

基于网络药理学、定量构效关系、分子对接探讨甘草黄酮抗痤疮的分子机制

胡义¹, 王著显¹, 朱钊铭¹, 吴煜凡¹, 薛雅琪¹, 王媛¹, 曾泉富¹, 陈鸿楷¹, 郭颖琳¹, 梁佩仪¹, 朱红霞², 刘莉¹, 沈群¹, 江翠平¹, 申春燕¹, 刘强^{1*} (1.南方医科大学中医药学院, 广州 510515; 2.南方医科大学中西医结合医院, 广州 510315)

摘要: 目的 基于网络药理学、定量构效关系、分子对接探讨甘草黄酮抗痤疮可能的分子机制, 为该成分透皮制剂的开发提供依据。方法 通过网络药理学筛选出甘草黄酮抗痤疮的关键活性成分与靶点, 然后通过 HipHop 方法构建了甘草黄酮化合物活性的最佳 QSAR 药效团模型, 并推测出该药效团可能起决定性治疗作用的药效基团, 最后通过分子对接对该药效基团进行验证。结果 网络药理学研究表明 7-羟基黄酮、甘草内酯、9S,13R-12-oxophytodienoic acid、柚皮素、4'-甲氧基黄酮等化合物是甘草黄酮中抗痤疮的关键活性成分, CYP19A1、ALOX5 和 ESR1 是其抗痤疮的关键靶点。QSAR 药效团模型研究表明, 甘草黄酮的最优药效团由 1 个疏水基团, 2 个氢键受体基团组成。分子对接研究表明, 通过网络药理学筛选的活性化合物和靶蛋白具有较好的亲和力, 同时也发现通过 QSAR 构建的最优药效团模型可能是甘草黄酮抗痤疮中起决定性治疗作用的药效基团。结论 本研究成功建立了甘草黄酮的结构特性与其抗痤疮活性之间的构效关系, 为中药透皮制剂的开发和临床应用提供了理论指导。

关键词: 甘草黄酮; 网络药理学; 定量构效关系; 分子对接

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2022)08-1039-09

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.08.006

引用本文: 胡义, 王著显, 朱钊铭, 等. 基于网络药理学、定量构效关系、分子对接探讨甘草黄酮抗痤疮的分子机制[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(8): 1039-1047.

Molecular Mechanism of Licorice Flavonoids Anti-acne Based on Network Pharmacology, Quantitative Structure Activity Relationship, and Molecular Docking

HU Yi¹, WANG Zhuxian¹, ZHU Zhaoming¹, WU Yufan¹, XUE Yaqi¹, WANG Yuan¹, ZENG Quanfu¹, CHEN Hongkai¹, GUO Yinglin¹, LIANG Peiyi¹, ZHU Hongxia², LIU Li¹, SHEN Qun¹, JIANG Cuiping¹, SHEN Chunyan¹, LIU Qiang^{1*} (1.School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2.Hospital of Integrated Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510315, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the possible molecular mechanism of licorice flavonoids anti-acne based on network pharmacology, QSAR and molecular docking, and to provide reference for the preparation of its transdermal preparations. **METHODS** Firstly, the key active ingredients and targets of licorice flavonoids anti-acne through network pharmacology were screened out. Then, the optimal QSAR pharmacophore model for the activity of licorice flavonoids was constructed by the HipHop method, and the pharmacophore that might play a decisive therapeutic role was deduced. Finally, the pharmacophore was verified by molecular docking. **RESULTS** Network pharmacology studies showed that 7-hydroxyflavone, glabrolide, 9S,13R-12-oxophytodienoic acid, naringenin and 4'-methoxyflavone were key anti-acne active components in licorice flavonoids, and CYP19A1, ALOX5 and ESR1 are key anti-acne targets. The QSAR pharmacophore model studies showed that the optimal pharmacophore of licorice flavonoids consists of one hydrophobic group and two hydrogen bond acceptor groups. The molecular docking study showed that the active compounds screened by network pharmacology had a good affinity with the target protein, and the optimal pharmacophore model constructed by QSAR might be the decisive therapeutic pharmacophore of licorice flavonoids in anti-acne. **CONCLUSION** This study successfully established the structure-activity relationship between the structural properties and anti-acne activity of licorice flavonoids, which provides theoretical guidance for the development and clinical application of traditional Chinese medicine transdermal preparations.

KEYWORDS: licorice flavonoids; network pharmacology; quantitative structure activity relationship(QSAR); molecular docking

寻常痤疮是一种常见的慢性皮肤炎症性疾病, 通过影响皮肤的毛囊皮脂腺而引起炎症或非

炎症性病变^[1]。痤疮的病因复杂, 临床上治疗痤疮主要采用外用疗法(如类维甲酸、壬二酸和固定组

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81874346, 82074023); 广东省科技厅重大科技专项(2017B090912005)

作者简介: 胡义, 男, 博士生 E-mail: yihu0513@163.com *通信作者: 刘强, 男, 博士, 教授 E-mail: liuqiang@smu.edu.cn

合克林霉素磷酸盐和过氧化苯甲酰凝胶和维甲酸凝胶微球)和系统疗法(如抗菌药物、口服异维甲酸和抗雄激素药物,仅适用于女性)^[2-3]。由于痤疮的产生是痤疮丙杆菌刺激毛囊形成脓疱并伴随着周围组织的炎症,因此,与系统疗法相比,经皮治疗痤疮更为安全与有效。尽管,目前已有许多关于经皮治疗痤疮的研究,但很少有关于使用天然产物经皮给药治疗痤疮的相关报道。

近年来,天然产物因其潜在的药理活性而被广泛应用于医学和药理学研究^[4-5]。其中甘草黄酮是从甘草中提取的一种天然产物^[6]。研究表明,甘草黄酮具有抗炎、抗氧化、抑菌等作用^[7]; Dai 等^[8]报道甘草黄酮可抑制痤疮丙杆菌、白色念珠菌和金黄色葡萄球菌的生长。此外,本课题组前期研究发现,甘草黄酮可以通过调节代谢平衡和微生物平衡来治疗痤疮^[9]。然而,有关甘草黄酮治疗痤疮的分子机制仍不清楚。

网络药理学是系统生物学衍生的一门新学科,它结合计算机生物学和网络分析,其特点是可以多成分、多靶点、多途径的角度解释药物对复杂疾病的药理作用机制^[10-13]。定量构效关系(quantitative structure activity relationship, QSAR)是采用数理统计方法研究和揭示化合物活性与其分子结构或物理化学特征之间的定量变化规律,从而将这些“规律”用于评估新的化学实体^[13-14]。分子对接是一种通过配体与受体之间的相互作用来预测受体蛋白与配体分子之间结合姿态和亲和力的方法,可用于解释药靶之间的作用机制^[15]。

本研究通过网络药理学筛选甘草黄酮抗痤疮的关键活性成分与靶点,然后通过 HipHop 方法构建甘草黄酮的最佳 QSAR 药效团模型,并推测该药效团可能起决定性治疗作用的药效基团,最后通过分子对接对其进行验证,揭示甘草黄酮抗痤疮的分子机制,为中药透皮制剂的开发和临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 网络药理学

为了阐明甘草黄酮与痤疮相关靶点之间的复杂关系,采用网络药理学方法对其进行了分析。所有甘草黄酮化学成分均来自于本课题组先前的报道^[9],并利用 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)对化合物进行搜索并下载其结构,见表 1,以 SDF 格式保存。使用 Swiss 数据库

(<http://swisstargetprediction.ch/>)预测每个化合物的靶点。在 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)中搜索“Acne”以收集相关目标(relevance score ≥ 3)将活性成分的预测靶点与甘草黄酮的预测靶点绘制维恩图,取交集靶点(图 1),得到甘草黄酮抗痤疮的潜在靶点,将甘草黄酮治疗痤疮的潜在靶点输入 STRING 数据库(<https://string-db.org/>),将目标设为“Homo”,构建甘草黄酮抗痤疮潜在靶点的蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction network, PPI)图,见图 2。采用 DAVID 6.8 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)生成与潜在靶点相关的代谢通路^[16]。最后,利用 Cytoscape_v3.8.2 软件(<https://cytoscape.org/download.html>)构建与痤疮密切相关的 54 个化合物、30 个靶点和 10 个信号通路的“C-T-P”网络,阐明甘草黄酮抗痤疮的有效机制。其中,“C-T-P”网络图包含 93 个节点和 353 条边,这些节点分别表示化合物、靶点和信号通路。节点之间的关联用边表示,并基于度值分析节点之间的关联程度^[17]。

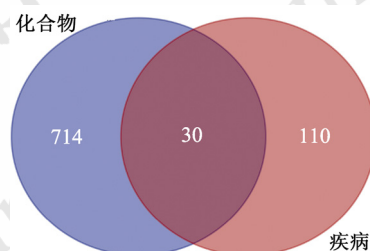


图 1 疾病预测靶点与化合物预测靶点的交集靶点

Fig. 1 Intersection of disease prediction targets and compound prediction targets

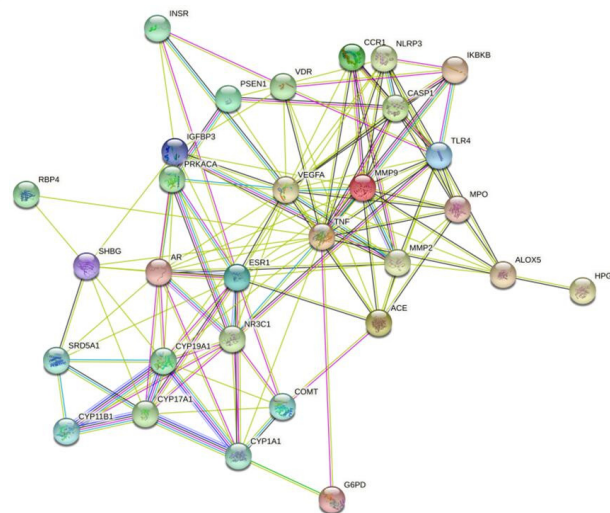


图 2 甘草黄酮抗痤疮潜在靶点的蛋白-蛋白相互作用图

Fig. 2 Protein-protein interaction map of potential anti-acne targets of licorice flavonoids

表 1 甘草黄酮的 74 个化合物

Tab. 1 74 compounds of flavonoids licorice

编号	化合物名字	Pubchem ID	编号	化合物名字	Pubchem ID
1	4',7-二羟基黄酮(4',7-dihydroxyflavanone)	1889	38	甘草查尔酮 A(licochalcone A)	5318998
2	大豆黄甙(glycitein)	5317750	39	甘草次酸(18- β -Glycyrrhetic acid)	3230
3	新奥巴韦异黄酮(neobavaisoflavone)	5320053	40	黄豆苷元(daidzein)	5281708
4	逆查尔酮(retrochalcone)	6442675	41	异甘草素(isoliquiritin)	5318591
5	甘草酸(glycyrrhizic acid)	14982	42	甘草酸二铵(diammonium glycyrrhizinate)	656656
6	osajin	95168	43	4'-甲氧基黄酮(4'-methoxyflavone)	77793
7	liquiritigenin-7-O- β -D-apiosyl-4'-O- β -D-glucoside	348881191	44	甘草内酯(glabrolide)	90479675
8	7-羟基黄酮(7-hydroxyflavone)	5281894	45	甘草黄酮 A(licoflavone A)	5319000
9	甘草苷(liquiritin)	503737	46	甘草酸二甲(dipotassium glycyrrhizinate)	656852
10	甘草素(liquiritigenin)	114829	47	异甘草素(isoliquiritigenin)	638278
11	光甘草酮(glabrone)	5317652	48	hispaglabridin B	15228661
12	甘草查耳酮 C(licochalcone C)	9840805	49	calycosin-7-O- β -D-glucoside	9840805
13	芥苣黄酮(mosloflavone)	471722	50	甘草查尔酮 B(licochalcone B)	5318999
14	mulberrin	5481958	51	kuwanon G	5281667
15	刺芒柄花素(formononetin)	5280378	52	亚麻酸乙酯(linolenic acid ethyl ester)	5367460
16	α -桐酸(α -eleostearic acid)	7850014	53	小檗碱(berberine)	2353
17	脯氨酸(proline)	2353	54	α,α -trehalose	3231
18	柚皮素(naringenin)	932	55	壬二酸(azelaic acid)	2266
19	4-香豆酸(4-coumaric acid)	637542	56	阿魏酸(ferulic acid)	445858
20	异槲黄素(5-O-methylgenistein)	5748551	57	sakuranetin	73571
21	十一酸睾酮(testosterone undecanoate)	65157	58	3-hydroxybenzoic acid	7420
22	异黄酮苷(daidzin)	107971	59	4-羟基香豆素(4-hydroxycoumarin)	54682930
23	补骨脂定(psoralidin)	5281806	60	nobiletin	72344
24	4-O-methylpinosylvic acid	67322417	61	新烟碱(anabasine)	2181
25	acetylcodeine	5486550	62	dodecanedioic acid	12736
26	乌索酸(ursolic acid)	64945	63	9-Oxo-10(E),12(E)-octadecadienoic acid	5283011
27	十六酰胺乙醇(palmitoyl ethanolamide)	4671	64	胆碱(choline)	305
28	oleoyl ethanolamide	5283454	65	硬脂酰胺(stearamide)	31292
29	8-prenylnaringenin	480764	66	kanzonol C	5316802
30	1-stearoylglycerol	22035687	67	9S,13R-12-oxophytodienoic acid	14037063
31	erysubin F	12051847	68	N,N'-diphenylguanidine	14657
32	花生四烯酸(arachidonic acid)	444899	69	7-demethylsuberosin	5316525
33	羟基棕榈酸(16-hydroxyhexadecanoic acid)	10466	70	7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydro-2H-chromen-5-yl β -D-glucopyranoside	387123206
34	十五烷酸(pentadecanoic acid)	13849	71	羽扇豆烯酮(lupenone)	92158
35	2,2'-methylenebis(4-methyl-6-tert-butylphenol)	8398	72	棕榈酸甲酯(methyl hexadecanoate)	8181
36	α -phenylpiperidine-2-acetamide	386330703	73	ritalinic acid	86863
37	corylin	5316097	74	姜酚(6-gingerol)	442793

1.2 基于分子共有结构构建药效团

本次网络药理学筛选的度值较高的前 5 个化合物进行共有药效团的构建。实验中所有化合物的结构均是通过 Pubchem 数据库收集的 3D 结构。采用 Discovery Studio 2019(BIOVIA, San Diego, USA)软件的 Full Minimization 模块对所有化合物进行能量最小化处理^[18]。采用 Discovery Studio 软件中的 Common Feature Pharmacophore Generation 模块进行 HipHop 药效团模型的构建。构建方法与笔者先前报道方法基本相同^[12]。简而言之,利用 Feature Mapping 对化合物分子进行特征元素的识别,再将所得的特征元素设定为 HipHop 所要考虑的药效特征元素,即氢键受体(hydrogen bond acceptor, HBA)、氢键供体(hydrogen bond donor, HBD)、疏水中心(H-region, H)、阳离子

基团(PI)和芳香环中心(R)等 5 项作为可能的药效团特征元素,设定每个药效元素的范围为 0~5。设置每个化合物产生的构象上限数 255 个,且只有同最低能构象的能量差值 $<10 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 的构象才可以被保存。经过运算后只保留 10 个得分最高的药效团模型^[19],并通过配体分析器热图对所建立的药效团模型进行验证。

1.3 分子对接验证

选择网络药理学筛选度值较高的前 5 个化合物为配体分子,通过网络药理学筛选度值较高的靶点作为受体蛋白进行分子对接的验证。所有用于分子对接的小分子化合物均是从 Pubchem 上下载其 3D 结构。Discovery Studio 2019 软件的 Full Minimization 模块用来最小化小分子的能量,并设置 CHARMm 力场来分配结构。优化后的最小结构被用作分子对

接的起始构象^[20]。使用 Discovery Studio 软件进行分子对接。对接分数 Libdockscore ≥ 90 则表明配体与受体亲和力强,更容易结合^[18]。对接键能越小,配体与蛋白质的复合物越稳定。其结合自由能可由公式(1)计算^[21]。

$$\Delta G_{\text{Binding}} = E_{\text{Complex}} - (E_{\text{Protein}} + E_{\text{Ligand}}) \quad (1)$$

2 结果与讨论

2.1 GO/KEGG 分析

将 30 个交集靶点输入到 DAVID 6.8 数据库进行 GO 和 KEGG 生物富集分析。GO 分析结果显示,所涉及的生物学过程主要包括 oxidation-reduction process、positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter、positive regulation of transcription, DNA-templated、signal transduction 和 inflammatory response 等过程。所涉及的细胞成分主要包括 extracellular exosome、plasma membrane、extracellular region 和 membrane 等。分子功能主要包括 protein binding、zinc ion binding、heme binding、iron ion binding 和 sequence-specific DNA binding 等。结果见图 3。

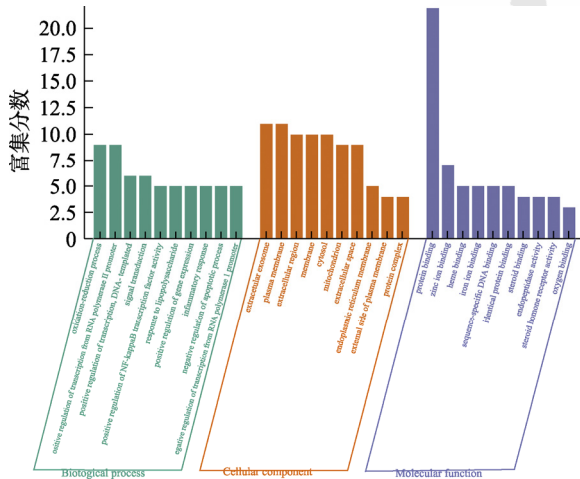


图 3 GO 功能富集结果条形图

生物过程、细胞成分和分子功能显著富集前 10。

Fig. 3 Bar graph of GO functional enrichment results
Biological process, cellular component and molecular function were significantly enriched in the top 10.

通过 KEGG 通路富集分析靶点信号通路,以 $P < 0.05$ 为阈值,依据 Count 值排序,筛选出 10 条与痤疮有关的信号通路,依据结果绘制高级气泡图,见图 4,纵坐标为信号通路,横坐标为富集分数。气泡大小以 Count 值表示,气泡越大,富集靶点越多。气泡颜色代表 P 值,以 $-\lg P$ 表示。KEGG 通路富集结果表明 Ovarian steroidogenesis、Steroid

hormone biosynthesis、NOD-like receptor signaling pathway、strogen signaling pathway 等可能是甘草黄酮抗痤疮的关键通路。此外,CYP19A1、ALOX5、ESR1 等关键靶点调控多个关键通路发挥抗痤疮作用。

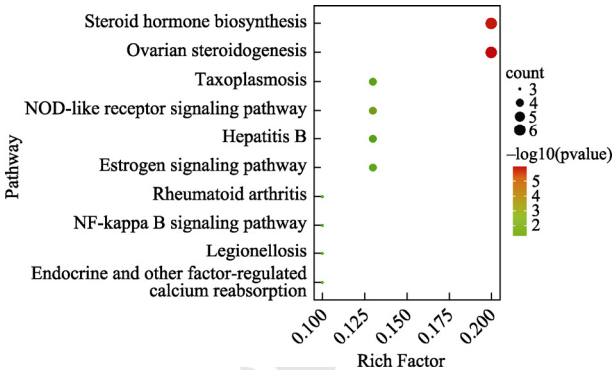


图 4 KEGG 通路富集结果气泡图

Fig. 4 Bubble chart of KEGG pathway enrichment results

2.2 C-T-P 网络的构建

为了更好地发现甘草黄酮治疗痤疮的分子机制,使用 Cytoscape 3.8.2 建立 C-T-P 网络图(图 5)并通过直方图对其成分和靶点进行度值分析,结果见表 2~3、图 6。

表 2 甘草黄酮中可能有效的前 10 的化合物

Tab. 2 Top 10 compounds in licorice flavonoids that may be effective.

Pubchem ID	化合物	度值
5281894	7-羟基黄酮(7-hydroxyflavone)	11
90479675	甘草内酯(glabrolide)	11
14037063	9S,13R-12-oxophytodienoic acid	10
932	柚皮素(naringenin)	9
77793	4'-甲氧基黄酮(4'-methoxyflavone)	9
5367460	亚麻酸乙酯(linolenic acid ethyl ester)	8
114829	甘草素(liquiritigenin)	8
503737	甘草苷(liquiritin)	8
444899	花生四烯酸(arachidonic acid)	8
471722	莽草黄酮(mosloflavone)	8

表 3 甘草黄酮抗痤疮前 10 的潜在靶点

Tab. 3 Top 10 potential targets of licorice flavonoids anti-acne

潜在靶点	度值
CYP19A1	43
ALOX5	29
ESR1	28
SHBG	23
AR	22
MMP9	15
MMP2	13
INSR	10
IKKB	10
NR3C1	9

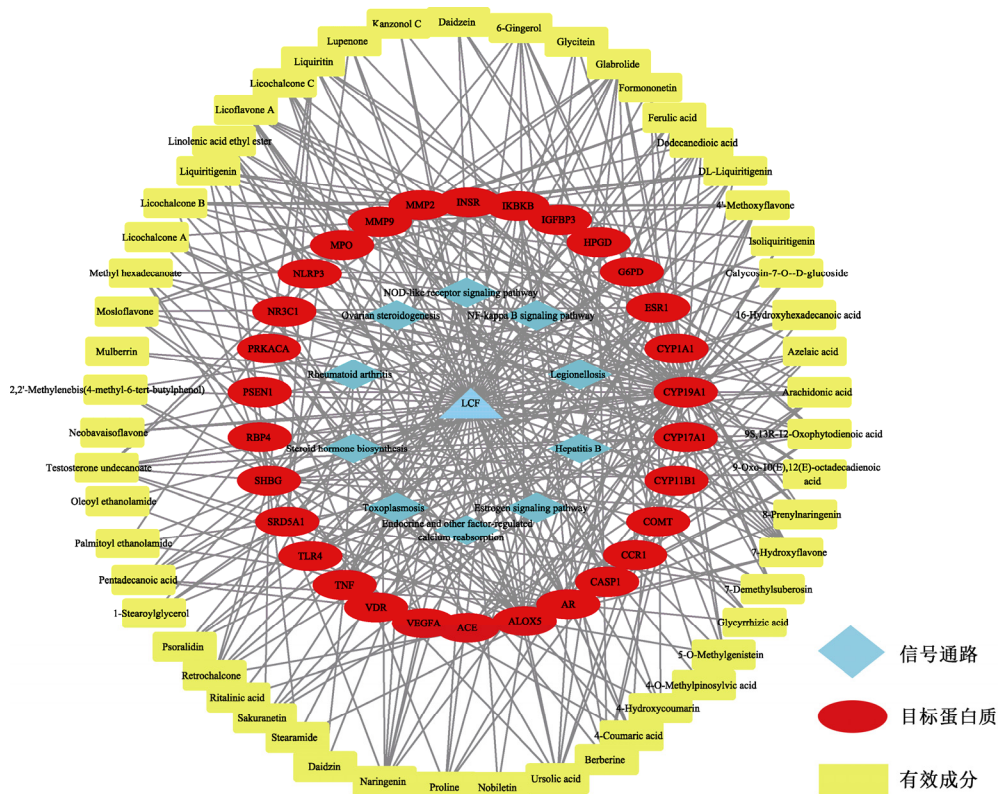


图 5 化合物-靶点-信号通路网络图

Fig. 5 Compound-target-pathway network diagram

图 6 中 7-羟基黄酮(7-hydroxyflavone)、甘草内酯(glabrolide)、9S,13R-12-oxophytodienoic acid、柚皮素(naringenin)、4'-甲氧基黄酮(4'-methoxyflavone)、亚麻酸乙酯(linolenic acid ethyl ester)、甘草素(liquiritigenin)、甘草苷(liquiritin)、花生四烯酸(arachidonic acid)、mosloflavone 等活性成分的度值较高,说明这些活性成分在抗痤疮过程中发挥重要作用。甘草黄酮抗痤疮的潜在靶点 CYP19A1、

ALOX5 和 ESR1 等靶点的度值较高,表明这些靶点可能是治疗痤疮的关键靶点。其中, CYP19A1 是细胞色素 P450 家族的基因,可通过调控雄激素/雌激素的平衡,来控制痤疮的形成^[22]。ALOX5 是编码脂氧合酶的一个基因,可调控花生四烯酸合成白三烯,进而通过白三烯来调控痤疮的发生与发展^[23]。ESR1 基因是编码雌激素受体和配体激活的转录因子,可通过调控血清中雌激素的分泌,

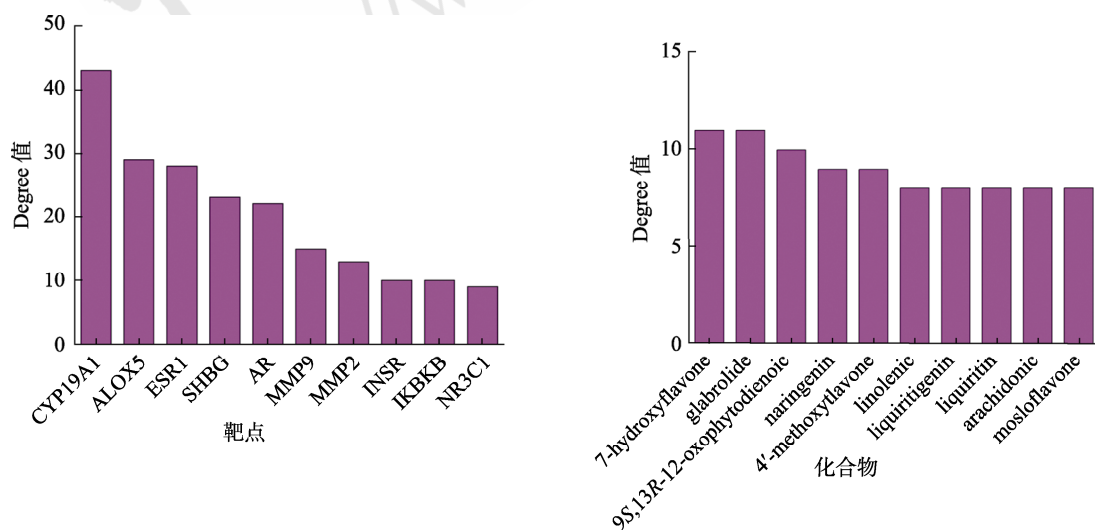


图 6 前 10 的化合物和靶点度值分析图

Fig. 6 Analysis of the top ten compounds and targets

来控制痤疮的形成^[24]。这些研究进一步表明 CYP19A1、ALOX5 和 ESR1 等靶点将可能是甘草黄酮治疗痤疮的关键靶点。

2.3 HipHop 方法构建共有药效团模型

为了阐明甘草黄酮抗痤疮的构效关系，寻找甘草黄酮抗痤疮的最佳药效团模型。本部分采用 HipHop 方法共产生了 10 个药效团模型。表 4 显示 10 个药效团模型与甘草黄酮中具有较高活性的 5 个化合物药效模型的匹配度。表格中每行代表 1 个药效团，从表中可以看到，排名第 1 的药效团评分值较高，因此可选择模型 1 作为最优药效团进行后续研究。其中药效团 1 中的特征是 HAA，表明此药效团含有 1 个疏水特征，2 个氢键受体特征，其空间排列方式见图 7；此药效团的打分为 35.002；直接匹配表示此药效团特征与 5 个小分子均可匹配；部分匹配表示此药效团与 5 个小分子部分匹配的药效特征数目为 0；特征匹配表示这 3 个药效特征均可与 5 个小分子匹配。

表 4 10 个药效团共同特征参数

Tab. 4 Common characteristic parameters of ten pharmacophore

药效团	特征	分值	直接匹配	部分匹配	特征匹配
01	HAA	35.002	11111	00000	3
02	HAA	33.332	11111	00000	3
03	HAA	33.234	11111	00000	3
04	HAA	32.842	11111	00000	3
05	HAA	31.643	11111	00000	3
06	HAA	31.462	11111	00000	3
07	HAA	30.628	11111	00000	3
08	HAA	30.592	11111	00000	3
09	HAA	30.454	11111	00000	3
10	HAA	30.323	11111	00000	3

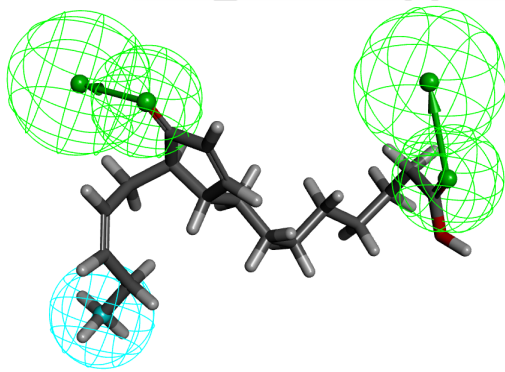


图 7 得分最高的药效团模型被映射到 9S,13R-12-oxophytodienoic acid
蓝色为疏水区，绿色为氢键受体区。

Fig. 7 Highest scoring pharmacophore model mapped to 9S,13R-12-oxophytodienoic acid

Blue was hydrophobic region; green was hydrogen bond acceptor region.

图 8 显示 10 个药效团模型对 5 化合物分子匹配度的热图，表 5 显示相应的匹配度。其中匹配度越接近 4，表示化合物与模型匹配程度越高；匹配度越接近 0，表示化合物与模型匹配程度越低。从图 8 中可以看到，模型 1 区域的匹配度值相对较大，进一步表明，模型 1 是甘草黄酮抗痤疮的最佳药效团模型。同时也表明该药效团模型可能是甘草黄酮抗痤疮中起决定性治疗作用的药效基团。

表 5 10 个药效团模型与 5 个化合物的匹配程度

Tab. 5 Matching degree between 10 pharmacophore models and 5 compounds

化合物 编号	匹配度				
	4'-甲氧基黄酮	7-羟基黄酮	9S,13R-12-oxophytodienoic acid	甘草内酯	柚皮素
1	1.58	1.36	3	1.82	1.27
2	1.63	1.26	3	1.52	1.14
3	1.82	0.8	3	1.18	0.72
4	1	1.23	3	2.78	0.35
5	0.9	1.28	2.6	3	1.2
6	0.4	1.03	2.4	1.38	1.11
7	1.01	1.25	2.46	1.14	1.46
8	2.66	0.71	2.75	2.1	0.93
9	0.92	1.87	2.24	2.41	1.47
10	1.33	0.75	2.4	0.95	0.94

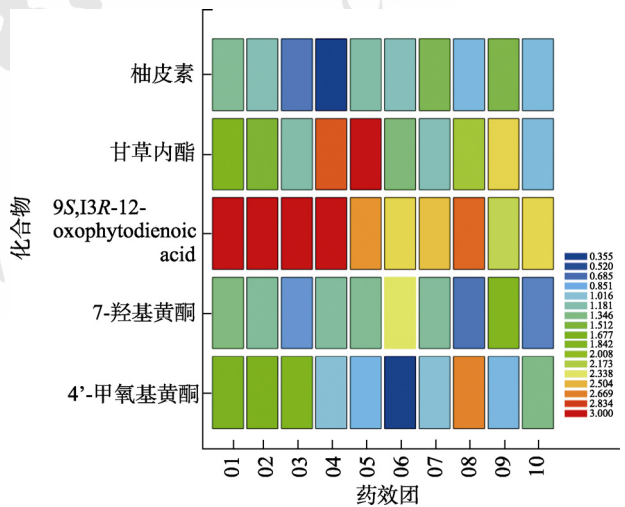


图 8 10 个药效团模型与 5 个化合物的匹配分析热图

Fig. 8 Heatmap of the matching analysis of 10 pharmacophore models with 5 compounds

2.4 分子对接验证

为验证甘草黄酮的有效成分与其抗痤疮的相关靶点之间的构效关系的合理性，采用分子对接对其进行验证。表 6 显示 4'-甲氧基黄酮(4'-methoxyflavone)、7-羟基黄酮(7-hydroxyflavone)、9S,13R-12-oxophytodienoic acid、甘草内酯(glabrolide)、柚皮素(naringenin)与 CYP19A1[蛋白

表 6 分子对接
Tab. 6 Molecular docking

化合物	靶蛋白 PDB ID (PDB)	对接分数	结合能/ kcal·mol ⁻¹	配体能量/ kcal·mol ⁻¹	蛋白能量/ kcal·mol ⁻¹	复合物能量/ kcal·mol ⁻¹
4'-甲氧基黄酮 (4'-methoxyflavone)	CYP19A1(3eqm)	91.38	7.588 1	19.846 5	-18 232.2	-18 204.7
	ALOX5(2Q7M)	98.79	-34.828 9	14.784 8	-21 582.346 5	-21 602.390 6
	ESR1(3OS8)	93.92	56.876 2	18.630 9	144 654 776.847 7	144 654 852.354 9
7-羟基黄酮 (7-hydroxyflavone)	CYP19A1(3eqm)	103.04	68 535.4	16.956 8	-18 232.2	50 320.2
	ALOX5(2Q7M)	98.32	611.499 8	13.129 8	-21 582.346 5	-20 957.720 0
	ESR1(3OS8)	93.09	212.618 8	15.991 9	144 654 776.847 7	144 655 005.458 5
9S,13R-12-oxophytodienoic acid	CYP19A1(3eqm)	117.42	3 431.35	258.013	-18 232.2	-14 542.8
	ALOX5(2Q7M)	123.24	56.083 7	65.679 8	-21 582.346 5	-21 460.583 0
	ESR1(3OS8)	114.06	87.099 2	112.644 4	144 654 776.847 7	144 654 976.591 3
甘草内酯(glabrolide)	CYP19A1(3eqm)	94.48	1 329.43	1 435.81	-18 232.2	-15 466.9
	ALOX5(2Q7M)	115.19	130.015 9	1 435.820 5	-21 582.346 5	-20 016.51
	ESR1(3OS8)	108.49	18 102.438 3	1 434.964 6	144 654 776.847 7	144 674 314.250 7
柚皮素(naringenin)	CYP19A1(3eqm)	98.23	3.061 8	45.163 9	-18 232.2	-18 183.9
	ALOX5(2Q7M)	108.3	92.296 8	48.606 0	-21 582.346 5	-21 436.443 7
	ESR1(3OS8)	97.58	283.095 7	51.963 3	144 654 776.847 7	144 655 111.906 8

质结构数据库(protein data bank, PDB): 3eqm]、ALOX5(PDB: 2Q7M)和 ESR1(PDB: 3OS8)靶蛋白的对接分数和对接能量。对接结果表明, 5 个化合物均与这些靶蛋白显示良好的结合活性。其中 9S,13R-12-oxophytodienoic acid 与这些靶蛋白的对接得分均>100, 表明 9S,13R-12-oxophytodienoic acid 在甘草黄酮抗痤疮的过程中可能发挥着重要的作用。图 9 显示这些化合物与靶蛋白的分子对接结果。可以发现化合物与靶蛋白的结合是以氢键和 π 键的形式发生的。其发生相互作用的基团与药效团的模型基本一致。具体来说, 4'-甲氧基黄酮(4'-methoxyflavone)上的苯环疏水区与 YP19A1(PDB: 3eqm)靶蛋白上的氨基酸残基 PHE、CYS、MET、ALA 和 VAL 分别形成间距为 4.51, 5.23, 4.32, 4.61, 4.90 Å 的 π 键相互作用; 4'-甲氧基黄酮(4'-methoxyflavone)化合物上的氢键受体与 YP19A1(PDB: 3eqm)靶蛋白上的氨基酸残基 PHE 形成间距为 2.86Å 的氢键相互作用, 见图 9A。7-羟基黄酮(7-hydroxyflavone)上的苯环疏水区与 ALOX5(PDB: 2Q7M)靶蛋白上的氨基酸残基 ILE 和 ALA 形成间距为 4.25Å 和 4.05Å 的 π 键相互作用; 7-羟基黄酮(7-hydroxyflavone)上的氢键受体分别与 ALOX5 (PDB: 2Q7M)靶蛋白上的氨基酸残基 TYR 和 ASN 形成间距为 2.11Å 和 3.02Å 的氢键相互作用, 见图 9G。柚皮素(naringenin)上的苯环

疏水区与 ESR1(PDB: 3OS8)靶蛋白上的氨基酸残基 TYR, ARG 和 HIS 形成间距为 4.48, 4.75, 4.73 Å 的 π 键相互作用; 柚皮素(naringenin)上的氢键受体分别与 ESR1(PDB: 3OS8)靶蛋白上的氨基酸残基 VAL, ALA 和 LEU 形成间距为 2.00, 2.35, 2.55, 2.76 Å 的氢键相互作用(图 9O)。

同样, 图 9B~F, H~N 显示 4'-甲氧基黄酮(4'-methoxyflavone)、7-羟基黄酮(7-hydroxyflavone)、9S,13R-12-oxophytodienoic acid、甘草内酯(glabrolide)和柚皮素(naringenin)的其它分子对接结果, 其相互作用方式与 4'-甲氧基黄酮(4'-methoxyflavone)、7-羟基黄酮(7-hydroxyflavone)和柚皮素(naringenin)基本一致。因此, 分子对接研究表明, 通过网络药理学筛选的活性化合物和靶蛋白具有较好的亲和力, 并与 QSAR 药效团模型构建的最优药效团模型的可发生相互作用方式基本一致。该研究也表明, 通过 QSAR 药效团模型构建的最优药效团模型将是甘草黄酮抗痤疮过程中起决定性治疗作用的药效基团。

3 小结

药效团理论认为药物分子的药物活性蕴藏在药物分子的特定结构中(特定结构指的是药物分子与某个受体产生相互作用时所具有的药效团)。因此, 中药药效团理论的构建可从分子水平上揭示中药药效物质起效的作用机制。中药组分的经皮

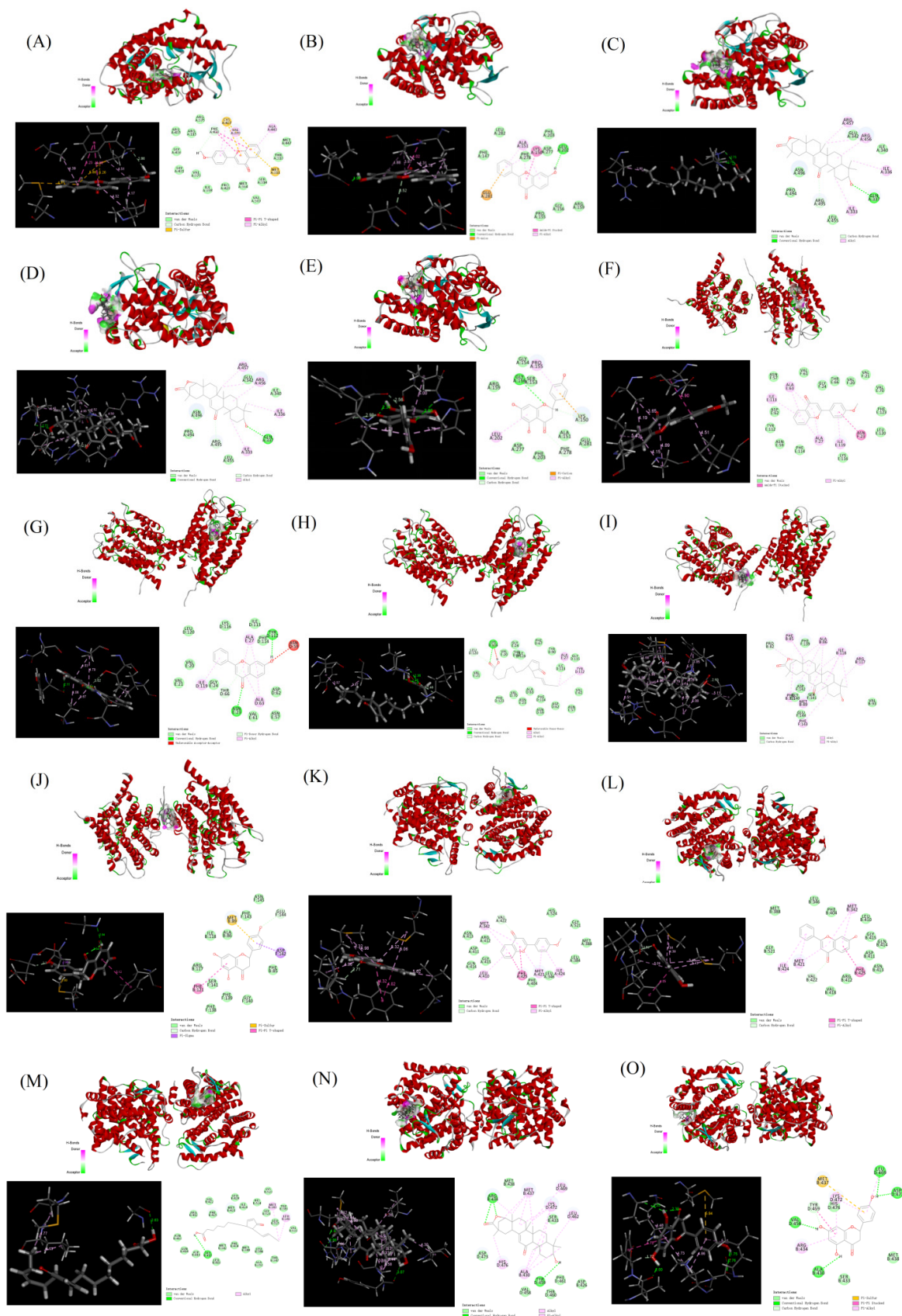


图9 4'-甲氧基黄酮(A, F, K)、7-羟基黄酮(B, G, L)、9S,13R-12-oxophytodienoic acid (C, H, M)、甘草内酯(D, I, N)和柚皮素(E, J, O)与 YP19A1(PDB: 3eqm)、ALOX5(PDB: 2Q7M)和 ESR1(PDB: 3OS8)的分子对接

Fig. 9 Molecular docking of 4'-methoxyflavone(A, F, K), 7-hydroxyflavone(B, G, L), 9S,13R-12-oxophytodienoic acid(C, H, M), glabrolide (D, I, N) and naringenin(E, J, O) with YP19A1(PDB: 3eqm), ALOX5 (PDB: 2Q7M) and ESR1 (PDB: 3OS8)

治疗的本质是中药活性物质与相关靶点发生特异性相互作用的结果,其强弱程度又取决于两者之间的空间结构和效应基团的适配程度。当药物分子与痤疮相关靶点在化学结构上可实现空间分子识别时,则表现出较好的抗痤疮性能。因此,本研究采用网络药理学、QSAR、分子对接等方法研究了甘草黄酮抗痤疮的分子机制。7-羟基黄酮(7-hydroxyflavone)、甘草内酯(glabrolide)、9S,13R-12-oxophytodienoic acid、柚皮素(naringenin)和4'-甲氧基黄酮(4'-methoxyflavone)等化合物是甘草黄酮中抗痤疮的关键活性成分,CYP19A1、ALOX5和ESR1是其抗痤疮的关键靶点。QSAR药效团模型研究表明,甘草黄酮的最优药效团由1个疏水基团,2个氢键受体基团组成,并通过药效团匹配分析热图对其进行了验证。分子对接研究表明,通过网络药理学筛选的活性化合物和靶蛋白具有较好的亲和力,同时也发现通过QSAR构建的最优药效团模型是甘草黄酮抗痤疮中起决定性治疗作用的药效基团。总的来说,本研究发现了甘草黄酮的结构特性与其抗痤疮活性之间的构效关系,为中药透皮制剂的开发和临床应用提供了理论指导。

REFERENCES

- [1] KNUTSEN-LARSON S, DAWSON A L, DUNNICK C A, et al. Acne vulgaris: Pathogenesis, treatment, and needs assessment[J]. *Dermatol Clin*, 2012, 30(1): 99-106.
- [2] LIU H B, YU H Y, XIA J, et al. Topical azelaic acid, salicylic acid, nicotinamide, sulphur, zinc and fruit acid (alpha-hydroxy acid) for acne[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2020, 5(5): CD011368.
- [3] KAMINSKA E C. Treatment of acne and acne-related scarring with fixed combination clindamycin phosphate and benzoyl peroxide gel (1.2%/3.75%) and tretinoin gel microsphere 0.06% in an Asian American transgender female[J]. *SAGE Open Med Case Rep*, 2020(8): 2050313X20984038.
- [4] HU B, WANG Q H, HE X, et al. Isolation and identification of phenolic glycosides from *Panzeria alashanica* Kupr. and evaluation of their antioxidant activities *in vitro*[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2022, 39(3): 312-315.
- [5] ATANASOV A G, WALTEBERGER B, PFERSCHY-WENZIG E M, et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review[J]. *Biotechnol Adv*, 2015, 33(8): 1582-1614.
- [6] ZHANG Z X, YANG L, HOU J M, et al. Molecular mechanisms underlying the anticancer activities of licorice flavonoids[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021(267): 113635.
- [7] WANG Z F, LIU J, YANG Y A, et al. A review: The anti-inflammatory, anticancer and antibacterial properties of four kinds of licorice flavonoids isolated from licorice[J]. *Curr Med Chem*, 2020, 27(12): 1997-2011.
- [8] DAI X H, LI H E, LU C J, et al. Liquiritigenin prevents *Staphylococcus aureus*-mediated lung cell injury via inhibiting the production of α -hemolysin[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2013, 15(4): 390-399.
- [9] RUAN S F, HU Y, WU W F, et al. Explore the anti-acne mechanism of licorice flavonoids based on metabolomics and microbiome[J]. *Front Pharmacol*, 2022(13): 832088.
- [10] WANG X, HE H A, ZHANG B Q. Mechanisms of Ganlu Xiaodu Elixir on the treatment of mycoplasma pneumoniae pneumonia based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2022, 39(3): 343-351.
- [11] JIAO X Y, JIN X, MA Y Y, et al. A comprehensive application: Molecular docking and network pharmacology for the prediction of bioactive constituents and elucidation of mechanisms of action in component-based Chinese medicine[J]. *Comput Biol Chem*, 2021(90): 107402.
- [12] HU Y, WU Y F, JIANG C P, et al. Investigative on the molecular mechanism of licorice flavonoids anti-melanoma by network pharmacology, 3D/2D-QSAR, molecular docking, and molecular dynamics simulation[J]. *Front Chem*, 2022(10): 843970.
- [13] WANG Y L, LI J Y, SHI X X, et al. Web-based quantitative structure-activity relationship resources facilitate effective drug discovery[J]. *Top Curr Chem (Cham)*, 2021, 379(6): 37.
- [14] IYER M, ZHENG T, HOPFINGER A J, et al. QSAR analyses of skin penetration enhancers[J]. *J Chem Inf Model*, 2007, 47(3): 1130-1149.
- [15] STANZIONE F, GIANGRECO I, COLE J C. Use of molecular docking computational tools in drug discovery[J]. *Prog Med Chem*, 2021(60): 273-343.
- [16] LIU Z H, LI H, MA W C, et al. Network pharmacology to investigate the pharmacological mechanisms of muscone in Xingnaojing injections for the treatment of severe traumatic brain injury[J]. *PeerJ*, 2021(9): e11696.
- [17] ZHOU W A, LAI X X, WANG X, et al. Network pharmacology to explore the anti-inflammatory mechanism of Xuebijing in the treatment of *Sepsis*[J]. *Phytomedicine*, 2021(85): 153543.
- [18] ZHANG Q, LI R L, PENG W, et al. Identification of the active constituents and significant pathways of Guizhi-Shaoyao-Zhimu Decoction for the treatment of diabetes mellitus based on molecular docking and network pharmacology[J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2019, 22(9): 584-598.
- [19] IMRAN S, TAHA M, ISMAIL N H, et al. Synthesis of novel flavone hydrazones: *In-vitro* evaluation of α -glucosidase inhibition, QSAR analysis and docking studies[J]. *Eur J Med Chem*, 2015(105): 156-170.
- [20] ZHANG M M, WANG D, LU F, et al. Identification of the active substances and mechanisms of ginger for the treatment of colon cancer based on network pharmacology and molecular docking[J]. *BioData Min*, 2021, 14(1): 1.
- [21] PAL S, KUMAR V, KUNDU B, et al. Ligand-based pharmacophore modeling, virtual screening and molecular docking studies for discovery of potential topoisomerase I inhibitors[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2019(17): 291-310.
- [22] AKÇURIN S, TÜRKKAHRAMAN D, KIM W Y, et al. A novel null mutation in P450 aromatase gene (*CYP19A1*) associated with development of hypoplastic ovaries in humans[J]. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*, 2016, 8(2): 205-210.
- [23] ALESTAS T, GANCEVICIENE R, FIMMEL S, et al. Enzymes involved in the biosynthesis of leukotriene B4 and prostaglandin E2 are active in sebaceous glands[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2006, 84(1): 75-87.
- [24] GOLD M H, MANTUROVA N E, KRUGLOVA L S, et al. Treatment of moderate to severe acne and scars with a 650-microsecond 1064-nm laser and isotretinoin[J]. *J Drugs Dermatol*, 2020, 19(6): 646-651.

收稿日期: 2022-02-24
(本文责编: 蔡珊珊)