

调脾护心方的化学信息学研究

朱伟¹ 黄钦² 陈可冀³ 徐筱杰² 阮新民¹

摘要 目的 运用计算机虚拟筛选对调脾护心方所含化学成分的数据库进行了化学信息学分析,为调脾护心方的进一步研究提供导向。方法 对调脾护心方所含化学成分分子特征描述符的分布进行了描述,采用主成分分析方法将多维化学空间映射到二维空间以得到更直观的图像,同时运用分子对接方法研究调脾护心方所含化学成分与心血管系统重要靶酶之间的相互作用。结果 调脾护心方所含化学成分有良好的多样性,具有类药性质。采用 Ligandfit 作为采样工具,筛选出调脾护心方中的与心血管系统重要靶酶相互作用强的配体,对进一步的研究工作有重要意义。结论 计算机虚拟筛选是中医药研究的一个有力工具。

关键词 调脾护心方;计算机虚拟筛选;主成分分析;分子对接

Chemoinformatics Study of Tiaopi Huxin Recipe ZHU Wei, HUANG Qin, CHEN Ke-ji, et al *Heart Center, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou (510120)*

ABSTRACT Objective Virtual screening was performed to analyze Chemoinformatics of chemical components of Tiaopi Huxin Recipe (TPHXR) to provide guidance for its further research. Methods Distribution of some descriptors were described and principal component analysis (PCA) were performed to map these multiple descriptor values into a 2D plane. Molecular docking was conducted to determine the interaction between chemical components of TPHXR and key target enzymes of cardiovascular system. Results The chemical components of TPHXR showed good diversity and had drug-like properties. Screening out the antipartant ligands after conformational sampling by program Ligandfit was meaningful to the further research. Conclusion Virtual screening is a potent tool for exploring the myth of Chinese medicine.

KEYWORDS Tiaopi Huxin Recipe; virtual screening; principal component analysis; molecular docking

调脾护心方(由生黄芪、三七、茯苓、橘红组成)由我国中医大家邓铁涛教授根据多年临床经验创立,该方近年来在广东省中医院心脏中心被广泛用于治疗冠脉搭桥围手术期患者,临床疗效十分显著,值得做进一步深入研究^[1-4]。在过去 20 多年化学信息学发展很快,本研究主要应用化学信息学方法,对调脾护心方的组成进行探讨,以期发现新的药物先导化合物,并从分子层面阐述调脾护心方的各有效成分之间的协同效应。

资料与方法

1 药物 从文献中收集调脾护心方中 4 味中药所含小分子化合物和已经成药的小分子心血管系统药

物^[5-8],其中调脾护心方收集到 882 个小分子化合物,已经成药的小分子心血管系统药物收集到 498 个小分子化合物。

2 测试集的生成 本研究在 Accelrys 公司 Cerius 2 分子模拟软件包(版本 4.10),在 Silicon Graphics O2 图形工作站上完成,研究采用的蛋白质晶体结构数据库来自 PDB 数据库(www.rcsb.org/pdb)。受体大分子与小分子的处理在对接前先进行一定的处理,受体大分子加上极性氢原子,赋予电荷。所有小分子化合物的三维结构均采用 MMFF 力场进行优化,并加载电荷。

3 分子描述符的计算 本研究中,我们对调脾护心方已知结构的小分子化合物计算了它们的 40 个结构描述符,具体包括:分子量(molecular weight)、手性中心数(number of chiral centers)、可旋转化学键数(number of rotatable bonds)、氢原子受体数(number of hbond acceptors)、氢原子供体数(number of hbond donors);空间描述符:分子体积、分子表面面积(surface area)、总表面面积(total polar surface area, TPSA)、总

基金项目:科技部“十一五”科技支撑计划课题资助(No. 2006BA104A01)

作者单位:1. 广东省中医院心脏中心(广州 510120);2. 北京大学化学与分子工程学院;3. 中国中医科学院西苑医院

通讯作者:阮新民, Tel: 020-87351238 转 62212, E-mail: rxmmd@yahoo.com

疏水表面面积 (total hydrophobic surface area, THSA), 分子回旋半径 (rgyr); 拓扑描述符: 柔性指标、Wiener 指标、Zagreb 指标、Hosoya 指标、分子连接性指标 (CHI, 12 个)、子图描述符 (SC, 6 个)、Kappa 形状指标 (6 个)、Balaban 指标 (JX); 脂水分配系数 AlogP98 等。为了从多维描述符数据中提取合理而直观的信息, 笔者对所计算的 40 个描述符进行了主成分分析。

4 调脾护心方中三七、黄芪、茯苓及橘红所含化学成分与心血管重要靶酶分子对接 小分子与蛋白质大分子之间的作用采用分子对接方法进行研究, 运用系列命令如定义小分子的柔性部位, 然后设定对接参数, 配体分子在受体活性口袋中的可能构象模式采用 Ligandfit 方法^[9]进行采集。然后运用系列命令如定义小分子的柔性部位, 设定对接参数在 Ligandfit 模块中完成对接, 根据配体-酶相互作用能量大小和几何构型匹配程度, 确定相互作用强的候选化合物。配体每产生一个新的构象, 就进行配体和受体之间的分子对接。在 Ligandfit 计算中, 最大保存构象设为 100, 其他参数为 Ligandfit 给定的缺省值。蛋白质的结构在对接时保持刚性, 因为每个配体中可旋转单键数目的不同, 所以每个配体得到的结合构象从 2~99 个不等。由于采用的是柔性对接, 因此能够较好地考虑对接过程中配体与受体的构象变化。由于 DOCKSCORE 是对能量、几何形状、化学环境综合评价的参数, 因此采用 DOCKSCORE 作为打分函数来评价对接结果。

结 果

1 调脾护心方所含化学成分与药物分子的重要分子比较和分布 (表 1) 我们对计算出的分子描述符的数值进行了分析。分子描述符是一些表征分子属性

的数值, 它们有的反映分子的物理化学性质, 有的是通过对分子结构应用算法推导出来的数值, 许多不同的描述符已经被描述并用于广泛的用途, 而根据数据库的分子描述符数值点构成的化学空间可以描述数据库的多样性。用于多样性分析的分子描述符主要包括分子结构指纹、二维描述符或三维描述符、分子的表面性质、拓扑描述符等等。调脾护心方中小分子化合物和西药分子的重要分子描述符数值相近, 这提示调脾护心方中小分子化合物具有良好的类药性, 可以从中发现值得进一步研究的先导化合物。

2 40 个分子描述符主成分分析结果 笔者对所计算的 40 个分子描述符进行了主成分分析, 并将计算出的多维描述符数据映射到二维图上 (图 1、2)。通过主成分分析, 多维描述符的数据可以有效地映射到二维图上, 得到研究对象的化学空间图。不少研究结果表明, 化学成分在化学空间中的位置与其生物学活性密切相关^[10,11], 本研究结果显示调脾护心方中小分子化合物和西药分子在化学空间中交叉分布, 二者既具有部分结构相似、又具有各自的特征成分。这提示调脾护心方中小分子化合物, 既具有与西药分子相似的心血管系统生理活性, 还具有其他心血管系统以外的生理活性。

3 调脾护心方所含化学成分与心血管系统重要靶酶分子对接结果 (表 2) 由于调脾护心方主要用于治疗心血管系统疾病, 故本研究将调脾护心方所含化学成分与心血管系统重要靶酶的相互作用作为研究重点, 心血管系统重要靶酶的选择依据来自数据库^[12]。本研究选择了血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、肾素 (renin)、羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (hydroxymethylglutaryl coenzyme,

表 1 调脾护心方所含化学成分与药物分子的重要分子描述符

分子	调脾护心方 (包括 828 种化学成分)				西药分子 (包括 498 种化学成分)			
	最大值	最小值	中值	均值	最大值	最小值	中值	均值
分子量	2180.32	60.04	384.52	444.26	2180.31	123.11	365.65	376.67
碳原子数	96	1	16	24.42	98	3	20	20
氧原子数	64	0	7	8.63	33	0	4	3.86
氮原子数	11	0	0	0.12	24	0	2	2.32
可旋转化学键数	93	0	3	11.03	93	0	8	8.52
氢原子受体数	35	0	6	7.6	35	1	5	5.3
氢原子供体数	31	0	3	4.56	31	0	2	2.16
分子体积	1948.99	56.54	310.60	418.47	1948.99	107.03	341.63	349.35
分子表面积	2459.17	81.68	406.67	518.61	2459.17	137.68	437.62	445.39
TPSA	1036.79	2.62	186.52	243.49	946.35	2.62	168.95	174.48
THSA	1358.26	0	436.73	436.23	1358.26	7.49	463.63	454.81
ALogP98	22.89	-7.58	1.98	1.96	10.96	-7.58	2.68	2.73
手性中心数	38	0	3	8.13	26	0	1	1.78
分子柔性指数	53.36	0.65	6.33	7.99	53.36	1.51	6.34	6.73

HMG-CoA)、血管紧张素转换酶(angiotensin contracting enzyme, ACE)等 5 个靶酶进行分子对接,其中 HMG-CoA 有 2 个对接位点,故分别进行了 2 次分子对接。分子对接以原配体的 DOCKSCORE 值为阈值,筛选出调脾护心方中与靶酶结合较好的的小分子化学成分(表 2)。结果显示,调脾护心方的主要活性成分来自中药黄芪、三七,且这些活性成分作用的靶酶各不相同,体现了中药复方的协同效应。

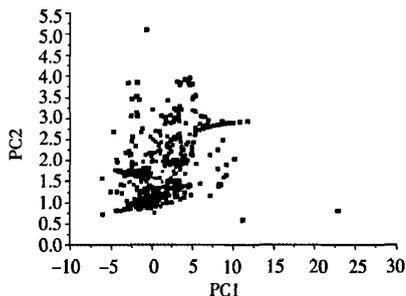


图 1 调脾护心方中小分子化合物

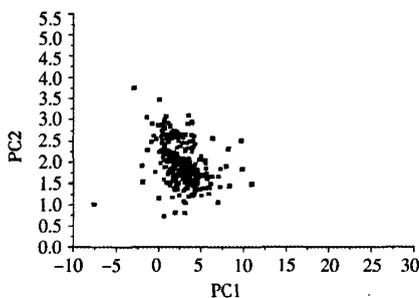


图 2 西药分子

表 2 三七、黄芪、茯苓及橘红所含化学成分与心血管重要靶酶分子对接结果

药物	renin (1BIL)	ACE (1J37)	ACE2 (1R42)	VEGF (1BJ1)	HMG-CoA (1HW8), site1	HMG-CoA (1HW8), site 2
三七	7	4	9	23	12	15
黄芪	5	3	6	8	11	6
茯苓	2	0	1	7	5	4
橘红	0	0	1	3	1	1

讨 论

现代研究表明中医药是朴素药物的来源^[13],运用现代科技手段对临床疗效肯定的中医复方进行深入研究很有必要。相似的化合物具有相似的属性,这一观点是定量构效关系以及分子相似性分析的基础,而根据这一观点推广出来化学空间这一概念。化学空间是通过每一个分子计算一系列分子描述符,并用这些数值作为一个个点构成的多维空间来定义的。本研究表明,调脾护心方所含分子的各种分子描述符与西药分

子以及天然产物的相差不大,说明调脾护心方所含分子有良好的多样性,有类药性质,可能具有较强的心血管活性。

方剂治疗疾病的原理有别于现代医学的药物作用原理,多是通过多种途径和环节,作用于多个靶点产生整合调节而发挥治疗作用的。从复方的单个有效成分来看,其生理活性可能不如西药强,但多个成分一同发挥生理活性,人们形象地称之为“霰弹理论”,但目前还没有精确的研究手段对此进行研究。计算机药物虚拟筛选作为一种实用化的工具目前已经介入到药物研究的各个环节,并成为创新药物研究的核心技术之一。有研究者认为可以将中药或复方看成天然组合化学库,在目前已知的中药或复方有关化学成分信息基础上,利用计算机虚拟药物筛选技术筛选先导化合物,为实验进行提供重要的信息,这会使得实验具有比较强的导向性,提高药物设计的命中率,同时减少大量人力、物力的投入^[14,15]。

分子对接的目的是找到底物分子和受体分子的最佳结合位置,如何找到最佳的结合位置以及如何评价对接分子之间的结合强度是分子对接中最关键的两个问题。Ligandfit 是 Accelry 公司最近开发的分子对接方法,目前已经作为 Cerius2 的一个模块实现了商业化。Ligandfit 应用蒙特卡罗模拟来产生每个配体分子的构象,在构象分析过程中,配体分子的键角和键长是保持不变的,可变的仅仅是可旋转的二面角。配体每产生一个新构象以后,就进行配体和受体之间的分子对接。笔者以原配体数值作为一个阈值,寻找调脾护心方中与重要心血管靶酶相互作用强的化合物,本研究采用该方法筛选出了多种可能与重要心血管靶酶相互作用强的配体,可为随后的实验提供重要的信息,并在分子层面阐述调脾护心方各有效成分之间的协同效应。

参 考 文 献

[1] 阮新民,林宇,江巍,等. 调脾护心法改善冠状动脉搭桥术患者生存质量的研究[J]. 中医杂志, 2006,47(8): 587-590.

Ruan XM, Lin Y, Jiang W, et al. Effect of TCM method for regulating the spleen and protecting the heart on quality of life of patients undergoing coronary artery bypass grafting [J]. J Tradit Chin Med, 2006,47(8):587-590.

[2] 阮新民,江巍,林宇,等. 调脾护心法对冠脉搭桥患者临床疗效及生存质量的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2006,26(1):28-32.

Ruan XM, Jiang W, Lin Y, et al. Clinical efficacy of treatment for regulating Pi and protecting Xin in treating pa-

- tients after coronary artery bypass grafting and its effect on patients' quality of life [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2006, 26(1):28-32.
- [3] 江巍, 林宇, 吴煥林, 等. 冠状动脉搭桥围手术期中医辨证规律的探讨[J]. *中国中西医结合杂志*, 2006, 26(7):597-599.
- Jiang W, Lin Y, Wu HL, et al. Study on TCM syndrome differentiation rules in coronary artery bypass grafting patients during peri-operation period[J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2006, 26(7):597-599.
- [4] 阮新民, 林宇, 江巍, 等. 中医辨证施治改善冠状动脉搭桥患者生活质量的临床观察[J]. *中国中西医结合杂志*, 2003, 23(11):804-806.
- Ruan XM, Lin Y, Jiang W, et al. Clinical observation on quality of life in coronary artery bypass grafting patients treated according to syndrome differentiation of TCM[J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2003, 23(11):804-806.
- [5] 侯廷军, 乔学斌, 徐俊杰. 中药有效成分三维结构数据库的开发和研究[J]. *化学学报*, 2001, 59(10):1788-1792.
- Hou TJ, Qiao XB, Xu XJ. Research and development of 3D molecular structure database of traditional Chinese drugs[J]. *Acta Chimica Sinica*, 2001, 59(10):1788-1792.
- [6] 乔学斌, 侯廷军, 余慧东, 等. 基于网络的中医药信息系统的开发和研究[J]. *物理化学学报*, 2002, 18(5):394-398.
- Qiao XB, Hou TJ, Yu HD, et al. Research and development of traditional Chinese medicine drugs information system based on networks[J]. *Acta Physico-Chimica Sin*, 2002, 18(5):394-398.
- [7] 何敏, 周家驹. Web 中药信息检索系统[J]. *计算机与应用化学*, 1999, 16(4):335-338.
- He M, Zhou JJ. Web-based Chinese drug information searching systems[J]. *Comput Appl Chem*, 1999, 16(4):335-338.
- [8] 徐叔云主编. 中华临床药理学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2003:631-632.
- Xu SY. Chinese clinical pharmacology[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003:631-632.
- [9] Cerius2, version 4.10. Accelrys Inc. <http://www.accelrys.com/>
- [10] Christopher MD. Chemical space and biology[J]. *Nature*, 2004, 432(7019):824-828.
- [11] Koch MA, Schuffenhauer A, Scheck M, et al. Charting biologically relevant chemical space: a structural classification of natural products (SCONP) [J]. *PNAS*, 2005, 102(48):17272-17277.
- [12] http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/TTD_HOME.asp.
- [13] Huang Q, Qiao XB, Xu XJ. Potential synergism and inhibitors to multiple target enzymes of Xuefu Zhuyu Decoction in cardiac disease therapeutics: a computational approach [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(5):1779-1783.
- [14] 朱伟, 陈可冀, 徐俊杰. 计算机药物虚拟筛选技术在中医药领域的应用前景[J]. *中国中西医结合杂志*, 2007, 27(3):236-240.
- Zhu W, Chen KJ, Xu XJ. Application of computerized virtual screening technique in traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2007, 27(3):236-240.
- [15] 朱伟, 黄钦, 李旭东, 等. 11 种结合自由能评价函数对中草药中法尼酯受体的配体预测比较[J]. *计算机与应用化学*, 2007, 24(1):94-96.
- Zhu W, Huang Q, Li XD, et al. Comparative studies of prediction of herb-based FXR ligands by 11 binding free energies scoring functions[J]. *Comput Appl Chem*, 2007, 24(1):94-96.

(收稿:2008-06-23 修回:2009-11-27)

第四次全国中西医结合诊断学学术交流征文通知

为了促进全国中西医结合诊断学的学术发展和成果交流, 不断提高临床诊断的学术水平, 中国中西医结合学会拟定于 2010 年 7 月在内蒙古自治区呼和浩特市召开第四次全国中西医结合诊断学学术交流会。现将会议征文有关事宜通知如下。

1 征文内容 (1) 中西医结合诊法客观化研究及理论探讨。(2) 中西医病证结合诊断标准研究探讨。(3) 中西医结合诊法在疾病诊断中的经验介绍。(4) 中医舌、脉、经络等诊法对人体健康风险预测评估研究。(5) 中西医结合诊断仪器研制的思路及应用研究(含仪器展示)。(6) 中医四诊客观化在疲劳等“未病”防治中的临床应用研究。

2 征文要求 来稿应为未公开发表的、具有一定学术水平和应用价值的论文全文(3 000 字以内)及论文摘要(500 字以内, 包括目的、方法、结果、结论 4 部分), 并写明作者姓名、工作单位、通讯地址、邮政编码、联系电话及电子邮箱。论文一律用 Word 文档格式排版, 宋体, 小四号字, 1.5 倍行距, 用 A4 纸打印。请自留底稿, 恕不退稿。来稿请寄: 黑龙江省哈尔滨市南岗区(邮编:150080)解放军第 211 医院刘珊收, 请在信封左下角注明“中西医结合诊断学会议征文”字样。电子邮件形式投稿请发送至: liushan_hrb@hotmail.com; linaimin39@163.com; 如未收到回复, 请您重新发送。

3 截稿日期 2010 年 5 月 31 日(以邮戳或 E-mail 发送时间为准)。

4 联系人及电话 王淑英 0451-58806133; 刘珊 0451-57752409