

基于药效团技术与专利检索的降脂中药发现研究

霍晓乾¹, 贺昱甦¹, 乔连生¹, 孙志一², 张燕玲^{1*}

(1. 北京中医药大学 中药信息工程研究室, 北京 100102; 2. 北京东方灵盾科技有限公司, 北京 100191)

[摘要] 抑制 HMG-CoA 还原酶的他汀类药物与激动 PPAR- α 的贝特类药物联合应用相较于单纯应用能产生更好的降脂效果,但同时也会产生较强的不良反应。中药与 HMG-CoA 还原酶抑制剂合用治疗高血脂疗效稳定、毒副作用小,为药物联用提供了新的选择。该文利用药效团技术搜索中药化学成分,追溯其来源中药,确定潜在的具有 PPAR- α 激动活性的常用中药。由于现有中医经典中未涉及治疗高血脂症的相关用药方案以供参考,为确保所选中药的联合应用具有较高的安全性和有效性,该文选择世界传统药物专利数据库中已有临床验证的能与他汀类药物联合降脂之中药,并据此分析药效团命中结果中的相应药物,最终获得能作用于 PPAR- α 且能与他汀类药物联合使用的常用中药。其中,药效团模型以 PPAR- α 的 8 个配体-受体结合物为研究对象,利用 DS 程序中的 Receptor-Ligand Pharmacophore Generation 模块建立,并以 Screen Library 模块进行优化,获得最优子药效团。最优子药效团模型由 2 个氢键受体、3 个疏水基团以及 19 个排除体积组成,辨识有效性指数 N 值 2.82、综合评价指数 CAI 值 1.84。采用该模型对 TCMD 数据库进行筛选,命中 5 235 种化学成分、1 193 种来源天然动植物,最后确定常用中药 62 味。专利检索得到 38 味常用中药,与虚拟筛选结果进行比对,最终获得 7 味中药。

[关键词] 降血脂; 药效团; 虚拟筛选; 专利检索; 贝特类药物; 药物联用

高血脂症是体内胆固醇以及甘油三酯载脂蛋白异常增加的一种病证,是引起动脉粥样硬化和冠心病的主要危险因素。当前,高血脂症已经成为危害人民身体健康的重要疾病之一。目前临床常用的降脂药物主要有 HMG-CoA 还原酶抑制剂类(他汀类)、苯氧芳酸类(贝特类)、胆酸螯合剂类(树脂类)、烟酸及其衍生物类、多烯脂肪酸类(鱼油类)等^[1]。但是临床调查显示,部分人群使用单一降脂药不能使血脂水平达标,因此需要寻求不同种类降脂药物的联合应用。有研究显示,联用他汀类药物阿托伐他汀和贝特类药物非诺贝特能够显著降低 LDL-C 水平,升高 HDL-C 水平,使得患者的血脂水平达标率大幅度上升^[2]。其中,他汀类药物主要通过竞争性抑制 HMG-CoA 还原酶活性,从而阻碍肝脏内源性胆固醇的合成来达到降低血脂的目的,是目前使用最广泛的降脂药之一。贝特类药物通过激活过氧化物酶增殖体活化受体 α (peroxisome proliferator receptor- α , PPAR- α),增强脂蛋白脂酶(li-

poproteinlipase, LPL) 活性,从而降低血浆中 TG, LDL-C 水平,升高 HDL-C 水平^[3]。但是,有报道提出合用他汀类药物和贝特类药物将会增大他汀类药物横纹肌溶解不良反应的发生率^[4-5]。而中药发挥药效作用往往具有较高的活性和更低的毒副作用的特点^[6],因此,发现与他汀类药物联合应用的中药,对探索中西医结合降脂,提高降脂治疗疗效同时降低毒副作用具有着重要意义。

基于配体-受体复合物的药效团构建是指基于已有的生物大分子结构,得出其中对药物活性贡献较大的重要原子和基团以及它们之间的空间距离的药物模型。基于配体-受体复合物的药效团能较为准确的反映配体与受体相互作用的化学与空间互补性,因而利用其进行虚拟筛选时,具有准确性高的优势^[7]而在药物科技领域,专利文献是最系统、最全面的信息资源。利用专利检索技术能有效地获取现有的药学科学技术和临床经验,为药物研发提供技术和经验支持^[8]。本文利用从 PDB(Protein Data Bank)数据库中得到的明确具有 PPAR- α 激动作用的配体-受体复合物建立所需的药效团模型,对中药活性成分进行虚拟筛选,获得能与该靶点相互匹配的中药活性成分,并据此追溯其来源中药。由于现存中医经典中未有治疗高血脂病的相关用药方案以供参考,为快速发现大量安全可靠、临床效果明确的

[收稿日期] 2014-04-04

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173522); 基于源头创新的中药孵化基地建设项目(2011ZX09401-028); 北京市与中央在京高校共建项目(BJGJ1412)

[通信作者] * 张燕玲,副研究员, Tel: (010) 84738620, E-mail: colleanzhang@163.com

中西药联用信息,本文考察所得来源中药在世界传统药物专利数据库(world traditional medicine patent database,WTM)中联合他汀类药物的治疗情况,综合药效团筛选和专利检索,提出既具有 PPAR- α 激动作用,又能与 HMG-CoA 还原酶抑制剂相联合的常用中药。

1 数据与方法

1.1 数据来源 在 PDB 数据库中,以“PPAR- α ”为关键词检索,按照以下原则进行筛选:复合物中的配体明确针对高脂血症;复合物中的活性位点唯一且已经确定。同时,对所得结果的来源文献进行考证,共确定 8 个配体-受体复合物的晶体结构,其基本信息见表 1。为了对建立的药效团模型进行测试和优化,本文构建了包含 367 个分子的测试集。其中活性分子 98 个,来源于 The Binding Database 数据库(<http://www.bindingdb.org/bind/index.jsp>)中对 PPAR- α 具有激动样作用的化合物;非活性分子 269 个,来源于 MDDR 数据库(MDL Drug Data Report: Version 2007.2)。

表 1 PDB 数据库中 PPAR- α 晶体复合物编号、分辨率及活性相关信息

Table 1 The information of the ligand-receptor complexes of PPAR- α from PDB

受体蛋白编号	配体编号	分辨率/ \AA	活性值 $IC_{50}/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$
3KDU	NKS	2.07	347
3KDT	7HA	2.70	260
1K7L	544	2.50	-
2NPA	MMB	2.30	-
2P54	735	1.79	-
2ZNN	S44	2.01	-
3FEI	CTM	2.40	20
3V18	13M	1.75	-

1.2 药效团模型的构建 通过 DS(Discovery Studio 4.0)的 Receptor-Ligand Pharmacophore Generation 模块建立初步的基于受体-配体复合物的药效团模型。利用 Screen Library 模块简化直接得到的药效团模型,得到子药效团模型^[9]。

1.3 药效团模型的评价 利用测试集分子,对生成的药效团模型进行评价,统计活性化合物命中数目 H_a 、所有化合物命中数目 H_t 、活性化合物总数 A 和化合物总数 D ,通过公式计算,得到评价指标值 $A\%$ 、 N 。其中 $A\%$ 为有效成分命中率,代表药效团

模型辨识有效成分的能力,该值越大则辨识有效成分的能力越大; N 为辨识有效性指数,代表药效团模型区别有效成分与非有效成分的能力,该值越大则说明模型区别有效成分与非有效成分的能力越强,如公式(1~4)所示。一般而言,在评价同类药效团模型时,首先考虑 N 值较高的模型,之后再比较各个模型的 $A\%$,确定最优药效团模型。为了综合考虑 N 值与 $A\%$,基于本实验室长期对药效团虚拟筛选技术的研究工作经验,本文提出了对药效团的综合评价指数 CAI (comprehensive appraisal index)^[10-11],通过计算 CAI 值,综合考虑了 N 和 A 对药效团的评价结果,从而对药效团的筛选能力做出综合评价。

$$Y\% = \left(\frac{H_a}{H_t}\right) \times 100\% \quad \text{公式(1)}$$

$$A\% = \left(\frac{H_a}{A}\right) \times 100\% \quad \text{公式(2)}$$

$$N = \frac{H_a/H_t}{A/D} = \frac{H_a \times D}{H_t \times A} \quad \text{公式(3)}$$

$$CAI = N \times A\% \quad \text{公式(4)}$$

1.4 中药化学成分数据库(traditional Chinese medicine database,TCMD) 搜索 将中药化学数据库(version 2009)中的 2 万多个化合物进行构象分析并与所选药效团进行匹配,其中搜索模式为 Best Search、匹配模式为柔性匹配、其他为默认参数。由于该数据库中含有一些不符合类药五原则的分子,会对筛选产生干扰,故利用类药五原则对所命中成分进行处理,并追溯所得活性化合物的来源。在此基础上,为了精简得到的结果,本文选取了含活性成分数不小于 6 的常用中药,以作进一步研究。

1.5 专利数据库检索 在世界传统药物专利数据库中,采用表格搜索方式,以“他汀”为关键词,“高血脂症”为治疗作用,选择“联合用药”选项,检索并获得专利文献中已有的能与他汀类药物联合降脂的相关中药。

2 结果

2.1 药效团模型的构建与评价 通过 DS 的 Receptor-Ligand Pharmacophore Generation 模块建立初步的基于受体-配体复合物的药效团模型。由于初始模型特征较多,直接利用得到的药效团模型进行虚拟筛选会造成筛选结果较少,因此,可利用 Screen Library 模块简化直接得到的药效团模型。Screen Library 模块按照排列组合规则在药效团模型中随

机挑选输入特征数目个的药效特征组成子药效团, 并按照输入的测试集对得到的子药效团模型进行虚拟筛选。最后得到了具有原药效团 4~7 个药效特征共 468 个子药效团模型。含有氢键供体、疏水基团 2 类药效特征。

2.2 药效团模型的评价 实验利用测试集对上述所得药效团的筛选能力进行评价, CAI 值排名前 10 的简化药效团模型见表 2。前 10 个药效团模型主要包含氢键受体 (hydrogen bond acceptor, A)、疏水基团 (hydrophobic region, H) 及多个空间排除体积 (excluded volumes, EV) 3 类特征, 其各模型的 *N* 值均较好。其中, 1, 3, 4, 6, 7, 9 号药效团模型的 *N* 值趋近于 3。对他们的 CAI 值进行排序, 1 号 CAI 最高, 显示药效团对活性化合物的综合筛选能力较其他药效团更优。综合考虑以上因素, 确定 1 号药效团为最优子药效团并进行虚拟筛选, 其结构见图 1。

表 2 CAI 值排名前 10 的子药效团模型评价

Table 2 The CAI top ten pharmacophores based on the structure of conjugates

No.	药效特征	来源的受体配体复合物	<i>N</i>	CAI
1	H2 A5 H6 A7 H9	2ZNN	2.82	1.84
2	H2 A3 H4 H5 A6	1K7L	2.52	1.70
3	A1 H2 A3 H5 H7	1K7L	2.90	1.63
4	H2 H5 A6 H7 A12	2P54	2.90	1.63
5	A1 H2 A3 H4 H5	1K7L	2.41	1.55
6	A1 H4 H5 A6 H7	2P54	3.50	1.50
7	A1 H2 H3 A6 H8 H11	3V18	3.57	1.46
8	H2 H5 A6 H7 A8	2NPA	2.65	1.43
9	H2 A3 H5 A6 H7	1K7L	2.98	1.43
10	H1 A5 A7 H9 A10	2ZNN	2.45	1.43

注: A. 氢键受体; H. 疏水基团。

2.3 虚拟筛选结果 在 DS 中用最优秀子药效团模型进行虚拟筛选, 得到 5 235 个可以与 1 号药效团模型匹配的天然动植物成分。考虑到本工作的筛选出的小分子可作为未来研制药物的前体化合物, 且不符合类药五原则的分子可能会对筛选产生影响, 用类药五原则对这些天然动植物成分进行了筛选, 筛选得到了符合类药五原则的成分 2 673 种。根据得到的中药活性成分, 找到所对应的来源于不同种的天然动植物, 共计 1 193 种。为了精简得到的结果, 本文选取含活性成分数不小于 6 的常用中药, 共 62 味, 见表 3。

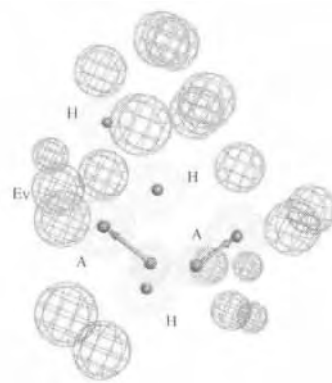


图 1 1 号子药效团

Fig. 1 The first pharmacophore

表 3 最优子药效团模型虚拟筛选结果统计

Table 3 The result of the traditional Chinese medicine from virtual screening

名称	所含成分数目	名称	所含成分数目
巴豆	39	枇杷	9
甘草	34	贯众	8
灵芝	32	白果	8
阿魏	33	芦荟	8
五味子	25	淫羊藿	8
豨莶	24	前胡	8
钩藤	21	益母草	8
柴胡	19	贝母	8
生姜	18	佩兰	8
党参	17	白芷	7
茯苓	17	人参	7
木通	16	厚朴	7
羌活	16	大枣	7
栝楼	14	桑白皮	7
当归	14	高良姜	7
川芎	14	玫瑰花	7
刺五加	13	木香	6
穿心莲	13	百部	6
地榆	13	黄芪	6
干地黄	12	山药	6
三七	12	夏枯草	6
槟榔	11	罂粟	6
甘遂	10	侧柏叶	6
丹参	10	峨参	6
夏枯草	10	西洋参	6
干姜	10	土荆皮	6
玄参	9	猴头菌	6
大戟	9	款冬花	6

2.4 专利检索结果 采用表格搜索方式对专利数据库进行检索, 共获得 81 篇文献。对所得文献进行分析, 除去其中与降脂作用无关的内容, 如涉及制剂

工艺、有效成分提取等,并删除不属于中药的部分,获得复方专利文献 42 篇,涉及 48 味常用中药。其中,对常用中药在复方专利文献中的出现频次进行统计,见表 4。

表 4 专利检索结果频数统计
Table 4 The result of patent search

药物名称	出现频次	药物名称	出现频次
红曲	6	首蓿	1
银杏叶	5	木香	1
黄连	3	漏芦	1
山楂	3	金丝桃	1
虎杖	2	绞股蓝	1
丹参	2	姜黄	1
三七	2	黄精	1
川芎	2	厚朴	1
泽泻	2	红景天	1
首乌(制首乌)	2	甘草	1
人参(含发酵人参)	2	伏牛花	1
小麦大米胚芽	1	大枣肉	1
夏枯草	1	赤芍	1
松树皮	1	炒酸枣仁	1
水飞蓟	1	苍术	1
蛇床子苏	1	莱菔	1
沙棘	1	冰片	1
肉桂	1	北沙参	1
白果提取物	1	八角茴香	1

3 讨论

通过对虚拟筛选和专利检索结果的总结和分析,获得了 7 味共同命中的常用中药,包括丹参、三七、川芎、人参、厚朴、甘草、白果。结合中医药理论^[12],本文对获得的结果中药进行整理。

中医理论认为,高脂血症是由于肝脾等脏腑功能失常,导致体内产生了痰浊和淤血。痰浊和淤血既是病理产物,又是致病因素^[13]。故中医常在调理脏腑功能的同时选用活血化瘀、行气祛痰的中药。

丹参中的 10 种成分与最优子药效团匹配。传统中医认为丹参苦,微寒。归心、肝经。有活血祛瘀,通经止痛,清心除烦,凉血消痛等功效。在专利检索结果中,丹参出现的频率为 2 次。有临床试验表明,丹参粉针(成分为丹参)注射配合他汀类药物口服,与单纯使用他汀类药物的对照组相比,取得了更好的降脂效果^[14]。

三七的传统功效为散瘀止血,消肿定痛。提取三七中的三七叶苷,发现三七叶苷能够显著的降低血浆中的 TG 和 TC 含量。且对血脂的调节作用表现出了一定的剂量依赖性^[15]。虚拟筛选命中了三

七中的 12 种成分。专利检索命中了 2 次,说明在临床实际应用中较为频繁。

川芎含有 14 种能与最优子药效团匹配的有效成分。中医认为,川芎辛温,归肝、胆、心包经,能够活血行气,祛风止痛。目前未有报告川芎降脂的药物作用机制。但是川芎与芍药联用,能够产生降脂作用,且可以提高血管内皮细胞抗氧化能力、促进 NO 释放,影响动脉粥样硬化的发展^[16]。

文献表明,厚朴中所含的厚朴酚和 obovatol 成分能够对酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶(ACAT)发挥抑制作用,进而控制血脂水平^[17]。中医认为厚朴燥湿消痰,下气除满。故常用来治理肠胃道疾病、炎症和细菌感染。虚拟筛选命中了厚朴中的 7 种成分,表明其具有潜在的降脂活性。

甘草中多种主要成分均能与最优子药效团匹配,且研究表明^[18],该类成分具有明确的降脂、抗氧化作用。同时,中医认为甘草甘平,归心、肺、脾、胃经,具有补脾益气、清热解毒等功效,与高血脂病机相应,可用于治疗高血脂症。

白果中的 8 种有效成分均与最优子药效团匹配。其中,抗坏血酸、白果素(白果黄素)、(-)表儿茶素(5,7,3',4',-四羟基黄烷醇)、银杏双黄酮(银杏素;银杏黄素)、异鼠李素、cis-9, cis-12-亚油酸(cis-9, cis-12-十八碳二烯酸)、槲皮素、β-谷甾醇、豆甾醇,已有文献报道其亦具有明确的抗高血脂作用。

人参中含有 7 种能够匹配最优子药效团的成分。人参可以通过抑制胰脂肪酶的活性来减少肠道对食物中脂类物质的吸收,进而降低血脂水平^[19]。

综上,本文所选与他汀类药物联用的中药,符合中医辩证用药的治疗原则,具有较为完备的药理实验信息,保证了组方中药物的安全性和疗效的可靠性。

本研究利用基于配体-受体复合物的药效团模型进行虚拟筛选,较准确的获得了具有 PPAR-α 激动作用的中药活性成分并追溯其来源中药。利用专利检索,获得了专利库中与他汀类药物联用的常用中药。经二者对比分析,最终确定作用于 PPAR-α 靶点且能和他汀类药物联合使用的常用中药。本文采用 2 项技术结合发现联用之中药,不仅提高了搜索药物的效率和准确度,更能增强其临床应用价值,为筛选安全性高、疗效好的联用药物,尤其是筛选与西药安全联用的常用中药提供了新的方法和思路。

[参考文献]

- [1] 毕楠, 陈保生. 药物治疗脂质异常新靶点的研究进展[J]. 中国药物应用与监测, 2004(4): 58.
- [2] 陈鲁原. 调脂药物联合治疗的临床研究进展[J]. 岭南心血管病杂志, 2013, 19(1): 7.
- [3] 龚海荣, 李向平, 梁思宇. 贝特类调脂药物研究进展[J]. 中南药学, 2011, 9(7): 539.
- [4] 赵水平, 吴陈璐. 降脂药物联合应用新进展[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(15): 1396.
- [5] 时颖华. 横纹肌溶解: 他汀类药物与贝特类药物避免合用[J]. 药物不良反应杂志, 2002, 1: 61.
- [6] Yang J. Application of computer-aided drug design to traditional Chinese medicine[J]. Int J Org Chem, 2013, 3: 1.
- [7] Yang H, Shen Y, Chen J, et al. Structure-based virtual screening for identification of novel 11 β -HSD1 inhibitors[J]. Eur J Med Chem, 2009, 44(3): 1167.
- [8] 孙艳玲, 刘化冰, 王海虹, 等. 深度加工标引的中国药物专利数据库[J]. 中国医药导刊, 2008, 10(1): 22.
- [9] 王元明, 张燕玲, 乔延江. 多药效团组合筛选 PDE4B 抑制剂研究[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2012, 14(5): 1996.
- [10] 杨晔. 抗病毒相关药效团的构建及评价方法研究[J]. 北京: 北京中医药大学, 2010: 17.
- [11] Lin S K. Pharmacophore perception development and use in drug [J]. Molecules, 2000, 5: 987.
- [12] 中国药典. 一部[S]. 2010.
- [13] 张金生, 王阶. 中医降脂治则机理探要[J]. 中医杂志, 2007, 48(5): 392.
- [14] 韩文宝. 丹参粉针治疗高脂血症 40 例临床观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(30): 4448.
- [15] 吕萍, 陈海峰. 三七叶苷降脂作用的实验研究[J]. 中国生化药物杂志, 2004, 25(4): 235.
- [16] 梁日欣, 黄璐琦. 药对川芎和赤芍对高脂血症大鼠降脂、抗氧化及血管内皮功能的实验观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(1): 43.
- [17] 张勇, 唐方. 厚朴酚药理作用的最新研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(23): 3526.
- [18] 吴震宇, 王骏. 甘草总黄酮的调脂作用研究进展[J]. 工企医刊, 2013(1): 69.
- [19] 贾桂燕, 张晶, 韩立坤, 等. 人参皂苷降脂作用的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(2): 160.

Study on lipid-lowering traditional Chinese medicines based on pharmacophore technology and patent retrieval

HUO Xiao-qian¹, HE Yu-su¹, QIAO Lian-sheng¹, SUN Zhi-yi², ZHANG Yan-ling^{1*}

(1. Traditional Chinese Medicine Information Engineering Research Center, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;
2. Beijing Eastlinden Science & Technology Co., Ltd., Beijing 100191, China)

[Abstract] The combined application of statins that inhibit HMG-CoA reductase and fibrates that activate PPAR- α can produce a better lipid-lowering effect than the simple application, but with stronger adverse reactions at the same time. In the treatment of hyperlipidemia, the combined administration of TCMs and HMG-CoA reductase inhibitor in treating hyperlipidemia shows stable efficacy and less adverse reactions, and provides a new option for the combined application of drugs. In this article, the pharmacophore technology was used to search chemical components of TCMs, trace their source herbs, and determine the potential common TCMs that could activate PPAR- α . Because there is no hyperlipidemia-related medication reference in modern TCM classics, to ensure the high safety and efficacy of all selected TCMs, we selected TCMs that are proved to be combined with statins in the World Traditional/Natural Medicine Patent Database, analyzed corresponding drugs in pharmacophore results based on that, and finally obtained common TCMs that can be applied in PPAR- α and combined with statins. Specifically, the pharmacophore model was based on eight receptor-ligand complexes of PPAR- α . The Receptor-Ligand Pharmacophore Generation module in the DS program was used to build the model, optimize with the Screen Library module, and get the best sub-pharmacophore, which consisted of two hydrogen bond acceptor, three hydrophobic groups and 19 excluded volumes, with the identification effectiveness index value N of 2.82 and the comprehensive evaluation index CAI value of 1.84. The model was used to screen the TCMD database, hit 5 235 kinds of chemical components and 1 193 natural animals and plants, and finally determine 62 TCMs. Through patent retrieval, we found 38 TCMs; After comparing with the virtual screening results, we finally got seven TCMs.

[Key words] lipid-lowering; pharmacophore; virtual screening; patent search; fibrates; drug combination

doi: 10.4268/cjcm20142427

[责任编辑 张宁宁]

• 4843 •