

基于网络药理学和动物实验探讨复方金钱草颗粒对慢性细菌性前列腺炎大鼠的防治作用

吴佩莹^{1,2}, 龚小妹², 侯小利², 宋志军², 欧春丽², 张 华³, 吴文华³, 刘艳芳⁴,
王 硕^{1,2*}

(1. 广西医科大学, 广西 南宁 530021; 2. 广西壮族自治区药用植物研究所, 广西 南宁 530023; 3. 广西万通制药有限公司, 广西 南宁 530000; 4. 中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116000)

摘要: **目的** 运用网络药理学、分子对接结合动物实验探讨金钱草对慢性细菌性前列腺炎 (CBP) 大鼠的防治作用。**方法** 运用网络药理学预测金钱草作用 CBP 的核心靶点及信号通路, 并计算活性成分与靶蛋白对接分数。建立痤疮丙酸杆菌联合表皮葡萄球菌诱导 CBP 大鼠模型, 分析前列腺指数, HE 染色观察前列腺组织形态的变化, 采用 ELISA 法检测大鼠血清中 PGE₂、IL-6、IL-8、TNF- α 和 COX-2 水平, Western blot 法验证前列腺组织中 COX-2、IL-6、TNF- α 和 STAT3 蛋白表达。**结果** 网络药理学预测得到金钱草作用 CBP 的潜在靶点 86 个, 主要涉及 6 条信号通路; 分子对接显示, 24 个“核心靶点-活性成分”的结合能均 ≤ -6 kcal/mol, 表明结合活性好。动物实验显示, 金钱草可降低 CBP 大鼠前列腺湿重和前列腺指数 ($P < 0.05$), 减少炎症细胞浸润, 改善大鼠前列腺组织病理状态, 以及降低血清 COX-2、PGE₂、IL-6 和 TNF- α 水平 ($P < 0.05$), 下调前列腺组织 COX-2、IL-6、TNF- α 和 STAT3 蛋白表达 ($P < 0.05$)。**结论** 复方金钱草颗粒可能通过抑制 COX-2、PGE₂、IL-6 和 TNF- α 炎症介质的释放, 减轻前列腺组织内的炎症反应。**关键词:** 复方金钱草颗粒; 慢性细菌性前列腺炎; 网络药理学; 炎症

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)08-2795-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.08.050

慢性细菌性前列腺炎 (chronic bacterial prostatitis, CBP) 是一种或多种病原菌持续感染所引起的慢性炎症, 其发病率高、病程迁延、复发频繁, 逐渐呈年轻化趋势。据统计, 泌尿外科门诊患本病的患者中, 20~45 岁男性占 35%~40%^[1]。临床症状主要表现为尿频、尿急、尿潴留、尿痛、阴囊潮湿疼痛、会阴区坠胀不适等, 严重者致阳痿或早泄^[2]。在耐药菌流行的时代, 耐药性的增加和抗生素的不良反应限制了西药选择。中医防治前列腺炎的药物有前列舒通胶囊、宁泌泰胶囊、前列欣胶囊等^[3-4]。中药制剂凭借多成分、多途径、多靶点的优势, 有效干预病理的多个环节, 协同发挥药效^[5]。因此, 中成药防治 CBP 或成为一种较好的选择。

复方金钱草颗粒 (后文中均简称为“金钱草”) 是广西万通制药有限公司独家生产的中药制剂, 收录于《中成药临床应用指南—外科疾病分册》^[6]。该方由广金钱草、车前草、光石韦、玉米须组成, 用于尿频、尿急、尿痛、尿路感染等^[7], 其适应症与 CBP 临床表现具有较好的一致性。临床应用也表明其具有较好预防 CBP 的作用, 但目前尚未见相关药理研究报道。鉴于此, 本研究运用网络药理学对金钱草干预 CBP 的复杂网络关系进行探讨, 并以痤疮

丙酸杆菌联合表皮葡萄球菌诱导大鼠 CBP 模型进行初步验证, 为该药防治 CBP 提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 大鼠, 180~220 g, 雄性, SPF 级, 由广西医科大学实验动物中心提供 [实验动物生产许可证号 SCXK (桂) 2020-0003, 实验动物使用许可证号 SYXK (桂) 2020-0004], 本实验获得广西药用植物园动物实验伦理委员会批准。大鼠分笼饲养, 饮食自由, 光暗同昼夜周期, 饲养室温度 (23 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C, 相对湿度 (60 $\pm$ 5)%。

1.2 药物与试剂 复方金钱草颗粒 (广西万通制药有限公司, 批号 210311/1); 前列舒通胶囊 (保定天浩制药有限公司, 批号 211012)。戊巴比妥钠 (美国 Sigma 公司, 批号 xy202108); 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) (天津大茂化学试剂厂, 批号 20160505); 头孢克洛 (广东彼低迪药业有限公司, 批号 20210225); 表皮葡萄球菌、痤疮丙酸杆菌 (商城北纳创联生物科技有限公司, 编号 137594、336649); 液体硫乙醇酸盐培养基 (广东环凯微生物科技有限公司, 批号 1102082); 大鼠前列腺素 E₂ (PGE₂)、环氧合酶 2 (COX-2)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素 6 (IL-6) ELISA 试剂盒 (武汉华美生物工程有限公司, 货号

收稿日期: 2023-05-05

基金项目: 中国科学院服务网络计划 (STS 计划) 区域重点项目 (KFJ-STIS-QYZD-2021-03-004)

作者简介: 吴佩莹 (1998—), 女, 硕士, 研究方向为新药研究与二次开发。Tel: 18260883072, E-mail: 1045005856@qq.com

* 通信作者: 王 硕 (1973—), 男, 博士, 研究员, 研究方向为中药药理与新药研发。Tel: 13978858190, E-mail: ws428@163.com

C0169090139、O15017990、J10017821、N20016917); 大鼠白介素 8 (IL-8) ELISA 试剂盒 (江苏酶免实业有限公司, 货号 MM-0175R1); 组织蛋白裂解液 RIPA、PMSF (北京索莱宝科技有限公司, 批号 0000464097、P0100); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (上海碧云天生物技术股份有限公司, 批号 P0010S); 10% PAGE 蛋白预制胶 (江苏凯基生物技术股份有限公司, 批号 20211028); 兔抗 GAPDH、兔抗 TNF- α 、兔抗 IL-6、兔抗 COX-2、兔抗 STAT3、HRP 标记的羊兔抗 IgG (英国 Abcam 公司, 货号 ab8245、ab183218、ab290735、ab17980、ab68153、7074)。

2 方法

2.1 药物成分筛选 通过检索 TCMSP 数据库 (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>) 检索车前草、玉米须的成分。根据 ADME 参数 (口服生物利用度 $\geq 30\%$ 、类药性 ≥ 0.18) 筛选活性成分。TCMSP 平台未收录的光石韦、广金钱草, 利用文献检索成分, 用 Swiss ADME 数据库 (<http://www.swissadme.ch>) 对成分进行筛选, GI absorption 结果为 “high”, 且 5 个药代动力学指标 Lipinski、Veber、Ghose、Egan、Muegge 中有 2 个及以上的结果为 “yes” 的成分选择纳入。对于指标不符合, 但经指纹图谱或液质联用等方法已确认为该中药特征性的成分, 或药效机制研究中被证实为主要活性成分进行纳入。

2.2 活性成分靶点筛选 对纳入的成分利用 Swiss Target Prediction 平台 (<http://www.swisstargetprediction.ch>) 预测靶点, 选择 probability ≥ 0.2 的靶点, 输入成分名称, 补充 CTD 数据库 (<http://ctdbase.org>) 有文献依据的靶点。

2.3 前列腺炎疾病靶点筛选 在 DisGeNET 数据库 (<https://www.disgenet.org>) 和 CTD 数据库 (<http://ctdbase.org>) 中, 以 “前列腺炎” 为关键词获取相关靶点; 通过 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org>) 选取 Score 值大于中位数以上的纳入, 检索 DrugBank 数据库 (<https://www.drugbank.ca>) 中前列腺炎临床用药的靶点。合并 4 个数据库靶点, 删除重复值。将得到的前列腺炎靶点与药物靶点进行映射, 通过 R 语言绘制 Venn 图, 得到金钱草-前列腺炎共同靶点。

2.4 PPI 网络构建 运用 STRING11.5 数据库 (<https://cn.string-db.org>) 分析共同靶点, 互作值设为 “highest confidence” (> 0.7), 其余设定默认, 再通过 CytoScape 3.9.1 软件可视化蛋白相互作用 (Protein-Protein Interaction, PPI) 网络, 其中 MCODE 插件分析出潜在蛋白质功能模块 module。根据 P 值展示 Module 中 3 个最佳评分的互作关系。

2.5 GO 功能和 KEGG 通路富集分析 将共同靶点录入 Metascape 平台 (<http://metascape.org/gp/index.html>), 设定 $P<0.01$, 从生物过程 (BP)、细胞组分 (CC)、分子功能 (MF) 3 个方面进行 GO 功能以及 KEGG 通路富集分析。

2.6 药物-成分-靶点-通路网络的构建 选取 KEGG 分析中 6 条与 CBP 相关度最高的通路, 即 IL-17、PI3K-Akt、TNF、

FoxO、TLRs、NF- κ B 通路。将通路、共同靶点与筛出的成分导入 Cytoscape3.9.2 软件可视化 “药物-成分-靶点-通路” 图。利用 Network Analyzer 分析连接度 (Degree), 来判断金钱草干预 CBP 的主成分和核心靶点。

2.7 靶蛋白-活性成分分子对接 根据 “药物-成分-靶点-通路” 选取 degree 值最大的 4 个靶标 (PTGS2、TNF、AR、IL6) 与 degree 值最高的 2 个活性成分木犀草素、芹菜素和单药已知的主要活性成分 (夏佛塔苷、异牡荆苷、车前子苷、芒果苷) 进行分子对接。运用 Autodock Vina 软件模拟对接, PyMoL 软件可视化两者结合模式。若结合能 < 0 kcal/mol 表明成分和靶蛋白可自发结合, 结合能 ≤ -5.0 kcal/mol 表明成分和靶蛋白结合活性良好。

2.8 动物实验验证

2.8.1 造模及给药 参考文献 [8-10] 报道建立大鼠 CBP 模型。70 只 SD 大鼠适应性饲养 7 d 后, 将大鼠随机分为空白组、模型组、阳性组 (前列舒通胶囊)、辅料组和金钱草高、中、低剂量组, 每组 10 只。分组后灌胃给药, 每天 1 次, 灌胃量为 1 mL/100 g。金钱草高、中、低剂量组分别给予复方金钱草颗粒药液 3.24、1.62、0.81 g/kg (人临床等效剂量的 2、1、0.5 倍, 以 0.1% CMC-Na 溶液配制), 阳性组给予前列舒通药液 0.324 g/kg, 辅料组给予复方金钱草辅料药液 1.62 g/kg, 空白组和模型组给予等量 0.1% CMC-Na 溶液。药物干预 30 d 后, 禁食 12 h, 用 1% 戊巴比妥钠溶液, 按 0.6 mL/100 g 剂量腹腔注射麻醉大鼠, 置于无菌操作台, 切开大鼠腹壁, 将膀胱及两侧精囊用镊子提起, 使前列腺背叶暴露出来, 除了空白组大鼠前列腺背叶两侧各注入 0.1 mL 的生理盐水外, 其余组在前列腺两侧叶上各注入 0.1 mL 痤疮丙酸杆菌和表面葡萄球菌混合菌液 (1:1, 1×10^8 cfu/mL), 两边共 0.2 mL。无菌棉球按压住针眼 1 min, 缝合腹壁, 碘伏消毒。待大鼠清醒后, 正常给水给食, 每 3 d 记录 1 次体质量。

2.8.2 样本采集及检测 造模后第 4 天, 大鼠腹主动脉取血, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、3 000 r/min 离心 10 min, 取血清, ELISA 法检测血清中 COX-2、IL-6、IL-8、TNF- α 、PGE₂ 水平。摘取前列腺组织, 称重, 计算前列腺指数, 公式为前列腺指数=前列腺质量/体质量; 取前列腺组织进行 HE 染色, 于显微镜下观察前列腺组织病理变化。Western blot 法检测蛋白表达, 提取前列腺组织蛋白, 10% 预制胶进行蛋白电泳, 将蛋白转印至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉溶液室温封闭 2 h, 加一抗 (1:1 000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, TBST 缓冲液冲洗, 加二抗 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 50 min, TBST 冲洗 5 min, 发光显影, 通过 Image J 软件计算蛋白条带灰度值, 以目标条带灰度值与 GAPDH 灰度值的比值表示目标条带蛋白相对表达量。

2.8.3 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理, 符合正态分布的计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 方差齐性时, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD- t 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学

3.1.1 药物活性成分与疾病靶点筛选 基于 TC MSP 数据库筛选后,对于有些成分,如车前子苷、车前苷、芒果苷、异芒果苷,虽然 ADME 参数较低,却已被证实为中药的主要活性成分^[7,11],再次通过文献校正纳入。广金钱草 116 种成分,纳入 17 个;光石韦 11 个成分,纳入 4 个;玉米须 99 个成分,纳入 16 个;车前草 70 个成分,纳入 13 个,各成分重复 6 个,共纳入 42 个。GeneCards 数据库选择评分 8 以上,纳入 682 个;CTD 数据库选择评分 30 以上,纳入 581 个;DisGeNET 数据库有 87 靶点;DrugBank 有 38 个靶点,剔除重复,整合得到 1 191 个靶点。

3.1.2 药物干预前列腺炎潜在靶点筛选 通过筛选得到前列腺炎靶点 1 191 个,药物成分的作用靶点有 260 个,靶点映射得到金钱草干预前列腺炎的潜在靶点 86 个,见图 1。

3.1.3 PPI 网络的构建与分析 PPI 网络见图 2,86 个交集靶点之间连线越粗、颜色越深,说明两者蛋白之间互相

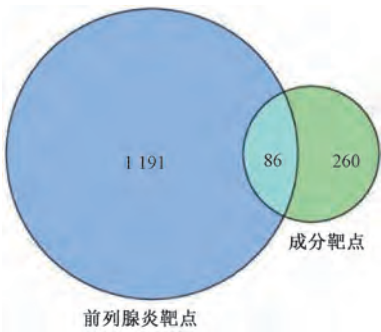


图 1 成分与前列腺炎共同靶点 Venn 图

作用越强;靶点颜色从黄到红,说明靶点连线越多,代表其对前列腺炎影响越大。图 2 中可见蛋白互作频次最高的依次为 TP53、AKT1、STAT3、CASP3、MAPK3、EGFR 等,处于核心圈位,是 PPI 网络的关键蛋白。3 个模块的生物学功能主要涉及细胞因子受体结合、受体配体活性以及一氧化氮合酶调节活性。

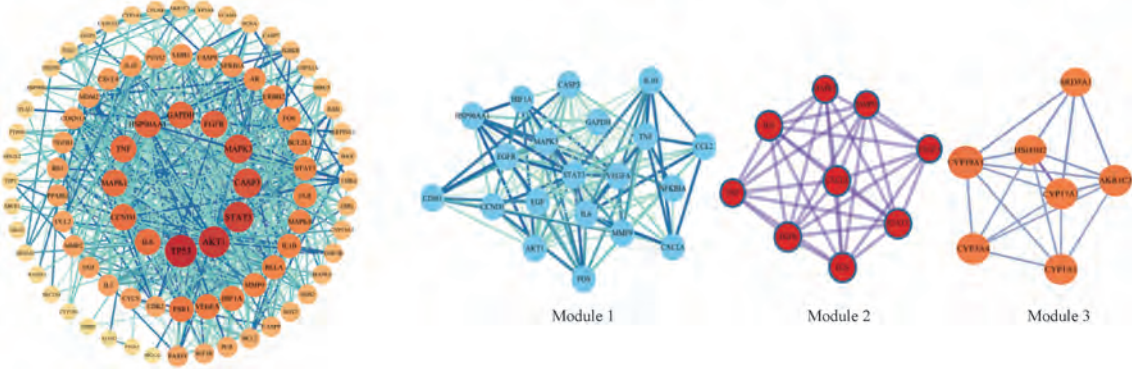


图 2 PPI 网络分析

3.1.4 GO 功能富集与 KEGG 通路富集分析 GO 分析结果见图 3A,金钱草可能在膜筏、囊腔、核膜受体及管腔等位置干预 CBP 的生物学过程,主要涉及有对脂质、激素、类固醇激素、细菌、外来生物刺激的防御反应等,通过活性氧代谢、激素调节和氧化应激反应,与转录因子、蛋白激酶、生物反应连接酶、细胞因子及相关受体配体结合而发挥功能作用。KEGG 结果显现图 3B,金钱草干预 CBP 的信号通路主要与 IL-17、PI3K-Akt、TNF、FoxO、TLRs、NF- κ B 通路等密切相关。

3.1.5 药物-成分-靶点-通路网络分析 “药物-成分-靶点-通路”网络关系由 138 个节点和 600 条边构成,节点面积越大,表明其对前列腺炎的影响越大,见图 4。6 条通路之间有多个共有靶点连接而非单独存在,表明金钱草可能是通过多通路之间的协同作用干预 CBP。degree 值较高的成分有木犀草素、芹菜素、槲皮素、异鼠李素、异牡荆苷、黄酮素等,其中木犀草素 degree 值为 129,涉及 63 个靶点和 3 味中药,不仅是车前草的主要活性成分,还是广金钱草、玉米须的共有黄酮类成分,具有广泛的生理活性。每个成分接连多个靶点,degree 值较高的靶点有

PTGS2、TNF、AR、IL6、CASP3、NOS2 等,其中 PTGS2 的 degree 值为 28,表明 42 个总成分中有 28 个成分均与该靶点存在作用关系,提示这些可能为金钱草干预 CBP 的核心靶点。

3.1.6 分子对接 对接分数结果见图 5,24 个“核心靶点-活性成分”的结合能均 ≤ -6 kcal/mol,选择分数最高的前 6 组作对接模式图,见图 6,由此可见 PTGS2 蛋白受体与木犀草素、芹菜素等配体结合活性好;IL6 与异牡荆苷、芒果苷等亲和力良好;TNF 与夏佛塔苷、木犀草素等亲和力良好。提示药物成分中的木犀草素、芹菜素、夏佛塔苷、异牡荆苷等活性成分与核心靶点之间有良好的结合活性,可通过活性成分作用于核心靶点干预 CBP。

3.2 动物实验验证

3.2.1 金钱草对 CBP 大鼠体质量的影响 各组大鼠体质量随时间的推移不断增加,且各给药组大鼠体质量与模型组比较无明显变化,说明金钱草对大鼠的体质量无明显影响,见图 7。

3.2.2 金钱草对 CBP 大鼠前列腺的影响 与空白组比较,模型组大鼠前列腺质量、前列腺指数均升高 ($P<0.01$),

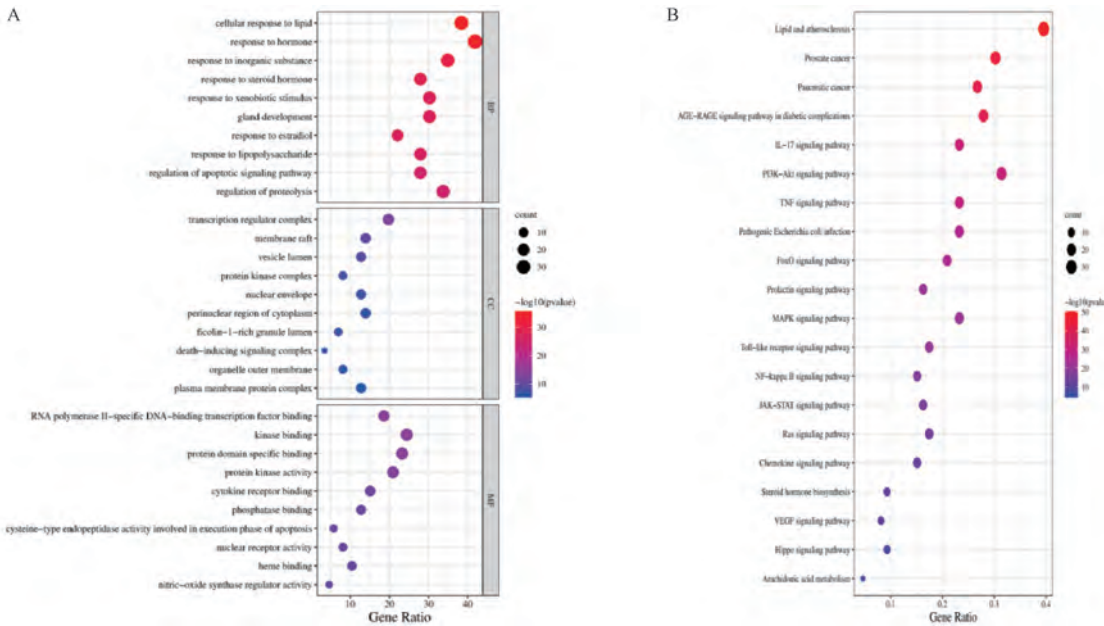
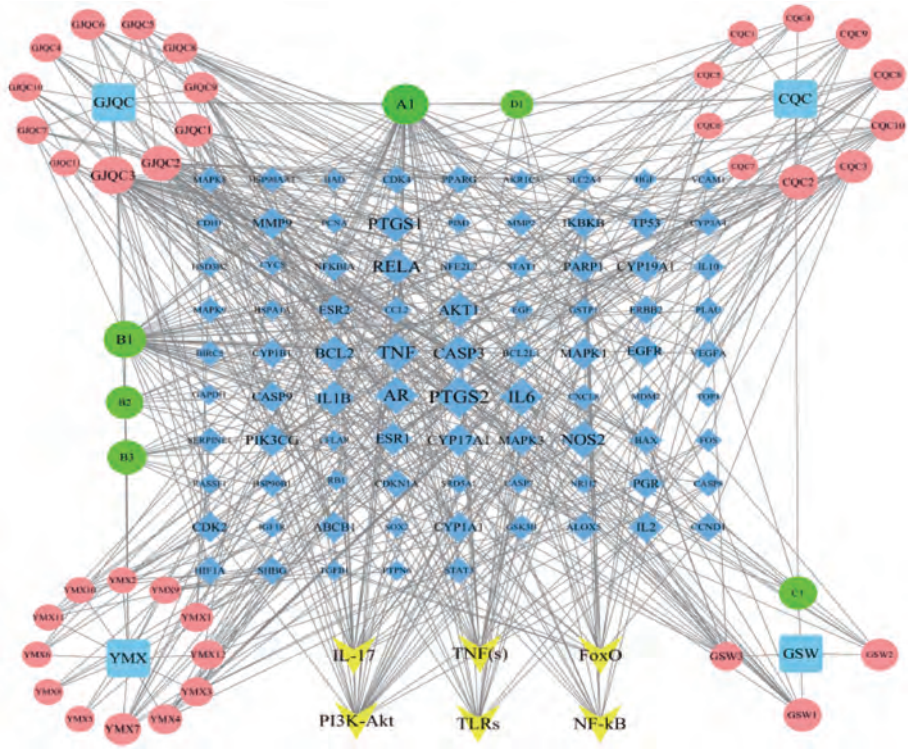


图 3 靶点 GO (A) 及 KEGG (B) 富集分析图



注：GJQC、CQC、YMX、GSW 分别为广金钱草、车前草、玉米须、光石韦；粉色圆形代表活性成分，绿色圆形代表单药之间的共有成分，黄色节点代表信号通路，蓝色菱形代表蛋白靶点，图形面积越大，degree 值越高。

图 4 “药物-成分-靶点-通路”网络图

表明细菌感染会导致前列腺炎症肿大，进而影响大鼠的前列腺重量；与模型组比较，阳性组和金钱草高剂量组大鼠前列腺质量、前列腺指数均降低（ $P<0.01$ ），提示金钱草能有效减轻前列腺肿大症状，见表 1。

3.2.3 金钱草对 CBP 大鼠前列腺组织病理变化的影响 空白组大鼠前列腺组织结构正常，腺腔大小基本一致，无明

显扩张，腺上皮细胞排布紧密；模型组腺上皮细胞形状不规则，腺体组织结构紊乱，间质、腺腔内可见大量炎症细胞浸润；与模型组比较，金钱草高、中剂量组病理组织得到改善，腺体组织结构恢复有序，炎症细胞浸润减轻，低剂量组与辅料组病理改变不明显，提示金钱草对大鼠前列腺组织具有一定的保护作用，见图 8。

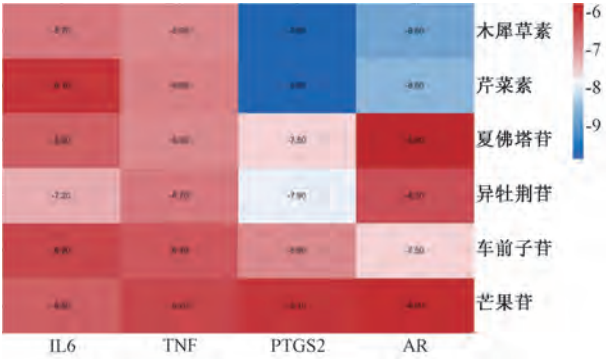


图5 靶蛋白与活性成分对接结合能结果

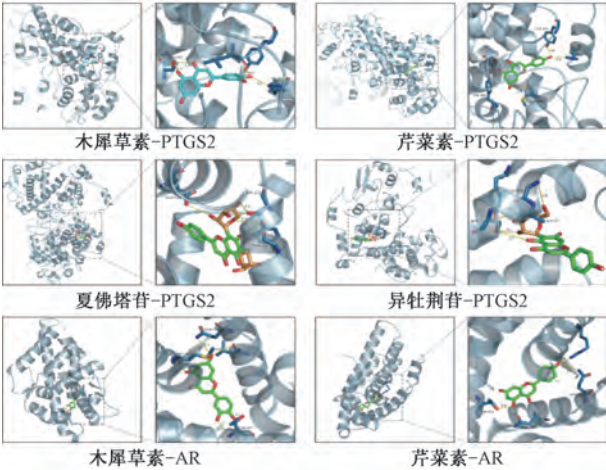


图6 活性成分与靶点的对接构象

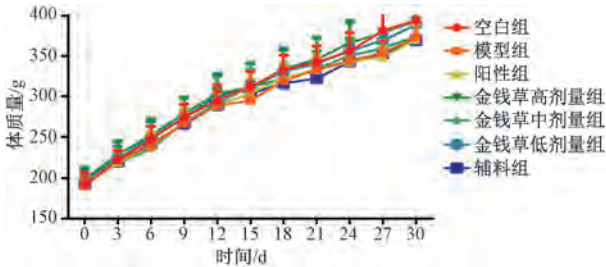


图7 金钱草对CBP大鼠体质量的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

表2 金钱草对CBP大鼠血清COX-2、PGE₂、IL-6、IL-8、TNF-α水平的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	COX-2/(ng·mL ⁻¹)	PGE ₂ /(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	IL-8/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)
空白组	3.11±0.77	5.27±1.15	82.28±10.99	211.91±7.55	99.15±6.55
模型组	6.40±1.37 ^{ΔΔ}	10.64±2.01 ^{ΔΔ}	147.27±49.32 ^{ΔΔ}	224.05±11.50 ^Δ	112.57±3.13 ^{ΔΔ}
阳性组	3.57±0.81 ^{**}	6.56±3.60 ^{**}	99.99±27.92 [*]	217.82±2.72	101.59±8.58 ^{**}
金钱草高剂量组	3.89±1.39 ^{**}	8.28±1.85 [*]	97.89±24.33 [*]	219.72±10.83	103.52±3.96 ^{**}
金钱草中剂量组	4.83±1.37 [*]	8.44±2.70	109.55±17.46 [*]	225.57±6.10	109.43±2.61 [*]
金钱草低剂量组	5.78±1.26	8.85±2.71	118.14±45.41	239.62±10.54	107.78±3.84 [*]
辅料组	6.16±1.03	9.24±4.98	122.05±41.93	251.55±45.72	114.92±15.83

注：与空白组比较，^Δ $P<0.05$ ，^{ΔΔ} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

α、STAT3蛋白表达的影响 与空白组比较，模型组大鼠前列腺组织中COX-2、IL-6、TNF-α和STAT3蛋白表达升高($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，阳性组和金钱草高剂

量组大鼠前列腺组织COX-2、IL-6、TNF-α和STAT3蛋白表达降低($P<0.05$, $P<0.01$)，低剂量组COX-2表达降低($P<0.05$)，见表3、图9。

表1 金钱草对CBP大鼠前列腺质量和前列腺指数的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	前列腺质量/g	前列腺指数/(mg·g ⁻¹)
空白组	0.58±0.18	1.46±0.42
模型组	0.91±0.25 ^{ΔΔ}	2.45±0.69 ^{ΔΔ}
阳性组	0.57±0.13 ^{**}	1.54±0.36 ^{**}
金钱草高剂量组	0.62±0.11 ^{**}	1.59±0.30 ^{**}
金钱草中剂量组	0.75±0.17	2.01±0.45
金钱草低剂量组	0.78±0.19	2.02±0.45
辅料组	0.84±0.13	2.28±0.36

注：与空白组比较，^{ΔΔ} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

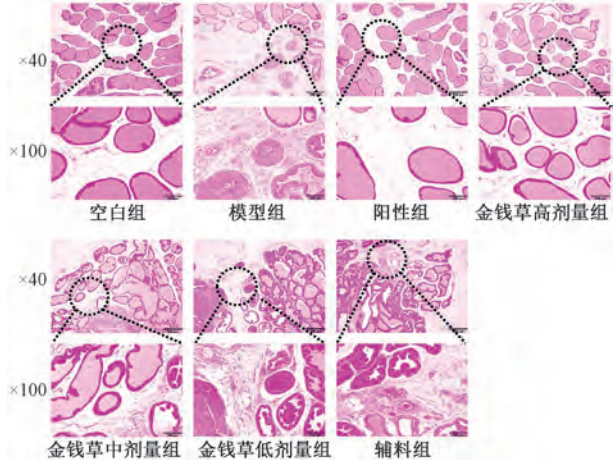


图8 金钱草对CBP大鼠前列腺组织病理变化的影响

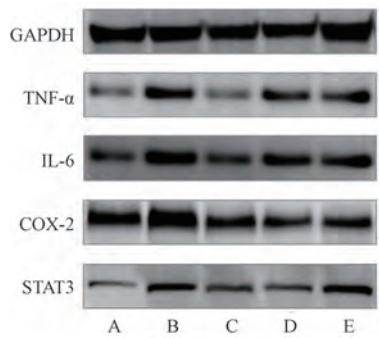
3.2.4 金钱草对CBP大鼠血清炎症因子水平的影响 与空白组比较，模型组大鼠血清PGE₂、COX-2、IL-6、IL-8和TNF-α水平升高($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，阳性组和金钱草高剂量组血清PGE₂、COX-2、IL-6和TNF-α水平降低($P<0.05$, $P<0.01$)，中剂量组血清COX-2、IL-6、TNF-α水平降低($P<0.05$)，低剂量组TNF-α水平降低($P<0.05$)，辅料组以上指标均无明显变化($P>0.05$)，提示金钱草能减轻CBP大鼠炎症反应，见表2。

3.2.5 金钱草对CBP大鼠前列腺组织COX-2、IL-6、TNF-

表 3 金钱草对 CBP 大鼠前列腺组织 COX-2、IL-6、TNF-α、STAT3 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	COX-2	IL-6	TNF-α	STAT3
空白组	1.12±0.07	0.50±0.02	0.46±0.02	0.30±0.02
模型组	1.32±0.02 ^Δ	0.90±0.03 ^{ΔΔ}	1.00±0.05 ^{ΔΔ}	0.58±0.03 ^{ΔΔ}
阳性组	0.89±0.03 ^{**}	0.52±0.03 ^{**}	0.48±0.10 ^{**}	0.51±0.02 [*]
金钱草高剂量组	0.72±0.02 ^{**}	0.82±0.02 [*]	0.86±0.04 [*]	0.49±0.03 [*]
金钱草低剂量组	0.80±0.03 ^{**}	0.86±0.02	0.89±0.07	0.60±0.03

注：与空白组比较，^Δ $P<0.05$ ，^{ΔΔ} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为阳性组，D 为金钱草高剂量组，E 为金钱草低剂量组。

图 9 各组大鼠前列腺组织 COX-2、IL-6、TNF-α、STAT3 蛋白条带图

4 讨论

CBP 病因及发病机制复杂，目前主要认为与细菌病原体感染、排尿功能障碍、免疫反应异常及内分泌系统紊乱有关，已知细菌因素占其中一部分^[2,12-13]。在革兰氏阳性菌致前列腺炎方面报道中^[14-19]，多数为痤疮丙酸杆菌与表皮葡萄球菌。一项临床报道，在 657 份 CBP 患者前列腺液中，表皮葡萄球菌检出率为 84.38%^[16]。此外有研究表明，痤疮丙酸杆菌数量与前列腺炎程度呈正相关^[17-18]。而尿路感染的厌氧菌也多为痤疮丙酸杆菌，并在前列腺中建立持续感染^[19-20]。因此，混合感染可能是 CBP 的特征，鉴于此，本研究选择痤疮丙酸杆菌联合表皮葡萄球菌构建 CBP 模型。

网络药理学分析显示，药物纳入 42 个活性成分，86 个共同靶点，说明金钱草防治 CBP 涉及多个成分和靶点。degree 值较高的成分有木犀草素、芹菜素、槲皮素、异鼠李素、异杜荊苷等，degree 值高的靶点有 PTGS2、TNF、AR、IL6、CASP3、NOS2 等，提示这些可能是金钱草防治 CBP 的主要活性成分和关键靶点。分子对接证明了活性成分与 4 个靶点间具有良好的亲和力。KEGG 分析得到排名靠前的 6 条信号通路为 IL-17、PI3K-Akt、TNF、FoxO、TLRs、NF-κB 信号通路，这可能是金钱草防治 CBP 的主要途径。

根据网络药理预测结果，degree 值高的靶点中 PTGS2、TNF、IL6，分别对应编码 COX-2、TNF-α、IL-6 因子，推测 COX-2、TNF-α、IL-6 在金钱草干预 CBP 过程中扮演重要角色。此外，COX-2、TNF-α、IL-6、IL-8 和 PGE₂ 是许多研究公认与炎症发展密切相关的细胞因子^[21-24]。当受到细菌脂多糖、TNF-α 等刺激后，NF-κB 通路被激活并诱导炎症发

生，在炎症条件下 COX-2 被诱导上调，随之催化 PGE₂ 水平增加而增强痛感^[22]。前列腺的上皮和炎症细胞中均可分泌 IL-6，IL-6/STAT3 的激活和强化可抑制细胞自噬，从而加重炎症反应^[23]。IL-8 能够趋化中性粒细胞到达炎症部位吞噬病原体，起到杀菌效果，同时释放一系列活性氧代谢物，致局部炎症反应^[25]。因此，从细胞因子角度探讨药效时，选取这 5 个因子作为考察指标。

实验验证结果表明，金钱草不仅可以降低大鼠前列腺质量与前列腺指数，减轻组织水肿，还可改善前列腺组织状态，减少炎症细胞浸润。模型大鼠血清 COX-2、PGE₂、IL-6、IL-8 和 TNF-α 水平升高，证明了本实验造模行为激活了炎性反应的发生；金钱草高剂量组可降低 TNF-α、COX-2、PGE₂ 和 IL-6 水平，但对 IL-8 水平无明显影响，这可能与 IL-8 趋化中性粒细胞吞噬细菌同时又致局部炎症有关。金钱草干预还可下调 TNF-α、IL-6、COX-2、STAT3 蛋白表达。

综上所述，本研究推测金钱草防治 CBP 的作用可能与其抑制 COX-2、PGE₂、IL-6、TNF-α 炎症介质的释放有关，即通过抑制 TNF-α、COX-2、PGE₂ 减少疼痛，下调 IL-6、STAT3 表达调节细胞自噬，从而减轻前列腺组织内的炎症反应。

参考文献：

[1] 朱 聪, 訾 豪, 黄 桥, 等. 1990—2019 年中国人群尿路感染的疾病负担分析[J]. 现代泌尿外科杂志, 2021, 26 (5): 376-381; 386.

[2] 俞旭君, 高庆和. 慢性前列腺炎中西医结合多学科诊疗指南[J]. 中华男科学杂志, 2020, 26(4): 369-376.

[3] 崔 伟, 朱明兰, 苗向阳, 等. 前列腺舒通胶囊联合宁泌泰胶囊治疗慢性前列腺炎疗效观察及安全性评价[J]. 中成药, 2017, 39(8): 1756-1758.

[4] 胡丽娜, 孙海燕. 前列欣胶囊联合左氧氟沙星治疗慢性细菌性前列腺炎的疗效观察[J]. 现代诊断与治疗, 2021, 32 (13): 2059-2060.

[5] 于钦明, 王 琪, 王启帆. 新形势下中医药防治慢性病的 SWOT 分析[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(9): 2236-2239.

[6] 裴晓华. 中成药临床应用指南—外科疾病分册[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2017.

[7] 邱宏聪, 刘布鸣, 张 华, 等. 复方金钱草颗粒的二次开发研究进展[J]. 广西科学, 2022, 29(1): 45-51.

[8] Bae Y, Ito T, Iida T, et al. Intracellular *Propionibacterium acnes* infection in glandular epithelium and stromal macrophages of the prostate with or without cancer [J]. *PLoS One*, 2014, 9

(2): e90324.

[9] Shinohara D B, Vaghasia A M, Yu S H, *et al.* A mouse model of chronic prostatic inflammation using a human prostate cancer-derived isolate of *Propionibacterium acnes*[J]. *Prostate*, 2013, 73(9): 1007-1015.

[10] 中华中医药学会, 中药实验药理专业委员会. 慢性前列腺炎动物模型制备规范 (草案) [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(19): 10-14.

[11] 张 哲, 孙卓然, 潘鹏超, 等. 复方金钱草颗粒化学成分的反相HPLC-Q-TOF/MS 分析[J]. 药学实践杂志, 2022, 40(2): 146-151; 156.

[12] 郑小挺, 陈胜辉, 姚文亮, 等. 慢性前列腺炎病因病机的研究进展[J]. 现代诊断与治疗, 2019, 30(11): 1810-1814.

[13] Khan F U, Ihsan A U, Khan H U, *et al.* Comprehensive overview of prostatitis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94: 1064-1076.

[14] 范玉君, 魏 辉, 卢月梅, 等. 慢性前列腺炎患者前列腺液细菌培养及耐药性分析[J]. 当代医学, 2013, 19(9): 24-26.

[15] 山长武, 曹 卉. 表皮葡萄球菌所致慢性前列腺炎特殊性的研究[J]. 中国现代医学杂志, 1997, 7(5): 15-16.

[16] 王 坤. 前列腺炎表皮葡萄球菌 *mecA/icaA/icaD* 基因与致病性研究[D]. 新乡: 新乡医学院, 2017.

[17] Cohen R J, Shannon B A, McNeal J E, *et al.* *Propionibacterium acnes* associated with inflammation in radical prostatectomy specimens: a possible link to cancer evolution? [J]. *J Urol*, 2005, 173(6): 1969-1974.

[18] 张 伟, 商安全, 薄 涛, 等. 慢性前列腺炎病原菌感染特征及危险因素分析[J]. 现代预防医学, 2019, 46(18): 3443-3446; 3451.

[19] 曹 卉, 山长武, 陈炳森. 痤疮丙酸杆菌与慢性前列腺炎[J]. 中国微生态学杂志, 1998, 10(2): 40-41.

[20] Alexeyev O A, Marklund I, Shannon B, *et al.* Direct visualization of *Propionibacterium acnes* in prostate tissue by multicolor fluorescent *in situ* hybridization assay [J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(11): 3721-3728.

[21] 崔 崎, 韩 玲, 成 俊, 等. 前列腺液中免疫球蛋白、细胞因子及趋化因子水平与慢性前列腺炎的关系[J]. 现代免疫学, 2017, 37(5): 412-416.

[22] 谢海梅, 柳依江, 王 培, 等. 针刺强度对类痛经模型大鼠镇痛效应、前列腺素及缩宫素含量的影响[J]. 中医杂志, 2022, 63(5): 475-480.

[23] Chen L, Wang H, Ge S, *et al.* IL-6/STAT3 pathway is involved in the regulation of autophagy in chronic non-bacterial prostatitis cells, and may be affected by the NLRP3 inflammasome [J]. *Ultrastruct Pathol*, 2021, 45(4-5): 297-306.

[24] 王 平, 袁 敏. 淋必通颗粒对慢性前列腺炎炎细胞因子的影响[J]. 中成药, 2012, 34(12): 2418-2420.

[25] 郑 红. 趋化因子及其受体的功能[J]. 免疫学杂志, 2004, 20(1): 1-5; 9.

人参及脑安制剂中西洋参掺伪检查方法研究

杨新华, 孙 健*, 毛秀红, 胡 青, 季 申*
(上海市食品药品检验研究院, 国家药品监督管理局中药质量控制重点实验室, 上海 201203)

摘要: **目的** 建立人参及脑安制剂中拟人参皂苷 F_{II} 检查方法, 考察人参药材及含人参的中成药中是否存在以西洋参(或须根)冒充人参的现象。**方法** 分析采用高效液相色谱串联三重四极杆质谱法; Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm) 色谱柱; 流动相乙腈-四氢呋喃-20 mmol/L 甲酸铵溶液 (22.5 : 2.5 : 75); 体积流量 0.3 mL/min; 电喷雾离子源; 负离子扫描; 多反应监测模式。**结果** 拟人参皂苷 F_{II} 在 0.03~3 μg/mL 范围内线性关系良好 ($r=0.9947$), 人参药材、脑安制剂 A、脑安制剂 B 的平均加样回收率分别为 105.3%、94.4%、91.9%, RSD 分别为 6.4%、7.0%、3.1%。**结论** 该方法灵敏、准确, 可用于检查人参药材及脑安制剂中西洋参掺伪。

关键词: 人参; 脑安制剂; 西洋参; 拟人参皂苷 F_{II}; 掺伪; 高效液相色谱串联三重四极杆质谱

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)08-2801-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.08.051

收稿日期: 2023-07-21
基金项目: 上海市科委研发平台专项 (21DZ2290200)
作者简介: 杨新华 (1973—), 男, 主管药师, 从事中药质量控制研究。Tel: (021) 38839900, E-mail: yangxhsdc@163.com
***通信作者:** 孙 健 (1985—), 男, 硕士, 副主任药师, 从事中药质量控制研究。Tel: (021) 38839900, E-mail: sunjian_0000@163.com
季 申 (1963—), 女, 博士, 主任药师, 从事中药质量控制研究。Tel: (021) 50798195, E-mail: jishen2013@163.com