

基于网络药理学和分子对接技术探讨儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症的作用机制

董亚闻¹, 郭圣璇^{2,3*}, 蔡秋晗^{2,3}

1. 天津市儿童医院 天津大学儿童医院, 天津 300134

2. 天津中医药大学第一附属医院 临床试验中心, 天津 300193

3. 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300193

摘要: **目的** 采用网络药理学和分子对接技术探讨儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症的潜在作用机制。**方法** 通过检索中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 数据库获取儿脾醒颗粒的主要活性成分及对应靶点; 检索 GeneCards、OMIM、DrugBank、TTD 数据库得到小儿厌食症相关靶点基因; 取药物靶点与疾病靶点的交集, 得出儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症的有效靶点并绘制 Venn 图; 运用 Cytoscape 3.9.0 软件构建药物与小儿厌食症疾病靶点互作网络图; 利用 STRING 数据库绘制蛋白质相互作用 (PPI) 的可视化网络图, 并进行网络拓扑分析; 通过 Bioconductor 数据库和 R 语言对交集靶点进行基因本体 (GO) 分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析, 了解儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症可能的生物过程及通路; 最后运用 SYBYL-x2.0 软件实现分子对接验证。**结果** 获得儿脾醒颗粒主要活性成分 46 个、药物靶点蛋白 236 个; 检索小儿厌食症疾病相关靶点共 1 372 个, 活性成分与疾病交集靶点 118 个; 发现儿脾醒颗粒通过作用于转录因子 AP-1 (JUN)、V-Rel 网状内皮增生病毒癌基因同源物 A (RELA)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素 (IL)、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 (PI3K/Akt) 等 13 个关键靶点发挥着治疗小儿厌食症的药理作用; GO 和 KEGG 富集分析结果显示, 潜在作用靶点涉及 2 521 条生物学功能、181 条信号通路; 分子对接结果显示儿脾醒颗粒有效成分与多个疾病靶点蛋白具有较高结合力。**结论** 儿脾醒颗粒可能通过调节 JUN、RELA、TNF、IL、PI3K/Akt 等关键靶点发挥多成分-多靶点-多通路作用机制, 为进一步的机制研究及临床广泛应用提供参考。

关键词: 儿脾醒颗粒; 小儿厌食症; 网络药理学; 分子对接; 槲皮素; 山柰酚; 转录因子 AP-1; V-Rel 网状内皮增生病毒癌基因同源物 A

中图分类号: R985 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2023)02-0308-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.02.008

Mechanism of Erpixin Granules in treatment of infantile anorexia based on network pharmacology and molecular docking technology

DONG Ya-wen¹, GUO Sheng-xuan^{2,3}, CAI Qiu-han^{2,3}

1. Tianjin Children's Hospital, Tianjin University Children's Hospital, Tianjin 300134, China

2. Clinical Trials Centre, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

3. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To explore the potential mechanism of Erpixin Granules in treatment of infantile anorexia by using network pharmacology and molecular docking. **Methods** The active components and corresponding targets in Erpixin Granules were retrieved from the TCMSP database. Infantile anorexia related target genes were obtained by searching GeneCards, OMIM, DrugBank, and TTD databases. The drug target and the disease target were intersected to obtain the effective targets of Erpixin Granules in treatment of infantile anorexia, and the drug disease Venn diagram was drawn. Cytoscape 3.9.0 software was used to construct a network diagram of drug-disease target interaction. The protein-protein interaction (PPI) network was constructed by using STRING database, and the network topology was analyzed. Through Bioconductor database and R language, GO and KEGG enrichment analysis of relevant targets were conducted to understand the possible biological processes and pathways of Erpixin Granules in treatment of infantile anorexia. Finally, molecular docking verification is carried out by using SYBYL-x2.0 software. **Results** 46 Active components and 236 drug targets of Erpixin Granules were screened. A total of 1 372 targets related to anorexia

收稿日期: 2022-10-24

作者简介: 董亚闻, 女, 硕士, 研究方向为儿科临床药理学。E-mail: yvonne1894@163.com

*通信作者: 郭圣璇, 男, 博士, 研究方向为中药临床评价方法学。E-mail: 648709449@qq.com

were retrieved, and 118 targets were common between active ingredients and diseases. 13 Key targets such as JUN, RELA, TNF, IL, and PI3K-Akt were found to play an important role in treatment of infantile anorexia with Erpixin Granules. GO and KEGG enrichment analysis showed that 2 521 biological functions and 181 signaling pathways were involved in the potential targets. The results of molecular docking showed that the active compounds of Erpixin Granules had high binding ability to several key disease targets. **Conclusion** Erpixin Granules may play a multi-component, multi-target and multi-pathway mechanism by regulating JUN, RELA, TNF, IL, PI3K-Akt and other key targets, which provides reference for further mechanism research and clinical application.

Key words: Erpixin Granules; infantile anorexia; network pharmacology; molecular docking; quercetin; kaempferol; JUN; RELA

小儿厌食症是儿科的常见病证,以长期厌恶进食、食量减少为主要临床症状,多发于 1~6 岁儿童,发病率为 12%~34%,且近几年呈逐年上升的趋势^[1-2]。长期厌食可导致患儿身材矮小、营养不良,影响儿童的体格及智力发育,是当今家长乃至社会十分关注的问题^[3]。中医学认为小儿厌食症多由饮食不节或喂养不当、长期偏食损伤脾胃,致脾胃运化失常所致,治疗时应以运脾开胃为基本治则^[4]。儿脾醒颗粒具有健脾和胃、消食化积的功效,用于治疗小儿厌食症。其组方为山楂、麦芽、鸡内金、山药、薏苡仁、白扁豆、陈皮、茯苓,源自中医经典名方参苓白术散和保和丸,组成成分均为药食同源药材,方中茯苓健脾渗湿,山楂消食化积,以达健脾、消食并举;山药助茯苓健脾止泻之功,麦芽增山楂消食健胃之力,共为臣药;佐用白扁豆、薏苡仁,合茯苓、山药参“参苓白术散”之法,以健脾渗湿止泻;佐用麦芽、陈皮,合茯苓、山楂、麦芽寓“保和丸”之意,以消食化积、理气导滞。

有研究表明,儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症有效且安全^[5],但样本量少、证据级别较低,尚需大量相关实验和临床研究进一步验证^[6]。儿脾醒颗粒药物组成较多,药理作用广泛,作用机制复杂,传统药理学研究难以全面解析其治疗小儿厌食症的作用机制,而网络药理学立足于系统生物学和生物信息学,可通过建立化学成分-靶点-疾病的网络体系,初步探索中药药效物质基础及机制;分子对接技术可基于计算机模拟结构,通过对接的手段,在分子水平上预测成分与受体亲和力大小,识别网络药理学探寻结果的可靠性和准确性^[7-8]。基于此,本研究拟通过网路药理学和分子对接的方法,研究儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症的主要活性成分、靶点、通路及相关作用机制,以期为后续研究及临床广泛应用提供参考依据。

1 方法

1.1 儿脾醒颗粒药物活性成分筛选及靶点收集

利用 TCMSP 数据库 (<https://tcmsp-e.com/>

tcmsp.php),以口服生物利用度(oral bioavailability, OB)≥30%、类药性(drug-likeness, DL)≥0.18 为筛选条件分别检索儿脾醒颗粒中山楂、麦芽、鸡内金、山药、薏苡仁、白扁豆、陈皮、茯苓 8 味中药活性成分^[9],以 BAMAN-TCM 数据库(<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/>)及相关文献报道^[10-11]完善数据。再采用 UniProt (<https://www.uniprot.org/>)数据库对其进行基因名标准化。

1.2 小儿厌食症相关靶点的获取

以“infantile anorexia”为疾病检索词分别在 GeneCards (<http://www.Genecards.org/>)、OMIM (<http://www.omim.org/>)、DrugBank (<https://go.drugbank.com/>)、TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>)等数据库检索获取小儿厌食症相关靶点,同时利用 R 语言软件(<https://www.r-project.org/>)将各数据库靶点进行整合并绘制韦恩图。

1.3 儿脾醒颗粒对小儿厌食症作用靶点预测及互作网络构建

通过 R 语言编程,将儿脾醒颗粒活性成分及靶点筛选结果与小儿厌食症靶点筛选结果取交集,得到儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症的作用靶点,同时绘制韦恩图;采用 Cytoscape 3.9.0 (<http://www.cytoscape.org>)软件构建“儿脾醒颗粒活性成分-小儿厌食症疾病靶点”相互作用网络图。

1.4 儿脾醒颗粒与小儿厌食症共同靶点蛋白相互作用(PPI)网络构建及核心靶点筛选

将交集靶点导入 STRING 在线工具(<https://string-db.org>),限定种属为人类(Homosapiens),构建 PPI 网络。并利用 Cytoscape 3.9.0 软件中 CytoNCA 插件,以度值(degree)、中介中心性(betweenness)、接近中心性(closeness)为参考值,大于中位值为筛选条件,进一步筛选核心靶点。

1.5 基因本体论(GO)基因生物过程与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

使用 Bioconductor 生物信息软件包(<http://www.bioconductor.org>)处理药物与小儿厌食症共同靶点,

将基因名转化为 Entrez ID, 运行脚本软件, 进行 GO 基因生物过程富集、KEGG 信号通路富集分析, 设定阈值 $P < 0.05$, 筛选出具有显著差异的生物过程和信号通路, 并画出柱状图及气泡图。

1.6 核心靶点蛋白与活性成分的分子对接验证

通过 Pubchem 网站获取儿脾醒颗粒主要活性成分结构的“SDF 格式”, 并用 Chem3D 软件对药物成分进行能量最小化处理, 结果保存为“mol 格式”。利用 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org>) 下载度值较高的核心靶点蛋白的 3D 结构, 以“PDB 格式”保存。将药物活性成分及疾病核心靶点蛋白导

入 SYBYL-x2.0 软件, 对疾病靶点蛋白进行提取小分子配体、去除小分子、加氢等预处理, 然后受体和配体进行半柔性分子对接, 对接结果进行函数打分, 取高分的对接构象图绘制示意图。

2 结果

2.1 儿脾醒颗粒药物活性成分及靶点筛选

共检索到了儿脾醒颗粒主要活性成分 44 个, 具体成分信息见表 1。同时通过 TCMSP 查询活性成分对应靶点, 利用 Uniprot 数据库进行校正, 筛选出各自对应的标准化基因名, 去重后得到作用靶点共 236 个。

表 1 儿脾醒颗粒主要成分
Table 1 Active ingredients of Erpixin Granules

Mol ID	化合物名称	OB/%	DL	来源	Mol ID	化合物名称	OB/%	DL	来源
MOL002773	beta-carotene	37.18	0.58	白扁豆	MOL004798	delphinidin	40.63	0.28	麦芽
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	陈皮	MOL000492	(+)-catechin	54.83	0.24	麦芽
MOL004328	naringenin	59.29	0.21	陈皮	MOL000569	digallate	61.85	0.26	麦芽
MOL005100	5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)chroman-4-one	47.74	0.27	陈皮	MOL000006	luteolin	36.16	0.25	麦芽
MOL005815	citromitin	86.90	0.51	陈皮	MOL001559	piperlonguminine	30.71	0.18	山药
MOL005828	nobiletin	61.67	0.52	陈皮	MOL001736	(-)-taxifolin	60.51	0.27	山药
MOL000273	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-6-methyl hept-5-enoic acid	30.93	0.81	茯苓	MOL000322	kadsurenone	54.72	0.38	山药
MOL000275	trametenolic acid	38.71	0.80	茯苓	MOL005430	hancinone C	59.05	0.39	山药
MOL000279	cerevisterol	37.96	0.77	茯苓	MOL005435	24-methylcholest-5-en-3beta-O-glucopyranoside_qt	37.58	0.72	山药
MOL000282	ergosta-7,22E-dien-3beta-ol	43.51	0.72	茯苓	MOL005438	campesterol	37.58	0.71	山药
MOL000283	ergosterol peroxide	40.36	0.81	茯苓	MOL005440	isofucosterol	43.78	0.76	山药
MOL000296	hederagenin	36.91	0.75	茯苓	MOL000449	stigmaterol	43.83	0.76	山药
MOL006077	thiamine	19.87	0.11	鸡内金	MOL005458	dioscoreside C_qt	36.38	0.87	山药
MOL000421	nicotinic acid	47.65	0.02	鸡内金	MOL000546	diosgenin	80.88	0.81	山药
MOL010857	sterigmato-cystin	57.16	0.68	麦芽	MOL005465	AIDS180907	45.33	0.77	山药
MOL010861	delta-D	45.66	0.48	麦芽	MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31	山楂
MOL010864	5,7-dihydroxy-3',4',5'-trimethoxyflavon	46.01	0.37	麦芽	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	山楂
MOL010865	naphthol aS-bl phosphate	49.88	0.45	麦芽	MOL000073	ent-epicatechin	48.96	0.24	山楂
MOL002322	isovitexin	31.29	0.72	麦芽	MOL000098	quercetin	46.43	0.28	山楂
					MOL001323	sitosterol alpha1	43.28	0.78	薏仁
					MOL001494	mandenol	42.00	0.19	薏仁
					MOL008121	2-monoolein	34.23	0.29	薏仁
					MOL000953	CLR	37.87	0.68	薏仁
					MOL000358	β-sitosterol	36.91	0.75	麦芽
					MOL000433	FA	68.96	0.71	麦芽

2.2 小儿厌食症疾病靶点收集

通过检索 GeneCards、OMIM、DrugBank 数据库分别得到小儿厌食症相关疾病靶点 1 132、235、40 个, TDD 数据库未检索到小儿厌食症相关靶点。借助脚本文件, 整理去重后共得到小儿厌食症相关疾病靶点 1 372 个, 见图 1。

2.3 儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症作用靶点预测及互作网络构建

将药物主要成分靶点和小儿厌食症靶点通过 R

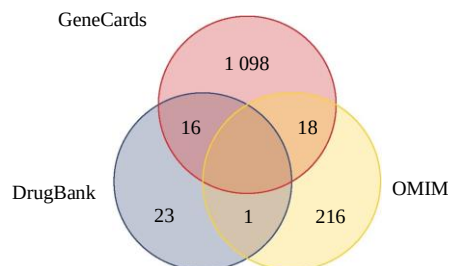


图 1 小儿厌食症疾病靶点的韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of infantile anorexia targets

语言程序进行类比分析,共得到 118 个儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症的相关作用靶点,见图 2、表 2。本研究采用 Cytoscape 3.9.0 软件成功构建了药物成分与共同靶点相互作用关系网络图,共有 103 个节点、434 条边(共同靶点 118 个、药物成分 44 种),见图 3,药物活性成分与疾病靶点之间的连线表明两者之间存在靶向关系,说明 44 个儿脾醒颗粒活性成分与 118 个小儿厌食症疾病靶点存在靶向关系。

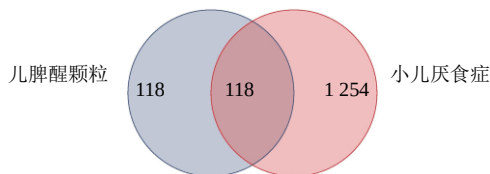


图 2 儿脾醒颗粒与小儿厌食症交集靶点的韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of common targets of Erpixin Granules and infantile anorexia

2.4 儿脾醒颗粒与小儿厌食症共同靶点 PPI 构建及可视化分析

将交集靶点导入 STRING 在线工具,限定为人类种属,构建儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症的 PPI 网络关系图,见图 4。PPI 涉及 118 个节点和 434 条边,平均度值(average node degree)为 7.36。接下来导入 Cytoscape 3.9.0 软件,以 CytoNCA 插件进行网络拓扑分析,计算节点的 betweenness、closeness、degree 值,利用 R 语言以大于中位值为筛选条件,进行 2 次筛选后,得到转录因子 AP-1 (JUN)、V-Rel 网状内皮增生病毒癌基因同源物 A (RELA)、肿瘤抑制基因 P53 (TP53) 等 13 个核心靶点,见图 5。其相关拓扑参数见表 3。

2.5 儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症的 GO 功能富集与 KEGG 通路分析

使用 Bioconductor 生物信息软件包处理核心靶点基因,进行 GO 基因生物过程富集、KEGG 信号通路富集分析,并绘制柱状图及气泡图。GO 富集分析结果共计 2521 条,生物学过程(BP)2264 条、细胞组成(CC)79 条、分子功能(MF)178 条。根据 P 值大小排序,分别筛选出前 20 名,并绘制柱状图,见图 6。可以推测儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症的 BP 主要涉及细胞对外来生物刺激的反应(response to xenobiotic stimulus)、氧化应激反应(response to oxidative stress)、细胞对化学刺激的反应(cellular response to chemical stress)等;CC 主要与膜筏(membrane raft)、膜微结构域(membrane

表 2 儿脾醒颗粒与小儿厌食症共同靶点

Table 2 Common targets of Erpixin Granules and infantile anorexia

序号	靶点	序号	靶点
1	AKT1	60	CDKN1A
2	VEGFA	61	CDK4
3	BCL2	62	IL6ST
4	CASP9	63	NFKBIA
5	MMP2	64	MDM2
6	JUN	65	ERBB2
7	CASP3	66	ICAM1
8	PTGS2	67	BIRC5
9	CASP8	68	IL2
10	CYP3A4	69	TYR
11	CYP1A2	70	IFNG
12	CAV1	71	SLC2A4
13	CTNNB1	72	INSR
14	MYC	73	CD40LG
15	F3	74	MET
16	PGR	75	SLC6A3
17	PTGS1	76	MAOB
18	ESR1	77	ACHE
19	RELA	78	ADRA2A
20	MAPK3	79	MAOA
21	MAPK1	80	ADRB1
22	FASN	81	NR3C1
23	SOD1	82	HIF1A
24	CAT	83	ABCC2
25	PPARG	84	MTOR
26	CYP19A1	85	PYGM
27	GSTP1	86	STAT1
28	UGT1A1	87	CYP1A1
29	PPARA	88	SELE
30	GSR	89	CYP1B1
31	ABCC1	90	AHR
32	CES1	91	NR1I3
33	NOS2	92	PPP3CA
34	AR	93	SLPI
35	ESR2	94	MMP3
36	GSK3B	95	FOS
37	BAX	96	EGF
38	MMP9	97	POR
39	TP53	98	IL1B
40	TIMP1	99	CCL2
41	CREB1	100	CXCL8
42	PLA2G4A	101	HSPB1
43	GABRA1	102	PLAT
44	GRIA2	103	SERPINE1
45	SLC6A2	104	COL1A1
46	LPL	105	IL1A
47	NOS3	106	MPO
48	HP	107	ABCG2
49	PPARGC1A	108	NFE2L2
50	CDK2	109	NQO1
51	MAPK14	110	PARP1
52	DRD1	111	CXCL10
53	ADRB2	112	CHUK
54	SLC6A4	113	SPP1
55	OPRM1	114	RUNX2
56	CA2	115	E2F1
57	EGFR	116	CTSD
58	CCND1	117	IGFBP3
59	BCL2L1	118	IGF2

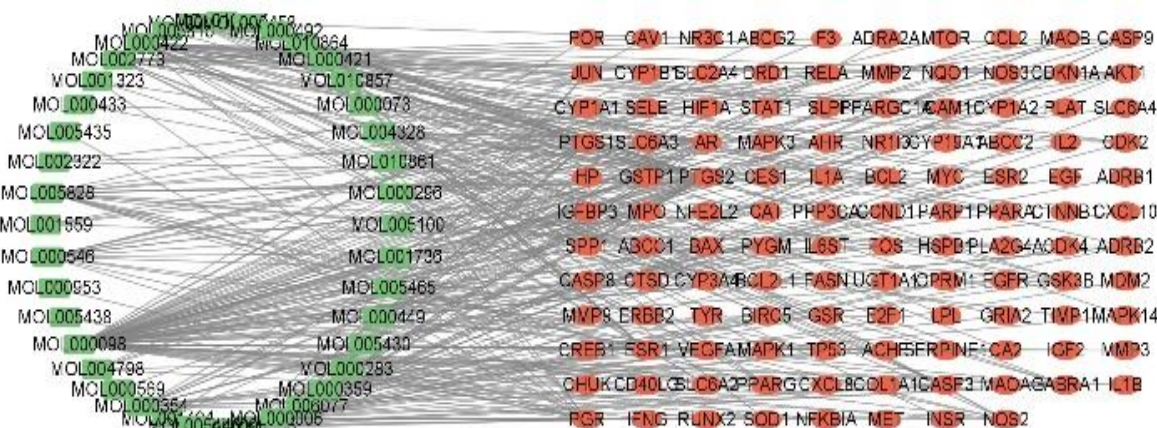


图 3 儿脾醒颗粒有效成分 - 小儿厌食症疾病靶点相互作用网络图

Fig. 3 Interaction network of active component of Erpiping Granules - infantile anorexia target

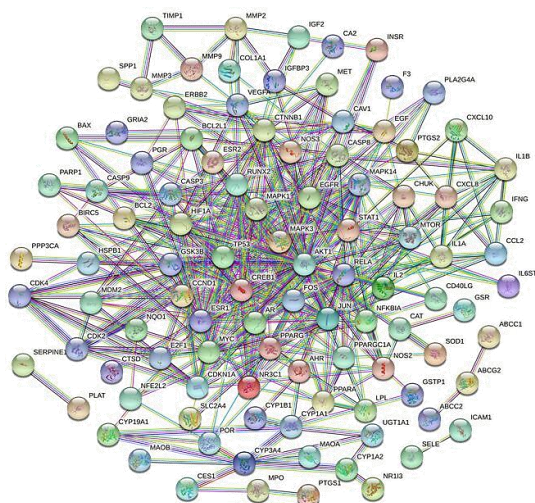


图 4 儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症的 PPI 网络图

Fig. 4 PPI network of Erpiping Granules in treatment of infantile anorexia

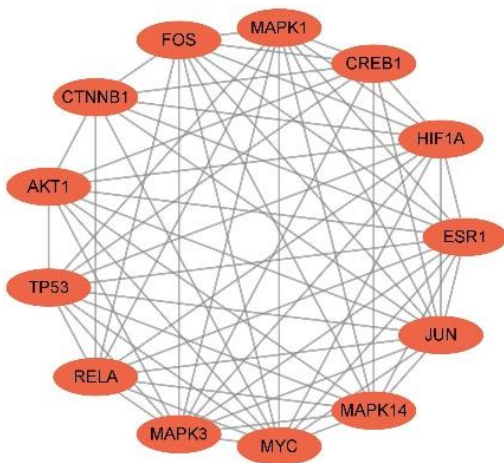


图 5 儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症的核心靶点图

Fig. 5 Core target map of Erpiping Granules in treatment of infantile anorexia

表 3 小儿厌食症核心靶点及拓扑参数

Table 3 Infantile anorexia core target and topological parameter values

序号	靶点	betweenness	closeness	degree
1	JUN	122.195 766 20	0.790 697 674	25
2	RELA	100.500 970 10	0.739 130 435	22
3	TP53	51.256 983 76	0.723 404 255	21
4	MAPK3	33.809 023 74	0.693 877 551	19
5	MAPK14	59.533 740 21	0.693 877 551	19
6	CTNNB1	56.129 451 28	0.680 000 000	18
7	MAPK1	31.229 189 69	0.680 000 000	18
8	FOS	48.016 766 92	0.680 000 000	18
9	AKT1	48.179 176 56	0.680 000 000	18
10	MYC	21.312 590 19	0.666 666 667	17
11	ESR1	25.953 971 30	0.666 666 667	17
12	HIF1A	11.390 907 24	0.641 509 434	15
13	CREB1	17.520 129 87	0.641 509 434	15

microdomain)、转录调节复合体 (transcription regulator complex) 等相关; MF 主要涉及 DNA 结合转录因子结合 (DNA-binding transcription factor binding)、RNA 聚合酶 II 近端启动子序列特异性 DNA 结合 (RNA polymerase II-specific DNA-binding transcription factor binding)、转录辅调节蛋白结合 (transcription coregulator binding) 等。

KEGG 通路分析结果显示, 潜在作用靶点参与的信号通路共计 181 条, 根据 P 值大小排序, 筛选出前 30 名并绘制气泡图, 见图 7。据图可知, 儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症涉及低氧诱导因子-1 (HIF-1)、白细胞介素-17 (IL-17)、肿瘤坏死因子 (TNF)、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 (PI3K/Akt)、晚期糖基化终末产物-糖基化终末产物受体 (AGE-RAGE) 等生物学信号通路, 表明儿脾醒颗粒的活性成分在多条通路同时发挥治疗小儿厌食症的作用。

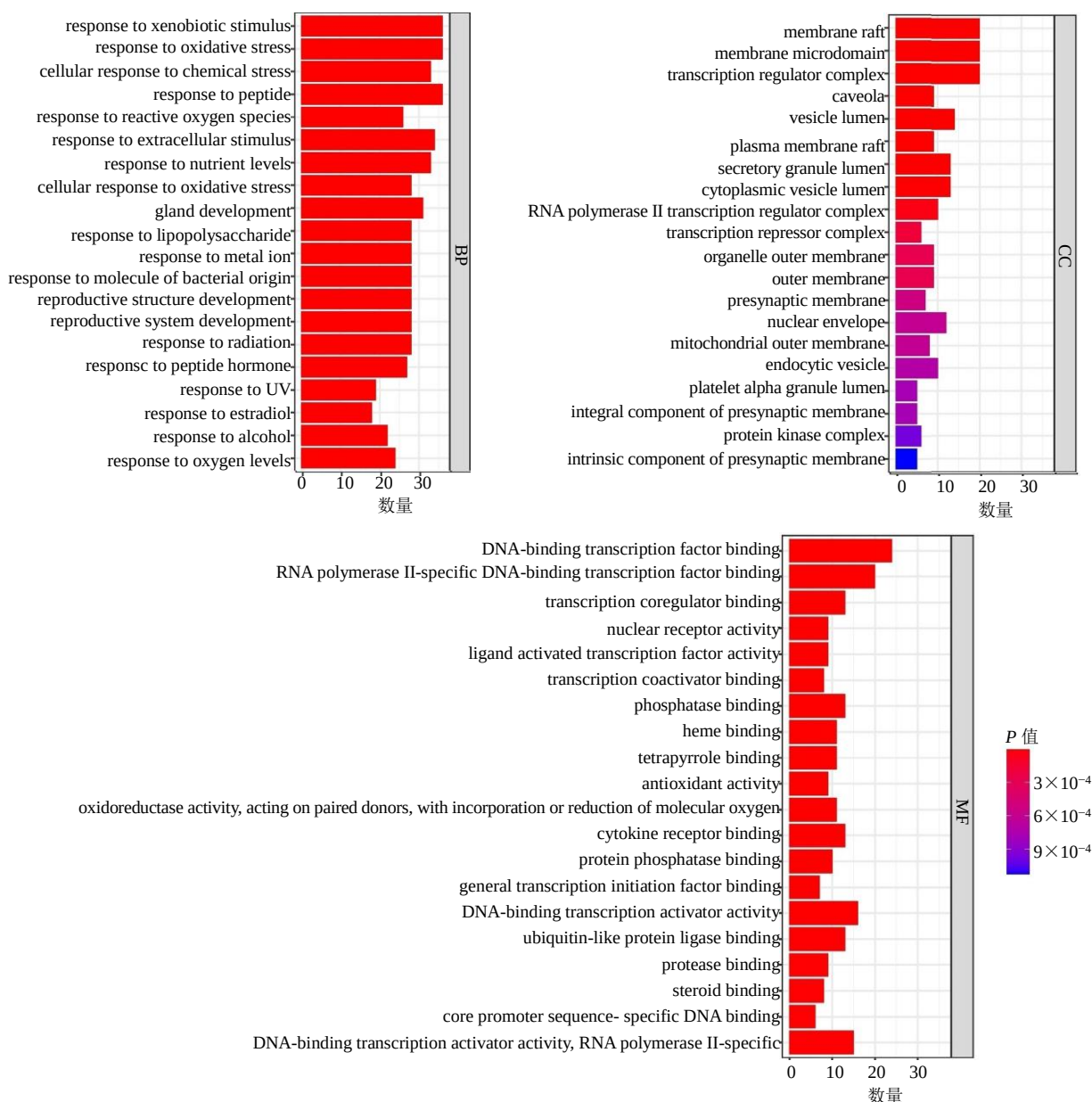


图 6 GO 功能富集分析

Fig. 6 GO biological function enrichment analysis

2.6 分子对接

利用 SYBYL-x2.0 软件进行半柔性分子对接, 验证儿脾醒颗粒活性成分与小儿厌食症核心疾病靶点间的相互作用活性。将儿脾醒颗粒的 16 个主要活性成分与小儿厌食症中 degree 值较高的靶点蛋白进行分子对接, 对接综合打分 (total score) 值越大, 则表示配体与受体结合越稳定。分子对接结果见表 4, 儿脾醒颗粒中的 15 个成分与 4 个关键靶点蛋白对接良好。槲皮素 (quercetin)、山柰酚 (kaempferol) 均与丝裂原活化蛋白激酶 3 (MAPK3) 有强烈的结合活性, 槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇 (β -

sitosterol) 与 JUN、RELA、TP53 有较好的结合活性。其中槲皮素与 MAPK3 的对接 total score 值最大, 分子对接示意图见图 8, 槲皮素结合在 VAL341、GLU343、LYS220、HIS197、HIS195 等氨基酸残基所形成的疏水性口袋中并形成 7 个氢键, 因此与 MAPK3 分子结合力强, 活性也较高, 山柰酚与 MAPK3 的分子对接示意图显示它们之间也能形成多个氢键, 从而具有较强的结合力。

3 讨论

厌食是婴幼儿和学龄前儿童常见的摄食行为异常疾病, 伴或不伴有胃肠功能的异常, 长期可导

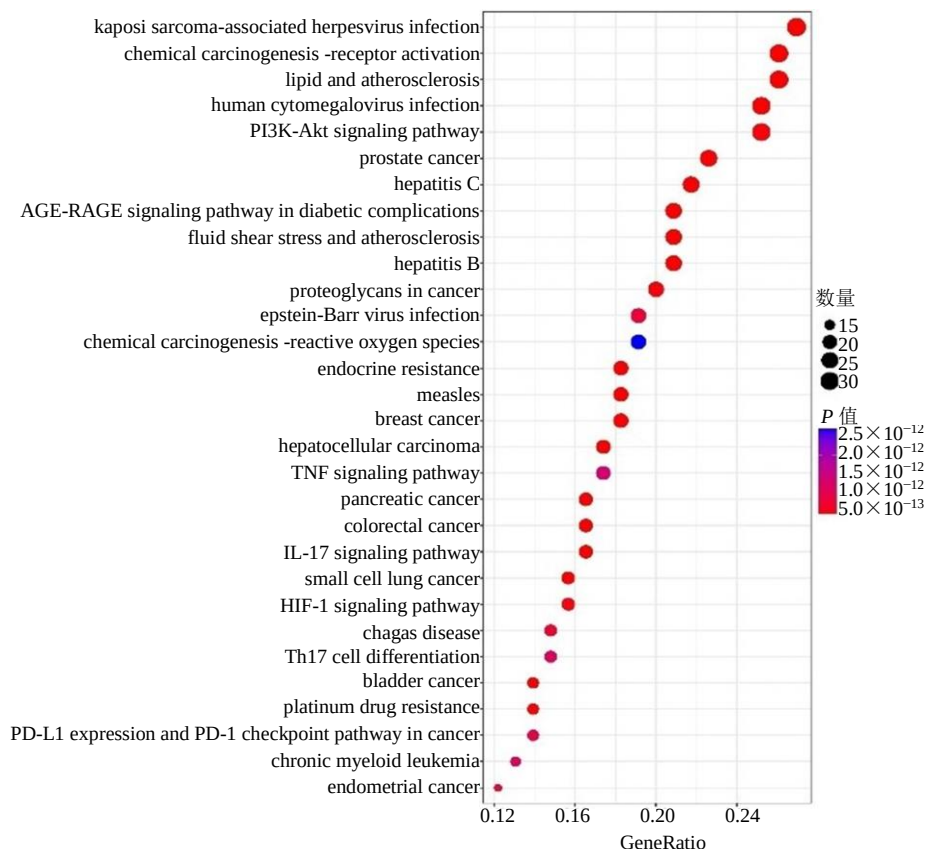


图 7 KEGG 通路富集分析

Fig. 7 KEGG pathway enrichment analysis

表 4 儿脾醒颗粒活性成分与小儿厌食症核心靶点蛋白分子对接信息

Table 4 Molecular docking information between active components of Erpixin Granules and infantile anorexia core target proteins

序号	有效成分	靶蛋白打分			
		JUN	RELA	TP53	MAPK3
1	quercetin	4.454 7	5.879 6	5.884 2	7.826 3
2	kaempferol	3.442 2	4.182 3	4.707 5	7.486 5
3	β -sitosterol	5.143 3	6.026 2	4.108 9	6.172 1
4	naringenin	4.496 8	4.553 3	4.601 9	6.014 9
5	5,7-dihydroxy-3',4',5'-trimethoxyflavon	4.472 1	6.744 9	3.758 6	5.853 1
6	isorhamnetin	5.170 3	5.969 1	3.462 8	5.376 9
7	(+)-catechin	4.325 1	6.019 3	3.827 6	6.324 6
8	β -carotene	3.570 6	2.767 9	5.682 3	6.383 2
9	ent-epicatechin	4.786 9	5.671 8	4.934 5	4.854 5
10	isovitexin	3.705 9	4.935 7	3.680 5	3.065 0
11	diosgenin	3.082 9	4.710 5	3.926 4	5.336 3
12	nobiletin	4.211 1	4.845 7	4.214 4	4.610 6
13	AIDS180907	3.786 8	5.760 8	4.189 1	4.504 2
14	sterigmatocystin	4.321 9	5.461 8	3.462 8	4.228 0
15	luteolin	2.900 8	4.578 3	3.195 1	4.797 9

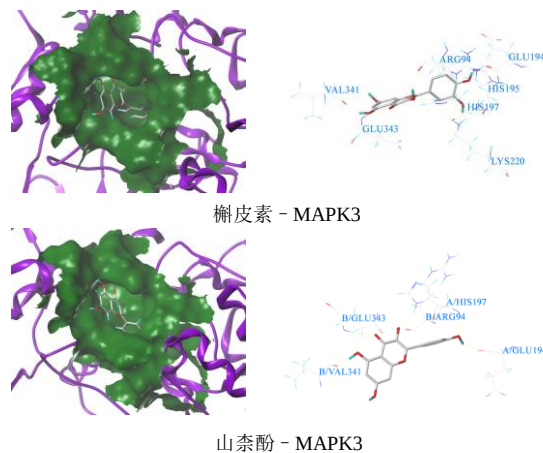


图 8 分子对接示意图

Fig. 8 Diagram of molecular docking

致儿童生长发育障碍，影响患儿正常的社会交往。西医治疗包括补充锌剂、胃动力药、助消化剂和肠道微生态制剂等；中医治疗包括中药汤剂、中成药和推拿、贴敷、捏脊等外治法^[3]。儿脾醒颗粒为贵州专利苗药，依据苗医理论“麦靛麦韦芍素迄，洗

依阶沾；久代阿套穷，加嘎奴，仰溪秀切”立方，可用于治疗脾虚食滞引起的小儿厌食、大便稀溏、消瘦体弱。现代药理学研究表明，方中山楂可增加胃消化酶分泌，从而发挥促消化作用^[11]；鸡内金提取物可明显改善肠道功能^[12]；薏苡仁酶解后能有效调节肠道菌群比例及生长，从而进一步影响胃肠道的生理功能^[13]；茯苓中的主要成分茯苓多糖主要对肠道黏膜免疫系统起作用^[14-15]。

本研究利用网络药理学与分子对接技术，构建了药物-疾病靶点关系网络图、PPI 网络图等，对儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症的作用机制进行了全面预测。儿脾醒颗粒筛选出的 46 个成分中，槲皮素、异鼠李素、 β -谷甾醇、山柰酚等成分在治疗小儿厌食症中发挥重要调控作用。有研究发现槲皮素不仅可显著改善肠上皮细胞通透性，同时具有舒张胃肠平滑肌的作用^[16-17]。另外，槲皮素可调节细胞因子和炎症介质的分泌，增强巨噬细胞功能，从而发挥抗炎作用^[18]，还有研究发现，槲皮素可调控肠道球菌、乳杆菌、双歧杆菌等优势肠道菌，而肠道菌群的代谢产物对异鼠李素苷具有水解、脱羟基和甲基化的作用^[19-20]。研究显示， β -谷甾醇可以增强免疫功能，并改善肠道的氧化状态和形态，从而调节肠道功能^[21]；山柰酚在幽门螺杆菌感染引起的炎症反应中发挥抗炎作用^[22]；精神心理因素是影响消化系统功能的重要因素之一，而山柰酚可显著改善抑郁动物模型的行为^[23]。

本研究共预测出 118 个儿脾醒颗粒与小儿厌食症的共同作用靶点，其中 JUN、RELA、TP53、MAPK3、MAPK14、连环蛋白 $\beta 1$ (CTNNB1)、MAPK1、原癌基因蛋白 c-Fos (FOS)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1 (AKT1)、MYC 原癌基因蛋白 (MYC)、雌激素受体 $\alpha 1$ (ESR1) 等为核心作用靶点。MAPK 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，分布广泛并能够对多种细胞外刺激做出反应。有研究证实，Wnt 信号通路多种组织器官功能相关，而 MAPK 信号传导通过肠道发育过程中各组织间的协调而作为 Wnt 信号传导的关键调节剂^[24-25]。另有研究发现，FOS 信号通路在维持肠道微生物群中发挥重要调节作用^[26]，Aky 又称蛋白激酶 B，是 PI3K/Akt 信号通路中的关键分子^[27]，参与抑制细胞凋亡、细胞增殖、细胞转移等多种生物学过程^[28]。MESR1 对粪便中菌属情况有一定影响^[29]。

研究发现，消化系统功能异常与炎症反应、免

疫等多种生物功能相关，还与微生态、营养物质代谢等密不可分，可通过调控 TNF、白细胞介素 (IL) 等炎症因子的水平，调节肠道对脂肪的吸收及利用，从而改善肠道的免疫及消化功能^[30]。KEGG 富集通路显示，儿脾醒颗粒治疗小儿厌食症主要涉及 HIF-1、IL-17、TNF、PI3K/Akt、AGE-RAGE 等多条生物学信号通路，IL-17 信号通路可增强肠道免疫屏障，并促进宿主菌群相互作用，从而降低全身性炎症的发生，亦有研究表明厌食和体质量减轻的与由内毒素刺激的巨噬细胞分泌的 TNF 的作用有关。PI3K/Akt 信号通路是脑源性神经营养因子 (BDNF)/酪氨酸激酶受体 B (TrkB) 的下游信号通路，该通路介导多种生长因子促存活，是治疗抑郁症的重要级联信号通路^[31-33]，故可能通过参与调节生物精神心理因素发挥治疗小儿厌食症的作用。

分子对接结果表明槲皮素、 β -谷甾醇、山柰酚等与核心靶蛋白 JUN、RELA、MAPK3 等具有很强的结合活性，提示儿脾醒颗粒可能是通过调节这些关键靶点发挥其药理作用的。

综上，本研究通过网络药理学与分子对接技术，初步阐明儿脾醒颗粒多成分-多靶点-多通路作用机制。儿脾醒颗粒主要通过槲皮素、异鼠李素、 β -谷甾醇、山柰酚等成分作用于 JUN、RELA、MAPK、AKT1 等与功能、炎症等相关的靶点，另外，参与 HIF-1、IL-17、TNF、PI3K/Akt 等信号通路等发挥抗炎、调节菌群、抗抑郁等作用以达到治疗目的，改善患儿临床证候。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中华中医药学会. 中医儿科常见病诊疗指南 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 48.
- [2] 王艳, 仲丹丹, 冀晓华, 等. 小儿复方鸡内金咀嚼片治疗小儿厌食症(脾胃不和证)多中心随机双盲对照研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(9): 2298-2303.
- [3] 胡亚美. 诸福棠实用儿科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 1364-1366.
- [4] 马融, 胡思源, 王俊宏, 等. 小儿厌食中药新药临床试验设计与评价技术指南 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(3): 244-250.
- [5] 孙伟丽, 张双. 化积片与儿脾醒颗粒治疗厌食症小儿疗效及对临床症状、血清促食欲激素/瘦素、神经肽 Y 水平的影响 [J]. 首都食品与医药, 2019, 26(19): 67.
- [6] 李佳怡, 李慧, 何婷, 等. 儿脾醒颗粒综合分析与评价报告 [J]. 中国实用医药, 2022, 17(11): 191-196.

- [7] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [8] Wang Z Y, Li S. Network pharmacology in quality control of traditional Chinese medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2022, 14(4): 477-478.
- [9] Zeng L, Yang K, Ge J. Uncovering the pharmacological mechanism of astragalus salvia compound on pregnancy-induced hypertension syndrome by a network pharmacology approach [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 16849.
- [10] 英锡相, 李绍维, 林延会. 山楂叶植物学及化学成分研究近况 [J]. 辽宁中医学院学报, 2001(2): 98-99.
- [11] 林道斌, 杨华, 程亚伟. 基于网络药理学对山楂治疗非酒精性脂肪肝病主要活性成分及潜在靶点分析 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(12): 1787-1794.
- [12] 王春雷, 芦柏震, 侯桂兰. 山楂的化学成分、药理作用及临床应用 [J]. 海峡药学, 2010, 22(3): 75-78.
- [13] 迟玉森, 马成印, 邵允琪, 等. 鸡内金有效成分的提取及其改善肠道保健功能的研究 [J]. 食品工业科技, 1999(4): 23-24.
- [14] 赵婕, 王明力, 汤翠, 等. 薏苡仁功能活性成分的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(18): 374-377.
- [15] 石振国, 苏锦, 任永乐, 等. 茯苓多糖对急性胰腺炎大鼠肠道屏障功能损伤和炎症反应的作用 [J]. 海南医学, 2017, 28(3): 356-359.
- [16] 陈庆. 茯苓质量控制及药理学研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2020, 16(8): 154-157.
- [17] 黄伟锋, 欧阳守, 林燕飞, 等. 槲皮素对胃肠运动的影响及其机制 [J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(18): 1815-1820.
- [18] 刘丽娜, 孙志广, 蔡雪婷, 等. 槲皮素改善 TNF- α 诱导的肠上皮 Caco-2 细胞功能障碍 [J]. 中国药科大学学报, 2012, 43(6): 541-545.
- [19] 倪湾, 李敬双, 于洋. 洋葱槲皮素对脂多糖诱导的小鼠腹腔巨噬细胞炎症反应抑制作用 [J]. 食品工业科技, 2017, 38(23): 284-288.
- [20] Parkar S G, Stevenson D E, Skinner M A. The potential influence of fruit polyphenols on colonic microflora and human gut health [J]. *Int J food Microbiol*, 2008, 124(3): 295-298.
- [21] 林文振, 李坤平, 曾玉冰, 等. UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 分析异鼠李素-3-O- β -D-芸香糖苷大鼠肠道菌群代谢产物的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(20): 140-143.
- [22] Cheng Y, Chen Y, Li J, et al. Dietary β -sitosterol regulates serum lipid level and improves immune function, antioxidant status, and intestinal morphology in broilers [J]. *Poult Sci*, 2020, 99(3): 1400-1408.
- [23] Yeon M J, Lee M H, Kim D H, et al. Anti-inflammatory effects of kaempferol on *Helicobacter pylori*-induced inflammation [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2019, 83(1): 166-173.
- [24] 梁玉雕, 谭友果, 张莎, 等. 山柰酚对慢性应激抑郁模型老年大鼠抑郁样行为的影响及机制研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(24): 4028-4030.
- [25] Wei G, Gao N, Chen J, et al. Erk and MAPK signaling is essential for intestinal development through Wnt pathway modulation [J]. *Development*, 2020, 147(17): dev185678.
- [26] Chen D, Xie R, Shu B, et al. Wnt signaling in bone, kidney, intestine, and adipose tissue and interorgan interaction in aging [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2019, 1442(1): 48-60.
- [27] Miqdady M, Al Mistarihi J, Azaz A, et al. Prebiotics in the infant microbiome: The past, present, and future [J]. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*, 2020, 23(1): 1-14.
- [28] D'Oria R, Laviola L, Giorgino F, et al. PKB/Akt and MAPK/ERK phosphorylation is highly induced by inositols: Novel potential insights in endothelial dysfunction in preeclampsia [J]. *Pregnancy Hypertens*, 2017, 10: 107-112.
- [29] 刘红兵, 张皓渝, 林兆博, 等. PTEN/PI3K/AKT 信号通路系统与胃癌研究进展 [J]. 中国现代普通外科进展, 2020, 23(3): 244-247.
- [30] Javurek A B, Spollen W G, Johnson S A, et al. Consumption of a high-fat diet alters the seminal fluid and gut microbiomes in male mice [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2017, 29(8): 1602-1612.
- [31] 白辰, 刘铁钢, 郑子安, 等. 基于数据挖掘和网络药理学的儿童食积胃肠积热证组方用药规律及作用机制分析 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(5): 1966-1973.
- [32] Pazini F L, Cunha M P, Rosa J M, et al. Creatine, similar to ketamine, counteracts depressive-like behavior induced by corticosterone via PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(10): 6818-6834.
- [33] Li N, Lee B, Liu R J, et al. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists [J]. *Science*, 2010, 329(5994): 959-964.
- [34] Duman R S, Voleti B. Signaling pathways underlying the pathophysiology and treatment of depression: Novel mechanisms for rapid-acting agents [J]. *Trend Neurosci*, 2012, 35(1): 47-56.

[责任编辑 高源]