

基于分子对接技术的常用降糖中药有效成分虚拟筛选

林桂源, 姚华聪, 郑细娜, 李晓金, 陈超乐, 赵肃清, 郑杰*
(广东工业大学 轻工化工学院, 广州 510006)

[摘要] **目的:**运用分子对接技术分析常用降糖中药效应物质基础及其作用机制,为降糖中药现代研究提供理论依据。**方法:**基于文献搜集降糖中药化学成分并构建其结构数据库,以二肽基肽酶-IV等7个糖尿病治疗靶标为分子对接的研究对象,通过 Sybyl 软件的 Surflex-Dock 分子对接模块进行虚拟筛选,以打分函数 Total-Score 为标准评价中药成分与靶标间相互作用,以 Total-Score 等于 7 为阈值,筛选出与各靶标结合较好的化学成分,并与已上市降糖西药进行类药性比较。**结果:**与二肽基肽酶-IV,糖原合酶激酶-3,过氧化酶增殖因子活化受体 γ , α -葡萄糖苷酶,葡萄糖激酶,钠-葡萄糖共转运蛋白 2 和血管紧张素转化酶能较好结合的化学成分分别有 52, 28, 32, 150, 47, 41, 33 个。通过虚拟筛选得到的这些小分子化合物与已上市降糖西药具有相似的类药性性质。**结论:**分子对接技术在一定程度上解释了降糖中药的效应物质基础与作用机制,为降糖中药现代研究提供了线索。

[关键词] 糖尿病; 治疗靶标; 降糖中药; 化学成分; 分子对接; 类药性

[中图分类号] R284.1; R587.1; R917 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)15-0202-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015150202

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150610.0939.003.html>

[网络出版时间] 2015-06-10 9:39

Virtual Screening for Effective Components in Commonly Used Anti-diabetic Traditional Chinese Medicines Based on Molecular Docking Technology LIN Gui-yuan, YAO Hua-cong, ZHENG Xi-na, LI Xiao-jin, CHEN Chao-le, ZHAO Su-qing, ZHENG Jie* (School of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze pharmacodynamic material basis and mechanism for commonly used anti-diabetic traditional Chinese medicine by molecular docking technology, in order to provide a theoretical basis for modern studies on anti-diabetic traditional Chinese medicines. **Method:** Chemical components of anti-diabetic traditional Chinese medicines were collected based on literatures to establish the structure database. With seven diabetes therapeutic targets such as dipeptidyl peptidase-IV as the study objects, virtual screening was conducted by the Surflex-Dock module of Sybyl software. With scoring function Total-Score as the standard, interactions between components of traditional Chinese medicine and targets were evaluated. With the Total-Score value at 7, molecules with high score were screened out to further compared with anti-diabetic western medicines in the market in terms of the drug-likeness. **Result:** There were 52, 28, 32, 150, 47, 41 and 33 chemical components well combined with dipeptidyl peptidase-IV, glycogen synthase kinase-3, peroxisome proliferator-activated receptor gamma, alpha-glucosidase, glucokinase, sodium glucose cotransporter 2 and angiotensin converting enzyme. These small molecule compounds obtained by virtual screening were similar to the western medicine in the market in terms of the drug-likeness. **Conclusion:** Molecular docking technology can explain pharmacodynamic material basis and mechanism of anti-diabetic traditional Chinese medicines to some extent and provide clues for modern studies on anti-diabetic traditional Chinese medicines.

[Key words] diabetes; therapeutic target; anti-diabetic traditional Chinese medicine; chemical component; molecular docking; drug likeness

[收稿日期] 20141029(011)

[基金项目] 广东省级大学生创新创业训练计划项目(201411845154);广州市科技计划项目(2013Y2-00081);广东省“千百十”人才项目

[第一作者] 林桂源, 学士, 从事制药工程研究, Tel:13246827732, E-mail:124190735@qq.com

[通讯作者] * 郑杰, 博士, 讲师, 从事天然产物现代研究, Tel:13556054483, E-mail:pharmacy_zhj@foxmail.com

糖尿病是一种常见的代谢性内分泌疾病,是由于胰岛素分泌绝对或相对不足,或靶细胞对胰岛素敏感性降低而引起的以糖代谢紊乱为主^[1],继发脂肪、水、电解质代谢障碍的疾病。如不及时得到有效治疗,会引发多种慢性并发症^[2]。糖尿病常采用胰岛素或口服降糖药物治疗,胰岛素主要用于 1 型糖尿病患者控制血糖;口服降糖西药常用于 2 型糖尿病血糖控制,其起效快、作用强,但缺乏整体的协调性,具有明显不良反应,不利于长期使用。而中医药在防治糖尿病方面已有很长时间的经验积累,中药具有疗效确切、毒性小、作用温和且持久的特点,尤其在防治糖尿病并发症方面,有着西药所不可替代的综合优势^[3-4]。近年来,随着糖尿病现代医学研究的发展,中药及其有效成分降糖作用的研究逐步深入,研究领域已从观察血糖、血清胰岛素、肝糖原含量等常规指标,深入到受体前、受体和受体后信号转导水平,例如提高外周组织胰岛素敏感性、提高胰岛素与受体的亲和力、抑制 α -葡萄糖苷酶活性、延缓肠道对葡萄糖的吸收等方面。但由于某些中药成分复杂,其降糖机制呈现多途径、多靶点,大多药物的研究还都是动物实验,实验模型及技术手段也存在差异,有些药物机制的研究并不明确,还是一种可能性的推断。因此,需着眼于筛选疗效确切稳定、起效快、毒性小、不良反应小、服用剂量小的中药应用于临床,以便更好地发挥中药在治疗糖尿病及其并发症方面所具有的优势^[5]。本文通过分子对接方法,从理论上筛选降糖中药有效成分,为研究降糖中药的效应物质基础及作用机制提供理论依据,对糖尿病治疗新药的研究与开发具有重要意义。

表 1 与靶点对接较好的小分子化合物个数及靶点生物学效应

Table 1 Number of small molecule compounds docking well with targets and biological effects of targets

靶标	靶点生物学效应	PDB 代码	筛选化合物数/个	任选 3 个化合物
DPP-IV	该酶被抑制时可延长胰高血糖素样肽-1 的作用时间,促进胰岛 β 细胞分泌胰岛素、抑制 α 细胞分泌胰高血糖素	4A5S	52	丁香树脂酚、狄利格醇、淫羊藿苷 A1
GSK-3	该酶被抑制时可促使糖原合成及葡萄糖转运,抑制糖异生并促进胰岛素信号转导,促进胰岛素分泌,从而降低血糖	1O6L	28	狄利格醇、海风藤酮、淫羊藿苷 B9
PPAR γ	该酶被激活后通过多种途径改善胰岛素敏感性,进而改善胰岛素抵抗	3U9Q	32	紫丁香苷、牻牛儿醇、益智仁酮甲
α -葡萄糖苷酶	该酶抑制时淀粉水解减慢,肠道糖类吸收减少,从而降低血糖	1LF9	150	狄利格醇、紫丁香苷、益智仁酮甲
GK	该酶参与糖酵解第 1 步反应,促进葡萄糖代谢和胰岛素分泌	4BB9	47	葡萄糖胺、半乳糖醛酸、淫羊藿苷 D3
SGLT2	该酶抑制时肾脏中葡萄糖的重吸收受阻,葡萄糖无法从尿液进入血液	3DH4	41	橄榄(树)脂素、D-甘露糖、淫羊藿苷 D3
ACE	该酶被抑制时可改善机体胰岛素敏感性,减轻胰岛素抵抗,改善胰岛细胞胰岛素的分泌,从而降低血糖	4BZR	33	旌节花甾酮甲,益智仁酮甲,玄参种苷 B

1 资料与方法

1.1 降糖中药化学成分结构库的构建 通过大量降糖中药文献的搜集查阅、整理汇总,目前常用于控制糖尿病患者血糖的中药有丹参、杜仲、枸杞、党参、黄芪等 78 味^[2-4],从上述中药共收集了 2 401 个化学成分,根据类药性 Lipinski 经验规则进行初筛^[6],获得 671 个具有类药性的小分子,建立分子结构库,采用 Sybyl 软件中最陡下降法-共轭梯度法对结构数据库的小分子进行分子力学优化,优化过程采用 Tripos 力场,赋予 Gasteiger-Huckel 电荷,能量收敛到 $0.042 \times 10^{10} \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$,最大迭代数 1×10^6 次,分子力学优化后的结构通过遗传算法进行构象搜寻,选取其低能构象用于进一步的分子对接研究。

1.2 糖尿病治疗靶标的确定及准备 通过 DrugBank 搜集糖尿病治疗靶标^[7],确定二肽基肽酶-IV (dipeptidyl peptidase-IV, DPP-IV),糖原合酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3),过氧化酶增殖因子活化受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ),葡萄糖激酶 (glucokinase, GK),钠-葡萄糖共转运蛋白 2 (sodium-glucose cotransporter 2, SGLT2),血管紧张素转化酶 (angiotensin converting enzyme, ACE) 及 α -葡萄糖苷酶 (alpha-glucosidase) 共 7 个靶标为本文分子对接的研究对象^[8-11],靶标的生物学效应及其 PDB (蛋白质数据库, protein data bank) 代码见表 1,研究靶标的三维结构数据均来源于 PDB 数据库。将靶标晶体结构导入 Sybyl 软件中,去除水分子、加极性氢原子、提取原配体及相应构象优化等准备处理,确定结合位点,为后续分子对接研究做准备^[12]。

1.3 分子对接的计算 采用药物分子设计模拟 Sybyl 软件

的 Surflex-Dock 模块完成分子对接研究^[13]。将小分子结构

数据库中的低能构象与靶标进行柔性对接,对接过程中阈值参数 0.5,膨胀系数 1,其他参数为系统缺省值。利用 Surflex-Dock 分子对接模块的 Total-Score 打分函数对小分子与靶标相互作用进行评分,Total-Score 函数综合考虑了极性作用、疏水作用、焓和溶剂化等因素,该值愈大,对接复合物越稳定,说明小分子化合物与大分子蛋白质的匹配结合作用越好。以 Total-Score 等于 7 为阈值^[14],挑选对接效果好的化合物。

1.4 虚拟筛选化合物与降糖西药的类药性比较 通过计算多种表征分子性质,如相对分子质量、氢键供体等的描述符,将描述符转化为由一系列点构成的多维化学空间,将每个化合物映射到该空间的点上,通过判断不同化合物间两点的距离来比较分子的相似性,在化学空间分布相似的化合物,可能具有相同的作用靶标^[15-16]。同时进行主成分分析,通过计算相关矩阵,对角化得到特征值和特征向量,特征向量矩阵作为一个变阵矩阵变换数据,把最大部分信息带进相关矩阵新成分中的 2 个成分(主成分 1,2)进行作图,进行描述符性质全局比较^[16]。

2 结果

2.1 分子对接评分 将降糖中药的 671 个类药性化合物与 7 个糖尿病治疗靶标进行分子对接虚拟筛选,结果见表 1。通过分子对接研究,DPP-IV 等 7 个靶标蛋白质与多个降糖中药化学成分都有较好的结合作用,同时这些化学成分与多个靶标蛋白质也都有较好的相互作用,说明降糖中药具有多途径、多靶点、多环节等特性。

以 ACE 为例,与其较好结合的化学成分来源于白术、当归、党参、杜仲、甘草、葛根、枸杞子、虎杖、黄芪、蚂蚁、牛膝、胖大海、人参、三七、山药、山楂、山柰、山茱萸、地黄、桃仁、五味子、西洋参、仙茅、玄参、益母草、益智仁、淫羊藿、枳实等,

表 2 表征类药性性质的描述符

Table 2 Descriptors of characterization drug likeness properties

性质	降糖西药分子(52 个)				降糖中药(383 个)			
	平均值	标准差	最小值	最大值	平均值	标准差	最小值	最大值
相对分子质量	404.80	178.13	129.16	1069.22	312.16	88.54	150.13	499.70
脂水分配系数	2.18	3.17	-6.66	12.05	0.88	2.388	-3.99	4.94
氢键供体数/个	3.00	2.84	1.00	14.00	3.38	1.63	0.00	6.00
氢键受体数/个	7.08	4.36	1.00	26.00	6.18	2.32	1.00	10.00
可旋转键数/个	6.87	5.23	1.00	30.29	5.41	2.22	0.00	10.00
原子数/个	55.19	25.32	20.00	143.00	43.01	11.90	20.00	81.00
环数/个	2.94	1.51	0.00	8.00	2.05	1.44	0.00	6.00

2.3 主成分分析 为了更直观地显示出降糖西药和降糖中药化学成分的异同性,对所表征分子类药性性质的有关描述符进行主成分分析,将多维描述符数据映射到二维图上,最后选出的 2 个主成分(主成分 1 和主成分 2)基本包含了全部指标具有的信息,累计贡献率达 80%,见图 2。降糖中药的化学成分前 2 个主成分的二维图具有相似分布性质,说

其中枸杞、人参、山楂、五味子、黄芪、淫羊藿、山药的活性成分对 ACE 有不同程度的抑制作用,以枸杞的抑制作用最强^[17]。对接得分中枸杞多糖得分 8.453 2,与 ACE 具有较强的结合作用,说明虚拟筛选能帮助找到先导化合物。

以 GK 为例,与其较好结合的中药有白僵蚕、白术、百合、苍术、川芎、大黄、当归、党参、地骨皮、杜仲、茯苓、葛根、枸杞子、黄精、黄芪、蚂蚁、麦冬、墨旱莲、牡蛎肉、女贞子、人参、三棱、三七、山药、山茱萸、地黄、桃仁、五味子、淫羊藿共 29 味。五味子已被报道既能促进肝糖原异生,又能促进肝糖原分解,使血糖的利用增加^[18];黄精多糖具有调节糖代谢和治疗实验性糖尿病的作用^[19],淫羊藿治疗糖尿病及其并发症收效甚佳,能够治疗糖尿病骨质疏松疼痛^[20];对接结果中得分最高的是淫羊藿中化学成分,因此通过虚拟筛选得到的化合物可能成为抗糖尿病药物中的重要活性成分。

2.2 类药性分析 根据 Lipinski 规则,口服药物的描述符具有相对分子质量 < 500,脂水分配系数 < 5,氢键供体数 < 5,氢键受体数 < 10 等特点。如果违反过多,则药物的溶解性及肠吸收能力会受到限制。类药性分析结果见表 2。在降糖中药的化学成分中,平均相对分子质量 312.16,脂水分配系数平均值 0.88,氢键供体数目平均值 3.38,氢键受体数目平均值 6.18。由图 1 可知,有 86.54% 的降糖西药相对分子质量在 100 ~ 500,100% 的降糖中药化学成分的相对分子质量在 100 ~ 500;有 84.62% 的降糖西药的脂水分配系数处于 -4 ~ 5,有 100% 的降糖中药化学成分的脂水分配系数处于 -4 ~ 5;有 90.38% 的降糖西药的氢键供体数目 < 5,有 96.61% 的降糖中药化学成分氢键供体数目 < 5;有 82.69% 的降糖西药的氢键受体数目 < 10,有 92.43% 的降糖中药化学成分氢键受体数目 < 10,说明这些降糖中药化学成分大部分未违反 Lipinski 规则,而且具有较好的类药性质。

明其具有良好的多样性;降糖中药和西药在化学空间中交叉分布,二者既具有相似的部分结构,又具有各自的特征成分。说明降糖中药的化学成分既具有与西药分子相似的降糖活性,还具有其他的活性。

3 讨论

临床上绝大多数疾病的病理机制十分复杂,涉及多基

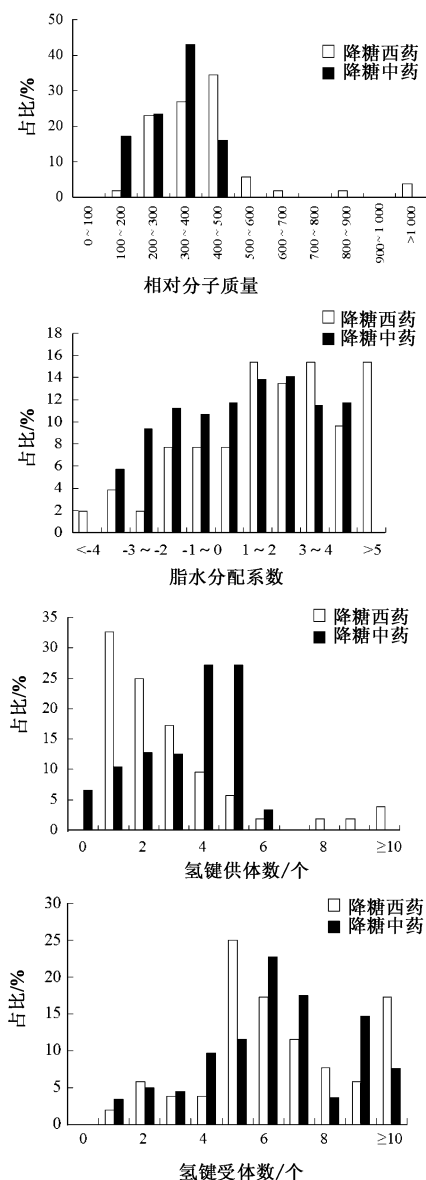


图 1 降糖中药与西药分子类药性性质比较分析
Fig.1 Comparative analysis on drug likeness properties of Chinese and western anti-diabetic medicine molecules

因、多靶点通路和网络调控。既往西药的新药开发基本是基于“一药物、一靶点、一疾病”的药物研发理念,过于强调药物分子靶点的特异性,忽视了人体各系统间存在着相互协调作用。而中医药治疗疾病的原理正是通过多种途径和环节,作用于多个靶点产生整合调节而发挥治疗作用的,是天然的多效药物,对中药现代化研究可能是一条有效的途径。大量研究发现很多中药单体、单味中药、中药有效部位和中药复方制剂对糖尿病具有显著疗效,且副作用小、药源广泛,治疗糖尿病有着独特方法和显著疗效。

计算机辅助药物设计作为一种实用化的工具已介入到药物研究的各种环节,通过模拟药物分子与受体活性位点进行分子对接并评价结合作用的优劣来实现小分子的虚拟筛选及药物分子设计。中药复方是天然组合化学库,是通过多

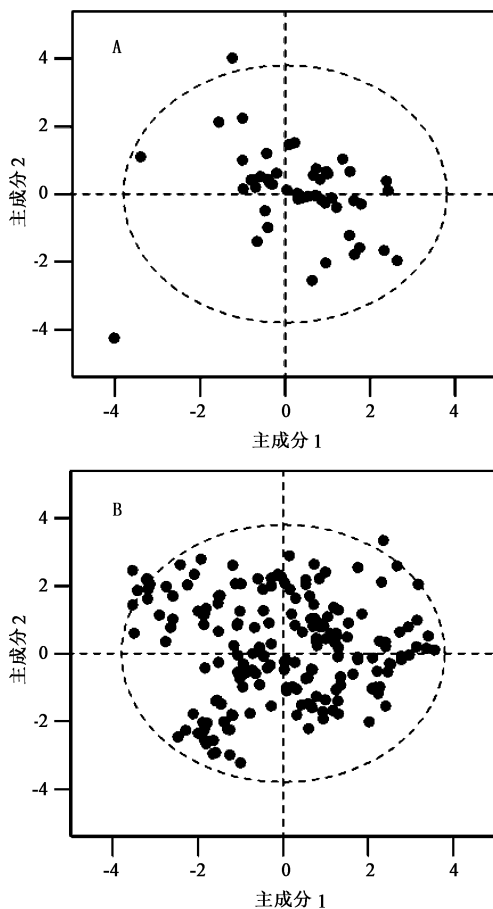


图 2 降糖西药(A)及中药(B)分子类药性性质主成分分析
Fig.2 Principal component analysis on drug likeness properties of Chinese(B) and western(A) anti-diabetic medicine molecules

靶酶、多靶点及多种组分起作用,利用实验室方法分离纯化获得组分已是一个非常艰巨的任务,而研究其作用机制则更加困难。本文利用计算机模拟方法探讨降糖中药可能的作用机制,从中找出与糖尿病治疗靶标有活性作用的中药活性成分,结合复方各药味间存在一定的配伍关系,再进行实验工作,可大大减少人力、物力的投入。

通过虚拟筛选得到的降糖中药活性成分有多糖类(地黄寡糖降糖、黄芪多糖、菟丝子多糖、枸杞多糖、黄精多糖、丹皮多糖、麦冬多糖)、黄酮类(虎杖总黄酮)、皂苷类(罗汉果皂苷、人参皂苷、怀牛膝皂苷元)、生物碱类(黄连碱、莲子心碱),其中一些中药活性成分对糖尿病治疗都有较好的疗效,如山茱萸中的熊果酸、大黄中的大黄素等。降糖中药的作用机制复杂,其主要作用机制可能为①竞争性抑制位于小肠的各种 α -葡萄糖苷酶,使淀粉分解为葡萄糖的速度减慢,从而减缓肠道内葡萄糖的吸收。如五味子中含有 α -葡萄糖苷酶抑制剂, α -葡萄糖苷酶受到抑制时,淀粉水解减慢,肠道糖类吸收减少,从而使血糖降低^[21]。②促进胰岛B细胞分泌胰岛素,抑制胰高血糖素的分泌。如山药多糖能够直接或间接地提高糖代谢或关键酶的活性,并使胰岛素分泌水平恢复性升高,从而起到良好的降低血糖作用^[22]。③通过增加

胰岛素受体数目或提高其亲和力,发挥胰岛素增敏作用。如葛根素能够通过骨骼肌纤维组成成分的变化、增加靶组织葡萄糖转运体4的含量、影响胰岛素受体后信号转导等途径来增加胰岛素敏感性,从而改善2型糖尿病患者的胰岛素抵抗及其密切相关的血脂、纤溶功能异常^[23]。④促进糖原合成,抑制糖原异生,促进葡萄糖代谢等。如黄芪多糖通过增加糖原合成酶活性,增加胰岛素信号蛋白合成量和活性,起到降低血糖作用^[24]。

[参考文献]

[1] 居锡萍. 糖尿病的药物治 疗[J]. 中国医药指南, 2012,10(21):46-49.

[2] 贾安,杨义芳,黄涛,等. 中药及天然药物中抗糖尿病活性成分研究进展[J]. 中药材, 2012, 35(5): 822-826.

[3] 李娜,胡正芳,江振洲,等. 中药抗糖尿病研究进展[J]. 药学与临床研究, 2011,19(4):343-347.

[4] 梁雷,边宝林,王宏洁. 中药降血糖活性成分研究近况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010,16(7):227-230.

[5] 吴建霞,郭利平,王婕. 中药及其有效成分降糖作用机制的研究进展[J]. 吉林中医药, 2010, 30(2): 181-182.

[6] 李红彩. 新药研发中类药性概念应用现状的研究分析[J]. 滨州职业学院学报, 2013,10(3):48-50.

[7] 傅征然,王晓玲. 以 DrugBank 数据库为中心分析药物信息[J]. 药物生物技术, 2011,18(1):70-72.

[8] 王珊珊,王新为,李晓强,等. 2型糖尿病治疗药物作用靶点的研究进展[J]. 药物生物技术, 2013,20(4): 357-360.

[9] 万惠新,沈竞康. 2型糖尿病治疗靶点钠-葡萄糖共转运蛋白2抑制剂研究进展[J]. 药学学报, 2012, 47(6):716-724.

[10] 刘率男,申竹芳. 糖尿病治疗新靶点糖原合成酶激酶-3抑制剂的研究进展[J]. 药学学报, 2007, 42(12): 1227-1231.

[11] 黎克江. 治疗糖尿病热点靶点的研究近况[J]. 中国卫生产业, 2013,10(33):19-20.

[12] Yang N, Wang J, Wang Z W, et al. Computational

insights into the inhibition of inosine 5'-monophosphate dehydrogenase by mycophenolic acid analogs: Three-dimensional quantitative structure-activity relationship and molecular docking studies[J]. Chem Biol Drug Des, 2012,79(6):1063-1071.

[13] 王强,乔梁,马晨,等. 基于人芳香酶的雄甾烷衍生物抗乳腺癌功效关系研究[J]. 中南民族大学学报:自然科学版, 2012,31(4):65-69.

[14] 王海涛,王伟,陈铭,等. 中国毛虾流感病毒神经氨酸酶抑制活性肽的研究[J]. 高等学校化学学报, 2013, 34(11):2540-2545.

[15] Reymond J L, Ruddigkeit L, Blum L C, et al. Chemical space as a source for new drugs[J]. Med Chem Comm, 2010,1(1):30-38.

[16] 郑春松,叶灵芝,许惠凤,等. 从化学空间角度看独活寄生汤治疗骨性关节炎的多靶点作用[J]. 福建中医药大学学报, 2011,21(5):35-37.

[17] 李小多,李学刚,张波,等. 抑制血管紧张素转化酶的中药及活性成分的研究[J]. 食品工业科技, 2013,34(1):49-52.

[18] 韩强. 2型糖尿病的中医药治疗研究概述[J]. 中草药, 2007,38(7):1115-1116.

[19] 李友元,邓洪波,张萍,等. 黄精多糖对糖尿病模型小鼠糖代谢的影响[J]. 中国临床康复, 2005,9(27): 90-91.

[20] 张昆. 淫羊藿和胰岛素在糖尿病骨质疏松治疗中的配伍作用[J]. 中西医结合研究, 2011,3(5):229-231.

[21] 史琳,王志成,冯叙桥. 五味子化学成分及药理作用的研究进展[J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 208-212.

[22] 孙晓生,谢波. 山药药理作用的研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2011,22(3):353-354.

[23] 杜道辉,刘亚明. 葛根有效成分治疗2型糖尿病及其并发症的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(10):2157-2160.

[24] 陈燕瑞,曾以旺,王少平,等. 黄芪中免疫活性成分的不同提取方式比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(16):42-44.

[责任编辑 刘德文]