

## 基于片段搜索和相似性搜索的抗哮喘中药发现研究

乔连生<sup>1</sup>, 郭亦然<sup>2</sup>, 张燕玲<sup>1\*</sup>

(1. 北京中医药大学中药信息工程研究室, 北京 100102; 2. 四川大学生命科学院, 成都 610046)

**[摘要]** 目的: 探讨利用防治哮喘的常用化学药物结构信息筛选活性中药。方法: 以 Drugbank 数据库中具有明确治疗哮喘的活性化学药物为基础, 以活性片段搜索和结构相似性搜索为筛选方法, 获得具有防治哮喘的中药成分; 追溯活性成分的来源中药, 并结合中医防治哮喘的治法治则, 探讨进行组方。结果: 以 36 个作用于 8 个靶点的化学药物为基础, 通过活性片段搜索获得 62 个药效成分, 相似性搜索获得 10 个药效成分, 总计 72 个药效成分来自 39 个常用中药, 包括麻黄、半夏、细辛、生姜、地龙、甘草、麦冬、紫菀和吴茱萸等已被证明具有抗哮喘作用的中药; 结合热哮清热宣肺, 化痰降逆; 寒哮温肺散寒, 化痰平喘的中医治法治则, 分别探讨组合了麻黄、半夏、生姜、甘草和麻黄、地龙、甘草两个作用于多靶点整体治疗的方剂。结论: 应用片段搜索和相似性搜索的方法进行中药的发现研究具有一定的可行性。

**[关键词]** 哮喘; 片段搜索; 相似性搜索

**[中图分类号]** R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0310-05

**[doi]** 10.11653/syfy2013120310

**[收稿日期]** 20130119(002)

**[基金项目]** 北京中医药大学北京重点实验室开放课题(2011-SYSKFKT-04); 四川大学交流学者基金; 科技部国家重大新药创制科技重大专项(2011ZX09401-028)

**[第一作者]** 乔连生, 本科在读, 从事中药药物设计与优化、中药信息学研究, Tel: 010-43683677151, E-mail: 2284607267@qq.com

**[通讯作者]** \* 张燕玲, 博士, 副研究员, 从事中药药物设计与优化、中药信息学研究, Tel: 010-84738620, E-mail: colleanzhang@163.com

风热、清热解毒, 既清气分之热, 又解血分之毒, 在方中为臣药。有学者对有关金银花药性、功效及主治的历代文献进行考证, 归纳总结出金银花性寒、功效为清热解毒的主流观点<sup>[4]</sup>。连翘苦、微寒, 入心、肺、胆经, 有清热解毒、疏散风热、消痈散结的功效, 长于散上焦风热, 又能散气血凝聚, 而具有消痈散结之功, 与金银花同为臣药。金银花与连翘配伍, 相须为用, 既辛凉宣透、清热解毒, 又芳香避秽, 透解卫分表邪, 兼顾祛除热邪及秽浊之气, 是清热解毒的极佳药对。夏伯侯等<sup>[5]</sup>用巴豆油诱导小鼠耳廓肿胀模型来比较金银花和连翘药对的抗炎解热效果, 结果表明金银花和连翘配伍后抗炎解热的作用比单味更强, 且银翘药对水煎剂 1:1 时的抗炎作用最强。甘草味甘性平, 归肺、脾、胃、心经, 功能清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药, 在方中为佐使药。上 4 药合用, 则风热除, 肿痛消。纵观全方, 味甘微苦, 性偏寒, 寒能清热, 以清解肺经风热, 又取甘寒相伍, 清热同时又能兼顾热邪耗灼之阴津不足, 辛凉佐以苦

甘, 药虽四味, 却配伍精当, 甚为妙方。

临床观察表明, 赧银合剂能显著改善风热型急性扁桃体炎的临床症状、体征及实验室指标, 提示赧银合剂是治疗风热型急性扁桃体炎的有效方药。此外, 赧银合剂无明显毒副作用, 且价格低廉, 值得进一步研究应用。

### [参考文献]

- [1] 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 12.
- [2] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[S]. 南京: 南京大学出版社, 1994: 112.
- [3] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 330.
- [4] 杨欣, 李洪波, 陈诚, 等. 金银花药性与功效的文献考证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 220.
- [5] 夏伯侯, 王智民, 林丽美, 等. 银翘药对的药效学研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(3): 80.

[责任编辑] 邹晓翠

## Fragment and Similarity based on Virtual Screening for Anti-asthma Traditional Chinese Medicine

QIAO Lian-sheng<sup>1</sup>, GUO Yi-ran<sup>2</sup>, ZHANG Yan-ling<sup>1\*</sup>

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Research Center of Traditional Chinese Medicine information Engineering, Beijing 100102, China; 2. Sichuan University, Faculty of Life Science, Chengdu 610064, China)

**[Abstract]** **Objective:** To obtain new potential active traditional Chinese medicine (TCM) compounds for the prevention and treatment of asthma. **Method:** The drugs with anti-asthma activity were collected from Drugbank database. Two virtual screening methods, active fragment-based and structural similarity-based, were used respectively for the screening of potential active TCM compounds from traditional Chinese medicine database (TCMD 2009). Combined the principles and methods of TCM, the source TCM of the hit compounds were then traced for the formulating prescription against asthma. **Result:** Thirty-six drugs with the action on eight targets were obtained from the Drugbank database. Seventy-two potential active compounds, which come from 39 commonly used TCM, were hit by virtual screening. Some of the source TCM have been demonstrated to have the anti-asthma effect, such as ephedra, pinellia, asarum, ginger, earthworm, licorice, ophiopogon, aster, evodia and so on. The principle of clearing lung-heat and removing phlegm for lowering adverse qi is always used for the treatment of thermal asthma, while the warming lung for dispelling cold and removing phlegm is for cold asthma. Two prescriptions were discussed for thermal and cold asthma respectively. The prescription consisted by ephedra, pinellia, ginger, licorice was discussed for cold asthma, while the prescription of ephedra, earthworm, licorice for thermal asthma. **Conclusion:** The results showed that the application of fragment-based search and similarity search methods are feasible for the discovery of Chinese medicine.

**[Key words]** asthma; fragment search; similarity search

支气管哮喘 (bronchial asthma, 简称哮喘) 是由嗜酸性粒细胞、肥大细胞、T 淋巴细胞、中性粒细胞及气道上皮细胞等多种细胞和细胞组分共同参与的气道炎症性疾病。临床常用的治疗哮喘的化学药物主要有糖皮质激素类、 $\beta_2$  受体激动剂、白三烯调节剂、茶碱类、抗胆碱药物、大环内酯类抗生素、抗组胺药、免疫调节药和非糖皮质激素抗炎药等<sup>[1-2]</sup>。近年来我国哮喘发病趋势略有增加, 达 0.5% ~ 6%, 对健康造成严重危害。中医中药有着治疗哮喘的独特优势, 加强中西医结合是防治哮喘的重要手段<sup>[3]</sup>。因此, 发现确有疗效的防治哮喘的中药及其方剂对加强中西医结合防治哮喘和治愈支气管哮喘疾病具有重大意义。

结构相似性搜索是基于配体的虚拟筛选的方法之一, 其理论基础是结构相似的分子具有相似的活性特征。以生物活性明确的分子作为模板, 将其结构与中药数据库中其他分子结构进行相似性检索, 相似性高的分子具有与模板分子类似生物活性的可能性更高。此外, 药物多由功能分子片段和结构分

子片段所构成, 而作用于相同靶点的药物分子通常包含相近的功能分子片段<sup>[4]</sup>。因此, 活性片段搜索是基于“具有相近功能分子片段的化合物可能具有相近的药理作用”这一假设而开展的虚拟筛选。选取作用于同一靶点的药物分子的共同结构片段和功能片段作为检索条件, 可在中药数据库中检索具有相似药理活性的中药成分<sup>[5]</sup>。本文以 Drugbank 数据库中靶点比较明确的抗哮喘化学药物为载体, 将片段搜索和相似性搜索的结果有机结合, 筛选可与西药靶点相互作用的中药活性成分, 或具备西药活性结构特征的中药成分, 获得了含有上述活性成分的中药, 在此基础上结合中医防治哮喘的治则治法, 优选含有上述成分的常用中药, 并探讨作用于多靶点、整体治疗的中药组方。

### 1 数据与方法

**1.1 数据来源** 研究中所用化学药物均来自 Drugbank 数据库, 以“哮喘”为关键词进行检索, 整理得到结果见表 1, 共含有 36 种活性化学药物, 分别作用于  $\beta_2$  肾上腺素受体、糖皮质激素受体、组胺

表 1 Drugbank 数据库检索数据

类别	DB 编号	药物名称
$\beta_2$ 受体激动剂	DB01001	salmeterol
	DB00938	salbutamol
	DB00816	orciprenaline
	DB00221	isoetharine
	DB05039	indacaterol
	DB00983	formoterol
	DB00668	epinephrine
	DB00852	pseudoephedrine
	DB01364	ephedrine
	DB01407	clenbuterol
	DB01408	bitolterol
	DB01408	bambuterol
	DB01274	arformoterol
	茶碱类	DB00651
DB00277		theophylline
DB00824		enprofylline
抗组胺药	DB01114	chlorpheniramine
	DB00427	triprolidine
	DB00792	tripelennamine
	DB08800	chloropyramine
	DB01407	cetirizine
	DB00920	ketotifen
糖皮质激素(ICS)	DB00394	beclometasone dipropionate
	DB01222	budesonide
	DB00635	prednisone
	DB00764	mometasone
	DB00741	hydrocortisone
	DB00588	fluticasone propionate
	DB00180	flunisolide
	DB01380	cortisone acetate
白三烯调节剂	DB00744	zileuton
	DB00549	zafirlukast
	DB00471	montelukast
	DB00587	cinalukast
其他类	DB00356	chlorzoxazone
	DB03852	eucalyptol

H<sub>1</sub> 受体、半胱氨酰白三烯受体 1 等不同靶点,具有不同的抗哮喘作用机制。如作用于  $\beta_2$  肾上腺素受体的药物能刺激细胞内腺苷酸环化酶,催化 ATP 转化为 cAMP,导致支气管平滑肌松弛;抗组胺药物与组胺 H<sub>1</sub> 受体结合,阻止内源性组胺的作用,使过敏性哮喘的症状暂时缓解。用于中药化学成分筛选的数据来源于 TCMD (traditional Chinese medicine database 2009) 数据库,其中共含有 23 033 个化学结构。

**1.2 相似性搜索** 相似性搜索的有效性,即识别活性分子的能力,取决于分子描述符、权重和相似性系数的选取<sup>[6]</sup>。目前已有较多的描述符被应用于相似性搜索,其中有效性最高的是表示分子片段结构的二维指纹描述符。二元二维指纹通常使用 Tanimoto 参数,已有研究表明 Tanimoto 参数是最为准确可靠的相似性搜索参数之一,其取值在 0~1,靠近 0 表示两指纹之间没有相似性或相似性低,靠近 1 表示两指纹之间相似性高或为两个相同的指纹。本文选取相似度 >0.5 的中药化学成分作为候选成分,保证了结果的有效性<sup>[7]</sup>。本研究利用 Cytoscape 软件和 ChemViz 分析插件,使用 Tanimoto 参数进行了相似性检索。

**1.3 片段搜索** 结合文献分析,针对不同类型的药物分别选取合适的活性片段进行搜索。通过对 13 种  $\beta_2$  受体激动剂结构的研究,发现此类化合物具有苯乙胺的基本结构,氨基的  $\beta$  位具有羟基,构效关系研究表明侧链胺为伯胺和仲胺时疗效较高,若为叔胺或季胺盐则几乎无效<sup>[8]</sup>;针对糖皮质激素药物的研究发现其具有孕甾烷母核,甾核 C 环 11 位上有氧和 D 环 17 位上为羰基<sup>[9]</sup>;组胺 H<sub>1</sub> 受体拮抗剂结构多样,但其结构通式固定,所以可利用其结构通式分别搜索,如连接两苯环间的原子分别为 N, C, O<sup>[10]</sup>;茶碱类药物的分子结构相似度较大,其结构分子片段即黄嘌呤结构。氯唑沙宗和桉叶素的结构简单,可直接用其结构进行搜索。

## 2 结果

**2.1 相似性搜索** 基于相似性搜索获得的相似度 >0.5 的中药化学成分共 22 个成分。在此基础上,结合以下 2 个原则对候选成分进行了优选:①候选成分的来源中药应为常用中药;②候选成分应为来源中药的主要药效成分。优选后的成分具有药物开发的实用性和可靠性,结果见表 2。表中中药成分是以 Drugbank 药物分子为模板分子进行相似性搜索得到的结果,相似度为两分子之间的相似程度。

**2.2 片段搜索** 基于作用于同一靶点的药物分子的共同结构片段和功能片段进行了中药活性成分搜索,候选成分的优选原则与 2.1 相同,结果见表 3。

## 3 讨论

通过片段搜索和相似性搜索技术的综合应用,筛选获得 72 个中药化学成分、39 种中药,结果见表 4。其中,麻黄、半夏、细辛和生姜在片段搜索和相似性搜索中都得到了相互验证,互相证明了两种技术的可靠性。其中 34 味中药的功效为化痰止咳平喘

表2 相似性搜索数据分析

No.	药物	中药成分	来源中药	相似度
1	eucalyptol	1- $\beta$ -桉叶油素(1,3,3-三甲基-2-氧杂二环[2.2.2]辛烷)	干姜,青蒿,蔓荆子,生姜,细辛	1
2		桉油精	桉叶	1
3		1,4-桉叶油素	厚朴	0.5
4	hydrocortisone	15 $\alpha$ -20 $\beta$ -二羟基- $\Delta$ 4-孕烷-3-酮	红花	0.516
5	isoetharine	去甲肾上腺素	合欢皮,马齿苋	0.514
6	pseudoephedrine	麻黄碱	半夏,麻黄	1
7		D-伪麻黄碱	麻黄	1
8		D-去甲伪麻黄碱	麻黄	0.68
9		去甲基麻黄碱	麻黄	0.68
10		甲基苯基甲醇	茶叶	0.52

表3 片段搜索数据分析

药物	筛选结果		药物	筛选结果		
	中药	成分数		中药	成分数	
$\beta$ 受体激动剂	麻黄	8	抗组胺药物类	吴茱萸	7	
	半夏	2		紫苑	5	
	茜草根	2		青蒿	1	
	酸枣仁	2		刘寄奴	1	
	日本黄连	1		千金藤	1	
	延胡索	1		日本黄柏	1	
	苦地丁	1		牵牛子	4	
	麦冬	1		络石藤	2	
	厚朴	1		板蓝根	1	
	青风藤	1		千金藤	1	
	橘皮	1	糖皮质激素	止泻木皮	1	
	吴茱萸	1		紫河车	1	
	枳实	1	茶碱类	地龙	1	
	桉叶素	干姜	1		梧桐子	1
		青蒿	1		茶叶	1
辽细辛		2	氯唑沙宗	白茅根	1	
蔓荆子		1		芦根	1	
生姜		1		野甘草	1	
			薏苡仁	1		

表4 2种搜索方法结果比较

方法	成分数	中药数	共有成分所占比例/%	共有中药所占比例/%
片段	62	34	10	27
相似性	10	13	60	69

或解表清热,30味中药归肺或大肠经,共计38味中药至少符合以上两个条件之一。中医认为肺与大肠相表里,归肺经的中药主要有止咳、利咽、润肺、平

喘、祛痰等功效和抗菌、抗炎、抗肿瘤等药理作用<sup>[11]</sup>。本研究发现的抗哮喘中药符合其化痰平喘的传统功效,可部分证明片段搜索和相似性搜索结合方法的可行性。

在中医药理论指导下<sup>[12]</sup>,从搜索结果中选取功效合适并适用于开发新药的中药,结果见表5,其中部分药物已有相关文献证明其确有抗哮喘的活性。如麻黄中所含麻黄碱、伪麻黄碱及麻黄挥发油是其平喘的有效成分,可直接兴奋支气管平滑肌的受体;地龙、甘草、麦冬、紫苑的主要成分也被证明具有抗哮喘作用<sup>[13-15]</sup>;生姜、细辛、半夏、吴茱萸在方剂中也被证明具有抗哮喘的活性<sup>[16-19]</sup>。

中医哮喘治疗分为发作期和缓解期的治疗,发作期又可分为寒哮和热哮,缓解期又可分为肺虚、脾虚和肾虚。寒哮中医的治法为温肺散寒、化痰平喘;热哮的中医治法为清热宣肺、化痰降逆。在此基础上,本文进一步探讨治疗哮喘的新组方。针对寒哮,推荐方剂为麻黄、半夏、生姜、甘草,其中麻黄辛苦泄、发汗解表、宣肺平喘;半夏辛温,可燥湿化痰,与麻黄配伍,外散风寒、内治寒痰;生姜能杀半夏之毒;甘草甘平,可缓和药性,同时祛痰止咳<sup>[20]</sup>。针对热哮,推荐方剂为麻黄、地龙、甘草,其中地龙、麻黄药对常用于治疗痰浊阻塞气道之哮喘病,麻黄辛温性升散,地龙咸寒性沉降,两药共用功擅宣肺平喘<sup>[21]</sup>,再加甘草能调和药性。

中医药防治疾病的优势在于“多个成分作用于多个靶点发挥调整整合作用”。本研究所拟的寒哮方剂中含有4味中药、11个药效成分,可分别作用于5个靶点;热哮方剂中含有3味中药、10个药效成分,可分别作用于6个靶点。研究结果充分体现了中医药的优势特色,可从多靶点、多角度防治支气

表 5 选取的抗哮喘中药结果及可能作用的靶点

No.	选取中药	性味归经	功效	可能作用的主要靶点
1	麻黄	辛 微苦 温归肺、膀胱经	发汗解表 宣肺平喘	$\beta_2$ 肾上腺素受体 $\beta_1$ 肾上腺素受体 $\alpha_{1A}$ 肾上腺素受体
2	半夏	辛 温归脾、胃、肺经	燥湿化痰	$\beta_2$ 肾上腺素受体 $\beta_1$ 肾上腺素受体 $\alpha_{1A}$ 肾上腺素受体
3	细辛	辛 温归肺、肾经	祛风 散寒止痛温肺化饮 宣通鼻窍	桉叶素作用的靶点
4	生姜	辛 微温归肺、脾经	发汗解表 温肺止咳	桉叶素作用的靶点
5	甘草	甘 平归心、肺、脾、胃经	润肺止咳 缓和药性	钙激活的钾离子通道蛋白 $\alpha-1$
6	麦冬	甘 微苦 微寒归肺、心、胃经	润肺养阴	$\beta_2$ 肾上腺素受体 $\beta_1$ 肾上腺素受体 $\alpha_{1A}$ 肾上腺素受体
7	紫菀	苦 甘 微温归肺经	化痰止咳	组胺 $H_1$ 受体
8	地龙	咸 寒归肝、脾、膀胱经	清热平喘	腺苷受体 $cAMP$ -特异性 3', 5'-环磷酸二酯酶
9	吴茱萸	辛 苦 热归肝 脾 胃经	散寒止痛 燥湿	$\beta_2$ 肾上腺素受体 $\beta_1$ 肾上腺素受体 $\alpha_{1A}$ 肾上腺素受体 组胺 $H_1$ 受体

管哮喘 具有开发中药新药的应用前景。但本研究 仍需在虚拟筛选基础上 进一步结合整体动物实验 对结果进行验证和优选 来指导抗哮喘中药和方剂 的发现与创制。

[参考文献]

[1] 韦任起. 支气管哮喘药物治疗的新进展[J]. 中国医药指南, 2012, 10(16): 63.

[2] 巨安丽, 梁乐乐, 何凯亮. 支气管哮喘药物治疗的再认识[J]. 中国临床研究, 2012, 25(7): 718.

[3] 温明春, 魏春华. 我国哮喘治疗现状与对策浅析[C]. 杭州: 第十次全国中西医结合防治呼吸系统疾病学术研讨会论文, 2009: 43.

[4] 汪小润, 杨倩, 尤启冬. 基于分子片段的药物发现[J]. 中国药科大学学报, 2009, 40(4): 289.

[5] Takigawa Ichigaku, Tsuda Koji, Mamitsuka Hiroshi. Mining significant substructure pairs for interpreting polypharmacology in drug-target network [J]. PLOS ONE, 2011, 2(6): 3.

[6] John D Holliday, Peter Willett, Hua Xiang. Interactions between weighting scheme and similarity coefficient in similarity-based virtual screening [J]. Inter Chemoinformatics Chem Engineering (IJCCE) 2012, 2(2): 28.

[7] John B Taylor, David J Trigg. Comprehensive medicinal chemistry II volume 4: Computer-assisted drug design [M]. Elsevier, 2006: 174.

[8] 赵海燕, 潘莉, 冀蕾, 等. 抗哮喘药物  $\beta_2$  受体激动剂的研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2004, 14(3): 187.

[9] 徐萍, 吴艳芬. 药物化学 [M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2008: 304.

[10] 国家食品药品监督管理局执业药师资格认证中心.

药学专业知识(二) [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 460.

[11] 付先军. 中药归经(肺经)理论和肺系方剂配伍规律的解析及在海洋中药研发中的应用[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009: 11.

[12] 凌一揆, 颜正华. 中药学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1984.

[13] 王娇, 王宋平. 麻黄及其汤剂治疗哮喘的研究进展[J]. 四川中医, 2010, 28(9): 35.

[14] 王晓红, 杨牧祥, 于文涛, 等. 中药治疗支气管哮喘的实验研究进展[J]. 中医药通报, 2006, 5(5): 63.

[15] 董晓斐, 王孟清. 单味和单体中药治疗哮喘的药理研究进展[J]. 中医药导报, 2007, 13(5): 105.

[16] 谢永侠, 王世杰, 王玉卿. 中西医结合治疗哮喘 34 例[J]. 右江医学, 2004, 32(3): 293.

[17] 文丹丹, 王敏. 麻杏石甘汤治疗咳嗽变异性哮喘的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 285.

[18] 林永廉, 林求诚. 射干麻黄汤对实验性哮喘豚鼠嗜酸性粒细胞凋亡的影响[J]. 实用中医药杂志, 2007, 32(1): 3.

[19] 王红珊, 李国豪, 曹毅敏, 等. 射干麻黄汤联合孟鲁司特治疗咳嗽变异性哮喘 86 例[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 238.

[20] 张欢, 范欣生, 王崇骏, 等. 古今哮喘方用药规律对比的关联规则研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(3): 94.

[21] 褚襄萍. 药对麻黄-地龙抗哮喘药效物质基础与作用机制研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2008.

[责任编辑 邹晓翠]