

基于网络药理学及分子对接技术分析“半边莲-白花蛇舌草”药对治疗银屑病的作用机制

沈乐乐¹, 席建元^{2*}, 孙立新³, 王子加³, 刘均瑜³, 李静³

¹宁夏医科大学, 银川 750004; ²湖南中医药大学第一附属医院, 长沙 410000; ³湖南中医药大学, 长沙 410208

摘要: 基于网络药理学及分子对接技术分析“半边莲-白花蛇舌草”药对治疗银屑病的有效活性成分及作用机制。运用 TCMSPP 数据库筛选“半边莲-白花蛇舌草”药对的活性成分及靶标, 并通过 GeneCards 数据库获取银屑病疾病靶点, 获取交集靶标, 利用 Cytoscape 3.6.1 软件构建“药物-活性成分-靶点-疾病”网络图, 利用 STRING 数据库构建 PPI 蛋白互作网络, 并筛选出核心靶蛋白, 对交集靶标进行 GO 生物过程及 KEGG 通路富集分析, 最后利用 SYBYL-X 2.1.1 进行“半边莲-白花蛇舌草”药对与核心靶蛋白的模拟分子对接验证。从“半边莲-白花蛇舌草”中筛选获得 24 个活性成分, 其中槲皮素、木犀草素、山奈酚、刺槐素、 β -谷甾醇、环三烯酚为药对的关键活性成分, 其作用主要涉及 AKT1、JUN、MAPK1、RELA、HSP90AA1、IL6、ESR1、MAPK8、EGFR、MAPK14 核心靶蛋白, GO 与 KEGG 通路富集分析提示药对干预银屑病的生物学过程复杂多样, 并且在 PI3K-Akt 信号通路、VEGF 相关通路、Th1 和 Th2 细胞、B 细胞受体、HIF-1 α 等信号通路上基因富集性较高。在 60 个对接结果中, 半数提示有较优的对接活性, 槲皮素与核心靶蛋白结合情况最佳, HSP90AA1 是半边莲-白花蛇舌草中关键化学成分结合活性最优的靶蛋白。“半边莲-白花蛇舌草”药对干预银屑病的机制具有多靶点、多途径的特点, 与血管生成、炎症反应、免疫介导等途径关系密切, 初步揭示了其作用的关键靶点及涉及的生物学过程和信号通路, 为今后临床用药组方治疗银屑病以及实验研究提供理论依据。

关键词: 半边莲-白花蛇舌草; 银屑病; 作用机制; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R275.9

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)12-2136-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.12.018

Based on network pharmacology to analyze the mechanism of Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba drug pair on the treatment of psoriasis

SHEN Le-le¹, XI Jian-yuan^{2*}, SUN Li-xin³, WANG Zi-jia³, LIU Jun-yu³, LI Jing³

¹Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China;

²The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410000, China;

³Human University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: In this study, network pharmacology and molecular docking technology were used to study the effective active components and mechanism of “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba” in the treatment of psoriasis. The TCMSPP database was used to screen the active components and targets of the drug pair “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba”, and the psoriasis disease targets and intersection targets were obtained through the genecards database. The network diagram was constructed by using Cytoscape 3.6.1 software, the protein interaction network was constructed by using string database, and the core target proteins were screened, Gene Ontolog (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were carried out for the intersection target. Finally, SYBYL-X 2.1.1 was used to verify the simulated molecular docking of “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba” with the core target protein. We screened and obtained 24 active components from “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba”, quercetin, luteolin, kaempferol, acacetin, β -sitosterol, and cycloleucalenol are the key active components of the drug pair, and their effects mainly involve the core target proteins of AKT1,

收稿日期: 2021-04-12 接受日期: 2021-09-14

基金项目: 湖南省教育厅重点项目 (19A363)

* 通信作者 E-mail: xijianyuan2010@126.com

JUN, MAPK1, RELA, HSP90AA1, IL6, ESR1, MAPK8, EGFR, MAPK14. The enrichment analysis of GO and KEGG pathways suggests that the biological process of drug intervention in psoriasis is complex and diverse, including PI3K-Akt signaling pathway, VEGF related pathway, Th1 and Th2 cells, B cell receptor and HIF-1 α signaling pathway. Among the 60 docking results, half of them suggested that they had better docking activity. Quercetin had the best binding to the core target protein, and HSP90AA1 was the target protein with the best binding activity of the key chemical components in “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herb”. The mechanism of “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba” on the intervention of psoriasis has the characteristics of multi-pathway and multi-channel, which is closely related to angiogenesis, inflammatory response, immune-mediated and other pathways. It preliminarily reveals the key targets of its action and the biological processes and signal pathways involved, so as to provide a theoretical basis for the treatment of psoriasis and experimental research in the future.

Key words: Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba; psoriasis; mechanism; network pharmacology; molecular docking

银屑病,俗称“牛皮癣、干癣”,临床常表现为红色丘疹或斑块,并覆有银白色鳞屑或薄膜,点状出亦为本病的临床特征,其组织学特征是表皮角质形成细胞过度增殖和异常分化^[1]。银屑病是具有损容性,资料显示,我国银屑病患者率约0.47%,该病的机制尚不明确,主要与树突细胞、T淋巴细胞和角质形成细胞的关系密切^[2],银屑病的治疗从局部光疗到全身药物的组合疗法使用,建立了广泛的常规医学疗法,然而大多数疗效有限,且诸多副作用,包括皮肤萎缩,器官毒性,致癌性和免疫抑制,使其治疗陷入困境^[3]。中医治疗银屑病具有独特优势,可显著降低复发率,疗效明确。

银屑病丸是湖南中医药大学第一附属医院皮肤科的院内制剂,诸多临床案例证实了其治疗银屑病疗效确切^[4],其中“半边莲-白花蛇舌草”是其主要药对,半边莲味苦、性辛、寒,具有清热解毒、化瘀止血、利尿之效;白花蛇舌草味甘、性微苦、寒,可清热解毒、散瘀消痈。二者配伍,相须为用^[5],为探求其干预银屑病的作用机制,传统的中医机理研究大多遵循“一药一靶一病”的模式,不能反映中药多成分、多靶点、多途径的干预特点。网络药理学是结合多种药代动力学参数进行活性化合物预测,不同药物靶标的挖掘和宏观角度的网络分析来预测药物成分靶点及作用的信号通路,符合中医药干预疾病的模式^[6]。本研究利用网络药理学,对“半边莲-白花蛇舌草”药对治疗银屑病的潜在机制预测分析,为今后银屑病的实验研究及诊治思路提供参考。

1 资料及方法

1.1 “半边莲-白花蛇舌草”药对活性化合物成分筛选

运用中药系统药理学分析平台(TCMSP)(<https://tcmssp.com/tcmssp.php>)收集“半边莲-白花蛇舌草”药对活性化合物成分,口服药物在血流中的分布程度,是口服药物发现和临床应用的最必要前

提之一,用于评估药物数据库中化合物与临床治疗药物的结构相似性^[13]。因此设置筛条件为:口服利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 ,来筛选药对的活性成分。

1.2 “半边莲-白花蛇舌草”药对基因靶点筛选

运用TCMSP平台收集药物活性靶点,利用Perl脚本获得药物有效成分-基因靶点文件。利用UniProt(<http://www.uniprot.org/>)数据库转换成对应的基因名称。

1.3 银屑病相关靶基因筛选

在GeneCards(<https://www.genecards.org/>)数据库中,以“psoriasis”为关键词检索银屑病相关靶基因,设定分数(score)值大于该疾病score值的中位数为疾病靶点的筛选标准获取银屑病靶标基因后,与“半边莲-白花蛇舌草”药对活性化合物的靶向基因交集,所得基因为药对-疾病交集靶基因。

1.4 构建“药物活性成分-交集靶标”网络

将“半边莲-白花蛇舌草”药对的活性成分与其治疗银屑病的潜在作用靶标关系导入Cytoscape 3.6.1,构建“药物活性成分-交集靶标”网络图。

1.5 构建交集靶基因蛋白互作网络(PPI)及获取其核心基因

STRING数据库(<https://string-db.org/cgi/input.pl>)是一个分析蛋白间相互作用及提供蛋白互作可视化的数据库^[7]。利用该数据库对药物-疾病交集靶基因进行蛋白互作分析,Organism设置为“Homo sapiens”,获得蛋白互作网络图,并将其可视化,计算平均度值(DC),以大于两倍该值设定为核心靶蛋白^[8]。

1.6 基因本体论(GO分析)及KEGG通路富集分析

运用R语言将药对-疾病交集靶基因转换为相应的ID,再次运行R语言程序,得到GO功能富集、

KEGG 通路富集分析的气泡图及柱状图,并以 P 值 < 0.05 进行筛选排序。

1.7 分子模拟对接验证

利用分子对接软件 SYBYL-X 2.1.1 中的 Surflex-dock 模块进行模拟验证,去除水分子,修复蛋白残基、侧链固定和氢化,以“半边莲-白花蛇舌草”中核心化合物为配体,银屑病核心靶蛋白为受体,该对接工具匹配方法主要基于结构及形状的相似性,有高精度、高阳性率及匹配速度迅速的特征。一般认为,受体与配体的自由结合能越小,其稳定性越

强,则 total score 值越大。Total score ≥ 5.0 意味着配体与靶蛋白之结合活性较优,而 total score ≥ 7.0 则可预测该配体分子与靶蛋白结合活性较为强烈^[9]。

2 结果

2.1 “半边莲-白花蛇舌草”药对活性化合物

将参考值设定为 OB $\geq 30\%$ 和 DL ≥ 0.18 ,筛选化学成分。结果表明,“半边莲-白花蛇舌草”药对共有 24 个活性成分满足参考值,其中半边莲 17 个,白花蛇舌草 7 个,结果见表 1。

表 1 “半边莲-白花蛇舌草”药对活性成分

Table 1 Active ingredients of “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba”

药物 Drug	编号 MOL.	成分 Ingredient	生物利用度 Oral bioavailability (%)	类药性 Drug-likeness
半边莲 Lobeliae Chinensis Herba	MOL001790	亚麻脂 Linarin	39.84	0.71
	MOL012207	氯苯丙啶 Lobelanidine	60.53	0.32
	MOL012208	龙脑素 Lobelanine	54.13	0.32
	MOL012216	去甲乌精 Norlobelanine	64.08	0.30
	MOL003044	环三烯酚 Cycloeucaleanol	39.73	0.79
	MOL001689	阿沙西汀 Acacetin	34.97	0.24
	MOL002341	橙皮素 Hesperetin	70.31	0.27
	MOL002881	香叶木素 Diosmetin	31.14	0.27
	MOL003044	甲酚 Chryseriol	35.85	0.27
	MOL000422	山奈酚 Kaempferol	41.88	0.24
	MOL005530	氢氧根蛋白 Hydroxygenkwamin	36.47	0.27
	MOL000006	木犀草素 Luteolin	36.16	0.25
	MOL009009	(+)-间苯二酚 (+)-Medioresinol	87.19	0.62
	MOL000098	槲皮素 Quercetin	46.43	0.28
	MOL012209	盐酸山梗碱 2-[(2R,6S)-6-[(2R)-2-Hydroxy-2-phenylethyl]-1-methylpiperidin-2-yl]-1-phenylethanone	45.53	0.32
	MOL012225	乙酸 3-[(2S,3R)-2-(4-羟基-3-甲氧基-苯基)-3-(羟甲基)-7-甲氧基-2,3-二氢苯并呋喃-5-基]丙基 3-[(2S,3R)-2-(4-Hydroxy-3-methoxy-phenyl)-3-(hydroxymethyl)-7-methoxy-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl]propyl acetate	73.08	0.54
	白花蛇舌草 Hedyotis Herba	MOL011678	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(1S,4R)-4-乙基-1,5-二甲基己基]-10,13-二甲基-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-十二烷基-1H-环戊[a]菲蒽-3-醇 (3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(1S,4R)-4-Ethyl-1,5-dimethylhexyl]-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	36.91
MOL001670		甲氧基-3-甲基-9,10-蒽醌 Methoxy-3-methyl-9,10-anthraquinone	37.83	0.21
MOL001646		2,3-二甲氧基-6-甲基蒽醌 2,3-Dimethoxy-6-methyanthraquinone	34.86	0.26
MOL000098		槲皮素 Quercetin	46.43	0.28
MOL000358		β -谷甾醇 β -Sitosterol	36.91	0.75
MOL001659		紫杉醇 Poriferasterol	43.83	0.76
MOL000449		豆甾醇 Stigmasterol	43.83	0.76
MOL001663	3-表齐墩果酸 3-Epioleanolic acid	32.03	0.76	

2.2 “半边莲-白花蛇舌草”药对及银屑病疾病靶点网络图

在 GeneCards 数据库中,得到银屑病疾病共 3760 个靶点,并将“半边莲-白花蛇舌草”药物中的 24 种活性成分对应的靶点(其中半边莲 415 个,白花蛇舌草 256 个)进行匹配,得到交集靶标 121 个,韦

恩图如图 1 所示。运用 Cytoscape 3.6.1 软件构建活性成分-靶点网络图,结果见图 2,在大于其平均值两倍的有效活性成分有 6 个,分别是槲皮素、木犀草素、山奈酚、刺槐素、 β 谷甾醇、环三烯酚,提示其为该网络的关键性有效活性成分,在“半边莲-白花蛇舌草”干预银屑病的过程中重要作用。

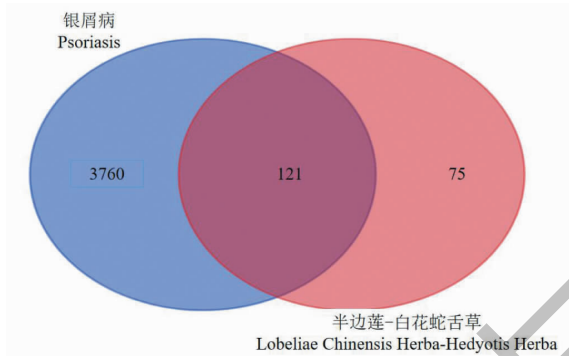


图 1 “半边莲-白花蛇舌草”药对与银屑病疾病靶点的交集基因韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of the intersection gene of the drug “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba” with the target of psoriasis

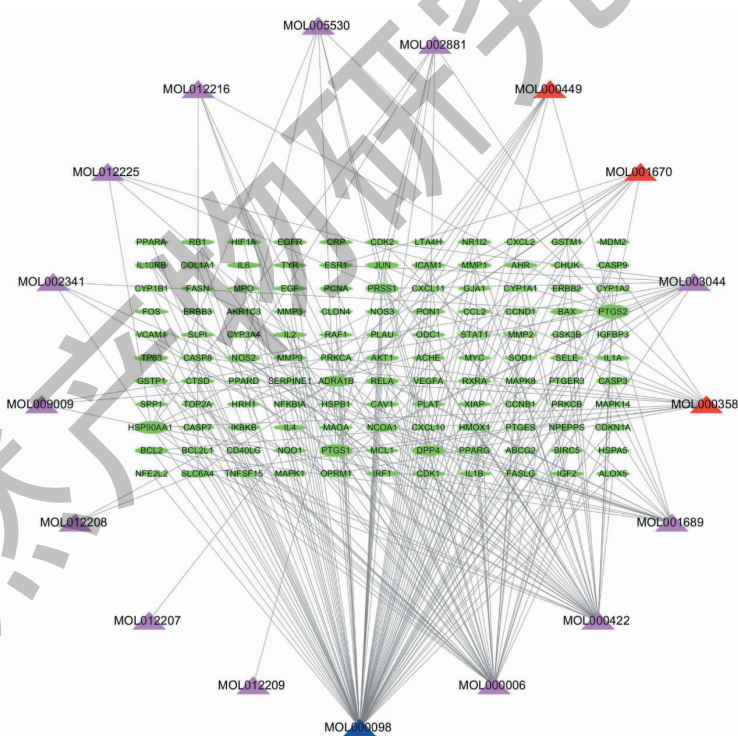


图 2 “半边莲-白花蛇舌草”药对干预银屑病的“药物活性成分-交集靶标”网络

Fig. 2 Drug active ingredient-intersecting target network of “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba” in the treatment of psoriasis
 注:网络中节点数目为 138 个,边为 267 个,平均度值为:6.1。图中绿色圆形为交集靶基因;三角形为药对的活性成分;红色三角形代表白花蛇舌草特有的化学成分;粉红色三角形代表半边莲特有的活性成分;蓝色三角形为共同的活性成分。Note:The number of nodes in the network is 138,the edge is 267,and the average value is 6.1. The green circle is the intersection target gene;the triangle is the active component of the drug pair;the red triangle represents the unique chemical component of the Hedyotis Herba;the pink triangle represents the unique active component of the Lobeliae Chinensis Herba;the blue triangle is the common active component.

2.3 蛋白网络交互结果及核心靶蛋白提取结果

由图 3A 可知,PPI 网络包含 109 个靶蛋白节点(已剔除未参与蛋白相互作用的相关靶蛋白),442 条相互作用连线,PPI 浓缩 P 值 $< 1.0e-16$,网络的

平均度值为 8.2,大于该值 2 倍的核心靶蛋白进行可视化,得到图 3B,可知 AKT1、JUN、MAPK1、RELA、HSP90AA1、IL6、ESR1、MAPK8、EGFR、MAPK14 是“半边莲-白花蛇舌草”药对治疗银屑病的关键蛋白靶点。

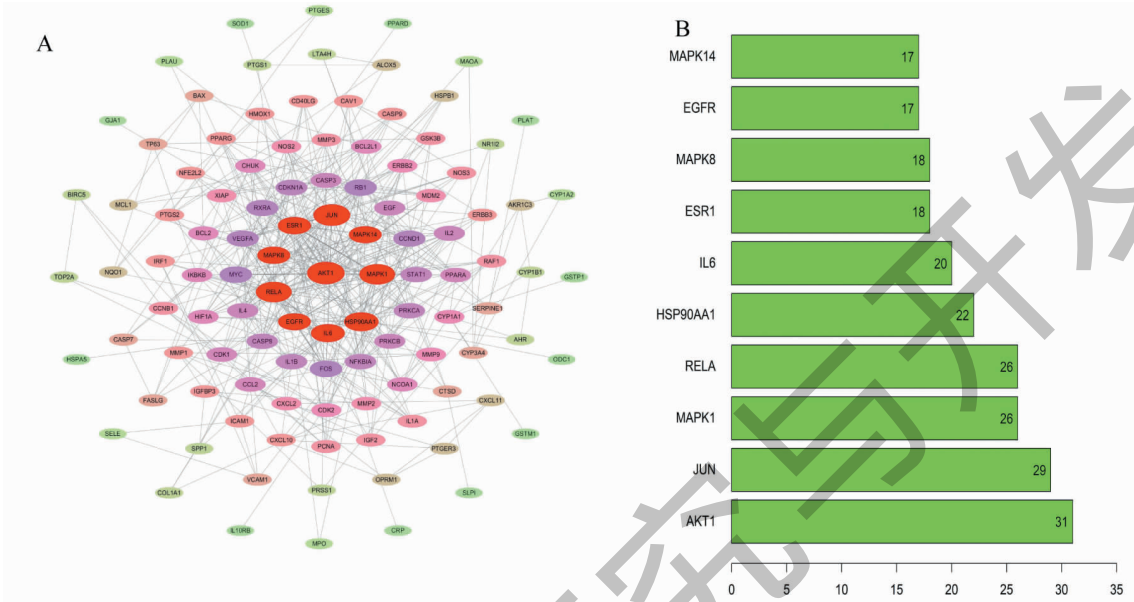


图 3 “半边莲-白花蛇舌草”药对作用银屑病 PPI 网络及核心靶蛋白

Fig. 3 PPI network and core target protein of “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba” on psoriasis

注:A为“半边莲-白花蛇舌草”药对干预银屑病的 PPI 蛋白互作网络图,图中节点表示共有靶蛋白,节点的度值与颜色深浅及节点面积呈正相关;B为 PPI 核心靶蛋白度值柱状图。Note:A is the network diagram of PPI protein interaction on psoriasis intervention,the nodes in the graph represent common target proteins,and the values of nodes are positively correlated with color depth and node area;B is the PPI core target protein degree histogram.

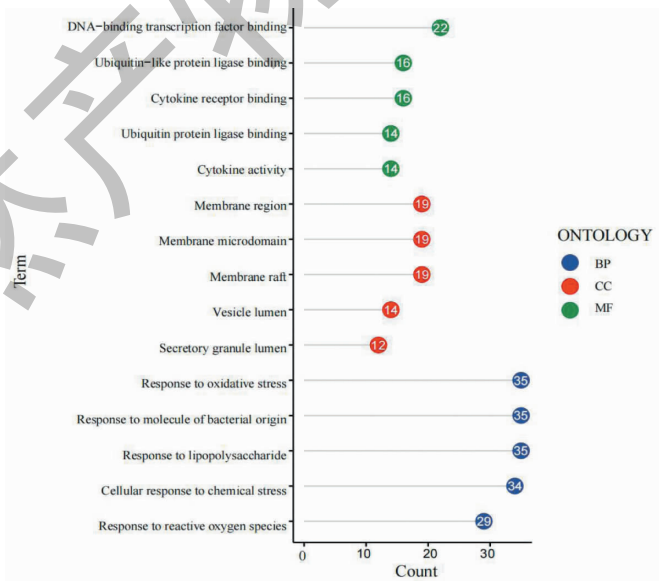


图 4 “半边莲-白花蛇舌草”药对作用银屑病核心靶蛋白的 GO 富集分析

Fig. 4 GO Enrichment Analysis of Core Target Protein of Psoriasis by “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba”

注:图中不同颜色的节点表示 GO 的不同生物学类型;节点上的数值表示该生物学途径所富集的靶基因的数目。Note:The different coloured nodes in the graph indicate the different biological types of GO;The values on the nodes indicate the number of target genes enriched by that biological pathway.

2.4 GO 与 KEGG 富集分析

根据 P 值的大小,本研究用棒棒糖图列举了各类排名靠前 5 的 GO 富集分析结果,如图 4 所示,其中生物过程(BP)2110 个,主要涉及对脂多糖、细菌来源反应、化学压力、活性氧刺激以及氧化应激等多种生物学途径;涉及细胞组成(CC)47 个,主要涉及膜筏、膜微结构域、隔膜区、囊泡性管腔、分泌性颗粒状管腔等多种细胞结构;包括分子功能(MF)171 个,主要涉及 DNA 结合转录因子、细胞因子受体、泛

素样蛋白连接酶结合、细胞因子的活性、泛素蛋白连接酶结合等。

KEGG 富集结果筛选得到 156 条主要信号通路,主要涉及 PI3K-Akt、肿瘤坏死因子(TNF)通路、IL-17、Th17 细胞分化、VEGF 相关信号通路、Th1 和 Th2 细胞分化、B 细胞受体、HIF-1 α 等信号通路,与血管生成、炎症反应、免疫介导等途径关系密切(见图 5)。

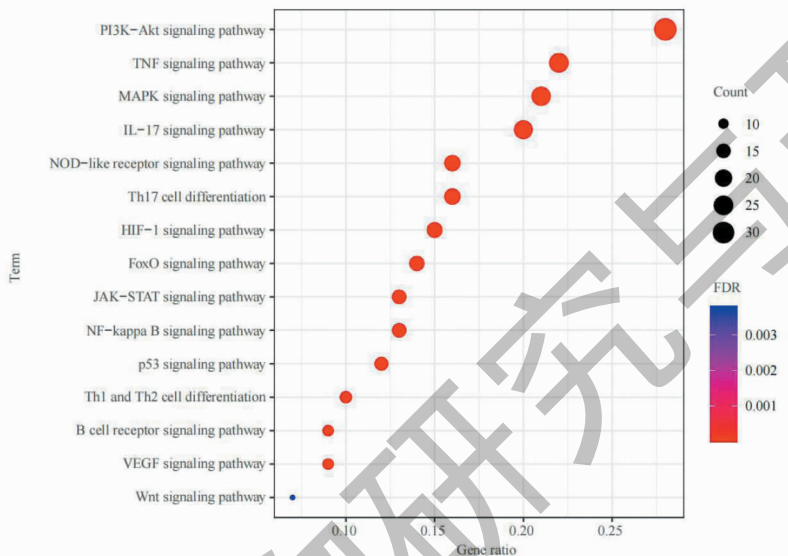


图 5 “半边莲-白花蛇舌草”药对作用银屑病的核心靶蛋白的 KEGG 富集分析

Fig. 5 KEGG enrichment analysis of core target protein of psoriasis by “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba”

注:图中节点表示 KEGG 信号通路类型;其节点的颜色越红则富集显著性越强;而面积越大则富集基因的数目越多。Note: The nodes in the graph represent the type of KEGG signal pathway. The redder the nodes, the stronger the enrichment significance, and the larger the area, the more the number of enriched genes.

2.5 “半边莲-白花蛇舌草”药对核心化合物作用银屑病靶蛋白的分子对接验证

从 PubChem 数据库中提取“半边莲-白花蛇舌草”中的关键有效活性成分作为配体,从 Protein Data Bank 数据库提取 PPI 中的核心靶蛋白作为受体进行分子对接,对接 total score 结果如图 6 所示,在 60 个对接结果中,30 个提示有较优的(total score ≥ 5.0)对接活性,3 个有强烈的匹配活性(total score ≥ 7.0),其中槲皮素与核心靶蛋白结合情况最佳,HSP90AA1 是“半边莲-白花蛇舌草”中关键化学成分结合活性最优的靶蛋白。

Total score 值最高的四组对接情况在如图 7 所示,HSP90AA1 受体蛋白与 β -谷甾醇(total score: 8.03,与氨基酸残基 A/LYS58 有 1 个氢键联系),如图 7A 所示。 β -谷甾醇与 MAPK1 受体蛋白(total

score:7.44,与氨基酸残基 A/ASP149 有 1 个氢键联系),如图 7B 所示。MAPK8 受体蛋白与木犀草素(total score:7.20,与氨基酸残基 A/GLU109、A/LYS55、A/ARG69、A/GLN37、A/MET111 有 5 个氢键联系),如图 7C 所示。山奈酚与 HSP90AA1 受体蛋白(total score:7.02,与氨基酸残基 A/GLY97、A/ASP93、A/ASN51 有 3 个氢键联系),如图 7D 所示。并且上述配体化合物均能良好的包埋直径为 5Å 的受体靶蛋白的活性口袋中。

3 讨论与结论

银屑病,中医病机归结为营血亏虚,血热内蕴,化燥生风,肌肤失养。《外科正宗》云:“白疔,皮肤燥痒,十指间皮厚而莫能搔痒”。多以凉血活血,养血润燥,清热解毒为基本治则。银屑病是一种多条信号通路失调导致的皮肤炎症性疾病,T细胞

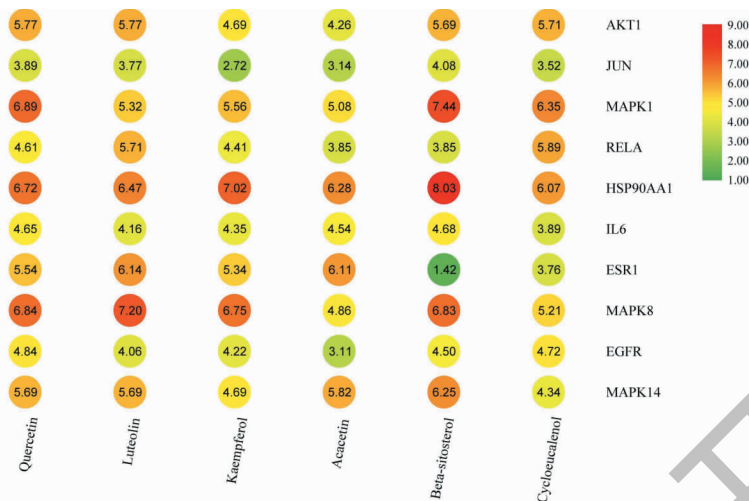


图6 “半边莲-白花蛇舌草”中的关键活性化合物与PPI核心靶蛋白分子对接 Total Score 值热图

Fig. 6 Heat map of the key active compounds in the PPI core target protein “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba” Total Score docking with PPI core target protein molecules

注:热图中横轴代表“半边莲-白花蛇舌草”的有效活性成分配体;纵轴表示PPI核心靶蛋白受体,各数值表示分子对接的Total Score分数,颜色越深表示分数越高。Note: In the heat map, the transverse axis represents the active component ligand of “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba”; The longitudinal axis represents the PPI core target protein receptor, and each value represents the total score fraction of molecular docking, the darker the color, the higher the fraction.

以及表皮细胞介导的慢性炎症是其主要发病原因^[10]。现代研究证明,半边莲中的植物多糖具有调节免疫功能的生物活性,其可以剂量依赖的方式增加细胞增殖、吞噬作用,以及调节一氧化氮产生和细胞因子分泌^[11,12],白花蛇舌草水提物可以影响T细胞及B细胞的增殖来影响免疫反应,亦有研究表明其可增强巨噬细胞的吞噬活性,增加NK细胞活性来促进正常小鼠的免疫反应^[13]。然而,检索近年来国内外文献发现,目前尚无针对“半边莲-白花蛇舌草”药对银屑病的有效化学成分、作用靶点、信号通路及生物学途径等具体机制的研究。故本研究旨在网络药理学的基础上明确“半边莲-白花蛇舌草”药对银屑病的作用机制、具体靶点及作用通路。

根据本次研究结果可知:首先,“半边莲-白花蛇舌草”药对治疗银屑病起关键作用的主要活性成分为槲皮素、木犀草素、山奈酚、刺槐素、 β 谷甾醇、环三烯酚等,其中槲皮素是半边莲、白花蛇舌草共有的有效活性成分,在“活性成分-交集靶标”的网络拓扑图中的度值最高,其是许多天然植物中富含的膳食类黄酮,有研究表明,Src家族酪氨酸激酶在银屑病发病中高度表达,而槲皮素可以明显抑制在病程中的上调,且可以抑制银屑病样小鼠模型中NF- κ B、IKK α 、NIK的表达以及促进TRAF3的表达而降低了血清中TNF- α 、IL-6和IL-17的水平,提高了谷胱甘

肽、过氧化氢酶和超氧化物歧化酶的活性来发挥抑制银屑病进展的作用^[14,15]。木犀草素对角质形成细胞和成纤维细胞以及多种免疫细胞具有抗氧化和抗炎活性,还在延缓皮肤衰老以及炎性皮肤病的治疗中发挥重要作用,尤其是对咪喹莫特诱导的BALB/c小鼠银屑病样病变中具有缓解作用,其机制不仅与抑制炎症介质IL-17A、IL-6、TNF- α 、IL-23相关,及NF- κ B信号通路相关,还能调节免疫反应,对于银屑病小鼠的免疫细胞,木犀草素降低Th1/Th2和Th17/Treg的比例,抑制外周血Th1和Th17的增加,抑制HSP90蛋白的表达和外泌体分泌、调节免疫细胞比例来减轻银屑病的皮损和症状^[16-18]。山奈酚干预银屑病皮损在研究主要集中在免疫细胞的调节上,其可显著减少银屑病皮损中CD3⁺T细胞浸润和主要促炎细胞因子(包括IL-6、IL-17A和TNF)的表达,且山奈酚还降低了银屑病小鼠脾脏和淋巴结中IL17A⁺/CD4⁺T细胞的百分比^[19]。通过本网络药理学预测的“半边莲-白花蛇舌草”的关键活性成分从调节免疫、抑制炎症介质等多途径发挥干预银屑病的作用,查阅相关文献均有基础研究证实相关预测,说明本预测准确性较高。

筛选出AKT1、JUN、MAPK1、RELA、HSP90AA1、IL6、ESR1、MAPK8、EGFR、MAPK14等10个核心靶蛋白,可能在“半边莲-白花蛇舌草”药治疗银屑病的

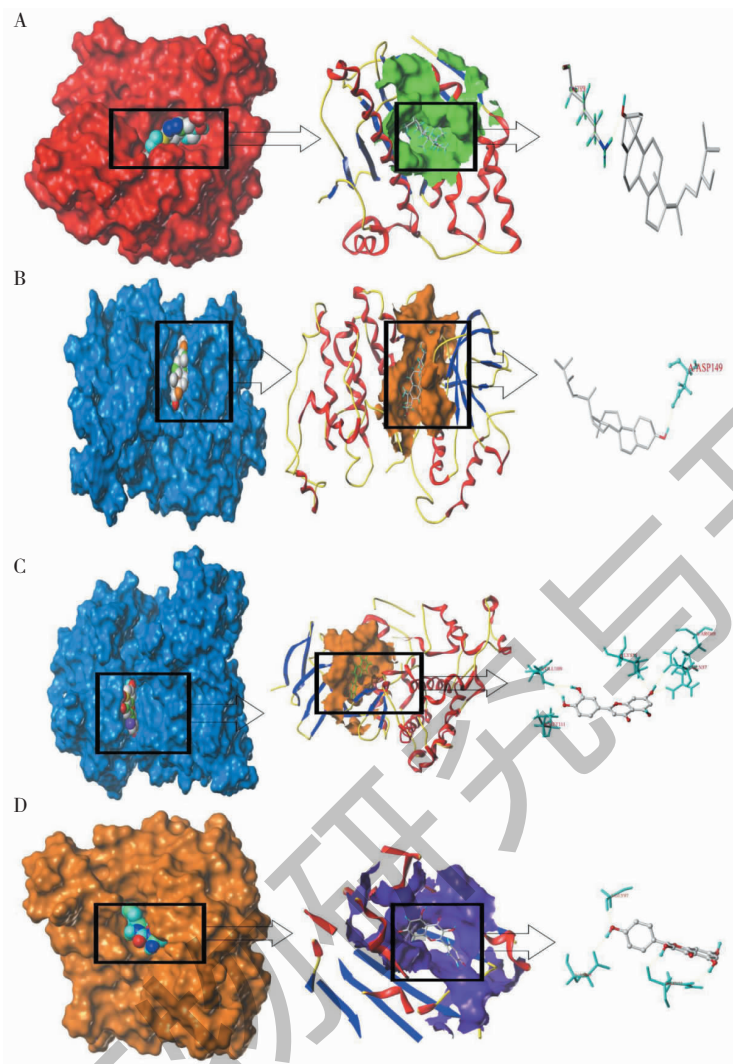


图7 “半边莲-白花蛇舌草”中关键活性化合物与PPI核心靶蛋白分子对接情况

Fig. 7 Docking of key active compounds and PPI core target protein molecules in “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba”

注:图左侧表示“半边莲-白花蛇舌草”药对活性成分配体结构与PPI核心靶受体蛋白的表现结合模式图,可见配体分子被镶嵌在蛋白中;图中间为加工后的直径为5Å的蛋白活性口袋对配体分子的包裹情况,彩色飘带表示修饰后的蛋白主链,彩色囊性结构为活性口袋,分子结构为活性物质成分;图右侧为活性分子与核心靶蛋白氨基酸残基的对接情况,配体与氨基酸残基之间的黄色虚线为其相互联系的氢键。
Note: The picture on the left indicates the apparent binding of the “Lobeliae Chinensis Herba-Hedyotis Herba” drug pair to the active allosteric structure to the PPI core target receptor protein, and the ligand molecules are embedded in the proteins; The middle picture indicates the wrapping of the ligand molecules by the processed 5Å diameter protein active pocket, the colored ribbon represents the modified protein backbone, the colored cystic structure as the active pocket, and the molecular structure as the active material components; The picture on the right shows the docking of the active molecule with the amino acid residues of the core target, and the dashed yellow dashed line between the ligand and amino acid residues is its interconnected hydrogen bond.

过程中起重要作用。AKT1为PI3K通路的下游关键结构,AKT1在银屑病皮损的表皮层高度活化,其磷酸化激活一系列功能不同的蛋白质复合物,包括mTOR,mTOR激酶的上调已在银屑病患者皮损中得到证实^[20]。丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)是一种丝氨酸苏氨酸蛋白激酶,在许多的炎症性疾病和自身免疫疾病中都发挥着重要的作用,其中c-Jun氨

基末端激酶是其重要的一条亚通路,c-Jun的活化可以并激发炎症因子IL-6的产生,从而加剧银屑病皮损处的炎症反应^[21]。RELA转录因子在角质形成细胞的增殖和分化细胞的应激反应过程中起着核心作用,RELA的磷酸化促进p65的表达而增强NF-κB的激活,从而加强淋巴细胞、内皮细胞、树突细胞和角质形成细胞的过度增殖^[22]。在分子模拟对接

的结果中,半数的筛选活性靶蛋白与“半边莲-白花蛇舌草”的关键活性成分具有较优的活性对接,说明反向验证支持预测结果,本研究具有一定意义的参考价值,其中 HSP90AA1 受体蛋白表现出的平均对接活性最佳,HSP90AA1 是休克蛋白家族中的重要一员,与细胞凋亡、分裂以及新生血管生成密切相关^[23],但目前与银屑病的发病相关的基础研究尚缺乏充分的文献支持,有研究表明^[24],热休克蛋白会影响先天性和适应性免疫反应,并且其抗体对调节性 T 细胞的直接刺激作用及其对角质形成细胞的抗增殖作用,使得其有望成为银屑病等相关自身免疫性皮肤病的潜在治疗靶点。

本研究中 KEGG 通路富集分析中,“半边莲-白花蛇舌草”药对于干预银屑病的共同靶点的基因功能主要富集在主要涉及缺氧诱导因子通路、PI3K-Akt、肿瘤坏死因子(TNF)通路、IL-17、Th17 细胞分化、VEGF 相关信号通路、Th1 和 Th2 细胞分化等信号通路,与血管生成、炎症反应、免疫介导密切关系的信号通路上。缺氧诱导因子(HIF-1 α)的增加参与银屑病的发病,上皮角质形成细胞中的增加可能有助于促进血管生成和皮肤炎症^[25]。PI3K/Akt 构成了包括皮肤在内的重要细胞内信号通路,在银屑病的发展中起着关键作用,并且 PI3K/Akt 途径在诱导角质形成细胞(HIF-1 α)表达中的发挥关键作用^[26]。从免疫调节的相关预测通路来看,银屑病是一种与 Th17 细胞和 IL-17A 介导的炎症相关的慢性皮肤疾病,Th1 和 Th17 的活化促进了角质形成细胞的增殖,迁移和侵袭从而加速疾病的进展,且多数单抗生物制剂针对其而发挥作用,从而阻断下游 IL-17、TNF- α 等炎症介质而延缓发病^[27]。血管内皮生长因子在多种炎症性免疫介导的疾病的发病机理中起着至关重要的作用,近年来有学者提出抗血管生成疗法^[28],并研究发现,某些银屑病疗法可降低皮损斑块的乳头状真皮中循环的 VEGF-A 水平并使相关的血管病理正常化^[29],VEGF-A 及其通过其受体的信号传导可能是潜在的银屑病干预途径。银屑病是一种病因尚未清楚的慢性炎症性皮肤病,表皮增殖过度以及新血管生成是目前被广泛认可的发病机制,与本研究的预测之信号通路存在多数重叠性。

综上所述,本研究基于网络药理学及分子模拟对接的方法以“半边莲-白花蛇舌草”药对为研究对象,基于口服生物利用度筛选活性成分及作用靶点,综合分析其干预银屑病的生物学途径及通路,并用

反向分子对接进行验证,得出活性成分干预银屑病涉及多通路及途径,多数结果查阅文献有相关循证基础研究的支持,部分靶点目前证据尚不充分,其具有潜在性,可进一步实验验证。然而局限性亦存在,本研究基于药物数据库筛选药物活性成分,预测的准确性对数据库的完整性有所依赖,其次,本研究结果仅是一种理论上的作用机制的探讨,仍需通过进一步实验来验证药物作用的具体机制。

参考文献

- 1 Talotta R, Atzeni F, Sarzi-Puttini P, et al. Psoriatic arthritis: From pathogenesis to pharmacologic management [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 148: 104394.
- 2 Li J, Yu M, Wang YW, et al. Prevalence of psoriasis and associated risk factors in China: protocol of a nationwide, population-based, cross-sectional study [J]. *BMJ Open*, 2019, 9: e027685.
- 3 Herman A, Herman AP. Topically used herbal products for the treatment of psoriasis-mechanism of action, drug delivery, clinical studies [J]. *Planta Med*, 2016, 82: 1447-1455.
- 4 Jiang NL, Xi JY, Li XP, et al. Clinical observation on the treatment of the static and stop period of common type hemorrhagia with kaopotriol ointment [J]. *J Hunan Univ Chin Med (湖南中医药大学学报)*, 2016, 36: 55-57.
- 5 Ruan XM, Yu Y, Hu L. Analysis on the mechanism of network pharmacology of the treatment of gastric cancer [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med (中华中医药学刊)*, 2020, 38: 176-180.
- 6 Zhang R, Zhu X, Bai H, et al. Network pharmacology databases for traditional Chinese medicine: review and assessment [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 123.
- 7 Chen BW, Yi J, Liu BY, et al. Molecular mechanism of Astragalus Radix and Ligustri Lucidi Fructus herb pair in the treatment of Alzheimer's disease based on network pharmacology and molecular docking [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2020, 32: 2040-2050.
- 8 Shen F, Shen LL, Lu M, et al. Potential molecular mechanism of Zhufeng Tougu capsule in treating rheumatoid arthritis and osteoarthritis based on network pharmacology and molecular docking technology [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med (世界科学技术-中医药现代化)*, 2020, 22: 3526-3537.
- 9 Shen Fu, Fu ZY, Wu YR, et al. Study on the potential molecular mechanism of intervention COVID-19 of active compounds bound SARS-CoV-2 specific target proteins in Jinhua Qinggan granules based on network pharmacology and high-

- throughput molecular docking [J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med (世界科学技术-中医药现代化), 2020, 22: 622-631.
- 10 Jesús-Gil CD, Nicolás LSS, Ruiz-Romeu E, et al. Specific IgA and CLA (+) T-Cell IL-17 response to *Streptococcus pyogenes* in psoriasis [J]. J Invest Dermatol, 2020, 140: 1364-1370.
 - 11 Folquitto DG, Swiech J, Pereira CB, et al. Biological activity, phytochemistry and traditional uses of genus *Lobelia* (Campanulaceae): A systematic review [J]. Fitoterapia, 2019, 134: 23-38.
 - 12 Li KC, Ho YL, Huang GJ, et al. Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of *Lobelia chinensis* *in vitro* and *in vivo* [J]. Am J Chin Med, 2015, 43: 269-287.
 - 13 Gao X, Li C, Tang YL, et al. Effect of *Hedyotis diffusa* water extract on protecting human hepatocyte cells (LO2) from H₂O₂-induced cytotoxicity [J]. Pharm Biol, 2016, 54: 1148-1155.
 - 14 Chen H, Lu C, Liu H, et al. Quercetin ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice via the NF- κ B pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2017, 48: 110-117.
 - 15 Sundarajan S, Nandakumar MP, Prabhu D, et al. Conformational insights into the inhibitory mechanism of phyto-compounds against Src kinase family members implicated in psoriasis [J]. J Biomol Struct Dyn, 2020, 38: 1398-1414.
 - 16 Lv J, Zhou D, Wang Y, et al. Effects of luteolin on treatment of psoriasis by repressing HSP90 [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 79: 106070.
 - 17 Zhou W, Hu M, Zang X, et al. Luteolin attenuates imiquimod-induced psoriasis-like skin lesions in BALB/c mice via suppression of inflammation response [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 131: 110696.
 - 18 Gendrisch F, Esser PR, Schempp CM, et al. Luteolin as a modulator of skin aging and inflammation [J]. Biofactors, 2021, 47: 170-180.
 - 19 Liu C, Liu H, Lu C, et al. Kaempferol attenuates imiquimod-induced psoriatic skin inflammation in a mouse model [J]. Clin Exp Immunol, 2019, 198: 403-415.
 - 20 Xie X, Zhang L, Li X, et al. Liangxue Jiedu Formula improves psoriasis and dyslipidemia comorbidity via PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 591608.
 - 21 Wei Z, Li T, Sun Y, et al. Daturaturin A, a withanolide in *Datura metel* L., induces HaCaT autophagy through the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway [J]. Phytother Res, 2021, 35: 1546-1558.
 - 22 Moorchung N, Vasudevan B, Mani NS, et al. Expression of tumor necrosis factor- α and nuclear factor-kappaB/RelA and the pathogenesis of psoriasis [J]. Indian J Pathol Microbiol, 2014, 57: 205-208.
 - 23 Zuehlke AD, Beebe K, Neckers L, et al. Regulation and function of the human HSP90AA1 gene [J]. Gene, 2015, 570: 8-16.
 - 24 Tukaj S, Mantej J, Sobala M, et al. Therapeutic implications of targeting heat shock protein 70 by immunization or antibodies in experimental skin inflammation [J]. Front Immunol, 2021, 12: 614320.
 - 25 Zhu WJ, Li P, Wang L, et al. Hypoxia-inducible factor-1: A potential pharmacological target to manage psoriasis [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 86: 106689.
 - 26 Xiao Q, Ying J, Qiao Z, et al. Exogenous hydrogen sulfide inhibits human melanoma cell development via suppression of the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. J Dermatol Sci, 2020, 98: 26-34.
 - 27 Zhou F, Zhu Z, Gao J, et al. NFKB1 mediates Th1/Th17 activation in the pathogenesis of psoriasis [J]. Cell Immunol, 2018, 331: 16-21.
 - 28 Marina ME, Roman II, Constantin AM, et al. VEGF involvement in psoriasis [J]. Clujul Med, 2015, 88: 247-252.
 - 29 Luengas-Martinez A, Hardman-Smart J, Paus R, et al. Vascular endothelial growth factor-A as a promising therapeutic target for the management of psoriasis [J]. Exp Dermatol, 2020, 29: 687-698.