

基于分子对接技术虚拟筛选葛根治疗缺血性脑卒中的物质基础研究

李克宁^{1,2,3}, 郑惠婷^{1,2,3}, 张雨^{1,2,3}, 李恒^{1,2,3}, 陈磊^{1,2,3}, 王淑美^{1,2,3*}

1. 广东药科大学, 广东 广州 510006

2. 广东高校中药质量工程技术研究中心, 广东 广州 510006

3. 国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点实验室, 广东 广州 510006

摘要: **目的** 在分子对接技术的基础上研究葛根治疗缺血性脑卒中的作用机制。**方法** 采用分子对接技术将筛选出的葛根的活性分子与选取的 21 种缺血性脑卒中关键靶点进行对接, 通过 Cytoscape 3.1.1 软件构建多成分-蛋白靶点网络模型。**结果** 通过分子对接技术虚拟筛选, 葛根中有 28 个活性小分子 (比前期研究增加 12 个), 其中有 11 种成分与 10 个或 10 个以上蛋白靶点有比较强烈的相互作用。**结论** 分子对接技术有助于寻找葛根中治疗缺血性脑卒中的活性成分, 同时也给中药复方的多成分、多靶点研究提供新的参考。

关键词: 葛根; 分子对接; 缺血性脑卒中; 虚拟筛选; 葛根素

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)08-1847-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.08.017

Simulation and prediction of material foundation of *Puerariae Radix* for ischemic stroke based on molecular docking technology

LI Ke-ning^{1,2,3}, ZHENG Hui-ting^{1,2,3}, ZHANG Yu^{1,2,3}, LI Heng^{1,2,3}, CHEN Lei^{1,2,3}, WANG Shu-mei^{1,2,3}

1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Digitalization Quality Evaluation under State Administration of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

3. Research Center for Traditional Chinese Medicine Quality Engineering Technology under Guangdong Universities, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To study the mechanism of *Puerariae Radix* in the treatment of ischemic stroke by using molecular docking technology. **Methods** The small molecules of *Puerariae Radix* based on molecular docking technology docked with 21 key targets protein of cerebral ischemic stroke, and multi-component protein target network was established by Cytoscape 3.1.1 software. **Results** Through virtual screening of molecular docking technology, 28 active small molecules of *Puerariae Radix* were chosen, 12 of which were novel small molecules, and it identified that 11 of those compounds had strong interactions with no less than 10 targets. **Conclusion** The molecular docking can be used to find the active components of *Puerariae Radix* in treatment of cerebral ischemic stroke, which provide a new reference of studying on the multiple ingredients and targets of Chinese materia medica compounds.

Key words: *Puerariae Radix*; molecular docking; cerebral ischemic stroke; virtual screening; puerarin

脑卒中可分为缺血性脑卒中和出血性脑卒中, 缺血性脑卒中占有类型脑卒中的 85%, 发病率高达 8%~10%。缺血性脑卒中的实质是大脑组织细胞在短时间内缺血导致细胞死亡, 造成对大脑组织不可逆的伤害^[1]。葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根, 其化学成分具有降血糖、

抗氧化、促进血液循环、改善微循环、扩张冠状动脉和脑血管等作用, 对缺血性脑卒中具有一定的治疗作用, 但其抗脑缺血损伤作用的物质基础尚不清楚。分子对接技术依据配体与受体作用的“锁-钥原理”(lock and key principle), 主要用于研究蛋白质受体和药物小分子之间通过几何匹配和能量匹配,

收稿日期: 2017-10-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81073024, 81274060)

作者简介: 李克宁 (1993—), 女, 在读硕士研究生, 专业方向为中药质量控制研究。Tel: 15989176616 E-mail: 1440901386@qq.com

*通信作者 王淑美 (1966—), 女, 教授, 主要从事中药质量控制研究。Tel: (020)39352177 E-mail: shmwang@sina.com

从而实现计算机辅助药物筛选的过程, 是一种重要的计算机辅助药物分子设计手段, 可阐明药物的作用机制, 增加药物准确性、灵敏性、特殊性、预测性^[2-3]。故本研究将在前期脑脉通治疗缺血性脑卒中多靶点作用的分子对接研究^[4]基础上, 对葛根抗脑缺血的物质基础进行深入探究, 筛选更多活性小分子, 并构建其多成分-蛋白靶点网络模型, 以阐明中药具备多成分、多靶点的作用特点。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究所有的工作均在 Microsoft Windows XP

Professional 操作系统中完成, 采用 Chem Bio Office 2008 程序(美国剑桥公司)中的 Chem Bio Draw 模块、Open Babel-2.3.2、Sybyl-X7.3(美国 Tripos 公司)中的 Surflex-Dock 模块和 Cyto-scape 3.1.1^[1]。

1.2 缺血性脑卒中蛋白靶点的获取

通过查阅大量关于缺血性脑卒中的国内外文献, 结合临床药理实验, 并通过搜索 RCSB 的蛋白质 PDB 结构数据库^[5-6], 选取与缺血性脑卒中有关的 21 个重要靶点所对应的关键蛋白, 得到其 3D 晶体结构及其活性配体结构, 见表 1。

表 1 缺血性脑卒中相关蛋白靶点

Table 1 Protein targets related to cerebral ischemic stroke

蛋白靶点	PDB 编号	蛋白靶点	PDB 编号
血管内皮生长因子受体 (VEGFR)	1VR2	超氧化物歧化酶 (SOD)	2V0A
半胱天冬酶 (Caspase-3)	2CNK	热休克蛋白基因 70 (HSP70)	3D2F
抗凋亡蛋白 Bcl-2	1YSW	基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)	1GKC
抗凋亡蛋白 Bcl-xl	2YXJ	基质金属蛋白酶-2 (MMP-2)	1QIB
肿瘤坏死因子- α (TNF- α)	2AZ5	诱导性一氧化氮合酶 (iNOS)	2Y37
白细胞介素-1 β (IL-1 β)	1RWN	白细胞介素-6 (IL-6)	1ALU
细胞间黏附分子-1 (ICAM-1)	1P53	胰岛素样生长因子-2 (IGF-2)	1GPO
血管内皮黏附分子-1 (VCAM-1)	1VSC	前列环素合酶 (PGIS)	3B6H
核转录因子- κ B (NF- κ B)	4G3D	环氧化酶-1 (COX-1)	3N8X
血管生成素受体 (Tie-2)	3L8P	环氧化酶-2 (COX-2)	3NT1
转化生长因子- β (TGF- β)	1PY5		

1.3 葛根所含化学成分收集^[7-8]

从化学专业数据库、《中药原植物化学成分手册》、TCMSP 以及关于葛根的国内外文献调研, 共收集得到葛根中含有的 71 种化学成分。通过 Chem Bio Draw 软件绘制分子结构后, 导入软件 Sybyl-7.3 进行三维结构转换、加氢处理及 Minimize 能量优化, 结果保存为 mol2 文件格式。

1.4 分子对接^[4,8-11]

利用分子对接对葛根作用的靶点进行筛选, 提取靶点蛋白晶体结构的配体以暴露活性位点、除水分子、加氢和除侧链的残基后, 采用 Sybyl-7.3 对接软件的 Surflex-Dock 程序与葛根的活性成分进行对接。将这些分子以默认参数进行分子对接后, 得到每个化合物与 21 个靶点对接后的 Total Score 分值。Surflex-Dock 打分函数是以 $-\log_{10}$ 为单位模拟结合能力, Total Score 值越大, 配体与受体结合越稳定。本研究通过 Total Score 值的高低评价化合物与靶点的结合活性。Total Score ≥ 5.0 可推测葛根活性分子

与其蛋白靶点存在较强的结合活性, Total Score ≥ 7.0 则可推测葛根的活性分子与其蛋白靶点有强烈的结合活性。

1.5 类药性分析^[7]

根据上述筛选出来的葛根化学成分的靶点预测结果, 以靶蛋白复合物中的原配体对接分数为阈值, 打分高于此阈值的成分则认为可能是作用于该靶点的主要成分。但这些成分不一定具有类药性, 必须通过计算分子的类药性质 (ADME/T) 排除不具备类药性质的分子。使用里宾斯基 (Lipinski) 类药性 5 规则对高于阈值的成分进行筛选, 最后获得满足 5 规则的化合物。

1.6 分子-蛋白作用网络的构建

采用 Cytoscape 3.1.1 软件建立多成分-蛋白靶点网络模型, 构建药物-靶点 (drug-target, D-T) 网络, 通过 network analyzer 分析葛根活性分子与靶蛋白的 D-T 网络特征, 如网络度 (degree)、介数 (betweenness), 观察葛根活性成分与靶点的作用情况。

2 结果

2.1 分子对接结果

将 21 个靶点蛋白与处理好的 71 个葛根活性分子进行对接, 结合分子对接和类药性分析, 筛选出 28 个至少高于 1 个靶点的阈值并且符合 Lipinski 类药性 5 规则的分子, 分别是葛根豆雌酚 (GG2)、胡萝卜苷 (GG5)、葛根素芹菜糖苷 (GG12)、3'-羟基葛根素 (GG3)、槲皮素 (GG8)、 β -胡萝卜苷 (GG6)、大豆苷元大豆素 (GG10)、葛根素 (GG4)、异甘草素 (GG16)、豆甾醇 (GG17)、芒柄花苷 (GG14)、大豆苷元-7,4'-二葡萄糖苷 (GG23)、大豆苷 (GG26)、 β -谷甾醇 (GG28)、5-羟基芒柄花苷 (GG32)、3'-甲氧基葛根素 (GG7)、葛根素木糖苷 (GG9)、3'-

甲氧基大豆苷元 (GG19)、芒柄花素 (GG31)、染料木苷 (GG21)、8-C-芹菜糖 (1 $\rightarrow$ 6) 葡萄糖大豆苷元 (GG34)、kuzubutenolide A (GG25)、3-methoxydaidzin (GG27)、acetyl-soyasa-ponin I (GG22)、pueroside B (GG18)、kudzusaponins A2 (GG20)、genistein-8-C-apiosyl (1 $\rightarrow$ 6) glucoside (GG37)、3-hydroxyl-4-O-glucosylpuerarin (GG35), 其中 GG5、GG6、GG10、GG17、GG28、GG7、GG9、GG19、GG31、GG25、GG22、GG35 为新增的 12 种葛根抗脑缺血活性小分子^[4]。这 28 种成分与蛋白靶点都有较好的相互作用, Total Score $\geq$ 5.0, 其中有 11 种成分与 10 个或 10 个以上蛋白靶点有比较强烈的相互作用。结果见表 2。

表 2 葛根虚拟筛选结果

Table 2 Results of virtual screening of *Puerariae Radix*

化合物	Total Score									
	VEGFR	Caspase-3	Bcl-2	Bcl-xl	TNF- α	IL-1 β	ICAM-1	VCAM-1	NF- κ B	Tie-2
GG2	7.244 6	5.089 7	5.771 3	—	7.395 7	5.821 3	—	8.236 4	5.545 9	11.443 0
GG5	7.217 9	—	7.699 8	6.319 6	6.549 6	5.264 5	5.369 3	—	5.386 5	6.894 5
GG12	6.830 9	—	7.566 0	5.348 1	—	—	7.397 0	6.248 0	—	8.711 6
GG3	5.799 8	5.230 7	6.223 4	5.253 1	—	5.010 5	5.772 4	—	—	7.312 2
GG8	5.761 3	—	—	5.043 8	6.006 8	—	5.936 8	—	—	6.161 7
GG6	5.759 4	—	6.620 7	—	6.544 4	—	—	—	—	6.336 3
GG10	5.692 2	—	—	—	—	—	—	—	—	5.580 9
GG4	5.687 6	6.210 8	—	—	5.149 6	5.626 2	6.236 3	—	—	11.341 6
GG16	5.259 4	5.580 4	—	—	—	5.610 9	—	—	—	5.612 6
GG17	5.250 3	—	7.338 7	6.518 9	7.099 3	—	6.141 9	—	6.071 4	7.472 6
GG14	—	—	5.802 1	—	5.682 6	6.216 8	—	5.693 6	—	6.092 8
GG23	—	—	6.982 6	—	—	—	—	—	7.717 1	10.774 3
GG26	—	—	5.807 8	5.714 1	5.411 6	6.166 8	5.392 6	6.916 5	—	7.817 4
GG28	—	—	—	6.081 1	6.677 8	—	—	—	—	—
GG32	—	—	—	—	6.966 8	—	—	—	5.042 7	7.857 4
GG7	—	—	—	—	—	—	5.226 5	—	—	—
GG9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
GG19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
GG31	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
GG21	—	—	—	—	—	—	5.745 6	—	6.049 9	—
GG34	—	—	6.533 9	—	—	—	—	—	6.277 6	10.439 6
GG25	—	—	6.262 0	5.316 6	—	—	—	—	7.310 2	—
GG27	5.831 4	—	5.797 5	—	—	—	—	—	—	—
GG22	8.300 7	—	—	5.299 5	—	—	—	—	—	—
GG18	7.179 2	—	5.424 5	—	—	—	—	—	6.360 6	—
GG20	6.990 2	5.064 8	6.013 0	—	—	—	—	—	—	—
GG37	—	—	5.939 1	6.718 1	—	—	—	—	—	—
GG35	5.073 0	—	6.688 9	—	—	—	—	—	—	7.863 2

续表 2

化合物	Total Score										
	TGF- β	SOD	HSP70	MMP-9	MMP-2	iNOS	IL-6	IGF-2	PGIS	COX-1	COX-2
GG2	7.487 8	5.671 9	8.241 3	5.675 1	7.246 7	7.912 9	—	5.245 7	6.986 3	—	—
GG5	8.388 8	6.259 4	6.029 3	—	5.998 4	8.224 9	—	—	—	—	—
GG12	7.760 9	6.229 3	11.108 7	6.525 2	5.183 5	5.065 1	—	—	—	—	—
GG3	6.450 7	6.163 5	9.612 6	6.663 6	—	—	—	—	6.814 0	—	—
GG8	8.513 6	5.164 5	6.864 8	5.229 8	5.254 2	5.120 0	—	—	—	6.083 8	6.181 6
GG6	6.375 7	—	—	—	—	6.107 0	—	—	7.276 1	—	—
GG10	—	5.051 1	5.958 5	—	—	—	—	—	—	5.202 4	5.724 1
GG4	6.493 0	5.594 7	8.464 0	6.687 7	6.207 6	6.965 1	—	—	7.219 1	—	—
GG16	6.495 0	—	7.732 5	5.349 3	6.126 0	5.673 6	—	—	—	7.014 6	—
GG17	6.803 3	5.208 4	5.693 0	—	—	—	—	—	—	—	—
GG14	5.782 4	5.317 4	7.276 9	8.023 0	5.463 3	6.162 4	—	—	—	—	—
GG23	6.651 3	6.815 3	7.624 7	5.809 4	—	7.210 3	—	—	—	—	—
GG26	5.829 7	—	9.073 9	7.093 2	6.584 2	6.514 4	—	—	7.226 1	—	—
GG28	—	5.125 6	—	—	6.113 5	—	—	—	—	—	—
GG32	5.769 3	5.175 5	7.962 2	—	6.061 8	7.773 1	—	—	7.056 8	—	—
GG7	—	—	—	—	6.010 7	5.708 7	—	—	—	—	—
GG9	5.142 6	—	—	—	—	6.466 2	—	—	—	—	—
GG19	5.901 7	5.296 7	—	—	5.264 3	6.085 3	—	—	—	7.290 6	—
GG31	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6.314 4	5.347 8
GG21	6.369 1	6.660 5	8.390 0	6.257 8	—	6.729 4	5.819 9	—	—	—	—
GG34	7.776 8	6.100 2	11.468 6	8.373 1	6.960 3	—	—	—	6.896 5	—	—
GG25	11.538 0	6.902 6	9.990 1	6.930 4	—	7.075 1	5.042 8	—	—	—	5.164 6
GG27	9.026 2	6.152 6	8.466 4	5.382 8	7.140 6	8.006 3	—	—	7.107 8	—	—
GG22	—	6.071 2	—	7.013 7	6.849 9	—	—	—	—	—	—
GG18	—	5.923 5	8.827 8	7.124 6	6.496 9	6.932 6	—	—	—	—	—
GG20	—	7.005 9	—	—	—	5.781 8	—	—	—	—	—
GG37	—	—	8.806 8	—	—	7.559 3	—	—	—	—	—
GG35	11.678 7	—	7.378 4	—	7.143 3	—	—	—	7.767 2	—	—

“—” Total Score>5

2.2 D-T 网络图构建及结果

将葛根的 28 个活性成分与缺血性脑卒中的 21 个关键蛋白靶点导入 Cytoscape 3.1.1 软件, 建立 D-T 网络图, 结果见表 3、4 和图 1。通过网络分析可知平均

每个化合物对应 10.5 个靶点, 平均每个靶点对应 8.3 个化合物, 体现了葛根改善缺血性脑卒中的作用是多成分、多靶点的特点。结果显示, 葛根中的 28 个活性成分参与调控了与脑卒中相关的 21 个关键蛋白靶点。

表 3 D-T 网络中靶点节点的网络特征

Table 3 Network features of target nodes in D-T network

节点	介数	网络度	节点	介数	网络度	节点	介数	网络度
VEGFR	14	0.035 8	NF- κ B	9	0.012 3	MMP-2	17	0.059 5
Caspase-3	4	0.002 7	Tie-2	16	0.041 0	iNOS	20	0.100 7
Bcl-2	16	0.045 4	TGF- β	20	0.082 5	IL-6	2	0.000 3
Bcl-xl	10	0.021 6	SOD	20	0.088 7	IGF-2	1	0.000 0
TNF- α	10	0.016 7	HSP70	20	0.074 6	PGIS	8	0.010 3
IL-1 β	7	0.004 9	MMP-9	5	0.038 9	COX-1	5	0.004 3
ICAM-1	9	0.014 1	VCAM-1	4	0.001 2	COX-2	4	0.043 0

表 4 D-T 网络中化合物节点的网络特征

Table 4 Network features of compound nodes in D-T network

节点	介数	网络度	节点	介数	网络度	节点	介数	网络度
GG5	13	0.028 6	GG22	5	0.003 1	GG37	4	0.001 9
GG12	12	0.026 6	GG18	8	0.008 1	GG28	4	0.002 1
GG3	12	0.031 7	GG20	5	0.006 0	GG32	8	0.008 2
GG8	13	0.066 6	GG35	6	0.003 5	GG7	4	0.002 6
GG6	7	0.007 5	GG2	15	0.089 0	GG21	8	0.024 1
GG10	6	0.017 9	GG14	11	0.021 4	GG9	2	0.000 2
GG4	12	0.023 6	GG23	9	0.051 7	GG19	5	0.005 6
GG16	10	0.025 7	GG26	13	0.033 7	GG31	1	0.000 0
GG17	10	0.015 3	GG3	9	0.011 4			
GG27	9	0.011 2	GG25	10	0.057 8			

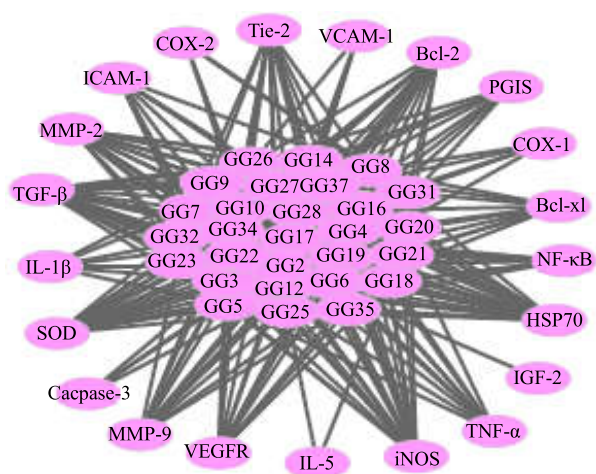


图 1 药物-靶点网络

Fig. 1 Drug-target (D-T) network

3 讨论

综合分析大量的国内外文献，目前，有关缺血性脑卒中的主要病理病机环节有：①兴奋性氨基酸中毒，②钙离子超载，③自由基损伤，④能量代谢障碍和乳酸中毒，⑤炎症级联反应，⑥血脑屏障的破坏，⑦细胞凋亡等^[2]。当缺血性脑卒中发生时，脑内胶质细胞、脑血管内皮细胞、血小板等释放大量的 TNF- α 、IL-1、血小板激活因子等促炎性细胞因子，促炎性细胞因子激活白细胞、内皮细胞后，通过释放蛋白酶和氧自由基，使白细胞和血管内皮细胞表达黏附分子，从而诱导白细胞及血小板等黏附于微血管内，导致血流中断或堵塞。活化后的白细胞在血管内聚集，通过释放蛋白水解酶等，损伤血管内皮，导致血脑屏障破坏和脑水肿发生；活化白细胞还可释放大量的炎性介质，使更多的中性粒

细胞发生聚集、浸润，加重炎症反应。其病理过程分为 3 个时期：从发生脑部血管缺血开始的数小时内称为急性期，数小时至数天称为亚急性期，数天到数月称为慢性期。

笔者通过查阅国内外与缺血性脑卒中相关的文献，获取 21 个关键靶点。通过构建多成分-蛋白靶点网络模型，发现其中 VEGFR、Bcl-2、Bcl-x1、TNF- α 、Tie-2、TGF- β 、SOD、HSP70、MMP-9、MMP-2、iNOS 这几个靶点分别与 10、16、10、10、16、20、20、20、15、17、20 个葛根活性分子具有良好的结合活性，Caspase-3、IL-1 β 、ICAM-1、VCAM-1、NF- κ B、IL-6、IGF-2、PGIS、COX-1、COX-2 这几个靶点分别与 5、7、9、4、9、2、1、9、5、4 个葛根活性分子具有良好的结合活性。

通过分子对接技术，将葛根中 71 种化学成分与缺血性脑卒中有关的 21 个关键靶点蛋白进行对接，并通过类药性分析，新增 12 个葛根抗脑缺血活性小分子，共得出 28 个活性小分子 GG2、GG5、GG12、GG3、GG8、GG6、GG10、GG4、GG16、GG17、GG14、GG23、GG26、GG28、GG32、GG7、GG9、GG19、GG31、GG21、GG34、GG25、GG27、GG22、GG18、GG20、GG37、GG35。葛根素（8- β -D-葡萄糖吡喃糖-4',7-二羟基异黄酮）具有扩张脑血管、增加脑血流量、改善微循环、调节血管内皮细胞功能、抗动脉粥样硬化、抗氧化、清除自由基和抑制缺血再灌注损伤、改善急性血瘀模型大鼠的血液流变性等作用，对脑缺血缺氧具有保护作用。其机制很可能通过诱导细胞表达 HSP70 蛋白、减少细胞凋亡、提高组织对应激的承受力等实现的。3'-甲氧基葛根

素能减轻脂质过氧化反应,降低缺血脑组织中过氧化脂(LPO)、乳酸脱氢酶(LDH)含量,提高体内过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,抑制或减轻脑水肿形成,保护细胞膜功能,减轻缺血损害,对局灶性脑缺血和缺血再灌注损伤具有明显的保护作用^[12]。

大量研究表明,Tie-2 信号通路在脑缺血损伤血管生成过程中起关键作用。脑缺血时梗死灶周围可见新生血管形成,缺血 2~7 d 梗死灶周围可见毛细血管重建,缺血半暗带面积增大,且有薄壁血管形成,缺血 2~28 d 新生血管逐渐发展成小血管,并通过发芽和套叠的方式延伸至缺血中心区,Tie-2 信号通路在此血管生成过程中发挥重要的调节作用。经分子对接结果发现,GG2、GG4、GG23、GG34 与 Tie-2 对接分数为 11.443 0、11.341 6、10.774 3、10.439 6,表明 GG2、GG4、GG23、GG34 与 Tie-2 对接具有强烈的结合活性,据此推测 GG2、GG4、GG23、GG34 很有可能是葛根治疗缺血性脑卒中作用于靶点的有效成分,但是其药效学研究需要进行进一步的考察。

从抑制炎症因子方面目前认为 TGF- β 抵御脑缺血损伤的机制有:①降低细胞内 Ca^{2+} 浓度,保护神经细胞免遭谷氨酸能细胞毒性作用的氧化反应,使缺血半暗带的神经元得以较长久的存活;②TGF- β 是颅脑损伤修复的重要调节因子,它调节小胶质、星形胶质细胞及细胞外基质(ECM)的合成和分泌,促进组织修复;③促进血管增生作用,现认为 TGF- β 是一种血管增生的强力调节剂,能与碱性成纤维生长因子、巨噬细胞等一起诱导血管增生,并有利于转运坏死组织和神经重塑;④抗细胞凋亡,TGF- β 能拮抗 Staurosporine 介导的神经细胞凋亡,也能通过上调 Bcl-2 蛋白的表达,发挥抗神经细胞凋亡的作用。TGF- β 抗凋亡的主要机制可能是通过活化抗凋亡因子 NF- κ B 来发挥作用的;⑤抗炎作用,TGF- β 通过下调炎症递质 TNF- α 及其受体对炎症细胞具趋化作用,对细胞移动、炎症和免疫反应有较明显的调节作用^[13]。经分子对接结果发现,GG25、GG35 与 TGF- β 对接分数为 11.538 0、11.678 7,表明 GG25、GG35 与 TGF- β 对接具有强烈的结合活性,据此推测 GG25、GG35 很有可能是葛根治疗缺血性脑卒中作用于靶点的有效成分,但是其药效学研究仍需要进行进一步的考察。

中枢神经的 HSP70 是抗凋亡蛋白,通过热休克

反应能保护或减轻神经细胞的损伤。其主要功能:直接保护神经元,启动产生其他保护机制;增强神经元对应激原的耐受性;应激状态下维持神经元内蛋白的自稳,结合变性蛋白,防止变性蛋白进一步折叠而失去功能;转运细胞内新合成蛋白质,迅速清除和恢复受损蛋白质,以维持细胞的正常生存;调节神经元细胞周期;充当分子伴侣,参与调节免疫。脑缺血可引起热休克反应,增强 HSP70 表达,阻止神经元开启自杀途径,减轻神经元凋亡^[14]。分子对接结果发现,GG12、GG34 与 HSP70 的对接分数为 11.108 7、11.468 6,据此推测 GG12、GG34 很有可能也是葛根治疗缺血性脑卒中作用于靶点的有效成分,但是其药效学研究也仍需要进行进一步的考察。

因此,将分子对接技术应用于复方效应物质的研究,通过与相关病症关键靶点的模拟筛选,预测有效物质群,更具针对性和准确性,可有效提高物质基础研究效率,同时可构建有效物质群-作用靶点之间的关系。并采用多种药效学评价手段进行验证,可阐释中药复方药效物质基础及其作用靶点,揭示中药复方多成分、多靶点作用的科学本质,提高中药深层次挖掘及创新中药的开发水平与效率。

参考文献

- [1] 宋向岗,周威,陈超,等.基于分子对接方法的川芎治疗脑缺血的物质基础及分子机制研究[J].中国中药杂志,2015,40(11):2195-2198.
- [2] 路丽,关琴笑,田元新,等.基于分子对接技术模拟预测大黄用于缺血性脑中风的物质基础[J].中药材,2015,38(4):781-785.
- [3] 潘婷婷,周植星,韩英梅,等.基于植物成分的蛋白酶激活受体 1 拮抗剂的虚拟筛选和实验筛选[J].中草药,2014,45(10):1427-1433.
- [4] Chen L D, Wang D Y, Cao Y, *et al.* Screening and validation of active ingredients in Sini Decoction by combination method of pharmacophore modeling and molecular docking [J]. *Chin Herb Drugs*, 2016, 8(2): 126-132.
- [5] 邓桂珠,林捷欣,吴纯伟,等.复方脑脉通治疗缺血性脑中风多靶点作用的分子对接[J].中成药,2016,38(8):1673-1678.
- [6] Li H H, Liu T, Xuan H X, *et al.* A combination of pharmacophore modeling, virtual screening, and molecular docking studies for a diverse set of colchicine site inhibitors [J]. *Med Chem Res*, 2014, 23(11): 4713-4723.
- [7] 林卫东,胡靖敏,梁生旺,等.葛根改善胰岛素抵抗的

- 网络药理学研究 [J]. 中药材, 2016, 39(7): 1628-1632.
- [8] Huo X Q, Jiang L D, Chen X, *et al.* A combination of pharmacophore modeling, molecular docking and virtual screening for NPC1L1 receptor inhibitors from Chinese herbs [A] // The 8th International Conference on Systems Biology [C]. Qingdao: Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE), 2014.
- [9] Wang X, Ren Z Z, Xiang Y H, *et al.* Pharmacophore modelling, molecular docking and virtual screening for histamine H1 receptor antagonists from traditional Chinese medicine [J]. *Int J Biosci Biochem Bioinf*, 2013, 3(5): 438-443.
- [10] 吕燕妮, 付龙生, 周 健, 等. 参麦注射液主要成分与卒中关联的网络药理作用机制和实验验证 [J]. 中国药理学通报, 2017, 33(2): 293-294.
- [11] Wang X, Zhang Y L, Xiang Y H, *et al.* Identification of thrombin inhibitors from *Salvia miltiorrhiza* by pharmacophore based virtual screening and molecular docking [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(5): 1227-1231.
- [12] 张义兵, 杜贵友, 熊玉兰, 等. 3'-甲氧基葛根素对大鼠脑缺血保护作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(5): 537-540.
- [13] 张 平, 朱 斌, 李 彤, 等. 葛根素对局灶性脑缺血大鼠转化生长因子 $\beta 1$ 的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2008, 6(3): 297-299.
- [14] 潘洪平, 杨嘉珍, 姜岳明, 等. 葛根素对大鼠急性脑缺血及缺血再灌注损伤后 HSP70 蛋白表达的影响 [J]. 广西医科大学学报, 2005, 22(5): 663-665.