

# 益气滋阴饮治疗2型糖尿病活性成分的虚拟筛选研究<sup>△</sup>

邢天柱<sup>1\*</sup>, 徐 勳<sup>2</sup>, 刘咨博<sup>1</sup>, 于小娟<sup>1</sup>, 徐 顺<sup>1#</sup> (1. 郑州大学化学与分子工程学院, 郑州 450001; 2. 郑州大学第一附属医院信息处, 郑州 450052)

中图分类号 R932 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)07-0910-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.07.11

**摘要** 目的:对中药方剂益气滋阴饮治疗2型糖尿病的活性成分、作用靶标和途径进行虚拟筛选研究,从分子水平上阐述该方治疗2型糖尿病的药效机制,为其推广应用和合理组方提供理论依据。方法:从《中药原植物化学成分手册》中检索出益气滋阴饮方剂10味药材中已分离得到的化学成分,从DrugBank数据库中检索出治疗2型糖尿病的药物/类药分子,在PubChem Compound数据库中下载各成分的三维分子结构,在Cerius<sup>2</sup> 4.10软件中对其进行结构优化,建立益气滋阴饮小分子化合物数据集;以“type 2 diabetes mellitus”为关键词,在治疗靶蛋白数据库中搜索及筛选出2型糖尿病的靶标蛋白,然后从治疗靶蛋白数据库中查询并下载这些蛋白质的三维立体结构;将选出的化合物分子(配体)与靶标蛋白(受体)进行对接,找出活性较高(根据Degree值与Betweenness值大小排序)的小分子和相关度较高的靶标蛋白;以筛选出的小分子化合物与靶标蛋白(如*N*-反式-咖啡酰酪胺分子与糖原合成酶激酶-3 $\beta$ )的精细对接为例,讨论配体与受体间的相互作用机制。结果:检索得到化学成分及药物/类药分子分别为732、127个,筛选出2型糖尿病的靶标蛋白30个;根据Degree值与Betweenness值大小排序,筛选出了8个活性较高的小分子化合物(如*N*-反式-咖啡酰酪胺、金丝桃苷等)和10个相关度较高的靶标蛋白(如碳酸酐酶1、糖原合成酶激酶-3 $\beta$ 等);*N*-反式-咖啡酰酪胺与糖原合成酶激酶-3 $\beta$ 之间可形成氢键及 $\pi$ 烷基化相互作用,从而影响受体蛋白的结构稳定性及活性而产生降低血糖作用。结论:采用虚拟筛选研究发现,益气滋阴饮治疗2型糖尿病时既存在一个小分子化合物与多个靶标相互作用,同时又有不同小分子化合物作用于同一靶标的现象,从分子水平上揭示了其通过多组分、多靶标协同作用的机制,为开发治疗糖尿病的新药时先导化合物的筛选和结构修饰提供了参考信息。

**关键词** 益气滋阴饮;2型糖尿病;活性成分;靶标蛋白;虚拟筛选

## Study on Virtual Screening of Active Components from Yiqi Ziyin Decoction in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus

XING Tianzhu<sup>1</sup>, XU Meng<sup>2</sup>, LIU Zibo<sup>1</sup>, YU Xiaojuan<sup>1</sup>, XU Shun<sup>1</sup> (1.College of Chemistry and Molecular Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China; 2.Dept. of Information, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To conduct virtual screening for active component, target and pathway of TCM Yiqi ziyin decoction in the treatment of type 2 diabetes mellitus, and to elucidate the pharmacodynamic mechanism of this decoction in the treatment of type 2 diabetes mellitus at molecular level so as to provide theoretical basis for its popularization, application and rational organization. METHODS: Chemical compounds isolated from 10 ingredients of Yiqi ziyin decoction were retrieved from *Handbook of Chemical Constituents of Original TCM Plants*. Drug/drug-like molecules for the treatment of type 2 diabetes mellitus were retrieved from DrugBank database. Three-dimensional molecular structures of each component were downloaded from PubChem Compound database. The structure was optimized by using Cerius<sup>2</sup> 4.10 software, and the small molecular data set of Yiqi ziyin decoction was established. Using “type 2 diabetes mellitus” as keywords, target protein of type 2 diabetes mellitus were retrieved and screened from target protein databases, and their three-dimensional structures were downloaded from protein database. The selected compound molecules (ligands) were docked with target proteins (receptors), and small molecules with high activity (sorted according to the values of Degree and Betweenness) and target proteins with high correlation were found. The interaction mechanism between ligand and receptor was discussed by taking the fine docking of selected small molecules with target protein

<sup>△</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.J1210060);国家级大学生创新创业训练计划项目(No.201810459005)

\* 硕士研究生。研究方向:物理化学、药物分子设计。E-mail: 846521571@qq.com

# 通信作者:教授,博士。研究方向:天然药物化学和药物分子设计。E-mail: shxuzz@zzu.edu.cn

(*N*-trans-caffeoyl tyrosine molecule and glycogen synthase kinase-3 $\beta$ ) as an example. RESULTS: There were 732 kinds of chemical components and 127 drug/drug-like molecules; 30 target proteins of type 2 diabetes mellitus were screened. According to the values of Degree and Betweenness, 8 molecules with high activity (such as *N*-trans-caffeoyl

tyrosine, hyperin and so on) and 10 target proteins with high correlation (such as carbonic anhydrase1, glycogen synthetase kinase-3 $\beta$  and so on) were screened out. The interaction between *N*-trans-caffeoyl tyrosine and glycogen synthase kinase-3 $\beta$  could form hydrogen bonds and  $\pi$  alkylation, thus affecting the structural stability and activity of the latter and reducing blood glucose. CONCLUSIONS: In this study, it found there existed not only one molecule compound interacting with multiple targets, but also different molecule compound interacting with the same target on Yiqi Ziyin decoction for the treatment of type 2 diabetes mellitus by virtual screening, it revealed the characteristics of multi-component and multi-target synergism of TCM prescriptions at the molecular level, providing reference for screening lead compounds and structural modification of new drug for diabetes mellitus.

**KEYWORDS** Yiqi ziyin decoction; Type 2 diabetes mellitus; Active components; Target protein; Virtual screening

在2型糖尿病的治疗上,中药的应用越来越广<sup>[1]</sup>。根据黑龙江中医研究院研究员、主任医师张琪的《张琪临床经验辑要》<sup>[2]</sup>一书记载,益气滋阴饮由黄芪、人参、玉竹、生地黄、山药、枸杞子、天冬、菟丝子、女贞子、玄参组成,具有补益肝肾、滋阴润燥、益气生津之作用,可用于治疗糖尿病日久气阴不足者,可降低血糖水平并有效改善糖尿病症状<sup>[3]</sup>。但目前尚无系统阐明益气滋阴饮治疗糖尿病的活性成分和作用靶标的研究。近年来,国内外许多学者已经意识到作用于单一靶点药物在治疗糖尿病方面存在局限性,故将药物开发研究目标已从单一靶点药物转向基于系统生物学的联合用药<sup>[4]</sup>。本课题依托化学空间<sup>[5]</sup>(通过一系列特定选择的描述符描述化合物的性质形成的多维描述符空间,再对比化合物之间的化学空间相似性,进而推测化合物的作用是否具有相似性)、生物分子网络<sup>[6]</sup>(生物分子网络具有拓扑属性,利用节点和边来描述分子间相互作用,节点之间由边连接,每条边代表节点之间的相互关系)、分子对接<sup>[7]</sup>等计算机模拟手段,分析益气滋阴饮的活性成分及其潜在的作用靶标,在分子水平上探讨其治疗2型糖尿病的可能作用机制,为其临床应用以及新药开发提供理论依据。

## 1 材料

### 1.1 方剂组成

益气滋阴饮方剂<sup>[2]</sup>:黄芪 50 g,人参 15 g,玉竹 20 g,生地黄 25 g,山药 25 g,枸杞子 20 g,天冬 20 g,菟丝子 15 g,女贞子 15 g,玄参 20 g。

### 1.2 研究工具和数据库

治疗靶蛋白数据库 (<http://bidd.nus.edu.sg/group/ttd/>); DrugBank 数据库 (<https://www.drugbank.ca/>); PubChem Compound 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>); PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>); 分子构建、能量优化和对接研究均采用 Accelrys 公司的 Cerius<sup>2</sup> 4.10 分子模拟软件包,在 Fuel 图形工作站上完成;采用 AutoDock 4.2 软件进行分子精细对接<sup>[8]</sup>,对接结果采用 Discovery Studio 2017 软件进行分析<sup>[9]</sup>,计算过程中除特别指明,所选用的参数均为缺省值;采用的其他软件还包括 CentiBiN(用于生物网络中心性的计算和可视化)、Pajek(大型复杂网络分析工具)等。

## 2 方法

### 2.1 分子描述符的计算

从《中药原植物化学成分手册》<sup>[10]</sup>中检索出益气滋阴饮方剂 10 味药材中已分离得到的化学成分共计 732 种,在 PubChem Compound 数据库中下载其分子结构,若无化合物结构,通过 ChemBioDraw 14.0 软件搭建其三维分子结构,在 Cerius<sup>2</sup> 4.10 软件的 LigandFit 模块中对其进行结构优化,建立益气滋阴饮方剂中小分子数据集,保存为 XFZ.sd 文件。另外,以“type 2 diabetes mellitus”为检索词,从 DrugBank 数据库中检索到 127 个治疗 2 型糖尿病的药物/类药分子,利用 Cerius<sup>2</sup> 4.10 软件进行优化,保存为 Drug-like.sd 文件。

分子描述符是由一系列描述分子物理化学性质的参数组成的,包含了片段描述符、拓扑描述符、空间描述符、结构描述符等性质,通过计算分子的物理化学性质及其与分子结构之间的关系揭示化合物的药理学活性,分子结构决定物质性质,分子描述符可作为定量构效关系(Quantitative structure-activity relationship, QSAR)研究的基础。在 Cerius<sup>2</sup> 4.10 软件中对益气滋阴饮方剂中所含化学成分的化合物分子和药物/类药分子进行分子描述符的计算。将计算结果导出并制作条形图,统计化合物的相对分子质量百分比、氢键给体数目(属于片段描述符)百分比、氢键受体数目(属于片段描述符)百分比、脂水分布系数(属于疏水参数)百分比、可旋转键数目百分比(属于结构描述符),检验益气滋阴饮方剂中所含化合物分子和药物/类药分子是否符合 Lipinski 规则<sup>[11]</sup>(Lipinski 规则包括化合物的相对分子质量不超过 500,氢键给体数目不超过 5 个,氢键受体数目不超过 10 个,脂水分布系数不大于 5,可旋转键的数目不超过 10 个)。符合 Lipinski 规则的化合物可能会有更好的药理学性质,在生物体内代谢过程中会有更高的生物利用度,因而也更有可能是治疗药物。此外,统计分子手性中心个数(属于片段描述符)百分比以检验分子结构骨架多样性。根据分子描述符进行益气滋阴饮方剂中化学空间的构建。

### 2.2 益气滋阴饮方剂的化学空间构建

主成分分析(Principal component analysis, PCA)是

一种利用统计学的方法将多变量数据进行处理,得到几个综合变量并将其映射到二维平面和三维平面上,然后对其进行分析的方法。这种分析方法从整体上对两类化合物进行研究能够更加直观地反映两类化合物之间的异同,有效地降低研究的复杂性<sup>[5]</sup>。绘制益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物与药物/类药分子的主成分二维图和三维图,通过比较两者的化学空间,可揭示益气滋阴饮方剂治疗2型糖尿病的可能性。根据益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物,在这些小分子及与其作用的糖尿病靶标蛋白之间构建生物分子网络。

### 2.3 益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物-靶标作用的网络构建

在治疗靶蛋白数据库中搜索,确定与2型糖尿病相关的靶标30个,在Cerius<sup>2</sup> 4.10的LigandFit模块中,在对接前,靶标蛋白经先除去溶剂、剪切掉配体、加氢处理后,以其所含的活性原配体来确定活性位点;使用蒙特卡罗方法对益气滋阴饮中化学成分配体进行构象采样,Dreiding力场打分,只保留得分最高的构象<sup>[12]</sup>。对接成功后的化合物按Dock Score(对接打分)进行排序,将Cerius<sup>2</sup> 4.10的结果文件导入Discovery Studio中。为了能够更加直观清晰地探究益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物与靶标蛋白的关联<sup>[13]</sup>,以靶标蛋白复合物中的原配体的Dock Score大小为阈值,筛选出Dock Score排名大于原配体的前40位的小分子化合物,确定为益气滋阴饮方剂中所含的活性化合物,将其与有相互作用的靶标蛋白绘制成一对应的Excel表格,利用Pajek软件将上述活性化合物与作用靶标之间构造小分子-靶标(Drug-Target, D-T)网络图<sup>[14]</sup>。通过CentiBiN软件计算Degree值(度中心性)与Betweenness值(中介中心性),这两个参数值越大说明其在网络图中越重要,同时表明所对应的化合物及作用靶标在治疗疾病的过程中发挥着尤为重要的作用。根据Degree值与Betweenness值从大到小排序,筛选出高相关靶标蛋白和高活性小分子化合物。

### 2.4 精细分子对接

利用AutoDock 4.2软件通过分子精细对接进一步研究小分子与靶标蛋白的相互作用,以与2型糖尿病相关的靶标为受体,以益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物为配体,取靶标蛋白为“刚性”,小分子化合物为“柔性”,用“半柔性”对接方法。采用拉马克遗传算法,并结合半经验自由能的评价方法,改变配体分子在受体活性位点的位置、取向以及柔性键的方向,获得配体小分子与受体大分子的最佳结合方式。具体对接步骤如下:(1)选择合适的靶标蛋白与小分子作为受体与配体;(2)处理受体与优化配体;(3)计算格点能量生成glg文件;(4)构象搜索生成dlg结果文件;(5)分析对接结果<sup>[15]</sup>。

然后利用“Dockings”中的“Show interaction”,显示受体与配体的平面及三维立体结构的相互作用信息。在结果分析中查看受体与配体对接所得的基本参数,包括键合自由能、抑制常数、分子间相互作用、氢键、 $\pi$ 键、静电相互作用、疏水作用等。

### 2.5 对接数据分析与图像处理

将AutoDock 4.2软件的计算结果在Discovery Studio 2017软件中打开并分析,选出与每个受体蛋白中对接最优的配体小分子,分析二者之间相互作用的氨基酸残基、键长、键角等数据,然后分析小分子与靶标蛋白之间的相互作用,在Discovery Studio 2017中显示二者之间的二维平面图以及三维立体氢键作用力图。

## 3 结果

### 3.1 分子描述符

将益气滋阴饮方剂与药物/类药分子的描述符通过Cerius<sup>2</sup> 4.10软件的QSAR模块进行了整体计算。在Origin软件中作出其百分比图,见图1。

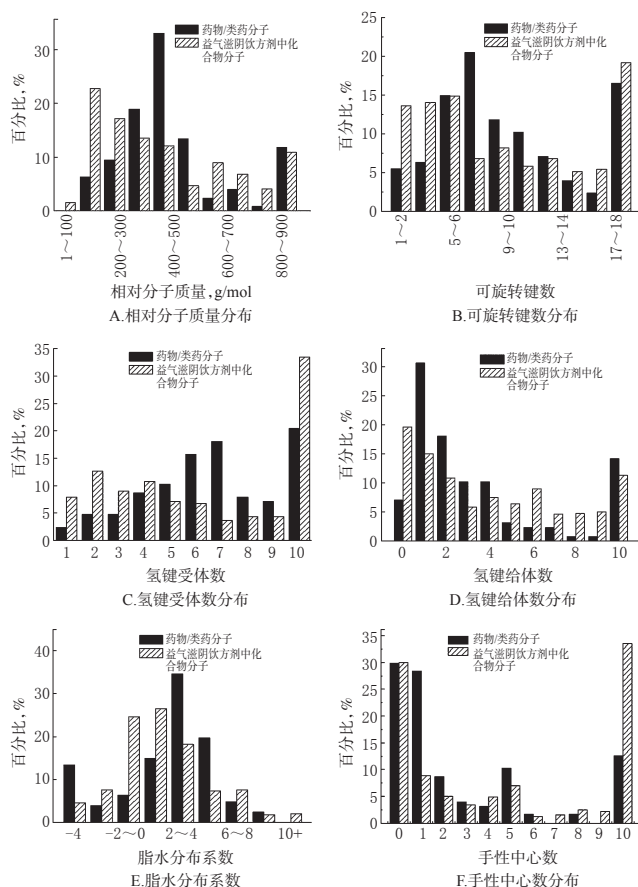


图1 益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物和药物/类药分子的分子描述符

Fig 1 Molecular descriptors of molecule compound and drug/drug-like molecules in Yiqi ziyin decoction

图1是益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物与治疗2型糖尿病的药物/类药分子部分分子描述符的对比图,

可以看出,两类分子的分布具有较高的相似性。依据 Lipinski 规则可知:(1)图 1A 显示益气滋阴饮方剂中化合物分子相对分子质量在 100~500 之间者占 67%,提示这些小分子化合物在生物体内可表现出良好的药动学性质,易被生物体吸收和利用。(2)图 1B 显示在可旋转键数目小于 10 时,其中益气滋阴饮方剂中小分子化合物占 57.49%,药物/类药分子占 59.06%,表明其柔性性质较好,该性质被广泛应用在新药的设计开发方面<sup>[6]</sup>。(3)图 1C 显示氢键受体数目不超过 10 时,益气滋阴饮方剂中小分子化合物占 66.49%,药物/类药分子占 79.53%。(4)图 1D 显示氢键给体数目不超过 5 时,益气滋阴饮方剂中小分子化合物占 65.26%,药物/类药分子占 79.53%(分子间氢键能够增强化合物的稳定性及改变分子的活性,但氢键过多可使化合物在生物体内的吸收能力下降,药动学性质可能会受到限制)。(5)图 1E 提示益气滋阴饮方剂中小分子化合物脂水分布系数在 0~2 区间内达到峰值,并且分布在 -2~4 区间的分子占比为 69.35%,表明益气滋阴饮方剂中小分子化合物大部分都符合 Lipinski 规则中脂水分布系数不大于 5 的要求,提示益气滋阴饮方剂中小分子化合物大多具有良好的药动学性质。(6)图 1F 提示益气滋阴饮方剂中小分子化合物与药物/类药分子的手性中心数目有部分差异,药物/类药分子中不含手性中心的个数高达 29.92%,手性数目超过 10 的仅有 12.60%,而益气滋阴饮方剂化合物中手性数目多于 10 的约占 33.51%。二者手性中心数的差异表明,益气滋阴饮方剂中小分子化合物的骨架具有较高的多样性,有利于分子结构的改造。综上,益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物大部分符合 Lipinski 规则。

### 3.2 PCA 分析

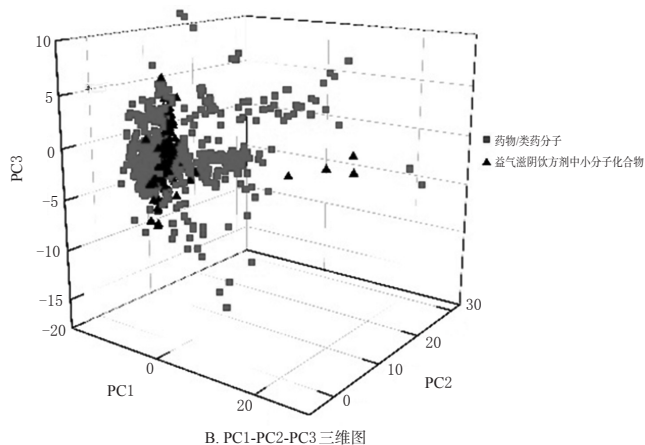
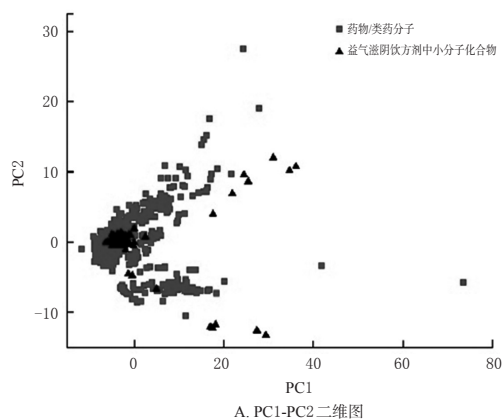
将益气滋阴饮方剂中化合物分子与药物/类药分子进行 PCA 分析,得到二维图和三维图,详见图 2A、图 2B。

从图 2 中可以看出,两类分子在化学空间上有较大的交叉重叠部分,表明益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物与药物/类药分子具有相似的性质,为益气滋阴饮方剂中含有治疗 2 型糖尿病的活性物质提供了佐证。另外,从图上还可看出,益气滋阴饮方剂中小分子化合物具有较好的分散性,表明其在治疗 2 型糖尿病方面表现出良好的药物多样性。

### 3.3 益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物-靶标作用网络

益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物与靶标蛋白作用的 D-T 网络图见图 3。

使用 CentiBiN 软件计算图 3 中各节点的 Degree 值,根据 Degree 值从大到小排列,取前 8 个活性较高的小分



注:PC1、PC2、PC3 分别代表主成分 1、主成分 2、主成分 3

Note: PC1, PC2, PC3 represent main component 1, main component 2, main component 3, respectively

图 2 益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物与药物/类药分子的主成分分析图

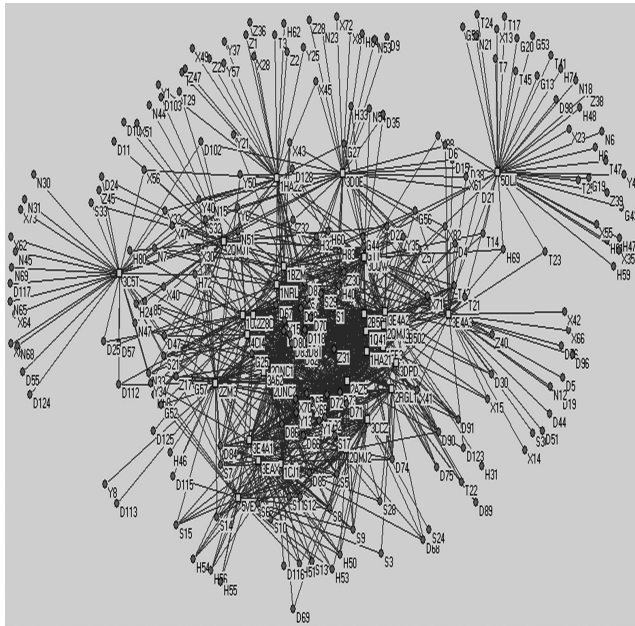
Fig 2 Principal component analysis of molecule compound and drug/drug-like molecules in Yiqi zhiyin decoction

子列于表 1(表中,CAS 号即 Chemical abstracts service 编号);8 个化合物小分子的相对分子质量、氢键给体数、氢键受体数、脂水分布系数、可旋转键数目见表 2;依据小分子与靶标蛋白在 Cerius<sup>2</sup> 4.10 软件中的对接结果,筛选出 10 个相关度较高的靶标蛋白,见表 3。

根据 Lipinski 规则判断,表 1、表 2 中的 8 个化合物分子绝大部分都符合 Lipinski 规则,其可能是益气滋阴饮方剂中治疗 2 型糖尿病的关键活性成分;表 3 中的 10 个靶标蛋白则是高相关性的蛋白。

### 3.4 精细分子对接与数据分析

将 8 个活性小分子与 10 个靶标蛋白在 AutoDock 软件中一一进行精细对接,在对接结果中查看受体与配体对接的键合自由能、抑制常数  $K_i$ 、分子间相互作用(包括范德华力、氢键、 $\pi$ 键、静电相互作用、疏水作用等,以  $vdW+Hbond+desolv$  Energy 表示,1 kcal=4.185 8 KJ),结果见表 4;优选出的受体蛋白与配体小分子对接之间相互作用的氨基酸残基、键长、键角等数据,见表 5。



注:图中圆形点代表小分子,比如:编号D81中D代表生地黄,81代表分子编号为81的化合物,即N-反式-咖啡酰酪胺分子;其余G代表枸杞子、H代表黄芪、N代表女贞子、R代表人参、S代表山药、T代表天冬、X代表玄参、Y代表玉竹、Z代表菟丝子;正方形点代表靶标蛋白,比如1Q41代表糖原合成酶激酶-3β(GSK-3β)的编码

Note: the circular points in the graph represent small molecules, such as in No. D81, D represents *Rehmannia glutinosa* and 81 represents compounds with molecular number 81, i.e. *N-trans-caffeoyl tyrosine*. G represents *Fructus lycii*; H represents *Astragalus membranaceus*; N represents *Ligustrum lucidum*; R represents *Panax ginseng*; S represents *Dioscoreae rhizome*; T represents *Asparagus cochinchinensis*; X represents *Scrophularia ningpoensis*; Y represents *Polygonatum odoratum*; Z represents *Cuscuta chinensis*; square dots represent target proteins, such as 1Q41 represents the code of glycogen synthase kinase-3β (GSK-3β)

图3 益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物-靶标蛋白相互作用网络

Fig 3 Compound molecule-target protein interaction network of Yiqi ziyin decoction

表1 益气滋阴饮方剂中活性较高的8个化合物

Tab 1 8 high active compounds in Yiqi ziyin decoction

分子编号	名称	分子式	CAS号	Degree值	作用
D65	(1S,4R,5S,7S)-1,4a,5,7a-四氢-5-羟基-7-[(2E)-2-甲基-1-氧-2-丁烯-1-基]氧甲基环戊二烯吡喃-1-酰-β-D-葡萄糖苷	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> O <sub>10</sub>	1040460-56-7	26	抗炎及促进细胞增殖
D81	N-反式-咖啡酰酪胺	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>4</sub>	103188-48-3	26	增加血清胰岛素浓度及肝糖原含量
D82	3,4-二羟基-N-[2-(4-羟基苯基)乙基]苯丙胺二氢-N-咖啡酰酪胺	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>	501939-19-1	26	抗氧化
S1	1,7-双(4-羟基苯基)庚-4e,6E-二烯-3-酮	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	332371-82-1	27	促进脂质的利用和脂肪酸的氧化
X69	8-呋喃多巴苷	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	6926-08-5	25	增加心肌营养性血流量,提高耐缺氧能力
Y12	Polygonatone A	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	1432632-39-7	25	抗氧化
Y15	Polygonatone D	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	1432632-42-2	24	抗氧化
Z31	金丝桃苷	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	482-36-0	23	有利于过氧化脂质的分解和代谢

表2 益气滋阴饮方剂中高活性分子Lipinski规则验证结果

Tab 2 Verification of Lipinski rule of high active molecules in Yiqi ziyin decoction

分子编号	相对分子质量	可旋转键数	氢键受体数	氢键给体数	脂水分布系数	是否符合Lipinski规则
D65	423.396	7	10	0	-2.659 0	是
D81	295.294	6	5	0	1.189 9	是
D82	297.31	7	5	0	1.213 1	是
S1	292.334	6	3	0	2.760 8	是
X69	432.383	8	10	0	-1.898 9	是
Y12	343.312	4	7	0	0.570 2	是
Y15	299.302	5	5	0	1.359 4	是
Z31	463.374	11	12	7	-1.002 2	否

表3 10个相关度较高的靶标蛋白

Tab 3 10 high relevant target proteins

靶标蛋白	PDB编码	中文名称	性质与作用
Carbonic anhydrase I	1BZM	碳酸酐酶 I	在生物矿化和新骨形成过程中起着重要作用,与治疗糖尿病并发症中的眼病相关
Brain fatty acid binding protein	1FE3	脑脂肪酸结合蛋白	对人体脂类和葡萄糖代谢及胰岛素抵抗形成起调节作用
Serum albumin	1HA2	血清白蛋白	在血浆中发现的丰富的转运蛋白,其在2个主要结合位点(I和II)中结合多种药物并且对其药动学具有显著影响
Protein kinase C	1NRL	蛋白激酶 C	药物代谢和排泄中心基因表达的主要调节剂
GSK-3β	1Q41	糖原合成酶激酶-3β	影响胰岛素信号传导、葡萄糖代谢及糖原的合成
Peroxisome proliferator-activated receptor delta	2B50	过氧化物酶体增殖激活受体δ	过氧化物酶体增殖激活受体(DPARs)中,3种亚型PPARα,PPARδ和PPARγ的各自配体在糖尿病治疗中起重要作用
Maltase-glucoamylase	2QMJ	麦芽糖-葡萄糖淀粉酶	催化淀粉水解成为葡萄糖
Insulin receptor	2Z8C	胰岛素受体	胰岛素与胰岛素受体结合后,使胰岛素受体底物的酪氨酸磷酸化,引起胰岛素信号转导通路下游分子的级联反应,从而发挥胰岛素的生理功能
Phosphoinositide3-kinase	3DPD	磷脂酰肌醇-3-激酶	作为胰岛素信号转导中的关键酶,在调节糖代谢中起重要作用
Peroxisome proliferator-Activated receptor α	4C14	过氧化物酶体增殖激活受体α	一种配体活化型转录因子,其主要的生理作用为调节脂肪酸的氧化代谢

表4 受体与配体精细分子对接结果

Tab 4 Molecular docking results for receptors and ligands

靶标蛋白	分子编号	键合自由能, kcal/mol	抑制常数K <sub>i</sub> , μmol/L	vdW+Hbond+desolvEnergy	选择的运行构象
1BZM	D82	-6.67	12.97	-9.09	1
1FE3	X69	-7.28	4.58	-9.01	2
1HA2	S1	-8.00	1.36	-10.23	7
1NRL	S1	-7.35	4.07	-9.64	6
1Q41	D81	-8.49	3.24	-10.50	2
2B50	D81	-8.47	0.61	-10.58	1
2QMJ	X69	-6.87	9.16	-8.90	9
2Z8C	X69	-5.40	109.82	-7.41	1
3DPD	Y12	-8.56	0.53	-9.82	6
4C14	S1	-8.56	0.53	-10.79	10

在分析对接结果时,优先选择键合自由能绝对值较大而抑制常数较小的分子<sup>[17]</sup>,以N-反式-咖啡酰酪胺分子

表5 分子对接中氢键及其他相关数据

Tab 5 Hydrogen bonds and other related data in molecular docking

靶标蛋白	分子编号	氨基酸残基:相互作用氢键	键长	二面角	键角	运行构象
IBZM	D82	THR199:OG1	2.101	100.447	104.301	1
		THR199:HN	2.177	156.306	46.785	
IFE3	X69	ARG106:HN	2.129	170.669	161.532	2
		GLY33:O	2.334	114.991	120.299	
1HA2	S1	ASP451:OD2	1.744	151.843	134.867	7
1NRL	S1	LEU174:O	2.148	156.577	141.200	6
		PHE172:O	2.032	159.928	105.790	
1Q41	D81	ILE217:O	2.799	99.600	98.099	2
		CYS218:O	1.906	178.006	151.357	
2B50	D81	GLY259:O	1.821	153.915	122.242	1
		ASP260:OD2	2.053	129.980	135.439	
		GLU471:O	2.167	136.788	107.686	
2QMJ	X69	ASN312:HN	2.198	143.620	148.556	9
		LEU180:O	1.936	138.100	146.980	
3DPD	Y12	LEU657:O	2.252	95.688	140.166	6
4CI4	S1	MET220:HN	2.024	168.130	122.551	10
		GLU286:OE1	1.689	176.690	131.903	

(D81)与糖原合成酶激酶(GSK)-3 $\beta$ 为例讨论二者间的相互作用。GSK-3 $\beta$ 是一种遗传保守的丝氨酸/苏氨酸类蛋白激酶,除可调控糖原合成酶的活性外,还能作用于众多信号蛋白、结构蛋白和转录因子,参与多种信号的负调控,调节细胞的分化、增殖、存活和凋亡。在胰岛素抵抗或2型糖尿病患者的骨骼肌中可观察到GSK-3的表达升高,提示过度表达的GSK-3可能削弱胰岛素信号的传导,最终导致胰岛素抵抗<sup>[18]</sup>。将AutoDock计算导出的dlg结果文件,用Discovery Studio 2017显示出配体与受体之间相互作用的二维平面图以及氢键作用的三维图,见图4。

由图4A和图4B可以看出,在*N*-反式-咖啡酰酪胺分子与GSK-3 $\beta$ 对接结合的立体构象中,在活性口袋内,*N*-反式-咖啡酰酪胺与GSK-3 $\beta$ 的氨基酸残基ILE217、CYS218、GLY259、ASP260形成常规氢键,与ARG220形成 $\pi$ - $\pi$ 堆积相互作用,影响了GSK-3 $\beta$ 的结构稳定性及活性,产生拮抗作用,导致GSK-3 $\beta$ 表达下降,从而降低其对胰岛素信号传导的抑制,使胰岛素能正常发挥作用,增加糖原合成酶的活性,促进细胞外葡萄糖向糖原的转化,提高外周组织对葡萄糖的利用,从而降低血糖。

## 4 讨论

### 4.1 化学空间

本文以益气滋阴饮方剂10味中药中已分离得到的732个化合物分子为基础,建立了小分子三维数据集,从DrugBank数据库检索到127个治疗2型糖尿病的药物/类药分子,计算了益气滋阴饮方剂中所含小分子化合物的分子描述符,其中绝大部分小分子符合Lipinski规则。PCA分析结果显示益气滋阴饮方剂所含732个小

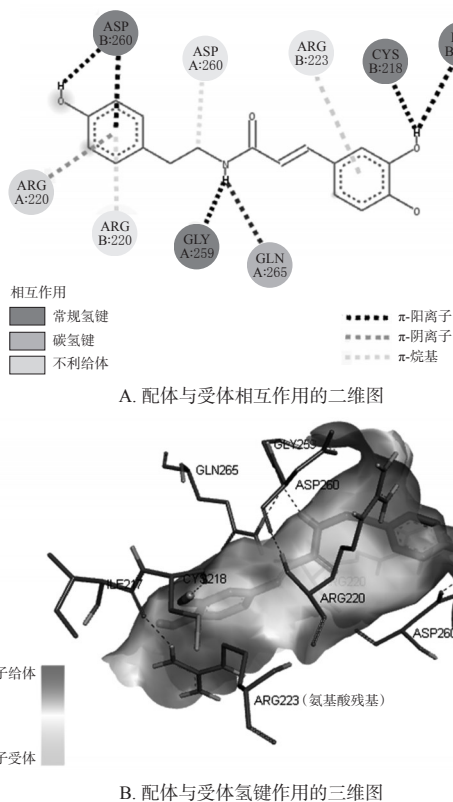


图4 *N*-反式-咖啡酰酪胺分子与GSK-3 $\beta$ 之间的相互作用

Fig 4 Interaction between *N*-trans-caffeoyl tyramine and GSK-3 $\beta$

分子与治疗2型糖尿病的药物/类药分子在化学空间分布上有较大程度的重叠,提示这些小分子化合物与药物/类药分子在化学结构上具有较大的相似性,表明益气滋阴饮方剂中含有治疗2型糖尿病的活性物质。

### 4.2 生物分子网络

通过益气滋阴饮方剂所含小分子化合物与2型糖尿病相关靶标蛋白的对接,得到了二者之间的Dock Score值,间接得到了该方剂中732个分子对选择的2型糖尿病靶标蛋白的相对活性,为开发治疗糖尿病的新药时筛选先导化合物提供了指导;从益气滋阴饮方剂中化合物分子-靶标蛋白相互作用网络图中可以看出,既存在一个分子与多个靶标相互作用,同时又有不同分子作用同一靶标的现象,从而揭示了中药方剂多组分、多靶标协同作用的特点;分析各节点的拓扑学特征,选出了8个活性较高的小分子和10个相关度较高的靶标蛋白,分析这些靶标蛋白的生物学功能,就可以了解这些活性分子作用于糖尿病发生的具体环节,揭示益气滋阴饮方剂治疗糖尿病的药理学作用机制。

### 4.3 分子对接

利用AutoDock软件将选出的8个活性较高的小分子和10个相关度较高的靶标蛋白进行一一精细对接,了

解配体和受体之间氢键形成、分子间作用力、亲水疏水作用情况,给出参与相互作用的基团和原子种类,以及对靶标蛋白结构稳定性甚至生物活性的影响,定量分析小分子与靶标蛋白的相互作用。同时还可以为这些有治疗2型糖尿病作用的先导化合物分子的结构改造提供有用的信息。

综上,本文通过化学空间、生物分子网络、分子对接等计算机模拟手段,研究了中药方剂益气滋阴饮治疗2型糖尿病的活性成分和相关度较高的靶标蛋白,从益气滋阴饮所含化合物小分子-靶标蛋白相互作用网络中可以看出既存在一个分子与多个靶标相互作用,同时又有不同分子作用同一靶标的现象,揭示了中药方剂多组分、多靶点协同作用的特点;在分子精细对接结果分析中,以*N*-反式-咖啡酰酪胺分子与GSK-3 $\beta$ 之间的相互作用为例进行分析,*N*-反式-咖啡酰酪胺分子与GSK-3 $\beta$ 结合产生拮抗作用,导致GSK-3 $\beta$ 表达下降,从而降低其对胰岛素信号传导的抑制,使胰岛素能正常发挥作用,增加糖原合成酶的活性,促进细胞外葡萄糖向糖原的转化,从而降低血糖,从分子水平上阐述了中药方剂益气滋阴饮治疗2型糖尿病的药效机制,为益气滋阴饮方剂的推广应用和合理组方提供了理论依据。本文方法对开展中药现代化研究有一定的借鉴意义,为在分子水平上揭示中药方剂的复杂作用机制,利用传统中药方剂寻找新药开发的先导化合物提供了一种新的思路和方法。

### 参考文献

[1] 夏中尚,杜正彩,侯小涛,等.基于755首中药处方治疗糖尿病用药规律的研究[J].中草药,2018,49(3):739-744.

[2] 张琪.张琪临床经验辑要[M].北京:中国医药科技出版社,1988:195.

[3] 林晓红.益气滋阴饮治疗糖尿病164例[J].四川中医,1999,17(10):31.

[4] 李瑞玲,孙俊馥,徐顺,等.白英正丁醇萃取部位的化学成分研究[J].中国药房,2016,27(30):4252-4254.

[5] 郑春松,徐筱杰,叶蕻芝.川芎活血化痰和行气止痛作用的计算机模拟研究[J].中华中医药杂志,2015,30(5):1432-1436.

[6] 杨华冬,陶玲,宋晓峰.基于生物网络与表达谱信息的基因功能预测与分析综述[J].计算机与应用化学,2017,34(2):152-156.

[7] 袁文锋,涂铭扬,陈超,等.基于分子对接及生物网络功能模块识别的复方丹参滴丸的网络药理学研究[J].中国药理学杂志,2017,52(9):743-749.

[8] 黄勇,陈晨,张志毅,等. AutoDock Vina 与 Discovery Studio 在虚拟筛选耐药蛋白抑制剂中的比较[J].生物信息学,2012,10(4):248-253.

[9] 刘福和,陈少军,倪文娟.川芎中抗血栓活性成分的计算机虚拟筛选研究[J].中国药房,2017,28(16):2182-2186.

[10] 周家驹,谢桂荣,严新建.中药原植物化学成分手册[M].北京:化学工业出版社,2004:1165-1211.

[11] LIPINSKI CA, LOMBARDO F, DOMINY BW, et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1997, 23 (1/2/3): 3-25.

[12] KOCH M, DUIGOU T, CARBONELL P, et al. Molecular structures enumeration and virtual screening in the chemical space with RetroPath 2.0[J]. *J Cheminformatics*, 2017, 9(1):64-65.

[13] 赵金龙,汤顺莉,陈国铭,等.基于系统药理学的葛根芩连汤治疗2型糖尿病作用机制探讨[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(12):199-209.

[14] GU JY, ZHANG H, XU S, et al. Drug-target network and poly pharmacology studies of a traditional chinese medicine for type II diabetes mellitus[J]. *Comput Biol Chem*, 2011,35(5):293-297.

[15] 郭小华,朱燕亮,程齐来.银翘散中抗流感病毒成分与神经氨酸酶的分子对接研究[J].中国药房,2018,29(17):2351-2355.

[16] 肖音,肖斌,赵娜,等.分子对接技术筛选黑沙蒿中黄酮类化合物的PPAR- $\gamma$ 激动活性成分[J].中国药房,2018,29(1):58-62.

[17] 张向颖,郭媛媛,张莉,等.氧化应激介导糖原合成酶激酶-3 $\beta$ 促进肝细胞凋亡[J].细胞与分子免疫学杂志,2015,31(1):27-31.

[18] 杨娇,杨勇.糖原合成酶激酶-3 $\beta$ 对不同类型肿瘤作用机制[J].医药导报,2018,37(3):273-278.

(收稿日期:2018-10-11 修回日期:2018-12-13)

(编辑:刘 萍)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊,欢迎投稿、订阅