

桑白皮和桑叶中 α -葡萄糖苷酶抑制剂的虚拟筛选

宋小地^{1*}, 翟西峰², 冯家星², 蒋慧婷², 马佩杰³(1.西安市中心医院药剂科, 西安 710003; 2.西安医学院药学院, 西安 710021; 3.宝鸡市中心医院药剂科, 陕西宝鸡 721008)

中图分类号 R965.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)04-0508-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.04.21

摘要 目的:虚拟筛选中药桑白皮和桑叶中潜在的 α -葡萄糖苷酶抑制活性成分,为发现新型 α -葡萄糖苷酶抑制剂提供参考。方法:应用分子模拟软件Sybyl-x 2.0中的Surflex-Dock模块,将文献已报道过的桑白皮和桑叶活性成分中的小分子化合物作为配体与 α -葡萄糖苷酶进行对接,以结合力评分Total score值为7作为阈值,判断桑白皮和桑叶中潜在的抑制 α -葡萄糖苷酶的活性成分。结果:70个小分子化合物与 α -葡萄糖苷酶进行对接后,其中10个成分显示出具有结合活性(Total score值 ≥ 7.00),其中桑辛素M-3'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、5,7,2'-三羟基二氢黄酮-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、桑皮苷A、白藜芦醇-4,3'-二-O- β -D-吡喃葡萄糖苷以及1,4-二脱氧-1,4-亚氨基-(2-O- β -D-吡喃葡萄糖基)-D-阿拉伯糖醇与 α -葡萄糖苷酶的结合活性较高(Total score值 > 8.00)。结论:桑白皮和桑叶中多种成分均具有潜在 α -葡萄糖苷酶抑制活性。本研究方法可从中药中发现 α -葡萄糖苷酶抑制剂,且具有针对性强、快速、高效的特点。

关键词 桑白皮;桑叶; α -葡萄糖苷酶抑制剂;虚拟筛选;分子对接;结合活性

Virtual Screening of α -glycosidase Inhibitors in *Cortex mori* and *Folium mori*

SONG Xiaodi¹, ZHAI Xifeng², FENG Jiaying², JIANG Huiting², MA Peijie³(1.Dept. of Pharmacy, Xi'an Central Hospital, Xi'an 710003, China; 2.School of Pharmaceutical Science, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, China; 3.Dept. of Pharmacy, Baoji Center Hospital, Shaanxi Baoji 721008, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To virtually screen potential α -glycosidase inhibitor ingredients from *C. mori* and *F. mori*, and to provide reference for finding out new type α -glycosidase inhibitor ingredient. METHODS: Surflex-Dock module of Sybyl-x 2.0 molecular simulation software was used to perform the docking of small molecule compound, which was from the ingredients of *C. mori*

1321-1329.

- [5] 张慧,黄立中,田莎,等.构建食管癌移植瘤模型及不同剂量六神丸干预后的微血管密度的变化[J].中国组织工程研究,2015,19(5):776-771.
- [6] 冯立宁,武智聪,何萍,等.3种食管癌术后辅助化疗方案的药物经济学评价[J].中国药房,2015,26(14):1887-1889.
- [7] 李佳,林德安,刘志明.尼美舒利对人胰腺癌PANC-1细胞生长及细胞周期分布的影响[J].广西医科大学学报,2013,30(1):27-30.
- [8] 郎哲,陈刚,王东昌.尼美舒利联合奥沙利铂对人肺癌裸鼠移植瘤生长及淋巴转移的抑制作用[J].中华肿瘤杂志,2015,34(10):739-744.
- [9] Oyama K, Fujimura T, Ninomiya I, et al. Cyclooxygenase (COX)-2 expression in a rat duodenoesophageal reflux model and chemoprevention of adenocarcinoma by the selective COX-2 inhibitor nimesulide[J]. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi*, 2007, 104(8): 1183-1191.
- [10] Sakurai T, Okumura H, Matsumoto M, et al. Endoglin (CD105) is a useful marker for evaluating microvessel

density and predicting prognosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(7): 3431-3438.

- [11] Hong YM, Gan WG, Xu ZH. Significance of the expression of integrin $\beta 1$, VEGF and MVD in hypopharyngeal squamous cell carcinoma[J]. *Genet Mol Res*, 2014, 13(3): 6455-6465.
- [12] 陈浩林,秦雪晴,何家杰,等. PTEN、血管内皮生长因子和微血管密度在大肠癌组织中的表达及其临床意义[J].海南医学院学报,2013,19(10):1393-1395.
- [13] 陶识博,张蕾,张云汉,等.食管鳞癌中MTA1、MMP-P和MVD的表达及其临床病理意义[J].河南大学学报(医学版),2010,29(1):29-33.
- [14] Nozaki Y, Nishida T, Hori Y, et al. Chemoradiotherapy is effective for primary esophageal adenosquamous cell carcinoma but ineffective for the metastatic adenocarcinoma component[J]. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi*, 2015, 112(2): 278-286.
- [15] 张伟,于在诚.食管癌患者不同术式围手术期细胞免疫与体液免疫的监测分析[J].广东医学,2015,36(10):1545-1547.

* 副主任药师。研究方向:医院药学。E-mail: xaszxyysxd@163.com

(收稿日期:2016-06-21 修回日期:2016-10-24)
(编辑:邹丽娟)

and *F. mori* as ligand stated in literatures, with α -glycosidase. Total score of affinity scoring function was equal to 7 as the threshold value, to judge potential α -glycosidase inhibitor ingredient in *C. mori* and *F. mori*. RESULTS: After 70 small molecule compounds docked with α -glycosidase, 10 compounds showed binding activity (Total score ≥ 7.00). Among them, moracin M-3'-*O*- β -*D*-glucopyranoside, 5, 7, 2'-trihydroxyflavanone-4'-*O*- β -*D*-glucoside, mulberroside A, resveratrol-4, 3'-di-*O*- β -*D*-glucopyranoside and 1,4-dideoxy-1,4-imino-(2-*O*- β -*D*-glucopyranosyl)-*D*-arabinitol had higher binding activity with α -glycosidase (Total score > 8.00). CONCLUSIONS: Multi-constituents of *C. mori* and *F. mori* show potential α -glycosidase inhibitory activity. The method is a kind of highly targeted, rapid and efficient approach to discover α -glycosidase inhibitor from traditional Chinese medicine.

KEYWORDS *Cortex mori*; *Folium mori*; α -glycosidase inhibitor; Virtual screening; Molecular docking; Binding activity

桑白皮(*Cortex mori*)为桑科植物桑(*Morus alba* L.)的干燥根皮,有泻肺平喘、利水消肿等功效,用于治疗肺热喘咳、水肿胀满尿少、面目肌肤浮肿等^[1-2]。桑叶(*Folium mori*)为桑科植物桑的干燥叶,有疏散风热、清肺润燥、清肝明目等功效,用于治疗风热感冒、肺热燥咳、头晕头痛、目赤昏花等^[1]。通过近20年的研究证明,桑属植物的根皮及干燥叶主要含黄酮及其苷类、香豆素类、生物碱、二苯乙烯类、苯骈呋喃类、甾类、萜醌及萜类等多种成分^[3-6]。药理研究表明,桑白皮及桑叶具有良好的降血糖活性^[2-3],可抑制 α -葡萄糖苷酶^[4],延缓肠道碳水化合物的吸收;可抑制蔗糖酶活性,阻碍肠道对葡萄糖的吸收^[5,7-9];对四氧嘧啶诱发的高血糖有降血糖效果^[5,6,8,10]。然而,桑白皮和桑叶抑制 α -葡萄糖苷酶的活性成分尚不清楚。本研究应用分子模拟软件 Sybyl-x 2.0 中的 Surflex-Dock 模块^[13-15],以桑白皮和桑叶中已分离得到的小分子化合物作为配体,与生物大分子 α -葡萄糖苷酶进行对接,根据其结合能力,分析桑白皮和桑叶中潜在的抑制 α -葡萄糖苷酶的活性成分,为进一步开发桑白皮与桑叶、发现新型 α -葡萄糖苷酶抑制剂提供参考。

1 材料

Sybyl-x 2.0 药物设计与筛选软件(美国切尔特拉公司)。

2 方法

2.1 蛋白质结构准备

从蛋白质数据库中(<http://www.rcsb.org/pdb>)下载结合有阿卡波糖的 α -葡萄糖苷酶(蛋白质编号 PDB ID 3W37)的晶体结构,利用 Sybyl-x 2.0 软件对其进行结构处理。提取复合物中原配体阿卡波糖(命名为 3W37_ligand.mol2),确定结合位点,除去蛋白质中的水及其他配体,为蛋白质加氢、加电荷,配体模式(Ligand mode)用于设定对接口袋,保存为 SFXC 格式作为对接文件,为后续分子对接做准备。

2.2 小分子结构准备

国内外文献报道,桑白皮与桑叶中主要活性成分约有 70 个^[3-6],从 PubChem 化合物数据库(<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)下载这些小分子化学成分,部分小分子化合物立体结构用 Sybyl-x 2.0 软件中的化学结构绘制

功能进行绘制,并利用软件对其进行加 Gasteiger-huckel 电荷、加 Tripos 力场和能量最小化,进一步用软件设定,保存为 SYBYL_mol2 格式文件用于对接。

2.3 验证操作和指标

为验证对接的可靠性,将原配体抽离出来再重新对接到复合物的活性口袋;为评价受体与配体的结合能力及选择合适的对接方法,运用 Surflex-Dock 模块将目前临床常用的 α -葡萄糖苷酶抑制剂阿卡波糖、米格列醇、伏格列波糖分别与 α -葡萄糖苷酶(3W37)对接。以对接结合力评分 Total score 值等于 7 为阈值,Total score 大于 7 以上者认为结合活性较好,对接结果没有任何输出或为负值者认为无结合活性。

2.4 对接

打开 Surflex-Dock 模块界面,读入之前准备好的结合口袋 SFXC 格式文件,设置配体文件为 mol2 后读入已准备的配体库,选择之前提出的 3W37_ligand.mol2 作为参比配体,配体模式用于对接小分子化合物到受体的活性口袋。对接过程中阈值参数为 0.5,膨胀系数为 1,其他参数为系统缺省值。Surflex-Dock 模块采用经验打分函数和专利搜索引擎,得到每个化合物与 α -葡萄糖苷酶的 Total score 值。Total score 值综合考虑了极性作用、疏水作用、焓和溶剂化等因素,Total score 值越大,表明配体与受体结合力越强、结合活性越高。

3 结果

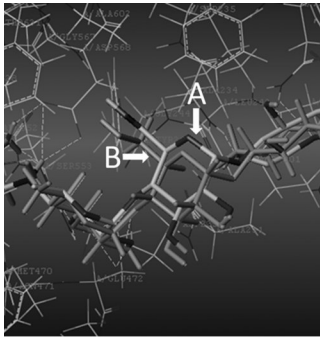
3.1 可靠性验证结果

重新对接的配体与原受体结晶中的配体几乎在同一位置,且 Total score 值为 11.45,得分较高,表明所选用的蛋白结构及对接方法可靠,可用于虚拟筛选。重新对接的配体(A)与原受体结晶中的配体(B)结构比较见图 1,对接结果见表 1。

由表 1 可见,3 种药物与 α -葡萄糖苷酶的 Total score 值均在 6 分以上。

3.2 分子对接结果

在桑白皮和桑叶中,已报道的有 80 多种小分子化合物^[3-4,6,8-10,12]。这些化合物中,除一些直链脂肪酸类化合物外,对其中的 70 个小分子化合物与 α -葡萄糖苷酶进行对接,其对接结果见表 2。



A.重新对接的配体
B.原受体结晶中的配体

图1 重新对接的配体与原受体结晶中的配体结构比较
Fig 1 Comparison of the structure between re-docked ligand and original receptor crystal ligand

表1 阿卡波糖、米格列醇、伏格列波糖与 α -葡萄糖苷酶的对接结果

Tab 1 Docking results of acarbose, miglitol and voglibose with α -glycosidase

序号	中文名称	英文名称	Total score值
1	阿卡波糖	Acarbose	11.45
2	米格列醇	Miglitol	6.17
3	伏格列波糖	Voglibose	6.49

表2 桑白皮与桑叶中的小分子化合物与 α -葡萄糖苷酶的对接结果

Tab 2 Docking results of small molecule in *C. mori* and *F. mori* with α -glycosidase

类型	编号	中文名称	英文名称	Total score值
黄酮类	1	桑酮G	Kuwanon G	0.48
	2	桑酮C	Kuwanon C	2.24
	3	桑酮J	Kuwanon J	4.56
	4	桑酮S	Kuwanon S	5.44
	5	桑酮T	Kuwanon T	6.12
	6	羟基二氢桑根皮素	Oxydihydromorusin/morusinol	2.43
	7	6,4'-二甲氧基-5,7,3'-三羟基异黄酮	Iristectorigenin A	4.48
	8	7-甲氧基-5,4'-二羟基二氢黄酮醇	7-methoxy-5,4'-dihydroxyflavanonol	4.93
	9	桑根酮C	Sanggenon C	4.93
	10	5,7-二羟基色酮	5,7-dihydroxychromone	4.48
	11	5,7,2'-三羟基二氢黄酮4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	Steppogenin-4'-O- β -D-glucoside	8.47
	12	异槲皮苷	Isoquercitrin	6.65
	13	桑呋喃F	Mulberrofurin F	4.88
	14		Chalcomoracin	4.18
	15		Morachalcone A	3.58
	16		Morachalcone B	5.70
	17	异补骨脂查耳酮	Isobavachalcone	4.80
18	去甲木菠萝黄酮	Norartocarpetin	4.48	
19	黄芪苷	Astragaln	7.68	
20	长寿花糖苷II	Roseoside II	6.43	
21	苜蓿- α -D-葡萄糖苷	Benzyl- α -D-glucopyranoside	7.49	
22	8-异戊烯基-7,2'-二羟基-4'-甲氧基黄酮	8-isopentenyl-7,2'-dihydroxy-4'-Methoxyflavan	3.94	
23		Brosimine B	4.67	
香豆素类	24	东莨菪内酯	Scopoletin	3.01
	25	东莨菪苷	Scopolin	5.74
香豆素类	26	茵芋苷	Skimmin	6.85
	27	7-羟基香豆素	7-hydroxycoumarin	3.45
	28	秦皮甲素	Esculin	6.84

续表2

Continued tab 2

类型	编号	中文名称	英文名称	Total score值	
芳香杂环类	29	5,7-二羟基香豆素-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	5,7-dihydro-xycoumarin-7-O- β -D-glucopyranoside	6.94	
	30	丁香脂素二葡萄糖苷	Liriodendrin	7.41	
	31	桑辛素C	Moracin C	3.17	
	32	桑辛素M	Moracin M	2.95	
	33	桑辛素O	Moracin O	4.40	
	34	桑辛素M-3'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	Moracin M-3'-O- β -D-glucopyranoside	9.03	
	35	桑辛素M-6,3'-二-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	Moracin M-6,3'-di-O- β -D-glucopyranoside	5.57	
	36	绿花白千层醇	Viridiflorol	2.73	
	37	菖蒲螺烯酮	Acorenone	2.20	
	38	4-(4-乙基环己烷-1-基)-1-环己烯	4-(4-Ethylcyclohexyl)-1-pentyl-1-cyclohexene	5.37	
	39	补身醇	Drimenol	0.79	
	生物碱类	40	1-脱氧野尻霉素	1-deoxyojirin-mycin/DNJ	6.87
		41	N-甲基-1-脱氧野尻霉素	N-methyl-1-deoxyojirimycin	5.69
		42	2-O- α -D-吡喃半乳糖-1-脱氧野尻霉素	2-O- α -D-galactopyranosyl-1-deoxyojirimycin	6.10
		43	荞麦碱	Fagomine	6.33
		44	1,4-二脱氧-1,4-亚氨基-D-阿拉伯糖醇	1,4-dideoxy-1,4-imino-D-arabinitol	6.58
		45	1,4-二脱氧-1,4-亚氨基-(2-O- β -D-吡喃葡萄糖基)-D-阿拉伯糖醇	1,4-dideoxy-1,4-imino-(2-O- β -D-glucopyranosyl)-D-arabinitol	8.41
	46	1 α ,2 β ,3 α ,4 β -四羟基-去甲莨菪烷	1 α ,2 β ,3 α ,4 β -tetrahydroxy-nortropine	5.42	
萜类	47	齐墩果酸	Oleonic acid	-3.25	
	48	熊果酸	Ursolic acid	-7.37	
	49	α -香树脂醇	α -amyrenol	3.71	
	50	3-乙酰基- α -香树脂醇	3-acetyl- α -amyranol	-9.97	
	51	3-乙酰基- β -香树脂醇	3-acetyl- β -amyranol	0.56	
	52	α -香树脂醇乙酸酯	α -amyriacetate	3.16	
	53	桦皮酸	Betulnicacid	-2.93	
	54	熊果烷	Ursane	3.04	
	55	桑皮苷A	Mulberroside A	8.22	
	56	顺-桑皮苷A	Cis-mulberroside A	7.00	
二苯乙烯类	57	氧化白藜芦醇-2-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	Oxyresveratrol-2-O- β -D-glucopyranoside	6.60	
	58	氧化白藜芦醇-3'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	Oxyresveratrol-3'-O- β -D-glucopyranoside	6.99	
	59	白藜芦醇-4,3'-二-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	Resveratrol-4,3'-di-O- β -D-glucopyranoside	8.18	
	60	羟基白藜芦醇	Hydroxyresveratrol	5.02	
甾类	61	β -谷甾醇	β -sitosterol	6.23	
	62	β -胡萝卜苷	β -daucosterol	7.52	
	63	豆甾醇	Stigmasterol	5.86	
其他类	64	香草酸	Vanillic acid	2.96	
	65	香草醛	Vanillin	3.57	
	66	花椒油素	Xanthoxylin	5.36	
	67	大黄素甲醚	Physcion	2.66	
	68	邻苯二甲酸丁二酯	Polybutylenephthalateester	5.38	
	69	3,4-二羟基苯甲酸	Protocatechuic acid	3.50	
	70	桑辛素C	Moracin C	3.17	

将已报道过的桑白皮和桑叶中的主要小分子化合物与 α -葡萄糖苷酶的对接结果进行排序,整理出Total score值 ≥ 7.00 的化合物有10个,这些化合物散布在黄酮类、香豆素类、二苯乙烯类、甾类等化学结构类型中,但均为糖苷类,详见表3。

表3 桑白皮与桑叶中与 α -葡萄糖苷酶结合 Total score 值评分较高的小分子化合物

Tab 3 Small molecule compounds of *C. moro* and *F. moro* with high Total score of the docking with α -glycosidase

编号	中文名称	Total score值
34	桑辛素 M-3'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	9.03
11	5,7,2'-三羟基二氢黄酮-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	8.47
45	1,4-二脱氧-1,4-亚氨基-(2-O- β -D-吡喃葡萄糖基)-D-阿拉伯糖醇	8.41
55	桑皮苷 A	8.22
59	白藜芦醇-4,3'-二-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	8.18
19	黄芪苷	7.68
62	β -胡萝卜素	7.52
21	苜蓿素- α -D-吡喃葡萄糖苷	7.49
30	丁香脂素二葡萄糖苷	7.41
56	顺-桑皮苷 A	7.00

4 讨论

α -葡萄糖苷酶抑制剂通过可逆性地抑制肠道内的 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶,延缓多糖分解为单糖的过程,从而减慢葡萄糖的吸收速度,降低餐后血糖^[16-17]。 α -葡萄糖苷酶抑制剂类药物临床疗效肯定、副作用小,为治疗糖尿病的一线药物。采用 Sybyl-2.0 软件中的 Surflex-Dock 模块,将桑白皮和桑叶中已报道的主要小分子化合物与 α -葡萄糖苷酶的对接结果进行排序,整理出有潜在结合活性的化合物 10 个 (Total score 值 ≥ 7.00),这些成分可能是桑白皮与桑叶中发挥抑制 α -葡萄糖苷酶作用的主要成分。其中桑辛素 M-3'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、5,7,2'-三羟基二氢黄酮-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、桑皮苷 A、白藜芦醇-4,3'-二-O- β -D-吡喃葡萄糖苷以及 1,4-二脱氧-1,4-亚氨基-(2-O- β -D-吡喃葡萄糖基)-D-阿拉伯糖醇与 α -葡萄糖苷酶的结合活性较高 (Total score 值 > 8.00)。如果对 Total score 值高的成分进一步研究,有望发现新型 α -葡萄糖苷酶抑制剂。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:297-298.
[2] 周德文,李长敏,尹玲豫.桑白皮的药理活性[J].国外医药植物药分册,1997,12(3):115-117.

[3] 王瑾,张会敏,石俊英.桑白皮黄酮类化学成分研究进展[J].齐鲁药事,2012,31(7):420-422.
[4] 吴志平,谈建中,顾振纶.中药桑白皮化学成分及药理活性研究进展[J].中国野生植物资源,2004,23(5):10-16.
[5] 张明发,沈雅琴.桑白皮的药理研究进展[J].上海医药,2006,27(4):164-167.
[6] 李群.桑白皮化学成分、质量控制、药理及炮制研究进展[J].齐鲁药事,2011,30(10):596-602.
[7] 朱自平,张明发,沈雅琴,等.桑白皮的药理作用[J].中国中西医结合杂志,1998,18(6):310-313.
[8] 王芳,励建荣.桑叶的化学成分,生理功能及应用研究进展[J].食品科学,2005,26(增刊):111-117.
[9] 朱业靖,周文.桑叶的化学成分及其药理作用研究[J].菏泽医学专科学校学报,2010,22(4):82-83.
[10] 李明聪,杨丹,郭英,等.桑叶中黄酮类化学成分及药理作用研究进展[J].辽宁中医杂志,2012,39(2):377-380.
[11] 邹盛勤.桑叶的化学成分、药理活性及应用研究进展[J].宜春学院学报(自然科学版),2002,24(4):52-54.
[12] 欧阳臻,陈钧.桑叶的化学成分及其药理作用研究进展[J].江苏大学学报(自然科学版),2003,24(6):39-44.
[13] 林卫东,马文苑,田元新,等.基于分子对接技术探讨葛根改善胰岛素抵抗的物质基础[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(6):194-199.
[14] 林桂源,姚华聪,郑细娜,等.基于分子对接技术的常用降糖中药有效成分虚拟筛选[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(15):202-206.
[15] 邸珂,喻欢欢,邹远军,等.木脂素类化合物中组蛋白去乙酰化酶抑制剂的虚拟筛选[J].中国药房,2016,27(4):494-497.
[16] Kim YM, Wang MH, Rhee HI. A novel α -glucosidase inhibitor from pine bark[J]. *Carbohydrate Research*, 2004, 339(3):715-717.
[17] Puls W. *Pharmacology of glucosidase inhibitors, in oral antidiabetics*[M]. Berlin: Springer, 1996:497-534.

(收稿日期:2016-04-07 修回日期:2016-07-08)

(编辑:刘萍)

《中国药房》杂志——《文摘杂志》(AJ)收录期刊,欢迎投稿、订阅