

基于网络药理学和分子对接探讨石榴皮治疗腹泻的作用机制

卢永慧^{1,2}, 张立华^{1,2*}, 王京龙^{1,2}, 张肖^{1,2}, 刘婧^{1,2}, 刘雪^{2,3}, 高丽丽^{1,2}

1. 山东中医药大学 药学院, 山东 济南 250355

2. 枣庄学院 食品科学与制药工程学院, 山东 枣庄 277160

3. 石河子大学 生命科学学院, 新疆 石河子 832061

摘要: **目的** 基于网络药理学结合分子对接技术探究石榴皮治疗腹泻的作用机制。**方法** 通过 TCMSp 数据库获取石榴皮的活性成分和潜在作用靶点; GeneCards、OMIM、DisGeNET 数据库进行检索获得腹泻的潜在作用靶点, 筛选两者交集靶点; 应用 Cytoscape 软件构建蛋白相互作用 (PPI) 图并筛选核心靶点。通过 DAVID 数据库进行基因本体 (GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析, 最后采用 AutoDock 软件进行分子对接验证。**结果** 获得 7 个石榴皮主要化学成分, 石榴皮与腹泻共同靶点 114 个。PPI 分析显示, 肿瘤抗原 p53 (TP53)、蛋白激酶 B1 (Akt1)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素-6 (IL-6)、胱天蛋白酶 33 (CASP) 等可能为治疗关键靶点。通过 KEGG 分析表明, 石榴皮可能通过癌症通路、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) /Akt 信号通路等起到治疗腹泻的作用。分子对接表明关键活性成分与核心靶点均可自发结合。**结论** 通过网络药理学和分子对接技术揭示石榴皮可以通过多成分、多靶点、多途径治疗腹泻, 为后续研究提供理论依据。

关键词: 石榴皮; 腹泻; 网络药理学; 分子对接; 鞣花酸; β -谷甾醇; 磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B1 信号通路

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2023)10-2436-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.10.008

Mechanism of pomegranate peel in treatment of diarrhea based on network pharmacology and molecular docking

LU Yong-hui^{1,2}, ZHANG Li-hua^{1,2}, WANG Jing-long^{1,2}, ZHANG Xiao^{1,2}, LIU Jing^{1,2}, LIU Xue^{2,3}, GAO Li-li^{1,2}

1. College of Pharmaceutical Sciences, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. College of Food Science and Pharmaceutical Engineering, Zaozhuang University, Zaozhuang 277160, China

3. College of Life Sciences, Shihezi University, Shihezi 832061, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of pomegranate peel in treatment of diarrhea based on network pharmacology and molecular docking technology. **Methods** The active chemical components of pomegranate peel and the corresponding targets were obtained from TCMSp databases, and the disease targets of diarrhea were retrieved using GeneCards, OMIM, and DisGeNET database, following by filtering the intersection of the two. Cytoscape 3.9.1 software was used to construct the PPI network of the intersection targets and screen the core targets. DAVID database was used for gene ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis of potential targets of pomegranate peel in treatment of diarrhea, and AutoDock software was used for further verified by molecular docking. **Results** 7 Main chemical constituents of pomegranate peel were screened out, and 114 intersection targets between pomegranate peel and diarrhea were obtained. Topology analysis of PPI network showed that pomegranate peel alleviated diarrhea mainly acting the core targets TP53, Akt1, TNF, IL-6, CASP3, etc. The KEGG enrichment analysis showed that pomegranate peel might play a therapeutic role through the cancer pathway, PI3K/Akt signaling pathway, and so on. Molecular docking showed that the key active ingredients and the core targets could all bind spontaneously. **Conclusion** Network pharmacology combined with molecular docking proved that pomegranate peel could treat diarrhea through multi-component, multi-target and multi-pathway, which provides theoretical basis for its further in-depth research.

Key words: pomegranate peel; diarrhea; network pharmacology; molecular docking; ellagic acid; β -sitosterol; PI3K/Akt signaling pathway

收稿日期: 2023-08-20

基金项目: 山东省重点研发计划项目 (2022TZXD0019)

作者简介: 卢永慧, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为中药学。E-mail: 2022110286@sdutcm.edu.cn

*通信作者: 张立华, 男, 博士, 教授。E-mail: chinazhanglh@163.com

腹泻是临床上常见的消化道疾病，以大便频率增加，大便疏松或水样为主要临床特征^[1]。腹泻会降低患者生活质量，严重者危及生命。腹泻致使机体丢失大量体液，引起脱水和电解质平衡紊乱，发病机制复杂多样，可能是肠道吸收减少、渗透性活性电解质分泌增加、胃肠道快速转运等引起的^[2]。目前虽然有较多的抗腹泻药物，但由于安全性和可获得性^[3]，世界卫生组织（WHO）仍然鼓励寻找抗腹泻的传统草药^[4]。近年来，随着中医药在实验与临床方面研究的深入，发现中药在腹泻领域的治疗有独特功效，一些中药对腹泻的治疗效果优于西药，且不良反应少，具有明显优势^[5]。

腹泻在中医理论中统归于“泄泻”范畴，多与脾胃运化功能失职、湿邪内胜有关^[6]，《景岳全书·泄泻》中有“泄泻之本，无不由于脾胃”的观点。中医研究发现，泄泻多由脾胃寒虚、饮食不洁、外感六邪、情志不畅等病因伤及肠道所致^[7]，临床常采用常健脾化湿法治疗。石榴皮性酸、涩，温，具有涩肠止泻的作用，常用于久泻，久痢，便血，脱肛等^[8]。其药用历史悠久，《本草纲目》记载：“止泻痢，下血脱肛”，《名医别录》有“止下痢漏精”，《滇南本草》云石榴皮“治日久水泻”。现代研究发现，石榴皮有效成分主要包括多酚类化合物、黄酮类化合物、生物碱等^[9-10]，这些成分具有抗氧化、抗癌、抗炎、抗菌、保护心血管等作用^[11]。目前关于石榴皮治疗腹泻的作用机制尚不明确，相关研究较少。

网络药理学是一门基于构建疾病-表型-基因-药物多层网络的新型学科，结合计算机软件、系统生物学等技术，预测和识别药物活性成分与疾病的核心生物靶点，揭示药物对疾病的主要生物学过程和信号通路，进而以整体视角预测药物靶点，从而提高新药临床试验的成功率^[12-13]，为中医药研究提供新的方法。分子对接是基于结构生物学原理，使用计算机技术研究靶点蛋白受体和药物小分子配体的结合位点和亲和力的一种理论模拟方法，可以作为网络药理学的进一步验证，二者可以互补地用于中药研究，为活性化合物的筛选和机制探索提供新的见解。本研究利用网络药理学方法从蛋白相互作用（PPI）和信号通路的角度探讨石榴皮防治腹泻的潜在靶点和通路，并使用分子对接验证活性成分与关键靶点的结合度，进一步验证其防治腹泻的作用机制以及预测靶点的准确性，旨在揭示石榴皮防治腹泻的作用机制，以期为后续石榴皮的研究

提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 石榴皮活性成分及靶点筛选

在中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP）检索石榴皮主要成分，根据中药成分药代动力学（ADME）参数，设置生物利用度（OB） $\geq 30\%$ ，类药性（DL） ≥ 0.18 为筛选条件^[14]，获得石榴皮活性成分和靶点信息。将获得的靶点名在 Uniprot 数据库中进行基因映射，得到相应靶点的标准基因名称，并对其进行整合，到石榴皮的活性成分和潜在作用靶点。

1.2 石榴皮治疗腹泻的作用靶点筛选

以“diarrhea”为关键词在 GeneCards、DisGeNE、OMIM 数据库中获取疾病靶点，将各个数据库得到的靶点进行汇总、去重后取交集。绘制石榴皮作用靶点与腹泻相关靶点的韦恩图，得到疾病-药物共同靶点，这些共同靶点认为是石榴皮治疗腹泻可能的关键靶点，使用 Cytoscape 3.9.1 软件构建“石榴皮-共同靶点-腹泻”网络图。

1.3 PPI 网络的构建及分析

将石榴皮与腹泻的共同靶基因导入 String 数据库中，以置信度（confidence） > 0.7 作为过滤器，构建 PPI 网络，去除游离节点导入 Cytoscape 3.9.1 进行可视化分析，利用 Cyto NCA 插件进行网络评估分析，根据节点 degree 值和中介性值筛选石榴皮治疗腹泻的核心靶点。

1.4 基因本体（GO）功能和京都基因与基因组百科全书（KEGG）通路富集分析

将石榴皮与腹泻共同靶点导入 David 数据库，进行 GO 和 KEGG 信号通路分析。选取 GO 富集分析生物过程（BP）、细胞组成（CC）及分子功能（MF）各前 10 条，KEGG 信号通路前 20 条利用微生信在线工具进行可视化分析。

1.5 构建“活性成分-靶点-通路”网络

使用 Cytoscape 3.9.1 软件构建“活性成分-靶点-通路”网络关系图。

1.6 分子对接验证

在 PPI 网络中选取前 10 个关键靶点和石榴皮活性成分进行分子对接。在 TCMSP 数据库中导出石榴皮对腹泻调控网络中筛选出的关键化合物的 mol2 格式分子结构文件，使用 Auto Dock Tools 对活性成分处理后保存为 pdbqt 格式文件。在 PDB 数据库中下载核心靶点蛋白 3D 结构，使用 Pymol 和

Auto Dock Tools 软件对蛋白质受体处理，保存为 pdbqt 格式文件。使用 Auto Dock Tools 软件进行虚拟对接，选择结合能最低的模型用 Pymol 软件对结果进行可视化展示。

2 结果

2.1 石榴皮活性成分和潜在靶点预测

共检索到石榴皮主要成分 26 个，主要包括鞣质类和黄酮类等。以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 作为筛选指标，获得 7 种符合条件的主要活性成分为鞣花酸、 β -谷甾醇、山柰酚、儿茶素、木犀草素、鄂贝新醇、槲皮素，见表 1。通过基因映射之后共获得对应靶点 339 个，去重后得到靶点 194 个。

表 1 石榴皮活性成分

Table 1 Active compounds of pomegranate peel

Mol ID	有效成分	OB/%	DL
MOL001002	鞣花酸 (ellagic acid)	43.06	0.43
MOL000358	β -谷甾醇 (β -sitosterol)	36.91	0.75
MOL000422	山柰酚 (kaempferol)	41.88	0.24
MOL000492	(+)-儿茶素 ((+)-catechin)	54.83	0.24
MOL000006	木犀草素 (luteolin)	36.16	0.25
MOL009274	鄂贝新醇 (fritillaziebinol)	55.05	0.34
MOL000098	槲皮素 (quercetin)	46.43	0.28

2.2 石榴皮防治腹泻的潜在作用靶点

使用 OMIM、DisGeNET、GeneCards 数据库分别检索腹泻潜在靶点，经过整合去重后共得到靶点个 2 663 个。将药物靶点与疾病靶点采用 Venny 2.1.0 进行可视化处理 (图 1)，共得到 114 个共同作用的交集靶点，作为石榴皮防治腹泻的潜在作用靶点。构建“石榴皮 - 共同靶点 - 腹泻”关系网络 (图 2)，结果显示，该网络共有 133 个节点、262 条边。

2.3 PPI 网络的构建与分析

将交集靶点导入 STRING 数据库中，设置 High Confidence 参数为 0.700 并隐藏离散靶点，得到如图 3 所示的 PPI 网络图，共含有 783 条边，平均节

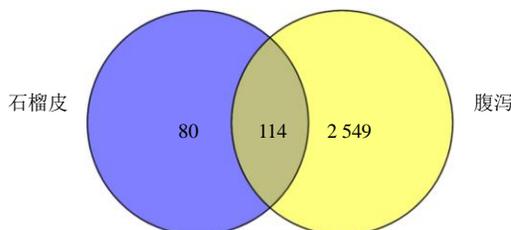


图 1 石榴皮与腹泻交集靶点 Venn 图

Fig. 1 Venn diagram of intersection targets between pomegranate peel and diarrhea

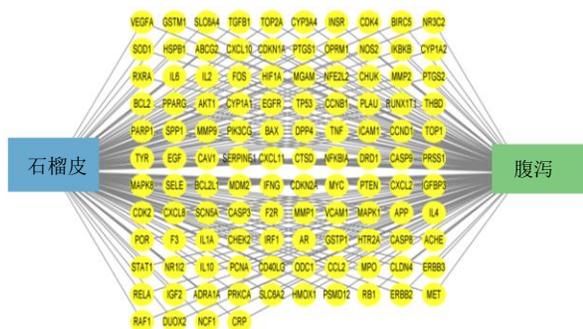


图 2 石榴皮与腹泻交集靶点的网络图

Fig. 2 Network diagram of intersection targets between pomegranate peel and diarrhea

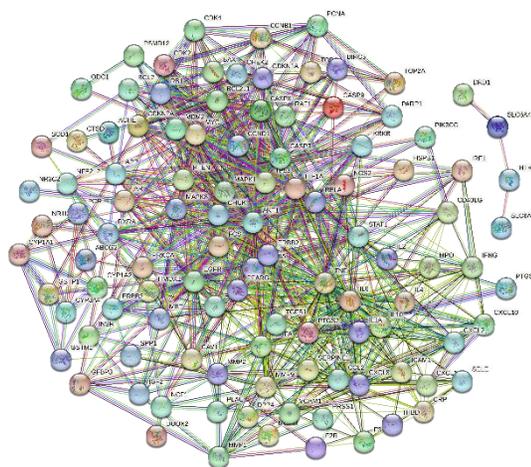


图 3 石榴皮治疗腹泻潜在靶点的 PPI 网络图

Fig. 3 PPI network of potential targets of pomegranate peel for treating diarrhea

点度数 13.7，将信息导入到 Cytoscape 3.9.1 进行可视化分析 (图 4)，去除游离靶点得到相互关节点 104 个。根据 2 倍中位数法筛选石榴皮作用于腹泻的核心靶点，共得到 degree 值 ≥ 20 、介度中心性 (BC) ≥ 188 、接近中心性 (CC) ≥ 0.51 的靶点蛋白共 19 个，见表 2。其中，degree 值排名前 10 位的靶点是细胞肿瘤抗原 p53 (TP53)、蛋白激酶 B1 (Akt1)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素-6 (IL-6)、胱天蛋白酶 33 (CASP)、表皮生长因子受体 (EGFR)、V-Rel 网状内皮增生病毒癌基因同源物 A (RELA)、血管内皮细胞生长因子受体 A (VEGFA)、Myc 原癌基因蛋白 (MYC)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)。

2.4 GO 功能富集分析与 KEGG 通路分析

利用 DAVID 数据库^[15]分析交集靶点，得到 GO 功能和 KEGG 通路富集分析数据。共得到 837 个 GO 功能富集分析相关条目，按照 $P < 0.05$ 筛选共

得到有统计学意义条目 671 个，其中包括 BP 条目 508 个，CC 条目 61 个和 MF 条目 102 个，根据 P 值，分别取前 10 项进行可视化展示（图 5）。

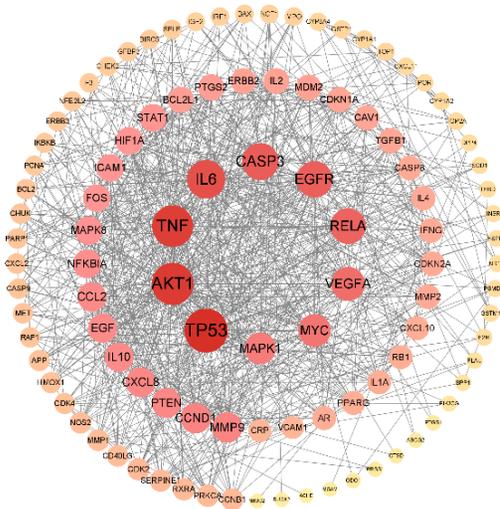


图 4 交集靶点的 PPI 网络可视化图

Fig. 4 Visualization of PPI networks at intersecting targets

表 2 核心靶点

Table 2 Key targets

靶点	degree 值	介度中心性	接近中心性
TP53	51	1 360.75	0.64
Akt1	48	931.69	0.63
TNF	47	741.13	0.62
IL-6	42	458.38	0.59
CASP3	39	477.77	0.59
EGFR	38	666.60	0.59
RELA	37	461.34	0.57
VEGFA	34	417.91	0.57
MYC	32	349.96	0.56
MAPK1	30	251.76	0.55
MMP9	28	456.76	0.55
CCND1	28	193.64	0.54
PTEN	27	214.93	0.53
CXCL8	27	208.42	0.52
EGF	26	207.96	0.55
NFKBIA	25	290.54	0.54
MAPK8	24	248.03	0.54
FOS	23	221.72	0.53
PTGS2	21	228.58	0.53

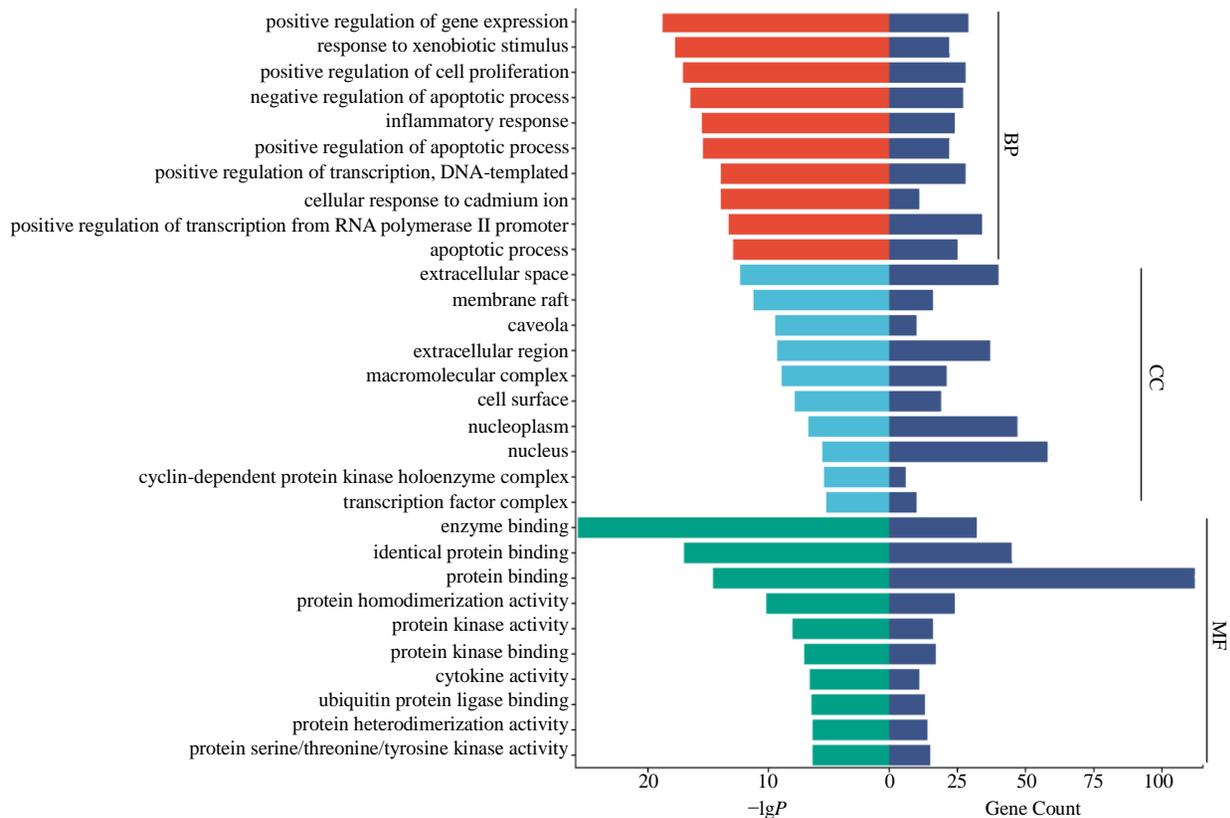


图 5 GO 富集分析图

Fig. 5 GO enrichment analysis diagram

结果显示，BP 主要涉及基因表达的正向调控、对外来生物刺激的反应、对细胞增殖的正调控、凋亡过

程的负调控、炎症反应等，CC 包括细胞外隙、膜筏、胞外区、高分子复合物、细胞表面等，MF 涉及

酶结合位点、蛋白质结合、蛋白质的同质化活性、蛋白激酶活性、细胞因子活性等。根据 $P < 0.05$ 筛选 KEGG 富集分析结果，共得到 150 条信号通路，按照 count 值，选取前 20 条通路进行可视化处理，得到如图 6 所示气泡图。KEGG 富集数据展示了石榴皮在治疗腹泻中的重要因素。其中，主要相关的作用通路包括癌症通路、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) -Akt 信号通路、血脂与动脉粥样硬化、乙型肝炎、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、人巨细胞病毒感染、丙型肝炎、人类 T 细胞白血病病毒 1 感染、糖尿病并发症中的晚期糖基化终末化产物-晚期糖基化终末产物受体 (AGE-RAGE) 信号通路、MAPK 信号传导等。

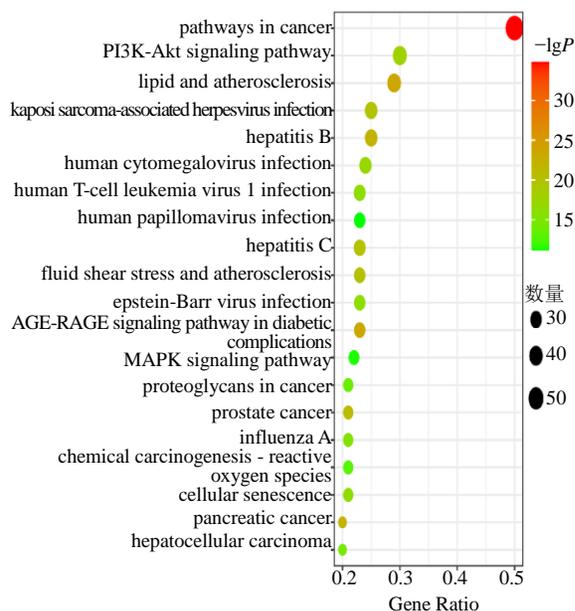


图 6 KEGG 富集分析
Fig. 6 KEGG enrichment analysis

2.5 “药物 - 活性成分 - 靶点 - 通路 - 疾病”网络
为了进一步研究石榴皮、核心靶点、信号通路及腹泻之间的相互关系，将筛选得到的 7 种活性成分、19 个核心靶点和前 20 条信号通路导入 Cytoscape 软件，构建“活性成分 - 核心靶点 - 信号通路”网络图 (图 7)。图中菱形代表石榴皮，V 型代表腹泻，正方形代表活性成分，圆形代表核心靶点，三角形代表相关信号通路，连线表明各点之间的作用关系，线条的数量与作用关系呈正相关^[16]。表明石榴皮治疗腹泻有多个治疗靶点，同一靶点可调节多个信号通路，体现了石榴皮多靶点、多信号通路协同治疗腹泻。

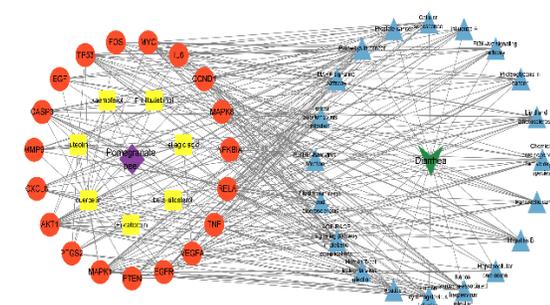


图 7 “活性成分 - 靶点 - 通路”网络图
Fig. 7 Network diagram of “active components - targets - pathways”

2.6 分子对接结果

为证明靶点蛋白与石榴皮活性成分间的结合活性，利用 Auto Dock 对 7 个关键成分与核心靶点进行分子对接。Auto Dock Vina 的结果能值越低，表明受体和配体亲和力越高，对接活性越大，两者的结合效果越好。一般认为，结合能 < 0 小分子与对接蛋白在自然状态下可自发结合，当结合能分别小于 -4.25 、 -5.0 、 -7.0 kcal/mol ($1 \text{ cal} = 4.4 \text{ J}$) 时，表明活性成分与作用靶点之间具有一定、良好或较强的结合活性^[4]，反映了受体与配体结合的可能性。结果显示关键成分和前 10 位核心靶点均能够在自然状态下自发结合 (表 3)，其中 TP53、Akt1、EGFR、RELA 与石榴皮所有关键成分结合分数均小于 -5.0 kcal/mol，表明石榴皮关键成分、腹泻核心靶点结合能力良好，能够改善或治疗腹泻。其中鞣花酸、 β -谷甾醇、木犀草素、鄂贝新醇结合性能更好，选取部分结果利用 PyMol 软件进行处理，见图 8。

3 讨论

腹泻病发病率高，是世界性公共卫生问题，同时也是我国重点防治疾病之一，严重时会导致人死亡，尤其是对于 5 岁以下儿童及 70 岁以上的成年人。有研究统计 5 岁以下儿童死亡有 9% 是由于腹泻导致的^[17]，尽管近几十年来在降低腹泻死亡率方面取得了重大进展，但仍然存在一些挑战。腹泻是由多病原、多因素引起，发生和发展过程与多种途径有关。中药由多种化合物组成，具有多靶点、多途径的特点，具有广泛药理活性，这可能有利于腹泻的治疗^[18]。本研究采用网络药理学的方法，基于“疾病 - 基因 - 靶点 - 药物”思路以探究石榴皮治疗腹泻的分子作用机制，为下一步的研究进行前期准备工作。

通过网络药理学分析，发现鞣花酸、 β -谷甾醇、

表 3 石榴皮活性成分与关键靶点分子对接结果

Table 3 Molecular docking results of pomegranate peel active components and key targets

有效成分	结合能/(kcal·mol ⁻¹)									
	TP53	Akt1	TNF	IL-6	CASP3	EGFR	RELA	VEGFA	MYC	MAPK1
鞣花酸	-7.04	-5.94	-5.87	-5.58	-5.79	-5.60	-5.25	-4.80	-4.36	-5.60
β-谷甾醇	-5.85	-7.17	-6.82	-6.67	-6.25	-6.65	-6.71	-5.61	-5.44	-5.68
山柰酚	-5.26	-5.33	-4.79	-4.99	-4.98	-6.94	-5.38	-5.50	-4.21	-4.02
(+)-儿茶素	-5.75	-5.44	-5.55	-4.52	-4.84	-5.55	-5.26	-4.15	-4.10	-4.73
木犀草素	-6.28	-5.61	-5.70	-5.32	-5.30	-6.63	-5.22	-4.84	-5.04	-4.47
鄂贝新醇	-6.21	-7.05	-6.84	-5.99	-6.38	-6.82	-6.56	-5.59	-5.65	-6.06
槲皮素	-5.56	-5.80	-4.21	-4.94	-4.72	-5.09	-5.63	-4.71	-3.84	-3.70

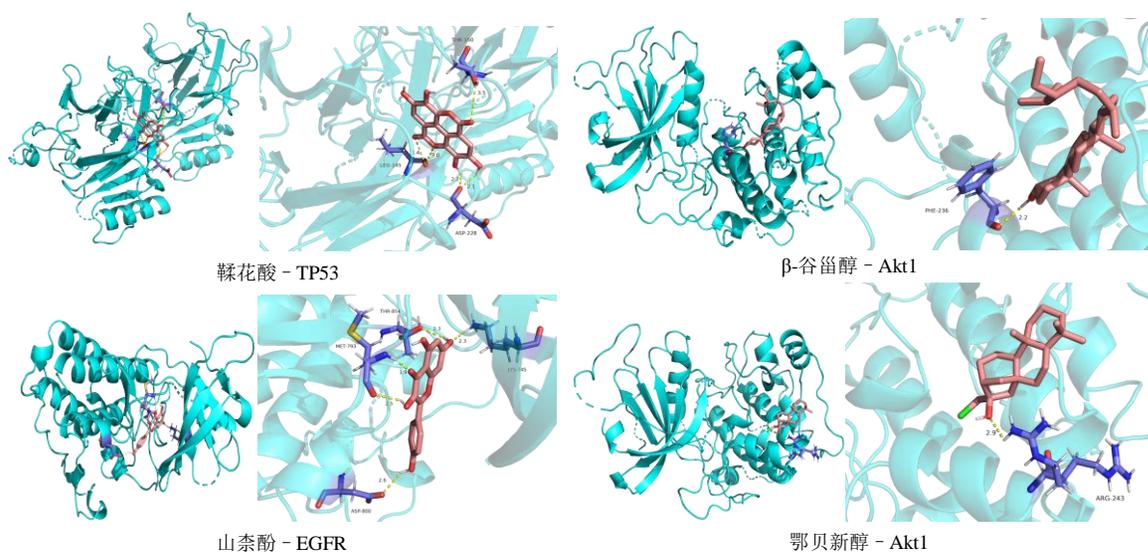


图 8 石榴皮活性成分与腹泻关键靶点的分子对接图

Fig. 8 Molecular docking diagram of pomegranate peel active components and key targets

山柰酚、儿茶素、木犀草素、鄂贝新醇和槲皮素都是石榴皮的潜在作用成分。鞣花酸是天然多酚化合物，广泛应用于抗炎、抗菌、抗病毒、调节免疫疾病等^[19]。多项研究表明，鞣花酸具有抗腹泻作用^[20]，其对小肠上皮细胞具有保护作用^[21]，对小鼠的结肠和肝脏组织具有改善作用，能缓解炎症程度和组织学损伤^[22]，促进肠道内容物中营养物质的吸收，且能促进丁酸弧菌、粪球菌属、产丁酸杆菌属，等肠道潜在益生菌生长^[23]。槲皮素、山柰酚和木犀草素属于黄酮类化合物，具有抑菌、抗炎、抗病毒等药理活性。研究表明槲皮素可以降低 IL-1 β 和炎症评分^[24]，通过抑制肿瘤细胞坏死因子- α (TNF- α) 和白细胞介素-1 β (IL-1 β) 等细胞因子的产生以及核因子- κ B (NF- κ B) 通路的调节参与抗炎作用^[25]，能抑制

离体回肠的收缩、毛细血管的通透性以及小肠的推进功能从而达到止泻的作用^[26]；槲皮素不仅有较强的抗炎作用，而且有较强的抑菌作用，槲皮素可以通过抑制乳杆菌、抑制肠球菌、增加双歧杆菌调节小鼠肠道菌群的状态，抑制鸡肠道大肠杆菌生长^[27]。研究发现山柰酚可通过抑制 NF- κ B 和转录因子 AP-1 的类固醇受体共激活因子 (Src)、脾酪氨酸激酶 (Syk) 和白细胞介素-1 受体相关激酶 (IRAK4) 炎症信号元件信号通路减少机体炎症^[28]，可以在刺激磷蛋白的磷酸化水平的同时抑制 MAPK/细胞外信号调节激酶通路，从而增加黏附连接的表达来降低兼性厌氧菌和肠道炎症，改善肠道肠道上皮的屏障损伤^[29]。木犀草素能通过抑制细胞凋亡和减少促炎症因子的分泌，发挥体外抗肠道病毒作用^[30]；能保

护细胞活力, 下调炎症因子 IL-6 与 TNF- α 的基因与蛋白表达水平, 调控 Toll 样受体 4 (TLR4) /NF- κ B 信号通路从而发挥保护肠黏膜屏障功能^[31]; 还具有较好的抗金黄色葡萄球菌、革兰菌的作用, 从而发挥抑制肠道细菌的作用^[32]。这些天然活性化合物通过多种途径作用于胃肠, 其中包括许多相似作用, 也存在结构的差异, 可能是不同成分作用于相似通路的不同靶点上, 发挥潜在的协同作用。

通过筛选得到石榴皮作用靶点 194 个, 腹泻相关疾病靶点 2 663 个, 交集后得到 114 个抗腹泻的潜在靶点, 通过构建“石榴皮-共同靶点-疾病”网络, 揭示了石榴皮治疗腹泻的分子机制; 通过 PPI 网络预测石榴皮治疗腹泻的关键靶点, PPI 网络分析发现石榴皮可能通过调控 TP53、Akt1、TNF、IL-6、CASP3、EGFR 等靶蛋白, 直接或间接参与细胞炎症、细胞增殖与凋亡、氧化应激等过程, 发挥治疗腹泻作用, 体现出了中药治疗的多靶点特点。研究显示, 石榴皮作用于腹泻的过程主要包括基因表达的正向调控、炎症反应、对外来生物刺激的反应、对细胞增殖的正调控、凋亡过程的负调控等; 石榴皮治疗腹泻可能涉及 PI3K/Akt、癌症、脂质与动脉粥样硬化、病毒感染、MAPK 信号传导、细胞衰老等信号通路。有研究表明 PI3K-Akt 信号通路是与腹泻相关的重要通路, 其参与炎症反应、细胞增殖凋亡及骨代谢异常等过程。PI3K/Akt 活化可以激活 NF- κ B 从而促进炎症相关物质的生成, 抑制 PI3K/Akt 信号通路减轻肠道炎症反应, 从而保护肠道黏膜。核心蛋白与核心活性成分分子对接的结合均能 < 0 , 表明其在自然状态下可自发结合, 大多结合能 ≤ -5 kcal/mol, 表示石榴皮核心化合物与核心受体蛋白有良好的结合活性, 可起到治疗腹泻的作用, 其中 TP53、Akt1、EGFR、RELA 与活性成分对接结果较好, 提示 TP53、AKT1、EGFR、RELA 可能与腹泻有一定联系。

有研究表明, 安石榴苷、安石榴林可以通过促进视黄醇的代谢, 恢复肠上皮细胞之间的紧密连接, 修复受损的肠黏膜屏障, 降低肠道通透性来发挥抗腹泻作用, 且安石榴苷能够促进维生素的消化和吸收对腹泻起到的影响作用^[33]。许萍等^[34]研究表明安石榴苷能改善小鼠的肠道菌群结构, 减轻小鼠肠壁的炎症反应, 保护肠壁屏障功能。腹泻的主要原因是传染性的, 包括产生肠毒素的细菌、病毒、肠侵入性细菌、寄生虫等, 由于腹泻病因的特殊性,

某些物质可能不通过肠道吸收也可以起到抗腹泻的作用。安石榴苷和安石榴林属于单宁类物质, 口服吸收生物利用度低。单宁具有广谱抑菌性, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、霍乱弧菌、伤寒沙门氏菌、芽孢杆菌等均具有抑制作用, 其作用机制与形成螯合物阻碍细菌摄取从而阻止其增殖、抑制胞外酶活性、破坏细菌细胞壁结构、抑制细菌生物膜的形成等有关, 与体内吸收关系较小^[35]。因此在网络药理学研究中只基于生物利用度和类药性挑选活性成分, 存在局限性, 研究中还需要加强数据库和平台建设, 不断扩充数据, 保证数据的完整性。

综上所述, 石榴皮可能通过鞣质类和黄酮类有效成分与 TP53、Akt1、EGFR、RELA、IL-6、MAPK1 等蛋白结合, 调控 PI3K/Akt、MAPK 等信号通路, 参与细胞炎症、细胞增殖与凋亡、氧化应激等过程, 从而减少炎症反应、增强肠屏障功能、调节肠道菌群、提高免疫力治疗腹泻。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhu J, Liu S, Guo Y, et al. A new model of diarrhea with spleen-kidney Yang deficiency syndrome [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018: 4280343.
- [2] 李哲, 李娜, 崔晓燕, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨陈皮藿香汤治疗腹泻的作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(23): 79-86.
- [3] Gong X P, Sun Y Y, Chen W, et al. Anti-diarrheal and anti-inflammatory activities of aqueous extract of the aerial part of *Rubia cordifolia* [J]. *BMC Complem Altern Med*, 2017, 17(1): 20.
- [4] Kosek M, Bern C, Guerrant RL. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000 [J]. *B World Health Organ*, 2003, 81(3): 197-204.
- [5] 陈影, 李硕, 苏萍, 等. 中药抗腹泻的药效作用及机制研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(21): 203-211.
- [6] 杨通通, 徐艺. 单兆伟教授治疗泄泻临证经验 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2022, 46(5): 519-521.
- [7] 丛霞, 董雪, 任劲松, 等. 丁桂儿脐贴联合蒙脱石散治疗腹泻患儿的效果及对肠道菌群的影响 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2023, 31(4): 279-284.
- [8] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 97.
- [9] Mo Y, Ma J, Gao W, et al. Pomegranate peel as a source of bioactive compounds: A mini review on their physiological functions [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 887113.
- [10] Xiang Q, Li M, Wen J, et al. The bioactivity and

- applications of pomegranate peel extract: A review [J]. *J Food Biochem*, 2022, 46(7): e14105.
- [11] 唐荣, 魏欣, 马江, 等. 基于 CiteSpace 科学知识图谱分析石榴皮研究现状及热点 [J]. *中草药*, 2023, 54(12): 3949-3961
- [12] Yuan Z, Pan Y, Leng T, *et al*. Progress and prospects of research ideas and methods in the network pharmacology of traditional Chinese medicine [J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2022, 25: 218- 226.
- [13] 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.
- [14] 范高福, 胥振国, 戴若萌, 等. 基于网络药理学研究石榴皮抗菌作用机制 [J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(1): 48-54.
- [15] Sherman B T, Hao M, Qiu J, *et al*. DAVID: A web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update) [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(W1): W216-W221.
- [16] 王冰, 王兰, 秦向阳. 基于网络药理学和分子对接技术的含笑内酯缓解痛风性关节炎作用机制研究 [J]. *陕西科技大学学报*, 2023, 41(2): 59-67.
- [17] Emerson E, Savage A. Acute respiratory infection, diarrhoea and fever in young children at-risk of intellectual disability in 24 low- and middle-income countries [J]. *Public Health*, 2017, 142: 85-93.
- [18] 李涛, 谢慧春, 于伟, 等. 羌活提取物的抗腹泻作用 [J]. *陕西师范大学学报: 自然科学版*, 2014, 42(5): 60-64.
- [19] 陈玫伶, 勾玲, 卢海啸. 鞣花酸药理作用研究进展 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2023, 25(1): 196-202.
- [20] Chen J, Yang H, Sheng Z. Ellagic acid activated PPAR signaling pathway to protect ileums against castor oil-induced diarrhea in mice: Application of transcriptome analysis in drug screening [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 10: 1681.
- [21] 欧正阳, 郑进萍, 李若南, 等. 鞣花酸对肠道上皮细胞凋亡及相关蛋白 Bcl-2、Bax、cle-Caspase-3 表达的影响 [J]. *家畜生态学报*, 2022, 43(5): 18-22.
- [22] 郑志, 姜林娟, 朱瑜, 等. 鞣花酸对 DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠的改善及对 COX2/p38/JNK/ERK/I κ B- α /NF- κ B 和 iNOS/3-NT/CYP2E1 信号通路的作用 [J]. *食品与药品*, 2022, 24(4): 295-300.
- [23] 邓宇, 杨诗颖, 洗文妍, 等. 鞣花酸在 UM-A 型人肠道菌群中体外转化及对肠道菌群的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(2): 34-40.
- [24] Dower J I, Geleijnse J M, Gijsbers L, *et al*. Supplementation of the pure flavonoids epicatechin and quercetin affects some biomarkers of endothelial dysfunction and inflammation in (Pre) hypertensive adults: A randomized double-blind, placebo-controlled, crossover trial [J]. *J Nutr*, 2015, 145(7): 1459-1463.
- [25] Ji C, Xu Y, Han F, *et al*. Quercetin alleviates thermal and cold hyperalgesia in a rat neuropathic pain model by inhibiting Toll-like receptor signaling [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94: 652-658.
- [26] 张文举, 陈宝田, 王彩云, 等. 槲皮素止泻机制研究 [J]. *第一军医大学学报*, 2003(10): 1029-1031.
- [27] 冯春驰, 陈玩珊, 刘盛国, 等. 基于网络药理学和分子对接技术探讨参苓白术散治疗抗生素相关性腹泻的分子作用机制 [J]. *中医临床研究*, 2023, 15(13): 1-10.
- [28] Kim S H, Park J G, Sung G H, *et al*. Kaempferol, a dietary flavonoid, ameliorates acute inflammatory and nociceptive symptoms in gastritis, pancreatitis, and abdominal pain [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2015, 59(7): 1400-1405.
- [29] 王晓杰. 山柰酚对脱氧雪腐镰刀菌烯醇致肠道屏障损伤的预防作用及机制 [D]. 无锡: 江南大学, 2021.
- [30] 严小勇, 李祥, 王晓丽, 等. 木犀草素对肠道病毒 71 型感染细胞的影响 [J]. *江苏大学学报: 医学版*, 2016, 26(6):488-491.
- [31] 王碧莹. 木犀草素对 LPS 诱导的 IEC-6 细胞损伤的保护机制及其在杨树花中提取与富集工艺的研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019.
- [32] Niculae M, Hanganu D, Oniga I, *et al*. Phytochemical profile and antimicrobial potential of extracts obtained from *Thymus marschallianus* Willd [J]. *Molecules*, 2019, 24(17): 3101.
- [33] 李佳璇. 石榴皮有效成分抗腹泻的转录组学研究及其提取工艺的优化 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2021.
- [34] 许萍, 杨成武, 黄淑芸, 等. 安石榴苷基于调整肠道菌群改善 APP/PS1 阿尔兹海默病小鼠认知功能的实验研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38(18): 2181-2186.
- [35] 邱建强, 黄文, 王玉玺, 等. 单宁对动物肠道微生物调控的研究进展 [J]. *动物营养学报*, 2023, 35(2): 772-781.

[责任编辑 高源]