

基于分子对接技术探讨复方丹参方 多靶点治疗冠心病的作用机制

史海龙*, 崔亚亚, 李军, 党琳, 郭欣荣
(陕西中医药大学, 咸阳 咸阳 712046)

[摘要] 目的:阐明复方丹参方的效应物质基础和作用机制,为该复方的临床合理用药提供参考。方法:采用传统中药药理数据库(TCMSP),从复方丹参方中筛选出 101 个候选化合物,以血管紧张素 I 转化酶(ACE),羟甲基戊二酰基辅酶 A(HMGR),人热休克蛋白 90 激酶(HSP90),过氧化物酶体增生生物激活受体 γ (PPAR- γ),凝血酶(thrombin),血管内皮生长因子受体激酶 II(VEGFR2),雄激素受体(AR)及环氧合酶 2(COX-2)共 8 个冠心病相关靶点为研究对象,采用 AutoDock Vina 分子对接程序探索以上化学成分和靶点的相互作用。结果:复方丹参方中丹参隐螺内酯作用于 6 个靶点,16 个化合物能作用于 2 个以上的靶点,另外还有 5 个化合物能作用于 1 个靶点。结论:复方丹参方中丹参为君药,三七和冰片分别作为臣药和佐使药,对该复方的作用机制有了更好的理解。

[关键词] 分子对接; 复方丹参方; 冠心病; 多靶点; 凝血酶; 血管紧张素 I 转化酶

[中图分类号] R287;R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)18-0176-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016180176

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160727.1609.026.html>

[网络出版时间] 2016-07-27 16:09

Discussion on Mechanism of Compound Danshen Formulae for Coronary Heart Disease with Multi-target Based on Molecular Docking

SHI Hai-long*, CUI Ya-ya, LI Jun, DANG Lin, GUO Xin-rong
(Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

[Abstract] **Objective:** To clarify material basis and mechanism of compound Danshen formulae, and provide a reference for clinical application of this compound. **Method:** Traditional Chinese medicine pharmacological database (TCMSP) was adopted, 101 candidate compounds from compound Danshen formulae were screened, a molecular docking program of AutoDock Vina was employed to investigate the interactions of these 101 candidate compounds with eight coronary heart disease targets, namely angiotensin- I converting enzyme (ACE), hydroxymethylglutaryl coenzyme A receptor (HMGR), human heat shock protein 90 kinase (HSP90), peroxisome proliferator activated receptor- γ (PPAR- γ), thrombin, vascular endothelial growth factor receptor- II (VEGFR2), androgen receptor (AR) and cyclooxygenase-2 (COX-2). **Result:** Danshen-spiroketallactone can interact with six targets, seventeen compounds can interact with two or more targets, and the other five compounds may be potent for at least one of these eight targets. **Conclusion:** In this study, a preliminary explanation of compound Danshen formulae, *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* is a “monarch” medicine, *Notoginseng Radix et Rhizoma* and *Borneolum Syntheticum* are used as “minister” medicine and “assistant” medicine,

[收稿日期] 20150913(006)

[基金项目] 陕西省教育厅重点实验室科学研究计划项目(13JS033)

[通讯作者] *史海龙,在读博士,讲师,从事计算机辅助药物设计与蛋白质分子模拟研究, Tel:029-38185122, E-mail: shihailong2006@sohu.com

respectively. It gives us a better understanding of the mechanism of this compound.

[Key words] molecular docking; compound Danshen formulae; coronary heart disease; multi-target; thrombin; angiotensin- I converting enzyme

冠心病是一种较为常见的 cardiovascular 系统疾病,其患病死亡率较高^[1]。复方丹参方由丹参、三七、冰片 3 味中药组成,是临床治疗冠心病的有效中药复方之一,具有增加冠状动脉的血流量、激活超氧化物歧化酶、扩张冠状血管等药理作用^[2-4],然而关于该复方的药效物质基础及作用本质并不清晰。本研究以复方丹参方的有效成分群为研究对象,借助计算机分子对接技术,分析这些有效成分与冠心病相关靶点的作用关系,以期阐释其防治冠心病的多靶点作用机制。

1 计算方法

蛋白质受体结构预处理程序采用 Accelrys 公司开发的 Discovery Studio 2.5 软件包。分子三维结构显示软件采用 Warren Lyford DeLano 编写的 Pymol-v0.99 软件,受体配体的相互作用的显示采用 CCGI 公司开发的 MOE2008 软件包。所有计算工作均在惠普 HP-Z440 计算工作站上完成。

采用的分子对接软件为 Scripps 研究所的 AutoDock Vina^[5],进行半柔性分子对接计算。半柔性对接指只改变小分子配体的构象,而保持受体蛋白的刚性不变,先生成受体结合部位的格点盒子及其参数,接着根据拉马克遗传算法^[6]进行配体结构的进一步优化,发出配体与受体的对接计算的指令,产生多个结合构象,从中寻找最佳的结合构象,最终依照半经验自由能函数作出对接结果评价。因为 AutoDock Vina 的优化算法较为复杂,所以计算花费的时间较其他分子软件长,但精度更高。

1.1 复方丹参方所含化合物的收集与处理 采用传统中药药理数据库(TCMSP, http://sm.nwsuaf.edu.cn/lsp/load_intro.php?Id=29)建立复方丹参方口服的易吸收化合物库^[6]。TCMSP 数据库是由西北农林科技大学王永华教授课题组研发的中药药物研究平台及数据库,囊括了 2015 年版《中国药典》收录的全部中药材的组分数据,包括 13 144 个分子及 29 384 个化合物,涵盖了每个化合物的吸收、分布、代谢、排泄、毒性参数及类药性参数。

以丹参、三七、冰片作为检索词,在 TCMSP 数据库中分别检索到 217,119,31 个小分子化学成分,去除重复的小分子,初步构建了含有共 221 个化合物库。参照口服生物利用度(oral bioavailability, OB)

对 221 个化合物进行二次筛选,OB 是药物 ADME 特性中最重要的药代动力学参数之一。高 OB 是有药效作用的生物活性分子具有类药性的一个关键指标^[7]。结果表明其中 90 个化合物(去除重复的小分子)具有较好的 OB($\geq 40\%$),占总化学成分的 40.7%。考虑到化合物的含量及其功能基团,需补充如下化合物:①丹酚酸 B 源于丹参,OB 仅 3.01%,却是丹参中含量最多的成分之一,并对动脉粥样硬化^[8]、脑血流量阻塞^[9]、血小板聚集^[10]具有较好的药理作用。丹酚酸 B 是水溶性的化合物,经口服后在体内被迅速代谢,生成丹参素 A(OB = 78.2%),异阿魏酸^[11](OB = 67.7%)和原儿茶酚^[12](OB = 53.4%),并且被迅速排泄到胆汁中^[13]。②丹参酮 I(OB = 29.3%)和丹参酮 II_A^[14](OB = 20.3%)均源于丹参,二者的 OB 虽偏低,但含量却较为最丰富($> 0.2\%$)。③三七的主要成分,如人参皂苷 Rf(OB = 36.4%)和其他 18 种皂苷(OB $\leq 17.7\%$),其 OB 都相对偏低,但均含有糖基,易被水解成 4 种脂溶性化合物——原人参二醇(protopanaxadiol, PPD),原人参三醇(protopanaxatriol, PPT),人参皂苷 CK 及人参皂苷 F₁^[15]。

基于以上分析,加入丹酚酸 B 及 3 个相关代谢物,加入丹参酮 I,丹参酮 II_A 及人参皂苷 Rf,加入三七皂苷水解生成的 4 种脂溶性化合物,共计 11 个小分子化合物,最终复方丹参方共 101 个化合物被确定为候选化合物。

1.2 冠心病相关靶点受体的准备 查询数据库 Therapeutic Target Database^[16]与 DrugBank^[17],结合文献报道,筛选了冠心病相关的 8 个关键靶点,依次为糖类、脂类代谢相关的过氧化物酶体增生物激活受体 γ (PPAR- γ),与血管收缩功能相关的血管紧张素 I 转化酶(ACE),与内分泌调节功能相关的雄激素受体(AR),与脂类代谢相关的羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMGR),与炎症反应相关的环氧合酶 2(COX-2),与凝血作用相关的凝血酶(thrombin),与促进血管内皮细胞增殖分裂相关的血管内皮生长因子受体激酶 II(VEGFR2)和与调控信号转导相关的人热休克蛋白 90 激酶(HSP90),涵盖了冠心病形成的不同因素,从多靶点、整体性进行考察。靶点蛋

白晶体结构下载于 PDB 结构数据库^[18], 见表 1。借助 Discovery Studio 2.5 软件包对 PDB 结构进行处理, 遵循以下原则: ①删去配体分子及水分子; ②修正非标准的原子名称; ③补全不完整的残基; ④删除多余的蛋白质构象; ⑤修正氨基酸中原子序号; ⑥精

氨酸(Arg) 和赖氨酸(Lys) 侧链的质子化(pH 7.0), 葡萄糖(Glu) 和天冬氨酸(Asp) 的非质子化(pH 7.0)。处理后的靶点结构需进行简单的能量优化并保存为 pdb 格式文件, 最后采用 MGL Tools-1.5.6 导入优化并转化成 pdbqt 格式。

表 1 AutoDock Vina 中 8 个靶点的优化参数及相应的计算

Table 1 Optimization parameters and corresponding calculation of 8 targets in AutoDock Vina

靶点	PDB ID	格点盒子大小 (X × Y × Z)/nm ³	中心坐标(X, Y, Z) /nm	RMSD ¹⁾ _{min} /nm	有效对接数 ²⁾ /次	结合能 ³⁾ /kJ·mol ⁻¹
ACE	1UZE	23 × 23 × 23	40.457, 35.548, 47.145	0.108	20	-10.0
HMGR	1HW8	23 × 23 × 23	19.525, -22.402, 15.442	0.130	20	-8.4
HSP90	1UYH	23 × 23 × 23	2.285, 11.584, 25.501	0.122	20	-10.1
PPAR-γ	2HFP	23 × 23 × 23	22.492, -10.613, 2.97	0.117	20	-11.2
thrombin	1YPJ	23 × 23 × 23	17.029, -11.595, 21.319	0.033	20	-8.8
VEGFR2	2OH4	23 × 30 × 19	3.173, 33.766, 17.129	0.102	20	-8.6
AR	1GS4	23 × 23 × 23	-0.247, 30.921, 4.492	0.085	4	-9.9
COX-2	1CX2	23 × 23 × 23	23.947, 21.582, 15.436	0.095	7	-9.5

注: 设定的对接数均为 30 次。¹⁾30 次对接中最小的 RMSD, ²⁾RMSD ≤ 0.2 nm 的对接次数, ³⁾有效对接(RMSD ≤ 0.2 nm 为阈值)中结合能的均值。

1.3 分子对接的参数确定 ①从蛋白晶体复合物中将原配体分子提取出来; ②运行 AutoDock Vina, 将靶点受体与原配体重新对接到设定的活性中心(原配体所在空腔); ③根据对接后的配体分子与原配体分子的均方根偏差(RMSD)的大小判断对接参数设置的合理性。一般认为 RMSD ≤ 0.2 nm 是对接后配体构象与原配体的构象吻合的阈值^[19], 以此阈值进行 30 次对接的计算, 统计正确对接出现的频率, 确定对接参数, 见表 1。计算受体与原配体的结合能, 作为靶点中筛选有效化学成分

系 Irwin 及 Shoichet 课题组开发的验证型数据库 DUD(<http://dud.docking.org/>), 这个数据库提供了更加具有挑战性的诱饵以帮助测试分子对接程序的可靠性^[20]。从 DUD 数据中下载 8 个靶点对应的数据库, 其中每 1 个活性分子都对应约有 36 个结构极其相似的诱饵分子。

$$EF = (A_{sub} \cdot N_{total}) / (N_{sub} \cdot A_{total})$$

式中 N_{total} 为分子总数, N_{sub} 为计算结果排名前 $n\%$ 的分子个数(此处以此设置为 5%, 10%, 20%), A_{total} 为 N_{total} 中活性分子个数, A_{sub} 为 N_{sub} 中活性分子个数。验证结果显示分子对接在取计算结果排名前 5%, 10%, 20% 的情况下, EF 依次为随机选取时的 6.13 ~ 14.20, 4.26 ~ 7.39, 2.78 ~ 4.32 倍, 见表 2, 具有较强的富集活性分子的能力。说明 AutoDock Vina 对接程序整体上适用于本实验。

1.4 富集因子的考察 富集因子(enrichment factor, EF)是考察分子对接程序适用性的重要途径^[20], 检测分子对接程序富集活性成分的能力。采用的混合验证库源于美国加利福尼亚大学药物化学

表 2 富集因子的计算

Table 2 Calculation of enrichment factors

靶点	N_{total}	A_{total}	$N_{5\%sub}$	$A_{5\%sub}$	EF _{5%}	$N_{10\%sub}$	$A_{10\%sub}$	EF _{10%}	$N_{20\%sub}$	$A_{20\%sub}$	EF _{20%}
ACE	1 776	49	89	15	6.13	178	22	4.49	355	36	3.69
HMGR	1 276	35	64	12	6.82	128	15	4.26	255	20	2.85
HSP90	884	24	44	9	7.44	88	17	7.03	177	19	3.90
PPAR-γ	2 987	81	149	27	6.59	299	36	4.38	597	71	4.32
thrombin	2 357	65	118	24	7.40	236	30	4.62	471	36	2.78
VEGFR2	2 751	74	136	24	6.42	272	38	5.08	543	49	3.28
AR	2 702	74	135	31	8.35	270	43	5.79	540	56	3.77
COX-2	1 281	35	64	25	14.20	128	26	7.39	256	29	4.12

1.5 复方丹参方化学成分与靶点蛋白的分子对接 以复方丹参方的化合物库为对象,利用 AutoDock Vina 进行冠心病相关 8 个靶点的分子对接计算,Grid box 盒范围大小及盒子中心坐标参照

表 1 设定,以靶点与原配体对接的结合能作为阈值,筛选结合能较低的化合物,见表 3,分析复方丹参方中化学成分与冠心病相关靶点之间发生的相互作用。

表 3 利用 AutoDock Vina 对接方法确定的潜在活性化合物

Table 3 Potential active compounds determined by AutoDock Vina

靶点	潜在活性化合物编号
ACE	MOL007130, MOL007482, MOL007484, MOL007488, MOL007494
HMGR	MOL007069, MOL007074, MOL007079, MOL007154, MOL007157, MOL007487, MOL007489
HSP90	MOL007058, MOL007068, MOL007094, MOL007157, MOL007105, MOL007079
PPAR- γ	MOL007074, MOL007082, MOL007094, MOL007105, MOL007154, MOL007155, MOL007157
thrombin	MOL007082, MOL007094, MOL007105, MOL007154, MOL007481, MOL007482, MOL007484, MOL007487
VEGFR2	MOL007094, MOL007108, MOL007482, MOL007484, MOL007488, MOL007494
AR	MOL007058, MOL007068, MOL007094, MOL007157
COX-2	MOL007069, MOL007079, MOL007094, MOL007150, MOL007154, MOL007155

1.6 冰片的化学成分与 P-糖蛋白的分子对接 P-糖蛋白(P-gp)是一种 ATP 依赖性跨膜的转运蛋白,在内皮细胞表面均有分布,调控外来物质在体内的代谢过程,其作用类似于排出泵,可将药物从细胞内外排而使胞内药物浓度降低,对药物的吸收、分布、排泄及代谢起到重要影响,改变药物在体内的浓度,从而影响药物的药效或毒性^[21]。冰片作为复方丹参方的组方药物,虽不直接作用于靶点蛋白,但其化学成分有可能与外排转运蛋白 P-gp 结合,抑制 P-gp 对药物的外排作用,从而维持丹参与三七的成分在胞内药物浓度稳定。从 TCMSp 数据库中检索单味药——冰片,得到 18 个化合物(OB > 30% 或质量分数 > 80%),PDB 数据库下载 P-gp 结构文件(ID 为 4Q9J)。依次进行冰片的 18 个化合物与靶点 P-gp 的对接计算,Grid box 范围设定 23 nm × 23 nm × 23 nm,中心坐标为(74.005, -0.745, -30.117),其他参数为默认值。对接结果中选取与 P-gp 活性口袋可以结合的化合物,分别采用 Pymol-v0.99 软件和 MOE2008 软件作演示蛋白质-配体复合物三维结构和相互作用力图。

的丹参隐螺内酯同时作用于 6 个靶点,16 个化合物能够作用于 2 个以上的靶点,另外还有 5 个化合物能够作用于 8 个靶点的其中 1 个靶点。因此,复方丹参方可能通过调节糖类、脂类代谢,抑制炎症反应,阻止凝血、抑制血管紧缩及血管内皮细胞分裂增殖等方面,充分发挥中药复方多成分、多靶点的优势,产生预防及治疗冠心病的疗效。

2 结果

2.1 复方丹参方化学成分与靶点间作用的分析 基于 TCMSp 数据库筛选了复方丹参方的 101 个候选化合物,采用分子对接程序计算每个化合物与靶点的结合能。以靶点与原配体的对接结合能作为阈值,见表 1,二次筛选确定其中的 21 个活性化合物与相应靶点发生作用,见表 4。其中复方丹参方中

2.2 冰片化学成分与 P-gp 的作用分析 从 TCMSp 数据查询到冰片中 18 种化合物 OB,见表 5,排名前 3 位的化合物(L-冰片,异冰片,D-冰片)均 > 80%,且其余 15 种化合物的 OB 均 ≥ 34%。分子对接方法计算 18 种化合物与 P-gp 的结合能,结果发现冰片香醇酮对 P-gp 的底物识别区域具有较强的亲和力。外排转运蛋白 P-gp 的小分子配体结合位点位于 2 个跨膜区的交界处,即两者形成的亲水性囊袋中^[22]。根据的 Loo 等^[23]的观点进行推测,冰片的化学成分溶入细胞膜后,通过内膜面的阀门装置进入囊袋中,引起囊袋的构象发生改变,阀门随之关闭,冰片的化学成分排除细胞,而复方丹参方中的丹参与三七中化学成分无法外排出细胞。参照冰片香醇酮与 P-gp 的对接效果图,见图 1。结果发现冰片香醇酮与 P-gp 的残基 Lys96,丝氨酸(Ser)92 发生氢键相互作用,与 P-gp 残基 Ser85,苯丙氨酸(Phe)100,亮氨酸(Leu)964,苏氨酸(Thr)966, Thr961,天冬酰胺(Asn)737, Phe78 发生疏水相互作用,说明冰片香醇酮基本互补了外排转运蛋白 P-gp 的活性位点,可能引发囊袋构象的改变。

表 4 复方丹参方中化学成分对 8 个靶点的作用情况

Table 4 Effect of chemical constituents in compound Danshen formulae on 8 targets

化学成分编号	来源	化学成分名称	靶点名称							
			ACE	HMGR	HSP90	PPAR- γ	thrombin	VEGFR2	AR	COX-2
MOL007058	丹参	醛基丹参酮	-	-	+	-	-	-	+	-
MOL007068	丹参	丹参酯 B	-	-	+	-	-	-	+	-
MOL007069	丹参	丹参酯 C	-	+	-	-	-	-	-	+
MOL007074	丹参	丹酚酸 B	-	+	-	+	-	-	-	-
MOL007079	丹参	丹参醛	-	+	-	-	-	-	-	+
MOL007082	丹参	丹参素 A	+	-	-	+	+	-	-	-
MOL007094	丹参	丹参隐螺内酯	-	-	+	+	+	+	+	+
MOL007105	丹参	表丹参隐螺内酯	-	-	+	+	+	-	-	-
MOL007108	丹参	异隐丹参酮	-	-	-	-	-	+	-	-
MOL007130	丹参	原紫草酸	+	-	-	-	-	-	-	-
MOL007150	丹参	quinone ¹⁾	-	-	-	-	-	-	-	+
MOL007154	丹参	丹参酮 II _B	-	+	-	+	+	-	-	+
MOL007155	丹参	dione ²⁾	-	-	-	+	-	-	-	+
MOL007157	丹参	丹参酮 I	-	+	+	+	-	-	+	-
MOL007481	三七	人参皂苷 Rf	-	-	-	-	+	-	-	-
MOL007482	三七	dihydroxy ³⁾	+	-	-	-	+	+	-	-
MOL007484	三七	triol ⁴⁾	+	-	-	-	+	+	-	-
MOL007487	三七	三七皂苷 R ₁	-	+	-	-	+	-	-	-
MOL007488	三七	三七皂苷 R ₂	+	-	-	-	-	+	-	-
MOL007489	三七	三七皂苷 R ₃	-	+	-	-	-	-	-	-
MOL007494	三七	七叶胆皂苷	+	-	-	-	-	+	-	-

注: ¹⁾ 全称为 (6S)-6-hydroxy-1-methyl-6-methylol-8, 9-dihydro-7H-naphtho [8, 7-g] benzofuran-10, 11-quinone; ²⁾ 全称为 (6S)-6-(hydroxymethyl)-1, 6-dimethyl-8, 9-dihydro-7H-naphtho[8, 7-g] benzofuran-10, 11-dione; ³⁾ 全称为 (2S, 3R, 4R, 5R, 6S)-2-[[(2R, 3R, 4S, 5S, 6R)-2-[[(3S, 5R, 6S, 8R, 9R, 10R, 12R, 13R, 14R, 17S)-3, 12-dihydroxy-17-[(1S)-1-hydroxy-1, 5-dimethylhex-4-enyl]-4, 4, 8, 10, 14-pentamethyl-2, 3, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 15, 16, 17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a] phenanthren-6-yl] oxy]-4, 5-dihydroxy; ⁴⁾ 全称为 (2R, 3R, 4S, 5S, 6R)-2-[[(3S, 5R, 6S, 8R, 9R, 10R, 12R, 13R, 14R, 17S)-3, 12-dihydroxy-17-[(2S)-2-hydroxy-6-methylhept-5-en-2-yl]-4, 4, 8, 10, 14-pentamethyl-2, 3, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 15, 16, 17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a] phenanthren-6-yl] oxy]-6-(hydroxymethyl) oxane-3, 4, 5-triol。

表 5 冰片中化学成分与 P-gp 的理论结合能及其口服生物利用度的预测值

Table 5 Theoretical binding energy of chemical ingredients in Borneolum Syntheticum to P-glycoprotein and predictive values of their oral bioavailability

化合物	OB /%	结合能 /kJ·mol ⁻¹	化合物	OB /%	结合能 /kJ·mol ⁻¹	化合物	OB /%	结合能 /kJ·mol ⁻¹
冰片香醇酮	41.71	-9.9	积雪草酸	41.38	-8.7	乙酸丙酯	59.30	-7.5
石竹烯氧化物	35.94	-7.4	异黄樟脑	38.01	-7.3	橙花醇乙酸酯	57.47	-6.2
(1S)-(+)-3-萹烯	45.20	-6.1	α -松油醇	46.30	-6.1	β -松油醇	47.97	-5.9
D-芳樟醇	38.29	-5.9	L-冰片	88.03	-5.8	β -松萜	44.77	-5.8
β -松萜	47.43	-5.7	D-冰片	81.80	-5.7	1,8-桉叶素	39.73	-5.7
D-蒎烯	34.98	-5.6	异冰片	86.98	-5.6	香芹烯	39.84	-5.5

3 讨论

分子对接计算得到 21 个关键化合物,丹参类化

合物占 66.7%,起主导作用。已有研究表明丹酚酸 B,丹参酮 I,丹参酮 II_B,丹参素 A 及丹参螺缩酮内

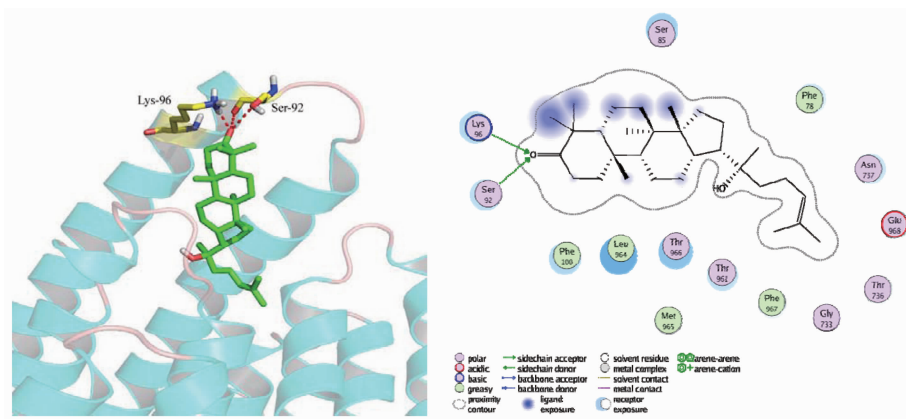


图 1 冰片香醇酮与 P-gp 的对接模式 (左) 和相互作用示意 (右)

Fig.1 Docking mode(left) and interaction diagram (right) of diptercarpol to P-glycoprotein

酯较其他化合物含量较丰富^[24],且对接结果也表明这 5 个化合物作用于大部分的冠心病相关靶点,推断可能是复方丹参方治疗冠心病的关键药性成分。三七中含有 7 个关键化合物,作用于 4 个靶点—thrombin, ACE, VEGFR2 和 HMGR。靶点信息提示三七具有抗凝血、降血脂、抗高血压等作用,并能抑制血管重建和血管平滑肌的增殖。冰片含有 18 种高 OB 的化合物,其中 L-冰片,异冰片, D-冰片含量最多,OB 也较高。冰片中化学成分与 P-gp 活性口袋的对接表明,结合能均 $\leq 5.5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$,表明冰片中含有较为丰富的 P-gp 抑制剂。

本文研究结果表明该复方中活性成分通过协同作用来系统调节心血管疾病^[25],其中丹参是主药,三七是辅药。推断丹参的作用靶点集中于整个心血管系统,而三七除了对丹参有增效作用之外,还能调节血管平滑肌细胞。冰片具有高脂溶性,其在胃肠道中能被快速吸收并能透过血脑屏障^[26],广泛被作为佐使药来引导其他药物到达靶组织或靶器官^[27]。P-gp 是细胞膜上(大脑细胞、胃肠道细胞黏膜、肝脏细胞等)最重要的外排转运蛋白质之一,P-gp 的抑制剂对药物吸收的药代动力学特性有着非常重要的影响^[28-29]。文献报道冰片可抑制 P-gp 的功能,从而加速了药物的转运和运输^[30-31]。本研究与前人的实验结果相吻合,同时佐证了在中药复方中添加冰片能够促进其他药物分子的口服吸收^[32-33]。这些数据很好地证明了中药理论中复方建立的合理性。

目前,临床上用于治疗冠心病心绞痛的药物大部分是西药,这些药物化学成分单一,长期服用可能会产生较大的副作用,如阿司匹林、硝酸甘油等。较之西药,中药复方通过潜在的交互作用来治疗冠心病,在降低不良反应的同时最大化治疗效果,对于需

要缓解症状、减少心绞痛的发作及心肌梗死,中药复方有其独到的疗效。但是中药的化学成分及其体内作用的复杂性都使其分子机制的阐明变得非常困难。

[参考文献]

- [1] Polfus L M, Gibbs R A, Boerwinkle E. Coronary heart disease and genetic variants with low phospholipase A₂ activity[J]. N Engl J Med, 2015, 372(3):295-296.
- [2] Wu Y J, Hong C Y, Lin S J, et al. Increase of vitamin E content in LDL and reduction of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits by water-soluble antioxidant-rich fraction of *Salvia miltiorrhiza* [J]. Arterioscler Thromb Vas Biol, 1998, 18(3):481-486.
- [3] Karmin O, Lynn E G, Vazhappilly R, et al. Magnesium tan shinoate B (MTB) inhibits low density lipoprotein oxidation[J]. Life Sci, 2001, 68(8):903-912.
- [4] Takahashi K, Oyyang X, Komatsu K, et al. Sodium tanshinone II_A sulfonate derived from Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) attenuates hypertrophy induced by angiotensin II in cultured neonatal rat cardiac cells[J]. Biochem Pharmacol, 2002, 64(4):745-749.
- [5] Trott O, Olson A J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading[J]. J Comput Chem, 2010, 31(2):455-461.
- [6] Ru J L, Li P, Wang J, et al. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform, 2014, doi:10.1186/1758-2946-6-13.
- [7] Veber D F, Johnson S R, Cheng H Y, et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates[J]. J Med Chem, 2002, 45(12):2615-2623.
- [8] Shi C S, Huang H C, Wu H L, et al. Salvianolic acid B modulates hemostasis properties of human umbilical vein

- endothelial cells [J]. *Thromb Res*, 2007, 119 (6): 769-775.
- [9] Chen Y L, Hu C S, Lin F Y, et al. Salvianolic acid B attenuates cyclooxygenase-2 expression *in vivo* in LPS-treated human aortic smooth muscle cells and *in vivo* in the apolipoprotein-E-deficient mouse aorta [J]. *J Cell Biochem*, 2006, 98(3) : 618-631.
- [10] Zhang H S, Wang S Q. Salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* inhibits tumor necrosis factor- α (TNF- α)-induced MMP-2 upregulation in human aortic smooth muscle cells via suppression of NAD (P) H oxidase-derived reactive oxygen species [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 41(1) : 138-148.
- [11] Zhang J, He Y, Cui M, et al. Metabolic studies on the total phenolic acids from the roots of *Salvia miltiorrhiza* in rat [J]. *Biomed Chromatogr*, 2005, 19(1) : 51-59.
- [12] 徐德然, 王康才, 王峥涛, 等. 丹参中丹参素、原儿茶醛来源的初步研究 [J]. *中国天然药物*, 2005, 3(3) : 148-150.
- [13] Wu Y T, Chen Y F, Hsien Y J, et al. Bioavailability of salvianolic acid B in conscious and freely moving rats [J]. *Int J Pharm*, 2006, 326(1/2) : 25-31.
- [14] Zhou L, Zou Z, Chow M S. Danshen: an overview of its chemistry, pharmacology, pharmacokinetics and clinical use [J]. *J Clin Pharmacol*, 2005, 45(12) : 1345-1359.
- [15] Leung K W, Wong A S. Pharmacology of ginsenosides: a literature review [J]. *Chin Med*, 2010, doi: 10.1186/1749-8546-5-20.
- [16] Zhu F, Shi Z, Qin C, et al. Therapeutic target database update 2012: a resource for facilitating target-oriented drug discovery [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, doi: 10.1093/nar/gkr797.
- [17] Wishart D S, Knox C, Guo A C, et al. DrugBank: a comprehensive resource for *in silico* drug discovery and exploration [J]. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34: 668-672.
- [18] Berman H M, Westbrook J, Feng Z, et al. The Protein Data Bank [J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28: 235-242.
- [19] Gohlke H, Hendlich M, Kelbe G. Knowledge based scoring function to predict protein-ligand interactions [J]. *J Mol Biol*, 2000, 295(2) : 337-356.
- [20] Huang N, Shoichet B K, Irwin J J. Benchmarking sets for molecular docking [J]. *J Med Chem*, 2006, 49(23) : 6789-6801.
- [21] 任非非, 刘敬霞, 朱万平. 回族药扎里奴思方联合骨髓间充质干细胞移植对脑缺血再灌注大鼠神经元及 P-糖蛋白的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(8) : 125-131.
- [22] Pleban K, Kopp S, Cszaszar E, et al. P-glycoprotein substrate binding domains are located at the transmembrane domain/transmembrane domain interfaces: a combined photoaffinity labeling-protein homology modeling approach [J]. *Mol Pharmacol*, 2005, 67(2) : 365-374.
- [23] Loo T W, Clarke D M. Do drug substrates enter the common drug binding pocket of P-glycoprotein through "gates"? [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 329(2) : 419-422.
- [24] Li X, Xu X, Wang J, et al. A system-level investigation into the mechanisms of Chinese traditional medicine: compound Danshen formula for cardiovascular disease treatment [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9) : e43918.
- [25] Li S, Zhang B, Jiang D, et al. Herb network construction and co-module analysis for uncovering the combination rule of traditional Chinese herbal formulae [J]. *BMC Bioinformatics*, 2010, doi: 10.1186/1471-2105-11-S11-S16.
- [26] Chen X H, Lin Z Z, Liu A M, et al. The orally combined neuroprotective effects of sodium ferulate and borneol against transient global ischaemia in C57 BL/6J mice [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2010, 62(7) : 915-923.
- [27] 王永华. 基于系统药理学的现代中药研究体系 [C]. 海口: 中药与天然药高峰论坛暨全国中药和天然药物学术研讨会, 2012.
- [28] Wang Y H, Li Y, Yang S L, et al. An *in silico* approach for screening flavonoids as P-glycoprotein inhibitors based on a Bayesian-regularized neural network [J]. *J Comput Aided Mol Des*, 2005, 19(3) : 137-147.
- [29] Wang Y H, Li Y, Yang S L, et al. Classification of substrates and inhibitors of P-glycoprotein using unsupervised machine learning approach [J]. *J Chem Inf Model*, 2005, 45(3) : 750-757.
- [30] 董淑云, 宓穗卿, 王宁生, 等. 冰片对脑外伤脑血管内皮细胞 iNOS 表达的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2002, 18(5) : 590-591.
- [31] 吴寿荣, 程刚, 王琳, 等. 冰片对利福平大鼠小肠的吸收动力学影响 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2003, 20(4) : 245-248.
- [32] 陈艳明, 王宁生. 冰片对血脑屏障体外模型细胞间紧密连接和细胞吞饮囊泡的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2007, 24(7) : 632-634.
- [33] 郑晓辉, 赵欣, 房敏峰, 等. 复方丹参方中使药冰片对君药丹参药代动力学的影响 [J]. *西安交通大学学报: 医学版*, 2007, 28(2) : 170-173.

[责任编辑 刘德文]