

复方血栓通胶囊基于血液循环和凝血过程 相关靶点的网络药理学研究*

刘忠政¹, 梁洁萍¹, 聂怡初¹, 刘宏¹, 谢称石², 程国华³, 苏薇薇¹

(1. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275;

2. 广东众生药业股份有限公司, 广东 东莞 523325;

3. 暨南大学药学院, 广东 广州 510632)

摘要: 利用基于计算机分子对接的网络药理学方法, 研究复方血栓通胶囊化学成分对血液循环和凝血过程相关靶点的作用, 并得到了成分对靶点的作用网络图。研究表明复方血栓通胶囊化学成分对 ACE、PDE 等多个靶点起作用。研究为在分子水平上揭示复方血栓通胶囊治疗视网膜静脉阻塞的多靶点调控机制提供了依据。

关键词: 复方血栓通胶囊; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R96 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579(2013)02-0097-04

Network Pharmacology Study of Compound Xueshuantong Capsule Based on the Targets Related to Blood Circulation and Hemostasis

LIU Zhongzheng¹, LIANG Jieping¹, NIE Yichu¹, LIU Hong¹, XIE Chengshi², CHENG Guohua³, SU Weiwei¹

(1. School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Guangdong Zhongsheng Pharmaceutical Company Limited, Dongguan 523325, China;

3. College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Network pharmacology based on the computational molecular docking was used to study interaction of chemical composition of Compound Xueshuantong Capsule to the targets related to blood circulation and hemostasis. A compound-target interaction network diagram was generated. The results showed that the chemical compounds of Compound Xueshuantong Capsule interacts with the multiple targets, such as ACE and PDE, revealing the multitargeted regulatory mechanism of Compound Xueshuantong Capsules in the treatment of retinal vein occlusion on molecular level.

Key words: Compound Xueshuantong Capsule; network pharmacology; molecular docking

视网膜静脉阻塞是一种致盲性眼病, 发病率高。复方血栓通胶囊是由三七、黄芪、丹参、玄参组成的中药制剂, 具有活血化瘀, 益气养阴功效, 对视网膜静脉阻塞患者具有改善视野和视网膜血液循环, 减轻出血与局部炎症等症状的作用^[1-3]。相关研究表明, 视网膜静脉阻塞与血液循环和凝血过程有关^[4]。有鉴于此, 笔者采用网络药理学方法, 研究了复方血栓通胶囊化学成分对血液循环和凝血过程相关靶点的作用, 为阐明复方血栓通胶囊治疗

视网膜静脉阻塞的作用机制提供依据。

1 实验方法

1.1 复方血栓通胶囊的化学成分研究

文献[5]采用液相色谱-质谱联用技术, 研究了复方血栓通胶囊的化学成分及其药材归属, 具体如下: 人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rg₁、三七皂苷 R₁ (归属于三七); 丹参素、丹参酮、丹参酮 II_A、丹酚酸 A、丹酚酸 B、迷迭香酸、

* 收稿日期: 2012-12-21

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项资助项目(2011ZX09201-201-22); 国家科技支撑计划课题资助项目(2012BAT29B09); 东莞医疗卫生单位科技计划资助项目(2012105102004)

作者简介: 刘忠政(1985年生), 男, 硕士研究生; 通讯作者: 苏薇薇; E-mail: lssww@126.com

隐丹参酮、原儿茶醛 (归属于丹参); 安格洛昔 C、哈巴俄昔 (归属于玄参); 黄芪甲苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮苷 (归属于黄芪)。

1.2 药效相关的靶点的选择

视网膜静脉阻塞与血液循环和凝血过程等直接相关。因此, 本研究选择与凝血过程 (hemostasis) 和血液循环 (blood circulation) 相关的已知三维结构的蛋白^[6-7]作为研究靶点。与凝血过程相关的靶点如下: ABL1, CALM3, CDK2, DOCK9, F10, F2, F7, FGA, FGG, GNAI1, GRB2, HRAS, ITGA2B, ITGAL, JAK2, KDM1A, KIF11, KIF18A, LCK, MAPK14, MMP1, PAPSS2, PDE3B, PDE5A, PDE9A, PDPK1, PIK3CG, PIK3R1, PLAU, PPIA, PRKACA, PROC, PTK2, PTPN1, RAB5A, RAPIA, SRC, TEK, WEE1; 与血液循环相关的靶点如下: ACE, ACE2, ADH5, CAMK2D, DMPK, EPHX2, HDAC4, IL2, INS, JAK2, PDE5A, PEBP1, PIK3CG, PPARA, PPARG, REN, SRC, TEK。

1.3 网络药理学分析

本研究采用基于分子对接的网络药理学方法, 首先绘制复方血栓通胶囊化学成分的结构式,

并采用 MMFF94 力场进行三维结构优化, 通过 OpenBabel 和 AutoDock Tool 将其转化成 pdbqt 格式, 作为分子对接配体。从 scPDB 数据库选择高分辨率的结构 (共 355 个) 作为分子对接受体。以 scPDB 记录的配体位置作为对接盒子的中心, 对接盒子大小设置为 $3\text{nm} \times 3\text{nm} \times 3\text{nm}$, 使用 Autodock Vina 将受体与配体进行对接^[8]。以与同一配体的结合能位于前 5% 的受体作为阳性结果, 并通过 NetworkX 软件生成复方血栓通胶囊化学成分对靶点的作用图。

2 结果

分子对接结果表明: 复方血栓通胶囊的化学成分对 17 个靶点起作用, 化合物对靶点的作用如图 1 所示。表 1 列出了对 ACE、EPHX2、REN、ACE2、ADH5、PPARA、PPARG、DMPK 等血液循环相关的靶点具较强作用的成分; 表 2 列出了对 PDE5A、KDM1A、PDE3B、PDE9A、ABL1、WEE1、MMP1、RAB5A、PDPK1、GNAI1 等凝血过程相关的靶点具有较强作用的成分。表 3 列出了复方血栓通胶囊化学成分的主要作用靶点。

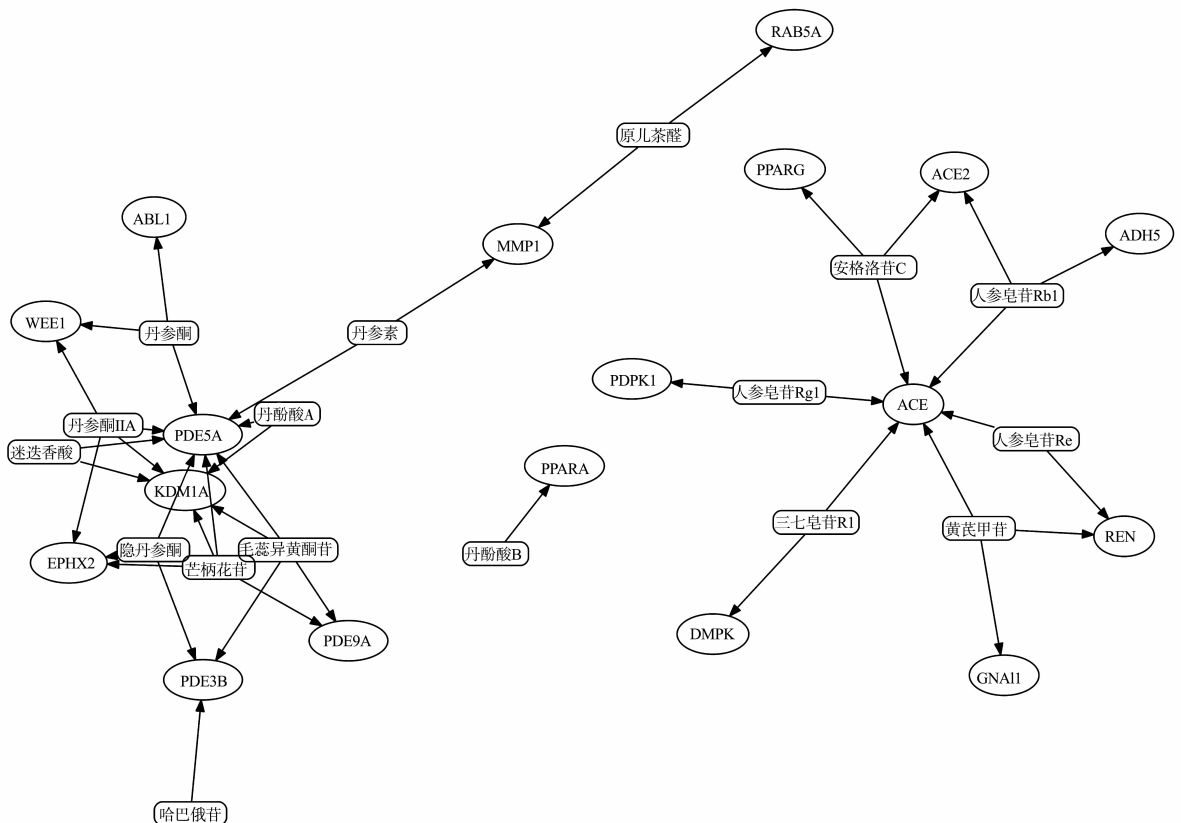


图 1 复方血栓通胶囊化学成分对靶点的作用网络图

Fig. 1 Compound-target interaction network diagram of Compound Xueshuantong Capsule

表 1 复方血栓通胶囊中对血液循环靶点起作用的化学成分

Table 1 Compounds interacted with targets related to blood circulation in Compound Xueshuantong Capsule

靶点	对靶点起作用的化合物 (括号中为结合能, 4 186.8 J/mol)
ACE	人参皂苷 Re (10.6), 黄芪甲苷 (10.6), 人参皂苷 R _{g1} (10.5), 安格洛昔 C (10.4), 人参皂苷 Rb ₁ (10.1), 三七皂苷 R ₁ (9.7)
EPHX2	隐丹参酮 (11.4), 丹参酮 II _A (11.1), 芒柄花苷 (11.0)
REN	人参皂苷 Re (10.1), 黄芪甲苷 (9.5)
ACE2	安格洛昔 C (10.9), 人参皂苷 Rb ₁ (9.4)
ADH5	人参皂苷 Rb ₁ (10.3)
PPARA	丹酚酸 B (10.9)
PPARG	安格洛昔 C (10.6)
DMPK	三七皂苷 R ₁ (9.2)

表 2 复方血栓通胶囊中对凝血过程靶点起作用的化合物

Table 2 Compounds interacted with targets related to hemostasis in Compound Xueshuantong Capsule

靶点	对靶点起作用的化合物 (括号中为结合能, 4 186.8 J/mol)
PDE5A	丹参酮 (12.6), 隐丹参酮 (12.1), 丹参酮 II _A (12.0), 丹酚酸 A (11.9), 芒柄花苷 (10.7), 毛蕊异黄酮苷 (10.6), 迷迭香酸 (9.8), 丹参素 (7.8)
KDM1A	芒柄花苷 (11.1), 丹参酮 II _A (10.8), 毛蕊异黄酮苷 (10.8), 丹酚酸 A (10.8), 迷迭香酸 (10.1)
PDE3B	隐丹参酮 (10.6), 毛蕊异黄酮苷 (10.3), 哈巴俄苷 (10.1),
PDE9A	芒柄花苷 (10.3), 毛蕊异黄酮苷 (10.3)
ABL1	丹参酮 (11.4)
WEE1	丹参酮 II _A (11.2), 丹参酮 (11.2)
MMP1	丹参素 (7.7), 原儿茶醛 (6.7)
RAB5A	原儿茶醛 (6.3)
PDPK1	人参皂苷 R _{g1} (9.6)
GNAI1	黄芪甲苷 (9.5)

表 3 复方血栓通胶囊化学成分的主要作用靶点

Table 3 Targets of compounds in Compound Xueshuantong Capsule

化合物	靶点 (括号中为结合能, 4 186.8 J/mol)
人参皂苷 Rb ₁	ADH5(10.3), ACE(10.1), ACE2(9.4)
人参皂苷 Re	ACE (10.6), REN (10.1)
人参皂苷 R _{g1}	ACE (10.5), PDPK1 (9.6)
三七皂苷 R ₁	ACE (9.7), DMPK (9.2)
丹参素	PDE5A (7.8), MMP1 (7.7)
丹参酮	PDE5A (12.6), ABL1 (11.4), WEE1 (11.2)
丹参酮 II _A	PDE5A (12.0), WEE1 (11.2), EPHX2 (11.1), KDM1A (10.8)
丹酚酸 A	PDE5A (11.9), KDM1A (10.8)
丹酚酸 B	PPARA (10.9)
迷迭香酸	KDM1A (10.1), PDE5A (9.8)
隐丹参酮	PDE5A (12.1), EPHX2 (11.4), PDE3B (10.6)
原儿茶醛	MMP1 (6.7), RAB5A (6.3)
安格洛昔 C	ACE2 (10.9), PPARG (10.6), ACE (10.4)
哈巴俄苷	PDE3B (10.1)
黄芪甲苷	ACE (10.6), REN (9.5), GNAI1 (9.5)
芒柄花苷	KDM1A (11.1), EPHX2 (11.0), PDE5A (10.7), PDE9A (10.3)
毛蕊异黄酮苷	KDM1A (10.8), PDE5A (10.6), PDE9A (10.3), PDE3B (10.3)

和肺组织中 ACE 活性的结果是相吻合的^[9]。ACE 是调节血压和微循环的重要靶点。ACE 基因异常是视网膜静脉阻塞的一个重要风险因素^[10]。ACE 活性的增强能够加速血管紧张素 I 分子中的组氨酸和苯丙氨酸之间肽键裂解, 转化成具有强烈血管收缩效应的升压物质血管紧张素 II, 同时降解缓激肽, 从而造成血管收缩与血流阻塞, 引起血压升高^[11]。高血压是引起视网膜静脉阻塞的危险因素^[12], 复方血栓通胶囊可以通过对 ACE 靶点的作用而起到舒张血管、降低血压、改善微循环等作用。本研究表明复方血栓通胶囊中与 ACE 结合能较强的成分主要为三七中的三七皂苷 R₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re 等, 这为阐明复方血栓通胶囊的药理机制与作用靶点提供了明确的依据。

血小板内 cAMP 能够抑制 PAP、胶原和 ADP 等刺激引起的血小板聚集, PDE 是调节细胞内 cAMP 浓度的重要蛋白, 因而, PDE 是筛选抗凝药物的主要靶点之一^[13]。如图 1 和表 2、表 3 所示,

3 讨论

如图 1 和表 1、表 3 所示, 三七皂苷 R₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re 均对 ACE 具有较强作用, 提示 ACE 可能是三七皂苷 R₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re 调节血液循环的主要作用靶点。这几种皂苷都归属于三七药材, 与前期文献报道的三七提取物能抑制大鼠血清

丹参中的丹参酮、隐丹参酮、丹参酮 II_A、丹酚酸 A、迷迭香酸、丹参素以及黄芪中的毛蕊异黄酮苷和芒柄花苷都对 PDE5A 具有较强的结合作用。同时, 隐丹参酮、黄芪中毛蕊异黄酮苷及玄参中的哈巴俄苷则与 PDE3B 具有较强结合作用。血小板聚集是血栓形成的重要步骤。PDE5A 是 cGMP 的选择性水解酶, 它是血小板聚集过程和血管内皮细胞功能的重要调节基因^[14-16], 是血管性疾病的重要靶点^[17]。PDE5A 的抑制剂如枸橼酸西地那非等, 可以提高细胞内 cGMP 含量, 促进 NO 的合成与分泌, 从而起到抑制血小板聚集、舒张血管平滑肌、降低血压等作用。PDE3B 同时具有水解 cAMP 和 cGMP 的活性。PDE3B 抑制剂可以减慢 cAMP 水解速率, 提高血小板内 cAMP 含量, 从而达到抑制血小板聚集的效果。因此, 复方血栓通胶囊可以通过对 PDE 的抑制作用而阻止血栓形成, 起到治疗眼底静脉栓塞的疗效。前期研究表明, 丹参注射液能够显著抑制 ADP 与肾上腺素诱导的血小板聚集与五羟色胺的释放^[18]。本研究发现复方血栓通胶囊中对 PDE 靶点具有活性的成分除丹参中的丹参酮、隐丹参酮、丹参酮 II_A、丹酚酸 A、迷迭香酸、丹参素外, 还包括了黄芪中的毛蕊异黄酮苷和芒柄花苷以及玄参中的哈巴俄苷。这将为后续深入研究复方血栓通胶囊的药理机制与作用靶点提供了方向。

循环系统及凝血功能的异常均是视网膜静脉阻塞的重要发病因素^[19]。本研究表明复方血栓通胶囊中多种成分对循环系统以及凝血功能的相关靶点均具有较强的作用, 这从分子水平上解释了复方血栓通胶囊治疗视网膜静脉阻塞良好临床疗效的物质基础。

本研究使用计算机网络药理学方法对复方血栓通胶囊治疗视网膜静脉阻塞功效进行了作用靶点分析, 预测了其作用靶点与主要活性物质。从分子水平上揭示了复方血栓通胶囊对 ACE 和 PDE 血液循环和凝血过程相关的多靶点调控机制, 为阐明复方血栓通胶囊治疗视网膜静脉阻塞的作用机制提供了依据。

参考文献:

- [1] 梁先军, 黄智. 复方血栓通胶囊治疗视网膜静脉阻塞 57 例 [J]. 广东医学, 2003, 24(04): 378-380.
- [2] 刘恒, 刘爱民, 高莉, 等. 复方血栓通胶囊治疗视网膜静脉阻塞 60 例 [J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(12): 1497-1499.
- [3] 张爱武, 史艳艳. 复方血栓通胶囊治疗视网膜静脉阻塞 69 例 [J]. 陕西中医, 2006, 26(09): 1082-1084.
- [4] PRISCO D, MARCUCCI R. Retinal vein thrombosis: risk factors, pathogenesis and therapeutic approach [J]. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 2002, 32(5/6): 308-311.
- [5] 梁洁萍, 刘忠政, 彭维, 等. 复方血栓通胶囊 HPLC 指纹图谱质量控制方法研究 [J]. 中药材, 2012, 35(11): 1854-1858.
- [6] ASHBURNER M, BALL C A, BLAKE J A, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology [J]. *Nat Genet*, 2000, 25(1): 25-29.
- [7] KELLENBERGER E, MULLER P, SCHALON C, et al. sc-PDB: an annotated database of druggable binding sites from the protein data bank [J]. *J Chem Inf Model*, 2006, 46(2): 717-727.
- [8] TROTT O, OLSON A J. Auto dock 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.
- [9] 曾青, 陈吉球, 黄勤, 等. 三七总皂甙对血清及肺组织血管紧张素转换酶的影响 [J]. 广西医科大学学报, 1998, 15(3): 36-37.
- [10] GORI A M, MARCUCCI R, FATINI C, et al. Impaired fibrinolysis in retinal vein occlusion: a role for genetic determinants of PAI-1 levels [J]. *Thromb Haemost*, 2004, 92(1): 54-60.
- [11] 郭松铎, 陶月玉, 林尚楠. 心脏病学词典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1998: 439.
- [12] O'MAHONEY P R A. Retinal vein occlusion and traditional risk factors for atherosclerosis [J]. *Arch Ophthalmol*, 2008, 126(5): 692.
- [13] KAGAN V E, POLYANSKII N B, MURANOV K O, et al. Inhibition of platelet aggregation and of cAMP-dependent platelet cyclic nucleotide phosphodiesterase by 3-hydroxypyridine derivatives [J]. *Biull Eksp Biol Med*, 1984, 97(4): 419-422.
- [14] MAURICE D H, HASLAM R J. Molecular basis of the synergistic inhibition of platelet function by nitrovasodilators and activators of adenylate cyclase: inhibition of cyclic AMP breakdown by cyclic GMP [J]. *Mol Pharmacol*, 1990, 37(5): 671-681.
- [15] GUDMUNDSDOTTIR I J, MCROBBIE S J, ROBINSON S D, et al. Sildenafil potentiates nitric oxide mediated inhibition of human platelet aggregation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 337(1): 382-385.
- [16] GEBSKA M A, STEVENSON B K, HEMNES A R, et al. Phosphodiesterase-5A (PDE5A) is localized to the endothelial caveolae and modulates NOS3 activity [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 90(2): 353-363.
- [17] KASS D A, CHAMPION H C, BEAVO J A. Phosphodiesterase type 5: expanding roles in cardiovascular regulation [J]. *Circ Res*, 2007, 101(11): 1084-1095.
- [18] WANG Z, ROBERTS J M, GRANT P G. The effect of a medicinal Chinese herb on platelet function [J]. *Thromb Haemost*, 1982, 48(3): 301-306.
- [19] CĂLUGĂRU D. Risk factors in central retinal vein occlusion [J]. *Oftalmologia*, 2011, 55(2): 27-37.