

应用计算机模拟技术比较川芎与当归的分子特征

郑春松¹, 叶蕪芝¹, 付长龙², 叶锦霞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:**比较川芎和当归的分子特征。**方法:**通过检索北京大学天然产物库,检索出川芎中的化合物 89 个、当归中的化合物 90 个,在 Discovery studio 模拟平台上建立川芎和当归化合物分子数据集,依托定量构效关系平台,分析 2 种中药中化合物分子数据集的化学空间特征。通过检索 TTD 数据库和相关文献,确定白细胞介素(interleukin, IL)1 β 、IL-6 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)为川芎和当归治疗骨关节炎(osteoarthritis, OA)疼痛的作用靶点,从 RCSB 蛋白数据库下载其蛋白质-配体复合物结构,在 Discovery studio 模拟平台上建立其蛋白分子数据集。利用分子对接和生物网络技术,分别构建川芎和当归化合物-OA 疼痛靶点作用网络,并比较其特征。**结果:**川芎和当归化合物分子数据集既具有相同或相近的化学空间,又具有不同的化学空间。川芎和当归化合物分子数据集化学空间中的分子量、氢键受体数目比较,组间差异均有统计学意义($t=2.549, P=0.012; \chi^2=29.825, P=0.002$);二者的脂水分配系数、氢键给体数目比较,组间差异均无统计学意义($t=1.583, P=0.115; \chi^2=4.658, P=0.793$)。川芎和当归化合物-OA 疼痛靶点作用网络显示川芎和当归中的活性成分数目分别为 26 个和 15 个,且主要活性成分均为苯酚类化合物。2 种中药的化合物-OA 疼痛靶点作用网络的度、路中心、最近距离中心、拓扑系数比较,组间差异均无统计学意义($\chi^2=6.422, P=0.491; t=-0.446, P=0.658; t=-1.908, P=0.063; t=-1.205, P=0.234$);2 种中药的化合物-OA 疼痛靶点作用网络的平均最短路径长度比较,差异有统计学意义($t=2.032, P=0.048$)。**结论:**川芎和当归中所含化合物在化学空间及作用网络特征方面存在一定程度的相似性,但在治疗 OA 疼痛方面,川芎比当归拥有更多的活性成分,二者配伍后具有更多样的理化性质,且存在潜在的协同作用。

关键词 川芎;当归;骨关节炎;计算机模拟**Comparison of ligusticum chuanxiong and angelica sinensis in molecular characteristics by using computer simulation technology**ZHENG Chunsong¹, YE Hongzhi¹, FU Changlong², YE Jinxia², 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 compare the molecular characteristics of ligusticum chuanxiong with those of angelica sinensis. **Methods:** Eighty-nine and ninety chemical compounds were searched out from ligusticum chuanxiong and angelica sinensis respectively by searching Peking University Natural Product Library to build ligusticum chuanxiong and angelica sinensis chemical compound molecular datasets on the Discovery studio simulation platform, and the chemical spatial characteristics of chemical compound molecular datasets of the two Chinese drugs were analyzed relying on the quantitative structure-activity relationship platform. Interleukin(IL)1 β , IL-6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were identified as the targets of ligusticum chuanxiong and angelica sinensis for treatment of OA pain through retrieving TTD database and related literatures, and their protein-ligand compound structures were downloaded from RCSB protein database and the molecular datasets of protein were built on the Discovery studio simulation platform. The network of interaction between chemical compounds of ligusticum chuanxiong and targets of OA pain and between chemical compounds of angelica sinensis and targets of OA pain were built respectively by using molecular docking and bio-network technology, and their characteristics were compared with each other. **Results:**The chemical compound molecular dataset of ligusticum chuanxiong was the same as or similar to that of angelica sinensis in chemical space, while they had other different chemical space. There was statistical difference in the molecular weight and number of hydrogen-bond acceptor between chemical space of chemical compound molecular dataset of ligusticum chuanxiong and that of angelica sinensis($t=2.549, P=$

基金项目:国家自然科学基金面上项目(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

0.012; $\chi^2 = 29.825, P = 0.002$), and there was no statistical difference in lipid – water partition coefficients and the number of hydrogen – bond donor between them ($t = 1.583, P = 0.115; \chi^2 = 4.658, P = 0.793$). The network of interaction between chemical compounds of ligusticum chuanxiong and targets of OA pain and between chemical compounds of angelica sinensis and targets of OA pain showed that the number of active ingredients in ligusticum chuanxiong and angelica sinensis were 26 and 15 respectively, and the active ingredients were mainly phthalides. There was no statistical difference between the 2 Chinese drugs in the degree, betweenness centrality, closest distance centrality and topological coefficient of network of interaction between chemical compounds and targets of OA pain ($\chi^2 = 6.422, P = 0.491; t = -0.446, P = 0.658; t = -1.908, P = 0.063; t = -1.205, P = 0.234$). There was statistical difference between the 2 Chinese drugs in the average minimal path length of network of interaction between chemical compounds and targets of OA pain ($t = 2.032, P = 0.048$). **Conclusion:** The chemical compound contained in ligusticum chuanxiong is similar to that contained in angelica sinensis in chemical spaces and characteristics of interaction network to a certain degree, however, ligusticum chuanxiong has more active ingredients than angelica sinensis for treatment of OA pain. The combination of the two drugs has more physico – chemical properties and the two drugs have potential synergistic effect.

Key words ligusticum chuanxiong; angelica sinensis; osteoarthritis; computer simulation

川芎和当归是临床上常用的补血活血药对,也都是治疗骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 名方独活寄生汤的重要组成药物^[1-2]。川芎能祛风止痛,而当归能补血活血、散寒止痛,二者均可用于痹证的治疗^[3]。疼痛和肿胀是痹证最常见的主要临床表现之一,镇痛、抗炎消肿作用已成为评价药物治疗痹证疗效的重要指标^[4-5]。现代药理学研究也发现,川芎、当归药对具有抗炎、镇痛的作用^[6]。但目前对于二者在治疗痹证方面的微观联系尚不清楚。为此,本研究依托计算机模拟平台^[7-10],以 OA 疼痛为痹证代表模型^[11],比较了川芎和当归的分子特征,以期为其在 OA 疼痛中的应用提供新依据。

1 材料与仪器

1.1 实验材料 川芎、当归所含化合物来源于北京大学天然产物库^[12];靶点信息来源于 TTD 数据库^[13]和文献^[14],靶点蛋白质结构来源于 RCSB 蛋白数据库^[15]。

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^[16]。本实验工作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说明,所选用的参数均为缺省值。

2 方法

2.1 川芎和当归化合物分子数据集及 OA 疼痛治疗靶点蛋白分子数据集的建立 通过检索北京大学天然产物库,检索出川芎中的化合物 89 个、当归中的化合物 90 个,在 Discovery studio 模拟平台上建立川芎和当归化合物分子数据集。通过检索 TTD 数据库和相关文献,确定白细胞介素 (interleukin, IL) 1 β 、IL – 6 和肿瘤坏死因子 – α (tumor necrosis factor – α , TNF – α) 为川芎和当归治疗 OA 疼痛的作用靶点,从 RCSB

蛋白数据库下载其蛋白质 – 配体复合物结构,代码分别为 3O4O、1ALU 和 2AZ5。在 Discovery studio 模拟平台上建立其蛋白分子数据集。

2.2 川芎和当归化合物分子数据集化学空间特征的比较 在 Discovery studio 模拟平台的定量构效关系模块下,选择包含碳原子数、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、分子溶解性、分子表面面积和分子体积等反映一维、二维和三维的描述符 78 个,输入川芎、当归所含化合物分子数据集文件,计算其多维描述符形成的空间^[17-18],并通过主成分分析降维^[19],分析川芎、当归所含化合物分子数据集的化学空间,比较二者在与类药性密切相关的描述符——分子量、氢键受体数目、氢键给体数目和脂水分配系数的分布特征。

2.3 川芎和当归化合物 – OA 疼痛靶点作用网络特征的比较 在 Discovery studio 模拟平台的 LigandFit 模块中^[20],以靶点蛋白结构中的原配体为活性口袋,以 Dreiding 为力场,以蒙特卡罗为构象采样方法,以原配体的 DOCK – SCORE 为阈值,只保留得分最高的构象,大于阈值的化合物,视为川芎、当归治疗 OA 疼痛的活性化合物^[21]。将川芎、当归所含活性化合物和治疗 OA 疼痛的作用靶点当做节点,相互作用用边表示。通过 Cytoscape 平台,构建川芎、当归化合物 – OA 疼痛靶点作用网络,并通过该平台下 Network Analysis 模块分析化合物与靶点的作用情况,比较 2 个网络的重要参数——最近距离中心、路中心、平均最短路径长度和拓扑系数的分布特征。

2.4 数据统计分析 采用 SPSS18.0 软件进行数据统计分析。川芎和当归中所含化合物分子数据集的

氢键给体数目、氢键受体数目、川芎和当归化合物 - OA 疼痛靶点作用网络重要节点度值的组间比较均采用 χ^2 检验,川芎和当归中所含化合物分子数据集的分子量、脂水分配系数的组间比较,以及川芎和当归化合物 - OA 疼痛靶点作用网络重要节点路中心、最近距离中心、拓扑系数、平均最短路径长度的组间比较均采用 t 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

3 结 果

3.1 川芎和当归化合物分子数据集化学空间特征的比较结果 川芎和当归化合物分子数据集既具有相同或相近的化学空间,又具有不同的化学空间(图 1)。川芎和当归化合物分子数据集化学空间中的分子量、氢键受体数目比较,组间差异均有统计学意义;

二者的脂水分配系数、氢键给体数目比较,组间差异均无统计学意义。见表 1 至表 3。

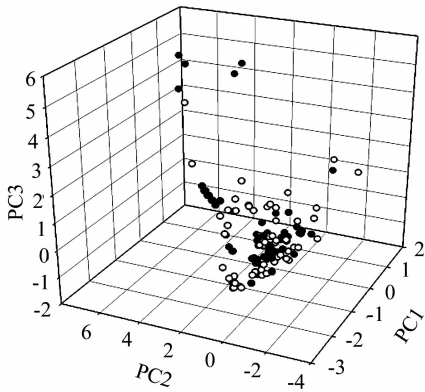


图 1 川芎和当归中所含化合物分子数据集化学空间 黑色和白色圆点分别代表川芎和当归所含化合物分子数据集

表 1 川芎和当归中所含化合物分子数据集的分子量和脂水分配系数比较 $\bar{x} \pm s$

组别	样本量(个)	分子量	脂水分配系数
川芎化合物分子数据集	89	279.62 ± 134.09	3.79 ± 2.93
当归化合物分子数据集	90	234.00 ± 103.60	3.16 ± 2.31
t 值		2.549	1.583
P 值		0.012	0.115

表 2 川芎和当归中所含化合物分子数据集的氢键给体数目比较 个

组别	0	1	2	3	4	5	6	7	8
川芎化合物分子数据集	36	26	16	6	0	2	1	1	1
当归化合物分子数据集	38	27	19	2	1	1	0	1	1
χ^2 值					4.658				
P 值					0.793				

表 3 川芎和当归中所含化合物分子数据集的氢键受体数目比较 个

组别	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
川芎化合物分子数据集	0	5	27	15	27	11	1	0	0	1	1	1
当归化合物分子数据集	13	15	18	11	24	3	2	1	1	0	0	2
χ^2 值						29.825						
P 值						0.002						

3.2 川芎和当归化合物 - OA 疼痛靶点作用网络特征的比较结果 川芎和当归化合物 - OA 疼痛靶点作用网络显示,川芎和当归中的活性成分数目分别为 26 个和 15 个,且主要活性成分均为苯酞类化合物。2 种中药的化合物 - OA 疼痛靶点作用网络的度、路中心、最近距离中心、拓扑系数比较,组间差异均无统计学意义;2 种中药的化合物 - OA 疼痛靶点作用网络的平均最短路径长度比较,差异有统计学意义。见图 2至图 4、表 4 至表 7。

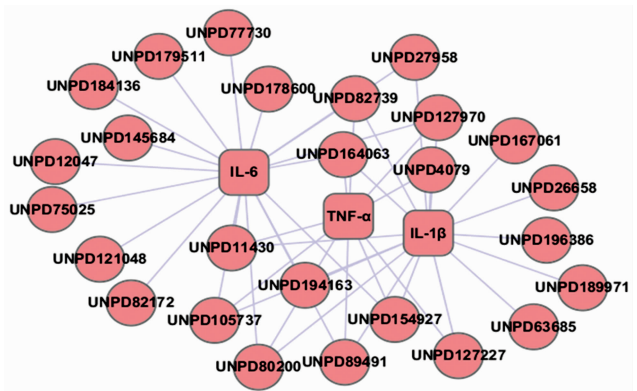


图 2 川芎化合物 - 骨关节炎疼痛靶点作用网络

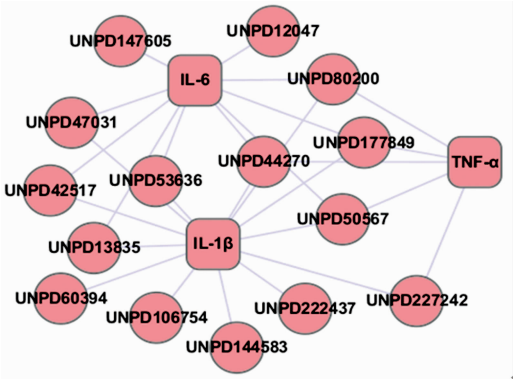


图3 当归化合物-骨关节炎疼痛靶点作用网络

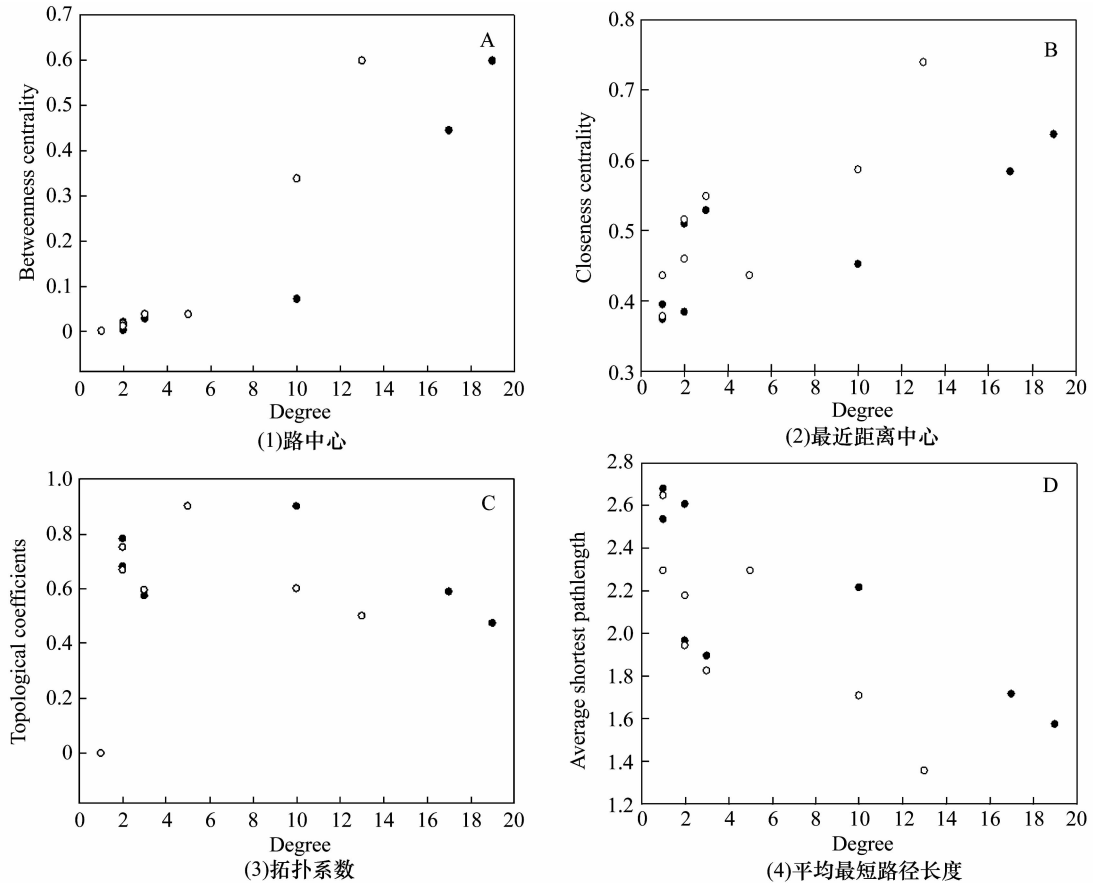


图4 川芎和当归化合物-骨关节炎疼痛靶点作用网络的重要参数分布

黑色和白色圆点分别代表川芎、当归化合物-骨关节炎疼痛靶点作用网络的重要参数

表4 川芎化合物-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
IL-6	interleukin-6	19	0.597 1
IL-1β	interleukin-1β	17	0.443 3
TNF-α	tumor necrosis factor-α	10	0.070 7
UNPD164063	3,8-Dihydrodilugustilide	3	0.027 2
UNPD105737	3,8-Dihydro-6,6',7,3'a-diliguetilide	3	0.027 2
UNPD82739	Tokinolide B	3	0.027 2
UNPD89491	Senkyunolide P	3	0.027 2
UNPD154927	Riligustilide	3	0.027 2
UNPD127970	Z,Z'-6,8',7,3'-diligustilide	3	0.027 2
UNPD80200	Levistolide A	3	0.027 2
UNPD11430	Vitamin M	3	0.027 2

表 5 当归化合物 - 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
IL - 6	interleukin - 6	13	0. 597 2
IL - 1β	interleukin - 1β	10	0. 336 6
TNF - α	tumor necrosis factor - α	5	0. 036 8
UNPD50567	Sinaspirolide	3	0. 036 9
UNPD44270	Z - 3', 8', 3'α, 7'α - Tetrahydro - 6, 3', 7, 7'α - diligustilide - 8' - one	3	0. 036 9
UNPD177849	Angelicide	3	0. 036 9
UNPD80200	Levistolide A	3	0. 036 9

表 6 川芎和当归化合物 - 骨关节炎疼痛靶点作用网络重要节点度值比较

组别	1	2	3	5	10	13	17	19
川芎化合物 - 骨关节炎疼痛靶点作用网络	14	4	8	0	1	0	1	1
当归化合物 - 骨关节炎疼痛靶点作用网络	6	5	4	1	1	1	0	0
χ ² 值	6. 422							
P 值	0. 491							

表 7 川芎和当归化合物 - 骨关节炎疼痛靶点作用网络重要参数比较 $\bar{x} \pm s$

组别	样本量(个)	路中心	最近距离中心	拓扑系数	平均最短路径长度
川芎化合物 - 骨关节炎疼痛靶点作用网络	29	0. 047 3 ± 0. 133 6	0. 451 7 ± 0. 079 0	0. 326 6 ± 0. 330 7	2. 275 9 ± 0. 369 4
当归化合物 - 骨关节炎疼痛靶点作用网络	18	0. 066 1 ± 0. 153 2	0. 498 6 ± 0. 086 4	0. 447 1 ± 0. 337 3	2. 058 8 ± 0. 332 8
t 值		- 0. 446	- 1. 908	- 1. 205	2. 032
P 值		0. 658	0. 063	0. 234	0. 048

近年来,基于化学空间和化合物 - 靶点网络的计算机模拟方法已经成功应用到中药现代化研究中,成为中药药效物质基础以及机制探讨的常用手段之一,也是药学体系中西医结合研究的重要平台之一^[8-10]。化学空间是由一系列分子描述符组成的多维空间,其特征能反映化合物的活性、药效学和药代动力学性质;具有相似化学空间的化合物,可能具有相似的性质^[18]。本研究的结果显示,川芎与当归中的化合物具有相似的化学空间,提示川芎与当归可能具有相似的作用机制或相同的作用靶点。从类药性质的角度看^[18],川芎和当归化合物分子数据集在氢键给体数目和脂水分配系数上存在相似性,进一步说明二者具有部分相似的理化性质。同时,本研究以炎症细胞因子 IL - 1β、IL - 6 和 TNF - α 作为导致 OA 疼痛的关键靶点^[14],构建了川芎和当归的化合物 - OA 疼痛靶点作用网络,结果显示 2 种中药中的大多数化合物均只能作用于 1 个靶点,仅有少数可以作用于多个靶点,川芎与当归中可作用于 3 个靶点的化合物数目分别为 8 和 4,提示 2 种中药的有些成分可以协同作用

于相同的靶点,这也验证了化学空间的结果,也提示在川芎和当归药对中,川芎可能在 OA 疼痛的治疗中起到更重要的作用。图 4 显示川芎和当归化合物 - OA 疼痛靶点作用网络的路中心和最近距离中心分布存在相似性,均具有个别较大的路中心和最近距离中心值,提示部分节点在网络中的重要地位^[24]。表 4 和表 5 显示川芎和当归中的化合物 - OA 疼痛靶点作用网络中重要化合物节点均为苯酞类化合物,而当归中苯酞类化合物具有镇痛作用^[25]的研究结果也证实了这一点。但是,川芎和当归的化合物 - OA 疼痛靶点作用网络平均最短路径长度分布存在明显的差异,提示川芎和当归治疗 OA 疼痛的全局特征存在差异^[26],即川芎和当归止痛的方式上存在一定的差异,二者配伍可能具有多向药理学的性质^[27]。

总之,川芎和当归中所含化合物在化学空间及作用网络特征方面存在一定程度的相似性,但在治疗 OA 疼痛方面,川芎比当归拥有更多的活性成分,二者配伍后具有更多样的物理化学性质,且存在潜在的协同作用。

5 参考文献

- [1] 周长征. 当归川芎药对研究概况[J]. 山东中医杂志, 2011, 30(8): 587-589.
- [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] 高学敏. 中药学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2002: 539.
- [4] 熊颖, 冯慧, 宋宁. 浅析痹证之疼痛[J]. 河南中医, 2012, 32(1): 10-12.
- [5] 王莎莎, 沈鹰. 痹证三方镇痛抗炎消肿作用的实验研究[J]. 四川中医, 2012, 30(10): 38-40.
- [6] 夏青松, 孔靖玮, 李德顺, 等. 不同配比当归-川芎药对的抗炎、镇痛作用实验研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2015, 17(6): 1-3.
- [7] 郑春松, 徐筱杰, 叶蕪芝, 等. 川芎活血化痰和行气止痛作用的计算机模拟研究[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(5): 1432-1436.
- [8] 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.
- [9] 郑春松, 林洁, 付长龙, 等. 基于计算机模拟研究乌头汤治疗疼痛的药效物质基础与分子作用机制[J]. 康复学报, 2016, 26(1): 33-37.
- [10] 郑春松, 付长龙, 叶锦霞, 等. 独活治疗骨关节炎疼痛的计算机模拟研究[J]. 中医正骨, 2017, 29(7): 1-4.
- [11] 马碧涛, 金立伦. 《金匱要略》痹证论治思想对膝骨关节炎辨治的启示[J]. 上海中医药大学学报, 2015, 29(6): 21-22.
- [12] 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.
- [13] QIN C, ZHANG C, ZHU F, et al. Therapeutic target database update 2014: a resource for targeted therapeutics[J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42 (Database issue): D1118-D1123.
- [14] 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.
- [15] DESHPANDE N, ADDESS 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(SI): D233-D237.
- [16] 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.
- [17] 黄钦, 乔学斌, 徐筱杰. 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): 41-44.
- [18] DOBSON CM. Chemical space and biology[J]. Nature, 2004, 432(719): 824-828.
- [19] 刘广军, 高洪涛. 化学计量学中的主成分分析[J]. 曲阜师范大学学报: 自然科学版, 2004, 30(3): 75-78.
- [20] 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.
- [21] 郑春松, 严培晶, 付长龙, 等. 基于分子对接的独活寄生汤治痿和治痹药效物质基础研究[J]. 风湿病与关节炎, 2017, 6(3): 8-11.
- [22] 周鸿, 黄含含, 张静泽, 等. 川芎-当归药对研究进展[J]. 中成药, 2015, 37(1): 184-188.
- [23] 郭建刚, 王海玲. 骨性关节炎与血瘀[J]. 安徽中医临床杂志, 1999, 11(6): 432-434.
- [24] 吴晓伟, 徐福缘, 宋文官. 基于人际网络节点中心度的竞争对手分析[J]. 情报学报, 2006, 25(1): 122-128.
- [25] 张来宾, 吕洁丽, 陈红丽, 等. 当归中苯酞类成分及其药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(2): 167-176.
- [26] 马杰良, 安莉莉, 邢雪. 城市公交网络的拓扑特性分析[J]. 山西师范大学学报: 自然科学版, 2009, 23(1): 51-55.
- [27] 郑春松, 林珠灿, 许惠风, 等. 透骨消痛胶囊治疗骨性关节炎的多向药理学研究[J]. 福建中医药大学学报, 2011, 21(1): 43-47.

(2017-08-03 收稿 2017-09-12 修回)

(上接第 19 页)

- [13] 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.
- [14] 梁浩东, 潘建科, 洪坤豪, 等. 刘军运用岭南特色药物治疗膝骨性关节炎经验探析[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(6): 1152-1154.
- [15] 付长龙, 刘献祥. 中药多糖干预骨关节炎作用机制探讨[J]. 风湿病与关节炎, 2015, 4(3): 36-39.

(2017-08-04 收稿 2017-08-21 修回)