

# 基于网络药理学及分子对接的三黄泻心汤抗细菌感染机制研究

徐明鑫<sup>1</sup>, 陈双扣<sup>1\*</sup>, 谭小庆<sup>1</sup>, 唐倩<sup>1</sup>, 任风鸣<sup>2</sup><sup>1</sup>重庆科技学院 化学化工学院, 重庆 401331; <sup>2</sup>重庆市药物种植研究所, 重庆 408435

**摘要:** 基于网络药理学及分子对接技术探寻三黄泻心汤治疗细菌感染的作用机制。通过 TCMSp 数据库检索三黄泻心汤的活性成分和作用靶点, 与 OMIM、GeneCards 数据库获得的细菌感染相关的靶点进行比对, 筛选出三黄泻心汤治疗细菌感染的潜在作用靶点; 利用 STRING 数据库和 Cytoscape3.7.2 软件构建蛋白互作网络并进行拓扑学分析; 采用 DAVID 数据库进行 GO 和 KEGG 富集分析; 最后运用 AutoDock-Vina 软件对主要活性成分和关键靶点进行分子对接研究。结果表明, 三黄泻心汤中治疗细菌感染的活性成分 46 个, 靶点 83 个; 5 个主要活性成分为槲皮素、黄芩素、汉黄芩素、刺槐素和芦荟大黄素, 关键靶点 RAF1、RELA、PRKCA、CCND1 和 GSK3B 通过调控 MAPK、TNF、NF- $\kappa$ B、Toll 样受体等信号通路发挥治疗作用; 分子对接结果显示三黄泻心汤的主要活性成分与关键靶点均有很好的结合作用。本文初步探索了三黄泻心汤的活性成分和作用靶点, 为探究其抗细菌感染作用机制奠定了基础。

**关键词:** 三黄泻心汤; 细菌感染; 网络药理学; 分子对接; 作用机制

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)Suppl-0109-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.S.016

## Study on anti-bacterial infection mechanism of Sanhuangxiexin decoction based on network pharmacology and molecular docking

XU Ming-xin<sup>1</sup>, CHEN Shuang-kou<sup>1</sup>, TAN Xiao-qing<sup>1</sup>, TANG Qian<sup>1</sup>, REN Feng-ming<sup>2</sup><sup>1</sup>Department of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University of Science and Technology, Chongqing 401331, China;<sup>2</sup>Institute of Medicinal Plant Cultivation, Chongqing 408435, China

**Abstract:** To explore the mechanism of Sanhuangxiexin decoction in the treatment of bacterial infection based on network pharmacology and molecular docking technology. The active ingredients and action targets of Sanhuangxiexin decoction were searched by TCMSp database. The potential action targets of Sanhuangxiexin decoction in the treatment of bacterial infection were screened out by comparing with the targets related to bacterial infection in OMIM and GeneCards databases. STRING database and Cytoscape 3.7.2 software were used to construct the protein interaction network and perform topological analysis. GO and KEGG enrichment analysis were performed by using DAVID bioinformatics database. Molecular docking of main active ingredients and key targets was finally performed using Autodock-vina software. The results showed that 46 active ingredients and 83 targets of Sanhuangxiexin decoction for the treatment of bacterial infection. The 5 main active ingredients were quercetin, baicalein, wogonin, acacetin and aloe-emodin. The key targets RAF1, RELA, PRKCA, CCND1 and GSK3B played therapeutic roles by the regulation of MAPK, TNF, NF- $\kappa$ B, Toll-like receptors and other signaling pathways. The molecular docking results showed that the main active ingredients of Sanhuangxiexin decoction had good binding effects with the key targets. In this paper, the active ingredients and action targets of Sanhuangxiexin decoction were preliminarily explored, which laid a foundation for exploring the mechanism of its anti-bacterial infection.

**Key words:** Sanhuangxiexin decoction; bacterial infection; network pharmacology; molecular docking; mechanism

细菌感染是当全身免疫功能降低时, 外界侵入的细菌迅速繁殖所引起的一类疾病, 严重时甚至威

胁人类生命<sup>[1]</sup>。虽然抗生素的发现为人类的健康作出了巨大贡献, 但是由于人类长期滥用抗生素, 导致细菌产生了耐药性, 甚至成为“超级细菌”, 使得目前几乎所有的抗生素都无法将其杀灭。而传统中药以其特有的作用机制和科学内涵, 在治疗细菌耐

收稿日期: 2021-03-23

接受日期: 2021-04-20

基金项目: 重庆市科技局渝渝科技合作项目 (cstc2020jsex-lyjsA0030)

\* 通信作者 Tel: 86-013272877950; E-mail: cskcn@yeah.net

药性方面具有毒副作用小、不易产生耐药性的优点,为运用现代研究方法探究抗细菌感染机制提供了科学依据。

中医认为感染性疾病是机体正气虚损、邪毒内侵所致,常用清热解毒、祛邪扶正法治之。目前,抗感染中药方剂在临床上已经得到了较广泛的应用,不仅具有直接杀灭或抑制细菌和增强免疫力的功能,而且对特定的感染具有多方面综合作用,疗效甚佳<sup>[2]</sup>。三黄泻心汤出自《金匱要略》,在古代被誉为绿色“抗生素”,由大黄、黄芩、黄连三味中药组成,方中大黄为泻下杀菌药,有降脂降压泻下、抗菌作用,黄连为清热药、黄芩为清热燥湿药,有抗菌、利尿镇静降压等作用,三药配伍,最善清泻三焦之火热,以治疗感染性疾病。

目前已有研究表明三黄泻心汤具有良好的抗细菌感染作用,Wei等<sup>[3]</sup>研究了三黄泻心汤以及开发的剂型三黄分散片对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑菌作用,结果表明,二者均有抑菌且抑菌作用无显著差异( $P > 0.05$ )。Qin等<sup>[4]</sup>研究了三黄泻心汤及方中各单味药水煎液的体外抗菌作用,发现三黄泻心汤对黑曲霉的抑菌作用大于各单味药的分煎液,分煎液对大肠杆菌的抑菌作用大于合煎液,二者对金黄色葡萄球菌、白色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌均有抑制作用。但细菌感染是存在多条分子信号通路且与多个基因相关的复杂疾病,使得采用传统的研究方法难以探究三黄泻心汤治疗细菌感染的作用机制。

网络药理学融合了层次网络构建与分析、生物信息学、计算生物学等新兴学科,可以从单一靶标、单一途径的研究形势转变为整体、系统的形式来探索药物、靶点、疾病之间的关联,与中医的整体观念相吻合<sup>[5,6]</sup>。网络药理学与中药研究的结合有助于辨识活性成分、预测作用靶点、阐明作用机制,为挖掘新的活性化合物奠定基础<sup>[7]</sup>。本研究拟以三黄泻心汤中的中药活性成分为研究对象,综合运用网络药理学和分子对接等研究方法,通过构建活性成分-靶点-作用通路网络,筛选出关键靶点和通路,为进一步探寻三黄泻心汤治疗细菌感染的作用机制提供新的思路和方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 活性成分筛选与药物靶点预测

在中药系统药理学数据库与分析平台(TCM-SP, <http://tcmssp.com/tcmssp.php>)查询三黄泻心汤

中大黄、黄芩、黄连所含化学成分,以口服生物利用度(oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$ ,类药性(drug-like, DL)  $\geq 0.18$ 作为筛选条件<sup>[8]</sup>,得到三黄泻心汤潜在活性成分,并通过其 Related Targets 预测药物的相关靶点,采用 Perl 语言对靶点的名称进行标准化处理。

### 1.2 三黄泻心汤治疗细菌感染潜在作用靶点的筛选

以“bacterial infection”为关键词,通过 OMIM 数据库(<https://www.omim.org/>)和 GeneCards 数据库(<http://www.genecards.org/>)检索治疗细菌感染的相关靶点,合并后去重,得到细菌感染的治疗靶点。再与“1.1”中的药物靶点进行比对,得到二者的共同靶点,即三黄泻心汤治疗细菌感染的潜在作用靶点。

### 1.3 构建蛋白互作网络(PPI)

将筛选得到的药物-疾病共同靶点导入 STRING 数据库(<https://string-db.org/>, Version 10.5)进行分析,限定物种来源“Homo sapiens”,参数“high confidence”设为 0.9,勾选“hide disconnected nodes in the network”,构建 PPI 网络,保存 TSV 格式文件。

### 1.4 构建活性成分-靶点-作用通路网络

利用 Cytoscape 3.7.2 软件进行可视化处理,获得“活性成分-靶点”网络图和“靶点-作用通路”网络图,通过其“Merge”插件将两个网络图相映射,构建“活性成分-靶点-作用通路”网络,再利用“Network Analyze”插件进行分析,以节点度值、介值均超过平均值的靶点作为关键靶点<sup>[9]</sup>。

### 1.5 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

将药物-疾病共同靶点输入 DAVID 数据库(<http://david.ncifcrf.gov/>),限定物种为“Homo sapiens”,校正所有靶基因名称为官方名称(official gene symbol),以  $P < 0.05$  为筛选指标进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析,并对富集分析结果进行可视化处理。

### 1.6 主要活性分子与关键靶点的分子对接

采用 AutoDock-Vina 软件<sup>[10]</sup>对预测的主要活性成分和关键靶点之间的相互作用关系进行验证,利用 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取活性分子的 3D 结构,转化为 pdbqt 格式,通过 RCSB PDB(<http://www.rcsb.org/pdb>)数据库获取关键靶点的 PDB ID,设置计算复杂度 exhaustiveness 为 20,以最低结合能为靶点蛋白和配体对接的结果,并使用 LigPlot<sup>+</sup> (Version v. 2.2)软件<sup>[11]</sup>对对接结果进行可视化处理。目前对于活性

分子的靶点筛选尚无统一标准,根据文献报道,选取结合能(binding energy)  $\leq -5.0$  kcal/mol 的活性成分作为三黄泻心汤治疗细菌感染靶点的筛选依据<sup>[12]</sup>,以评价网络分析预测的可靠性。

## 2 结果

### 2.1 活性成分与药物靶点的筛选结果

通过 TCMSMP 数据库收集三黄泻心汤中 3 味中

药的化合物,以  $OB \geq 30\%$ ,  $DL \geq 0.18$  为条件共筛选出活性成分 66 个,其中 20 个活性成分与疾病靶点无关联性,予以剔除,最终获得 46 个潜在活性成分,其中大黄 7 个,黄芩 30 个,黄连 9 个,活性成分基本信息见表 1。同时获得 46 个活性成分对应的靶点 369 个,通过 perl 语言对靶点加注释,得到各靶点对应的基因名。

表 1 三黄泻心汤活性成分的基本信息

Table 1 Basic information of active ingredients of Sanhuangxiexin decoction

序号 No.	中药 Chinese medicine	TCMSMP 编号 TCMSMP number	成分名称 Name of ingredient	OB(%)	DL
M1	大黄	MOL002235	Eupatin	50.80	0.41
M2	大黄	MOL002268	Rhein	47.07	0.28
M3	大黄	MOL002281	Toralactone	46.46	0.24
M4	大黄	MOL002297	Daucosterol_qt	35.89	0.70
M5	大黄、黄芩	MOL000358	Beta-sitosterol	36.91	0.75
M6	大黄	MOL000471	Aloe-emodin	83.38	0.24
M7	大黄	MOL000096	(-)-Catechin	49.68	0.24
M8	黄芩	MOL001689	Acacetin	34.97	0.24
M9	黄芩	MOL000173	Wogonin	30.68	0.23
M10	黄芩	MOL000228	(2R)-7-Hydroxy-5-methoxy-2-phenylchroman-4-one	55.23	0.20
M11	黄芩	MOL002714	Baicalcin	33.52	0.21
M12	黄芩	MOL002909	5,7,2,5-Tetrahydroxy-8,6-dimethoxyflavone	33.82	0.45
M13	黄芩	MOL002910	Carthamidin	41.15	0.24
M14	黄芩	MOL002913	Dihydrobaicalin_qt	40.04	0.21
M15	黄芩	MOL002914	Eriodictiol (Flavanone)	41.35	0.24
M16	黄芩	MOL002915	Salvigenin	49.07	0.33
M17	黄芩	MOL002917	5,2',6'-Trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone	45.05	0.33
M18	黄芩	MOL002925	5,7,2',6'-Tetrahydroxyflavone	37.01	0.24
M19	黄芩	MOL002927	Skullcapflavone II	69.51	0.44
M20	黄芩	MOL002928	Oroxilin A	41.37	0.23
M21	黄芩	MOL002932	Panicolin	76.26	0.29
M22	黄芩	MOL002933	5,7,4'-Trihydroxy-8-methoxyflavone	36.56	0.27
M23	黄芩	MOL002934	Neobaicalein	104.34	0.44
M24	黄芩	MOL002937	Dihydrooroxilin	66.06	0.23
M25	黄芩	MOL000359	Sitosterol	36.91	0.75
M26	黄芩	MOL000525	Norwogonin	39.40	0.21
M27	黄芩	MOL000552	5,2'-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone	31.71	0.35
M28	黄芩	MOL000073	Ent-epicatechin	48.96	0.24
M29	黄芩	MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76
M30	黄芩、黄连	MOL001458	Coptisine	30.67	0.86
M31	黄芩	MOL002879	Diop	43.59	0.39

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	中药 Chinese medicine	TCMSP 编号 TCMSP number	成分名称 Name of ingredient	OB(%)	DL
M32	黄芩、黄连	MOL002897	Epiberberine	43.09	0.78
M33	黄芩	MOL008206	Moslosooflavone	44.09	0.25
M34	黄芩	MOL010415	11,13-Eicosadienoic acid, methyl ester	39.28	0.23
M35	黄芩	MOL012245	5,7,4'-Trihydroxy-6-methoxyflavanone	36.63	0.27
M36	黄芩	MOL012246	5,7,4'-Trihydroxy-8-methoxyflavanone	74.24	0.26
M37	黄芩	MOL012266	Rivularin	37.94	0.37
M38	黄连	MOL001454	Berberine	36.86	0.78
M39	黄连	MOL002894	Berberrubine	35.74	0.73
M40	黄连	MOL002903	(R)-Canadine	55.37	0.77
M41	黄连	MOL002904	Berlambine	36.68	0.82
M42	黄连	MOL002907	Corchoroside A <sub>qt</sub>	104.95	0.78
M43	黄连	MOL000622	Magnograndiolide	63.71	0.19
M44	黄连	MOL000785	Palmatine	64.60	0.65
M45	黄连	MOL000098	Quercetin	46.43	0.28
M46	黄连	MOL002668	Worenine	45.83	0.87

## 2.2 三黄泻心汤治疗细菌感染潜在作用靶点的筛选结果

整合 OMIM 数据库、GeneCards 数据库获得的疾病相关靶点,删除重复值后与“2.1”小节中得到的活性成分对应靶点进行比对,得到 95 个共同靶点,

即三黄泻心汤活性成分治疗细菌感染的潜在作用靶点,其中 F7、PON1、EIF6、AHSA1、TEP1 等 12 个靶点在导入 STRING 后没有富集到相关通路上,故研究的潜在作用靶点为 83 个,详见表 2。

表 2 三黄泻心汤治疗细菌感染的潜在作用靶点

Table 2 Potential targets of active ingredients of Sanhuangxiexin decoction in the treatment of bacterial infection

No.	基因符号 Gene symbol	No.	基因符号 Gene symbol	No.	基因符号 Gene symbol
1	AR	29	PTGER3	57	ICAM1
2	ESR2	30	MCL1	58	SELE
3	PRSS1	31	VEGFA	59	VCAM1
4	NCOA2	32	FOS	60	NOS3
5	PTGS1	33	HIF1A	61	HSPB1
6	AKR1B1	34	FOSL1	62	MGAM
7	ESR1	35	AHR	63	CYP1B1
8	CHEK1	36	IGF2	64	ALOX5
9	PGR	37	CYCS	65	GSTP1
10	CHRM3	38	ACHE	66	NFE2L2
11	CHRM1	39	CACNA2D1	67	NQO1
12	CHRM2	40	CYP2C9	68	PARP1
13	BCL2	41	NR3C2	69	PSMD3
14	CASP9	42	PLAU	70	SLC2A4

续表 2 (Continued Tab. 2)

No.	基因符号 Gene symbol	No.	基因符号 Gene symbol	No.	基因符号 Gene symbol
15	CASP3	43	HTR3A	71	COL3A1
16	CASP8	44	ADRA2C	72	CHEK2
17	PRKCA	45	GRIA2	73	HSF1
18	TP63	46	EGFR	74	RUNX2
19	FASN	47	RB1	75	RASSF1
20	PRKCE	48	ELK1	76	CTSD
21	PCNA	49	NFKBIA	77	IGFBP3
22	MYC	50	RAF1	78	IRF1
23	CCNB1	51	RUNX1T1	79	ERBB3
24	PPARG	52	ERBB2	80	HK2
25	RELA	53	ACACA	81	RASA1
26	GSK3B	54	CYP3A4	82	GSTM1
27	CCND1	55	CAV1	83	GSTM2
28	IL6	56	CYP11A1		

### 2.3 蛋白互作网络分析

将 83 个药物-疾病共同靶点导入 STRING 平台,设置打分参数“high confidence”大于 0.9,剔出游离在主网络以外的靶点,获得三黄泻心汤治疗细菌感染潜在作用靶点的 PPI 网络图,如图 1 所示。该网络包含 83 个节点和 154 条边,平均节点度值

degree 为 3.24。其中节点代表靶点蛋白,边代表蛋白之间的相互作用关系,线条多少代表蛋白之间相互关联的强度大小,线条越多表示蛋白之间的关联度越大,degree 值代表某个节点与其他节点的连接线个数,其值越高,说明该节点在网络中处于越重要的位置。

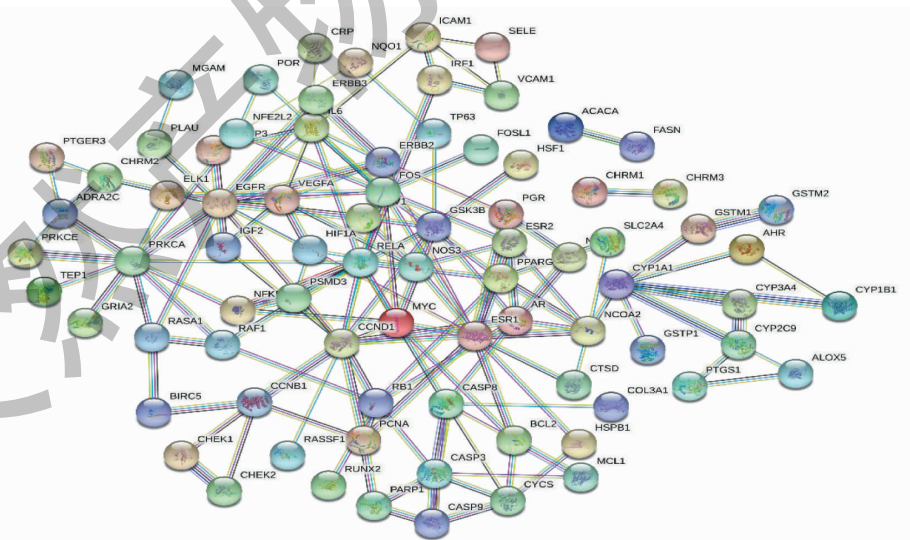


图 1 蛋白互作网络图

Fig. 1 Protein interaction network diagram

### 2.4 活性成分-靶点-作用通路网络构建

通过 Cytoscape 3.7.2 软件的“Merge”插件构建三黄泻心汤中药的活性成分-靶点-作用通路网络,

发现大黄、黄芩、黄连三味中药的 46 个活性成分通过调控 83 个靶点治疗细菌感染,比对到 156 条代谢通路上,如图 2 所示,其中三角形是活性成分,六边

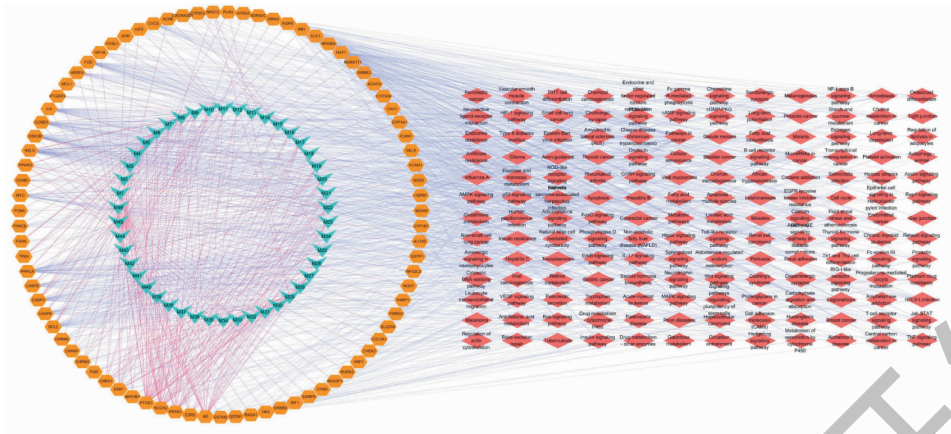


图2 活性成分-靶点-作用通路网络图

Fig. 2 Network diagram of active ingredient-target-action pathway

形是潜在作用靶点,菱形是作用通路。利用“Network Analyze”插件对构建网络进行分析,筛选出节点度值排名前15的靶点,如图3柱状图所示。进一步分析发现,活性成分中节点度值排名前5的分别是槲皮素(quercetin)、黄芩素(baicalein)、汉黄芩素(wogonin)、刺槐素(acacetin)、芦荟大黄素(aloe-emodin),可分别与63、16、16、11、11个蛋白靶点发生作用,揭示其可能是三黄泻心汤治疗细菌感染的

主要活性成分;节点度值排名前5的靶点分别是RAF1(RAF原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶)、RELA(转录因子p65)、PRKCA(蛋白激酶C $\alpha$ 型)、CCND1(G1/S特异性细胞周期蛋白D1)、GSK3B(糖原合成酶激酶-3 $\beta$ ),分别与69、61、51、46、42个化合物发生作用,说明这些靶点在整个网络中发挥重要作用,提示这些靶点可能是三黄泻心汤治疗细菌感染的

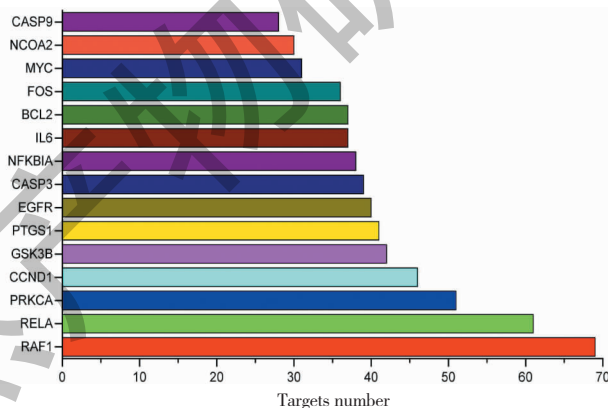


图3 关键靶点柱状图

Fig. 3 Histogram of key targets

## 2.5 GO功能富集分析与KEGG通路富集分析结果

利用DAVID 6.8数据库对83个潜在作用靶点进行GO功能富集分析,限定 $P < 0.05$ ,共得到115个GO条目,其中生物过程(BP)条目77个,细胞组分(CC)条目18个,分子功能(MF)条目20个;并进行KEGG通路富集分析,限定 $P < 0.05$ ,共得到76条代谢通路。根据 $P$ 值排序,选取 $P$ 值最显著的前

20个条目以柱状图的形式展现,如图4所示。分析结果显示,三黄泻心汤治疗细菌感染的生物过程主要涉及RNA聚合酶II启动子转录的正调控、DNA模板转录、RNA聚合酶II启动子转录的负调控等;细胞成分主要涉及细胞核、细胞质、细胞外空间等;分子功能主要涉及转录因子活性,序列特异性DNA结合、染色质结合、RNA聚合酶II核心启动子近端区域序列特异性DNA结合等;信号通路主要涉及乙



型肝炎 (hepatitis B) 信号通路、癌症 (pathways in cancer) 信号通路、前列腺癌 (prostate cancer) 信号通路、蛋白聚糖癌症 (proteoglycans in cancer) 信号通路等。其中与细菌感染有关的通路包括 MAPK 信号通路、TNF 信号通路、NF- $\kappa$ B 信号通路和 Toll 样受

体信号通路,表明三黄泻心汤的潜在作用靶点主要通过这些信号通路达到治疗细菌感染的目的。对于三黄泻心汤的药效,以前人们更关注其抗细菌感染的作用,通路分析结果也表明,其可能对治疗乙型肝炎和癌症等疾病也有较好的治疗作用。

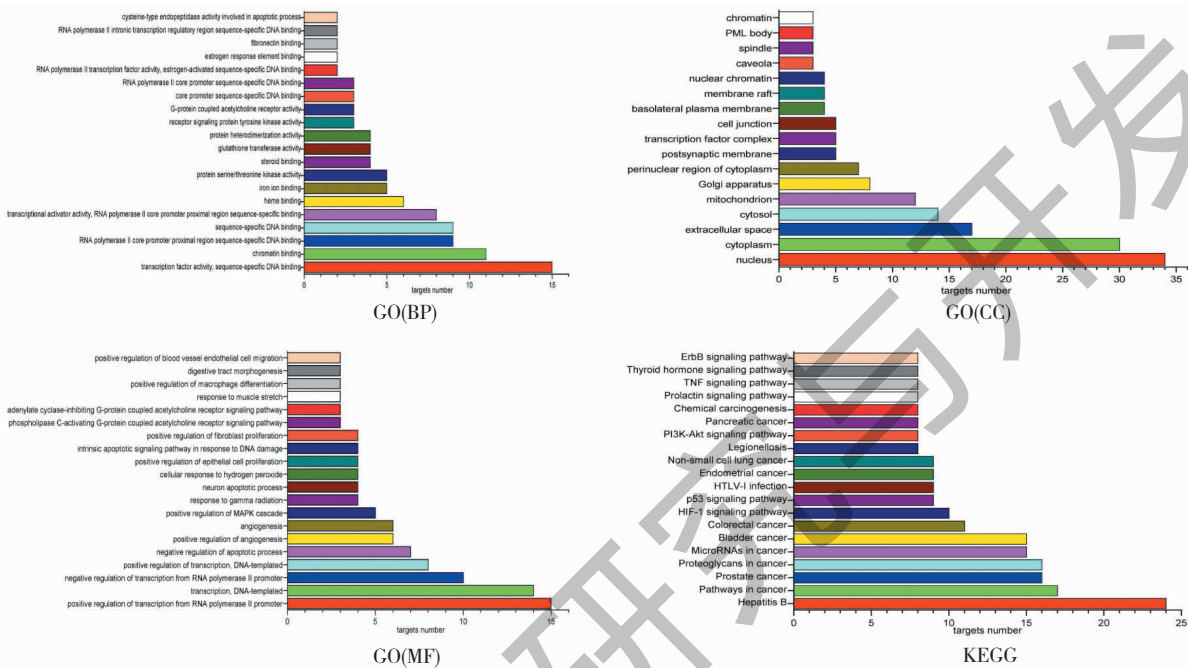


图4 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

Fig. 4 Go functional enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis

2.6 分子对接研究及相互作用分析

为了评价药物活性成分与对应靶点的结合能力,对三黄泻心汤的主要活性成分和关键靶点进行分子对接。一般认为,分子对接的结合能(binding energy) < 0,表明配体分子与受体蛋白能自发结合,结合能 < -5 kcal/mol,表明其结合性好,且结合能越小对接结果越好<sup>[13]</sup>。其中与靶标 RELA 和 CCND1

相关的靶点蛋白自对接结果均不理想,最终选择 RAF1、PRKCA、GSK3B 这 3 个靶点与 5 个活性成分进行分子对接验证。对接结果显示其结合能均小于 -5.0 kcal/mol 且与原配体结合能值相近,表明预测的三黄泻心汤活性成分与关键靶点能较好的结合,对接结果详见表 3。

表 3 分子对接结果

Table 3 Result of molecular docking

化合物 Compound	结合能 Binding energy(kcal/mol)		
	RAF (PDB ID:4mnf)	PRKCA (PDB ID:6bjo)	GSK3B (PDB ID:4ptc)
原配体 Ligand	-10.0	-8.0	-7.0
槲皮素 Quercetin	-9.1	-6.6	-6.8
黄芩素 Baicalein	-9.3	-7.1	-6.8
汉黄芩素 Wogonin	-8.6	-7.0	-7.1
刺槐素 Acacetin	-9.0	-6.7	-6.7
芦荟大黄素 Aloe-emodin	-8.9	-7.0	-7.6

从表3可以发现,靶点 RAF1(PDB ID:4mnf)与 baicalein 分子、PRKCA(PDB ID:6bjo)与 baicalein 分子、GSK3B(PDB ID:4ptc)与 aloe-emodin 分子的结合能最低,说明其具有较强的结合性。图5是通过 LigPlot<sup>+</sup> 软件对三个靶点与原配体之间的相互作用分析,图中绿色虚线表示氢键作用,红色弧形锯齿线表示具有疏水作用的残基。而图6是利用 LigPlot<sup>+</sup> 软件对 4mnf 与 baicalein 分子、6bjo 与 baicalein 分子、4ptc 与 aloe-emodin 分子的相互作用分析,由图6a可以发现,baicalein 分子可与 4mnf 蛋白的氨基酸片段 Cys532 形成氢键,同时与 Ser536、Phe583、Trp531 等8个残基形成疏水相互作用;图6b显示

baicalein 分子可与 6bjo 蛋白的氨基酸片段 Ile33、Ile35、Gly34、Gln91 形成氢键,同时与 Phe53、Ala87、Ile37 等5个残基形成疏水相互作用;同样的,aloe-emodin 分子能够占据由 Ile62、Asp133、Leu188 等11个残基形成的活性空腔,并与 Val135、Lys85 形成两个氢键,从而与 4ptc 蛋白发生相互作用(见图6c)。此外,由图5、图6的对比可以发现,每个靶点的氢键键长均有所增加,说明这三个活性分子与相应的靶点蛋白都存在一定的相互作用力,分子对接的结果与 Ligplot<sup>+</sup> 软件的分析结果也可以相互印证,进一步表明这些活性分子在抗细菌感染过程中发挥了至关重要的作用。

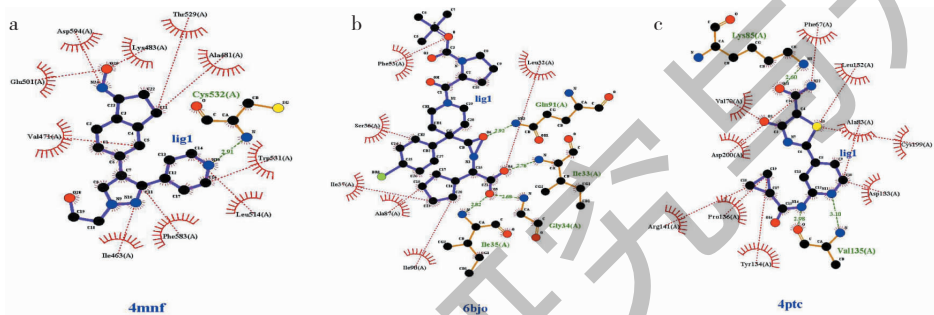


图5 靶点蛋白与原配体的相互作用

Fig. 5 The target protein interacts with the original ligand

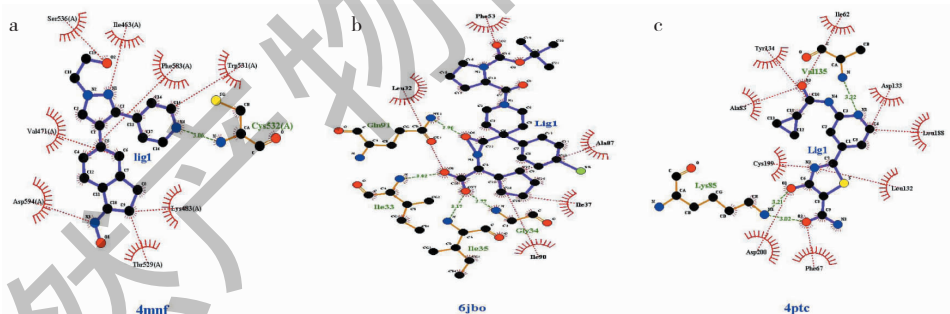


图6 靶点蛋白与活性成分的相互作用

Fig. 6 The target protein interacts with the active molecule

### 3 讨论与结论

中医学在防治感染性疾病方面有着独特优势,尤其是在一些耐药菌株、变异菌株不断产生的情况下,运用中医药防治取得了明显效果<sup>[14]</sup>。相关研究发现三黄泻心汤具有抗菌作用,但其有效成分及作用机制尚不清楚,因此,本研究基于多成分、多靶点作用的研究思路,综合运用网络药理学和分子对接的方法探究三黄泻心汤治疗细菌感染的活性成分、潜在作用靶点及其作用机制,为临床治疗提供新思

路。

本研究采用网络药理学的方法共筛选出三黄泻心汤活性成分46个,与细菌感染的交集基因共83个,对比到156条作用通路上,充分体现了中药治疗疾病多成分-多靶点-多通路的特点。从三黄泻心汤活性成分-靶点-作用通路网络中分析可知,节点度值排名前5的化合物分别是槲皮素(querceetin)、黄芩素(baicalein)、汉黄芩素(wogonin)、刺槐素(acacetin)和芦荟大黄素(aloe-emodin)。研究发现,



槲皮素对多种细菌都有抑制作用,例如大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、胶质芽孢杆菌、铜绿假单胞菌、肠球菌和沙门氏菌等,且对革兰氏阴性菌的抑菌性强于革兰氏阳性菌<sup>[15-17]</sup>。黄芩抗菌范围较广,体外试验证明,其煎剂对多种革兰染色阳性菌,革兰染色阴性菌及螺旋体等均有抑制作用,黄芩也具有抗真菌活性、对多种致病性真菌,如白色念珠菌,许兰毛癣菌等有一定抑制作用<sup>[18]</sup>。Li 等<sup>[19]</sup>研究发现芦荟大黄素具有抗炎作用,对真菌、细菌、病毒有明显的抑制作用。节点度值排名前5的靶点分别是 RAF1、RELA、PRKCA、CCND1 和 GSK3B。Honsa 等<sup>[20]</sup>研究发现临床相关的 RELA 突变是在 VRE(抗万古霉素肠球菌)感染期间出现,会导致反应的基线激活、产生抗生素耐受性以及免疫功能低下。相关研究发现 GSK3B 在宿主对病毒、真菌和寄生虫感染(包括疟疾)的反应方面发挥着重要的作用且 GSK3B 在细菌感染期间对宿主炎症反应的调节具有核心作用<sup>[21]</sup>。

三黄泻心汤治疗细菌感染的 GO 功能富集分析结果显示,抗细菌感染关键靶点主要通过 RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、DNA 模板转录、RNA 聚合酶 II 启动子转录的负调控等生物过程,在细胞核、细胞质、细胞外空间发挥作用。KEGG 通路富集分析发现,药物-疾病共同靶点涉及参与乙型肝炎、癌症、前列腺癌、蛋白聚糖癌症等信号通路,进一步分析发现,这些通路不仅有治疗细菌感染的作用,也可以用于治疗病毒性感染、炎症、肿瘤等疾病,关键靶点主要通过 MAPK 信号通路、TNF 信号通路、NF- $\kappa$ B 信号通路和 Toll 样受体信号通路达到治疗细菌感染的目的。此外,分子对接结果显示三黄泻心汤的主要活性成分与关键靶点均有较好的结合活性,相互作用分析发现,这些活性分子与关键靶点之间均具有一定的氢键相互作用与疏水作用,说明了对接结果的可靠性,表明这些活性分子可能具有较好的抗细菌感染效果。

综上所述,本文通过网络药理学初步探索了三黄泻心汤的活性成分、潜在作用靶点,涉及多个生物过程,分子和通路,体现了三黄泻心汤治疗白血病具有多成分、多靶点、多通路协同作用的特点。此外还预测了三黄泻心汤抗细菌感染的主要活性成分和关键靶点,并对其进行了系统的分子对接研究和相互作用分析,为后续对主要活性成分、关键靶点和作用通路等进行实验验证和药物开发提供了理论依据。

## 参考文献

- 1 Cui XR,Zhao JX,Guo YH,et al. Advances of researches on antibiosis function of traditional Chinese medicine with background of bacterial resistance[J]. World Chin Med(世界中医药),2016,11:1940-1944.
- 2 Zhang DL,Tang DF,Zheng Q,et al. Classification of Chinese materia medica with anti-infection [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2015,46:3771-3778.
- 3 Wei XF,Li JH,Guo YC. Observation on *in vitro* bacteriostasis of different dosage forms of Sanhuang Xiexin decoction [J]. J Chengde Med Coll(承德医学院学报),2006,23(1):14.
- 4 Qin YD,Xi XR,Liang GY,et al. Determination of baicalin in different decoctions of XieXinTang by HPLC and comparison of the antibacterial effects *in vitro* [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药),2006,17:2387-2389.
- 5 Li S. Framework and practice of network-based studies for Chinese herbal formula [J]. J Chin Integr Med(中西医结合学报),2007,5:489-493.
- 6 Li S. Network target;a starting point for traditional Chinese medicine network pharmacology [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志),2011,36:2017-2020.
- 7 Azike CG,Charpentier PA,Lui EM. Stimulation and suppression of innate immune function by American ginseng polysaccharides:biological relevance and identification of bioactives [J]. Pharm Res,2015,32:876-897.
- 8 Zong Y,Dong HL,Chen T,et al. Mechanism of herb pair containing Scutellariae Radix and Coptidis Rhizoma on treatment of type 2 diabetes mellitus based on network pharmacology [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2019,50:888-894.
- 9 Ma Y,Liu ZQ,Yi ZX,et al. Analysis of action mechanism of divaricate saphoshnikovia root-smoked plum on treatment of urticaria based on network pharmacology [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学),2019,36:2666-2672.
- 10 Trott O,Olson AJ. AutoDock Vina:improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function,efficient optimization and multithreading [J]. J Comput Chem,2010,31:455-461.
- 11 Laskowski RA,Swindells MB. LigPlot<sup>+</sup>: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery [J]. J Chem Inf Model [J]. 2011,51:2778-2786.
- 12 Xu NS,Zhuang L,Zhai YY,et al. Material basis and mechanism of Erzhi Pill for preventing osteoporosis based on network pharmacology [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志),2018,53:1913-1920.

- 13 Zhuang L, Zhai YY, Yao WF, et al. The mechanism study of protecting kidney of Erzhi pill based on network pharmacology[J]. Acta Pharm Sin, 2019, 54:877-885.
- 14 Feng QS. On the establishment of TCM infectionology[J]. J New Chin Med(新中医), 2005, 37(1):3-5.
- 15 Teng N. Studies on the antibacterial effect of quercetin *in vitro* and *in vivo*[D]. Harbin: Northeast Agricultural University(东北农业大学), 2015.
- 16 Fang W, Li YN, Cha XX, et al. Research on antibacterial activity of quercetin and astragaloside IV against multidrug resistance *Pseudomonas aeruginosa* (MDRPA) [J]. J Henan Med Coll(河南医学高等专科学校学报), 2015, 2: L119-121.
- 17 Qin XR, Zhang MJ, Gao XN, et al. Study on the antibacterial activity of quercetin[J]. Chem Bioeng(化学与生物工程), 2009, 4:55-57.
- 18 Zhang XP, Li ZF, Liu XG. Review in pharmacological study of baicalein [J]. Chin Pharm Bull(中国药理学通报), 2001, 17:711-713.
- 19 Li M, Du ZM. Research progress on pharmacological effects of aloe-emodin[J]. Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志), 2015, 9:765-768.
- 20 Honsa ES, Cooper VS, Mhaisen MN, et al. RelA Mutant *Enterococcus faecium* with multiantibiotic tolerance arising in an immunocompromised host [J]. mBio, 2017, 8(1): e02124-16-16.
- 21 Wang H, Kumar A, Lamont RJ, et al. GSK3 $\beta$  and the control of infectious bacterial diseases[J]. Trends Microbiol, 2014, 22:208-217.

(上接第 31 页)

- 4 Zhang LQ, Feng L, Jia Q, et al. Effects of  $\beta$ -glucosidase hydrolyzed products of harpagide and harpagoside on cyclooxygenase-2(COX-2) *in vitro*[C]. The 11th International Symposium on Chinese Medicine and Natural Medicinal Resources(第十一届全国重要和天然药物学研讨会), 2012: 48-59.
- 5 Paulina BB, Ana MDL, Ana MSS, et al. Effects of some iridoids from plant origin on arachidonic acid metabolism in cellular systems[J]. Planta Med, 2000, 66:324-328.
- 6 Liu B, Yu T, Han XL, et al. Research progress of anti-inflammatory effects and molecular mechanism of ginsenoside[J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2019, 54:253-258.
- 7 Jin YS, Chen ML, Tao J. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological effects of *Paeonia lactiflora* Pall. [J]. Chin J Pharmacol Toxicol(中国药理学与毒理学杂志), 2013, 27:745-749.