

## 人参皂苷改善胰岛素抵抗的网络药理学

林卫东<sup>1,2,3</sup>, 陈超<sup>1,2,3\*</sup>, 梁生旺<sup>1,2,3</sup>, 田元新<sup>4</sup>, 王淑美<sup>1,2,3\*</sup>

(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; 4. 南方医科大学, 广东 广州 510515)

**摘要:** 目的 采用网络药理学方法探索人参皂苷改善胰岛素抵抗的作用。方法 将19个胰岛素抵抗关键靶点与52种人参皂苷进行分子对接, 再把筛选出来的成分与磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMPK)、过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)、磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K)和c-Jun氨基末端激酶(JNK)信号通路上的31个靶点对接, 并通过Cytoscape 3.2.1软件进行网络分析。结果 17个化合物 protopanaxadiol、protopanaxatriol、notoginsenoside、6'-malonylginsenoside Rd1、gypenoside LXIX、ginsenoside Rh2、ginsenoside Rg1、ginsenoside-Rb2、ginsenoside-Rc 和 ginsenoside Rb3, ginsenoside-Rs2、ginsenoside Rh3、ginsenoside-Ra0、ginsenoside Rf、ginsenoside-Ra1、ginsenoside-Ra2、ginsenoside-Rs1 与4条信号通路的蛋白具有很强的相互作用, 其中前10个成分已有文献验证。结论 后7种人参皂苷成分也可能是改善胰岛素抵抗的靶点。

**关键词:** 网络药理学; 分子对接; 人参皂苷; 网络分析; 胰岛素抵抗

中图分类号: R966

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)07-1455-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.07.004

## Network pharmacology of ginsenosides improving insulin resistance

LIN Wei-dong<sup>1,2,3</sup>, CHEN Chao<sup>1,2,3\*</sup>, LIANG Sheng-wang<sup>1,2,3</sup>, TIAN Yuan-xin<sup>4</sup>, WANG Shu-mei<sup>1,2,3\*</sup>

(1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Engineering and Technology Research Center for Chinese Materia Medica Quality of Universities of Guangdong Province, Guangzhou 510006, China; 3. Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Materia Medica of State Administration of TCM, Guangzhou 510006, China; 4. Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To study the roles of ginsenosides in improving insulin resistance by network pharmacological method. **METHODS** Nineteen key targets related to insulin resistance were molecular-docked with fifty-two ginsenosides, then the selected ginsenosides were taken with thirty-one targets of adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK), peroxisomeproliferator-activated receptor gamma (PPAR), phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) and c-Jun N-terminal kinase (JNK). Meanwhile, the network analysis was carried out by Cytoscape 3.2.1 software. **RESULTS** Seventeen compounds, including protopanaxadiol, protopanaxatriol, notoginsenoside, 6'-malonylginsenoside Rd1, gypenoside LXIX, ginsenoside Rh2, ginsenoside Rg1, ginsenoside-Rb2, ginsenoside-Rc, ginsenoside Rb3, ginsenoside-Rs2, ginsenoside Rh3, ginsenoside-Ra0, ginsenoside Rf, ginsenoside-Ra1, ginsenoside-Ra2 and ginsenoside-Rs1 had close interactions with the proteins of four signaling pathways. The former ten ginsenosides had been confirmed by literature. **CONCLUSION** The latter seven ginsenosides may also be the targets improving insulin resistance.

**KEY WORDS:** network pharmacology; molecular docking; ginsenosides; network analysis; insulin resistance

收稿日期: 2016-01-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(81274059, 81274060, 81473413)

作者简介: 林卫东(1990—), 男, 硕士生, 从事中药质量控制研究。Tel: 18825178400, E-mail: 252075840@qq.com

\* 通信作者: 陈超(1981—), 男, 博士, 副教授, 从事中药质量控制研究。Tel: 13824786579, E-mail: 1048892098@qq.com

王淑美(1966—), 女, 博士, 教授, 从事中药质量控制研究。Tel: (020) 39352559, E-mail: 2395903468@qq.com

过去, 药物研发的主导思想是设计高选择性配体药物, 然而传统的高选择性单靶点药物很难治愈一些复杂疾病。网络药理学作为中药研究的学科前沿, 融合了系统生物学和多向药理学的思想, 它从整体的角度探索药物与疾病的关联性, 强调从药物、靶点与疾病间相互作用的整体性和系统性出发, 反映及阐释中药的多成分-多靶点作用关系<sup>[1]</sup>。糖尿病是目前花费多、负担沉重的慢性病之一, 发病率正在全球范围内迅速增长。糖尿病发展到一定时期, 可出现各种并发症, 从而使患者生活质量下降, 如中风、冠心病、糖尿病足的大血管病变、肾病、眼底病变等<sup>[2]</sup>。因此, 如何治疗和预防糖尿病的发生和发展成为公众瞩目的焦点。糖尿病的主要病理机制是胰岛素抵抗<sup>[3]</sup>, 从糖尿病本身来看, 并不是由单一基因或靶点导致的疾病, 胰岛素抵抗发病机制复杂, 多数具有多基因相关性, 在临床上使用单一靶点的药物并不能实现胰岛素抵抗的有效控制或治愈<sup>[4]</sup>。因此, 进行胰岛素抵抗的网络药理学研究具有重要意义。人参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎。现代医药研究表明, 人参在胰岛素抵抗方面有一定疗效<sup>[5]</sup>, 但其药效物质基础和作用机制尚不明确。本研究从网络药理学出发, 通过对大量中药及上市新药对改善胰岛素抵抗相关文献的检索和梳理, 筛选出4条与胰岛素抵抗相关信号通路, 从系统生物学和网络生物学的角度、在分子网络调控的层面认识人参皂苷改善胰岛素抵抗的多组分、多靶点、多途径的整体性作用机制。

## 1 材料与方法

1.1 材料 本研究应用的软件为 ChemBioOffice 2008 (美国剑桥公司) 中的 ChemBioDraw 模块、Open Babel-2.3.2、Sybyl-7.3 (美国 Tripos 公司) 中的 Surflex-Dock 模块和 Cytoscape 3.2.1。软件运行环境为 Microsoft Windows XP Professional 操作系统。

1.2 人参皂苷所含成分的收集 从化学专业数据库、《中药原植物化学成分手册》、TCMSP 以及人参的国内外文献调研, 共收集得到人参 177 种化学成分, 其中人参皂苷 52 种成分。通过 ChemBioDraw 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。

1.3 配体与关键蛋白对接 通过大量国内外文献调研关于胰岛素抵抗的靶点, 在蛋白质晶体结构数

据库 PDB 搜索过氧化物酶体增植物激活受体  $\gamma$  (peroxisomeproliferator-activated receptor gamma, PPAR $\gamma$ )、c-Jun 氨基末端激酶 1 (c-Jun N-terminal kinase 1, JNK1)、胰岛素受体底物 1 (insulin receptor substrate-1, IRS-1) 等 19 个有复合晶体结构的关键靶点。利用分子对接方法对人参皂苷作用靶点进行筛选, 提取靶点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 程序与人参皂苷成分进行对接。

1.4 分子蛋白及蛋白通路的网络构建 在 KEGG、BioCarta、Drug-Bank 数据库上, 针对胰岛素抵抗的靶蛋白网络, 发现上述靶点集中在磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMPK)、过氧化物酶体增植物激活受体 (PPAR)、磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K) 和 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 4 条信号通路<sup>[6]</sup>。我们把打分高于阈值并且符合类药性的化合物与这 4 条通路中和胰岛素抵抗有关的 31 个靶蛋白进行分子对接, 方法同“2.2”项。为了更加直观和准确地找出具有活性的成分, 明确药物主次靶点, 我们使用构建网络图这一关键技术。我们把对接结果导入 Cytoscape 3.2.1 网络分析软件, 构建 drug-target (D-T) 网络, 通过 network analyzer 分析人参皂苷药物分子与靶蛋白的 D-T 网络特征, 如网络度 (degree)、介数 (betweenness), 观察人参皂苷化合物与靶点的作用情况以及靶点在生物通路中的分布情况。

## 2 结果

2.1 分子对接结果 结合分子对接结果和类药性分析, 本课题组已经筛选出 17 个至少高于一个靶点的阈值的分子, 分别是 protopanaxadiol (RS4)、protopanaxatriol (RS5)、notoginsenoside R6 (RS35)、6'-malonylginsenoside Rd1 (RS41)、ginsenoside Rh3 (RS62)、gypenoside LXIX (RS78)、ginsenoside-Rs2 (RS80)、ginsenoside Rh2 (RS81)、ginsenoside-Rs1 (RS85)、ginsenoside Rg1 (RS160)、ginsenoside-Ra0 (RS168)、ginsenoside Rf (RS170)、ginsenoside-Ra1 (RS171)、ginsenoside-Ra2 (RS172)、ginsenoside-Rb2 (RS174)、ginsenoside-Rc (RS175)、ginsenoside Rb3 (RS176)。

2.2 可靠性验证 从 AMPK、PPAR、PI3K 和 JNK 4 条信号通路上找到 31 个靶蛋白, 要验证复合晶体结构靶点是否可靠, 需要将原配体抽离出来, 然后重新对接回复合物的活性口袋。如果计算得到对

接后配体的构象与原晶体结构中配体构象的均方根偏差 (RMSD) 值小于 2 Å, 证明该对接方法可靠,

见表 1, 表明所选用的蛋白结构都比较可靠, 可用于虚拟筛选。

表 1 蛋白靶点的总分值及 RMSD 值

Tab. 1 Protein targets' total score values and RMSD values

| 靶点                            | 蛋白库编号 | 总分    | 均方根偏差 |
|-------------------------------|-------|-------|-------|
| 过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPARα)       | 1I7G  | 7.61  | 0.62  |
| 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARγ)       | 2PRG  | 7.70  | 0.99  |
| 过氧化物酶体增殖物激活受体 δ (PPARδ)       | 3OZ0  | 9.49  | 1.95  |
| 磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K)             | 4WWP  | 7.06  | 1.09  |
| 蛋白激酶 A (PKA)                  | 3L9L  | 8.17  | 1.51  |
| 蛋白激酶 B (Akt)                  | 4EKL  | 10.08 | 0.30  |
| 肿瘤坏死因子-α (TNF-α)              | 2AZ5  | 6.82  | 0.44  |
| 胰岛素受体底物 1 (IRS1)              | 1K3A  | 8.03  | 1.65  |
| 胰岛素受体底物 2 (IRS2)              | 3BU5  | 10.31 | 1.95  |
| c-Jun 氨基末端激酶 1 (JNK1)         | 4AWI  | 7.79  | 0.95  |
| c-Jun 氨基末端激酶 2 (JNK2)         | 3NPC  | 17.08 | 0.57  |
| c-Jun 氨基末端激酶 3 (JNK3)         | 1PMN  | 9.85  | 0.78  |
| 人雷帕霉素靶蛋白 ( mTOR)              | 4JSX  | 7.26  | 0.31  |
| 胰岛素受体 (INSR)                  | 4IBM  | 5.77  | 0.56  |
| 磷酸腺苷活化蛋白激酶 α (AMPKα)          | 3AQV  | 6.95  | 0.51  |
| 磷酸腺苷活化蛋白激酶 γ (AMPKγ)          | 2UV4  | 7.66  | 1.24  |
| 有丝分裂原活化蛋白激酶 (MAPK)            | 4QNY  | 10.07 | 1.43  |
| 促分裂原活化蛋白激酶 2 (MEK2)           | 1S9I  | 9.53  | 0.91  |
| 细胞外调节蛋白激酶 1 (ERK1)            | 2ZOQ  | 7.89  | 1.01  |
| 细胞外调节蛋白激酶 2 (ERK2)            | 1TVO  | 8.83  | 0.58  |
| p38 丝裂原激活蛋白激酶 (p38MAPK)       | 1KV1  | 9.19  | 0.55  |
| 细胞外调节蛋白激酶 5 (Erk5)            | 4B99  | 8.95  | 1.41  |
| 抑癌基因 (LKB1)                   | 2WTK  | 8.42  | 1.66  |
| 生长因子受体结合蛋白 2 (GRB2)           | 3IN8  | 11.09 | 0.66  |
| 70k 道尔顿核糖体蛋白 S6 激酶 (p70S6K)   | 3A60  | 10.13 | 0.26  |
| 原癌基因丝氨酸/ 苏氨酸蛋白激酶 1Raf1        | 3OMV  | 6.25  | 1.15  |
| B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl2)          | 4AQ3  | 9.79  | 0.66  |
| 血管内皮型细胞一氧化氮合酶 (eNOS)          | 3EAH  | 6.01  | 0.78  |
| KB 抑制蛋白激酶 (IKK)               | 4KIK  | 10.29 | 0.18  |
| 固醇调节元件结合蛋白 (SREBP)            | 4YHC  | 5.17  | 1.46  |
| acetyl-CoA carboxylase (ACC2) | 3GID  | 12.99 | 0.39  |

2.3 网络构建与分析 将这 17 个成分与 AMPK、PPAR、PI3K 和 JNK 4 条信号通路上的靶蛋白进行分子对接, 打分大于 5.0 的认为小分子与靶点可能有较好的活性。人参皂苷只作用于其中 22 个靶点, 结果见表 2。把对接结果导入 Cytoscape 3.2.1 网络分析软件构建药物-靶点网络并进行网络分析, 结果见表 3、表 4 和图 1。通过网络分析可知, 平均每个化合物对应 8.5 个靶点, 平均每个靶点对应 6.6 个化合物, 体现了人参皂苷改善胰岛素抵抗的作用是多成分多靶点的特点。靶点-通路的关系我们也构建网络进行网络可视化 (图 2), 结果显示, 通路之间也是以某种关系联系在一起而不是独立分开的。

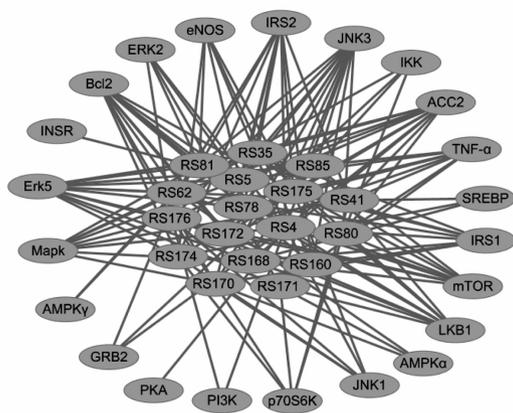


图 1 药物-靶点网络

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

表2 人参皂苷虚拟筛选结果

Tab. 2 Results of virtual screening of ginsenosides

| 化合物   | PPAR $\alpha$ | PPAR $\gamma$ | PPAR $\delta$ | AMPK $\alpha$ | AMPK $\gamma$ | PI3K | PKA  | Akt | SREBP | TNF- $\alpha$ |
|-------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|------|------|-----|-------|---------------|
| RS4   | -             | -             | -             | -             | -             | 5.23 | 5.52 | -   | -     | -             |
| RS5   | -             | -             | -             | -             | -             | -    | -    | -   | -     | 5.87          |
| RS35  | -             | -             | -             | -             | -             | -    | -    | -   | -     | -             |
| RS41  | -             | -             | -             | -             | -             | -    | -    | -   | 6.87  | 5.48          |
| RS62  | -             | -             | -             | 5.23          | 6.80          | -    | -    | -   | -     | -             |
| RS78  | -             | -             | -             | -             | -             | -    | -    | -   | -     | 8.29          |
| RS80  | -             | -             | -             | -             | -             | -    | -    | -   | -     | 7.69          |
| RS81  | -             | -             | -             | -             | 5.52          | -    | -    | -   | -     | -             |
| RS85  | -             | -             | -             | -             | -             | -    | -    | -   | -     | 7.47          |
| RS160 | -             | -             | -             | -             | -             | -    | -    | -   | -     | -             |
| RS168 | -             | -             | -             | -             | -             | -    | -    | -   | 5.24  | -             |
| RS170 | -             | -             | -             | 5.60          | -             | -    | -    | -   | -     | -             |
| RS171 | -             | -             | -             | 6.42          | -             | -    | -    | -   | -     | 7.28          |
| RS172 | -             | -             | -             | -             | -             | -    | -    | -   | -     | 7.66          |
| RS174 | -             | -             | -             | -             | -             | -    | -    | -   | 7.17  | -             |
| RS175 | -             | -             | -             | -             | -             | -    | -    | -   | -     | 6.27          |
| RS176 | -             | -             | -             | -             | -             | 8.42 | -    | -   | -     | -             |

| 化合物   | IRS1 | JNK1 | JNK2 | JNK3 | ACC2  | IRS2  | mTOR | INSR | LKB1  | GRB2 | p70S6K |
|-------|------|------|------|------|-------|-------|------|------|-------|------|--------|
| RS4   | 7.85 | 6.26 | -    | 5.85 | 6.69  | 5.02  | 5.73 | -    | 5.68  | 5.82 | -      |
| RS5   | 5.26 | -    | -    | 6.58 | 7.02  | 6.32  | -    | -    | -     | -    | -      |
| RS35  | 5.18 | -    | -    | 9.75 | 5.60  | 5.01  | 6.77 | -    | 6.99  | -    | -      |
| RS41  | -    | -    | -    | -    | 6.42  | 7.34  | -    | -    | -     | -    | 7.63   |
| RS62  | 6.79 | -    | -    | -    | 7.49  | 6.21  | 6.59 | -    | -     | 5.46 | -      |
| RS78  | -    | -    | -    | 5.45 | -     | 10.18 | 6.39 | -    | 8.47  | -    | -      |
| RS80  | -    | -    | -    | 6.66 | 6.75  | -     | 6.23 | -    | 11.90 | -    | 6.17   |
| RS81  | 5.81 | -    | -    | 8.50 | 6.39  | 7.59  | -    | -    | -     | -    | -      |
| RS85  | -    | -    | -    | -    | 5.58  | -     | 6.81 | -    | 8.35  | 6.60 | -      |
| RS160 | 5.91 | -    | -    | 7.33 | -     | 6.76  | -    | -    | -     | -    | -      |
| RS168 | 8.95 | -    | -    | 8.23 | 6.449 | -     | 5.75 | -    | 5.49  | -    | -      |
| RS170 | 5.01 | 9.00 | -    | 7.69 | -     | 5.53  | -    | -    | -     | -    | -      |
| RS171 | -    | -    | -    | 5.11 | -     | -     | -    | -    | 7.49  | -    | 8.05   |
| RS172 | -    | -    | -    | 7.73 | 6.71  | -     | 5.81 | -    | 9.74  | -    | -      |
| RS174 | -    | 8.44 | -    | -    | 7.87  | 7.66  | -    | -    | -     | -    | 5.47   |
| RS175 | 8.18 | 7.05 | -    | 5.45 | -     | 7.54  | 5.33 | 6.08 | 8.84  | -    | -      |
| RS176 | -    | 8.24 | -    | 5.55 | 8.54  | -     | 7.52 | -    | 5.36  | -    | 6.87   |

| 化合物   | MAPK  | Raf1 | MEK2 | ERK1 | ERK2  | p38MAPK | Erk5  | Bel2  | eNOS | IKK  |
|-------|-------|------|------|------|-------|---------|-------|-------|------|------|
| RS4   | 6.38  | -    | -    | -    | 5.93  | -       | -     | 6.43  | 5.59 | -    |
| RS5   | 7.11  | -    | -    | -    | 7.24  | -       | 5.14  | 5.10  | 6.60 | -    |
| RS35  | 5.10  | -    | -    | -    | -     | -       | 5.05  | -     | -    | -    |
| RS41  | 7.28  | -    | -    | -    | -     | -       | 5.29  | -     | -    | -    |
| RS62  | 7.15  | -    | -    | -    | -     | -       | 7.31  | 5.25  | -    | 6.48 |
| RS78  | -     | -    | -    | -    | -     | -       | 5.04  | 5.77  | -    | -    |
| RS80  | -     | -    | -    | -    | -     | -       | -     | -     | -    | 8.01 |
| RS81  | 6.50  | -    | -    | -    | 6.18  | -       | 5.50  | 5.39  | 7.54 | -    |
| RS85  | -     | -    | -    | -    | -     | -       | 8.42  | -     | -    | -    |
| RS160 | 5.72  | -    | -    | -    | -     | -       | -     | 5.30  | 5.16 | -    |
| RS168 | -     | -    | -    | -    | -     | -       | 7.25  | 10.62 | -    | -    |
| RS170 | 7.50  | -    | -    | -    | -     | -       | -     | 6.34  | -    | -    |
| RS171 | -     | -    | -    | -    | 5.70  | -       | 10.74 | -     | -    | -    |
| RS172 | -     | -    | -    | -    | -     | -       | 7.63  | 5.75  | -    | 5.49 |
| RS174 | -     | -    | -    | -    | -     | -       | 5.67  | 6.28  | 8.18 | -    |
| RS175 | -     | -    | -    | -    | -     | -       | -     | 5.85  | 5.32 | 5.76 |
| RS176 | 10.72 | -    | -    | -    | 10.40 | -       | 6.73  | 5.54  | -    | -    |

表3 D-T网络中化合物节点的网络特征

Tab. 3 Network features of compound nodes in the D-T network

| 节点    | 介数      | 网络度 | 节点    | 介数      | 网络度 | 节点    | 介数      | 网络度 |
|-------|---------|-----|-------|---------|-----|-------|---------|-----|
| RS4   | 0.143 7 | 14  | RS62  | 0.085 7 | 11  | RS175 | 0.095 9 | 11  |
| RS176 | 0.063 5 | 11  | RS81  | 0.048 1 | 10  | RS5   | 0.033 3 | 10  |
| RS174 | 0.036 9 | 8   | RS172 | 0.021 4 | 8   | RS168 | 0.031 6 | 8   |
| RS35  | 0.016 0 | 8   | RS171 | 0.029 9 | 7   | RS41  | 0.028 0 | 7   |
| RS80  | 0.021 1 | 7   | RS170 | 0.021 8 | 7   | RS78  | 0.012 4 | 7   |
| RS160 | 0.007 1 | 6   | RS85  | 0.011 2 | 5   |       |         |     |

表4 D-T网络中靶点节点的网络特征

Tab. 4 Network features of target nodes in the D-T network

| 节点   | 介数      | 网络度 | 节点            | 介数      | 网络度 | 节点            | 介数      | 网络度 |
|------|---------|-----|---------------|---------|-----|---------------|---------|-----|
| JNK3 | 0.077 2 | 13  | IRS1          | 0.032 9 | 9   | SREBP         | 0.002 1 | 3   |
| Erk5 | 0.065 4 | 12  | TNF- $\alpha$ | 0.028 8 | 8   | GRB2          | 0.005 4 | 3   |
| Bcl2 | 0.065 1 | 12  | eNOS          | 0.015 1 | 6   | AMPK $\gamma$ | 0.000 6 | 2   |
| IRS2 | 0.056 5 | 11  | P70S6K        | 0.010 5 | 5   | PI3K          | 0.000 7 | 2   |
| ACC2 | 0.053 1 | 11  | JNK1          | 0.012 6 | 5   | PKA           | 0.000 1 | 1   |
| LKB1 | 0.045 9 | 10  | ERK2          | 0.009 8 | 5   | INSR          | 0.000 1 | 1   |
| mTOR | 0.046 4 | 10  | IKK           | 0.006 4 | 4   |               |         |     |
| MAPK | 0.033 6 | 9   | AMPK $\alpha$ | 0.004 2 | 3   |               |         |     |

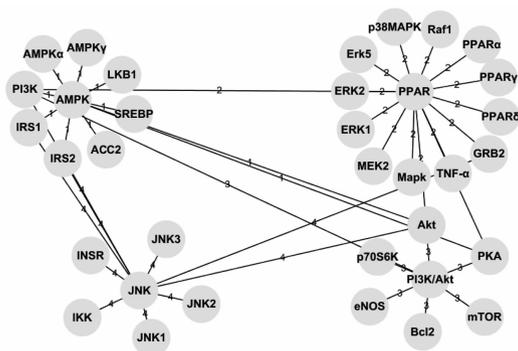


图2 靶点-通路网络

Fig. 2 Target-pathway (T-P) network

### 3 讨论

根据分子对接结果,本课题组已经筛选出17个至少高于一个靶点的阈值的分子,对计算得到的人参皂苷与胰岛素抵抗疾病相关的有效物质进行了文献验证,发现预测出的 protopanaxadiol<sup>[7]</sup>、protopanaxatriol<sup>[8]</sup>、notoginsenoside R6<sup>[9]</sup>、6'-malonylginsenoside Rd1<sup>[10]</sup>、gypenoside LXIX<sup>[11]</sup>、ginsenoside Rh2<sup>[12]</sup>、ginsenoside Rg1<sup>[13]</sup>、ginsenoside-Rb2<sup>[14]</sup>、ginsenoside-Rc<sup>[15]</sup>和 ginsenoside Rb3<sup>[16]</sup>等10个化合物均有相关文献报道,证明了我们研究方法的合理性。而 ginsenoside-Rs2、ginsenoside Rh3、ginsenoside-Ra0、ginsenoside Rf、ginsenoside-Ra1、ginsenoside-Ra2、ginsenoside-Rs1等7个化合物的药效学研究及作用机制有待进一步验证。

磷酸腺苷活化蛋白激酶(adenosine monophos-

phate-activated protein kinase, AMPK)是一种在细胞内调节能量代谢的蛋白激酶,广泛存在于骨骼肌、肝脏、胰腺和脂肪组织中。肝脏和骨骼肌中的甘油三酯过度聚集或游离脂肪酸(FFAs)含有量增多,可以引起或加重胰岛素抵抗<sup>[17]</sup>,AMPK可通过增加脂肪酸氧化、减少甘油三酯的合成而改善胰岛素抵抗。根据对接结果,17个人参皂苷成分都作用于这个通路,说明其可能是人参皂苷改善胰岛素抵抗在AMPK通路的主要有效物质,其药理学研究有待进一步验证。

过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferation activated receptors, PPARs)是20世纪90年代初克隆出来的核受体超家族中的一类受体<sup>[18]</sup>。PPARs存在3种亚型,分别为PPAR $\alpha$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 。PPARs是营养代谢和能量平衡主要的转录调节子。目前,PPARs激动剂已经广泛应用于糖尿病、脂质紊乱、代谢综合征等疾病的临床治疗<sup>[19]</sup>。根据对接结果,筛选出来的17个人参皂苷与这个通路上的12个靶点有7个没有直接作用,说明此通路可能不是人参皂苷改善胰岛素抵抗的主要通路。对接多于6.6个化合物这一平均值的只有TNF- $\alpha$ 和Erk5,分别有8个和12个,说明在这个通路上人参皂苷主要作用于这2个靶点。

PI3K是骨骼肌中胰岛素信号转导途径级联反应中关键蛋白分子之一,其表达异常可影响葡萄糖转运蛋白4(GLUT4)的合成、分泌、移位等变化,从而使血糖升高。PI3K在胰岛素对营养物质

代谢的调控(如提高葡萄糖的转运与合成、脂质代谢)方面起着重要的作用,当胰岛素与胰岛素受体结合造成受体自体磷酸化后,胰岛素受体1(IRS1)便结合到受体磷酸化的酪氨酸残基上,随后PI3K与IRS1结合并磷酸化产生PIP3,PIP3可以激活一连串的细胞反应,将GLUT4转运至细胞膜上,提高葡萄糖的吸收,活化糖原激酶3,增加糖原的合成<sup>[20]</sup>。根据对接结果,17个人参皂苷成分除了6'-malonylginsenoside Rd1外,其他16个都作用于这个通路,说明这16个成分可能是人参皂苷改善胰岛素抵抗在PI3K通路的主要有效物质,其药效学研究有待进一步验证。

JNK是一种重要的蛋白激酶,它可以被TNF- $\alpha$ 、FFAs等多种因素激活。JNK信号通路在胰岛素抵抗形成中起重要作用。由于胰岛素受体第五蛋白分子含有JNK1结合基本序列,增高的JNK1可与IRS1蛋白结合,并诱导IRS1丝氨酸307位点的磷酸化水平增高,抑制IRSs正常的酪氨酸磷酸化,干扰胰岛素信号经胰岛素受体受体/PI3K通路下传至效应器,进而诱发胰岛素抵抗<sup>[21]</sup>。根据对接结果,其中JNK1和IRS1共有的化合物有3个,即protopanaxadiol、ginsenoside Rf和ginsenoside-Rc。说明其可能是人参皂苷改善胰岛素抵抗在JNK通路的主要有效物质,其药效学研究有待进一步验证。

本研究将分子计算、网络分析、文本挖掘等组合起来,从上述4条通路出发,研究与胰岛素抵抗有关的靶点,多靶点、多方位、多层次地对人参皂苷进行网络药理学研究,同时体现了中药多成分、多靶点、协同作用的特点,也给中药复方的药效物质基础分析、作用机制研究提供参考。

**致谢** 本实验受到国家自然科学基金项目(81274059、81274060、81473413)资助。同时,中山大学药学院的罗海彬老师提供了TRIPOS SYBYL-7.3软件,保证本实验的顺利完成。在此一并致以衷心的感谢!

#### 参考文献:

[1] 刘志华,孙晓波. 网络药理学: 中医药现代化的新机遇[J]. 药学学报, 2012, 47(6): 696-703.  
[2] Yoshida S, Hirai M, Suzuki S, et al. Neuropathy is associated with depression independently of health-related quality of life in Japanese patients with diabetes[J]. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2009, 63(1): 65-72.  
[3] King H, Rewers M. Global estimates for prevalence of diabetes

mellitus and impaired glucose tolerance in adults. WHO Ad Hoc Diabetes Reporting Group[J]. *Diabetes Care*, 1993, 16(1): 157-177.  
[4] Zimmermann G R, Lehar J, Keith C T. Multi-target therapeutics; when the whole is greater than the sum of the parts[J]. *Drug Discov Today*, 2007, 12(1-2): 34-42.  
[5] 尚文斌,杨颖,陈名道. 人参及其主要成分抗糖尿病作用机制[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2007, 27(2): 115-117.  
[6] Hu H, Li X S. Networking pathways unveils association between obesity and non-insulin dependent diabetes mellitus[J]. *Pac Symp Biocomput*, 2008, 13(2): 255-266.  
[7] 臧晓峰,谢湘林,吴轶川,等. 西洋参叶20s-原人参二醇组皂苷对糖尿病肾病大鼠肾功能及肾脏结构的保护作用[J]. 吉林大学学报, 2007, 33(5): 845-848.  
[8] Yu J Y, Jin Y R, Lee J J, et al. Antiplatelet and antithrombotic activities of Korean red ginseng[J]. *Arch Pharm Res*, 2006, 29(10): 898-903.  
[9] 贺小琼,张丽芬,陈平,等. 三七提取物防治大鼠高脂血症作用研究[J]. 云南中医中药杂志, 2004, 25(1): 32-33.  
[10] Liu Z, Wang L J, Li X, et al. Hypoglycemic effects of malonyl-ginsenosides extracted from roots of *Panax ginseng* on streptozotocin-induced diabetic mice[J]. *Phytother Res*, 2009, 23(10): 1426-1430.  
[11] 包海花,郭新民,聂影,等. 绞股蓝总皂甙对2型糖尿病大鼠脑神经生长因子基因表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2006, 21(4): 328-329.  
[12] Jantunen E, Kolho E, Ruutu P, et al. Herbal medicines used during the first trimester and major congenital malformations: an analysis of data from a pregnancy cohort study[J]. *Drug Saf*, 2006, 29(6): 537-48.  
[13] 张丽娜,谢席胜,左川,等. 人参皂甙 Rg1 对糖尿病肾病大鼠 TNF- $\alpha$ 、MCP-1 表达的影响[J]. 四川大学学报: 医学版, 2009, 40(3): 466-471.  
[14] Yokozawa T, Kobayashi T, Oura H, et al. Studies on the mechanism of the hypoglycemic activity of ginsenoside-Rb2 in streptozotocin-diabetic rats[J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1985, 33(2): 869-872.  
[15] Lee M S, Hwang J T, Kim S H, et al. Ginsenoside Rc, an active component of *Panax ginseng*, stimulates glucose uptake in C2C12 myotubes through an AMPK-dependent mechanism[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 127(3): 771-776.  
[16] 卜其涛. 人参皂苷 Rb3 的分离及其抗糖尿病和调血脂活性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.  
[17] Bloomgarden Z T. Insulin resistance, dyslipidemia, and cardiovascular disease [J]. *Diabetes Care*, 2007, 30(8): 2164-2170.  
[18] Evans R M, Barish G D, Wang Y X. PPARs and the complex journey to obesity[J]. *Nat Med*, 2004, 10(4): 355-361.  
[19] Ferre P. The biology of peroxisome proliferator-activated receptors; relationship with lipid metabolism and insulin sensitivity

- [J]. *Diabetes*, 2004, 53(Suppl 1): S43-S50.
- [20] Wu W L, Gan W H, Tong M L, *et al.* Over-expression of NYGGF4 (PID1) inhibits glucose transport in skeletal myotubes by blocking the IRS1/PI3K/AKT insulin pathway [J]. *Mol Genet Metab*, 2011, 102(3): 374-377.
- [21] Park Y J, Ahn H J, Chang H K, *et al.* The RhoGDI-alpha/JNK signaling pathway plays a significant role in mycophenolic acid-induced apoptosis in an insulin-secreting cell line[J]. *Cell Signal*, 2009, 21(2): 356-364.

## 藏药佐太在两种抑郁小鼠模型中的抗抑郁活性

赵 静<sup>1,2,3</sup>, 张 明<sup>1,2,3</sup>, 耿卢婧<sup>1,2,3</sup>, 李 岑<sup>1,2</sup>, 杜玉枝<sup>1,2</sup>, 魏立新<sup>1,2\*</sup>

(1. 中国科学院藏药研究重点实验室, 青海 西宁 810001; 2. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海省藏药药理学和安全性评价研究重点实验室, 青海 西宁 810001; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 目的 通过行为绝望模型—悬尾实验 (TST)、不可预测性慢性温和应激 (CUMS) 模型, 探索藏药佐太 (硫化汞、硫磺等煅制品的混合物) 的抗抑郁作用。方法 行为绝望模型—悬尾实验中, KM 小鼠给予佐太 14 d 后, 通过测定悬尾实验不动时间、开场实验 (OFT)、血清中皮质酮 (CORT) 变化, 评价佐太的抗抑郁活性。构建 CUMS 模型 KM 小鼠, 给予佐太 42 d, 通过糖水偏好实验、开场实验和强迫游泳实验, 进一步评价佐太的抗抑郁作用。通过 ELISA 法测定小鼠血清中 5-羟色胺 (5-HT)、去甲肾上腺素 (NE) 和海马中脑源性神经营养因子 (BDNF) 的水平。结果 行为绝望模型—悬尾实验中, 与空白组相比, 佐太在剂量为 60.697、303.49 mg/kg 时能显著降低小鼠悬尾不动时间和血清中 CORT 水平。CUMS 模型实验中, 与 CUMS 模型组相比, 佐太在剂量为 6.069 7、60.697、606.97 mg/kg 时, 均可显著提高受试小鼠的糖水偏好率、开场实验中的自主活动, 同时可显著降低强迫游泳实验 (CFST) 中的不动时间, 表明佐太能缓解慢性应激引起的抑郁样行为。另外, 佐太在上述 3 个剂量下, 可显著增加 CUMS 模型小鼠血清中 NE 和海马中 BDNF 的水平, 并在剂量为 6.069 7、60.697 mg/kg 下, 可显著增加 CUMS 模型小鼠血清中 5-HT 的水平。结论 藏药佐太在行为绝望模型和 CUMS 模型小鼠中表现出一定的抗抑郁活性, 可能是通过降低 CORT, 提高 5-HT、NE、BDNF 的水平而发挥作用。

**关键词:** 佐太; 抗抑郁; 悬尾实验; CUMS 模型; 皮质酮; 5-羟色胺; 去甲肾上腺素; 脑源性神经营养因子

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)07-1461-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.07.005

## Antidepressant activities of Tibetan medicine Zuotai in two mouse depression models

ZHAO Jing<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Ming<sup>1,2,3</sup>, GENG Lu-jing<sup>1,2,3</sup>, LI Cen<sup>1,2</sup>, DU Yu-zhi<sup>1,2</sup>, WEI Li-xin<sup>1,2\*</sup>

(1. Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 2. Qinghai Provincial Key Laboratory of Tibetan Medicine Pharmacology and Safety Evaluation; Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To use behavioral despair-tail suspension test (TST) model and chronic unpredictable mild stress (CUMS) model to evaluate the antidepressant activity of Tibetan medicine Zuotai (a mixture of HgS, sulfur, etc.). **METHODS** In 14-day treatment with Zuotai, the immobility time in TST, open field test (OFT) and serum corticosterone (CORT) level in KM mice in TST as behavioral despair model were measured to estimate the an-

收稿日期: 2015-10-30

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81374063); 青海省重点实验室发展专项 (2014-Z-Y02); 中国科学院“西部之光”重点项目 (Y529021211)

作者简介: 赵 静 (1990—), 女, 硕士生, 研究方向为藏药药理学。Tel: (0971) 6143765, E-mail: zhaojing240026@163.com

\* 通信作者: 魏立新 (1967—), 男, 研究员, 研究方向为藏药药理学。Tel: (0971) 6143668, E-mail: lxwei@nwipb.cas.cn