

· 基础研究 ·

基于计算机模拟探讨六味地黄丸治疗骨关节炎的多成分-多靶点作用

郑春松, 叶蕪芝, 蔡亮亮, 陈加守, 魏磊生, 刘献祥

(福建中医药大学中西医结合研究院, 福建 福州 350108)

摘要 目的:探讨六味地黄丸治疗骨关节炎的多成分-多靶点作用。方法:以六味地黄丸所含的 183 个化合物和与骨关节炎相关的 13 个靶点蛋白质为研究对象,利用描述符计算、主成分分析、分子对接等计算机模拟方法,分析六味地黄丸所含化合物的物理化学性质及其作用的靶点,并据此构建六味地黄丸多成分-多靶点作用网络。结果:六味地黄丸所含化合物具有多样的物理化学性质,这些化合物与治疗骨关节炎药物分子、类药分子具有相似的化学空间。六味地黄丸多成分-多靶点网络模型中每个化合物的平均靶点数为 2.24,平均每个靶点与 5 个化合物相关联。结论:六味地黄丸治疗骨关节炎具有多成分、多靶点作用的特点,可能在治疗骨关节炎方面具有良好的应用前景。

关键词 六味地黄汤 骨关节炎 计算机模拟 多成分-多靶点

Discussion on the multi-component and multi-target effect of LIUWEI DIHUANG pill in the treatment of osteoarthritis on the basis of computer simulation ZHENG Chun-song*, YE Hong-zhi, CAI Liang-liang, CHEN Jia-shou, WEI Lei-sheng, LIU Xian-xiang. *Academy of Integrated Traditional Chinese Medicine with Western Medicine of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, Fujian, China

ABSTRACT **Objective:** To explore the multi-component and multi-target effect of LIUWEI DIHUANG pill in the treatment of osteoarthritis. **Methods:** One hundred and eighty-three compounds contained in the LIUWEI DIHUANG pill and 13 target proteins related to osteoarthritis were taken as research objects to analyze the phy-chemical property and targets of compounds contained in the LIUWEI DIHUANG pill through such computer simulation methods as descriptor calculation, principal component analysis and molecular docking, and the networks of multi-component and multi-target effects of LIUWEI DIHUANG pill were established. **Results:** The components contained in LIUWEI DIHUANG pill had various phy-chemical property, and these components were similar to drug molecules or drug-like molecules for the treatment of osteoarthritis in the chemical space. The average number of targets was 2.24 in each compound contained in the multi-component and multi-target network model of LIUWEI DIHUANG pill, and every target was related to 5 compounds on average. **Conclusion:** LIUWEI DIHUANG pill has multi-component and multi-target features in the treatment of osteoarthritis, and it will probably have good application prospect in osteoarthritis treatment.

Key words LIUWEI DIHUANG Decoction; Osteoarthritis; Computer simulation; Multi-component and multi-target

六味地黄丸是中医“滋阴补肾”之首方,在临床上被广泛应用。现代药理学研究表明,该方具有调节免疫、抗衰老、抗肿瘤、降血糖、降血脂、保肝等作用^[1],同时它还具有保护和修复关节软骨的作用,对骨关节炎(osteoarthritis, OA)有显著的防治作用^[2]。多靶点治疗是目前国内外医学界的热点研究课题^[3],我们利用计算机模拟的方法^[4-5]对六味地黄丸在 OA 治疗中的多成分-多靶点作用进行了研究,现总结报告如下。

1 材料与仪器

1.1 实验材料 六味地黄丸所含化合物数据来源于中药原植物化学成分手册^[6]和北京大学中草药有效成分三维结构与性质数据库^[7];OA 靶点蛋白质结构来源于 RCSB 蛋白质数据库;与 OA 相关的药物(类药)分子来源于 DrugBank 数据库。

1.2 实验设备 Discovery studio2.0 分子模拟软件;Cytoscape 生物信息网络关系软件。本实验所有计算工作皆在北京大学化学与分子工程学院计算机模拟实验室完成,计算过程中除非特别指明,所选用的参数均为缺省值。

基金项目:国家自然科学基金(81202713),陈可冀中西医结合发展基金(CKJ2010032),福建省自然科学基金(2010J01196)

通讯作者:刘献祥 E-mail:liuxianxiang@163.com

2 方 法

2.1 数据处理 通过在中药原植物化学成分手册和北京大学中草药有效成分三维结构与性质数据库检索及文献调研,收集六味地黄丸中所含化合物 183 个。在 Discovery studio2.0 软件的 Discovery Studio Standalone 模块搭建分子模型,在 Ligand Minimization 模块选用 MMFF 进行力场优化建立六味地黄丸化学成分数据库。从 DrugBank 数据库中收集到与 OA 相关的药物(类药)分子 96 个^[8],按照上述步骤建立数据库。根据文献[9-10]确定 13 个重要的 OA 靶点蛋白质(表 1),从 RCSB 蛋白质数据库获得其三维结构。

表 1 OA 靶点蛋白质信息

中文名称	英文简称	蛋白代码
基质金属酶-1	MMP-1	966C
基质金属酶-8	MMP-8	1ZSO
基质金属酶-9	MMP-9	1GKC
基质金属酶-12	MMP-12	3RTS
基质金属酶-13	MMP-13	2OZR
肿瘤坏死因子 α	TNF- α	2AZ5
诱生型一氧化氮合酶	iNOS	2Y37
环氧化酶 2	COX-2	3NT1
环氧化酶 1	COX-1	3N8X
细胞周期依赖性激酶 2	CDK2	3PXY
半胱氨酸蛋白酶 3	caspase-3	2CNN
半胱氨酸蛋白酶 8	caspase-8	1QDU
血红素加氧酶 1	HO-1	3TGM

2.2 六味地黄丸化学成分理化性质分析 在 Discovery studio2.0 软件的 QSAR 模块中计算六味地黄丸所含化合物的分子量、碳原子数、氧原子数、氮原子数、环数目、可旋转键数目、氢键受体数目、氢键给体数目、手性中心数目、主惯性矩、分子接触体积、分子表面面积、总极性表面积和脂水分配系数等 175 个

描述符,并做主成分分析^[11]。

2.3 分子对接和打分 以受体结构的原配体为活性口袋,利用 Discovery studio2.0 软件的 LigandFit 模块进行六味地黄丸所含有化合物与 OA 靶点蛋白质的对接计算研究。对接时使用 Dreiding 力场,蒙特卡罗法进行构象采样。对接后依据六味地黄丸中化合物可匹配的靶点蛋白质数目对化合物进行打分、排序,得分前 5 位的化合物视为六味地黄丸作用于靶点的活性成分^[12]。

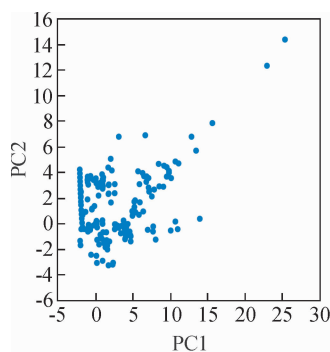
2.4 六味地黄丸多成分-多靶点网络建模 根据上述六味地黄丸所含化合物与靶点作用的预测结果,采用 Cytoscape 软件构建六味地黄丸多成分-多靶点网络模型^[13]。网络中的节点表示化合物或靶点蛋白质,若某一靶点蛋白质为某化合物的潜在作用靶点,则以边相连。

3 结 果

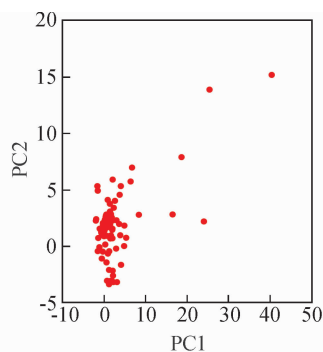
3.1 六味地黄丸多成分理化性质 描述符的计算结果见表 2。主成分分析结果显示六味地黄丸所含分子具有很好的分散性,并且六味地黄丸中的化合物分子与 OA 相关药物(类药)分子在化学空间中有较大程度的重叠(图 1)。

表 2 六味地黄丸中化合物的通用描述符的计算结果

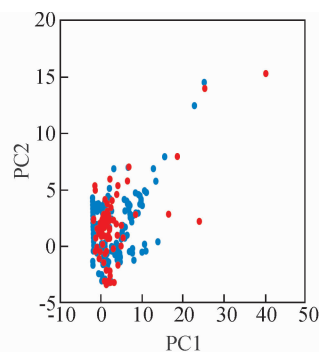
名称	计算结果		
	平均值	最小值	最大值
碳原子数	22.14	4	75
氢原子数	32	5	75
氧原子数	8.57	0	48
脂水分配系数	1.54	-9.55	9.13
分子量	439.12	74.12	1 725.22
可旋转键数目	6.90	0	32
氢键受体数目	8.62	1	48
氢键给体数目	4.77	0	27



(1)六味地黄丸中化合物分子集



(2)OA相关药物(类药)分子集



(3)六味地黄丸中化合物与OA相关药物(类药)分子集

图 1 六味地黄丸中化合物分子与 OA 相关药物(类药)分子在化学空间上的分布

3.2 六味地黄丸多成分-多靶点网络 将六味地黄丸化学成分和 OA 靶点蛋白质的作用导入 Cytoscape 软件中,制成六味地黄丸多成分-多靶点网络(图 2)。网络模型显示六味地黄丸化学成分与 OA 靶点蛋白间存在复杂的网络关系,模型中每个化合物的平均靶点数为 2.24,平均每个靶点与 5 个化合物相关联。在 Cytoscape 软件 Plugins 面板下计算得到多成分-多靶点网络模型的重要参数值(表 3)及重要节点的度值(表 4)。

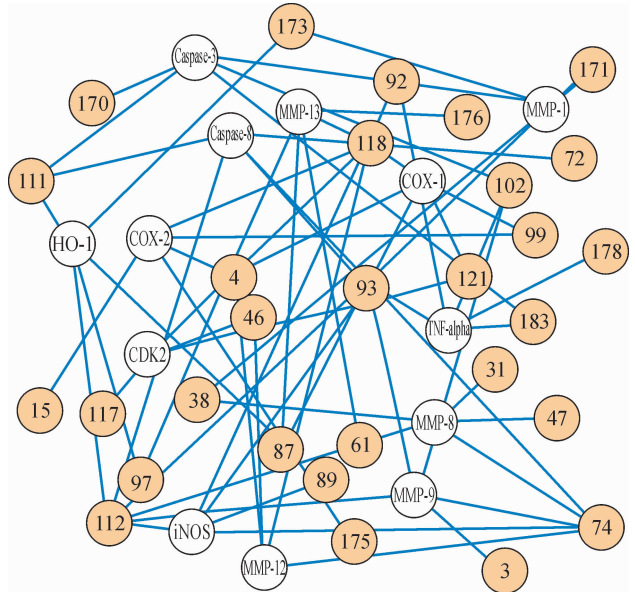


图 2 六味地黄丸多成分-多靶点网络模型

表 3 六味地黄丸多成分-多靶点网络模型重要参数值

项 目	参数值
节点数目	42
边数目	65
网络密度	0.075
网络异质性	0.581
孤立节点	0
自环数目	0
节点间多边数	0
最短路径长度	1 722
网络集中度	0.1
特征路径长度	3.799
平均相邻节点数	3.095

表 4 六味地黄丸多成分-多靶点网络中重要节点的度值

代码	化学名称	度值
112	1,2,6-三没食子酰葡萄糖	7
118	山药素Ⅳ	5
74	地黄苷 A	5
4	腺苷	4
92	桉木鞣质 B	4
93	桉木鞣质 C	4
111	1,2,3-三没食子酰-β-D-葡萄糖	3
102	异洋丁香酚苷	3

4 讨 论

不同细胞因子在软骨细胞分化过程中可发挥不同作用。通过对其多靶点干预,促进软骨细胞分化、生长和软骨修复,可达到治疗 OA 的目的^[14]。因此,多靶点治疗 OA 具有广泛的临床应用前景。

六味地黄丸被誉为“补阴方药之祖”,具有滋阴补肾之功,对肝肾阴虚不足所致的各种虚证均有良好的效果^[15]。OA 是中老年人常见的一种慢性关节疾病,属于中医“骨痹”“骨痿”范畴,患者多为“本虚标实”“本痿标痹”之证^[16]。痹证的病变部位在筋骨关节,筋骨依靠肝肾中精血的充养和肾中阳气的温煦,肾虚则先天之本不固,百病滋生^[17]。

系统生物学是联系中医药与现代药学的桥梁,而化学成分是中医学与现代医学的共同物质基础^[18]。在本研究中,我们计算了六味地黄丸中每个化合物分子的一系列分子描述符,然后用这些数值作为一个个点构成抽象的多维空间,即化学空间。经主成分分析降维后,发现六味地黄丸所含分子在化学空间上具有较好的分散性,而 OA 相关药物(类药)分子在化学空间上则更为集中,仅有小部分离群点。这说明六味地黄丸所含分子的多样性优于药物(类药)分子。由于中药方药可视为一个小型的天然组合化学库^[19],这就提示六味地黄丸所含分子可能比 OA 相关药物(类药)分子具有更广泛的靶作用。在此基础上,为了研究六味地黄丸所含分子与软骨代谢相关蛋白的关系,我们构建了六味地黄丸多成分-多靶点网络。相关参数显示,该网络没有孤立的节点和自环,连通情况达 100%;1 个节点与其他约 3 个节点直接相连;1,2,6-三没食子酰葡萄糖、山药素Ⅳ、地黄苷 A、腺苷、桉木鞣质 B、桉木鞣质 C 能与 3 个以上的靶蛋白发生作用。这提示六味地黄丸治疗 OA 可能是多个活性成分在起作用,具有多靶点、多环节、整体治疗 OA 的特征。

尽管许多问题仍有待于深入研究,但本实验通过描述符计算、主成分分析和分子对接等计算机模拟方法所建立的六味地黄丸多成分-多靶点网络,反映了其多成分-多靶点作用特点,有助于用现代医学观点解释六味地黄丸治疗 OA 的作用机制以及发现新的治疗 OA 的多靶点药物。

5 参考文献

[1] 张保国,刘庆芳. 六味地黄丸(汤)药效研究新进展[J]. 中成药,2007,29(7):1052-1057.

(下转第 18 页)

(上接第13页)

- [2] 肖经难,谢丹,祁开泽. 六味地黄丸对兔骨关节炎软骨细胞凋亡的影响[J]. 湖南中医学院学报,2003,23(5):11-13.
- [3] 楚世峰,张均田. 人参皂苷 Rg1 的多靶点作用和机制分析[J]. 医学研究杂志,2010,39(5):11-15.
- [4] 郑春松,徐筱杰,刘献祥,等. 精制透骨消痛颗粒防治骨性关节炎的计算机药理学[J]. 物理化学学报,2010,26(3):775-783.
- [5] 郑春松,叶蕪芝,李西海,等. 分子对接法对补肾壮筋汤治疗骨性关节炎有效成分群的研究[J]. 中医正骨,2012,24(1):8-10.
- [6] 周家驹,谢桂荣,严新建. 中药原植物化学成分手册[M]. 北京:化学工业出版社,2004:1165-1211.
- [7] Qiao X, Hou T, Zhang W, et al. A 3D structure database of components from Chinese traditional medicinal herbs[J]. J Chem Inf Comput Sci, 2002, 42(3):481-489.
- [8] Wishart DS, Knox C, Guo AC, et al. DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets[J]. Nucleic Acids Res, 2008, 36(Database issue):D901-D906.
- [9] 郑春松,徐筱杰,叶蕪芝,等. 青风藤治疗骨性关节炎药效物质基础多靶导向作用的计算机模拟研究[J]. 中国中西医结合杂志,2012,32(3):375-379.
- [10] 刘永刚,鲍隽君,邢自宝,等. 骨性关节炎与细胞因子相关性研究进展[J]. 骨科,2010,1(2):105-107.
- [11] Dobson CM. Chemical space and biology[J]. Nature, 2004, 432(7019):824-828.
- [12] Gu J, Zhang H, Chen L, et al. Drug-target network and polypharmacology studies of a Traditional Chinese Medicine for type II diabetes mellitus[J]. Comput Biol Chem, 2011, 35(5):293-297.
- [13] Tang Y, Carbonetta D, Shetty S. Development of an integrated network visualisation and graph analysis tool for biological networks[J]. Int J Comput Biol Drug Des, 2012, 5(2):152-163.
- [14] 王婧,梅焕平. 骨性关节炎软骨修复与基因治疗[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志,2008,2(1):41-44.
- [15] 蒋能英. 试论六味地黄丸[J]. 中国现代医生,2008,46(7):92-93.
- [16] 李西海,陈文列,刘献祥. 补肾柔肝法防治骨性关节炎作用机制探讨[J]. 福建中医药大学学报,2011,21(2):66-69.
- [17] 杜以宽,马民,唐勇. 中医对骨性关节炎病因病机的认识[J]. 浙江中医药大学学报,2009,33(2):155-156.
- [18] 李旭东,黄钦,徐筱杰. 中药方剂血府逐瘀汤中分子在靶标-配体空间的分布[J]. 物理化学学报,2008,24(4):547-551.
- [19] 徐筱杰. 中药复方的计算机模拟研究[J]. 化学进展, 1999, 19(2):202-203.

(2012-09-13 收稿 2012-10-24 修回)