

复方脑脉通治疗缺血性脑中风多靶点作用的分子对接

邓桂珠， 林捷欣， 吴纯伟， 陈 超， 王淑美*
(1. 广东药学院中药学院, 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 复方脑脉通用于治疗缺血性脑中风具有重要的意义，在分子对接的基础上筛选复方脑脉通的活性成分并阐明其作用机制。**方法** 将缺血性脑中风的 21 个关键蛋白靶点与筛选得到的 278 个复方脑脉通活性分子进行对接。并将具有 10 个或 10 个以上靶点的活性分子通过 Cytoscape 3. 1. 1 软件建立成分-靶点网络模型进行网络分析。**结果** 脑缺血关键蛋白靶点对接得分大于 5. 0 的活性分子中，川芎有 19 个，大黄有 19 个，葛根有 16 个，人参有 4 个。**结论** 经过分子对接技术筛选得到的 58 个活性小分子，仍然需要经过传统的药理学实验进行验证。

关键词：复方脑脉通；分子对接；多靶点；缺血性脑中风
中图分类号：R285. 5 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2016)08-1673-06
doi:10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2016. 08. 003

Molecular docking in Naomaitong Formula preparations multi-target effect on ischemic stroke

DENG Gui-zhu, LIN Jie-xin, WU Chun-wei, CHEN Chao, WANG Shu-mei*
(1. College of TCM, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Engineering & Technology Research Center for Chinese Material Medical Quality of the Universities of Guangdong Province, Guangzhou 510006, China; 3. Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Material Medical of State Administration of TCM, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT: **AIM** Naomaitong Formula is important for the treatment of ischemic stroke. Molecular docking technology is used to screen active small molecules and to analyze the mechanism of action of Naomaitong Formula. **METHODS** Twenty-one key targets proteins related with cerebral ischemia were docked with 278 active compounds of Naomaitong Formula identified through screening. Meanwhile, multi-component protein target network was established by software Cytoscape 3. 1. 1 to analyze the active molecules with ten or more targets. **RESULTS** Among 58 active molecules identified in this study with very strong interactions (scoring higher than 5. 0), *Chuanxiong Rhizoma*, *Rhei Radix et Rhizoma*, *Puerariae lobatae Radix* and *Ginseng Radix et Rhizoma* have nineteen, nineteen, sixteen, four active molecules, respectively. **CONCLUSION** The method of virtual screening based on molecular docking can be used to find active components of Naomaitong Formula in the treatment of cerebral ischemia. Identified molecules still need to be confirmed by traditional methods. **KEY WORDS:** Naomaitong Formula; molecular docking; multi-target; ischemic stroke

分子对接方法（molecular docking method）是从已知结构的受体（靶蛋白或活性位点）和配体出发，通过化学计量学方法模拟分子的几何结构和作用力来进行分子间相互作用识别并预测受体—配体复合物结构的方法^[1]。它已被广泛应用于药物设计领域，推动了药理实验研究的进展。

脑中风是严重危害人类健康和生命安全的常见难治性疾病，发病率高、致残率高、死亡率高，跃居全球第三^[2]。脑中风可分为缺血性脑中风和出血性脑中风，其中缺血性脑中风占有所有中风的

收稿日期：2016-02-02
基金项目：国家自然科学基金项目（81473413，81274060）
作者简介：邓桂珠（1990—），女，硕士生，从事中药质量控制研究。Tel: 15915761496，E-mail: 876456340@qq.com
* 通信作者：王淑美（1966—），女，博士，教授，从事中药质量控制研究。Tel: (020) 39352559，E-mail: shmwang@sina.com

87%^[3]，缺血性脑中风是由于脑动脉管腔狭窄或堵塞，脑局部血流量突然减少或中断，使得该动脉供应区域的血液、氧气和能量减少，进而引发继发性的血管内皮破坏以及神经功能损害的病理状态^[4]。缺血性脑中风已经日趋年轻化^[5]。复方脑脉通主要由大黄、人参、川芎和葛根组成，具有解毒降浊、益气活血的作用，对脑缺血再灌注损伤有明显的保护作用^[6]。然而复方脑脉通治疗缺血性脑中风的活性分子及其作用机制仍然处于模糊状态。本实验运用分子对接技术筛选复方脑脉通中人参、葛根、大黄及川芎 4 味中药用于缺血性脑中风的活性分子，并构建多成分-蛋白靶点网路模型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 本次研究所有的工作都是在 Microsoft Windows XP Professional 操作系统中完成，采用的程序是 ChemBioOffice2008（美国剑桥公司）中的 ChemBioDraw 模块、Open Babel-2.3.2、Sybyl-X7.3（美国 Tripos 公司）中的 Surflex-Dock 模块和 Cytoscape 3.1.1。

1.2 复方脑脉通所含成分的收集 从《中药原植物化学成分手册》、化合物数据库（ACD）、剑桥晶体结构数据库（CSD）、世界药物索引（WDL）、药用化合物数据库（CMC）、可用化合物搜索数据库（ACDSC）以及复方脑脉通的国内外文献调研，收集了复方脑脉通有活性报道的化学成分共 278 个，这些活性分子是由大黄、川芎、葛根、人参 4 味中药的成分集合，其中大黄 54 个，川芎 76 个，葛根 71 个，人参 77 个。通过 ChemBioDraw 软件绘制分子结构后，导入软件 Sybyl-7.3^[7]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。

同时查阅大量与缺血性脑中风相关的国内外文献并通过搜索 RCSB PDB（RCSB PDB: research collaboratory for structural bioinformatics protein data bank，中文全称为结构生物信息学研究合作组织维护的蛋白质晶体结构资料数据库）选取了 PDB 代号为 1VR2、2CNK、1YSW 等 21 个与脑缺血中风疾病相关的关键蛋白靶点，如表 1。

1.3 活性小分子与关键蛋白对接 利用分子对接方法对复方脑脉通作用的靶点进行筛选，提取靶点晶体结构的配体以暴露活性位点、去除水分子、加氢和除侧链的残基后，采用 Sybyl-7.3 对接软件的 Surflex-Dock 程序与复方脑脉通的活性成分进行对

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。

表 1 脑缺血相关蛋白靶点

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

1.4 分子蛋白作用网络的构建 为了更加清晰地阐明复方脑脉通的活性分子与 21 个关键靶点之间的关系，笔者通过软件 Cytoscape 3.1.1^[8]来建立多成分-蛋白靶点网络图。该网络图由活性成分和靶点两类节点构成。进一步通过网络度（degree）、介数（betweenness）来阐明复方脑脉通活性分子与靶点的作用情况。

2 结果

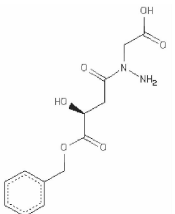
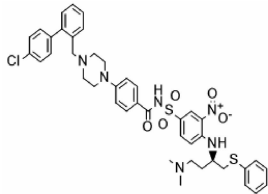
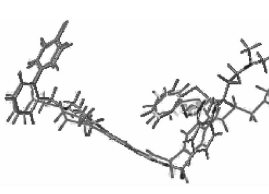
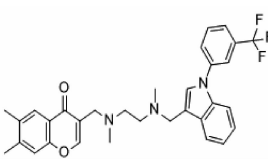
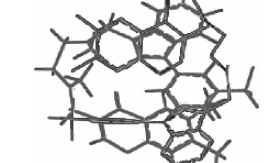
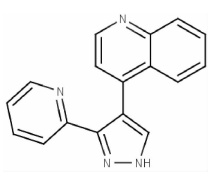
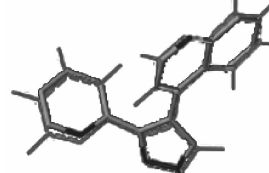
2.1 分子对接结果 本次研究将处理好的 278 个活性小分子分别与 21 个靶点蛋白对接，统计筛选结果，打分大于 5.0 的说明分子与靶点有较好的结合活性，打分大于 7.0 则说明分子与靶点的结合构型具有强烈的活性。在这 278 个有活性的小分子化合物中，其中有 58 个分子与 10 个或 10 个以上的蛋白质有比较强烈的相互作用。这些分子都有可能 在调控脑缺血相关蛋白靶点表达或和这些蛋白的相互作用方面有着非常重要的作用，另外这些分子同时又靶向了多个蛋白，正说明了中药具有多靶点多效应协同作用的特点。

2.2 靶点可靠性的验证 在将 Caspase-3、BCL-2、TNF-α、TGF-β 与各自原本的活性配体对接后得出以下结果，得分分别为 5.79、6.54、7.55 和 8.24。结果表明靶点蛋白的活性配体与其受体具有很高的

结合活性，分析对接构象以及原蛋白晶体结构中的构象位置可以发现两者几乎重叠在一起，这说明此次对接所选用的结构比较可靠，能够用于虚拟筛选，如表 2。

表 2 蛋白靶点与其自身活性配体的对接结果

Tab. 2 Docking results of protein targets and their active ligands

靶点	活性配体结构	打分	对接构象与原构象叠合图
Caspase-3		5. 79	
BCL-XL		6. 54	
TNF-α		7. 55	
TGF-β		8. 24	

2.3 网络构建与分析 将复方脑脉通中与 21 个关键蛋白对接结果有 10 个或 10 个以上靶点的 58 个活性小分子，与 21 个关键靶点导入 Cytoscape 3.1.1 网络分析软件，构建药物-靶点网络并进行网络分析，结果见图 1、表 3~4。通过网络分析可知每个化合物对应多个靶点，同时每个靶点也对应多个化合物，体现了复方脑脉通治疗缺血性脑中风的作用是多成分、多靶点协同的特点。

3 讨论

复方脑脉通抗脑缺血/再灌注损伤的机制相当复杂，主要与自由基过度形成、兴奋性氨基酸毒性作用、细胞内钙超载、炎症反应等有关^[9-11]。

复方脑脉通是由大黄（DH）、川芎（LC）、人参（RS）、葛根（GG）4 味中药组成，本次对接筛选的活性分子结果表明，与≥10 个脑缺血关键蛋白靶点对接得分大于 5.0 的活性分子中，川芎活

性分子有 19 个，大黄活性分子有 19 个，葛根活性分子有 16 个，人参活性分子有 4 个，具体如表 3。其中人参的 4 个活性分子分别为叶酸

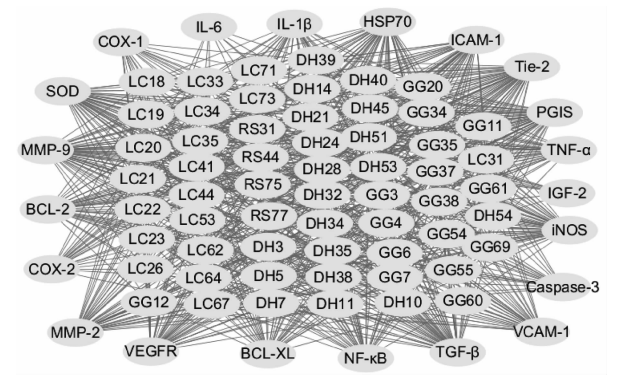


图 1 成分-蛋白靶点的作用网络
Fig. 1 Drug-target network (D-T)

表 3 D-T 网络中化合物节点的网络特征分析

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

化合物	化合物 编号	对接结果的 靶点数目	介数	化合物	化合物 编号	对接结果的 靶点数目	介数
硬脂酸乙酯	LC21	20	0.009 5	大豆苷	GG12	13	0.002 09
十六烷酸甲酯	LC33	20	0.009 25	葛根素	GG20	13	0.002 367
亚油酸甲酯	LC34	20	0.011 09	葛根素芹菜糖苷	GG34	13	0.001 824
十七碳酸乙酯	LC18	19	0.007 95	槲皮素	GG38	13	0.002 723
异十七碳酸乙酯	LC19	19	0.008 39	5-羧基-7-葡萄糖基氧-2-甲基-苯并吡喃- γ-酮	DH5	13	0.002 364
棕榈酸乙酯	LC22	19	0.008 73	大黄素甲醚-8- <i>O</i> -β- <i>D</i> -龙胆双糖苷	DH34	13	0.002 069
十五碳酸乙酯	LC23	19	0.008 01	1,2,6-三没食子酰葡萄糖	DH53	13	0.004 014
顺式-9-顺式-12 亚油酸	LC31	19	0.006 48	3,5,4'-三羟基芪-4'-葡萄糖苷	DH54	13	0.001 839
十五碳酸甲酯	LC35	19	0.007 95	<i>L</i> -缬氨酸- <i>L</i> -缬氨酸酸苷	LC44	12	0.002 221
异十八碳酸乙酯	LC20	18	0.005 41	大豆苷元 7,4-二葡萄糖苷	GG11	12	0.001 699
正十六烷酸	LC67	17	0.008 85	染料木苷	GG61	12	0.003 152
KuzubutenolideA	GG54	17	0.006 19	人参炔 A	RS44	11	0.002 254
棕榈酸	LC26	16	0.003 94	4,5-二氢-3,1'-二羟基-3-戊基苯酚	LC71	11	0.001 946
3'-羟基葛根素	GG4	16	0.003 75	PuerosideB	GG60	11	0.001 515
葛香豆雌酚	GG37	16	0.005 61	异甘草素	GG69	11	0.001 923
芦荟 大 黄 素-ω- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡 喃 葡 萄 糖 苷	DH3	16	0.003 65	(+)-儿茶素-5- <i>O</i> -葡萄糖苷	DH7	11	0.001 248
决明 茛 乙 酮-8- <i>O</i> - <i>D</i> -葡萄糖苷	DH51	16	0.005 07	1,6-二没食子酰基-2-桂皮酰基葡萄糖	DH11	11	0.001 335
芒 饼 花 苷	GG55	14	0.002 86	1-没食子酰葡萄糖	DH21	11	0.001 884
洋 川 芎 内 酯 M	LC41	14	0.003 24	6-羟基酸模素-8- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷	DH24	11	0.001 575
3-Methoxydaidzin	GG3	14	0.002 21	酸模素-8- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷	DH28	11	0.001 276
genistein-8- <i>C</i> -apiosyl(1→6) glucoside	GG35	14	0.002 98	大黄二蒽酮 A	DH40	11	0.002 902
大黄素-1- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷	DH14	14	0.002 37	豆甾醇	RS75	10	0.001 172
苯基丁酮葡萄糖苷	DH32	14	0.002 76	三叶豆苷	RS77	10	0.001 107
食用大黄苷	DH38	14	0.002 54	川芎酚	LC62	10	0.001 085
食用大黄苷元	DH39	14	0.003 16	川芎呋	LC73	10	0.001 567
叶酸	RS31	13	0.004 39	5-羟基芒柄花苷	GG6	10	0.001 108
腺苷	LC53	13	0.002 63	大黄酚-8- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷	DH10	10	0.002 588
3-丁基-3,6,7-三羟基-4,5,6,7-四 氢苯酚	LC64	13	0.002 81	大黄素甲醚-8- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷	DH35	10	0.001 309
8- <i>C</i> -芹菜糖(1→6)葡萄糖大豆苷元	GG7	13	0.002 02	大黄素-8- <i>O</i> -β- <i>D</i> -(6'-乙二酰基)吡喃葡 萄糖苷	DH45	10	0.001 158

表 4 D-T 网络中靶点节点的网络特征分析

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

靶点	对接结果的 化合物个数	介数	靶点	对接结果的 化合物个数	介数
TGF-β	55	0.064	BCL-2	37	0.025
Tie-2	54	0.06	IL-1β	37	0.024
PGIS	53	0.059	NF-κB	37	0.027
HSP70	52	0.057	VCAM-1	36	0.022
MMP-9	52	0.055	TNF-α	31	0.018
iNOS	50	0.05	COX-1	23	0.009
SOD	48	0.047	COX-2	23	0.009
ICAM-1	46	0.043	Caspase-3	21	0.007
MMP-2	45	0.039	IL-6	10	0.001
VEGFR	42	0.036	IGF-2	9	0.000 8
BCL-XL	38	0.026			

(RS31)、人参炔 A (RS44)、豆甾醇 (RS75)、三叶豆苷 (RS77)，它们分别与 21 个脑缺血的关键

1676

蛋白对接结果表明，叶酸与 13 个靶点对接得分大于 5.0；人参炔 A 与 11 个靶点对接得分大于 5.0；豆甾醇和三叶豆苷均与 10 个靶点对接得分大于 5.0，说明复方脑脉通人参的 4 个活性成分很可能是其作用于缺血性脑中风的有效成分。

大黄的 19 个活性分子分别为 5-羧基-7-葡萄糖基氧-2-甲基-苯并吡喃-γ-酮 (DH5)、大黄素甲醚-8-*O*-β-*D*-龙胆双糖苷 (DH34)、1, 2, 6-三没食子酰葡萄糖 (DH53)、3, 5, 4'-三羟基芪-4'-葡萄糖苷 (DH54)、芦荟大黄素-ω-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (DH3)、决明 茛 乙 酮-8-*O*-*D*-葡萄糖苷 (DH51)、大黄素-1-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (DH14)、苯基丁酮葡萄糖苷 (DH32)、食用大黄苷 (DH38)、食用大黄苷元 (DH39)、(+)-儿茶素-5-*O*-葡萄糖苷 (DH7)、1, 6-二没食子酰基-2-桂皮酰基葡萄糖

糖 (DH11)、1-没食子酰葡萄糖 (DH21)、6-羟基酸模素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 (DH24)、酸模素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 (DH28)、大黄二蒽酮 A (DH40)、大黄酚-8-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (DH10)、大黄酒甲醚-8-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (DH35)、大黄酒-8-*O*-β-*D*-(6'-乙二酰基)吡喃葡萄糖苷 (DH45), 这 19 个活性分子均与≥10 个脑缺血关键蛋白靶点对接得分大于 5.0, 说明它们很有可能是复方脑脉通中大黄的成分作用于缺血性脑中风的活性物质。

川芎中 19 个活性分子分别为硬脂酸乙酯 (LC21)、十六烷酸甲酯 (LC33)、亚油酸甲酯 (LC34)、十七碳酸乙酯 (LC18)、异十七碳酸乙酯 (LC19)、棕榈酸乙酯 (LC22)、十五碳酸乙酯 (LC23)、顺式-9-顺式-12 亚油酸 (LC31)、十五碳酸甲酯 (LC35)、异十八碳酸乙酯 (LC20)、*L*-缬氨酸-*L*-缬氨酸酸苷 (LC44)、正十六烷酸 (LC67)、棕榈酸 (LC26)、洋川芎内酯 M (LC41)、腺苷 (LC53)、3-丁基-3, 6, 7-三羟基-4, 5, 6, 7-四氢苯酚 (LC64)、4, 5-二氢-3, 1'-二羟基-3-戊基苯酚 (LC71)、川芎酚 (LC62)、川芎啉 (LC73), 这 19 个活性分子均与≥10 个脑缺血关键蛋白靶点对接得分大于 5.0, 说明它们很有可能是复方脑脉通中川芎活性成分中作用于缺血性脑中风的主要物质。

葛根中的 16 个活性成分分别为大豆苷 (GG12)、葛根素 (GG20)、葛根素芹菜糖苷 (GG34)、槲皮素 (GG38)、大豆苷元 7, 4-二葡萄糖苷 (GG11)、KuzubutenolideA (GG54)、3'-羟基葛根素 (GG4)、葛香豆雌酚 (GG37)、芒饼花苷 (GG55)、3-methoxydaidzin (GG3)、genistein-8-C-*apiosyl* (1 → 6) glucoside (GG35)、染料木苷 (GG61)、PuerosideB (GG60)、异甘草素 (GG69)、5-羟基芒柄花苷 (GG6)、8-C-芹菜糖 (1→6) 葡萄糖大豆苷元 (GG7), 它们均与≥10 个脑缺血关键蛋白靶点对接得分大于 5.0, 说明它们有可能是复方脑脉通中葛根作用于脑缺血性脑中风的主要活性小分子。

以上经过分子对接技术筛选得到的 58 个活性小分子, 仍然需要经过传统的药理学实验进行验证。

脑缺血关键靶点中的 BCL-2 和 BCL-XL 是 BCL-2 家族蛋白成员中主要的抗凋亡分子, 它们均能抑制细胞色素 C 的释放, 使细胞色素 C 无法达到激活下游胱冬肽酶的阈值, 保护细胞不发生凋

亡^[12]。抗凋亡 BCL-2 蛋白可能从线粒体释放凋亡调节因子, 产生自由基, 钙稳态, 以及呼吸功能^[13]。BCL-2 和 Caspase-3 是参与调节细胞凋亡的两个重要分子, Caspase-3 为 BCL-2 的下游调控蛋白, Caspase-3 是引起凋亡的始发因子, BCL-2 的过量表达能有效地抑制 Caspase-3 激活和细胞凋亡的发生^[14]。通过构建多成分-蛋白靶点网路模型, 结果如图 1, 进一步分析表 4, 进一步验证: 复方脑脉通在治疗缺血性脑中风时主要在 TGF-β、Tie-2、PGIS 等 21 个关键蛋白靶点上发挥作用, 但其药效学研究有待进一步的考察。

4 结论

引入分子对接技术于复方脑脉通治疗缺血性脑中风疾病的研究并进一步构建了多成分-蛋白靶点网络图, 该网络图简洁明了地阐明了复方脑脉通活性分子与蛋白靶点之间的关系, 说明复方脑脉通治疗缺血性脑中风是多成分, 多靶点的作用结果。为以后更多中药复方的药效物质基础分析、作用机制研究奠定了基础, 有助于推动中药现代化的进程。

致谢: 本论文是在导师王淑美教授的悉心指导下完成, 同时得到中山大学罗海彬教授的大力帮助。在此, 深表感谢!

参考文献:

[1] 段爱霞, 陈 晶, 刘宏德, 等. 分子对接方法的应用与发展[J]. 分析科学学报, 2009, 25(4): 473-477.

[2] Toodeji M A, Izadi S, Shariat A , *et al.* Evaluation of transesophageal echocardiography in detecting cardiac sources of emboli in ischemic stroke patients[J]. *Med J Islam Repub Iran*, 2015, 29(3): 237-238.

[3] Jiménez M C, Judd S E, Kissela B M, *et al.* Heart disease and stroke statistics-2016 update; a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2016, 26, 133(4): e38-e360.

[4] 甘海宁. 复方血栓通胶囊防治缺血性中风的实验研究[D]. 广州中医药大学, 2014.

[5] Fromm A, Haaland Ø A, Naess H, *et al.* Atherosclerosis in trial of org 10172 in acute stroke treatment subtypes among young and middle-aged stroke patients: the norwegian stroke in the young study[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2016, 25(4): 825-830.

[6] 苏智斌, 王淑美, 刘向前, 等. 脑脉通化学成分研究[J]. 河南中医报, 2012, 32(5): 635-636.

[7] Sun J Y, Cai S X, Yan N, *et al.* Docking and 3D-QSAR studies of influenza neuraminidase inhibitors using three dimensional holographic vector of atomic interaction field analysis[J]. *Eur J Med Chem*, 2045(3): 1008-1014.

[8] Baryshnikova A. Exploratory analysis of biological networks through visualization, clustering, and functional annotation in

Cytoscape[J]. *Cold Spring Harb Protoc*, 2016, doi: 10.1101/pdb.prot077644.

[9] 刘 轲, 李建生, 高剑峰, 等. 脑脉通对老龄大鼠脑缺血/再灌注微血管生成及 VEGF/VEGFR 系统表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(12): 2088-2092.

[10] 方 建, 王 冬, 李建生, 等. 脑脉通及其拆方对局灶性脑缺血大鼠自由基代谢和细胞因子的影响[J]. 中国老年学杂志, 2006, 4(26): 490-492.

[11] 庞春红, 李澎涛, 朱晓磊. 脑缺血-再灌注相关细胞因子表达的 TNF- α 损伤机制及清开灵的作用[J]. 世界中医药, 2011, 6(4): 343-346.

[12] 付永锋, 樊廷俊. BCL-2 家族蛋白与细胞凋亡[J]. 生物化学与生物物理学报, 2002, 34(4): 389-394.

[13] Ouyang Y B, Giffard R G. Cellular neuroprotective mechanisms in cerebral ischemia: Bcl-2 family proteins and protection of mitochondrial function[J]. *Cell Calcium*, 2004, 36(3-4): 303-311.

[14] 杨 申. P38MAPK 抑制剂对血管性痴呆大鼠海马细胞凋亡、BCL-2、Caspase-3 表达及其学习记忆能力的影响[D]. 济南: 山东大学, 2013.

芝麻素对高糖损伤 SH-SY5Y 细胞的保护效果及机制

张 慧¹, 宋 宇^{1*}, 栗志勇², 张 婷³

(1. 新乡医学院药学院, 河南 新乡 453000; 2. 安阳市三医院外五科, 河南 安阳 455000; 3. 新乡医学院三全学院, 河南 新乡 453000)

摘要: **目的** 研究芝麻素(sesamin)对高糖所致人神经母细胞瘤(SH-SY5Y)细胞损伤的保护作用及其机制。**方法** SH-SY5Y 细胞接种于含 100 mmol/L 葡萄糖的培养基并与 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 芝麻素共同孵育 36 h, MTT 法测定细胞存活率, 比色法测定细胞培养液乳酸脱氢酶(LDH)水平, ELISA 检测 DNA 片段及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)活性。2', 7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)探针法检测细胞中活性氧(ROS)的水平, 试剂盒检测细胞内丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和还原型谷胱甘肽(GSH)活性。光度法检测细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶活性, 实时荧光定量检测 NADPH 氧化酶亚基 *p47phox* mRNA 表达。Western blot 法检测 p47phox 蛋白表达。**结果** 芝麻素可增加高糖作用下 SH-SY5Y 细胞的存活率, 抑制细胞 LDH 释放, 阻止高糖诱导的 DNA 断裂, 降低 Caspase-3 活性。同时芝麻素能够增加高糖作用下 SH-SY5Y 细胞内 SOD、CAT 和 GSH 的活性, 清除细胞内的 ROS, 抑制 NADPH 氧化酶活性及 p47phox mRNA 和蛋白的表达。**结论** 芝麻素对高糖诱导 SY5Y 细胞损伤具有保护作用, 其机制可能与抗氧化和抑制 NADPH 氧化酶活性有关。

关键词: 芝麻素(sesamin); 高糖; 人神经母细胞瘤(SH-SY5Y)细胞; 抗氧化; 活性氧; NADPH 氧化酶

中图分类号: 966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)08-1678-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.08.004

Protective effect of sesamin on high glucose-induced neurotoxicity in SH-SY5Y cells

ZHANG Hui¹, SONG Yu^{1*}, LI Zhi-yong², ZHANG Ting³

(1. College of Pharmacy, Xinxiang Medical University, Xingxiang 453000, China; 2. Department of the Fifth Surgery of the Third People's Hospital of Anyang City, Anyang 455000, China; 3. Sanquan Medical College, Xinxiang Medical University, Xingxiang 453000, China)

ABSTRACT: **AIM** To explore the effects of sesamin on cell proliferation and its protective role in cellular oxidative injury induced by high glucose to SH-SY5Y cell line. **METHODS** SH-SY5Y cell in 100 mmol/L glucose medium was incubated with 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ sesamin for 36 h. MTT assay was used to evaluate the cell proliferation.

收稿日期: 2016-02-14

基金项目: 新乡医学院博士科研启动项目(2010)

作者简介: 张 慧(1982—), 女, 硕士, 讲师, 主要从事中药活性成分及药效学研究。E-mail: zhanghui12070300@163.com

***通信作者:** 宋 宇(1979—), 男, 博士, 副教授, 主要从事中药活性成分及药效学研究。Tel: (0373) 3029101, E-mail: y3029101@sina.com