本实验以 EGFR 蛋白为靶点, 通过亲和超滤-液质联用技术从补骨脂中快速筛选得到 4 种可以与 EGFR 蛋白特异性结合的化学成分。子宫内膜癌的发生与未拮抗的雌激素暴露有关, 当暴露于未拮抗的雌激素时, 即使是低水平的雌激素也可能导致不良的子宫内膜事件^[31]。补骨脂素能够激活雌激素受体, 加速雌激素与受体结合, 减轻雌激素暴露, 因此补骨脂素能够通过调节体内雌激素含量发挥对子宫内膜癌的治疗作用^[32]。Ki67 蛋白的高表达是细胞增殖的标志, 与子宫内膜癌患者的低生存率有关^[33]。有研

化率。结果表明, 补骨脂活性成分在实验组中比蛋白变性组峰面积增大, psorachalcone A 与 EGFR 蛋白结合变化率最大, 为 14.91%, 4 种活性成分与 EGFR 蛋白结合变化率的高低顺序依次为: psorachalcone A (14.91%) > delta (1,3)-补骨脂酚 (9.39%) > 补骨脂呋喃查耳酮 (6.95%) > 补骨脂素 (2.59%)。

4 讨论

EGFR 蛋白是一种跨膜糖蛋白, 属于酪氨酸激酶型受体, 已经在多种肿瘤中发现肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移等生物学行为均与 EGFR 活化有关^[28]。有

究表明, 补骨脂素可调控 Ki67 蛋白表达, 从而抑制癌细胞增殖^[34]。另外, 补骨脂素还可以通过内质网应激途径诱导癌细胞凋亡, 从而发挥治疗子宫内膜癌的作用^[35]。综上所述, 补骨脂素能够通过抑制癌细胞增殖和加速癌细胞凋亡, 对子宫内膜癌起到较好的治疗作用。缺氧诱导因子-1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1) 是在缺氧的情况下诱导的一种转录因子, 与肿瘤的发生、生长和转移等因素有关^[36]。有研究表明补骨脂酚类化合物对 HIF-1 具有抑制作用, 能够显著降低癌细胞的存活率, 从而抑制子宫内膜癌的发展^[37]。与正常内膜组织相比, 促凋亡蛋白在子宫内膜癌组织中显著低表达, 而抗凋亡蛋白在子宫内膜癌组织中高表达, 这导致子宫内膜细胞凋亡和抗凋亡的失衡, 即凋亡速度慢于增殖速度^[38-39]。有实验

研究证明, 补骨脂酚类化合物能够增加促凋亡蛋白表达, 降低抗凋亡蛋白表达, 减小肿瘤细胞恶性程度, 调节肿瘤细胞凋亡过程^[40]。因此, 推测补骨脂中的补骨脂酚类化合物 δ (1,3)-补骨脂酚可能通过干预 HIF-1 和细胞凋亡相关蛋白的表达量, 抑制子宫内膜癌的发生与发展。

本实验也存在一些不足之处。首先, 本实验基于亲和超滤-液质联用技术初步筛选了补骨脂中可以与 EGFR 特异性结合的活性成分, 但这些化合物的生物活性及其结合位点还有待进一步验证, 因此后期需要进一步利用表面等离子共振技术 (surface plasmon resonance, SPR) 对实验结果进行验证。其次, 仍需在体内和体外水平上深入探索并揭示筛选出的补骨脂活性成分治疗子宫内膜癌的分子机制, 以完善补骨脂的药效物质基础。

5 结论

本实验为探讨补骨脂对子宫内膜癌的治疗作用, 以 EGFR 蛋白为发挥作用的关键靶点, 利用亲和超滤-液质联用技术可以从复杂成分中快速筛选活性成分的特点, 将补骨脂和 EGFR 蛋白共同孵育, 利用超速离心和解离剂对活性配体进行分离和筛选, 并设置对照组以考察活性成分对 EGFR 蛋白的相互作用强度。结合液质联用技术共筛选出 4 个与 EGFR 蛋白结合的活性成分, 结合文献和对照品, 判断 4 个化合物分别为补骨脂素、psorachalcone A、补骨脂呋喃查耳酮和 δ (1,3)-补骨脂酚。本研究可以为补骨脂防治子宫内膜癌的物质基础和作用机制研究提供理论依据, 但补骨脂活性成分与 EGFR 的结合位点和量效关系还需要进一步探究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Huvila J, Pors J, Thompson E F, *et al.* Endometrial carcinoma: Molecular subtypes, precursors and the role of pathology in early diagnosis [J]. *J Pathol*, 2021, 253(4): 355-365.
- [2] 陈姝宁, 孔为民. 子宫内膜癌规范化治疗与新进展 [J]. 中国临床医生杂志, 2023, 51(3): 263-267.
- [3] Javadian P, Nezhat F. Endometrial carcinoma and its precursors [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1242: 59-72.
- [4] 杨婷, 张贝贝, 解伟, 等. 白皮杉醇对子宫内膜癌 HEC-1A 细胞增殖、迁移和侵袭的影响 [J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(3): 489-496.
- [5] 王青, 张颖. 代谢综合征参与子宫内膜癌发病机制研究进展 [J]. 安徽医药, 2023, 27(4): 641-644.
- [6] Shiozawa T, Konishi I. Early endometrial carcinoma: Clinicopathology, hormonal aspects, molecular genetics, diagnosis, and treatment [J]. *Int J Clin Oncol*, 2006, 11(1): 13-21.
- [7] Trojano G, Olivieri C, Tinelli R, *et al.* Conservative treatment in early stage endometrial cancer: A review. [J]. *Acta Biomed*, 2019, 90(4): 405-410.
- [8] 周蓉, 王益勤, 鹿群, 等. 早期子宫内膜癌保留生育功能治疗专家共识 (2022 年版) [J]. 中国妇产科临床杂志, 2023, 24(2): 215-219.
- [9] 吴亚岭. 顺铂联合盐酸表柔比星治疗晚期子宫内膜癌的效果及对血清 sFLT1、TSGF 的影响 [J]. 黑龙江医药科学, 2022, 45(3): 56-58.
- [10] 齐曼, 芦秋彤, 刘少卿, 等. 白蛋白结合型紫杉醇联合阿帕替尼辅助中药治疗晚期子宫内膜癌疗效观察 [J]. 现代肿瘤医学, 2021, 29(23): 4176-4180.
- [11] 王洋. 晚期子宫内膜癌综合治疗疗效及预后分析 [D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [12] 曹海敬, 薛嫚, 李芳, 等. 子宫内膜癌靶向药物治疗研究进展 [J]. 中国新药与临床杂志, 2020, 39(1): 1-7.
- [13] Buhtoiarova T N, Brenner C A, Singh M. Endometrial carcinoma: Role of current and emerging biomarkers in resolving persistent clinical dilemmas [J]. *Am J Clin Pathol*, 2016, 145(1): 8-21.
- [14] 汪锋, 胡玉崇, 贺凤, 等. EGFR 与 PD-1、PD-L1 在子宫内膜癌中的表达研究 [J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(10): 1586-1589.
- [15] Zhang W J, Yang H F, Zhu L Q, *et al.* Role of EGFR/ErbB2 and PI3K/AKT/e-NOS in *Lycium barbarum* polysaccharides ameliorating endothelial dysfunction induced by oxidative stress [J]. *Am J Chin Med*, 2019, 47(7): 1523-1539.
- [16] Yang F, Lin Z W, Huang T Y, *et al.* Ligustilide, a major bioactive component of *Angelica sinensis*, promotes bone formation via the GPR30/EGFR pathway [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 6991.
- [17] 杨阔, 高茸, 马亚中, 等. 补骨脂素药理作用及肝毒性机制的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 289-298.
- [18] Chen L L, Chen S G, Sun P, *et al.* *Psoralea corylifolia* L.: A comprehensive review of its botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicology, quality control and pharmacokinetics [J]. *Chin Med*, 2023, 18(1): 4.
- [19] Chopra B, Dhingra A K, Dhar K L. *Psoralea corylifolia* L. (Buguchi)-folklore to modern evidence: Review [J]. *Fitoterapia*, 2013, 90: 44-56.
- [20] Liu X Y, Nam J W, Song Y S, *et al.* Psoralidin, a coumestan analogue, as a novel potent estrogen receptor signaling molecule isolated from *Psoralea corylifolia* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(5): 1403-1406.
- [21] Weng Z B, Gao Q Q, Wang F, *et al.* Positive skeletal effect of

- two ingredients of *Psoralea corylifolia* L. on estrogen deficiency-induced osteoporosis and the possible mechanisms of action [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 417: 103-113.
- [22] 杨忠杰, 李森森, 曹娟, 等. 重组人 Tim-3 蛋白的制备及基于亲和超滤-液质联用技术的天然配体筛选 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(3): 545-551.
- [23] 杨丽, 赵伯原, 李春龙, 等. 亲和超滤-液质联用技术在药用植物活性成分筛选中的应用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(8): 196-208.
- [24] Chen G L, Huang B X, Guo M Q. Current advances in screening for bioactive components from medicinal plants by affinity ultrafiltration mass spectrometry [J]. *Phytochem Anal*, 2018, 29(4): 375-386.
- [25] Li Y J, Wan G Z, Xu F C, *et al*. Screening and identification of α -glucosidase inhibitors from *Cyclocarya paliurus* leaves by ultrafiltration coupled with liquid chromatography-mass spectrometry and molecular docking [J]. *J Chromatogr A*, 2022, 1675: 463160.
- [26] Duan J Y, Dong W Y, Xie L J, *et al*. Integrative proteomics-metabolomics strategy reveals the mechanism of hepatotoxicity induced by *Fructus Psoraleae* [J]. *J Proteomics*, 2020, 221: 103767.
- [27] Wang X, Li Y, Chen M L, *et al*. Stepwise rapid tracking strategy to identify active molecules from *Ixeris sonchifolia* Hance based on “affinity mass spectrometry-atomic force microscopy imaging” technology [J]. *Talanta*, 2020, 217: 121031.
- [28] 徐林成, 邵伟伟, 邹琳, 等. 肺腺癌中联合检测 EGFR 蛋白及 EGFR 基因的临床意义 [J]. 临床肺科杂志, 2022, 27(11): 1735-1739.
- [29] 马丽娜. IGF-1R 和 EGFR 在子宫内膜癌中的表达及临床意义 [D]. 上海: 上海交通大学, 2019.
- [30] Albitar L, Pickett G, Morgan M, *et al*. EGFR isoforms and gene regulation in human endometrial cancer cells [J]. *Mol Cancer*, 2010, 9(1): 166.
- [31] Cai Y X, Wang B, Xu W, *et al*. Endometrial cancer: Genetic, metabolic characteristics, therapeutic strategies and nanomedicine [J]. *Curr Med Chem*, 2021, 28(42): 8755-8781.
- [32] Xin D, Wang H, Yang J, *et al*. Phytoestrogens from *Psoralea corylifolia* reveal estrogen receptor-subtype selectivity [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(2): 126-131.
- [33] Yang C, Zhang J, Ding M, *et al*. Ki67 targeted strategies for cancer therapy [J]. *Clin Transl Oncol*, 2018, 20(5): 570-575.
- [34] 李少鹏, 蔡建通, 翁铭芳, 等. 补骨脂素对前列腺癌 LNCaP-AI 细胞增殖和周期调控及雌激素受体 β 表达的影响 [J]. 中华细胞与干细胞杂志: 电子版, 2018, 8(1): 1-5.
- [35] Li S B, Tu H Q. Psoralen inhibits the proliferation and promotes apoptosis through endoplasmic reticulum stress in human osteosarcoma cells [J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2022, 60(1): 101-109.
- [36] Spirina L V, Yunusova N V, Kondakova I V, *et al*. Association of growth factors, HIF-1 and NF- κ B expression with proteasomes in endometrial cancer [J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(9): 8655-8662.
- [37] Wu C Z, Hong S S, Cai X F, *et al*. Hypoxia-inducible factor-1 and nuclear factor- κ B inhibitory meroterpenes analogues of bakuchiol, a constituent of the seeds of *Psoralea corylifolia* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(8): 2619-2623.
- [38] 夏守国, 李大可, 黄惠琼, 等. 抗凋亡蛋白 BAG-1 在子宫内膜癌中的表达及其与肿瘤分化的关系 [J]. 四川医学, 2006, 27(8): 863-864.
- [39] 毕芳芳, 杨清, 王玉, 等. 促凋亡蛋白 Bid 在子宫内膜癌中的表达及意义 [J]. 现代肿瘤医学, 2012, 20(3): 589-592.
- [40] Fu B, Xi S, Wang Y, *et al*. The protective effects of Ciji-Hua'ai-Baosheng II Formula on chemotherapy-treated H22 hepatocellular carcinoma mouse model by promoting tumor apoptosis. [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1539.

[责任编辑 王文倩]