

中图分类号: R932; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)05-0072-08
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.05.017



小儿黄龙颗粒治疗注意缺陷多动障碍的网络药理学和分子对接研究

韦春香¹, 郑义翔², 周雪¹, 刁俊林^{1△}

(1. 重庆市精神卫生中心, 重庆 401147; 2. 西南大学医学研究院, 重庆 400715)

摘要:目的 探讨基于网络药理学和分子对接技术的小儿黄龙颗粒治疗注意缺陷多动障碍(ADHD)的作用机制。方法 计算机检索TCMSP数据库,筛选小儿黄龙颗粒的活性成分和对应靶点;检索 DisGeNET, GeneCards, TTD, DrugBank, ADHDgene 数据库,筛选 ADHD 相关靶点;利用 Venny 2.1 平台对小儿黄龙颗粒活性成分靶点与 ADHD 靶点取交集,获取共有靶点即为小儿黄龙颗粒治疗 ADHD 的潜在作用靶点。利用 String 数据库构建小儿黄龙颗粒治疗 ADHD 潜在作用靶点的蛋白互作网络(PPI),采用 Cytoscape 3.8.0 软件分析网络中的核心靶点。采用 Metascape 数据库进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析。采用 AutoDockTools 1.5.6 软件进行分子对接研究,以结合能 < -4.25 kcal/mol 为受体、配体间有一定的结合活性。结果 共获得小儿黄龙颗粒的活性成分 47 种,靶点 163 个; ADHD 靶点 1 115 个;小儿黄龙颗粒治疗 ADHD 的潜在作用靶点 55 个。豆甾醇、7-甲氧基-2-甲基异黄酮、山柰酚、 β -谷甾醇、木犀草素是小儿黄龙颗粒治疗 ADHD 的关键成分。PPI 分析结果显示,白细胞介素 6 (IL-6)、蛋白激酶 1 (AKT1)、雌激素受体 1 (ESR1)、溶质载体家族 6 成员 4 (SLC6A4)、肾上腺素能受体 β 2 (ADR β 2) 和烟碱型胆碱受体 α 7 (CHRN α 7) 6 个靶点为小儿黄龙颗粒治疗 ADHD 的核心靶点。GO 富集分析主要涉及突触传递、细胞对有机环状化合物及含氮化合物的反应等生物过程,突触后膜、树突、膜筏等细胞组分,神经递质受体活性、G 蛋白偶联受体活性及单加氧酶活性等分子功能。KEGG 通路富集分析主要涉及神经活性配体-受体相互作用、钙离子信号通路、磷脂酰肌醇-3-激酶/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶 (PI3K/AKT) 信号通路、环磷酸鸟苷/蛋白激酶 G (cGMP/PKG) 信号通路、胆碱能突触信号通路等。分子对接结果显示,核心靶点与其对应的关键成分结合能均小于 -4.25 kcal/mol。结论 小儿黄龙颗粒治疗 ADHD 具有多成分、多靶点、多通路的特点。

关键词: 小儿黄龙颗粒; 注意缺陷多动障碍; 网络药理学; 分子对接; 作用机制

Xiaoer Huanglong Granules in the Treatment of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

WEI Chunxiang¹, ZHENG Yixiang², ZHOU Xue¹, DIAO Junlin¹

(1. Chongqing Mental Health Center, Chongqing, China 401147; 2. Medical Research Institute, Southwest University, Chongqing, China 400715)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of Xiaoer Huanglong Granules in the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) based on the network pharmacology and molecular docking technology. **Methods** The active components and corresponding targets of Xiaoer Huanglong Granules were screened by the TCMSP database, the related targets of ADHD were screened by the DisGeNET, GeneCards, TTD, DrugBank and ADHDgene databases. The targets of active components of Xiaoer Huanglong Granules and the targets of ADHD were intersected by the Venny 2.1 platform, and the common targets obtained were potential targets of Xiaoer Huanglong Granules in the treatment of ADHD. The protein-protein interaction (PPI) network of potential targets of Xiaoer Huanglong Granules in the treatment of ADHD was constructed by the String database, and the core targets in the network were analyzed by the Cytoscape 3.8.0 software. The GO enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were performed by the Metascape database. The molecular docking was performed by the AutoDockTools 1.5.6 software, and the binding energy < -4.25 kcal/mol indicated the receptor had a certain binding activity with the ligand. **Results** A total of 47 active components of Xiaoer Huanglong Granules, 163 targets of active components, 1 115 targets of ADHD and 55 potential targets of Xiaoer Huanglong Granules in the treatment of ADHD were obtained. Stigmasterol, 7-methoxy-2-methyl isoflavone, kaempferol, β -sitosterol and luteolin were the key components of Xiaoer Huanglong Granules in the treatment of ADHD. The results of PPI network analysis showed that six targets including interleukin 6 (IL-6), protein kinase 1 (AKT1), estrogen receptor 1 (ESR1), solute carrier family 6 member 4 (SLC6A4), adrenoceptor β 2 (ADR β 2) and cholinergic receptor, nicotinic, α 7 (CHRN α 7) were the core targets of Xiaoer Huanglong Granules in the treatment of ADHD. GO enrichment analysis mainly involved biological processes such as synaptic transmission, cellular response to organic cyclic compounds and nitrogen compounds, cell components such as postsynaptic membrane, dendrites and membrane rafts, molecular functions such as neurotransmitter receptor activity,

第一作者: 韦春香, 女, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为精神科临床药学, (电子信箱)wxcmaster@126.com。

[△]通信作者: 刁俊林, 男, 大学本科, 主管药师, 研究方向为临床药学与药事管理学, (电子信箱)1547504352@qq.com。

G protein-coupled amine receptor activity and monooxygenase activity. The KEGG pathway enrichment analysis mainly involved the neuroactive ligand-receptor interaction, calcium signal pathway, phosphatidylinositol-3-kinase/serine-threonine protein kinase (PI3K/AKT) signal pathway, cyclic guanosine monophosphate/protein kinase G (cGMP/PKG) signal pathway, cholinergic synaptic signal pathway and so on. The results of molecular docking showed that the binding energy of the core targets and their corresponding key components was less than -4.25 kcal/mol. **Conclusion** Xiaoe Huanglong Granules in the treatment of ADHD has the characteristics of multi-component, multi-target and multi-pathway.

Key words: Xiaoe Huanglong Granules; attention-deficit hyperactivity disorder; network pharmacology; molecular docking; mechanism

注意缺陷多动障碍(ADHD)是一种以多动、冲动和注意力缺陷为特征的神经发育障碍,属中医心肝系疾病范畴,多发于儿童^[1],超过2/3患儿的症状会持续至成年期,导致严重的终身损害^[2]。ADHD发病机制复杂,目前主要采用药物治疗。西药有哌甲酯和托莫西汀^[3],但会引起头痛、失眠等药品不良反应,患者依从性较低。中药小儿黄龙颗粒具有滋阴潜阳、安神定志功效,能改善ADHD患儿的多动不宁、神思涣散、多言多语、性急易怒等症状,安全性和有效性均较好^[4]。本研究中采用网络药理学方法分析了小儿黄龙颗粒的活性成分,并预测治疗ADHD的潜在作用靶点和作用机制,为其临床研究提供参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 活性成分及靶点预测

在TCMSP数据库(<http://tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>)中,以“熟地黄”“白芍”“知母”“五味子”“党参”“石菖蒲”“桔梗”为关键词检索小儿黄龙颗粒的活性成分,并进行整合、去重;以化合物的口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 、类药性(DL) ≥ 0.18 为条件筛选有效成分,并结合已发表的文献进行补充。在TCMSP数据库中检索活性成分对应靶点,并通过UniProt数据库(<https://www.uniprot.org>)规范靶点名称。

1.2 靶点筛选

以“Attention deficit hyperactivity disorder”为关键词,在DisGeNET数据库(<https://www.disgenet.org>)、GeneCards数据库(<https://www.genecards.org>)、ADHDgene数据库(<http://adhd.psych.ac.cn/>)、TTD数据库(<https://db.idrblab.net/ttd/>)、DrugBank数据库(<https://go.drugbank.com>)中检索ADHD的相关靶点,合并各数据库靶点后去重,通过Uniprot数据库规范靶点名称。通过Venny 2.1平台对小儿黄龙颗粒活性成分靶点与ADHD靶点取交集,获取共有靶点,即为小儿黄龙颗粒治疗ADHD的潜在作用靶点;获取共有靶点对应的活性成分,采用Cytoscape 3.8.0软件构建小儿黄龙颗粒治疗ADHD活性成分-共有靶点网络,度值排名靠前的成分为小儿黄龙颗粒治疗ADHD的关键成分。

1.3 潜在作用靶点蛋白互作网络(PPI)构建

将共有靶点导入String数据库([https://www.string-](https://www.string-db.org)

[db.org](https://www.string-db.org))构建PPI,物种设置为“Homo sapiens”,靶点关联置信度设置为0.40,其余参数为默认值,获取蛋白互作信息^[5]。采用Cytoscape 3.8.0软件生成PPI中的核心靶点图,采用该软件中的CytoHubba插件和Betweenness算法计算网络的核心靶点。

1.4 GO富集分析和KEGG通路富集分析

利用Metascape数据库(<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)对共有靶点进行GO富集分析[生物过程(BP)、分子功能(MF)和细胞组分(CC)]及KEGG通路富集分析。以 $P \leq 0.01$ 为筛选条件,采用R 4.0.2软件对lgP排名前20的结果进行可视化处理,并绘图呈现富集结果。

1.5 活性成分-靶点-通路网络构建

将共有靶点、小儿黄龙颗粒活性成分及KEGG通路富集分析的相互作用信息合并,采用Cytoscape 3.8.0软件构建活性成分-靶点-通路网络,并通过节点度、中心度、紧密度等网络拓扑参数分析靶点及活性成分。

1.6 分子对接验证

以1.3项下的核心靶点为受体,以其在1.2项下小儿黄龙颗粒活性成分-共有靶点网络中对应的关键成分为配体,进行分子对接验证。通过RCSB PDB数据库(<https://www.rcsb.org>)下载核心靶点的三维晶体结构,保存为pdb格式文件;采用PyMol 2.5.2软件去除蛋白结构中的水分子和小分子配体,采用AutoDockTools 1.5.6软件进行加氢、去电荷等预处理,保存为pdbqt格式文件。通过TCMSP数据库下载活性成分的分子结构,保存为mol2格式文件,通过Open Babel 2.4.1软件转换为pdb格式文件;采用AutoDockTools 1.5.6软件对活性成分配体进行能量最小化处理,赋予配体原子类型,计算电荷,保存为pdbqt格式文件。运行AutoDockTools 1.5.6软件,采用遗传算法进行分子对接操作,以结合能评估对接结果,结合能越低,表明配体与受体的结合力越强。结合能 < -4.25 kcal/mol,受体、配体间有一定的结合活性;结合能 ≤ -5.0 kcal/mol,二者间有较好的结合活性;结合能 ≤ -7.0 kcal/mol,二者间有较强的结合活性^[6]。

2 结果

2.1 活性成分和靶点

共获得47种活性成分(表1),合并其预测靶点并去

表1 小儿黄龙颗粒中47种活性成分基本信息

Tab. 1 Information of 47 active components of Xiaoe Huanglong Granules

Number	分子编号	MolName	OB(%)	DL	来源	Number	分子编号	MolName	OB(%)	DL	来源
BS1	MOL001918	paeoniflorgenone	87.59	0.37	白芍	SCP3	MOL003578	cycloartenol	38.69	0.78	石菖蒲
BS2	MOL001924	paeoniflorin	53.87	0.79	白芍	WWZ1	MOL004624	longikaurin A	47.72	0.53	五味子
BS3	MOL000211	mairin	55.38	0.78	白芍	WWZ2	MOL005317	deoxyharringtonine	39.27	0.81	五味子
BS4	MOL000358	β -sitosterol	36.91	0.75	白芍	WWZ3	MOL008956	angeloylgomisin O	31.97	0.85	五味子
BS5	MOL000492	(+)-catechin	54.83	0.24	白芍	WWZ4	MOL008957	schizandrer B	30.71	0.83	五味子
DS1	MOL001006	poriferasta-7,22E-dien-3 β -ol	42.98	0.76	党参	WWZ5	MOL008968	gomisin A	30.69	0.78	五味子
DS2	MOL002140	perlylryne	65.95	0.27	党参	WWZ6	MOL008974	gomisin G	32.68	0.83	五味子
DS3	MOL002879	diop	43.59	0.39	党参	WWZ7	MOL008978	gomisin R	34.84	0.86	五味子
DS4	MOL003036	ZINC03978781	43.83	0.76	党参	WWZ8	MOL008992	wuweizisu C	46.27	0.84	五味子
DS5	MOL003896	7-methoxy-2-methyl isoflavone	42.56	0.20	党参	ZM1	MOL001677	asperglaucide	58.02	0.52	知母
DS6	MOL005321	frutinone A	65.9	0.34	党参	ZM2	MOL004373	anhydroicaritin	45.41	0.44	知母
DS7	MOL006774	stigmast-7-enol	37.42	0.75	党参	ZM3	MOL004489	anemarsaponin F _{qt}	60.06	0.79	知母
DS8	MOL007059	3- β -hydroxymethylenetanshiquinone	32.16	0.41	党参	ZM4	MOL004497	hippeastrine	51.65	0.62	知母
DS9	MOL007514	methyl icoso-11,14-dienoate	39.67	0.23	党参	ZM5	MOL004514	timosaponin B _{III} _{qt}	35.26	0.87	知母
DS10	MOL008393	7-(β -xylosyl)cephalomannine _{qt}	38.33	0.29	党参	ZM6	MOL004528	icariin I	41.58	0.61	知母
DS11	MOL008397	daturilin	50.37	0.77	党参	ZM7	MOL004540	anemarsaponin C _{qt}	35.50	0.87	知母
DS12	MOL008400	glycitein	50.48	0.24	党参	ZM8	MOL000483	(Z)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-N-[2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]acrylamide	118.35	0.26	知母
DS13	MOL008407	(8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(E,2R,5S)-5-ethyl-6-methylhept-3-en-2-yl]-10,13-dimethyl-1,2,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydrocyclopenta[a]phenanthren-3-one	45.40	0.76	党参	ZM9	MOL000546	diosgenin	80.88	0.81	知母
DS14	MOL008411	11-hydroxyrankimidine	40.00	0.66	党参	ZM10	MOL000631	coumaroyltyramine	112.90	0.20	知母
JG1	MOL001689	acacetin	34.97	0.24	桔梗	A	MOL000006	luteolin	36.16	0.25	党参、桔梗
JG2	MOL004580	cis-dihydroquercetin	66.44	0.27	桔梗	B	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	熟地黄、白芍
SCP1	MOL003542	8-isopentenyl-kaempferol	38.04	0.39	石菖蒲	C	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	知母、白芍、石菖蒲
SCP2	MOL003576	(1R,3aS,4R,6aS)-1,4-bis(3,4-dimethoxyphenyl)-1,3,3a,4,6,6a-hexahydrofuro[4,3-c]furan	52.35	0.62	石菖蒲	D	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76	熟地黄、知母、党参
						E	MOL004355	spinasterol	42.98	0.76	党参、桔梗

除重复基因后,共获得163个靶点。

2.2 靶点构建与分析

在DrugBank, GeneCards, DisGeNET, TTD, ADHDgene数据库中获得ADHD疾病靶点个数分别为82个、1890个(经筛选后为881个)、24个、40个、359个,汇总并删除重复靶点,最终获得靶点1115个。将小儿黄龙颗粒活性成分的163个靶点与ADHD的1115个靶点导入Venny 2.1平台,共获得55个共有靶点,即为小儿黄龙颗粒治疗ADHD的关键靶点。详见图1。

在Cytoscape 3.8.0软件中构建的小儿黄龙颗粒活性成分-共有靶点网络见图2。网络中,共101个节点和227条边,根据度值筛选前5个成分分别为D(豆甾醇)、DS5(7-甲氧基-2-甲基异黄酮)、C(山柰酚)、BS4(β -谷甾醇)、A(木犀草素),这些成分可能是小儿黄龙

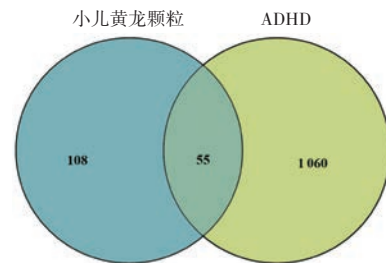


图1 小儿黄龙颗粒活性成分和ADHD交集靶点维恩图

Fig. 1 Venn diagram of targets of active components of Xiaoe Huanglong Granules and ADHD

颗粒治疗ADHD的关键成分。

2.3 潜在作用靶点的PPI

将55个共有靶点导入String数据库,获取网络信息后,采用Cytoscape 3.8.0软件构建PPI(图3),该网络包

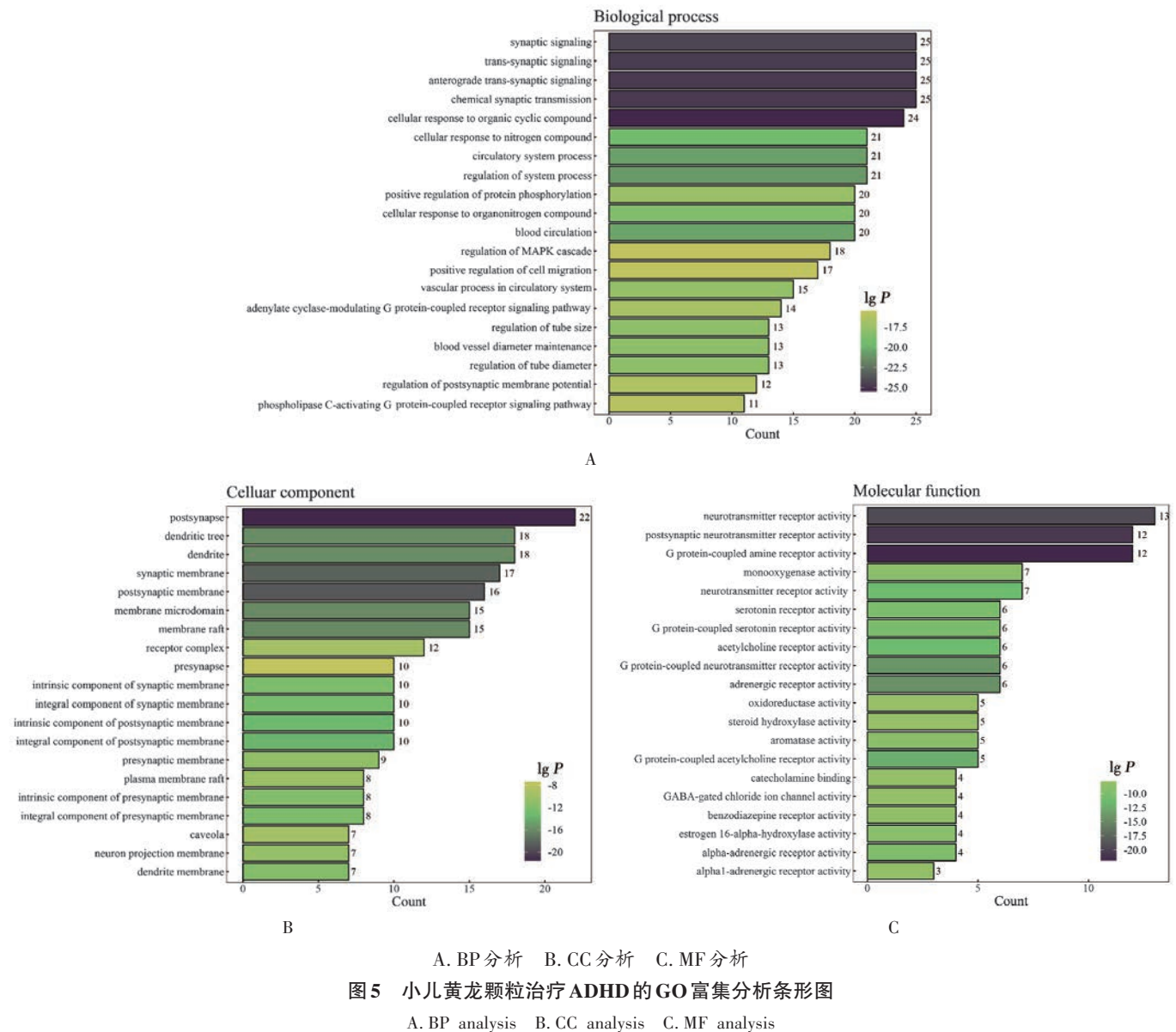


Fig. 5 Bar chart of GO enrichment analysis of Xiaoer Huanglong Granules in the treatment of ADHD

儿黄龙颗粒治疗 ADHD 主要涉及突触传递、细胞对有机环状化合物及含氮化合物的反应等 BP, 突触后膜、树突及膜筏等 CC, 神经递质受体活性、G 蛋白偶联胺受体活性及单加氧酶活性等 MF。将 KEGG 通路富集分析结果绘制为气泡图(图 6), 横轴代表富集在该通路的靶点占有共有靶点的百分比, 气泡大小代表富集在该通路的靶点数量, 颜色由紫到红代表 lgP 由大到小。结果显示, 小儿黄龙颗粒治疗 ADHD 的关键通路包括神经活性配体-受体相互作用、钙离子信号通路、磷脂酰肌醇-3-激酶/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(PI3K/Akt) 信号通路、环磷酸鸟苷/蛋白激酶 G(cGMP/PKG) 信号通路及胆碱能突触信号通路等。

2.5 活性成分-靶点-通路网络

通过 Cytoscape 3.8.0 软件构建小儿黄龙颗粒活性

成分-靶点-通路网络(图 7), 包括 96 个节点和 384 条边。每种活性成分都对应多个靶点, 体现了小儿黄龙颗粒多种成分通过多靶点、多通路发挥治疗 ADHD 的作用。

2.6 分子对接

将 2.3 项下 6 个核心靶点 IL-6, AKT1, ESR1, SLC6A4, ADR β 2, CHRN α 7 与 5 个关键成分 豆甾醇、7-甲氧基-2-甲基异黄酮、山柰酚、 β -谷甾醇、木犀草素进行分子对接, 最终获得 12 组受体-配体对接结果(表 2)。结果显示, 关键成分与核心靶点的结合能均小于 -4.25 kcal/mol, 其中小于 -5.0 kcal/mol 的组合共 9 组(75.00%), 提示所筛选的关键成分与核心靶点间具有较好的结合活性。木犀草素与 IL-6(结合能 -5.12 kcal/mol) 及 β -谷甾醇与 CHRN α 7(结合能 -5.84 kcal/mol) 分子对接结果见图 8。

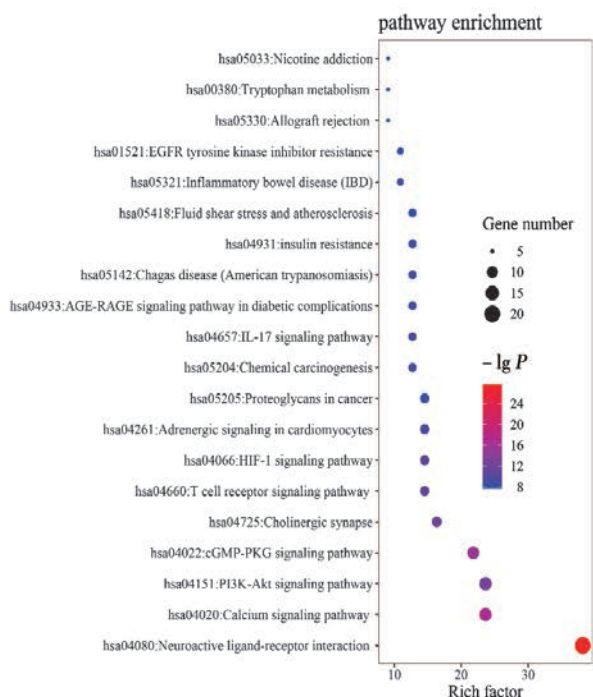


图6 小儿黄龙颗粒治疗ADHD的KEGG通路富集分析气泡图
Fig.6 Bubble diagram of KEGG pathway enrichment analysis of Xiaoer Huanglong Granules in the treatment of ADHD

表2 小儿黄龙颗粒治疗ADHD的关键成分与对应核心靶点的结合能

Tab.2 Binding energy of key components of Xiaoer Huanglong Granules in the treatment of ADHD and corresponding core targets

核心靶点	蛋白质编号	关键成分	分子编号	结合能(kcal/mol)
IL-6	7P11	luteolin	MOL000006	-5.12
AKT1	3QKL	luteolin	MOL000006	-5.21
ESR1	7NEL	7-methoxy-2-	MOL003896	-6.01
		methyl isoflavone		
SLC6A4	5I6X	β -sitosterol	MOL000358	-6.53
		7-methoxy-2-	MOL003896	-4.40
ADRB2	3D4S	β -sitosterol	MOL000358	-6.85
		stigmaterol	MOL000449	-6.31
CHRN α 7	7EKI	7-methoxy-2-	MOL003896	-5.20
		methyl isoflavone		
CHRN α 7	7EKI	β -sitosterol	MOL000358	-5.84
		stigmaterol	MOL000449	-4.58
CHRN α 7	7EKI	7-methoxy-2-	MOL003896	-4.26
		methyl isoflavone		

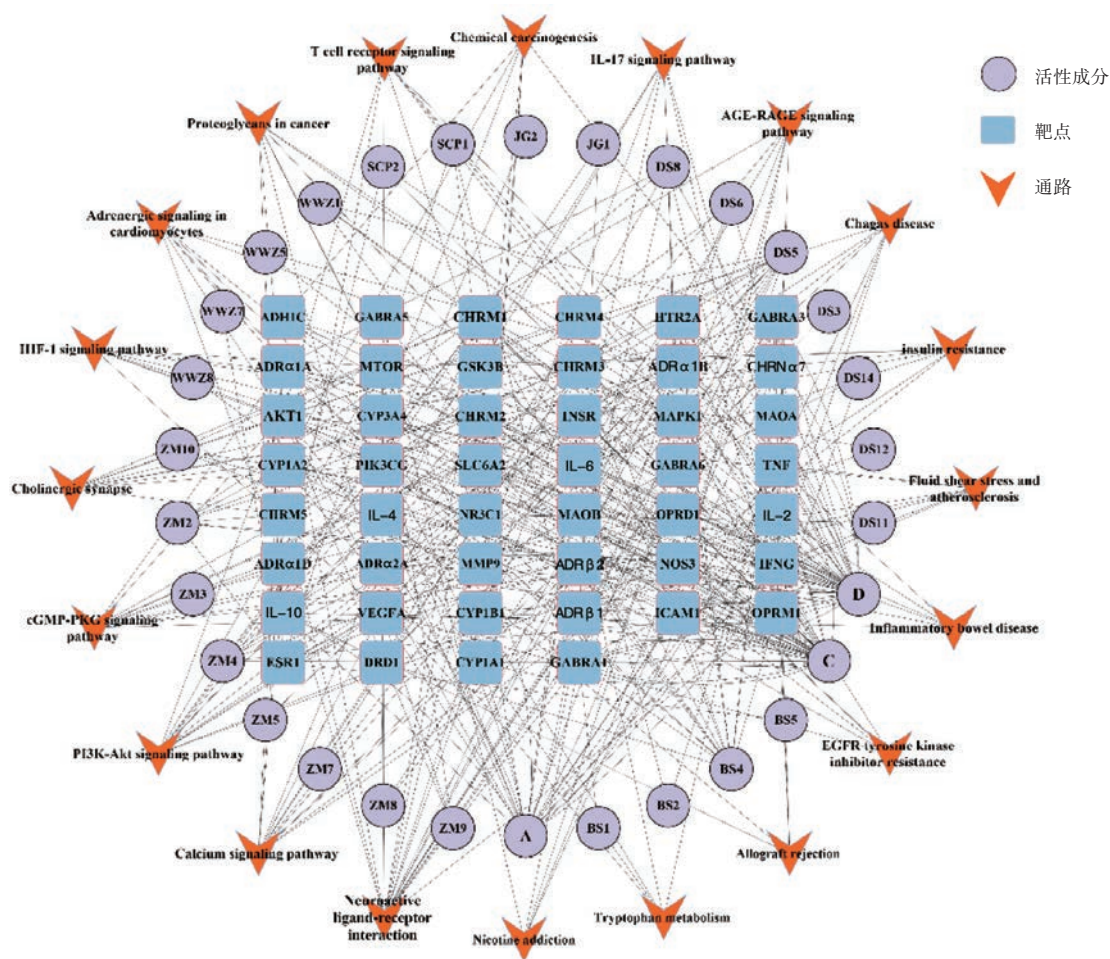
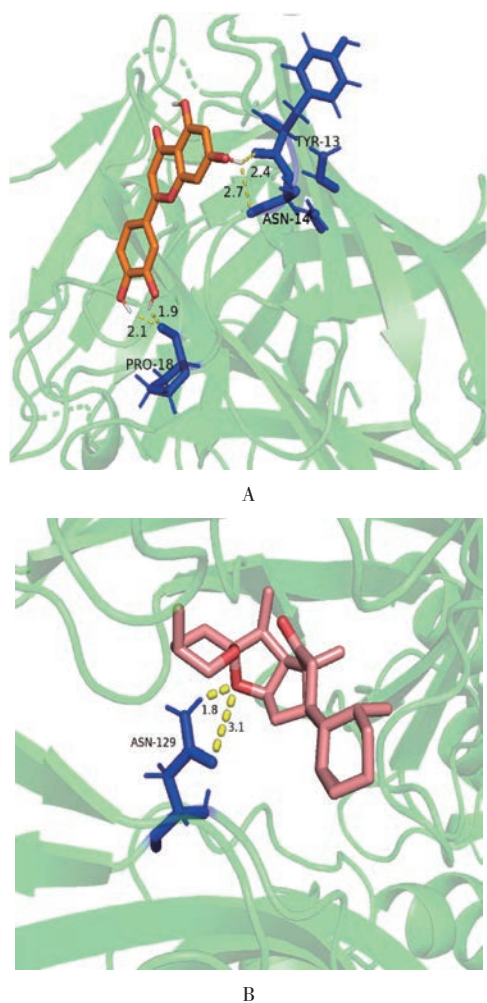


图7 小儿黄龙颗粒治疗ADHD活性成分-靶点-通路网络
Fig.7 Network of active components - targets - pathways of Xiaoer Huanglong Granules in the treatment of ADHD



A. 木犀草素 - IL - 6 B. β - 谷甾醇 - CHRN α 7
图8 小儿黄龙颗粒治疗 ADHD 的分子对接结果

A. Luteolin - IL - 6 B. β - Sitosterol - CHRN α 7

Fig. 8 Results of molecular docking of Xiaoer Huanglong Granules in the treatment of ADHD

3 讨论

ADHD是因先天禀赋不足、后天调护不当导致的脏腑功能失常,其主要病变在心、肝、脾、肾^[7],故针对此病可按泻实补虚、调和脏腑、平衡阴阳的基本原则辨证论治,中医辨证以肾阴不足、肝阳偏亢症(阴虚阳亢证)多见。小儿黄龙颗粒具有滋阴潜阳、安神定志功效,是中医辨证治疗 ADHD 的良药。

目前,公认的 ADHD 发病机制是儿茶酚胺类神经递质去甲肾上腺素和多巴胺代谢障碍导致的脑功能轻度缺陷。小儿黄龙颗粒的有效成分山柰酚是一种天然的可食用黄酮类化合物,主要来源于姜科植物山柰的根茎,广泛存在于各种蔬菜和水果中,具有抗炎、抗氧化、抗缺血损伤、抗惊厥、抗抑郁、抗痴呆等多种神经系统作用^[8]。动物体内研究显示,山柰酚能通过提高线粒体和整个细胞质钙离子水平来增加钙离子单向转运体的活性^[9],从而促进去甲肾上腺素和多巴胺的释放^[10]。

β - 谷甾醇能显著增加小鼠大脑中去甲肾上腺素、5 - 羟色胺和代谢物 5 - 羟基吲哚乙酸的水平^[11]。KEGG 通路富集分析结果显示,多巴胺与去甲肾上腺素受体相关基因大多富集在神经活性配体 - 受体相互作用通路、钙离子信号通路、cGMP / PKG 信号通路等。故山柰酚和 β - 谷甾醇可能通过影响儿茶酚胺类神经递质水平及调控上述信号通路,发挥 ADHD 的治疗作用。

研究表明,免疫系统可能参与包括 ADHD 在内的各种发育障碍的发病机制^[12]。既往研究显示,ADHD 患儿血清中的 IL - 6 和肿瘤坏死因子(TNF)水平均明显升高,且与儿童注意问题、违纪行为、攻击行为等相关^[13]。木犀草素是一种广泛存在于植物中的黄酮类化合物,可通过降低蛋白激酶 C 的活性及抑制钙离子内流来阻止肥大细胞的活化,从而减少 TNF - α 、IL - 6、白三烯的等炎性介质的释放^[14],还可抑制小胶质细胞和星形胶质细胞释放 IL - 6。KEGG 通路富集分析结果显示,木犀草素治疗 ADHD 的作用可能与白细胞介素 17(IL - 17) 信号通路密切相关。

CHRN α 7 在大脑和外周广泛表达,作为炎症反应的效应点,与迷走神经释放的抗炎递质乙酰胆碱结合,通过信号转导抑制促炎因子的生成和释放,在胆碱能抗炎途径中起重要作用^[15]。CHRN α 7 对钙离子具有高渗透性,不仅可作为离子通道,还可作为钙活化信号通路的调节剂,在认知和免疫系统中具有多种重要作用,与 ADHD 的发病机制密切相关^[16]。豆甾醇是一种天然存在的植物激素,具有抗炎、抗氧化、降低胆固醇等作用^[17]。YADAV 等^[18]研究发现,豆甾醇能降低乙酰胆碱酯酶活性,明显减轻由氯胺酮引起的小鼠自发活动、刻板行为等精神疾病症状。一项 β - 谷甾醇治疗阿尔茨海默病的体内外研究结果显示, β - 谷甾醇对中枢乙酰胆碱酯酶有抑制作用,随着治疗的进展, β - 谷甾醇组小鼠的工作记忆和运动协调能力均逐渐改善^[19]。这可能是由于豆甾醇和 β - 谷甾醇降低乙酰胆碱酯酶活性,减少了对乙酰胆碱的降解,使 CHRN α 7 的抗炎作用更持久,以及间接激活钙离子信号通路,从而共同发挥治疗 ADHD 的作用。

雌激素信号通路在调节精神分裂症的阳性症状、双相情感障碍的躁狂症及激素波动引起的认知和情绪中发挥重要作用。研究发现,雌激素受体 ESR1 基因内的单核苷酸多态性与包括 ADHD 在内的神经、精神疾病相关^[20]。豆甾醇可通过激活 ESR1 受体或 N - 甲基 - D - 天冬氨酸(NMDA)受体来增强胆碱能神经系统功能,从而发挥改善认知和学习记忆的作用^[21]。 β - 谷甾醇也能通过与 HT22 细胞的细胞膜结合,影响雌激素受体激活 PI3K 信号通路,增加 PI3K 活性,抑制葡萄糖氧

化酶所诱导的氧化应激与脂质过氧化反应,进而改善脑代谢^[22]。

综上所述,小儿黄龙颗粒主要活性成分甾醇、山柰酚、木犀草素、7-甲氧基-2-甲基异黄酮、 β -谷甾醇可能通过 IL-6, ESR1, ALT, SLC6A4, ADR β 2, CHRN α 7 6个核心靶点作用于神经活性配体-受体相互作用、钙离子信号通路、PI3K/AKT信号通路、cGMP-PKG信号通路、胆碱能突触信号通路治疗 ADHD,其过程可能涉及儿茶酚胺类递质的代谢、免疫系统、抗炎途径等生物学过程。

参考文献

- [1] POLANCZYK GV, WILLCUTT EG, SALUM GA, et al. ADHD prevalence estimates across three decades: an updated systematic review and meta-regression analysis [J]. *International Journal of Epidemiology*, 2014, 43(2): 434-442.
- [2] BARBARESI WJ, COLLIGAN RC, WEAVER AL, et al. Mortality, ADHD, and psychosocial adversity in adults with childhood ADHD: a prospective study [J]. *Pediatrics*, 2013, 131(4): 637-644.
- [3] 张薇, 李兵, 冯静. 盐酸托莫西汀联合护理干预治疗注意缺陷多动障碍 91 例 [J]. *中国药业*, 2015, 24(11): 82-83.
- [4] 刘小凡, 马融, 丁樱, 等. 小儿黄龙颗粒治疗注意缺陷多动障碍随机、双盲双模拟、多中心临床研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(2): 171-176.
- [5] SZKLARCZYK D, GABLE AL, NASTOU KC, et al. The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets [J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(D1): D605-D612.
- [6] HSIN KY, GHOSH S, KITANO H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83922.
- [7] 韩新民, 马融, 雷爽, 等. 中医儿科临床诊疗指南·儿童多动症(修订) [J]. *中医儿科杂志*, 2017, 13(5): 1-6.
- [8] SANTOS JSV, CIRINO JPG, CARVALHO PDO, et al. The Pharmacological Action of Kaempferol in Central Nervous System Diseases: A Review [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 11: 565700.
- [9] SANGANAHALLI BG, HERMAN P, HYDER F, et al. Mitochondrial Calcium Uptake Capacity Modulates Neocortical Excitability [J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2013, 33(7): 1115-1126.
- [10] STANFORD SC. Psychostimulants, antidepressants and neurokinin-1 receptor antagonists ('motor disinhibitors') have overlapping, but distinct, effects on monoamine transmission: the involvement of L-type Ca²⁺ channels and implications for the treatment of ADHD [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 87: 9-18.
- [11] ZHAO DH, ZHENG LW, QI L, et al. Structural Features and Potent Antidepressant Effects of Total Sterols and β -sitosterol Extracted from *Sargassum horneri* [J]. *Marine Drugs*, 2016, 14(7): 123.
- [12] WYCISZKIEWICZ A, PAWLAK MA, KRAWIEC K. Cerebellar Volume in Children With Attention-Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) [J]. *Journal of Child Neurology*, 2017, 32(2): 215-221.
- [13] ELSADEK AE, AL-SHOKARY AH, ABDELGHANI WE, et al. Serum Levels of Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor Alpha in Children With Attention-Deficit Hyperactivity Disorder [J]. *Journal of Pediatric Neurosciences*, 2020, 15(4): 402-408.
- [14] KEMPURAJ D, THANGAVEL R, KEMPURAJ DD, et al. Neuroprotective effects of flavone luteolin in neuroinflammation and neurotrauma [J]. *BioFactors*, 2021, 47(2): 190-197.
- [15] BENFANTE R, LASCIO SD, CARDANI S, et al. Acetylcholinesterase inhibitors targeting the cholinergic anti-inflammatory pathway: a new therapeutic perspective in aging-related disorders [J]. *Aging Clinical and Experimental Research*, 2021, 33(4): 823-834.
- [16] WILLIAMS NM, FRANKE B, MICK E, et al. Genome-wide analysis of copy number variants in attention deficit hyperactivity disorder: the role of rare variants and duplications at 15q13.3 [J]. *The American Journal of Psychiatry*, 2012, 169(2): 195-204.
- [17] 汪帅, 孙宇, 李春梅, 等. 甾醇的研究进展概述 [J]. *中国药业*, 2019, 28(23): 96-II.
- [18] YADAV M, PARLE M, JINDAL DK, et al. Protective effects of stigmasterol against ketamine-induced psychotic symptoms: Possible behavioral, biochemical and histopathological changes in mice [J]. *Pharmacological Reports*, 2018, 70(3): 591-599.
- [19] AYAZ M, JUNAID M, ULLAH F, et al. Anti-Alzheimer's Studies on β -Sitosterol Isolated from *Polygonum hydro-piper* L. [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 697.
- [20] SUN X, WU Z, CAO Q, et al. Genetic variant for behavioral regulation factor of executive function and its possible brain mechanism in attention deficit hyperactivity disorder [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 7620.
- [21] PARK SJ, KIM DH, JUNG JM, et al. The ameliorating effects of stigmasterol on scopolamine-induced memory impairments in mice [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2012, 676(1/3): 64-70.
- [22] SHI C, WU F, XU J. Incorporation of β -sitosterol into mitochondrial membrane enhances mitochondrial function by promoting inner mitochondrial membrane fluidity [J]. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 2013, 45(3): 301-305.

(收稿日期: 2022-05-25; 修回日期: 2022-09-27)