

doi:10.3969/j.issn.1674-4616.2024.03.001

• 临床研究 •

癃清胶囊抗尿路感染临床研究及网络药理学作用机制探索

冉超¹ 罗庆林¹ 侯瑶¹ 张焱^{2△} 沈霖^{3△}¹重庆科瑞南海制药有限责任公司,重庆 409006²重庆大学药学院,重庆 401331³华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科,武汉 430022

摘要 **目的** 通过临床研究和网络药理学探析癃清胶囊抗尿路感染的疗效和机制。**方法** 选取西医确诊为单纯性尿路感染,且中医辨证为下焦湿热证的女性患者 60 例,将其随机分为对照组和试验组,每组 30 例。2 组在均给予头孢克洛口服治疗基础上,试验组口服癃清胶囊,对照组口服癃清胶囊模拟剂。治疗 7 d 后,比较 2 组临床症状评分、生活质量评分、单项症状消失时间、总有效率及安全性指标。利用 TCMSp 和 Swiss Target Prediction 数据库获取癃清胶囊的活性成分及潜在作用靶点,通过 GeneCards 数据库获取尿路感染的相关靶点,筛选共同靶点,运用 Cytoscape 构建“活性成分-靶点”网络;通过 STRING 数据库构建 PPI 网络并通过 DAVID 数据库进行 KEGG 和 GO 分析。**结果** 与对照组相比,试验组尿急症状评分、生活质量评分及单项症状消失时间均降低(P 均 <0.05),治疗总有效率提高($P<0.05$)。网络药理学结果显示槲皮素、山柰酚等是癃清胶囊抗尿路感染的主要有效成分, SRC、PIK3R1、HSP90AA1 等基因为其抗尿路感染的核心靶点,且主要富集在癌症相关通路、MAPK 等信号通路上。**结论** 癃清胶囊可能通过癌症相关通路等信号通路发挥抗尿路感染作用,可改善尿频、尿急、尿痛等症状,提高生活质量。

关键词 癃清胶囊;临床研究;尿路感染;网络药理学;作用机制**中图分类号** R277.5 **文献标志码** A

Clinical Study and Network Pharmacological Mechanism Exploration of Longqing Capsule in Treating Urinary Tract Infection

RAN Chao¹, LUO Qinglin¹, HOU Yao¹, ZHANG Yan², SHEN Lin³¹Chongqing Kerui Nanhai Pharmaceutical Co. LTD., Chongqing 409006, China²School of Pharmacy, Chongqing University, Chongqing 401331, China³Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

Abstract **Objective** To explore the therapeutic effect and mechanism of Longqing capsule in treating urinary tract infection through clinical study and network pharmacology. **Methods** Sixty female patients who were diagnosed as simple urinary tract infection by western medicine and identified as dampness-heat in lower jiao syndrome by traditional Chinese medicine were selected and randomly divided into the control group and the trial group, with 30 cases in each group. Both groups were given oral treatment with cefaclor. The trial group received oral administration of Longqing capsule, while the control group received oral administration of Longqing capsule mimetics. After 7 days of treatment, the clinical symptom scores, quality of life scores, disappearance time of individual symptoms, total effective rate and safety indicators were compared in both groups. At the same time, the TCMSp database and Swiss Target Prediction server were used to obtain the active ingredients and potential targets of Longqing capsule, and the GeneCards database was used to obtain the relevant targets of urinary tract infec-

tion. And the common targets were screened out, so as to construct the network of active ingredients-targets using Cytoscape. The PPI networks were constructed via the STRING database and KEGG and GO analyses were constructed via the DAVID database. **Results** Compared with the control group, the urinary urgency syndrome scores, quality of life scores and disappearance time of individual symptoms in the trial group were decreased (all $P < 0.05$), while the total effective rate was increased ($P < 0.05$). The network pharmacology results showed that quercetin, kaempferol and other active ingredients were the main active ingredients of Longqing capsule against urinary tract infection. SRC, PIK3R1, HSP90AA1 and other genes were the core targets of Longqing capsule against urinary tract infection, which mainly enriched in cancer related pathways, MAPK signaling pathways, and other signaling pathways. **Conclusion** Longqing capsule may exert its anti-urinary tract infection effect through cancer related pathways and other signaling pathways, which could relieve the symptoms of urinary frequency, urgency and urinary pain, and improve quality of life.

Key words Longqing capsule; clinical study; urinary tract infection; network pharmacology; mechanism of action

尿路感染(urinary tract infection, UTI)是病原体在尿路中生长、繁殖而引起的感染性疾病,是泌尿系统最常见的疾病之一,每年影响 1.5 亿人,由此产生的医疗费用高昂^[1]。在国内,泌尿系感染已达院内感染的 20.8%~31.7%,对患者的生命安全造成极大影响^[2]。大肠杆菌、葡萄球菌、白色念珠菌、1 型人类多瘤病毒等病菌是引起尿路感染常见的病原体,当机体免疫力低下或致病菌毒力增强时会引起炎症反应,并会逐渐演变为膀胱炎、肾盂肾炎等^[3]。抗生素是治疗尿路感染最常用的药物,但长期使用不仅不会降低尿路感染的复发率,还会导致较多的不良反应和较高的耐药性^[4]。

癃清胶囊是治疗尿路感染的复方中药,由白花蛇舌草、泽泻、败酱草等 10 味中药组成,具有清热解毒、凉血通淋之功效^[5-6]。目前国内仅研究了癃清片体外抗尿路感染活性及临床疗效,胶囊制剂的临床疗效并未研究且作用机制尚不清楚^[7-8]。因此,本研究采用随机双盲安慰剂对照试验来观察与评价癃清胶囊治疗尿路感染的有效性;同时,借助网络药理学的方法探究其抗尿路感染的核心靶点及潜在通路,为后续研究和治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2014 年 6 月—12 月就诊于华中科技大学同济医学院附属协和医院,西医确诊为单纯性尿路感染,且中医辨证为下焦湿热证的女性患者 60 例,将其随机分为对照组和试验组,每组 30 例。对照组年龄 23~49 岁,平均(36.83±9.42)岁;平均病程(20.03±8.39)h。试验组年龄 21~49 岁,平均(37.03±9.24)岁;平均病程(24.40±8.59)h。2 组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准:①符合单纯性尿路感染诊断;②中医诊断为热淋、辨证为下焦湿热证;③病程≤48 h,尿沉渣 WBC 计数>正常值上限,尚未使用抗生素或其他药物治疗;④年龄在 18~50 岁的女性患者,近半年内无尿路感染发作;⑤自愿参加本项临床研究,并签署知情同意书。

排除标准:①腋下体温≥37.3℃,血常规 WBC 计数 $< 4.0 \times 10^9/L$ 或 $> 10.0 \times 10^9/L$,无症状菌尿患者;②复杂性尿路感染、导管相关的尿路感染、泌尿外科脓毒血症患者,或伴有其他全身感染性疾病者;③正在使用其他治疗尿路感染药物者;④体虚胃寒者;⑤计划妊娠或妊娠期及哺乳期妇女;⑥合并有心脑血管、肝肾和造血系统等严重原发性疾病患者,肝功能 ALT 和/或 AST>正常值上限 1.5 倍者;⑦过敏体质或对癃清胶囊成分有过敏史者,对头孢类药物有过敏史者等;⑧研究者认为不适宜参加本临床试验者。

1.3 治疗方法

2 组均给予基础治疗:头孢克洛胶囊(山东淄博新达制药有限公司,国药准字 H10930008,批号 140402)口服,0.25 g/粒,0.25 g/次,3 次/d。试验组给予癃清胶囊(重庆科瑞南海制药有限责任公司,国药准字 Z20050807,批号 744004)口服,0.4 g/粒,6 粒/次,2 次/d;对照组给予癃清胶囊模拟剂(重庆科瑞南海制药有限责任公司,批号 754001)口服,0.4 g/粒,6 粒/次,2 次/d。给药周期共 7 d,前 3 d 服用头孢克洛胶囊+癃清胶囊/安慰剂,后 4 d 服用癃清胶囊/安慰剂。

1.4 观察指标与疗效评价标准

临床症状评分:量化标准参照 2002 年《中药新药临床研究指导原则》(试行)制定。其中尿频症状积分:小便次数正常计 0 分,增加少于 1 倍计 2 分,增加

1~2 倍计 4 分,增加 2 倍以上计 6 分。尿急症状积分:无急迫感计 0 分,可忍耐计 2 分,仅可忍耐片刻计 4 分,不可忍耐计 6 分。尿痛症状积分:无症状计 0 分,尿道隐隐作痛但不影响排尿计 2 分,疼痛感较重且排尿不爽计 4 分,疼痛难忍计 6 分。得分越高代表症状越严重。

生活质量(quality of life, QOL)评分:依据“假如在您今后的生活中伴有现在排尿症状的感受”分别进行 0~6 的评分,对应高兴、满意、大致满意、还可以、不太满意、苦恼及很糟。得分越高代表生活质量越低。

单项症状消失时间:记录并比较患者尿频、尿急、尿痛等单项症状消失时间。

临床有效率:疗效判定标准参照《中药新药临床研究指导原则》(试行)制定。症状、体征积分减少 $\geq 95\%$ 为临床痊愈; $75\% \leq$ 症状、体征积分减少 $< 95\%$ 为显效; $30\% \leq$ 症状、体征积分减少 $< 75\%$ 为有效;症状、体征积分减少 $< 30\%$ 为无效。症状、体征积分减少 $= [(\text{治疗前积分} - \text{治疗后积分}) / \text{治疗前积分}] \times 100\%$,总有效率 $= [(\text{临床痊愈} + \text{显效}) \text{例数} / \text{总例数}] \times 100\%$ 。

安全性指标:观察治疗期间患者生命体征和治疗前后的血常规、肝功能指标(ALT, AST)及肾功能指标(SCr, BUN)变化。

1.5 网络药理学分析

通过中药系统药理学数据库与分析平台(<https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>)获取癃清胶囊药物活性成分。利用 Swiss 数据库(<http://swisstarget-prediction.ch/>)筛选 probability ≥ 0.1 的靶点,在 GeneCard 数据库(<https://www.genecards.org>)中以“urinary tract infection”为关键词获取尿路感染的相关靶点。应用 Venny 2.1.0 分析工具收集共有交集靶点。

将共有靶点导入 STRING 数据库,构建 PPI(protein-protein interaction)网络。利用 Cytoscape 软件分析其网络拓扑参数,筛选出关键蛋白靶点。将筛选出的化合物信息以及靶点 PPI 网络对应关系导入 Cytoscape,从而建立成分-靶点网络。基于 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)进行 GO(gene ontology)功能富集分析和 KEGG(Kyoto encyclopedia of genes and genomes)生物学通路注释分析。

1.6 统计学处理

统计分析采用 SAS 统计分析软件。计量资料符合正态分布者以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)描述,组间比较采用 *t* 检验,不符合正态分布者以中位数(*M*)和四分位数间距(P_{25} , P_{75})描述,采用 Mann-Whitney U 检验。计数资料以频数表、百分率或构成比描述,组间

比较采用 χ^2 检验。组间等级资料采用秩和检验。所有统计数据均采用双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。疗效指标用全分析集(full analysis set, FAS)和符合方案集(per-protocol set, PPS)进行统计分析,安全性指标用安全性分析集(safety set, SS)进行分析。

2 结果

2.1 试验完成情况

本试验共入组 60 例(对照组 30 例、试验组 30 例)。脱落 4 例,不符合纳入标准 1 例。最终纳入全分析集(FAS)的病例有 60 例(对照组 30 例、试验组 30 例),占入组病例的 100.00%;符合方案集(PPS)的病例有 55 例(对照组 26 例、试验组 29 例),占入组病例的 91.67%;符合安全性分析集(SS)的病例有 56 例(对照组 26 例、试验组 30 例),占入组病例的 93.33%。

2.2 2 组临床症状评分变化例数比较

与对照组比较,试验组治疗前后的尿急症状评分变化例数差异具有统计学意义($P < 0.05$);治疗前后的尿频和尿痛评分变化例数组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。PPS 集结果与 FAS 集一致,故数据未显示。

2.3 2 组 QOL 评分变化例数比较

FAS 结果显示,与对照组比较,试验组治疗前后的 QOL 评分变化例数差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 2 组症状消失时间比较

尿频、尿急及尿痛等症状的中位消失时间组间比较,差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。见表 3。PPS 集结果与 FAS 集一致(数据未显示)。

2.5 2 组临床总有效率比较

治疗后,试验组总有效率为 100.00%,对照组为 86.67%;试验组总有效率明显高于对照组($P < 0.05$)。见表 4。PPS 集结果与 FAS 集一致(数据未显示)。

2.6 安全性评价

在服用癃清胶囊和安慰剂后,患者生命体征、血常规、肝肾功能治疗前后均未出现严重异常。对照组出现 3 例不良反应,发生率为 11.54%(3/26);试验组出现 1 例不良反应,发生率为 3.33%(1/30);不良反应发生率组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.7 癃清胶囊潜在有效成分与抗尿路感染潜在靶点

以口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 且类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 为标准对癃清胶囊药物成分进行筛选,去除无法预测靶点的活性成分,共获得 94 个有效成分。见表 5。

表1 治疗前后临床症状评分变化例数比较(例,%)

症状	指标项	对照组	试验组	统计量	P值
尿急	治疗7天一基线			9.23	0.002
	例数(缺失)	30(0)	30(0)		
	-4分(%)	12(40.00)	23(76.67)		
	-2分(%)	14(46.67)	7(23.33)		
	0分(%)	4(13.33)	0(0.00)		
尿频	治疗7天一基线			0.02	0.884
	例数(缺失)	30(0)	30(0)		
	-6分(%)	2(6.67)	3(10.00)		
	-4分(%)	16(53.33)	13(43.33)		
	-2分(%)	8(26.67)	14(46.67)		
尿痛	治疗7天一基线			0.22	0.641
	例数(缺失)	30(0)	30(0)		
	-4分(%)	10(33.33)	9(30.00)		
	-2分(%)	16(53.33)	21(70.00)		
	0分(%)	4(13.33)	0(0.00)		

表2 治疗前后 QOL 评分变化例数比较(例,%)

指标项	对照组	试验组	统计量	P值
治疗7天一基线			4.32	0.038
例数(缺失)	30(0)	30(0)		
-6分(%)	15(50.00)	23(76.67)		
-5分(%)	7(23.33)	2(6.67)		
-4分(%)	3(10.00)	4(13.33)		
-3分(%)	1(3.33)	1(3.33)		
0分(%)	4(13.33)	0(0.00)		

表3 2组单项症状消失时间比较[$n=30, d, M(P_{25}, P_{75})$]

指标	对照组	试验组	P值
尿频消失时间	3.50(3.00,4.00)	2.00(2.00,3.00)	<0.0001
尿急消失时间	3.00(3.00,3.00)	2.00(1.00,2.00)	<0.0001
尿痛消失时间	3.00(3.00,4.00)	2.00(2.00,3.00)	<0.0001

表4 2组总有效率比较($n=30$,例,%)

组别	临床痊愈	显效	有效	无效	总有效率
对照组	19	7	0	4	26(86.67)
试验组	28	2	0	0	30(100.00) [△]

与对照组比较[△] $P<0.05$ 。

表5 癃清胶囊中潜在有效成分信息

来源	分子ID及编号	化合物名称
泽泻	MOL000830(ZX1)、MOL000831(ZX2)、	Alisol B(泽泻醇 B)、Alisol B monoacetate(泽泻醇 B 醋酸酯)、
	MOL000832(ZX3)、MOL000853(ZX4)、	Alisol B 23-acetate(23-乙酰泽泻醇 B)、Alisol C(泽泻醇 C)、
	MOL000854(ZX5)、MOL000856(ZX6)、	Alisol C monoacetate(泽泻醇 C 醋酸酯)、1-Monolinolein(1-亚
	MOL002464(ZX7)、MOL000862(ZX8)	油酸甘油单酯)、Alisol acetate B(泽泻醇 B 醋酸酯)

续表 5

来源	分子 ID 及编号	化合物名称
车前子	MOL001735(CQZ1)、MOL005869(CQZ2)、 MOL007813(CQZ3)、MOL007819(CQZ4)、 MOL007835(CQZ5)	Dinatin(高车前素)、daucostero_qt(胡萝卜苷)、Dihydro- tricitin(二氢五羟黄酮)、hypolaetin、orobanchoside_qt
败酱草	MOL001677(BJC1)、MOL001678(BJC2)、 MOL001790(BJC3)、MOL001689(BJC4)、 MOL002322(BJC5)、MOL001697(BJC6)	Asperglaucide(灰绿曲霉酰胺)、bolusanthol B、Linarin(蒙花 苷)、Acacatin(刺槐素)、Isovitexin(异牡荆素)、Sinoacutine (青风藤碱)
牡丹皮	MOL000211(MDP1)、MOL007374(MDP2)	Mairin(丁子香酚)、5-[[5-(4-methoxyphenyl)-2-furyl]meth- ylene]barbituric acid
白花蛇舌草	MOL001659(BHSS1)、MOL001670(BHSS2)	Poriferasterol(紫杉醇)、2-methoxy-3-methyl-9, 10-anthra- quinone
黄连	MOL002897(HL1)、MOL002903(HL2)、 MOL002904(HL3)、MOL002907(HL4)、 MOL008647(HL5)	Epiberberine(表小檗碱)、(R)-Canadine(R 坎那丁)、Berlam- bine(小檗浸碱)、corchoroside A_qt(黄麻苷 A)、Moupi- namide(穆坪马兜铃酰胺)
金银花	MOL001494(JYH1)、MOL001495(JYH2)、 MOL002914(JYH3)、MOL003006(JYH4)、 MOL003014(JYH5)、MOL003036(JYH6)、 MOL003044(JYH7)、MOL003062(JYH8)、 MOL003095(JYH9)、MOL003101(JYH10)、 MOL003108(JYH11)、MOL003117(JYH12)、 MOL003124(JYH13)、MOL003128(JYH14)	Mandenol(亚油酸乙酯)、ethyl linolenate(亚麻酸乙酯)、eri- odyctiol(flavanone)(黄烷酮)、(-)-(3R, 8S, 9R, 9aS, 10aS)- 9-ethenyl-8-(beta-D-glucopyranosyloxy)-2, 3, 9, 9a, 10, 10a- hexahydro-5-oxo-5H, 8H-pyrano[4, 3-d]oxazolo[3, 2-a]pyr- idine-3-carboxylic acid_qt、secologanic dibutylacetal_qt、 ZINC03978781、Chryseriol(金圣草黄素)、all-trans-Rhodox- anthin、Corymbosin(伞房花耳草素)、7-epi-Vogeloside(表断马钱 子甙半缩醛内酯)、caeruloside C、ioniceracetalides B_qt、xylostosi- dine、dinethylsecologanoside
赤芍	MOL001924(CS1)、MOL002714(CS2)、 MOL002776(CS3)、MOL004355(CS4)、 MOL006992(CS5)、MOL006999(CS6)、 MOL007004(CS7)、MOL007008(CS8)、 MOL007012(CS9)、MOL007014(CS10)、 MOL007025(CS11)、MOL002883(CS12)、 MOL005043(CS13)	Paeoniflorin(芍药苷)、Baicalein(黄芩素)、Baicalin(黄芩 苷)、Spinasterol(菠菜甾醇)、(2R, 3R)-4-methoxyl-distylin、 stigmast-7-en-3-ol、Albiflorin(芍药内酯苷)、4-ethyl-paeoni- florin_qt、4-o-methyl-paeoniflorin_qt、8-debenzoylpaeonida- nin、Isobenzoylpaeoniflorin、ethyl oleate(NF)(油酸乙酯)、 campest-5-en-3beta-ol
黄柏	MOL002636(HB1)、MOL002641(HB2)、 MOL002643(HB3)、MOL002644(HB4)、 MOL002651(HB5)、MOL002656(HB6)、 MOL002660(HB7)、MOL002662(HB8)、 MOL002663(HB9)、MOL002670(HB10)、 MOL002671(HB11)、MOL002673(HB12)、 MOL000787(HB13)、MOL000790(HB14)、 MOL001455(HB15)、MOL001771(HB16)、 MOL005438(HB17)、MOL006392(HB18)、 MOL006401(HB19)、MOL006413(HB20)、 MOL006422(HB21)	kihadalactone A、phellavin_qt、delta 7-stigmastanol、Phellop- terin(珊瑚菜素)、dehydrotanshinone II A(去氢丹参酮 II A)、dihydroniloticin(二氢尼洛替星)、Niloticin、Rutaecarpine (吴茱萸次碱)、Skimmianin(茵芋碱)、Cavidine(卡文定碱)、 candletoxin A、Hispidone(鬃毛酮)、Fumarine(蓝堇碱)、Iso- corypalmine(异谷棕桐碱)、(S)-Canadine(四氢小檗碱)、po- riferast-5-en-3beta-ol、Campesterol(菜油甾醇)、Melianone、 Phellochin(黄柏呈)、Thalifendine(唐松草定碱)
白花蛇舌草、败酱草、 车前子、仙鹤草、牡丹 皮、金银花、黄连、黄柏 败酱草、金银花、牡 丹皮、仙鹤草 败酱草、金银花、仙 鹤草	MOL000098(A8) MOL000422(A4) MOL000006(A3)	Quercetin(槲皮素) Kaempferol(山柰酚) Luteolin(木犀草素)

续表 5

来源	分子 ID 及编号	化合物名称
赤芍、仙鹤草	MOL001002(A2)	Ellagic acid(鞣花酸)
黄柏、黄连	MOL001454(B2)	Coptisine(黄连碱)
泽泻、车前子、败酱草、牡丹皮、赤芍	MOL000359(A5)	Sitosterol(谷甾醇)
车前子、白花蛇舌草	MOL001663(C2)	3-Epioleanolic acid(3-表齐墩果酸)
败酱草、金银花、白花蛇舌草、赤芍、黄柏	MOL000358(B5)、MOL000449(C5)	beta-sitosterol(β -谷甾醇)、Stigmasterol(豆甾醇)
牡丹皮、赤芍	MOL001925(D2)、MOL007003(E2)	paeoniflorin_qt、benzoyl paeoniflorin(苯甲酰芍药苷)
黄连、黄柏	MOL013352(F2)、MOL002894(G2)、MOL000622(H2)、MOL000762(I2)、MOL000785(J2)、MOL001458(K2)、MOL002668(L2)	Obacunone(黄柏酮)、Berrubine(小檗红碱)、Magnorandiolide(广玉兰内酯)、palmidin A(掌叶二萜酮 A)、Palmatine(巴马汀)、Coptisine(黄连碱)、Worenine(甲基黄连碱)

通过 Swiss target 获得成分作用靶点 831 个,在 GeneCard 数据库以靶点相关性评分的中位数得到 3189 个疾病靶点,利用 Venny 分析工具得到 380 个共同靶点。见图 1。

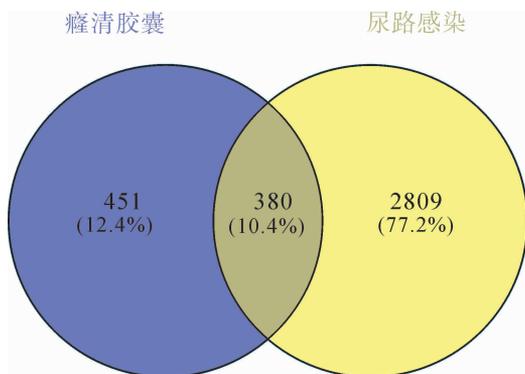


图 1 癯清胶囊活性成分-尿路感染靶点韦恩图

2.8 “药物-活性成分-作用靶点”可视化网络图构建

将筛选得到的 94 个有效成分及共同靶点导入 Cytoscape 软件,绘制“药物-成分-靶点”的可视化网络图。见图 2。

根据度值计算筛选得到槲皮素、山柰酚、木犀草素、谷甾醇、豆甾醇、巴马汀、黄柏酮等 10 个成分为核心成分。见表 6。

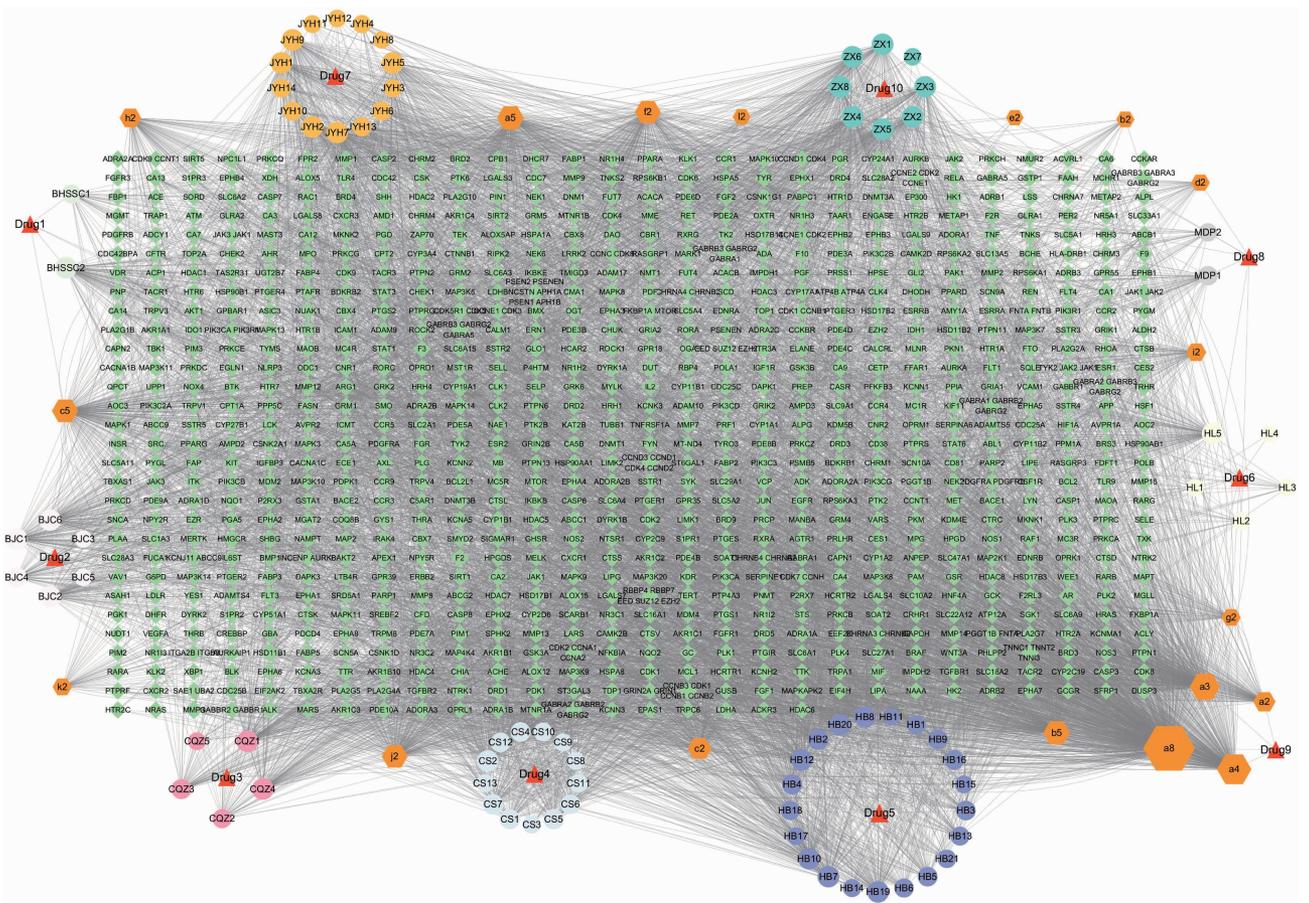
2.9 靶点间相互作用分析

将 380 个交集靶点导入 STRING 10 数据库中获得 PPI 网络,该网络有 314 个节点、3954 条边。利用 Cytoscape 软件将 PPI 网络可视化。见图 3。

同时,进行网络拓扑分析,根据节点的度值选出关键靶点,包括 SRC、PIK3R1、HSP90AA1、STAT3、MAPK3 等核心靶点,涉及免疫调节、运动、发育过程、信号传递、对刺激的反应等方面。见表 7。

表 6 癯清胶囊核心成分信息

序号	分子 ID	度值	名称
1	MOL000098	808	Quercetin(槲皮素)
2	MOL000422	404	Kaempferol(山柰酚)
3	MOL000006	303	Luteolin(木犀草素)
4	MOL000359	225	Sitosterol(谷甾醇)
5	MOL000358	220	beta-sitosterol(β -谷甾醇)
6	MOL000449	210	Stigmasterol(豆甾醇)
7	MOL000785	202	Palmatine(巴马汀)
8	MOL013352	202	Obacunone(黄柏酮)
9	MOL001663	153	3-Epioleanolic acid(3-表齐墩果酸)
10	MOL001002	116	Ellagic acid(鞣花酸)



Drug1 为白花蛇舌草, Drug2 为败酱草, Drug3 为车前子, Drug4 为赤芍, Drug5 为黄柏, Drug6 为黄连, Drug7 为金银花, Drug8 为牡丹皮, Drug9 为仙鹤草, Drug10 为泽泻。

图 2 药物-成分-靶点可视化网络图

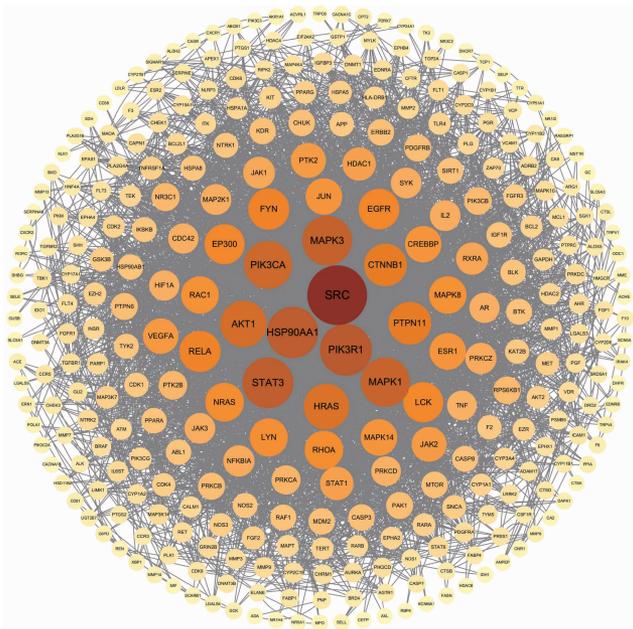
为了进一步深入研究癯清胶囊相关蛋白靶点具体的生物作用,运用 MCODE 插件对 PPI 网络进行 Cluster 模块分析,共发现 6 个 Cluster 模块。见图 4。

对 6 个模块进行 GO 分析,发现聚类 1 主要与免疫应答调节、内源性刺激响应、免疫系统发育、对应激的反应等生物过程有关;聚类 2 主要与刺激反应的正调控、免疫应答调节、多细胞生物过程的调控等生物

过程有关;聚类 3 主要与信号传感器活动、正向调节代谢过程、对化学物质的反应等通路过程有关;聚类 4 主要与激素代谢过程、脂质代谢过程等生物过程有关;聚类 5 主要与细胞化学应激反应、胞内信号转导、细胞死亡调节等生物过程有关;聚类 6 主要与对有机物、含氧化物以及刺激反应的调控等生物过程有关。见表 8。

表 7 癯清胶囊相关核心蛋白靶点信息

靶点	中文名称	通用名称	度值	Uniprot ID
Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	原癌基因酪氨酸蛋白激酶 SRC	SRC	168	P12931
Phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit alpha	磷脂酰肌醇 3-激酶调节亚基 α	PIK3R1	138	P27986
Heat shock protein HSP 90-alpha	热休克蛋白 90α	HSP90AA1	136	P07900
Signal transducer and activator of transcription 3	信号转导及转录激活因子 3	STAT3	134	P40763
Mitogen-activated protein kinase 3	丝裂原活化蛋白激酶 3	MAPK3	130	P27361
Mitogen-activated protein kinase 1	丝裂原活化蛋白激酶 1	MAPK1	128	P28482
Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha isoform	磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α 亚型	PIK3CA	124	P42336
RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	RAC-α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶	AKT1	118	P31749
GTPase HRas	GTP 蛋白酶	HRAS	114	P01112
Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 11	蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 11	PTPN11	104	Q06124



圆节点代表蛋白靶点,圆圈越大、颜色越深代表靶点蛋白相互作用越紧密。

图 3 癯清胶囊相关蛋白靶点的 PPI 网络

2.10 癯清胶囊抗尿路感染作用靶点 GO 功能富集分析

将癯清胶囊可能干预尿路感染且经筛选的 380 个靶点进行基因本体(GO)功能富集分析,取 P 值最小的前 10 个进行绘制作图,见图 5。结果显示抗尿路感染核心靶点基因在生物过程方面主要富集在蛋白磷酸化、凋亡过程的负调节、增殖过程的正调节以及对外源性刺激的应答等 1037 个生物过程;在细胞组分方面主要富集在细胞质膜、细胞质及细胞外泌体等 124 个细胞组分;在分子功能方面主要富集在 ATP 结合、蛋白质结合及蛋白丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性等 229 条分子功能。

2.11 癯清胶囊抗尿路感染靶点 KEGG 通路富集分析

将 380 个靶点进行 KEGG 通路富集分析,结果主要是富集在 Pathways in cancer(癌症相关通路)、Lipid and atherosclerosis(脂质和动脉粥样硬化)、MAPK signaling Pathway(MAPK 信号通路)等信号通路,取前 20 条通路作图,见图 6。

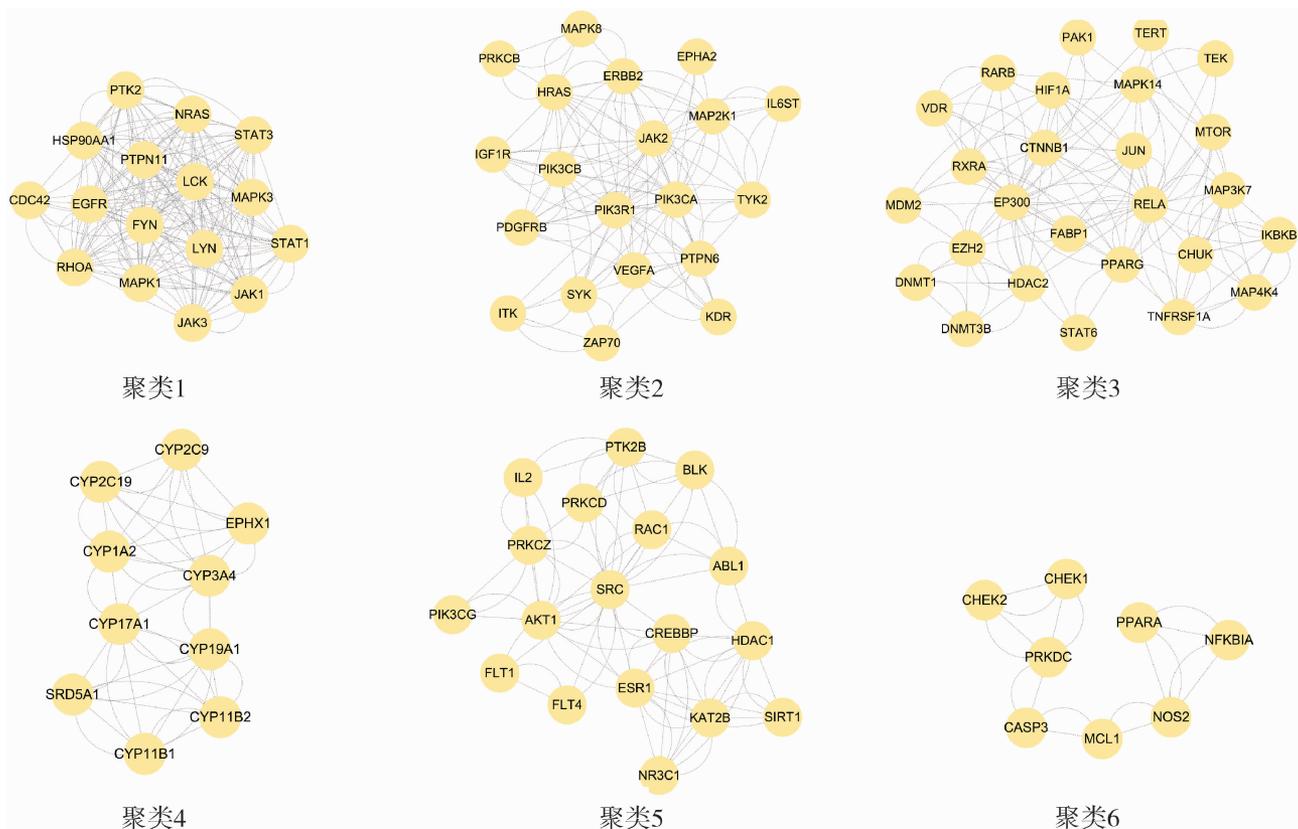
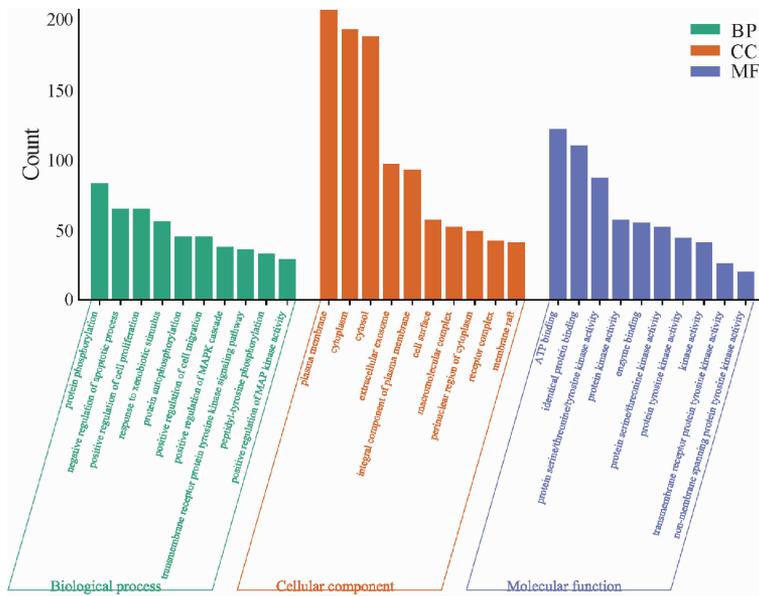


图 4 癯清胶囊相关基因簇聚类分析

表 8 癯清胶囊相关蛋白靶点的聚类数据

聚类	节点	边	靶点蛋白
1	16	192	LCK; FYN; EGFR; MAPK1; MAPK3; PTPN11; RHOA; STAT3; LYN; NRAS; PTK2; JAK1; HSP90AA1; STAT1; JAK3; CDC42
2	20	128	PIK3R1; PIK3CA; HRAS; JAK2; PTPN6; ERBB2; PIK3CB; VEGFA; TYK2; MAP2K1; PDGFRB; SYK; IGF1R; KDR; IL6ST; ITK; ZAP70; MAPK8; PRKCB; EPHA2
3	26	146	RELA; EP300; CTNBN1; PPARG; EZH2; JUN; MAPK14; MAP3K7; TNFRSF1A; HDAC2; CHUK; RXRA; HIF1A; IKKB; MAP4K4; RARB; FABP1; VDR; MTOR; DNMT3B; DNMT1; MDM2; PAK1; STAT6; TERT; TEK
4	10	46	CYP3A4; CYP17A1; CYP1A2; CYP19A1; CYP2C19; CYP11B2; CYP2C9; SRD5A1; EPHX1; CYP11B1
5	18	84	SRC; AKT1; ESR1; CREBBP; HDAC1; PTK2B; KAT2B; PRKCZ; ABL1; RAC1; NR3C1; BLK; PRKCD; IL2; SIRT1; PIK3CG; FLT4; FLT1
6	8	18	NOS2; PRKDC; NFKBIA; PPARA; MCL1; CHEK2; CHEK1; CASP3



BP:生物过程;CC:细胞组分;MF:分子功能。

图 5 癯清胶囊相关蛋白靶点的 GO 富集分析

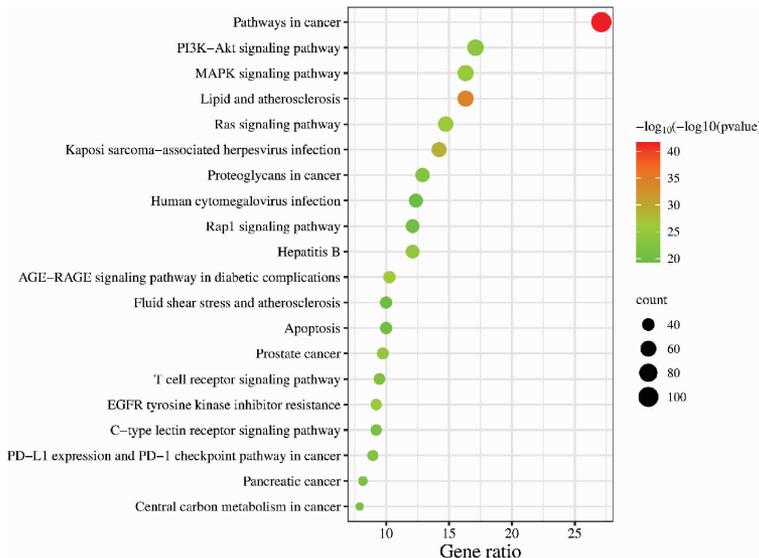


图 6 癯清胶囊相关蛋白靶点 KEGG 通路富集分析

3 讨论

癃清胶囊由泽泻、败酱草、金银花、车前子、牡丹皮、白花蛇舌草、赤芍、仙鹤草、黄连和黄柏组成,常用于热淋所见的尿频、尿急、尿短、腰痛、小腹坠胀等症。中医认为热淋的产生主要由湿热致病,《诸病源候论·淋病诸候》中云:“诸淋者,由肾虚而膀胱热也。”故治疗多以清热利湿通淋为法。癃清胶囊中败酱草、金银花消痈排脓、祛瘀止痛、清热解毒;黄柏、黄连泻火解毒、清热燥湿;车前子、泽泻、白花蛇舌草利湿通淋、清热解毒;仙鹤草解毒消肿、收敛止血;赤芍、牡丹皮止血祛瘀、清热凉血;诸药合用发挥清热利湿、祛瘀活血、凉血通淋之功效^[9]。

本临床研究表明,在头孢克洛胶囊治疗基础上,服用癃清胶囊可以缓解尿频、尿急及尿痛症状,改善患者生活质量并提高总有效率。同时,其用药安全性良好,无严重不良反应。网络药理学研究发现,癃清胶囊主要成分如槲皮素、山柰酚、木犀草素、黄柏酮等均属于黄酮类化合物,可以改变细胞膜的通透性、抑制核酸合成、破坏细胞壁和抑制细菌活性^[10-11]。同时,黄酮类成分也可以通过抑制核因子 κ B 蛋白(NF- κ B)和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路发挥抗炎作用,从而治疗尿路感染^[12]。谷甾醇和豆甾醇是植物甾醇的主要成分,具有抗菌、抗溃疡、抗动脉粥样硬化、抗炎和抗氧化活性^[13-14]。

癃清胶囊可能通过 SRC、PIK3R1、HSP90AA1 等靶点调控癌症相关通路、MAPK 信号通路等。其中癌症相关信号通路的数量最多,包括 PI3K-Akt、Ras 及 Rap1 等。有研究表明,肿瘤发生与炎症密切相关;癌症进化发育学认为,先天免疫遗传与后天环境暴露的交互作用引发并维持了慢性非可控性炎症,并通过一系列反应进而发展成癌症起始细胞^[15-16]。因此,癃清胶囊可能通过作用于癌症相关信号通路,进而发挥抗炎作用。

MAPK 通路介导细胞的生长、增殖、凋亡等过程,参与细胞对外部应激信号及细胞核内信息的传递,发挥免疫调节和抗炎作用^[17]。卡波西肉瘤相关疱疹病毒和人巨细胞病毒感染是炎症的重要驱动因素,涉及多种炎症反应^[18-19],对于由病毒引起的尿路感染具有重要意义。AGE/RAGE 信号传导引发多个细胞内信号通路的激活,继而导致 NF- κ B 激活,促进促炎细胞因子如 IL-1、IL-6 和 TNF- α 以及多种炎症因子的表达,进而参与机体的炎症反应^[20]。癌症中 PD-L1 表达及 PD-1 检查点途径和 T 细胞受体信号通路都是与

免疫及炎症级联反应显著相关的通路^[21],对炎症因子表达的调控具有重要作用^[22]。由此可见,癃清胶囊治疗尿路感染包含多条通路,其中涉及炎症、免疫反应等多个方面,具有多靶点、多途径的特点。

综上所述,本研究在临床研究的基础上,通过网络药理学分析发现癃清胶囊中的槲皮素、山柰酚等有效成分可能通过癌症相关通路等信号通路发挥抗尿路感染作用,改善尿频、尿急、尿痛等症状,提高患者生活质量。

参 考 文 献

- [1] Mancuso G, Midiri A, Gerace E, et al. Urinary tract infections: the current scenario and future prospects [J]. *Pathogens*, 2023, 12(4): 623.
- [2] 栗江霞. 脑卒中卧床留置尿管患者尿路感染原因分析 [J]. *中国药物与临床*, 2018, 18(12): 2266-2267.
- [3] McLellan LK, Hunstad DA. Urinary tract infection: pathogenesis and outlook [J]. *Trends Mol Med*, 2016, 22(11): 946-957.
- [4] 余木锦. 泌尿系统感染患者抗菌药物使用状况调查和细菌耐药监测研究 [J]. *中国当代医药*, 2013, 20(14): 172-173.
- [5] 俞雪锋, 李铮. 癃清胶囊联合激素替代疗法治疗绝经后女性尿道综合征临床研究 [J]. *新中医*, 2022, 54(4): 110-113.
- [6] 张泽家, 席俊羽, 邵魁卿, 等. 癃清片联合化学药治疗 III 型前列腺炎有效性及安全性的 Meta 分析 [J]. *药物评价研究*, 2022, 45(6): 1158-1165.
- [7] 钟勇, 诸发明, 袁野. 癃清片联合诺氟沙星治疗慢性前列腺炎的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2019, 34(8): 2454-2457.
- [8] 张晓静, 丁菲菲, 张红霞, 等. 癃清片体外抗菌活性的初步研究 [J]. *武警后勤学院学报(医学版)*, 2019, 28(1): 45-47, 52.
- [9] 李兴. 癃清胶囊辅助治疗慢性前列腺炎分析 [J]. *北方药学*, 2020, 17(10): 104-105.
- [10] 张雅雯, 邵东燕, 师俊玲, 等. 山柰酚生物功能研究进展 [J]. *生命科学*, 2017, 29(4): 400-405.
- [11] 刘晟文, 刘建英. 槲皮素药理学作用的研究进展 [J]. *中华肺部疾病杂志(电子版)*, 2020, 13(1): 104-106.
- [12] Jiang F, Guan H, Liu D, et al. Flavonoids from sea buckthorn inhibit the lipopolysaccharide-induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages through the MAPK and NF- κ B pathways [J]. *Food Funct*, 2017, 8(3): 1313-1322.
- [13] Ding K, Tan YY, Ding Y, et al. β -Sitosterol improves ex-

[4] 邵继红,徐耀初,莫宝庆,等. 痛风与高尿酸血症的流行病学研究进展[J]. 疾病控制杂志,2004,8(2):152-154.

[5] 冯雪,高智. 积雪益肾排毒方治疗慢性肾功能衰竭 78 例临床观察[J]. 中西医结合研究,2016,8(2):66-68,71.

[6] 冯雪,彭斌,高智. 益肾排毒方治疗老年糖尿病肾病患者疗效及对 24h 尿蛋白与 β_2 微球蛋白的影响[J]. 辽宁中医杂志,2023,50(3):119-122.

[7] 中华中医药学会肾病分会. 尿酸性肾病的诊断、辨证分型及疗效评定(试行方案)[J]. 上海中医药杂志,2008,42(1):23-25.

[8] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[M]. 北京:中国医药科技出版社,2012:55-56.

[9] Méndez Landa CE. Renal effects of hyperuricemia[J]. *Contrib Nephrol*,2018,192:8-16.

[10] Zeng XX,Tang Y,Hu K,et al. Efficacy of febuxostat in

hyperuricemic patients with mild-to-moderate chronic kidney disease;a meta-analysis of randomized clinical trials: A PRISMA-compliant article[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018,97(13):e0161.

[11] 江璇,叶焰,周毅业,等. 黄芪甲苷通过 TGF- β 1/Smads 信号通路对慢性肾衰竭大鼠肾保护作用研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2022,23(8):701-703,761.

[12] Yu X,Zhang L,Zhang P,et al. Lycium barbarum polysaccharides protect mice from hyperuricaemia through promoting kidney excretion of uric acid and inhibiting liver xanthine oxidase[J]. *Pharm Biol*,2020,58(1):944-949.

[13] 王洁,孟凤仙,商学征,等. 大黄素对高尿酸环境下人肾小管上皮细胞 PPAR γ /NF- κ B 通路的影响[J]. 辽宁中医杂志,2023,50(9):174-179.

(收稿日期:2024-02-03)

(上接第 154 页)

perimental colitis in mice with a target against pathogenic bacteria[J]. *J Cell Biochem*,2019,120(4):5687-5694.

[14] Kumar G,Gupta R,Sharan S,et al. Anticancer activity of plant leaves extract collected from a tribal region of India [J]. *3 Biotech*,2019,9(11):399.

[15] 刘文斌,曹广文. 癌症进化发育学:基于炎-癌转化研究的新学说[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2017,24(2):103-111.

[16] Bi Q,Wu JY,Qiu XM,et al. Tumor-associated inflammation:the tumor-promoting immunity in the early stages of tumorigenesis[J]. *J Immunol Res*,2022,2022:3128933.

[17] 巩婷婷,司凯,刘会平,等. MAPK 级联调控细胞生长及其在免疫、炎症及癌症中作用的研究进展[J]. 中南大学学报(医学版),2022,47(12):1721-1728.

[18] Yu X,Sha J,Xiang S,et al. Suppression of KSHV-induced

angiopoietin-2 inhibits angiogenesis,infiltration of inflammatory cells,and tumor growth[J]. *Cell Cycle*,2016,15(15):2053-2065.

[19] 董转丽,肖丽昕,付婷,等. 炎症因子介导乙型肝炎病毒感染后机体免疫反应的研究进展[J]. 中华老年多器官疾病杂志,2022,21(9):704-706.

[20] Yamagishi S. Role of advanced glycation end products (AGEs)and receptor for AGEs(RAGE)in vascular damage in diabetes[J]. *Exp Gerontol*,2011,46(4):217-224.

[21] 梁静静,吕俊,鲁林荣. T 细胞受体(TCR)信号传递的调控及其功能[J]. 生命科学,2016,28(2):153-161.

[22] Xie X,Liang J,Huang R,et al. Molecular pathways underlying tissue injuries in the bladder with ketamine cystitis[J]. *FASEB J*,2021,35(7):e21703.

(收稿日期:2023-11-02)