

· 基础研究 ·

独活治疗骨关节炎疼痛的计算机模拟研究

郑春松¹, 付长龙¹, 叶锦霞², 吴广文², 李西海², 叶蕪芝², 刘献祥¹

(1. 福建中医药大学, 福建 福州 350122;

2. 福建省中西医结合老年性疾病重点实验室, 福建 福州 350122)

摘要 目的:探讨独活治疗骨关节炎(osteoarthritis, OA)疼痛的药效物质基础和作用靶点。**方法:**分别从北京大学天然产物库和 DrugBank 数据库检索独活的化学成分 68 个和 OA 疼痛相关抗炎镇痛药物 28 个, 建立独活化学成分分子数据集和 OA 疼痛相关药物分子数据集, 依托定量构效关系平台, 分析 2 个分子集的化学空间。以白细胞介素(interleukin, IL) - 1 β 、IL - 6 和肿瘤坏死因子 - α (tumor necrosis factor - α , TNF - α) 作为 OA 疼痛治疗靶点, 利用分子对接和生物网络技术, 构建独活活性成分 - OA 疼痛靶点作用网络, 分析独活活性成分与 OA 疼痛靶点的作用情况。**结果:**相对于 OA 疼痛相关药物分子数据集, 独活化学成分分子数据集在化学空间上具有很好的分散性, 且在后下方与 OA 疼痛相关药物分子数据集有相似或相近的化学空间。独活治疗 OA 疼痛的药效物质基础为香豆素类化合物(UNPD80777、UNPD49810、UNPD40977、UNPD35503、UNPD189982、UNPD134852 和 UNPD126813) 和酚类化合物(UNPD24695), 其中 5 个化合物(UNPD49810、UNPD40977、UNPD35503、UNPD189982、UNPD134852) 只能作用 1 个靶点, 3 个化合物(UNPD80777、UNPD126813、UNPD24695) 可以作用 2 个靶点, 而且 IL - 1 β 、IL - 6、UNPD80777、UNPD126813 和 UNPD24695 具有较高的度和介数值。**结论:**独活治疗 OA 疼痛的主要药效物质基础为香豆素类化合物(UNPD80777、UNPD126813) 和酚类化合物(UNPD24695), 关键作用靶点为 IL - 1 β 和 IL - 6。

关键词 骨关节炎; 独活; 计算机模拟; 疼痛; 痹证

A computer simulation study of heracleum for treatment of osteoarthritis pain

ZHENG Chunsong¹, FU Changlong¹, YE Jinxia², WU Guangwen², LI Xihai², YE Hongzhi², LIU Xianxiang¹

1. Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, Fujian, China

2. Fujian Key Laboratory of Integrated Medicine on Geriatrics, Fuzhou 350122, Fujian, China

ABSTRACT Objective: To explore the pharmacodynamic material basis and action targets of heracleum for treatment of osteoarthritis (OA) pain. **Methods:** Sixty - eight chemical components of heracleum and twenty - eight OA pain - related anti - inflammatory analgesic drugs were retrieved from Peking University Natural Product Library and DrugBank database respectively to build the molecular dataset of chemical components of heracleum and the molecular dataset of OA pain - related drugs. The chemical space of the 2 molecular datasets were analysed relying on the quantitative structure - activity relationship platform. Interleukin (IL) - 1 β , IL - 6 and tumor necrosis factor - α (TNF - α) were used as therapeutic targets of OA pain. The network of interaction between active ingredients of heracleum and targets of OA pain were constructed by using molecular docking technology and biological network technology, and the interaction between active ingredients of heracleum and targets of OA pain were analyzed. **Results:** The molecular dataset of chemical components of heracleum had better dispersity in the chemical space compared to the molecular dataset of OA pain - related drugs, and its posterior - inferior part was similar to the molecular dataset of OA pain - related drugs in chemical space. The pharmacodynamic material basis of heracleum for treatment of OA pain included coumarin compounds (UNPD80777, UNPD49810, UNPD40977, UNPD35503, UNPD189982, UNPD134852 and UNPD126813) and phenolic compounds (UNPD24695). UNPD49810, UNPD40977, UNPD35503, UNPD189982 and UNPD134852 could act on one target; and UNPD80777, UNPD126813 and UNPD24695 could act on two targets. Furthermore, IL - 1 β , IL - 6, UNPD80777, UNPD126813 and UNPD24695 had high degrees and betweenness values. **Conclusion:** The main pharmacodynamic material basis of heracleum for treatment of OA pain are coumarin compounds (UNPD80777 and UNPD126813) and phenolic compounds (UNPD24695), and their key action targets include IL - 1 β and IL - 6.

Key words osteoarthritis; heracleum; computer simulation; pain; arthralgia syndrome

基金项目: 国家自然科学基金项目(81573801); 福建省自然科学基金项目(2015J01338)

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

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是中老年人常见的慢性进行性骨关节疾病, 临床主要表现为关节疼痛, 因此缓解疼痛已经成为治疗 OA 的主要目的之一^[1]。OA 属中医学“骨痹”“膝痹”范畴。独活在《神农本草经》中被列为上品, 具有祛风湿、发散风寒和止痛的功效, 主要应用于治疗风寒湿痹证^[2-3]。现代药理研究表明, 独活对小鼠急性腹膜炎和耳肿胀有明显的治疗作用, 对小鼠醋酸扭体有显著的镇痛效果, 提示独活具有抗炎镇痛的作用^[4]。但有关独活治疗 OA 的具体活性成分和作用靶点目前未见报道。本研究以 OA 疼痛为切入点, 基于计算机模拟^[5-8]的方法探讨了独活治疗 OA 疼痛的药效物质基础及作用靶点。

1 材料与仪器

1.1 实验材料 独活化学成分分子数据集来源于北京大学天然产物库^[9]; OA 疼痛相关抗炎镇痛药物蛋白数据集来源于 DrugBank 数据库^[10]; OA 疼痛相关靶点蛋白质信息和结构来源于 TTD 数据库^[11] 和 RCSB 蛋白质数据库^[12]。

1.2 实验设备 Discovery studio 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。

2 方法

2.1 数据处理 从北京大学天然产物库中检索到独活化学成分 68 个; 从 DrugBank 数据库中检索到与 OA 疼痛相关抗炎镇痛药物 28 个。根据 TTD 和文献^[13], 选择白细胞介素 (interleukin, IL) - 1 β 、IL - 6 和肿瘤坏死因子 - α (tumor necrosis factor - α , TNF - α) 作为 OA 疼痛治疗靶点, 在 RCSB 数据库下载其蛋白质 - 配体复合物晶体结构, 代码分别为 3O4O、1ALU 和 2AZ5。在 Discovery studio 软件上建立独活化学成分、OA 疼痛相关药物和靶点蛋白分子数据集。

2.2 独活化学成分和 OA 疼痛相关药物分子化学空间建立 在 Discovery studio 定量构效关系模块下, 选择碳原子数、氢原子数、氧原子数、氮原子数、分子量、环数目、可旋转键数目、氢键受体数目、氢键给体数目、分子接触体积、分子表面面积、总极性表面面积、总疏水表面面积和脂水分配系数等 48 个描述符, 计算独活化学成分和 OA 疼痛相关药物分子数据集的多维描述符值, 定义为其化学空间^[14-15]。通过主成分分析将描述符的多维数据有效映射到三维化学空间上, 比较其化学空间分布。

2.3 独活活性成分 - OA 疼痛靶点作用网络构建与分析 将独活化学成分分子数据集与 OA 疼痛靶点蛋白在 Discovery studio 软件 LigandFit 模块中进行分子对接^[16]。具体方法如下: 蛋白结构去溶剂、去配体、加氢处理后, 以其所含的活性原配体来确定活性位点; 使用蒙特卡罗法对独活分子数据集进行构象采样、Dreiding 力场下进行打分, 保留得分最高的构象, 对对接成功的独活化学成分 DOCK - SCORE 进行排序。以原配体的 DOCK - SCORE 为阈值, 大于阈值的化学成分视为独活治疗 OA 疼痛的活性成分^[17]。将独活活性成分与 OA 疼痛靶点作为节点, 其相互作用用边表示。运用 Cytoscape 软件构建独活活性成分 - OA 疼痛靶点作用网络^[18], 通过软件中 Plugins 面板下 Network Analysis 分析独活活性成分与 OA 疼痛靶点的作用情况。

3 结果

3.1 独活化学成分和 OA 疼痛相关药物分子化学空间 描述符的计算结果显示, 独活化学成分分子数据集在分子量、氢键受体、氢键给体、脂水分配系数等描述符值上比 OA 疼痛相关药物分子数据集具有更广的范围 (表 1)。主成分分析显示, 相对于 OA 疼痛相关药物分子数据集, 独活化学成分分子数据集在化学空间上具有很好的分散性, 且在后下方与 OA 疼痛相关药物分子数据集有相似或相近的化学空间 (图 1)。

表 1 独活化学成分分子数据集和骨关节炎疼痛相关药物分子数据集重要描述符计算结果

性质	独活化学成分分子数据集				骨关节炎疼痛相关药物分子数据集			
	平均值	标准差	最小值	最大值	平均值	标准差	最小值	最大值
分子量	222.31	87.94	100.12	538.80	292.73	69.38	180.16	523.54
氢键受体	2.28	2.51	0	9	3.46	1.30	2	8
氢键给体	0.65	1.00	0	4	1.32	0.60	0	2
脂水分配系数	3.36	1.98	-3.08	11.19	3.11	1.34	0.13	5.78
可旋转键数	3.21	3.01	0	12	3.61	0.94	2	6

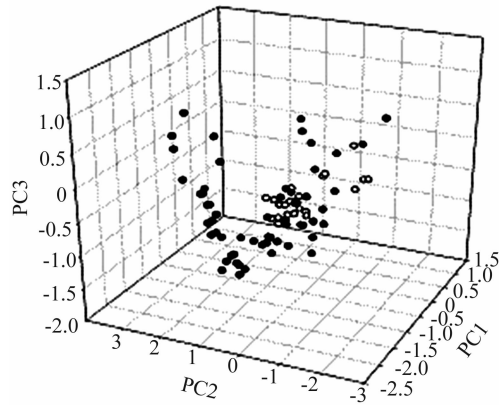


图 1 独活化学成分分子数据集和骨关节炎疼痛相关药物分子数据集的化学空间

黑色圆点和白色圆点分别代表独活化学成分分子和骨关节炎疼痛相关药物分子

3.2 独活活性成分 - OA 疼痛靶点作用网络 独活治疗 OA 疼痛的药效物质基础为香豆素类化合物 (UNPD80777、UNPD49810、UNPD40977、UNPD35503、UNPD189982、UNPD134852 和 UNPD126813) 和酚类化合物 (UNPD24695), 其中 5 个化合物只能作用 1 个靶点, 3 个化合物可以作用 2 个靶点 (图 2)。在 Cytoscape 软件 Plugins 面板下计算得到独活活性成分 - OA 疼痛靶点作用网络模型的重要节点信息, 显示 IL-1 β 、IL-6、UNPD80777、UNPD126813 和 UNPD24695 具有较高的度和介数值 (表 2)。

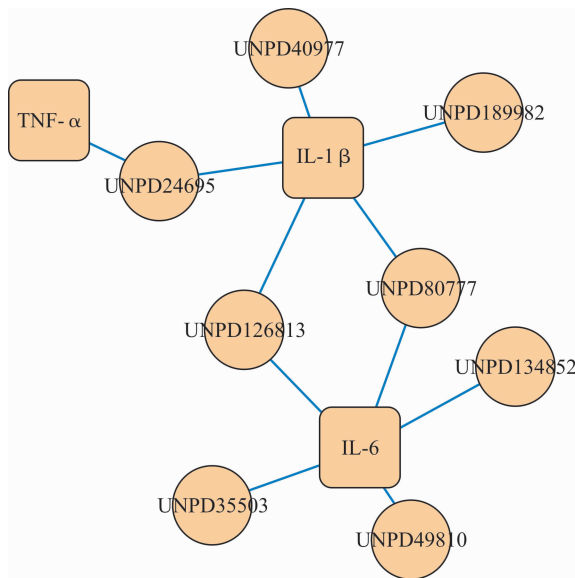


图 2 独活活性成分 - 骨关节炎疼痛靶点作用网络

4 讨论

中药现代化、国际化的核心是揭示中药的药效物质基础和作用机制。但中药是个复杂的分子体系, 其作用机制也非常复杂。应用“中药到活性成分”的传

表 2 独活活性成分 - 骨关节炎疼痛靶点作用网络的重要节点信息

节点	化合物名称	度	介数值
白细胞介素 - 1 β	—	5	0.66
白细胞介素 - 6	—	5	0.54
UNPD80777	isoimipinellin	2	0.22
UNPD126813	angelicone	2	0.22
UNPD24695	dipiperitylmagnolol	2	0.20

统途径来研究中药的药效物质基础, 存在现筛选时间较长、假阳性干扰、漏筛等缺点; 若能先了解中药有关成分的信息, 利用计算机模拟的方法探讨其可能的药效物质基础及机制, 再进行实验则会节省大量人力、物力^[19]。在此背景下, 本课题组提出从“活性成分到中药”的反向途径, 基于化学空间和化合物 - 靶点网络的计算机模拟方法^[7-8], 研究了独活治疗 OA 疼痛的药效物质基础及分子机制。

依据定量构效关系理论, 相似的化学空间可能具有相似的活性性质^[14]。本研究从疼痛是 OA 的主要症状出发, 依托北京大学天然产物库和 DrugBank 数据库, 建立了独活化学成分分子和 OA 疼痛相关药物分子的化学空间。OA 疼痛相关药物分子的化学空间主要分布在后下方, 独活化学成分分子的化学空间分布较为分散, 二者存在一定数量相似或相近的化学空间, 提示独活的化学成分可能具有抗炎镇痛的作用。

炎性疼痛和神经性疼痛是 OA 疼痛的 2 种类别, 前者主要是由炎症细胞因子诱导的炎症所致, 后者可由炎症细胞因子长时间刺激骨关节周围末梢神经所致, 即炎症细胞因子水平的异常升高是导致 OA 疼痛的原因^[13]。而且 OA 是一种以关节软骨变性、破坏及骨质增生为特征的关节病, IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 在软骨中表达升高, 会导致软骨退变^[20-21]。因此 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 成为了 OA 疼痛研究中的热点。已有研究显示, IL-1 β 能通过诱导周围其他炎性因子的表达, 加重炎性疼痛, 同时也能刺激关节周围末梢神经, 降低疼痛阈导致疼痛^[22]; IL-6 与关节组织中的痛觉过敏及感觉敏感相关, 在 OA 疼痛的传递中起着重要作用^[23]; TNF- α 不仅能通过部分神经或炎症环境致痛, 也能诱发神经性疼痛^[23-24]。本研究以 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 作为 OA 疼痛的治疗靶点, 建立了独活活性成分 - OA 疼痛靶点作用网络, 其网络节点的度和介数被用于评价化合物和靶点在网络中的重要性^[25]。从图中可以看出, 独活治疗

OA 疼痛的重要药效物质基础为 UNPD80777、UNPD126813 和 UNPD24695。其中 UNPD80777 和 UNPD126813 属于游离香豆素类,分子量小,挥发性,能随水蒸气蒸馏出来,也进一步验证了独活挥发油对兔膝骨关节炎保护作用的科学性^[26];这 2 类物质只有部分溶于热水,这为也“独活水煎液抗炎镇痛效果不明显”提供了新线索^[27]。从 OA 疼痛靶点的网络特征看,IL-1 β 和 IL-6 为独活治疗 OA 疼痛的关键作用靶点,提示其治疗 OA 疼痛可能与抑制炎症细胞因子直接或间接诱导痛觉过敏有关。这些发现在一定层面上揭示了独活在 OA 疼痛治疗中的重要意义,为后期独活治疗 OA 疼痛成分的提取、分离、活性实验提供了方向,也为从信号通路角度研究独活的作用机制提供了帮助。

本研究的结果提示,独活治疗 OA 疼痛的主要药效物质基础为香豆素类化合物(UNPD80777、UNPD126813)和酚类化合物(UNPD24695),关键作用靶点为 IL-1 β 和 IL-6。本课题组将以此为基础,开展“独活—有效部位(香豆素类)—有效成分”的系统层次研究,追踪独活中对 OA 确有疗效的物质基础,最终创制靶点清楚的治疗 OA 的创新中药。

5 参考文献

- [1] 肖壮,唐涛,孙先润,等. 骨关节炎治疗药物的研究进展[J]. 中国药房,2016,27(35):5037-5040.
- [2] 郑春松,付长龙,叶蕪芝,等. 独活寄生汤在骨伤科的临床应用与实验研究进展[J]. 风湿病与关节炎,2015,4(12):62-66.
- [3] 张廷模. 中药学[M]. 北京:高等教育出版社,2010:196-197.
- [4] 宋京都,王巍,姚世霞,等. 甘肃三种独活商品镇痛、抗炎作用研究[J]. 现代中药研究与实践,2006,20(1):33-34.
- [5] ZHENG C, QIU M, XU X, et al. Understanding the diverse functions of Huatan Tongluo Fang on rheumatoid arthritis from a pharmacological perspective [J]. Exp Ther Med, 2016,12(1):87-94.
- [6] 郑春松,叶蕪芝,李西海,等. 透骨消痛胶囊中补肾柔肝药和活血祛风药治疗骨关节炎作用方式的计算机模拟比较[J]. 中医正骨,2015,27(7):6-10.
- [7] 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.
- [8] 严培晶,郑春松,叶蕪芝,等. 基于计算机模拟研究雷公藤治疗类风湿关节炎的药效物质基础与分子作用机制[J]. 中国组织工程研究,2016,20(12):1818-1824.
- [9] GU J, GUI Y, CHEN L, et al. Use of natural products as chemical library for drug discovery and network pharmacology[J]. PLoS One, 2013,8(4):e62839.
- [10] WISHART DS, KNOX C, GUO AC, et al. DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration[J]. Nucleic Acids Res, 2006, 34 (Database issue): D668-D672.
- [11] ZHU F, SHI Z, QIN C, et al. Therapeutic target database update 2012: a resource for facilitating target-oriented drug discovery[J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40 (Database issue): D1128-D1136.
- [12] Deshpande N, Address KJ, Bluhm WF, et al. The RCSB Protein Data Bank: a redesigned query system and relational database based on the mmCIF schema [J]. Nucleic Acids Res, 2005, 33 (Database issue): D233-D237.
- [13] 姚志华, 裘敏蕾, 樊天佑. 炎症细胞因子在骨性关节炎疼痛中的作用机制[J]. 中国骨与关节杂志, 2014, 3(5): 374-377.
- [14] DOBSON CM. Chemical space and biology [J]. Nature, 2004, 432(719):824-828.
- [15] 黄钦, 乔学斌, 徐筱杰, 等. 中草药有效成分化合物的化学空间分析[J]. 计算机与应用化学, 2007, 24(1):51-54.
- [16] MONTES M, BRAUD E, MITEVA MA, et al. Receptor-based virtual ligand screening for the identification of novel CDC25 phosphatase inhibitors [J]. J Chem Inf Model, 2008, 48(1):157-165.
- [17] 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.
- [18] SMOOT ME, ONO K, RUSCHEINSKI J, et al. Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization[J]. Bioinformatics, 2011, 27(3):431-432.
- [19] 徐筱杰. 中药复方的计算机模拟研究[J]. 化学进展, 1999, 11(2):202-204.
- [20] 孟祥奇, 黄桂成. 祛痰除湿剂对离体培养的骨关节炎患者膝关节软骨 TNF- α , IL-1, IL-6 mRNA 表达的影响[J]. 山东医药, 2012, 52(23):19-21.
- [21] 窦晓丽, 段晓琴, 夏玲, 等. 骨关节炎: 关节软骨退变的相关研究与进展[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(20):3763-3766.
- [22] ATTUR M, BELITSKAYA L, OH C, et al. Increased interleukin-1 β gene expression in peripheral blood leukocytes is associated with increased pain and predicts risk for progression of symptomatic knee osteoarthritis[J]. Arthritis Rheum, 2011, 63(7):1908-1917.

(下转第 11 页)

(上接第4页)

- [23] KAWASAKI Y, ZHANG L, CHENG JK, et al. Cytokine mechanisms of central sensitization: distinct and overlapping role of interleukin - 1beta, interleukin - 6, and tumor necrosis factor - alpha in regulating synaptic and neuronal activity in the superficial spinal cord[J]. J Neurosci, 2008, 28(20):5189 - 5194.
- [24] ORITA S, ISHIKAWA T, MIYAGI M, et al. Pain - related sensory innervation in moniodoacetate - induced osteoarthritis in rat knees that gradually develops neuronal injury in addition to inflammatory pain[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2011, 12(1):134.
- [25] 柯志鹏, 张新庄, 丁玥, 等. 利用网络药理学方法研究芪桂痛风片的药效物质基础与分子作用机制[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(14):2837 - 2842.
- [26] 乙军, 周业庭, 潘武, 等. 独活挥发油灌胃对兔膝关节炎的保护作用及其机制[J]. 临床骨科杂志, 2013, 16(4):451 - 454.
- [27] 易增兴. 羌活与独活水煎液的抗炎镇痛作用[J]. 宜春学院学报, 2013, 35(3):68 - 70.
- (2017-05-12 收稿 2017-06-07 修回)