基于中药有效成分族辨识的血府逐瘀汤配伍研究*

□张燕玲 黄明峰 王元明 高 静 乔延江**

(北京中医药大学中药信息工程研究中心/北京市"中药基础与新药研究重点实验室" 北京 100102)

摘 要：本文利用中药有效成分族辨识技术，针对血府逐瘀汤中668个化学成分进行了活性辨识，命中化合物达到213个、命中靶标为20个。采用Cytoscape软件建立药物-靶点相互作用网络模型，并探讨其多成分-多靶点-多疾病相关关系。研究结果表明，血府逐瘀汤活性成分可调控ACE、AngII、TNFα、COX_2、5-LOX等靶点，涉及炎症和心血管受体，与高血压、心绞痛等多种疾病相关，揭示血府逐瘀汤治疗冠心病可能的作用机理，并提示其可能具有新功效的研究前景。

关键词：有效成分族辨识 血府逐瘀汤 方剂配伍

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2012.04.008

方剂配伍规律是中药方剂的灵魂，是中医整体治疗的体现，其作用特点是多途径、多靶点及多组分起效。阐明方剂的物质基础和作用机理有助于用现代科学语言诠释中医配伍理论，为中药新药创制提供支持。

目前已开展的方剂配伍规律研究主要是根据已知的中药方剂临床疗效，试图从器官、组织、细胞层次了解其作用机制，以期发现中药方剂作用的确切生物学环节；或通过分析比较中药方剂中化学分离部位的药理作用，试图找到中药方剂的有效组分。基于三维药效团的中药有效成分族辨识技术[1]可以为方剂配伍规律研究提供一种新的研究模式，从分子层次探讨中药在配伍中各成分发挥作用的关键环节和协同机理。

血府逐瘀汤具有活血祛瘀、行气止痛之功效，其临床疗效确切、基础研究较为雄厚。该方在改善血流变性、抑制血小板积聚、降血压、抗心律失常、急性心肌缺血、抗动脉硬化、增强免疫作用等方面发挥了重要作用，同时还具有镇静、镇痛、抗炎、抗感染等方面的作用[2]，主要用于治疗高血压、冠心病心绞痛、脑外伤后遗症等。利用中药有效成分族辨识技术探讨血府逐瘀汤及其组成中药的物质基础，将有助于揭示血府逐瘀汤作用机理。

收稿日期：2012-07-09

修回日期：2012-08-13

* 科学技术部国家科技支撑计划项目(2008BAI51B01)：中药有效成分族辨识研究，负责人：张宏桂；国家自然基金项目(81173522)：点线面三维模拟活血化瘀中药防治冠心病的作用机制研究，负责人：张燕玲；北京中医药大学自主课题(2011-JDJS-12)：活血化瘀中药治疗冠心病的作用机制研究，负责人：张燕玲；科学技术部国家"重大新药创制"科技重大专项(201ZX09401-028)：基于源头创新的中药孵化基地建设，负责人：刘安。

** 通讯作者：乔延江，本刊编委，教授，博士生导师，北京中医药大学副校长，主要研究方向：中药信息工程，中药质量控制，Tel:010-84738620，E-mail:yjqiao@263.net。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

一、材料与方法

1. 血府逐瘀汤化学成分集

血府逐瘀汤(《医林改错》)由柴胡、当归、地黄、赤芍、红花、桃仁、枳壳、甘草、川芎、牛膝、桔梗组成。本文从文献和实验室已有的中药化学成分数据库中共整理获得血府逐瘀汤化学成分668个,其中柴胡所含成分99个,包括黄酮类、皂苷类、木脂素类、香豆素类、多糖和甾醇类[3];当归所含成分65个,包括挥发油、有机酸和其它类成分[4];地黄所含成分92个,包括苷类、糖类、氨基酸、有机酸和微量元素等,其中苷类成分以环烯醚萜苷为主[5~7];赤芍所含成分15个,包括芍药苷类成分、没食子酸及其衍生物、赤芍甲素、赤芍乙素等[8,9];红花所含成分46个,主要分为黄酮类、脂肪酸和其他类化学成分[10,11];桃仁所含成分26个,包括脂质体、氰苷、氨基酸和蛋白质、挥发油、甾体和黄酮及其糖苷类化合物和微量元素[12];枳壳所含成分30个,主要分为挥发油类成分、黄酮及其苷类成分、生物碱类成分、微量元素[13~15];甘草所含成分190个,包括三萜类、黄酮类、生物碱和多糖类等[16,17];川芎所含成分60个,主要分为挥发油、生物碱、酚性物质、有机酸、苯酚内酯及其他成分[18,19];牛膝所含成分15个,包括牛膝甾酮类成分、正丁基吡喃果糖苷、怀牛膝皂苷A、尿囊素、牛膝多糖、肽多糖、精氨酸、甘氨酸、酪氨酸等[20,21];桔梗所含成分30个,包括桔梗总皂苷、多聚糖、甾醇类及其糖苷、脂肪油及脂肪酸、维生素、氨基酸、无机元素等[22,23]。将每个成分的多个构象共同存储于血府逐瘀汤化合物集,以便开展有效成分辨识。

2. 血府逐瘀汤有效成分辨识

利用本实验室已建立了58个药效团辨识模型,通过将药效团模型与化学成分的多个构象进行一一匹配,搜索能够与药效团匹配的化合物而辨识血府逐瘀汤有效成分,并在成分辨识结果基础上,利用Cytoscape软件构建"成分-靶点"相互作用网络,从而探讨阐释血府逐瘀汤针对命中靶标的分子作用机制。

二、结果与分析

1. 血府逐瘀汤有效成分辨识结果

血府逐瘀汤有效成分辨识共获得213个化学成分,其中柴胡所含成分21个、当归所含成分13个、地黄所含成分32个、赤芍所含成分1个、红花所含成分12个、桃仁所含成分1个、枳壳所含成分14个、甘草所含成分112个、川芎所含成分4个、牛膝所含成分2个、桔梗所含成分1个。各药物对应的辨识结果如表1所示。

与血府逐瘀汤化学成分匹配的辨识模型分别为:环氧合酶-2(COX-2,Cyclooxyenase-2)抑制剂、促肾上腺皮质激素释放激素(Corticotropin-releading hormone, CRH)抑制剂、组蛋白脱乙酰化酶(HDAC)抑制剂、细胞周期蛋白依赖激酶2(Cyclin-dependent Kinase, CDK2)/CyclinA抑制剂、谷氨酸(Glutamate, GLU)拮抗剂、肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor-α, TNFα)拮抗剂、γ-氨基丁酸受体(Gamma-amino butyric acid,GABA receptor)抑制剂、炭疽致命因子(anthrax lethal factor, LF)抑制剂、血管紧张素转化酶(ACE,Angiotensin-1 Converting Enzyme)抑制剂、P38细胞分裂素活化蛋白激酶(P38 mitogen-activated protein kinase inhibitors, p38MAPK)抑制剂、非竞争性α竞氨基羟甲基恶丙酸受体(Noncompetitive AMPA receptor)拮抗剂、血管紧张素II(Angiotensin II, AngII)的AT1受体抑制剂、原癌基因人类表皮生长因子受体(human epidermalgrowth factor receptor-2, HER2)抑制剂、5-HT2A(5-hydroxytryptamine 2A)受体拮抗剂、PAF(Platelet-activating factor)受体拮抗剂、5-脂氧合酶(5-lipoxygenase, 5-LOX)抑制剂、整合酶抑制剂(integrase inhibitor, IN)抑制剂、神经氨酸酶(neuraminidase, NA)抑制剂、白介素-1β转化酶(Interlenkin-1β converting enzyme, ICE)抑制剂、Raf-1激酶(Raf-1 kinase)抑制剂。

文献研究结果与有效成分辨识结果部分一致,如红花活性成分可抑制PAF所致病理变化[24,25];川芎活性成分可阻止花生四烯酸的异常代谢[26];甘草活性成分可抑制花生四烯酸代谢[27],抑制TNF诱导的炎症反应[28]等,部分验证了方法的准确性,初步证明了利用中药有效成分族辨识技术开展方剂物质基础和作用机理研究的可行性。

2. 血府逐瘀汤药物-靶点相互作用网络

图1所示是血府逐瘀汤有效成分与靶点的相互作用关系,体现了药物间的协同作用,这些治疗靶点相互影响、相互补充,形成一个效应网络,共同发挥其活血祛瘀、行气止痛的疗效。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1 血府逐瘀汤有效成分族辨识结果

药味	命中药效团辨识模型
柴胡	CDK2/CyclinA、COX_2、GABA、HDAC、LF、P38MAPK、Raf-1kinase、TNF
当归	ACE、AMPA、CDK2/CyclinA、COX_2、CRH、GLU、Raf-1kinase
地黄	CDK2/CyclinA、COX_2、CRH、GABA、GLU、HDAC、ICE、LF、P38MAPK、Raf-1kinase
赤芍	COX_2、GABA
红花	5-HT_{2A}、AngII、CDK2/CyclinA、COX_2、PAF、Raf-1kinase、IN、NA、P38MAPK
桃仁	P38MAPK
枳壳	COX_2、CRH、HDAC、TNF
甘草	5-HT_{2A}、5-LOX、ACE、AMPA、AngII、CDK2/CyclinA、COX_2、CRH、GLU、HDAC、HER2、IN、NA、PAF、Raf-1kinase、TNF
川芎	ACE、COX_2
牛膝	COX_2、CRH
桔梗	AngII

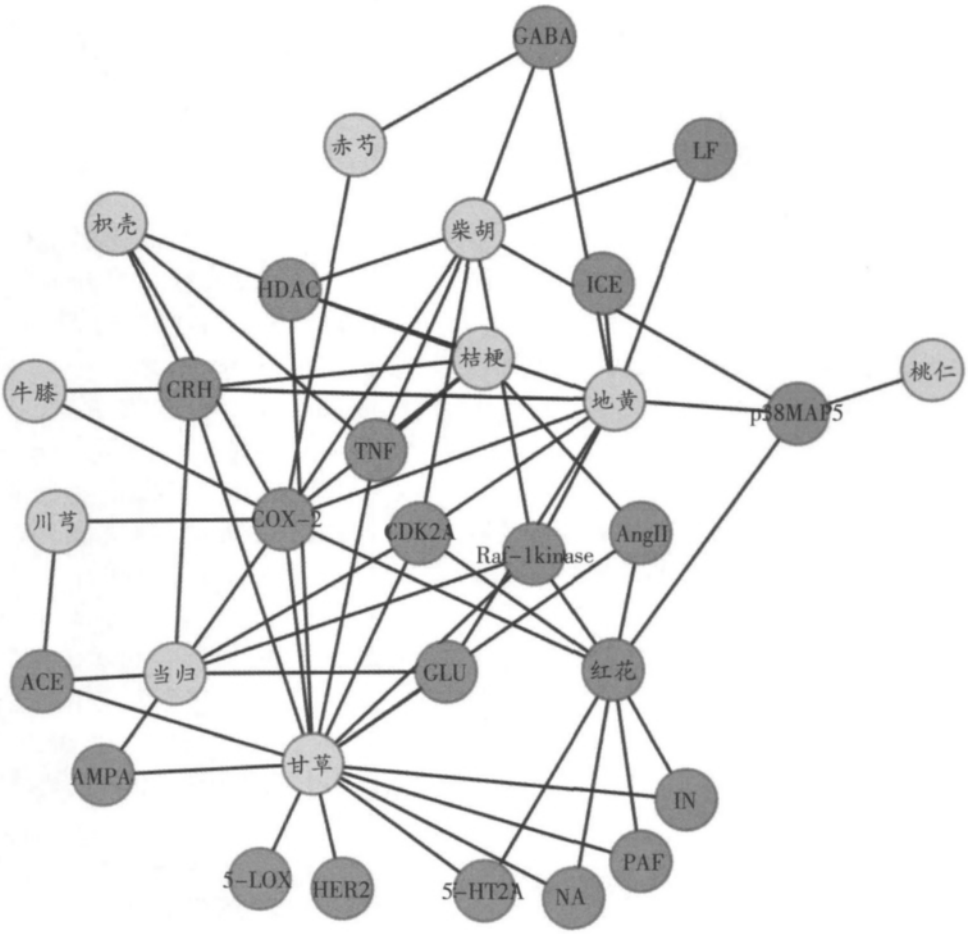

图 1 血府逐瘀汤作用靶点示意图

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(1) 分子层面解释血府逐瘀汤治疗高血压。

血府逐瘀汤的降压功效可能源于对肾素-血管紧张素系统中的双重抑制作用，即首先通过抑制血管紧张素转化酶的活性，抑制血管紧张素 I 转变为高活性的血管紧张素 II，降低血清中 AngII 的含量，同时还可以方中成分竞争性抑制 AngII 受体，使 AngII 收缩血管、升高血压的作用降低，从两个环节达到舒张血管、降低血压的效果。

(2) 分子层面解释血府逐瘀汤治疗心绞痛。

心绞痛是一种由心肌暂时缺血、缺氧所引起的，以发作性胸痛或胸部不适为主要表现的临床综合征。血府逐瘀汤对心绞痛的疗效除了其舒张血管的功效有关以外，在心绞痛发病后缺血缺氧导致的炎症阶段也发挥作用。方中成分不仅可抑制花生四烯酸代谢通路中 COX_2 和 5-LOX 的活性，还可拮抗炎性因子 PAF 的受体活性，抑制免疫刺激途径中的肿瘤坏死因子 TNF-α 的生成而抑制机体免疫反应，从而达到抑制缺血缺氧导致的炎症反应的功效。

(3) 分子层面解释血府逐瘀汤保护心肌缺血。

p38MAPK 是细胞信息传递的交汇点或共同通路，是一个重要的细胞内信号酶，介导了细胞的多种病理生理过程，如炎症、应激、细胞周期调控等。近年来已证实 p38MAPK 是心肌缺血再灌注损伤信号传递通路的重要步骤。血府逐瘀汤中含有能抑制 p38MAPK 的成分，阻断了心肌缺血后的信号传递通路，这就从分子水平解释了血府逐瘀汤保护大鼠心肌缺血再灌注引起的损伤的机理。

通过对血府逐瘀汤中其他作用靶点的分析，可以发现其中部分靶点是治疗肿瘤的关键靶点，如 HDAC 抑制剂、CDK2/CyclinA 抑制剂等，有待进一步揭示和开发该方的抗肿瘤疗效。

三、结 论

中药方剂中可能存在方剂组分间的相互作用、组分同多靶点的相互作用、多组分同一靶点的相互作用等多种形式，因此中药方剂不仅是一个复杂的分子体系，其作用机理也非常复杂。本研究利用了中药有效成分族辨识技术和成分与靶点相互作用网络构建方法更深层次地探讨了血府逐瘀汤有效成分与多个靶点的协同作用。研究结果证明了在方剂配伍规律研究中，这是一种从分子层面快速、有效的探讨方剂配伍规律的方法。本文所建立化学成分-靶点间关系只是定性分析，在下一步研究中将方剂中各化学成分的含量纳入研究中，将有助于定量的分析有效成分与各靶点的重要性，从而对方剂的配伍研究更具有指导意义。

随着对方剂功效、化学成分的进一步深入研究，将为利用中药有效成分族辨识技术开展方剂物质基础研究提供更全面的空间，将有助于进一步明确其所有效成分及作用靶点，从而为基于中药有效成分族的中药研发提供科学依据，其结果可为成分层次、组分层次以及药味层次的方剂配伍提供指导，为在分子层次揭示中药基础理论的科学内涵、建立物质基础清楚和作用靶点明确的方剂配伍提供方法学支撑。

参考文献

1 张燕玲，乔延江. 中药有效成分族辨识技术研究. 世界科学技术-中医药现代化, 2008, 10(5):94~97.

2 韩树景, 周平山, 裴改社,等.血府逐瘀汤的药理及临床应用. 中华临床医药, 2004, 5(8):111~112.

3 刘永春, 丛培臣. 柴胡的化学成分及药理作用研究概况. 黑龙江医药, 2006, 19(3):216~218.

4 康军. 当归化学成分及其药理作用研究进展. 中医中药, 2005, 2(23):120.

5 曾艳, 贾正平, 张汝学. 地黄化学成分及药理研究进展. 中成药, 2006, 28(4):609~611.

6 李军, 张丽萍, 张振凌. 地黄研究进展. 河南中医学院学报, 2005, 20(121):79~83.

7 凌庆枝, 敖宗华, 尹光耀,等. 地黄的研究概况. 淮南师范学院学报, 2003, 5(19):21~23.

8 阮金兰, 赵钟祥, 曾庆忠, 等. 赤芍化学成分和药理作用的研究进展. 中国药理学通报, 2003, 19(9):965~970.

9 杨媛媛, 周刚, 马晓康, 等. 赤芍的研究进展. 医药导报, 2008, 27(1):67~69.

10 施峰, 刘焱文. 红花的化学成分及药理研究进展. 时珍国医国药, 2006, 17(9):1666~1667.

11 王若菁, 杨滨. 红花的化学成分及质量标准研究进展. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(5):65~69.

12 修春, 李铭源, 宓穗卿, 等. 桃仁的主要化学成分及药理研究进展. 中国药房, 2007, 18(24):1903~1904.

13 宿树兰. 枳壳的研究进展. 中药材, 2001, 24(3):222~224.

14 黄加龙, 杨武亮, 周道根. 枳壳研究概况. 食品与药品, 2006, 8(11):1~4.

15 杨武亮, 陈海芳, 余宝金, 等. 枳壳活性化学成分研究. 中药材, 2008, 31(12):1812~1815.

16 李德华, 李德宇, 李永光. 甘草化学成分与药理作用研究进展. 中医药信息, 1995, 5:31~35.

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

17 梁冰, 杨爱馥, 黄凤兰. 甘草属化学成分及药理作用研究进展. 东北农业大学学报, 2006, 37(1):115~119.
18 李秋怡, 干国平, 刘焱文. 川芎的化学成分及药理研究进展. 时珍国医国药, 2006, 17(7):1298~1299.
19 武爱玲, 王苏静, 赵新杰. 川芎的研究概述. 内蒙古中医药, 2009, 1:101~102.
20 李宗锴, 李电东. 牛膝的化学成分与药理作用研究进展. 中国中西医结合杂志, 1998, 18(12):756~758.
21 周军. 牛膝中化学成分和药理作用研究进展. 天津药学, 2009, 21(3):66~67.
22 吴梅青, 刘佳佳. 桔梗化学成分研究进展. 黑龙江医药, 2007, 20(5):443~446.
23 金在久. 桔梗的化学成分及药理和临床研究进展. 时珍国医国药, 2007, 18(2):506~509.
24 陈文梅, 金鸣, 吴伟,等.红 花黄色素抑制血小板激活因子介导的血小板活化作用的研究. 中国药学杂志, 2000, 35(11):741.
25 王玉芹, 杨树东, 李家实, 等. 红花黄色素对血小板活化因子介导的中性粒细胞功能的影响. 北京中医药大学学报, 2001, 23(4):21.
26 雷志永, 徐铭宝, 黄燕苹, 等. 川芎嗪对大鼠胰腺缺血再灌注损伤保护作用的实验研究.中国中西医结合杂志, 2000, 20(5):44.
27 包金凤. 甘草次酸药理作用研究进展. 兰州医学院学报, 1994, 20(1):50~52.
28 李德芳,王振华,罗锋,等. 异甘草素的药理作用研究. 时珍国医国药, 2010, 21(2):362~364.

Identification of Active Compounds and Potential Targets of *Xue-Fu-Zhu-Yu-Tang*

Zhang Yanling, Huang Mingfeng, Wang Yuanming, Gao Jing, Qiao Yanjiang
(Research Center of Traditional Chinese Medicine Information Engineering / Beijing Key Laboratory of Chinese Pharmaceuticals and Drug Innovation, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract: Identification Technology of Active Clusters (ITAC) was used to reveal the compatibility of *Xue-Fu-Zhu-Yu-Tang* (XFZY). All 668 compounds were found from XFZY, and 58 pharmacophores were used to identify active compounds. All 213 compounds and 20 targets were identified. Most of the function of the targets related to cardiovascular disease, inflammation and cancer. Compound-target interaction network was constructed by Cytoscape. Then, the mechanism of the multi-compounds act on multi-targets was analyzed to reveal the mechanism of prevention and treatment on coronary heart disease by XFZY. New potential indications of XFZY were also suggested by this paper.

Keywords: Identification Technology of Active Clusters (ITAC), *Xue-Fu-Zhu-Yu-Tang*, prescription compatibility

(责任编辑:李沙沙 张志华,责任译审:王 晶)

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net