

# 计算机辅助药物分子对接技术对补肾壮筋汤 防治骨关节炎有效成分群研究的进展

陈加守<sup>1</sup>, 李西海<sup>2</sup>, 叶蕪芝<sup>2</sup>, 刘献祥<sup>2</sup>

(1. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350108;

2. 福建中医药大学中西医结合研究院, 福建 福州 350108)

**摘要** 补肾壮筋汤具有补益肝肾、强筋壮骨的功效, 临床用于治疗骨关节炎疗效显著。分子对接是一种基于受体大分子三维结构寻找先导化合物的方法, 是计算机辅助药物设计最重要的方法之一。目前, 通过计算机辅助药物分子对接技术发现的补肾壮筋汤的主要有效成分群, 包括脂肪酸类、苯丙酸类、环烯醚萜苷类及其他类化合物, 这些有效成分群是补肾壮筋汤治疗骨关节炎的主要药效物质基础。以补肾壮筋汤的药物成分为研究对象, 通过计算机辅助药物分子对接技术找到补肾壮筋汤的有效成分群, 能更直观、明确地阐述补肾壮筋汤防治骨关节炎的作用机制, 为补肾壮筋汤的临床应用提供客观依据。

**关键词** 骨关节炎 中草药 中药药理学 药理作用分子作用机制 补肾壮筋汤 综述

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是中老年人常见的一种慢性、进展性疾病, 属中医学“骨痹”范畴。补肾壮筋汤出自清代钱秀昌的《伤科补要》, 功效以补益肝肾为主, 兼可祛风、除湿、散寒、化瘀, 用于治疗肝肾亏虚型膝骨关节炎, 可标本兼顾, 能有效改善临床症状, 疗效显著<sup>[1-3]</sup>。补肾壮筋汤的有效成分群可抑制与骨关节炎有关的炎症细胞因子和酶的活性, 如白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 等, 具有多靶点抑制效应。

## 1 计算机辅助药物分子对接技术

计算机辅助药物设计 (computer aided drug design, CADD) 是利用计算化学的基本原理, 通过模拟药物与受体生物大分子的相互作用或通过分析已知药物结构与其生物活性的内在关系, 合理设计新型结构先导化合物的药物设计方法<sup>[4]</sup>。分子对接是一种基于受体大分子三维结构来寻找先导化合物的方法, 是 CADD 最重要的方法之一<sup>[5]</sup>。对接计算时, 将配体分子放到受体活性位点, 然后按照几何互补、能量互补及化学环境互补的原则, 来实时评价配体与受体的

相互作用。目前, 分子对接技术已广泛应用于小分子和大分子相互模拟及药物筛选的研究<sup>[6-7]</sup>。

## 2 补肾壮筋汤防治 OA 的主要有效成分群

中药复方用药是中医临床用药的特色, 中药复方化学成分复杂、种类繁多, 是具有自然界原生物体遗传信息的多成分有机整体, 可称之为天然组合化学库<sup>[8-9]</sup>。纯天然活性化合物或合成药物的作用靶点不多, 而中药复方由于其组成特点, 具有多靶点效应, 是目前药学研究的热点。郑春松等<sup>[10]</sup>通过计算机辅助药物分子对接技术发现补肾壮筋汤与 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、COX-2 和 iNOS 匹配度较高的化合物分别有 2、31、7、2 种; 其中有 25 种化合物, 每种能同时对 2 或 3 种靶点有抑制效应; 有 10 种化合物, 每种仅对 1 种靶点有抑制效应; 说明补肾壮筋汤具有一种成分抑制多种蛋白的混杂药物属性及多种成分抑制多种蛋白的组合药物属性, 表明补肾壮筋汤治疗骨关节炎多靶点效应的物质基础是有效成分群。补肾壮筋汤的主要有效成分群包括脂肪酸类、苯丙酸类、环烯醚萜苷类及其他化合物。

**2.1 脂肪酸类** 根据饱和度的不同, 脂肪酸分为饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。补肾壮筋汤的有效成分群中含有多种饱和脂肪酸 (葵二酸、棕榈酸、壬二酸、13-甲基十四碳酸、肉豆蔻酸、月桂酸、十一烷酸和辛酸) 和不饱和脂肪酸 (亚油酸、顺式-9-顺式-12-亚油酸、十二碳烯酸), 其中葵二酸、壬二酸、棕榈酸、十一烷酸、顺式-9-顺式-12-亚油酸

基金项目: 国家自然科学基金 (81102609), 福建省科技厅重点项目 (2012Y0046), 福建省自然科学基金 (2011J05074), 福建省高校杰出青年科研人才计划 (JA12165)

通讯作者: 刘献祥 E-mail: liuxianxiang@163.com

对 3 种不同靶点具有抑制效应,其他种类的脂肪酸均至少对 1 种靶点可产生抑制作用。董伟等<sup>[11]</sup>的研究表明,不饱和脂肪酸可减少动物血浆及细胞培养液中的炎性介质,减轻自由基对细胞膜的损伤,对炎症反应有预防作用。油酸、亚油酸、 $\gamma$ -亚麻酸等不饱和脂肪酸,能显著抑制炎症因子引起的大鼠毛细血管通透性增加,抑制肉芽组织增生,抑制前列腺素 (prostaglandin, PG) E 及缓激肽的释放,减少炎性成分渗出,稳定溶酶体膜<sup>[12]</sup>。

**2.2 苯丙酸类** 苯丙酸类化合物及其衍生物,是中药中主要的简单苯丙素类化合物,具有多种生物活性。通过分子对接已发现补肾壮筋汤中含有多种苯丙酸类化合物及其衍生物,如绿原酸 (chlorogenic acid)、阿魏酸 (ferulic acid)、咖啡酸、绿原酸甲酯、没食子酸、茴香酸等<sup>[10]</sup>。绿原酸是中药杜仲的主要有效成分,除具有抗菌、抗病毒、促进胆汁分泌等药理作用外,还能抑制 TNF- $\alpha$ 、IL-6 及 COX-2 活性,减少 PGE2 的合成,从而抑制炎症反应<sup>[13]</sup>;阿魏酸是当归的有效成分,具有良好的抗炎活性,能抑制 NO、

PGE2、IL-1 $\beta$  等炎症因子的活性及 iNOS、COX-2 的表达<sup>[14-15]</sup> (图 1)。

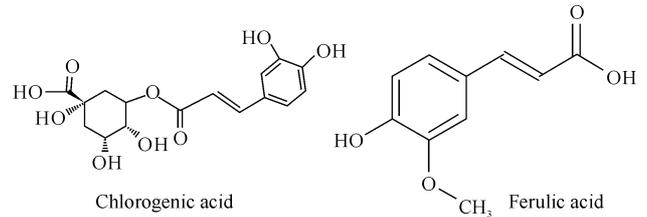


图 1 绿原酸、阿魏酸的化学结构式

**2.3 环烯醚萜苷类** 环烯醚萜类化合物为臭蚁二醛的缩醛衍生物,常与糖形成苷存在于植物体内。补肾壮筋汤含有京尼平苷 (geniposidic)、京尼平苷酸 (geniposidic acid)、马钱子苷 (番木鳖苷,loganin)、马鞭草苷 (verbenalin) 等多种具有抗炎活性的环烯醚萜苷类化合物 (图 2)。京尼平苷对巴豆油引起的浮肿具有局部抗炎作用,可抑制 NO 的合成及 iNOS 的表达<sup>[16-17]</sup>;马钱子苷经由  $\beta$ -葡萄糖苷酶水解后的苷元对 COX-1 和 TNF- $\alpha$  的活性具有显著抑制作用<sup>[18]</sup>;马鞭草苷对由十四(烷)酰佛波醇乙酸酯引发的小鼠耳水肿显示出很强的抗炎活性<sup>[19]</sup>。

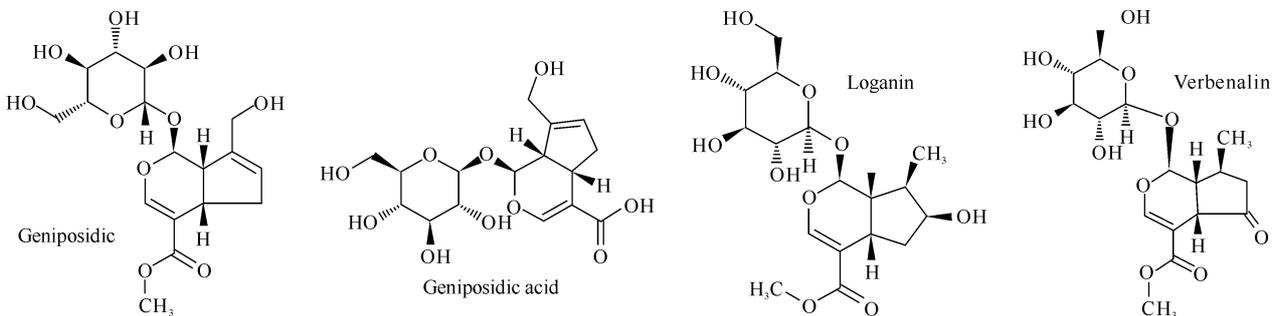


图 2 京尼平苷、京尼平苷酸、马钱子苷及马鞭草苷的化学结构式

**2.4 其他类** 补肾壮筋汤防治 OA 的其他有效成分包括三萜类 (茯苓新酸 A、茯苓新酸 B) 和苯丙醇类 (松柏苷) 化合物,三萜类化合物对二甲苯诱导的小鼠耳肿胀和冰醋酸引起的小鼠腹腔毛细血管通透性增加等急性炎症反应有明显的抑制作用,且对棉球诱导的大鼠肉芽肿也有抑制作用<sup>[20]</sup>;苯丙醇类化合物对脂多糖刺激小鼠腹腔巨噬细胞产生 TNF- $\alpha$  具有抑制作用<sup>[21]</sup>。

### 3 补肾壮筋汤防治 OA 的作用机制

OA 的发生发展与软骨细胞异常凋亡有关<sup>[22-23]</sup>。补肾壮筋汤能降低关节腔内 NO 的浓度,抑制炎症因子的表达,促进软骨细胞增殖和关节软骨修复,抑制氧自由基代谢<sup>[24-27]</sup>。G 蛋白偶联信号传导系统在调节细胞信号转导的过程中起到第二信使的作用<sup>[28]</sup>,

补肾壮筋汤的有效成分群可能通过调节下丘脑-垂体-靶腺系统,促进激素的分泌及神经递质的释放,并通过膜受体与 G 蛋白偶联,激活 G 蛋白,作用于相应的酶及离子通道 (腺苷酸环化酶 AC、磷脂酶 C、Ca<sup>2+</sup> 及 K<sup>+</sup> 通道),产生第二信使,从而介导软骨细胞信号转导通路的表达<sup>[29]</sup>,调控神经-内分泌-免疫系统及神经-内分泌-骨代谢系统,抑制软骨细胞凋亡,延缓关节软骨退变,从而达到防治 OA 的目的。

### 4 小结

补肾壮筋汤中熟地黄、山茱萸补益肝肾、填精补髓,为君药;续断、杜仲、五加皮辅助补肝肾、强筋骨,兼可祛风湿,为臣药;当归补血活血,白芍敛阴和营、柔肝止痛,茯苓健脾和胃、化痰除湿,青皮行气疏肝,共为佐药;牛膝补肝肾、强筋骨、活血通经、引血下行,

为使药;诸药合用,共奏补益肝肾、强壮筋骨之效。以补肾壮筋汤的药物成分为研究对象,通过计算机辅助药物分子对接技术找到补肾壮筋汤的有效成分群,能更直观、明确地阐述补肾壮筋汤防治 OA 的作用机制,为补肾壮筋汤的临床应用提供客观依据。

## 5 参考文献

- [1] 边红光,周春秀. 补肾壮筋汤治疗骨关节炎合并骨质疏松症疗效观察[J]. 中医正骨,2005,17(10):37-38.
- [2] 潘永生. 补肾壮筋汤为主治疗退行性骨关节病 126 例[J]. 河北医学,2001,7(11):1045-1046.
- [3] 章煜铭. 补肾壮筋汤治疗退行性骨关节病 183 例[J]. 浙江中医杂志,1992,27(4):174.
- [4] 李贞双,李超林. 计算机辅助药物设计在新药研究中的应用[J]. 电脑知识与技术,2009,5(31):8812-8813.
- [5] 吴可柱,李昆,李爱秀. 虚拟筛选技术与新药开发[J]. 武警医学院学报,2011,20(5):415-419.
- [6] Enyedy IJ, Ling Y, Nacro K, et al. Discovery of small-molecule inhibitors of Bcl-2 through structure-based computer screening[J]. J Med Chem,2001,44(25):4313-4324.
- [7] 曾茂贵,陈立武,郑春松,等. 分子对接法探讨扶正抑瘤复方制剂对环氧化酶的作用[J]. 中国新药与临床杂志,2007,26(8):580-585.
- [8] 周俊. 中药复方——天然组合化学库与多靶作用机理[J]. 中国中西医结合杂志,1998,18(2):67.
- [9] 贺福元,邓凯文,石继连,等. 中药有效成分群组方技术研究若干基础瓶颈问题及数理特征化思路的提出[J]. 中药材,2009,32(1):1-7.
- [10] 郑春松,叶蕻芝,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.
- [11] 董伟,李新建,陈洋藻,等. 不饱和脂肪酸在抗炎症反应中的作用[J]. 中华实验外科杂志,1999,16(4):292-293.
- [12] 李国栋,范伟,陆国浩,等. 月见草油的研究概况[J]. 药学实践杂志,2003,21(3):171-174.
- [13] 杨斌,丘岳,王柳萍,等. 广西山银花绿原酸体外抗炎作用及分子机制研究[J]. 中国药理学通报,2009,25(4):542-544.
- [14] 黄丰,邓华明,朱苗苗,等. 阿魏酸对脂多糖诱导的小鼠小胶质细胞炎症反应的抑制作用[J]. 动物学研究,2011,32(3):311-316.
- [15] 涂院海,杨晓军. 黄花铁线莲化学成分阿魏酸对类风湿关节炎的治疗作用[J]. 延安大学学报:医学科学版,2011,9(4):22-24.
- [16] Koo HJ, Song YS, Kim HJ, et al. Anti-inflammatory effects of genipin, an active principle of gardenia [J]. Europ J Pharmacol,2004,495(2-3):201-208.
- [17] 晋玉章,何瑞波,王义和,等. 京尼平苷对慢性前列腺炎大鼠的治疗作用[J]. 中国中药杂志,2010,35(8):1073-1078.
- [18] Park KS, Kim BH, Chang IM. Inhibitory potencies of several iridoids on cyclooxygenase-1, cyclooxygenase-2 enzymes activities, tumor necrosis factor- $\alpha$  and nitric oxide production in vitro[J]. Evid Based Complement Alternat Med,2010,7(1):41-45.
- [19] 乔卫,张彦文,吴寿金. 天然环烯醚萜类化合物的生物活性[J]. 国外医学:植物药分册,2001,16(2):65-67.
- [20] 汪电雷,陈卫东,徐先祥. 茯苓总三萜的抗炎作用研究[J]. 安徽医药,2009,13(9):1021-1023.
- [21] 韩美华,杨秀伟,钟国跃,等. 鲜半夏中抑制肿瘤坏死因子- $\alpha$ 产生的活性成分[J]. 中国中药杂志,2007,32(17):1755-1759.
- [22] Blanco FJ, Guitian R, Vázquez-Martul E, et al. Osteoarthritis chondrocytes die by apoptosis. A possible pathway for osteoarthritis pathology[J]. Arthritis Rheum,1998,41(2):284-289.
- [23] Hashimoto S, Ochs RL, Komiya S, et al. Linkage of chondrocyte apoptosis and cartilage degradation in human osteoarthritis[J]. Arthritis Rheum,1998,41(9):1632-1638.
- [24] 潘浩,李雄峰,边红光. 补肾壮筋汤对实验性骨关节病 NO 和软骨细胞凋亡的影响[J]. 中国中西医结合外科杂志,2005,11(3):238-243.
- [25] 张炳冉. 补肾壮筋汤对膝骨关节炎患者血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ 与白细胞介素-6 水平的影响[J]. 中草药,2006,37(9):1389-1390.
- [26] 李西海,刘献祥. 补肾壮筋汤干预肝肾亏虚型膝骨性关节炎软骨退变的机制探讨[J]. 福建中医药,2011,42(5):58-61.
- [27] 姚啸生,李洪久,宋雅梅,等. 加味补肾壮筋汤对膝骨关节炎氧自由基代谢的影响[J]. 中医正骨,2005,17(9):5-6.
- [28] Ye X, Carew TJ. Small G protein signaling in neuronal plasticity and memory formation: the specific role of ras family proteins[J]. Neuron,2010,68(3):340-361.
- [29] Steffens B, Sauter M. G proteins as regulators in ethylene-mediated hypoxia signaling[J]. Plant Signal Behav,2010,5(4):375-378.