

基于网络药理学和分子对接研究甘草治疗白癜风的作用机制

刘浩¹, 张辛芸¹, 杨宇萍¹, 范潇晓¹, 王文琪¹, 梁敬臣², 刘永刚^{1*}

1. 北京中医药大学, 北京 100029

2. 北京三和丽生物科技有限公司, 北京 100068

摘要: **目的** 利用网络药理学和分子对接方法研究甘草治疗白癜风的作用靶点和机制。**方法** 使用中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 筛选得到甘草中的活性成分, 使用 SwissTargetPrediction 数据库预测各个活性成分的作用靶点; 通过 OMIM、GeneCards 数据库获取白癜风的相关靶点, 与活性成分作用靶点取交集; 利用 Cytoscape 3.9.1 软件对交集靶点进行拓扑学分析并筛选得到甘草主要活性成分, 构建得到“甘草主要活性成分-白癜风靶点”网络; 将甘草活性成分和白癜风的交集靶点导入 String 数据库构建靶点间的蛋白相互作用 (PPI) 网络; 使用 Metascape 数据库对潜在作用靶点进行基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析; 使用 AutoDockTools 1.5.7 软件进行分子对接验证并使用 PyMol 软件对结果进行可视化处理。**结果** 共筛选得到谷甾醇、格里西轮、光果甘草宁、甘草查尔酮 B、刺芒柄花黄素等 84 个活性成分, 作用于 8400 个潜在靶点, 白癜风相关靶点 1349 个, 甘草-白癜风的交集靶点 133 个; PPI 网络分析得到蛋白激酶 B1 (Akt1)、信号传导和转录激活蛋白 3 (STAT3)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素-6 (IL-6)、有丝分裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)、血管内皮生长因子 A (VEGFA) 6 个核心作用靶点; GO 和 KEGG 富集分析显示, 甘草治疗白癜风主要涉及病毒感染、癌症、细胞凋亡、乙型肝炎、细胞衰老等信号通路。分子对接结果显示谷甾醇、格里西轮、光果甘草宁、(2S)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)-8-(3-甲基丁烯-2-乙基)色曼-4-酮、甘草查耳酮 B、刺芒柄花黄素 6 个核心成分与核心靶点具有较好的结合能。**结论** 甘草可能通过调控细胞衰老和凋亡、免疫功能、炎症等多个方面发挥治疗白癜风的作用, 为后续研究甘草治疗白癜风提供参考。

关键词: 甘草; 白癜风; 网络药理学; 分子对接; 谷甾醇; 格里西轮; 光果甘草宁; 甘草查尔酮 B; 刺芒柄花黄素

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2023)10-2418-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.10.006

Mechanism of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* in treatment of vitiligo based on network pharmacology and molecular docking

LIU Hao¹, ZHANG Xin-yun¹, YANG Yu-ping¹, FAN Xiao-xiao¹, WANG Wen-qi¹, LIANG Jing-chen², LIU Yong-gang¹

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

2. Beijing Sanheli Biotechnology Co., Ltd., Beijing 100068, China

Abstract: Objective To study the target and mechanism of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* in treatment of vitiligo based on network pharmacology and molecular docking. **Methods** Active components in *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* were screened by TCMSP, and the targets of each active component were predicted by SwissTargetPrediction database. The related targets of vitiligo were obtained through OMIM and GeneCards databases, and the targets of active components were intersected. Cytoscape 3.9.1 software was used to perform topological analysis on the intersection targets and screen out the main active components of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, and the network of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* main active components - vitiligo target was constructed. Intersection targets of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* active components and vitiligo were imported into the String database to construct PPI network between targets. Metascape database was used to perform GO function enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis on potential targets. AutoDockTools 1.5.7 software was used for molecular docking verification and PyMol software was used to visualize the

收稿日期: 2023-06-22

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC1706500)

作者简介: 刘浩, 硕士, 本科, 研究方向为中药物质基础及作用机制研究。E-mail: LH20230218@126.com

*通信作者: 刘永刚 E-mail: liuyg0028@163.com

results. **Results** A total of 84 active ingredients such as sitosterol, glisiran, guangguo gancaoning, licochalcone B, formononetin and so on were screened, which acted on 8 400 potential targets, 1 349 vitiligo related targets, and 133 *Glycyrrhizae Radix et Rhizom*-vitiligo intersection targets. Six core targets of Akt1, STAT3, TNF, IL96, MAPK1, and VEGFA were obtained by PPI network analysis. GO and KEGG enrichment analysis showed that *Glycyrrhizae Radix et Rhizom* in treatment of vitiligo mainly involved signal pathways such as viral infection, cancer, apoptosis, hepatitis B, and cell senescence. The results of molecular docking showed that the seven core components of sitosterol, glycyrrin, glabranin, (2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro [3,2-g]chromen-7-one, licochalcone B, formononetin had good binding energy with the core targets. **Conclusion** *Glycyrrhizae Radix et Rhizom* may play a role in treatment of vitiligo by regulating cell senescence and apoptosis, immune function, inflammation and other aspects, which provides a reference for the follow-up study of *Glycyrrhizae Radix et Rhizom* in treatment of vitiligo.

Key words: *Glycyrrhizae Radix et Rhizom*; vitiligo; network pharmacology; molecular docking; sitosterol; glisiran; guangguo gancaoning; licochalcone B; formononetin

白癜风是一种常见的色素脱失性皮肤病,患病率为全球人口的 0.5%~2%,临床表现为头面部、颈部、手、足等部位出现白斑^[1-3]。白癜风的发病机制尚不明确,中医学认为,白癜风属于“白驳风”“斑驳”“白癜”等范畴,风邪相搏、气血失和、脉络瘀阻为此病的病因病机^[4-5]。现代医学认为白癜风的发病机制主要集中在自身免疫学说、黑色素细胞凋亡学说、氧化应激学说、遗传与环境因素学说等方面^[4, 6-8]。

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat.或光果甘草 *G. glabra* L.的干燥根和根茎,具有补中益气、缓急止痛、清热解毒、化痰止咳、调和药性等诸多功效^[9]。甘草中主要含有三萜类、黄酮类等多种化学成分,其中,甘草酸苷作为甘草中的重要活性成分,具有活化 T 细胞和自然杀伤细胞(NK 细胞),促进 T 淋巴细胞分化,诱导 γ -干扰素产生,从而直接减少黑素细胞的损伤,恢复黑素细胞的功能^[10]。因此,临床上常使用复方甘草酸苷片对白癜风进行治疗^[11-12]。

为了分析甘草治疗白癜风的物质基础和作用机制,本研究基于网络药理学的相关方法^[13],系统分析甘草治疗白癜风的主要活性成分、核心靶点以及通路,以期为后续研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 甘草中活性成分及其作用靶点的获得

使用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <http://tcmssp.com/tcmssp.php/>),设置筛选条件为化合物的口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 、类药性(DL) ≥ 0.18 ^[14],检索得到甘草中的活性成分。使用 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取活性成分的“Canonical SMILES”,将其输入 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swiss>

targetprediction.ch/)预测得到各个活性成分的靶点蛋白名称,即为甘草中活性成分的作用靶点。

1.2 白癜风相关靶点的获得

使用 OMIM 数据库(<https://www.omim.org/>)和 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>),以“vitiligo”为关键词检索获取白癜风的相关靶点。

1.3 甘草-白癜风 Venn 图的制作

将甘草中活性成分的靶点和白癜风的靶点导入微生信数据分析平台(<https://www.bioinformatics.com.cn>)得到甘草-白癜风的交集靶点,并制作 Venn 图。

1.4 甘草主要活性成分-白癜风靶点网络的构建

将甘草中的活性成分及其作用靶点与白癜风相关靶点的交集导入 Cytoscape 3.9.1 软件,利用 Cyto NCA 插件对网络中各个节点进行拓扑学参数分析,以“中介中心性(betweenness)、亲密性(closeness)、特征向量(eigenvector)大于中位数”为筛选条件^[15],获取得到甘草治疗白癜风的主要活性成分。将甘草主要活性成分及其作用靶点与白癜风相关靶点的交集导入 Cytoscape 3.9.1 软件,构建得到“甘草主要活性成分-白癜风靶点”网络。

1.5 甘草-白癜风交集靶点蛋白相互作用(PPI)网络的构建及核心靶点的获取

将甘草-白癜风的交集靶点导入 String 数据库(<https://string-db.org/>),以物种限定为 Homo sapien、高置信度 0.700 为筛选条件,所得数据导入 Cytoscape 3.9.1 软件对 PPI 网络进行可视化处理,利用 Cyto NCA 插件对 PPI 网络中各个节点进行拓扑学参数分析,根据 degree 值大小,筛选得到甘草治疗白癜风的核心靶点。

1.6 甘草-白癜风交集靶点的富集分析

以“Homo sapiens”为条件,使用 Metascape 数

据库 (<http://metascape.org>) 对甘草 - 白藜风的交集靶点进行基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。将分析结果导入微生信数据分析平台 (<https://www.bioinformatics.com.cn>), 制作 GO 功能富集分析柱形图和 KEGG 通路富集分析气泡图。

1.7 活性成分和核心靶点蛋白的分子对接

使用 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 查找甘草主要活性成分的 2D 结构, 为小分子配体。以 “Homo sapiens” 和 “X-RAY DIFFRACTION” 为筛选条件, 使用 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 查找核心靶点蛋白的 3D 结

构, 为蛋白受体。使用 PyMol 3.7.3 软件对蛋白受体进行去除水分子、添加氢原子等操作, 使用 AutoDockTools 1.5.7 将二者进行分子对接, 通过 PyMol 软件进行可视化处理。

2 结果

2.1 甘草中的活性成分及其作用靶点

筛选得到符合条件的化学成分 92 种, 其中, 7-甲氧基-2-甲基异黄酮、鳞叶甘草素 B、8-(6-羟基-2-苯并呋喃基)-2,2-二甲基-5-色烯醇等 8 种化学成分没有对应的作用靶点, 剩余 84 种化学成分为甘草中的活性成分见表 1。并检索得到 84 种活性成分的作用靶点共 8 400 个。

表 1 甘草活性成分

Table 1 Active ingredients of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*

编号	Mol ID	活性成分	OB/%	DL
GC1	MOL004824	(2S)-6-(2,4-二羟基苯基)-2-(2-羟基丙烷-2-基)-4-甲氧基-2,3-二氢呋喃-[3,2-g]色烯-7-酮	60.25	0.63
GC2	MOL004959	1-甲氧哌啶	69.98	0.64
GC3	MOL004990	7,2',4'-三羟基-5-甲氧基-N-乙酰色胺-3-芳香香豆素	83.71	0.27
GC4	MOL000392	刺芒柄花黄素	69.67	0.21
GC5	MOL005000	甘草宁 G	60.44	0.39
GC6	MOL004808	粗毛甘草素 B	65.22	0.44
GC7	MOL004810	粗毛甘草素 F	75.84	0.54
GC8	MOL002311	甘草醇	90.78	0.67
GC9	MOL004835	刺甘草查耳酮	61.60	0.19
GC10	MOL004907	光甘草轮	61.07	0.35
GC11	MOL001484	玛卡因	75.18	0.54
GC12	MOL005003	李果芸香碱	58.81	0.58
GC13	MOL005012	甘草异黄酮	57.28	0.49
GC14	MOL004841	甘草查耳酮 B	76.76	0.19
GC15	MOL004904	甘草吡喃香豆素	80.36	0.65
GC16	MOL004855	甘草利酮	63.58	0.47
GC17	MOL004903	甘草黄苷	65.69	0.74
GC18	MOL000211	丁子香酚	55.38	0.78
GC19	MOL004328	柚皮素	59.29	0.21
GC20	MOL005017	异丙醇	78.77	0.58
GC21	MOL004891	紫檀素	80.30	0.73
GC22	MOL000500	维他醇	74.66	0.21
GC23	MOL005018	黄烷酮	54.85	0.87
GC24	MOL004924	美迪紫檀素葡萄糖苷	40.99	0.95
GC25	MOL004805	(2S)-2-[4-羟基-3-(3-甲基丁烯-2-烯基)苯基]-8,8-二甲基-2,3-二氢吡喃-[2,3-f]色烯-4-酮	31.79	0.72
GC26	MOL004945	(2S)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)-8-(3-甲基丁烯-2-烯基)色曼-4-酮	36.57	0.32
GC27	MOL004815	(E)-1-(2,4-二羟基苯基)-3-(2,2-二甲基色烯-6-基)丙-2-烯-1-酮	39.62	0.35
GC28	MOL004898	(E)-3-[3,4-二羟基-5-(3-甲基丁烯-2-烯基)苯基]-1-(2,4-二羟基苯基)丙-2-烯-1-酮	46.27	0.31
GC29	MOL004913	1,3-二羟基-9-甲氧基-6-苯并呋喃-[3,2-c]色酮	48.14	0.43
GC30	MOL004866	2-(3,4-二羟基苯基)-5,7-二羟基-6-(3-甲基丁烯-2-Enyl)色原酮	44.15	0.41
GC31	MOL004978	2-[(3R)-8,8-二甲基-3,4-二氢-2H-吡喃并[6,5-f]色烯-3-基]-5-甲氧基苯酚	36.21	0.52
GC32	MOL004905	3,22-二羟基-11-氧代-δ(12)-齐墩果烯-27-α-甲氧羰基-29-羧酸	34.32	0.55
GC33	MOL004966	3'-羟基-4'-O-甲基光甘草定	43.71	0.57
GC34	MOL004974	3'-甲氧基光甘草定	46.16	0.57
GC35	MOL004864	5,7-二羟基-3-(4-甲氧基苯基)-8-(3-甲基丁烯-2-烯基)色酮	30.49	0.41
GC36	MOL004989	6-异戊烯基圣草酚	39.22	0.41

续表 1

编号	Mol ID	活性成分	OB/%	DL
GC37	MOL004991	7-乙酰氧基-2-甲基异黄酮	38.92	0.26
GC38	MOL004993	8-异戊烯基圣草酚	53.79	0.40
GC39	MOL005013	18 α -羟基甘草次酸	41.16	0.71
GC40	MOL000417	毛蕊异黄酮	47.75	0.24
GC41	MOL005020	去氢粗毛甘草素 C	53.82	0.37
GC42	MOL001792	甘草素	32.76	0.18
GC43	MOL004806	山豆根酮	30.29	0.57
GC44	MOL004915	黄甘草异黄酮 A	43.28	0.37
GC45	MOL004996	反式二十碳烯酸	30.70	0.20
GC46	MOL004856	甘草宁 A	51.08	0.40
GC47	MOL004857	甘草宁 B	48.79	0.45
GC48	MOL005001	甘草宁 H	50.10	0.78
GC49	MOL004910	光果甘草宁	52.90	0.31
GC50	MOL004911	光甘草素	46.27	0.44
GC51	MOL004908	光果甘草定	53.25	0.47
GC52	MOL004912	光果甘草酮	52.51	0.50
GC53	MOL004828	鳞叶甘草素 A	44.72	0.35
GC54	MOL004811	粗毛甘草素 C	45.56	0.40
GC55	MOL004879	格里西轮	52.61	0.47
GC56	MOL004917	黄甘草苷	37.25	0.79
GC57	MOL005008	甘草黄酮醇 A	41.28	0.60
GC58	MOL004957	异芒柄花素	38.37	0.21
GC59	MOL004985	二十一碳-5-烯酸	30.70	0.20
GC60	MOL004980	胀果香豆素甲	39.71	0.33
GC61	MOL004948	异甘草酚	44.70	0.84
GC62	MOL004949	异甘草黄酮醇	45.17	0.42
GC63	MOL000354	异鼠李素	49.60	0.31
GC64	MOL004814	异三叶醇	31.94	0.42
GC65	MOL000239	熊竹素	50.83	0.29
GC66	MOL000422	堪非醇	41.88	0.24
GC67	MOL004988	甘佐醇 F	32.47	0.89
GC68	MOL004820	甘佐醇 W	50.48	0.52
GC69	MOL000497	甘草查耳酮 A	40.79	0.29
GC70	MOL004848	利科查尔酮 G	49.25	0.32
GC71	MOL004882	甘草香豆酮	33.21	0.36
GC72	MOL004885	甘草异黄烷酮	52.47	0.54
GC73	MOL004884	甘草异黄酮 B	38.93	0.55
GC74	MOL004883	甘草异黄酮	41.61	0.42
GC75	MOL004860	甘草糖苷 E	32.89	0.27
GC76	MOL003656	黄羽扇豆魏特酮	51.64	0.37
GC77	MOL002565	苜蓿毒素	49.22	0.34
GC78	MOL005016	芳香膜菊素	49.95	0.30
GC79	MOL004833	菜豆异黄烷	32.01	0.45
GC80	MOL004961	槲皮素衍生物	46.45	0.33
GC81	MOL000098	槲皮素	46.43	0.28
GC82	MOL004827	半甘草异黄酮 B	48.78	0.55
GC83	MOL004935	(2S)-2-[3,4-二羟基-5-(3-甲基丁烯-2-烯基)苯基]-5,7-二羟-2,3-二氢色烯-4-酮	34.88	0.41
GC84	MOL000359	谷甾醇	36.91	0.75

2.2 甘草 - 白癜风交集靶点 Venn 图

通过 GeneCards 和 OMIM 数据库获得白癜风相关靶点 1 349 个。使用微生信数据分析平台对白癜风相关靶点与甘草活性成分的作用靶点进行映

射, 得到甘草 - 白癜风的交集靶点 133 个, 见图 1。

2.3 甘草主要活性成分 - 白癜风靶点网络

使用 Cytoscape 3.9.1 软件进行网络拓扑学参数分析, 经过中位数筛选后, 选取谷甾醇、格里西轮、

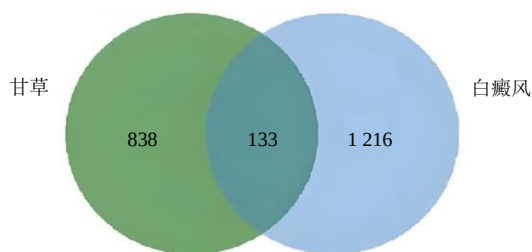


图 1 甘草 - 白癜风 Venn 图

Fig. 1 Venn diagram of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* and vitiligo

光果甘草宁、(2S)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)-8-(3-甲基丁烯-2-乙烯基)色曼-4-酮、甘草查耳酮 B、刺芒柄花黄素 6 个化学成分作为甘草中的主要活性成分，见表 2。将甘草中 6 个主要活性成分及 133 个交集靶点导入 Cytoscape 3.9.1 软件，构建得到“甘草主要活性成分 - 白癜风靶点”网络，见图 2。共得到 135 个节点，398 条边（节点表示药物、活性成分和作用靶点，边表示三者之间的相互作用）。

表 2 甘草治疗白癜风主要活性成分

Table 2 Main active components of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* in treatment of vitiligo

编号	活性成分	degree	中介中心性	亲密性	特征向量
GC84	谷甾醇	101	38 798.773	0.366 319	0.041 774 407
GC55	格里西轮	101	16 471.816	0.366 319	0.084 408 455
GC49	光果甘草宁	101	16 471.816	0.366 319	0.084 408 455
GC26	(2S)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)-8-(3-甲基丁烯-2-乙烯基)色曼-4-酮	101	18 076.635	0.366 319	0.079 742 030
GC14	甘草查耳酮 B	101	17 669.88	0.366 319	0.084 574 450
GC4	刺芒柄花黄素	101	17 095.621	0.366 319	0.089 387 250

2.4 甘草 - 白癜风交集靶点 PPI 网络及核心靶点

将甘草 - 白癜风的 133 个交集靶点输入 String 数据库，构建 PPI 网络。使用 Cytoscape 3.9.1 软件对 PPI 网络进行可视化处理，得到甘草 - 白癜风交集靶点 PPI 网络可视化图，见图 3，共 133 个节点，464 条边。根据 degree 值，筛选得到蛋白激酶 B1 (Akt1)、信号传导和转录激活蛋白 3 (STAT3)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素-6 (IL-6)、有丝分裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)、血管内皮生长因

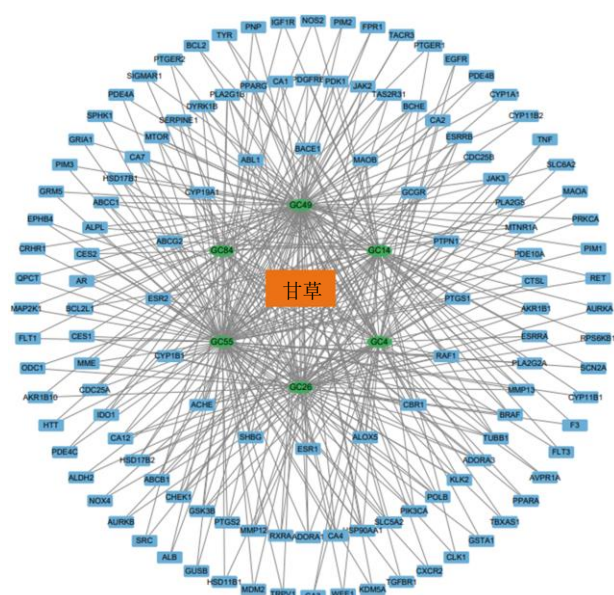


图 2 甘草主要活性成分 - 白癜风靶点网络图

Fig. 2 *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* active ingredient - vitiligo target network diagram

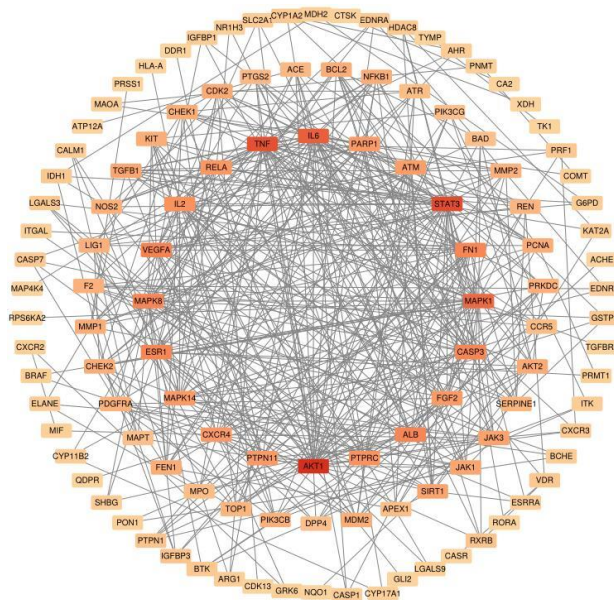


图 3 甘草 - 白癜风交集靶点 PPI 网络

Fig. 3 Target PPI network of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* - vitiligo intersection

子 A (VEGFA) 6 个靶点作为甘草治疗白癜风的核心靶点，见表 3。靶点的 degree 值越大，颜色越深，表明其可能是甘草治疗白癜风的核心靶点。

2.5 甘草 - 白癜风交集靶点的富集分析

GO 功能富集分析中，生物过程 (BP) 共 1 601 条，主要包括细胞对肽激素的反应 (cellular response to peptide hormone)、对肽激素的反应 (response to

表 3 甘草治疗白癜风的核心靶点

Table 3 Core target of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* in treatment of vitiligo

靶点	degree	中介中心性	亲密性	特征向量
Akt1	39	1 904.686	0.113 837	0.295 486 40
STAT3	33	1 334.406	0.113 837	0.291 030 76
TNF	32	1 551.766	0.112 950	0.253 500 85
IL-6	29	761.510	0.112 186	0.261 999 22
MAPK1	27	937.495	0.112 077	0.223 858 01
VEGFA	22	319.214	0.110 687	0.210 362 88

peptide hormone)、细胞对肽的反应 (cellular response to peptide)、对肽的反应 (response to peptide)、细胞对氮化合物的反应 (cellular response to nitrogen compound) 等; 细胞组分 (CC) 共 60 条, 主要包括血小板 α 颗粒管腔 (platelet alpha granule lumen)、血小板 α 颗粒 (platelet alpha granule)、分泌颗粒管腔 (secretory granule lumen)、胞质囊泡腔 (cytoplasmic vesicle lumen)、囊泡腔 (vesicle lumen) 等; 分子功能 (MF) 共 138 条, 主要包括蛋白磷酸酶结合 (protein phosphatase binding)、磷酸酶结合 (phosphatase binding)、蛋白激酶活性 (protein kinase

activity)、蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性 (protein serine/threonine kinase activity)、蛋白质丝氨酸激酶活性 (protein serine kinase activity) 等。通过微生信数据分析平台制作得到 GO 功能富集分析柱形图, 见图 4。

KEGG 通路富集分析结果显示, 甘草治疗白癜风的通路共 183 条。将排名前 20 位的 KEGG 通路富集分析结果输入微生信数据分析平台, 制作得到 KEGG 通路富集分析气泡图, 见图 5。由图 5 可知, 甘草治疗白癜风的靶点主要涉及的信号通路有糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物 - 晚期糖基化终末产物受体信号通路 (AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、C-型凝集素受体信号通路 (C-type lectin receptor signaling pathway)、人 T 细胞白血病病毒 1 型感染 (human T-cell leukemia virus 1 infection)、人巨细胞病毒感染 (human cytomegalovirus infection)、癌症中的蛋白聚糖 (proteoglycans in cancer)、癌症通路 (pathways in cancer)、细胞凋亡 (apoptosis)、乙型肝炎 (hepatitis B)、细胞衰老 (cellular senescence) 等。

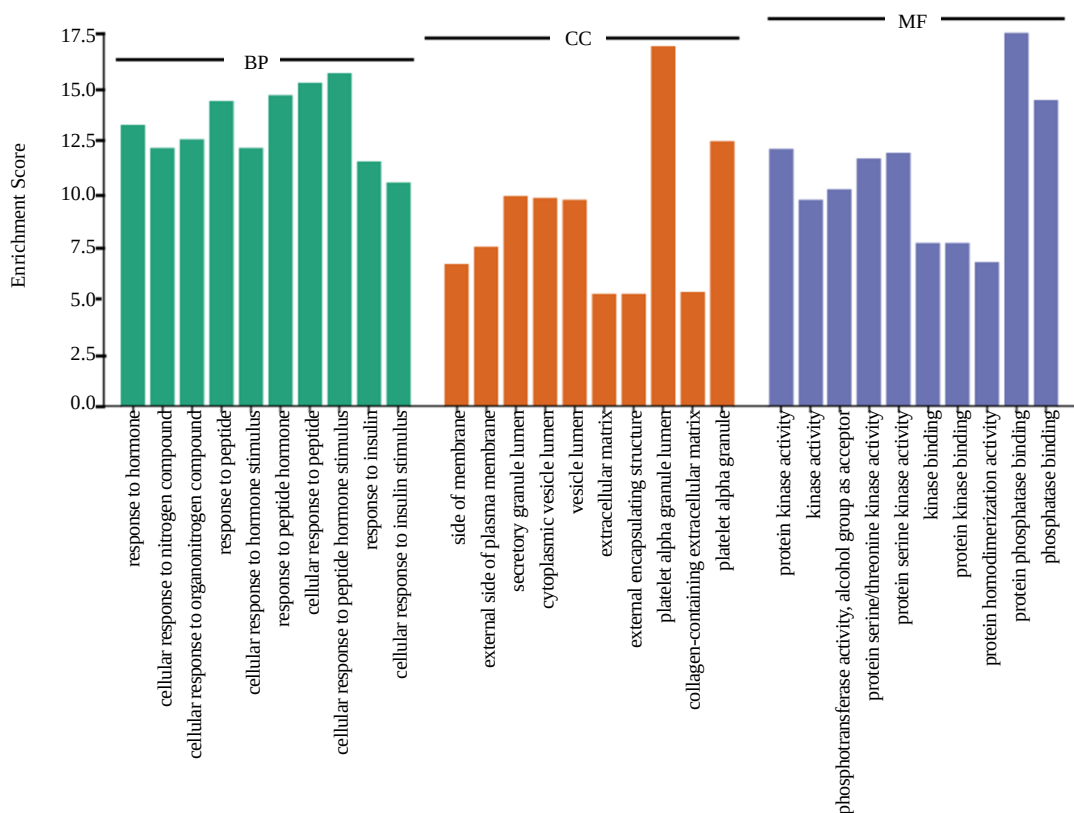


图 4 GO 功能富集分析

Fig. 4 GO functional enrichment analysis

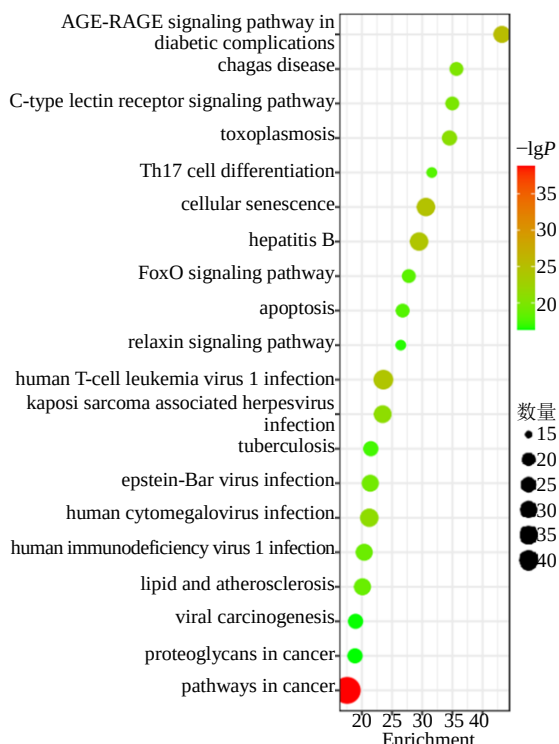


图 5 KEGG 通路富集分析
Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis

2.5 分子对接结果

甘草的主要活性成分为谷甾醇、格里西轮、光果甘草宁、(2S)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)-8-(3-甲基丁烯-2-乙基)色曼-4-酮、甘草查尔酮 B、刺芒柄花黄素。使用软件 AutoDockTools 1.5.7 将其分别与核心靶点 VEGFA、TNF、STAT3、MAPK1、IL-6、Akt1 进行分子对接。分子对接的结合能越小，表明小分子配体和蛋白受体之间互作的可能性越大。由表 4 可知，谷甾醇、格里西轮、光果甘草宁、(2S)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)-8-(3-甲基丁烯-2-乙基)色曼-4-酮、甘草查尔酮 B、刺芒柄花黄素 6 个主要活性成分与核心靶点 VEGFA、TNF、STAT3、MAPK1、IL-6、Akt1 显示出较好的结合，其结合能较低表示出其具有一定的结合力，使用 PyMol 软件进行处理，得到可视化网络图，见图 6。

3 讨论

研究表明，甘草中的主要活性成分甘草酸可提高酪氨酸酶活性，促进黑色素合成，以此发挥治疗白癜风的作用^[16-17]。以甘草酸苷为主要成分的复方

表 4 分子对接结果

Table 4 Molecular docking results

有效成分	结合能/(kJ·mol ⁻¹)						
	MAPK1	STAT3	TNF	STAT3	VEGFA	Akt1	IL-6
格里西轮	-37.25	-30.14	-32.23	—	-31.39	-27.63	-24.70
刺芒柄花黄素	-30.56	-37.25	-29.30	—	-30.56	-27.21	-24.28
光果甘草宁	-31.39	—	-32.65	-32.23	-30.56	-30.14	-25.12
(2S)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)-8-(3-甲基丁烯-2-乙基)色曼-4-酮	-28.46	-30.14	-29.30	—	-26.79	-26.79	-22.19
甘草查尔酮 B	-27.63	-27.63	-28.05	—	-29.30	-23.86	-22.19
谷甾醇	-23.86	-24.70	-27.21	—	-23.44	-25.53	-22.19

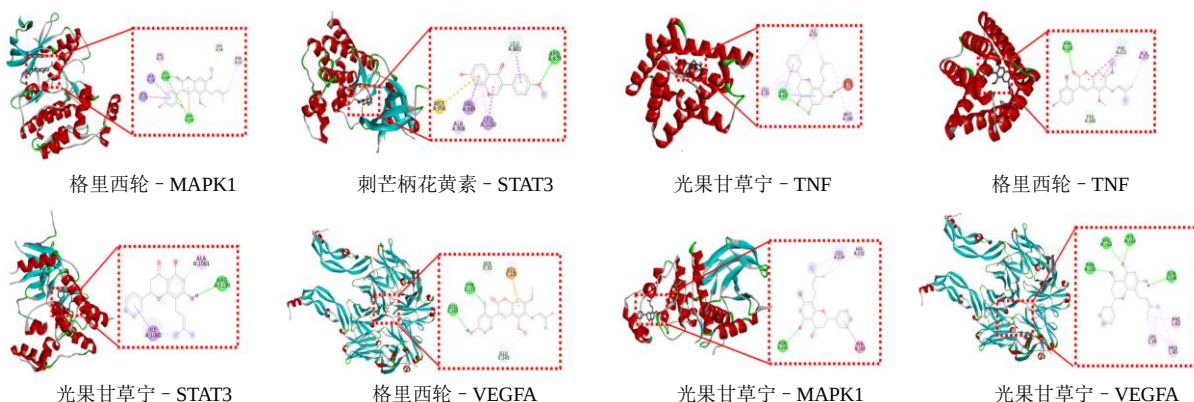


图 6 核心靶点与甘草主要活性成分的分子对接结果

Fig. 6 Molecular docking of core targets with the main active components of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*

甘草酸苷片具有活化 T 细胞和 NK 细胞,促进胸腺外 T 淋巴细胞分化和黑色素生成的功能,因其治疗效果较好,无明显毒副作用成为临床治疗白癜风的主要制剂^[18-19]。为了进一步探索甘草治疗白癜风的作用机制,本研究通过网络药理学的相关方法筛选得到甘草中的活性成分 84 种,其中治疗白癜风的主要活性成分为谷甾醇、格里西轮、光果甘草宁、(2S)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)-8-(3-甲基丁烯-2-乙基)色曼-4-酮、甘草查耳酮 B、刺芒柄花黄素。

PPI 网络结果显示, Akt1、STAT3、TNF、IL-6、MAPK1、VEGFA 可能为甘草治疗白癜风的核心靶点。Akt1 作为 AKT 的异构体之一,主要参与细胞凋亡过程^[20]; STAT3^[21]、TNF^[22]、MAPK1^[14]主要与炎症反应密切相关; IL-6 为一种 26-kD 分泌蛋白,具有刺激 B 细胞产生抗体的作用,在免疫反应中发挥重要作用^[23-24]; VEGFA 是血管内皮生长因子,经典的 VEGF 信号通过 VEGFR1/R2 调节几种激酶的活性,最终在血管生成和血管生成过程中指导细胞增殖、迁移、存活和血管通透性^[25]。综上所述,甘草治疗白癜风的 6 个核心靶点主要与细胞凋亡、炎症反应和免疫过程等密切相关。由此可推测,甘草中的谷甾醇、格里西轮、光果甘草宁、甘草查耳酮 B 等通过作用于 Akt1、STAT3、TNF、IL-6、MAPK1、VEGFA 等靶蛋白,抑制黑色素细胞凋亡、抗炎、调节免疫过程等发挥治疗白癜风的作用。

GO 功能富集分析结果显示,甘草治疗白癜风的核心靶点 Akt1、STAT3、TNF、IL-6、MAPK1、VEGFA 主要是通过细胞对肽激素的反应、对肽激素的反应、细胞对肽的反应、对肽的反应、细胞对氮化合物的反应等生物过程发挥治疗白癜风的作用。KEGG 通路富集分析结果显示,甘草治疗白癜风的靶点主要涉及的信号通路包括 C-型凝集素受体信号通路、人 T 细胞白血病病毒 1 型感染、癌症通路、细胞衰老和凋亡、乙型肝炎等。其中 C-型凝集素受体信号通路是通过识别病原、损伤以及肿瘤相关分子模式上的配体,从而发挥调节免疫功能的作用^[26]。

分子对接结果显示,甘草中的主要活性成分谷甾醇、格里西轮、光果甘草宁、(2S)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)-8-(3-甲基丁烯-2-乙基)色曼-4-酮、甘草查耳酮 B、刺芒柄花黄素与核心靶点 VEGFA、TNF、STAT3、MAPK1、IL-6、Akt1 的结合能均小于 0,表明甘草中的主要活性成分可以与核心靶点进行

结合,形成氢键相互作用,反映了甘草治疗白癜风具有多靶点、多通路的特点,验证了使用网络药理学相关方法进行筛选的合理性。

综上所述,甘草可能通过谷甾醇、格里西轮、光果甘草宁、(2S)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)-8-(3-甲基丁烯-2-乙基)色曼-4-酮、甘草查耳酮 B、刺芒柄花黄素等活性成分,调节细胞凋亡、免疫功能、炎症等相关通路中的核心靶点 Akt1、STAT3、TNF、IL-6、MAPK1、VEGFA 发挥治疗白癜风的作用,阐释了甘草治疗白癜风的作用机制,可以为甘草治疗白癜风的深入研究提供理论参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Bergqvist C, Ezzedine K. Vitiligo: A review [J]. *Dermatol*, 2020, 236(6): 571-592.
- [2] 钱羽彤, 刘佳玮, 马东来. 白癜风系统性药物治疗的研究进展 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2023, 49(1): 244-252.
- [3] 刘浩哲, 谢逸轩, 余琳静, 等. 基于中西医临床病症特点的白癜风动物模型分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(11): 1552-1557.
- [4] 韩志强, 吴振涛, 齐春惠, 等. 白癜风的中医药学历史与现状 [J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2017, 33(11): 687-689.
- [5] 王远红, 杨锐, 张思远, 等. 中医药治疗白癜风临床研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(4): 15-18.
- [6] Baldini E, Odorisio T, Sorrenti S, et al. Vitiligo and autoimmune thyroid disorders [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2017, 8: 290.
- [7] Rashighi M, Harris J E. Vitiligo pathogenesis and emerging treatments [J]. *Dermatol Clin*, 2017, 35(2): 257-265.
- [8] Spritz R A. The genetics of vitiligo [J]. *J Invest Dermatol*, 2011, 131(E1): E18-E20.
- [9] 李葆林, 麻景梅, 田宇柔, 等. 甘草中新发现化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(8): 2438-2448.
- [10] 周明伟, 姜日花, 张旗. 草活性成分对白癜风豚鼠模型的治疗作用 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2009, 35(5): 852-856.
- [11] 徐婉妮, 刘靖, 杨广智. 复方甘草酸苷片联合他克莫司软膏及 308 nm 准分子光治疗白癜风皮损的修复效果观察 [J]. 中国美容医学, 2023, 32(4): 84-87.
- [12] 吴玲艳, 潘延斌, 邓桂艳, 等. CO₂ 点阵激光及他克莫司联合复方甘草酸苷片治疗稳定期非节段型白癜风的效果观察 [J]. 广西医学, 2021, 43(7): 882-884.

- [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] 刘浩, 杨洪柳, 柳志诚, 等. 基于网络药理学和分子对接研究黄芩治疗白癜风的作用机制 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(8): 1872-1880.
- [15] 陈怡, 熊建新, 夏扬, 等. 基于网络药理学和分子对接方法研究羚珠散抗小儿易感病毒的作用机制 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(5): 1077-1087.
- [16] 陈乐乐, 陈曙光, 孙坤坤, 等. 中医药治疗白癜风的研究进展 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2022, 28(5): 822-826.
- [17] 颜克香, 祝绿川, 郑志忠. 复方甘草酸苷注射液对 B₁₆ 鼠黑素瘤细胞黑素生成的影响 [J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2016, 32(10): 598-602.
- [18] 周明伟, 陈兆杰, 林春敏. 复方甘草酸苷治疗中老年白癜风的疗效 [J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(20): 5715-5717.
- [19] 陈青山, 班武, 袁进, 等. 复方甘草酸苷片联合卤米松软膏或复方卡力孜然酊治疗白癜风 [J]. 广东医学, 2007(5): 824.
- [20] McKenna M, Balasuriya N, Zhong S, *et al.* Phospho-form specific substrates of protein kinase B (AKT1) [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 8: 619252.
- [21] Hillmer E J, Zhang H, Li H S, *et al.* STAT3 signaling in immunity [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2016, 31: 1-15.
- [22] Horiuchi T, Mitoma H, Harashima S, *et al.* Transmembrane TNF-alpha: Structure, function and interaction with anti-TNF agents [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2010, 49(7): 1215-1228.
- [23] Malysch T, Reinhold J M, Becker C A, *et al.* *In vivo* immunomodulation of IL-6 signaling in a murine multiple trauma model [J]. *Immunol Res*, 2023, 71(2): 164-172.
- [24] Kang S, Narazaki M, Metwally H, *et al.* Historical overview of the interleukin-6 family cytokine [J]. *J Exp Med*, 2020, 217(5): e20190347.
- [25] Apte R S, Chen D S, Ferrara N. VEGF in signaling and disease: Beyond discovery and development [J]. *Cell*, 2019, 176(6): 1248-1264.
- [26] 杨芸宁, 徐媛媛, 龙珊, 等. C 型凝集素受体在肿瘤免疫作用中的研究进展 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(9): 1139-1142.

[责任编辑 高源]