

基于网络药理学和分子对接探讨小儿风热清合剂（口服液）治疗甲型流感的潜在作用机制

王梦蕾¹, 贾瑞康², 赵飞跃¹, 刘齐超², 刘妍², 殷苗苗^{1,3}, 范志彬³, 刘会云^{2,3*}

1. 河北省中成药创新研究重点实验室, 河北 邯郸 056004

2. 河北省中药大品种培育技术创新中心, 河北 邯郸 056004

3. 邯郸制药股份有限公司, 河北 邯郸 056004

摘要: **目的** 基于网络药理学和分子对接方法, 筛选小儿风热清合剂（口服液）防治甲流的活性成分、潜在靶点和作用机制。**方法** 首先从中药系统药理学数据库分析平台（TCMSP）及 BATMEN-TCM 数据库获取小儿风热清合剂（口服液）成分数据及预测靶点, 从 GeneCards 数据库获得甲型流感治疗靶点。随后通过功能富集揭示潜在靶点涉及的功能, 并利用 Cytoscape 软件构建“药材-活性成分-潜在靶点”网络, 基于 STRING 数据库构建潜在靶点的蛋白相互作用网络。最后对关键靶点与成分进行分子对接验证。**结果** 共筛选到小儿风热清合剂（口服液）活性成分 192 个, 潜在靶点 141 个。基于“药材-活性成分-潜在靶点”网络以及分子对接技术, 筛选到排名靠前的关键活性成分 17 个, 排名靠前的核心靶点分别为前列腺素内过氧化物合酶 2（PTGS2）、热休克蛋白（HSP90AA1）、前列腺素内过氧化物合酶 1（PTGS1）、一氧化氮合酶 2（NOS2）、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ （PPARG）、肾上腺素能受体 β_2 （ADRB2）。共筛选出 2 747 个基因本体条目, 富集到 176 条与药物防治甲型流感相关的通路。小儿风热清合剂（口服液）防治甲型流感作用主要与外界刺激应答、信号转导、氧化应激和病毒感染通路等相关。分子对接结果显示, 核心靶点与活性成分间结合稳定。**结论** 小儿风热清合剂（口服液）可能通过抑制甲型流感病毒增殖、抑制机体炎症和调节免疫等多种途径, 发挥对甲型流感的防治作用。

关键词: 小儿风热清合剂（口服液）; 甲型流感; 网络药理学; 分子对接; 活性成分

中图分类号: R974; R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2023)12-2971-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.12.009

Mechanism of action of Xiaer Fengreqing Mixture (oral liquid) in treatment of influenza A based on network pharmacology and molecular docking

WANG Meng-lei¹, JIA Rui-kang², ZHAO Fei-yue¹, LIU Qi-chao², LIU Yan², YIN Miao-miao^{1,3}, FAN Zhi-bin³, LIU Hui-yun^{2,3}

1. Hebei Provincial Key Laboratory of Innovation and Research on Chinese Traditional Medicine for Stomach, Handan 056004, China

2. Hebei Provincial Technical Innovation Center for the Cultivation of Large Varieties of Traditional Chinese Medicine, Handan 056004, China

3. Handan Pharmaceutical CO., Ltd., Handan 056004, China

Abstract: Objective Based on network pharmacology and molecular docking methods, the active components, potential targets and mechanism of Xiaer Fengreqing Mixture (Oral Liquid) in the prevention and treatment of swine flu were screened. **Methods** Firstly, the composition data and prediction target of Xiaer Fengreqing Mixture (Oral Liquid) were obtained from TCMSP and BATMEN-TCM database, and the treatment target of H1N1 was obtained from GeneCards database. Then, the function of the potential target is revealed by functional enrichment, and the "medicine-active ingredient-potential target" network is constructed by using Cytoscape software, and the protein interaction network of the potential target is constructed based on the STRING database. Finally,

收稿日期: 2023-09-07

基金项目: 河北省重点研发计划项目（22372501D）; 邯郸市科学技术研究与发展计划项目（21112093033）; 邯郸市科学技术研究与发展计划项目（22313014001）

作者简介: 王梦蕾, 女, 研究方向为中药学。E-mail: wangml@hanyao.com.cn

*通信作者: 刘会云, 女, 研究方向为中药学。E-mail: liuhy@hanyao.com.cn

the molecular docking verification was carried out between the key targets and components. **Results** A total of 192 active components and 141 potential targets of Xiaoe Fengqing mixture (oral liquid) were screened. Based on the “medicinal material-active ingredient-potential target” network and molecular docking technology, 17 key active components were selected. The top core targets were prostaglandin endoperoxide synthase 2 (PTGS2), heat shock protein (HSP90AA1), prostaglandin endoperoxide synthase 1 (PTGS1), nitric oxide synthase (NOS2), peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPARG) and adrenergic receptor β 2 (ADRB2). A total of 2747 GO items were screened and enriched to 176 pathways related to drug prevention and treatment of H1N1. The preventive and therapeutic effect of Xiaoe Fengqing Mixture (Oral Liquid) is mainly related to external stimulus response, signal transduction, oxidative stress and virus infection pathway. The results of molecular docking showed that the binding between the core target and the active component was stable. **Conclusion** Xiaoe Fengqing Mixture (Oral Liquid) may play a role in the prevention and treatment of swine flu by inhibiting the proliferation of influenza A virus, inhibiting inflammation and regulating immunity.

Key words: Xiaoe fengqing Mixture (Oral Liquid); influenza A; network pharmacology; molecular docking; active ingredients

流行性感冒（简称流感）是一种十分常见的由流感病毒感染引起的具有季节流行性特点的传染性呼吸道疾病。据统计，全球范围内每年约有 10 亿人感染流感，300 万~500 万重症病例，30 万~50 万死亡病例，严重威胁人类健康^[1]。目前感染人群的主要是甲型和乙型流感病毒，其中甲型流感病毒抗原性多变，传染性强，在全球范围内流行^[2]。儿童是流感尤其是甲型流感（简称甲流）的高发人群，感染后容易出现危重症病例^[3]。目前临床上常用的抗病毒治疗药物包括奥司他韦、扎纳米韦和阿比多尔等化学药，以及连花清瘟胶囊（颗粒）、金花清感颗粒、疏风解毒胶囊和银黄口服液等中成药^[4]。传统中药因其多成分、多靶点的特点，在甲流等多种感染性疾病的预防和治疗中展现出天然的优势^[5]。

小儿风热清合剂（口服液）是在经典名方银翘散的基础上，综合考虑小儿感冒会出现的咳嗽咳痰、鼻塞流涕、咽红肿痛、发热甚至高热、消化不良等症状，辨证加减研制而成，由金银花、黄芩、连翘、板蓝根、柴胡、牛蒡子、荆芥穗、石膏、栀子等 20 味中药材组成^[6-7]。2021 年《儿童流行性感冒中西医结合防治专家共识》将小儿风热清合剂（口服液）作为流感风热犯卫证的治疗推荐用药^[8]。临床试验证实，小儿风热清合剂（口服液）治疗儿童甲流，用药 5 d，病毒转阴率为 100%，痊愈率为 88.33%，表明小儿风热清合剂（口服液）治疗小儿甲流具有良好的有效性和安全性^[9]。目前对于小儿风热清合剂（口服液）防治甲流的药效物质基础和作用机制的研究还较少。

网络药理学基于系统生物学理论，以网络的形式解释中药复杂的作用模式，能够分析人体的健康状态和药物的有效靶点^[10]。该方法通过构建“药物-成分-靶点”网络，能够筛选出药物发挥作用的关

键成分和潜在靶点，为药物与疾病间的关系提供新的理解。目前网络药理学已被广泛应用于中药治疗各种疾病的研究中，如流感、高尿酸血症、缺血性心脏病和子宫内膜异位症等^[11-16]。分子对接技术通过分析空间结构和相互作用力，将小分子对接到大分子中，从而实现药物设计或是结构优化^[17]。通过分子对接可以从空间结构角度验证药物分子与靶点蛋白之间的结合。

本研究通过构建小儿风热清合剂（口服液）防治甲流的“药物-活性成分-潜在靶点”网络，筛选出小儿风热清合剂（口服液）防治甲流的关键成分以及潜在靶点，通过功能富集来揭示其影响的信号通路和调控功能，利用分子对接技术从空间结构上验证这些成分与潜在靶点之间的相互作用，从而为小儿风热清合剂（口服液）防治甲流提供一定的理论基础。

1 方法

1.1 小儿风热清合剂（口服液）活性成分筛选

针对小儿风热清合剂（口服液）中的 20 味药材，分别在中药系统药理学数据库分析平台（TCMSP, <https://tcmsp-e.com>）^[18]和 BATMEN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm>) 数据库^[19]中进行检索，并对结果进行合并，获得小儿风热清合剂（口服液）的基本成分。随后根据口服生物利用度（OB） $\geq 30\%$ 和成药相似性（DL） ≥ 0.18 对其进行筛选，获得小儿风热清合剂（口服液）的活性成分。其中 OB 为口服药物由肠胃吸收并经过肝脏达到体循环血液中药量的百分比，DL 为化合物与已知药物的相似性。

1.2 小儿风热清合剂（口服液）防治甲流潜在靶点筛选

使用 TCMSP 对小儿风热清合剂（口服液）所有活性成分进行检索，获得小儿风热清合剂（口服液）

发挥作用的预测靶点。同时使用关键字“influenza A”在数据库 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)^[20]中进行检索,获得甲流相关的潜在靶点。取两集合的交集,作为小儿风热清合剂(口服液)防治甲流的潜在靶点。

1.3 “药材-活性成分-潜在靶点”网络的构建

使用 Cytoscape 软件^[21]构建小儿风热清合剂(口服液)防治甲流的“药材-活性成分-潜在靶点”网络,对网络基本参数进行,并根据节点的度(degree)值对活性成分和潜在靶点分别进行排序,筛选排名靠前的活性成分和潜在靶点。

1.4 潜在靶点蛋白互作网络的构建

在 STRING 数据库(<https://cn.string-db.org/>)^[22]中检索小儿风热清合剂(口服液)防治甲流潜在靶点,物种设置为 Homo sapiens,根据检索结果构建蛋白互作网络。将网络导出使用 Cytoscape 软件绘制网络图,并通过计算网络连接度筛选网络中 top 20 核心蛋白。

1.5 小儿风热清合剂(口服液)防治甲流潜在靶点功能富集分析

基因本体(GO, <http://geneontology.org/>)^[23]主要包括生物过程(BP)、分子功能(MF)和细胞组分(CC)3个独立的部分。京都基因和基因组数据库(KEGG, <https://www.kegg.jp/>)是一个用于基因功能系统分析的数据库,其中的 PATHWAY 包含了分子

相互作用网络(通路)在基因层面的描述^[24]。本研究使用 R 语言(<https://www.r-project.org/>)中的 clusterProfiler^[25]对小儿风热清合剂(口服液)抗流感的潜在靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析,并对结果进行可视化,揭示其涉及的主要信号通路和调控功能,了解其可能发挥作用的分子机制。

1.6 分子对接

在 Pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)^[26]中下载活性成分的 3D 空间结构。在 Uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org/>)^[27]中下载潜在靶点的 3D 空间结构。使用 PyMol 软件^[28]对潜在靶点进行预处理,包括去除水分子和配体。使用 Autodock 软件^[29]进行活性成分和潜在靶点的分子对接,主要内容包括分子加氢、计算电荷、对接范围选定和分子对接。活性成分和潜在靶点之间的结合能 ≤ -5 kJ/mol 时认为两者的结合较为稳定。对接结果通过 PyMol 软件进行可视化。

2 结果

2.1 小儿风热清合剂(口服液)中活性成分

从小儿风热清合剂(口服液)20 味药材中,成功获得了 192 种无重复的活性成分,但在数据库中检索到僵蚕对应的活性成分。活性成分种类较多的药材包括甘草、板蓝根、黄芩、赤芍、连翘和金银花,对应种类数目分别为 92、39、36、29、23、23。部分活性成分见表 1。

表 1 小儿风热清合剂(口服液)关键活性成分及其源药材

Table 1 Key active ingredients of Xiaoe fengreqing mixture (Oral Liquid) and its source medicinal materials

活性成分	化学分类	来源药材
槲皮素(quercetin)	黄酮类	金银花、连翘、柴胡、栀子、甘草、炒六神曲
木犀草素(luteolin)	黄酮类	金银花、连翘、薄荷、荆芥穗、桔梗、淡竹叶
山柰酚(kaempferol)	黄酮醇类	金银花、连翘、柴胡、牛蒡子、栀子、甘草
汉黄芩素(wogonin)	黄酮苷类	连翘、黄芩、防风
柚皮素(naringenin)	黄烷酮类	薄荷、枳壳、甘草
β -谷甾醇(beta-sitosterol)	甾醇类	金银花、连翘、板蓝根、牛蒡子、黄芩、栀子、赤芍、枳壳、防风
β -胡萝卜素(beta-carotene)	萜类(四萜)	金银花、牛蒡子
金合欢素(acacetin)	黄酮类	板蓝根、薄荷、荆芥穗、黄芩、桔梗
黄芩素(baicalin)	黄酮苷类	黄芩、赤芍
豆甾醇(stigmasterol)	甾醇类	金银花、板蓝根、柴胡、荆芥穗、黄芩、栀子、赤芍、芦根、苦杏仁
芦荟大黄素(aloe-emodin)	蒽醌类	薄荷
左旋千金藤啶碱(L-spd)	生物碱类	苦杏仁
鞣花酸(ellagic acid)	多酚类	赤芍
三裂鼠尾草素(salvigenin)	多酚类	黄芩
巴马汀(palmatine)	生物碱类	石膏
胀果香豆素甲(inflacoumarin a)	香豆素类	甘草
小檗碱(berberine)	生物碱类	石膏

2.2 小儿风热清合剂（口服液）防治甲流潜在靶点

小儿风热清合剂（口服液）防治甲流潜在靶点筛选结果如图 1 所示，首先从 TCMSP 中获得 284 个无重复的小儿风热清合剂（口服液）靶点，随后从 GeneCards 中获得了 2 737 个与甲型流感相关的潜在靶点。将两部分取交集后，获得了 141 个小儿风热清合剂（口服液）抗甲流的潜在靶点。

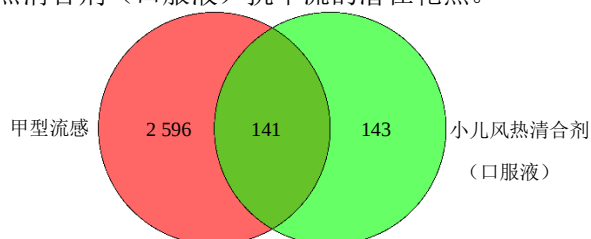


图 1 小儿风热清合剂（口服液）抗甲流潜在靶点筛选结果

Fig. 1 Screening results of potential targets of Xiaer Fengre Qinghe Mixture (oral liquid) against influenza A

2.3 “药材 - 活性成分 - 潜在靶点”网络的构建

如图 2 所示，“药材 - 活性成分 - 潜在靶点”网络由 352 个节点组成，其中正方形节点代表小儿风热清合剂（口服液）药材（19 种），三角形节点代表活性成分（192 种），圆形节点代表潜在靶点（141 种）。从整体网络来看，除芦根、炒六神曲和淡竹叶外，每种药材皆含有多重抗甲流活性成分，活性成分与潜在靶点之间为多对多的相互作用模式。体现了中药成分复杂，多途径、多靶点发挥作用的特点。

如图 3 所示，所有药材中，甘草含有的抗甲流活性成分种类最为丰富，高达 72 种，黄芩、板蓝根、连翘、防风 and 金银花等次之。排名靠前的活性成分主要为黄酮类，包括槲皮素（quercetin）、木犀草素（luteolin）、山柰酚（kaempferol）、汉黄芩素（wogonin）、柚皮素（naringenin）等，此外还有植

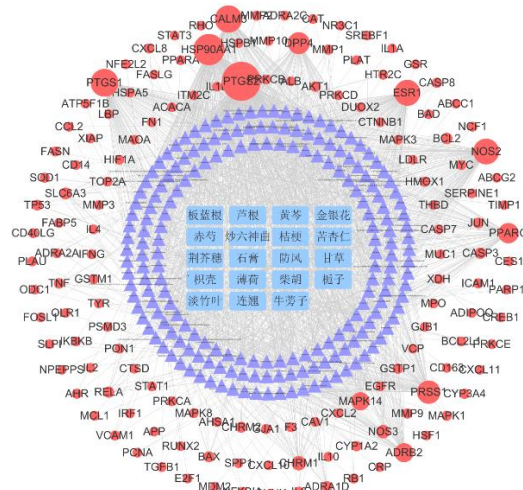


图 2 “药材 - 活性成分 - 潜在靶点”网络

Fig. 2 “Medicinal materials-active ingredients-potential targets” network

物甾醇类如 β -谷甾醇（beta-sitosterol）、豆甾醇（stigmasterol）；萜类如 β -胡萝卜素（beta-carotene）；蒽醌类如芦荟大黄素（aloe-emodin）；生物碱类如左旋千金藤啶碱（L-spd）、巴马汀（palmatine）、黄连素（berberine）；多酚类如鞣花酸（ellagic acid）等，这些活性成分很有可能是发挥药效的关键成分。其中槲皮素作用的潜在靶点最为丰富，高达 90 种，栀子、柴胡、连翘、金银花和炒六神曲均含有该成分。潜在靶点包括前列腺素内过氧化物合酶 2（PTGS2）、热休克蛋白（HSP90AA1）、前列腺素内过氧化物合酶 1（PTGS1）、钙调蛋白 3（CALM3）、雌激素受体 1（ESR1）、一氧化氮合酶 2（NOS2）和丝氨酸蛋白酶 1（PRSS1）等，这些潜在靶点可能作为药物作用位点，调控机体表达，发挥抗甲流作用。其中 PTGS2 能够与 179 种抗甲流活性成分相互作用，几乎涵盖了所有活性成分。

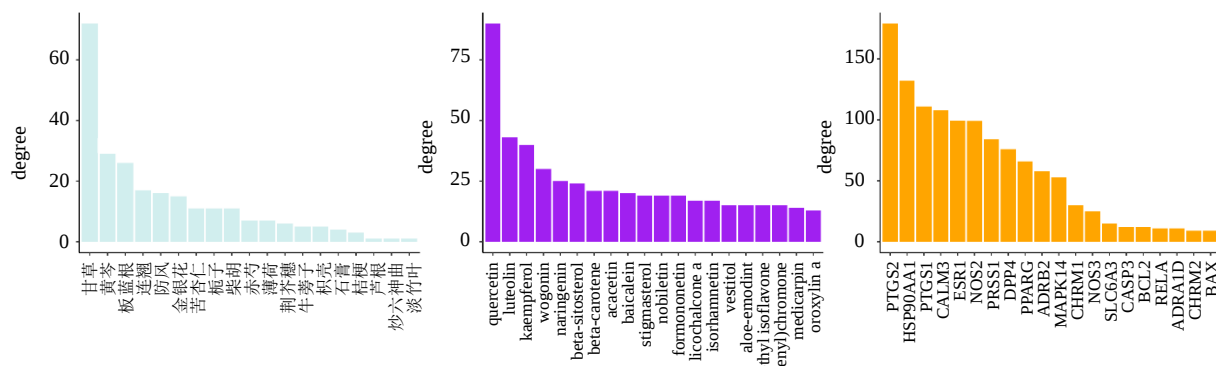


图 3 活性成分和潜在靶点连接度

Fig. 3 Active ingredients and potential targets with connectivity

2.4 潜在靶点蛋白互作网络的构建

如图 4 所示, 潜在靶点蛋白互作网络由 139 个节点和 3 278 条边构成, 节点代表潜在靶点, 点的大小及颜色深浅反映对应度的高低, 边代表 2 个潜在靶点之间存在相互作用。网络中除了跨膜蛋白 2C (ITM2C) 和嘌呤霉素敏感性氨基酸酶蛋白抗体 (NPEPPS) 没有与任何一个潜在靶点相连外, 其他所有潜在靶点之间皆存在相互作用。整个网络的平均连接度为 47, 表明这些潜在靶点之间的相互作用较为密切。其中矩阵形式排列的为连接度前 20 名的潜在靶点, 包括蛋白激酶 B1 (AKT1)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素-6 (IL6)、肿瘤蛋白 p53 (TP53)、白蛋白 (ALB)、白细胞介素-1 β (IL1B) 和基质金属蛋白酶-9 (MMP9) 等。这些潜在靶点在整个蛋白互作网络中占据关键地位, 其变化能给网络带来较大的影响。

2.5 小儿风热清合剂 (口服液) 防治甲流潜在靶点功能富集分析

如图 5 所示, 点的大小代表对应功能或通路富集的基因数目, 颜色代表显著性。共富集到 2 545 个 BP、53 个 CC、149 个 MF 和 176 个 KEGG 通路。小儿风热清合剂 (口服液) 防治甲流潜在靶点涉及的 BP 主要包括对各种物质和刺激的反应, 如外源性刺激、氧化应激、活性氧、肽和细菌来源分子等。

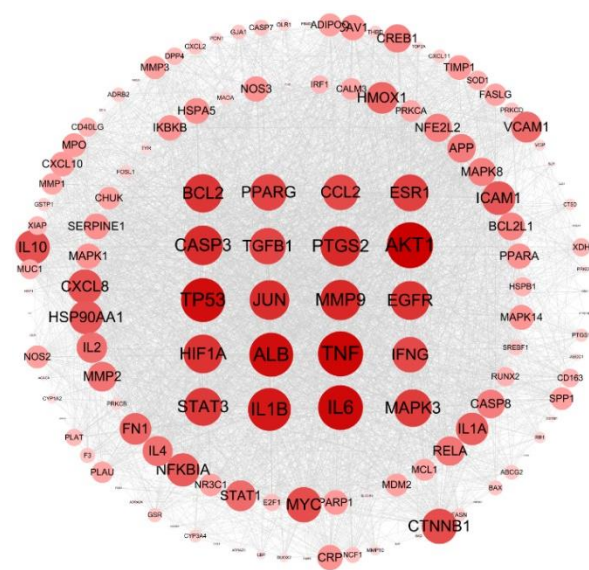


图 4 潜在靶点蛋白互作网络

Fig. 4 Potential target protein interaction network

对应分子主要定位在细胞膜、囊泡腔和转录调节复合物等。这些分子行使的主要分子功能包括转录因子、核受体、磷酸酶结合、蛋白酶结合和细胞因子等。涉及的通路包括脂质与动脉粥样硬化、糖尿病并发症中的晚期糖基化终产物及其受体 (AGE-RAGE) 信号通路、IL-17 信号通路、丙/乙型肝炎和前列腺癌等。表明这些靶点多作为受体调控细胞对外源信号的反应, 可能影响炎症性病变、病毒感染和细胞癌变等过程。

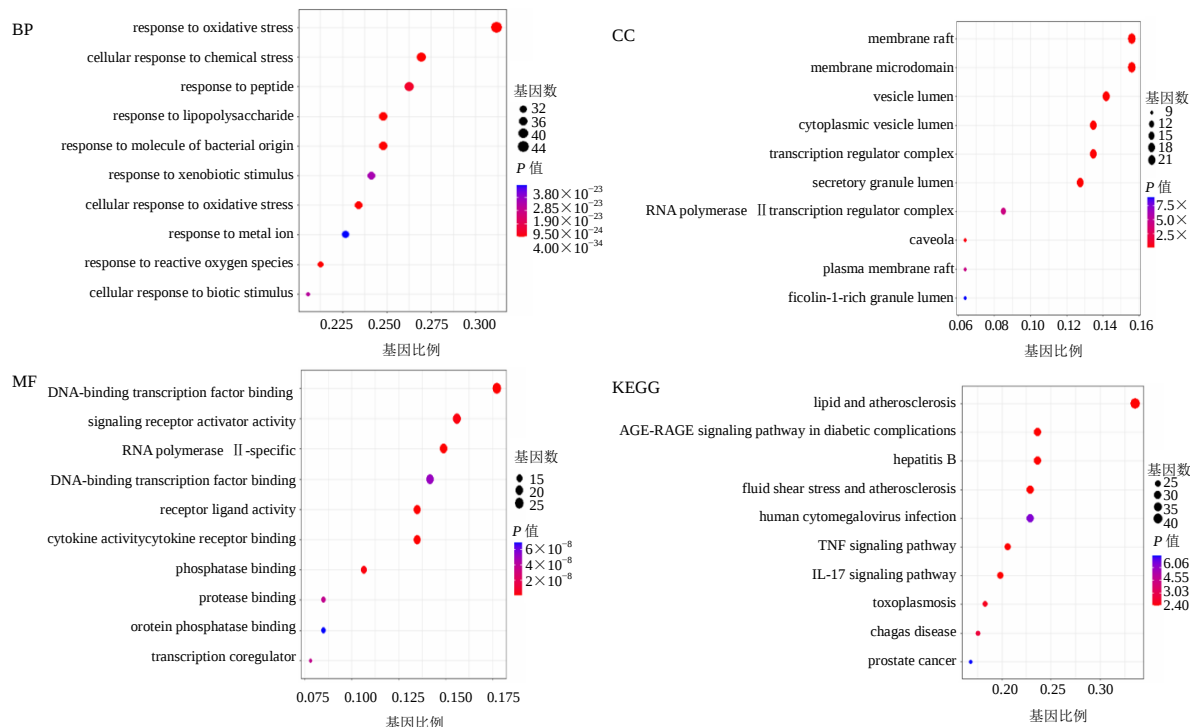


图 5 潜在靶点 GO 功能富集分析及 KEGG 通路

Fig. 5 GO Functional enrichment analysis of potential targets and KEGG pathway

2.6 分子对接

除了槲皮素、木犀草素、山柰酚、柚皮素等在药材中广泛存在且公认具有抗病毒、抗炎作用的黄酮类活性成分外,还发现有许多非黄酮类活性成分。排名前 10 的活性成分和排名前 10 的非黄酮类活性成分,除去重复成分,共计 17 个。其中胀果香豆素甲无 3D 空间结构,其余 16 个成分分别和潜在靶点进行分子对接。如图 6 所示,其中活性成分按排名顺序从上至下,潜在靶点按排名顺序从左至右。每个方格代表 1 对活性成分和潜在靶点的分子对接结果,对应背景颜色反映结合能的大小,越低颜色越深,数字为对应结合能,大字体代表其低于阈值的数值,红色字体代表结合能低的 4 对活性成分和潜在靶点,筛选进行后续对接模式的可视化。整体来看,160 对分子对接中有 133 对能够形成较为稳定的结构。活性成分角度看,柚皮素、 β -胡萝卜素、豆甾醇能够和所有前 10 的潜在靶点形成稳定结构。从潜在靶点角度看,ESR1、PTGS1、PRSS1 和 ADRB2 能够和所有前 10 的活性成分形成稳定结构, HSP90AA1、PTGS1、ESR1、PRSS1 和 ADRB2 能够和所有前 10 的非黄酮类活性成分形成稳定结构。

选择 4 对结合能低的活性成分和潜在靶点进行分子对接模式的探索,如图 7 所示,其中青色分子为活性成分,橘黄色为潜在靶点,蓝色为氢键。

-3.89	-5.11	-6.83	-1.17	-6.89	-5.06	-7.34	-4.07	-4.30	-5.92	quercetin
-6.03	-5.52	-6.96	3.76	-7.46	-5.09	-7.30	-5.15	-5.09	-5.82	luteolin
-5.39	-5.77	-7.49	-4.20	-6.42	-5.81	-7.52	-4.68	-4.41	-5.96	kaempferol
-6.20	-5.62	-7.30	3.77	-7.00	-5.93	-5.91	-4.88	-4.48	-5.80	wogonin
-5.94	-5.62	-6.89	-5.22	-7.75	-5.98	-7.86	-5.11	-5.11	-6.09	naringenin
-6.88	-5.87	-8.49	-1.70	-6.43	-6.72	-9.12	-5.93	-1.94	-7.24	beta-sitosterol
-5.97	-6.76	-5.57	-5.82	-6.53	-6.20	-6.65	-5.49	-5.71	-8.68	beta-carotene
-6.77	-5.72	-6.48	-5.38	-7.02	-6.03	-7.11	-5.68	-5.70	-6.20	acacetin
-6.37	-5.70	-6.57	-5.44	-6.93	-6.03	-7.71	-5.18	-4.30	-6.22	baicalein
-5.41	-8.32	-9.15	-7.16	-7.63	-6.69	-7.42	-6.51	-5.77	-7.83	stigmaterol
-6.72	-5.86	-7.18	-5.88	-6.86	-4.95	-8.66	-6.33	-1.84	-6.27	aloe-emodin
-6.06	-6.73	-6.56	-5.31	-5.64	-7.68	-7.41	-5.56	-4.84	-5.71	l-spd
-4.90	-6.05	-7.28	-5.45	-6.31	-6.29	-7.08	-4.95	-4.61	-6.59	ellagic acid
-5.60	-6.29	-8.20	-5.96	-7.14	-6.54	-7.87	-4.85	-4.57	-6.46	salvigenin
-7.21	-6.24	-8.21	-6.70	-7.15	-7.50	-7.44	-4.55	-4.04	-5.89	palmitate
-7.09	-7.06	-8.33	-6.33	-7.09	-6.49	-7.94	-5.52	-1.89	-6.63	berberine
ADRB2(1GQ4)	PPARG(1FM6)	DPP4(1PFQ)	PRSS1(1FXV)	NOS2(1NSI)	ESR1(1L2I)	CALM3(5COC)	PTGS1(6Y3C)	HSP90AA1(1BYQ)	PTGS2(5F19)	

图 6 有效分子和潜在靶点分子对接的结合能

Fig. 6 Binding energy between effective molecules and potential targets in molecular docking

β -carotene 和 ADRB2, 以及 stigmasterol 和 PTGS1 之间没有发现氢键相互作用。 β -sitosterol 通过 1 个氢键与 PRSS1 的 Arg-71 相互作用。 β -sitosterol 通过 1 个氢键与 PTGS1 的 Cys-41 相互作用。这些结果从分子结构上验证了活性成分和潜在靶点之间的相互作用关系。

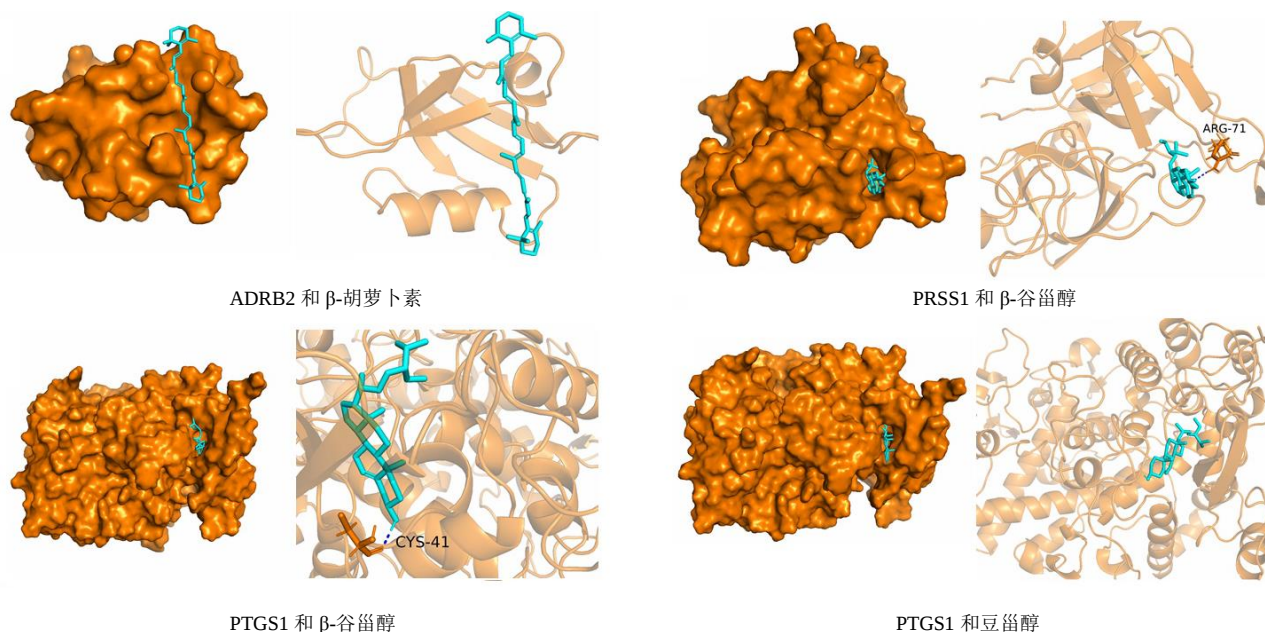


图 7 有效分子和潜在靶点分子对接模式

Fig. 7 Molecular docking model of effective molecules and potential targets

3 讨论

甲流是由甲型流感病毒引起的一种急性呼吸道传染病, 每年呈季节性流行^[8]。多数患者为自限性, 但仍有部分患者发展为重症, 因此其预防和治疗对人类健康尤为重要。小儿风热清合剂(口服液)由经典名方银翘散加减而来, 是纯中药制剂, 安全性高, 婴幼儿可服用。本研究从小儿风热清合剂(口服液)中筛选得到了 192 个活性成分, 141 个防治甲流的潜在靶点, 通过富集分析揭示了这些潜在靶点涉及的功能和通路, 并通过构建的“药材-活性成分-潜在靶点”网络筛选较为核心的活性成分和潜在靶点, 最后通过分子对接从空间结构角度对活性成分和潜在靶点的相互作用进行了验证。

针对小儿风热清合剂(口服液)防治甲流活性成分排名靠前的部分进行了文献检索, 发现前 10 名的关键活性成分中大多数是具有抗病毒、抗菌、抗炎和抗氧化功能的黄酮类化合物(7/10)。其中槲皮素能够与病毒膜表面蛋白相互作用从而阻止病毒进入, 如单纯疱疹病毒和甲流病毒, 同时还能与病毒复制所必须的特定蛋白酶相互作用阻止其复制, 如丙型肝炎病毒、艾滋病毒和新型冠状病毒^[30]。木犀草素能够抑制病毒外壳蛋白 I 复合物的表达, 影响甲流病毒的进入^[31]。山柰酚能够抑制 MAPKs 途径, 抵抗流感引起的炎症^[32]。柚皮素和黄芩素能够在安全浓度下有效的抑制甲流核蛋白的产生^[33]。除了黄酮类成分, 排名靠前的还有植物甾醇类如 β -谷甾醇、豆甾醇, 萜类如 β -胡萝卜素, 蒽醌类如芦荟大黄素, 生物碱类如左旋千金藤啶碱, 多酚类如鞣花酸等。研究表明 β -谷甾醇能够通过阻断视黄酸诱导基因蛋白 I 信号传导和干扰素介导的有害免疫反应, 缓解由流感病毒产生的急性肺损伤^[34]。芦荟大黄素可以降低病毒诱导的犬肾细胞病变效应, 并以浓度依赖的方式抑制甲型流感病毒的复制^[35]。日本开展的一项随机、双盲、安慰剂对照、平行组临床试验表明, 在年龄小于 40 岁的亚组中, 与安慰剂组相比, 联合服用 β -胡萝卜素和短乳杆菌 KB290 可以对流感病毒感染起到显著预防作用(流感发病率: 试验组为 1.9%, 安慰剂组为 3.9%)^[36]。在 1 项斑块减少中和实验中, 结果显示当浓度为 50 mmol/L 时, 鞣花酸抑制了>50%的斑块形成, 实验证实了鞣花酸的抗甲流病毒活性^[37]。

这些已有的研究结果验证了小儿风热清合剂(口服液)防治甲流的物质基础。针对潜在靶点排名

靠前的部分进行了文献检索。PTGS2 编码一种炎症介质环氧合酶-2 蛋白, 在甲流病毒感染后期, 其转录和翻译被下调, 导致宿主的防御水平降低, 从而促进病毒复制过程^[38]。HSP90AA1 编码细胞表面的热休克蛋白, 甲流病毒的血凝素通过与其结合介导病毒的进入^[39]。NOS2 是一种炎症因子, 研究发现其在抵抗甲流病毒感染宿主后引起的其它致病细菌感染中起到重要作用^[40]。PPARG 被认为是细胞因子风暴调节的潜在位点, 流感感染会使其表达下调, 同时其稳定表达能够控制由病毒感染引起的促炎反应^[41]。ADRB2 可以通过介导去甲肾上腺素响应多种 Toll 样受体信号, 快速诱导分泌 IL-10, 从而阻断多种促炎细胞因子的分泌^[42]。此外, 有研究证实, 槲皮素、木犀草素等黄酮类成分可与血管紧张素转化酶 II 结合, 作用于 PTGS1 发挥抗病毒作用^[43]。基于以上研究, 小儿风热清合剂(口服液)核心靶点相互作用所涉及的 PTGS2、HSP90AA1、PTGS1、NOS2、PPARG、ADRB2 等靶点可能是小儿风热清合剂(口服液)防治甲流的潜在核心靶点。

潜在靶点的富集结果显示, 小儿风热清合剂(口服液)能够影响甲流、乙型肝炎、丙型肝炎、疱疹病毒感染和人巨细胞病毒感染等通路, 体现了其抗病毒的活性。此外还涉及 IL-17、PI3K-Akt、HIF-1、FoxO 和 MAPK 等信号通路, 表明其可能通过调控这些通路分子来实现抗病毒。针对活性成分和潜在靶点之间的相互作用, 通过分子对接的方式进行了模拟, 发现排名靠前的活性成分和潜在靶点多数能够在空间结构上形成较为稳定的结构, 符合中药多靶点的作用机制。

综上所述, 本研究基于网络药理学对小儿风热清合剂(口服液)防治甲流的成分基础和作用机制进行了初步探索, 揭示了小儿风热清合剂(口服液)发挥药效可能影响的功能和通路, 可进一步结合实验手段进行验证, 这些结果可为相关研究提供参考和帮助。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Krammer F, Smith G J D, Fouchier R A M, et al. Influenza [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4(1): 3.
- [2] Wei C J, Crank M C, Shiver J, et al. Next-generation influenza vaccines: Opportunities and challenges [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(4): 239-252.
- [3] Wang X, Li Y, O'Brien K L, et al. Global burden of

- respiratory infections associated with seasonal influenza in children under 5 years in 2018: A systematic review and modelling study [J]. *Lancet Glob Health*, 2020, 8(4): e497-e510.
- [4] 国家卫生健康委办公厅, 国家中医药管理局办公室. 流行性感冒诊疗方案(2020年版) [J]. 中国病毒病杂志, 2021, 11(1): 1-5.
- [5] Huang K, Zhang P, Zhang Z H, *et al.* Traditional Chinese medicine (TCM) in the treatment of COVID-19 and other viral infections: Efficacies and mechanisms [J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 225: 107843.
- [6] 孙建辉, 郝莉雨, 李宗源, 等. 小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒致小鼠病毒性肺炎的影响 [J]. 中草药, 2022, 53(9): 2740-2746.
- [7] 周丛笑, 王俊宏, 陈竹, 等. 小儿风热清合剂治疗小儿急性上呼吸道感染(风热感冒证)的多中心临床研究 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(12): 2450-2456.
- [8] 中国中西医结合学会儿科专业委员会呼吸学组, 中华中医药学会儿童健康协同创新平台专家组. 儿童流行性感冒中西医结合防治专家共识 [J]. 中国中西医结合儿科学, 2021, 13(5): 369-374.
- [9] 冯自威, 杜永刚. 小儿风热清治疗儿童甲型流行性感冒疗效观察 [J]. 中医药临床杂志, 2020, 32(7): 1296-1299.
- [10] Wang X, Wang Z Y, Zheng J H, *et al.* TCM network pharmacology: A new trend towards combining computational, experimental and clinical approaches [J]. *Chin J Nat Med*, 2021, 19(1): 1-11.
- [11] Yu D H, Fu J Q, Wang Y, *et al.* Integrative metabolomics and network pharmacology to study the preventative impact of dioscin treatment on hyperuricemia [J]. *Biomed Chromatogr*, 2023, 37(3): e5558.
- [12] Yang H Y, Liu M L, Luo P, *et al.* Network pharmacology provides a systematic approach to understanding the treatment of ischemic heart diseases with traditional Chinese medicine [J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154268.
- [13] Zhao J D, Wang J T, Liu J X, *et al.* Effect and mechanisms of kaempferol against endometriosis based on network pharmacology and *in vitro* experiments [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2022, 22(1): 254.
- [14] 何紫凝, 袁中文, 冯森玲. 基于网络药理学和分子对接研究丁香抗流感的作用机制 [J]. 世界中医药, 2022, 17(16): 2263-2269.
- [15] 白思宇, 陈倩雯, 叶潇, 等. 藏药榜嘎抗流感的网络药理学分析 [J]. 中国药物警戒, 2022, 19(12): 1344-1351.
- [16] 刘馨蔚, 王雪峰. 基于网络药理学和分子对接探讨“金银花-连翘”治疗流行性感冒的作用机制 [J]. 中国中西医结合儿科学, 2022, 14(3): 238-245.
- [17] Saikia S, Bordoloi M. Molecular docking: Challenges, advances and its use in drug discovery perspective [J]. *Curr Drug Targets*, 2019, 20(5): 501-521.
- [18] Ru J L, Li P, Wang J N, *et al.* TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [19] Liu Z Y, Guo F F, Wang Y, *et al.* BATMAN-TCM: A bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21146.
- [20] Rebhan M, Chalifa-Caspi V, Prilusky J, *et al.* GeneCards: Integrating information about genes, proteins and diseases [J]. *Trends Genet*, 1997, 13(4): 163.
- [21] Shannon P, Markiel A, Ozier O, *et al.* Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [22] Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, *et al.* STRING v10: Protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(Database issue): D447-D452.
- [23] Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology (GO) project in 2006 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34: D322-D326.
- [24] Ogata H, Goto S, Sato K, *et al.* KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes [J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(1): 29-34.
- [25] Yu G C, Wang L G, Han Y Y, *et al.* clusterProfiler: An R package for comparing biological themes among gene clusters [J]. *OMICS*, 2012, 16(5): 284-287.
- [26] Kim S, Thiessen P A, Bolton E E, *et al.* PubChem substance and compound databases [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(D1): D1202-D1213.
- [27] Bairoch A, Apweiler R, Wu C H, *et al.* The universal protein resource (UniProt) [J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(database issue): D154-D159.
- [28] Delano W L, Lam J W. PyMOL: A communications tool for computational models [J]. *Abstr Pap Am Chem Soc*, 2005, 230: U1371-U2.
- [29] Trott O, Olson A J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. *J Comput Chem*, 2010, 31(2): 455-461.
- [30] Di Petrillo A, Orrù G, Fais A, *et al.* Quercetin and its derivatives as antiviral potentials: A comprehensive review [J]. *Phytother Res*, 2022, 36(1): 266-278.
- [31] Yan H Y, Ma L L, Wang H Q, *et al.* Luteolin decreases the yield of influenza A virus *in vitro* by interfering with the coat protein I complex expression [J]. *J Nat Med*, 2019, 73(3): 487-496.

- [32] Zhang R H, Ai X, Duan Y J, *et al.* Kaempferol ameliorates H9N2 swine influenza virus-induced acute lung injury by inactivation of TLR4/MyD88-mediated NF- κ B and MAPK signaling pathways [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 660-672.
- [33] Sithisarn P, Michaelis M, Schubert-Zsilavecz M, *et al.* Differential antiviral and anti-inflammatory mechanisms of the flavonoids biochanin A and baicalein in H5N1 influenza A virus-infected cells [J]. *Antiviral Res*, 2013, 97(1): 41-48.
- [34] Zhou B X, Li J, Liang X L, *et al.* β -sitosterol ameliorates influenza A virus-induced proinflammatory response and acute lung injury in mice by disrupting the cross-talk between RIG-I and IFN/STAT signaling [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(9): 1178-1196.
- [35] Dong X, Zeng Y W, Liu Y, *et al.* Aloe-emodin: A review of its pharmacology, toxicity, and pharmacokinetics [J]. *Phytother Res*, 2020, 34(2): 270-281.
- [36] Satomi S, Waki N, Arakawa C, *et al.* Effects of heat-killed *Levilactobacillus brevis* KB290 in combination with β -carotene on influenza virus infection in healthy adults: A randomized controlled trial [J]. *Nutrients*, 2021, 13(9): 3039.
- [37] Chen G H, Lin Y L, Hsu W L, *et al.* Significant elevation of antiviral activity of strictinin from Pu'er tea after thermal degradation to ellagic acid and Gallic acid [J]. *J Food Drug Anal*, 2015, 23(1): 116-123.
- [38] Dudek S E, Nitzsche K, Ludwig S, *et al.* Influenza A viruses suppress cyclooxygenase-2 expression by affecting its mRNA stability [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 27275.
- [39] Wang X B, Zheng T Y, Lin L L, *et al.* Influenza A virus induces autophagy by its hemagglutinin binding to cell surface heat shock protein 90AA1 [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 566348.
- [40] Aleith J, Brendel M, Weipert E, *et al.* Influenza A virus exacerbates group A *Streptococcus* infection and thwarts anti-bacterial inflammatory responses in murine macrophages [J]. *Pathogens*, 2022, 11(11): 1320.
- [41] Zhang H B, Alford T, Liu S Q, *et al.* Influenza virus causes lung immunopathology through down-regulating PPAR γ activity in macrophages [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 958801.
- [42] Ağaç D, Estrada L D, Maples R, *et al.* The β 2-adrenergic receptor controls inflammation by driving rapid IL-10 secretion [J]. *Brain Behav Immun*, 2018, 74: 176-185.
- [43] 闫久江, 孟杰, 刘树民, 等. 复方芩兰口服液抗病毒物质基础及作用机制研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(6): 2005-2011.

[责任编辑 金玉洁]