

黔产猕猴桃根中  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂的超滤质谱筛选

赵 坤,赵光耀,陈奕玮,王 君,蒋文雯\*

贵州大学药学院,贵州 550025

**摘要:**采用亲和超滤结合液相色谱-质谱联用(UF-LC-MS)和分子对接技术筛选猕猴桃根中  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂。以4-硝基苯- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷(PNPG)为底物,阿卡波糖为阳性对照药评价猕猴桃根醇提物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性,其中黔产猕猴桃根醇提物抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的  $IC_{50}$  约为  $1.55 \mu\text{g/mL}$ , 强于阳性对照药阿卡波糖( $IC_{50} \approx 75.97 \mu\text{g/mL}$ ),进一步用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取猕猴桃根总提物,三个部位抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的  $IC_{50}$  分别为  $17.93$ 、 $8.14$ 、 $3.12 \mu\text{g/mL}$ 。表明黔产猕猴桃根醇提物有显著的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性,采用亲和超滤方法靶向捕获到7个与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶结合的小分子化合物,通过LC-MS联用技术解析出三个化合物,分别是  $\beta$ -谷甾醇、异东莪菔素、绿原酸。证明该方法的有效性,且通过分子对接进一步证明了其结合活性。

**关键词:**猕猴桃根;亲和超滤;液相色谱-质谱联用; $\alpha$ -葡萄糖苷酶;分子对接

中图分类号:R914

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)Suppl-0127-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.S.020

## Rapid screening for $\alpha$ -glucosidase inhibitors from *Actinidia chinensis* Planch roots by affinity ultrafiltration-HPLC-MS

ZHAO Kun, ZHAO Guang-yao, CHEN Yi-wei, WANG-Jun, JIANG Wen-wen\*

School of Pharmaceutical Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China

**Abstract:** To apply affinity ultrafiltration coupled with liquid chromatography mass spectrometry (UF-HPLC-MS) and molecular docking to screen  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from *Actinidia chinensis* Planch roots. 4-Nitrobenzene- $\alpha$ -D-glucopyranoside (PNPG) was used as a substrate and acarbose as a positive control drug to evaluate the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of *Actinidia chinensis* Planch roots. The  $IC_{50}$  of *Actinidia chinensis* Planch roots was at  $1.55 \mu\text{g/mL}$ , stronger than acarbose whose  $IC_{50}$  was at  $75.97 \mu\text{g/mL}$ . Furthering extracted with petroleum ether, ethyl acetate and n-butanol. The  $IC_{50}$  of the three sites inhibiting  $\alpha$ -glucosidase were  $17.93$ ,  $8.14$ , and  $3.12 \mu\text{g/mL}$ . The results indicated the obvious  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of *Actinidia chinensis* Planch roots, we adopted affinity ultrafiltration to rapidly screen and identify the  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from *Actinidia chinensis* Planch roots, in which way, 7 compounds were identified according to their MS/MS spectra. Among them,  $\beta$ -sitosterol, isoscopoletin and chlorogenic acid were analyzed by means of LC-MS coupling technique. The results demonstrated the effectiveness of the method and further demonstrated its binding activity by molecular docking.

**Key words:** roots of *Actinidia chinensis* Planch; affinity ultrafiltration; liquid chromatography-mass spectrometry;  $\alpha$ -glucosidase; molecular docking

据国际糖尿病联盟(IDF)统计,截止2015年,全球约有4.15亿的糖尿病患者,且预计到2040年将增加至6.42亿<sup>[1,2]</sup>,其中95%以上患者为II型糖尿病<sup>[3]</sup>,糖尿病已成为威胁人类健康的重大慢性疾病之一。其中糖尿病引起的糖尿病眼病、糖尿病肾

病、糖尿病酮症酸中毒、高血压等并发症对人体的危害尤为严重<sup>[4]</sup>。因此,控制患者血糖维持在一个稳定水平是目前治疗糖尿病的一个主要方向。而相较于平时血糖的升高,餐后血糖的急剧升高与血管疾病之间的关系更为密切。因此近年来,越来越多研究者将控制餐后高血糖作为他们的研究目的,尤其是针对非胰岛素依赖型的II型糖尿病。 $\alpha$ -葡萄糖苷酶,一种由小肠绒毛膜上皮细胞分泌的酶,可催化碳水化合物中低聚糖和二糖裂解成单糖<sup>[5]</sup>。研究表

收稿日期:2018-12-26 接受日期:2019-05-27

基金项目:贵州省科技计划(黔科合平台人才[2017]5788号)

\*通信作者 Tel:86-018985023687; E-mail:jww1001@sina.com

明,  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂能够延迟或减少碳水化合物的消化和吸收, 从而降低餐后血糖水平。目前市面上常见的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂有阿卡波糖、伏格列波糖、米格列醇<sup>[6]</sup>。但这几种药物长期使用均会引起不同程度的毒副作用, 尤其是胃肠道副作用。因此越来越多学者致力于从中草药中寻找毒副作用小的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂, 从而为糖尿病的临床治疗奠定基础。

猕猴桃 (*Actinidia chinensis* Planch) 是常见的猕猴桃科植物, 在全球范围内, 猕猴桃属植物约 66 种, 广泛分布于南亚、东南亚等, 其中中国是其主要产地, 包括了陕西、河南、安徽、湖北、江西、湖南、贵州、广东、广西、福建、浙江等多个省份<sup>[7,8]</sup>。猕猴桃根为猕猴桃属植物的干燥根, 又称藤梨根、阳桃根, 是中药配伍中的常用药, 在我国有着悠久的用药历史。已有研究表明猕猴桃根具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎抗病毒、调节免疫系统、降血脂等药理作用<sup>[9]</sup>。有研究者已证明黔产猕猴桃根对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶具有较强的抑制作用, 且强于阳性药阿卡波糖, 但并未对其活性成分进行进一步追踪分离<sup>[10]</sup>。因此, 进一步筛选黔产猕猴桃根中有效的降糖活性物质对治疗糖尿病具有潜在的价值。亲和超滤结合液质技术 (UF-LC-MS) 是一种简单、快速、高效筛选活性成分的方法, 尤其适用于成分组成复杂的中药提取物<sup>[11]</sup>。猕猴桃根中能  $\alpha$ -葡萄糖苷酶结合的活性物质和未能结合的物质通过超滤膜被分离开, 再通过解离的方法使活性物质与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶分开, 最后利用液相色谱-质谱联用 (LC-MS) 解析得到具有抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶作用的活性物质结构。为了提高筛选的质量, 本研究将 UF-LC-MS 筛选技术与分子对接技术 (molecular docking) 联合筛选猕猴桃根中具有较强亲和性的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂。在 Systemsdock 中上传目标小分子的 3D 结构和目标蛋白的 PDB ID, 进行在线分子对接, 寻找与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶结合良好的小分子化合物<sup>[12]</sup>, 为探索猕猴桃根的降糖活性物质基础研究提供了参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 药品、试剂、仪器

猕猴桃根 (*Actinidia chinensis* Planch), 购于贵州省贵阳市万东桥民族药材市场。经贵州大学药学院蒋文雯副教授鉴定系黔产猕猴桃根, 中药材粉碎机粉碎成细小块状后常温储存备用。

$\alpha$ -葡萄糖苷酶 ( $\alpha$ -glucosidase) 购于 Sigma 公司;

4-硝基苯- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷酶 (4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside, PNPG) 购于 Sigma 公司; 阿卡波糖 (Acarbose, 拜糖平) 购于德国拜耳公司; 甲醇和乙腈 (色谱纯, 美国 ThermoFisher 公司), 其余试剂均为分析纯, 实验用水为 million-Q 超纯水。Amicon 0.5 mL 超滤离心管 (YM-30 30kDa, 美国 millipore 公司); MR-96A 多功能酶标仪 (瑞士 TECAN Infinite 200 PRO); XL90 高速离心 (美国 Beckman 公司); Mili-Q Advantage A10 超纯水系统 (美国 Millipore 公司); Thermo SCIENTIFIC UPLC Ultimate 3000 型-MS Q Exactive Focus 型超高效液相色谱-质谱联用仪 (美国 Thermo 公司)。

### 1.2 猕猴桃根醇提液的制备

称取 100 g 经粉碎后的猕猴桃根, 75% 的乙醇回流提取三次, 每次 2 h, 过滤后合并三次提取液。挥干后称取一定量样品用磷酸缓冲液稀释成 4 mg/mL, 用于 UF-LC-MS。

### 1.3 猕猴桃根醇提物不同提取部位的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制实验

猕猴桃根醇提物不同提取部位的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制实验参照文献<sup>[10,13]</sup>的方法, 以 PNPG 为底物, 阿卡波糖为阳性药。实验分为样品组、阳性对照组、空白组、阴性对照组, 采用 96 孔板筛选体系, 先加 80  $\mu$ L 磷酸钾缓冲液 (pH6.8), 再加入  $\alpha$ -glucosidase (0.1 U/mL) 10  $\mu$ L, 一定浓度样品溶液 10  $\mu$ L, 37  $^{\circ}$ C 恒温 10 min, 然后加入 PNPG (2.5 mmol/L) 20  $\mu$ L, 37  $^{\circ}$ C 恒温反应 15 min, 最后加入 40  $\mu$ L 的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液 (1 mol/L) 终止反应, 于 405 nm 波长下测定吸光度值 (A 值), 该反应体系的总体积为 160  $\mu$ L。

猕猴桃根醇提物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制率  $I$  按如下公式计算:

$$I(\%) = \left( \frac{A_{\text{阴性对照}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{阴性对照}} - A_{\text{空白}}} \right) \times 100\%$$

每个样品设置四个浓度进行测定, 每个浓度设置三个复孔。

### 1.4 亲和超滤法靶向筛选潜在的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂

本文所采用的超滤筛选方法系参照文献<sup>[11,14]</sup>, 取猕猴桃根醇提物溶液 (4 mg/mL, 100  $\mu$ L) 与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 (5 U/mL, 200  $\mu$ L), 转移到离心管中, 37  $^{\circ}$ C 下孵育 30 min; 转移到 0.5 mL 超滤离心管 (YM-30) 中, 在室温下 12 000 g 离心 10 min; 向滤管中加

入 100  $\mu$ L PBS 缓冲液 (pH = 6.8) 离心 10 min; 重复 3 次, 洗去未能与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶结合的成分。再向滤管中加入 100  $\mu$ L 甲醇-水 (1:1, V/V), 室温下 1 2000 g 离心 10 min, 以释放与酶结合的配体, 重复冲洗、离心 3 次, 收集滤出液, 冻干; 最后, 加入 50  $\mu$ L 甲醇-水 (1:1, V/V) 溶解, 用于 LC-MS 分析。

### 1.5 HPLC-MS 分析

HPLC 条件: Thermo SCITIFIC UPLC Ultimate 3 000 型; THERMO SCITIFIC C<sub>18</sub> 分析柱 (200 mm  $\times$  2.1 mm, 5  $\mu$ m); 梯度洗脱: 流动相 A 为 0.1% 的甲酸乙腈溶液, 流动相 B 为 0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱过程如下: 0 ~ 0.5 min, 15% B; 0.5 ~ 7 min, 15% ~ 55% B; 7 ~ 15 min, 55% ~ 75% B; 15 ~ 25 min, 75% ~ 95% B; 25 ~ 40 min, 95% ~ 15% B; 流速: 0.2 ml/min; 进样量: 20  $\mu$ L; 柱温: 35  $^{\circ}$ C; 检测波长: 254 nm。

电喷雾质谱 (ESI-MS) 条件: 正离子电离模式 (positive)、负离子电离模式 (negative), 扫描范围  $m/z$  100 ~ 2 000 Da, 毛细管电压 2 kV。ESI 电喷雾离子源温度 200  $^{\circ}$ C, 锥孔气为氮气, 碰撞气为氦气, 锥孔电压 30 ~ 60 kV, 碰撞电压 15 ~ 30 V。

### 1.6 分子对接

利用 SystemsDock 进行分子对接, 在 Pubmed 或 TCMS 里面搜索目标小分子化合物的 3D 结构下载保存。在 SystemsDock 里上传目标化合物 3D 结构, NCBI 库里进行相似性搜索选取  $\alpha$ -葡萄糖苷酶晶体 (PDB ID: 5NN4), 将其与目标化合物的 3D 结构进行在线分子对接, 通过与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶内源性配体结合程度的比较及在线评分筛选出与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶结合良好的化合物。

## 2 结果

### 2.1 猕猴桃根 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制

猕猴桃根醇提物配制四个浓度, 分别为 0.1、1、10、100  $\mu$ g/mL。如表 1 所示, 阳性药阿卡波糖浓度为 100  $\mu$ g/mL 时, 抑制率为 81.57%,  $IC_{50}$  为 75.97  $\mu$ g/mL, 相同浓度的猕猴桃根醇提物的抑制率为 96.77%,  $IC_{50}$  为 1.55  $\mu$ g/mL, 说明猕猴桃根具有显著的抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性。

### 2.2 猕猴桃根不同提取部位 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制

猕猴桃根各萃取部位配制四个浓度, 分别为 0.1、1、10、100  $\mu$ g/mL。如图 1、表 2 所示, 各提取部位对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制率呈浓度依赖性的递增, 各提取部位浓度为 100  $\mu$ g/mL 时, 均能显著的抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性, 其中正丁醇部位的抑制作用最

表 1 不同浓度的猕猴桃根醇提物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制率 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 Inhibition rate of  $\alpha$ -glucosidase activity in ethanol extracts of different concentrations of *Actinidia chinensis* Planch roots ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

样品浓度 Sample concentration ( $\mu$ g/mL)	根醇提物抑制率 The inhibition rate of roots extract (%)	阿卡波糖抑制率 The inhibition rate of acarbose (%)
0.1	15.48 $\pm$ 1.38	2.77 $\pm$ 0.10
1	18.63 $\pm$ 0.15	9.51 $\pm$ 0.50
10	86.24 $\pm$ 1.08*	21.66 $\pm$ 0.02
100	96.77 $\pm$ 0.55**	81.57 $\pm$ 1.10*

注: \* 表示与阴性组比较  $P < 0.05$ , \*\* 表示与阳性组比较  $P < 0.01$ 。  
Note: Compared with negative, \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ .

为显著,  $IC_{50}$  为 3.12  $\mu$ g/mL。

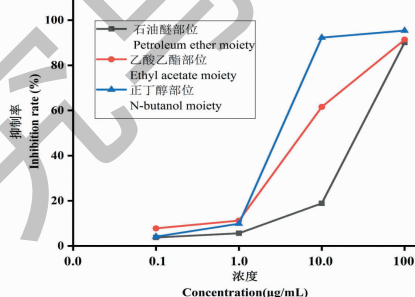


图 1 不同提取部位对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制率

Fig. 1 Inhibition rate of  $\alpha$ -glucosidase activity in different sites

表 2 不同提取部位对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性

Table 2 Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase activity in different sites

样品名称 Sample name	$IC_{50}$ ( $\mu$ g/mL)
石油醚部位 Petroleum ether	17.93
乙酸乙酯部位 Ethyl acetate	8.14
正丁醇部位 n-Butanol	3.12

注:  $IC_{50}$  为两次独立实验的平均值。

Note:  $IC_{50}$  was average of two independent experiments.

### 2.3 猕猴桃根中潜在抑制剂的筛选

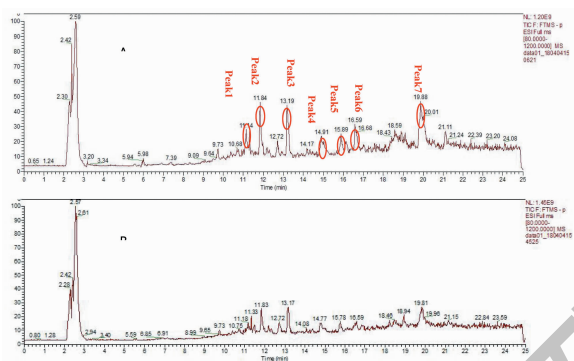
通过孵育, 洗脱, 再解离得到的样品, 经过超高效液相色谱的检测。结果如图 2 所示, 有 7 个明显能与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶结合的小分子化合物。

### 2.4 液相色谱-质谱联用 (LC-MS) 结构鉴定结构

通过分子量、分子离子峰以及参考文献, 初步确定 7 个小分子化合物中的 3 个化合物的结构, 分别是异东茛菪素、 $\beta$ -谷甾醇、绿原酸。

表3 猕猴桃根中潜在的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂的LC-MS数据Table 3 LC-MS data of potential  $\alpha$ -glucosidase inhibitors in *Actinidia chinensis* Planch roots

编号 No.	保留时间 $t_R$ (min)	$[M-H]^-$	二级质谱特征离子 MS Data		结构鉴定 Identification
1	11.14	191.1	174.9	96.9	异东茛菪素
2	11.84	415.2	346.3	183.3	$\beta$ -谷甾醇
3	13.19	265.1	191.4	106.1	待确定
4	14.91	309.2	263.2	200.9	待确定
5	15.89	353.2	194.9	106.1	绿原酸
6	16.59	293.2	263.2	194.9	待确定
7	19.88	698.9	532.9	366.9	待确定

图2 猕猴桃根醇提取物与 $\alpha$ -葡萄糖苷酶及灭活 $\alpha$ -葡萄糖苷酶相互作用的超高效液相色谱图差异峰Fig. 2 Ultra-high performance liquid chromatogram difference peak of the interaction between alcohol extract of *Actinidia chinensis*Planch roots with  $\alpha$ -glucosidase and inactivated  $\alpha$ -glucosidase

## 2.5 分子对接结果

下载保存预测的三个化合物的3D结构,NCBI

表4 分子对接筛选出的目标化合物

Table 4 Target compounds screened by molecular docking

编号 No.	蛋白 Protein	PDB ID	目标化合物 Test compound	Docking score (pKd/pKi)
1	$\alpha$ -glucosidase	5NN4	$\beta$ -谷甾醇	4.992
2	$\alpha$ -glucosidase	5NN4	异东茛菪素	7.228
3	$\alpha$ -glucosidase	5NN4	绿原酸	4.918

## 3 结论

中药资源丰富,成分种类繁多,在我国使用历史悠久且取得显著效果,因此,中药在新药研发中有着独特的优势。猕猴桃在我国分布广泛,黔产猕猴桃

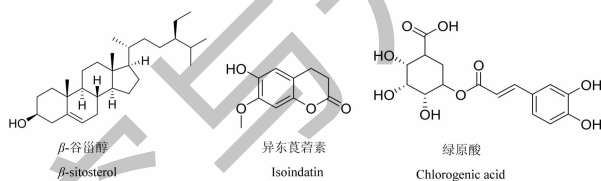


图3 三个化合物的化学结构

Fig. 3 The chemical structures of three compounds

库里搜索 $\alpha$ -葡萄糖苷酶晶体的PDB ID,利用SystemsDock与 $\alpha$ -葡萄糖苷酶进行分子对接,得到的结果评分如表3所示,其中 $\beta$ -谷甾醇评分为4.95,异东茛菪素评分为7.228,绿原酸评分为4.918, Docking score介于4.25~5.0,证明这三个化合物与 $\alpha$ -葡萄糖苷酶有良好的结合活性, Docking score介于5.0~7.0证明与 $\alpha$ -葡萄糖苷酶有较好的结合活性, Docking score大于7.0证明与 $\alpha$ -葡萄糖苷酶有强烈的结合活性<sup>[15]</sup>。本研究的实验结果说明 $\beta$ -谷甾醇、绿原酸与 $\alpha$ -葡萄糖苷酶均有良好的结合活性,异东茛菪素与 $\alpha$ -葡萄糖苷酶有强烈的结合活性。

在贵州更是资源丰富,其果实具有丰富的营养价值,是一种药食同源的植物,除含有钙、钾、硒、锌、锗等微量元素和人体所需17种氨基酸外,还含有丰富的维生素,被誉为“水果之王”<sup>[16]</sup>。不少学者也对猕猴

桃根的药理活性进行了初步研究,发现猕猴桃根在抗肿瘤、抗氧化、抗炎、降糖等方面都有一定的效果。Zhang 等<sup>[17]</sup>对山梨猕猴桃根醇提物及醇提物的正丁醇萃取物的体外抗肿瘤活性进行了筛选,表明正丁醇部分有抗肿瘤作用。Liu 等<sup>[18]</sup>通过对软枣猕猴桃根中蒽醌类化合物的体外抗氧化活性实验,发现软枣猕猴桃根中蒽醌类化合物清除 DPPH 自由基的能力、还原能力和螯合能力均高于 Vc。Chen<sup>[19]</sup>研发了以猕猴桃根为主药的治疗乙型肝炎的药物组合,其具有无毒副作用、显效快、疗程短、治愈率高、愈后极少复发等特点。Basile 等<sup>[20]</sup>在研究几种植物的提取物的抗菌活性时发现,猕猴桃根提取物对革兰阳性菌具有较强的抗菌作用。Liu 等<sup>[21]</sup>通过对小鼠腹腔注射四氧嘧啶建立糖尿病小鼠模型,以不同剂量的软枣猕猴桃根多糖灌胃,通过检测小鼠的血糖、糖耐量、肝糖原含量和血脂来确定软枣猕猴桃根多糖可有效地降低糖尿病小鼠的血糖和血脂。此前的研究大多都只是针对猕猴桃根粗提物或某一类物质,因此,进一步探究产生药效的具体物质及其作用机制,为后续探究猕猴桃根的药理作用提供研究基础成为了目前研究的重要方向。但是,基于中药成分的复杂性及其含量参差不齐,在筛选有效成分时,易造成非特异性吸附、假阳性干扰以及微量有效成分难以检测等困难。传统方法筛选中药活性成分通常采用重复的柱色谱分离纯化化合物,这些方法耗时、耗材,若被分离化合物的极性相差较小时,难以分离目标化合物,且需通过预实验确定溶剂及固定相等。

目前,大多数药物是通过与疾病相关的酶、受体等大分子相互作用而产生药效。而本文所采用的 UF-LC-MS 方法,正是利用 $\alpha$ -葡萄糖苷酶作为靶标来靶向捕获猕猴桃根中具有 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性的小分子化合物。通过改变猕猴桃根浓度、酶浓度、解离液的配比,最终得到亲和率最佳的结果,靶向捕获到猕猴桃根中 7 个小分子化合物。再利用 SystemDock 软件将已确定结构的 3 个化合物进行在线分子对接,进一步确定了与 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的结合活性,这为阐明猕猴桃根的降糖活性机制以及从中药猕猴桃中发现 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂奠定了基础,也提供了进一步的研究思路。目前的 UF-LC-MS 主要针对是单一靶点来进行小分子活性物质筛选,而中药治疗疾病时通常为多靶点协同治疗,所以通常一种中药可以治疗多种疾病,一种疾病也可用多种中药联合治疗。因此,在后续的实验研究中可以尝试将不同分子量的超滤管串联筛选不同靶点的活性

物质以满足中药多靶点协同治疗的需求,也可以利用已知的中药活性小分子对未知的大分子蛋白靶向捕获,进一步揭示二者之间的相互作用以及中药活性小分子发挥药效的机制。分子对接是一种可预测配体与受体结合位点的结合方向的计算方法,对于开发不同的合理药物设计方案尤为重要,常用于鉴定新候选物基于结构的虚拟筛选以及在相关生物靶标中指导配体-蛋白质的相互作用<sup>[22]</sup>。对接的主要目的是对配体与受体结合方向和亲和力的准确预测。对接算法探索了对应于受体结合位点内不同构象和方向的不同配体构成,并且通过使用评估结合能的评分函数来检测这些方向中的“最佳对接解决方案”。SystemsDock 是一种基于网络药理学的预测和分析的网络服务器,它展示了对接模拟和分子途径图,结合了精心设计的分子对接评分功能,以评估蛋白质-配体的结合潜力。SystemsDock 相较其他分子对接软件更简单、高效且可同时对接 5 个或 5 个以下的蛋白质-配体,这为实验研究节省了大量的时间成本。本研究将 UF-LC-MS 和分子对接技术结合筛选验证猕猴桃根中的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂,这可应用于从猕猴桃根中发现新的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂先导化合物,为中药治疗糖尿病的临床研究奠定基础。

#### 参考文献

- 1 Sarita B. RSSDI clinical practice recommendations for the management of type 2 diabetes mellitus [J]. *Int J Diabetes Dev Ctries*, 2018, 38:1-5.
- 2 Ogurtsova K, Rocha FJD, Huang Y, et al. IDF diabetes atlas: global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2017, 128:40-50.
- 3 Hoang VT, Nguyen KL, Ho AS, et al. Adiponectin and pro-inflammatory cytokines are modulated in Vietnamese patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *J Diabetes Invest*, 2017, 8: 295-305.
- 4 Hasniza ZH, Lay PL, Soo KL. Glycemic control and antidiabetic drugs in type 2 diabetes mellitus patients with renal complications [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2015, 9:4355-4371.
- 5 Xie ZZ, Wang GC, Wang J, et al. Synthesis, Biological evaluation, and molecular docking studies of novel isatin-thiazole derivatives as  $\alpha$ -glucosidase inhibitors [J]. *Molecules*, 2017, 22:659.
- 6 Meltem YM, Anneke MG, Alexander JM, et al. Inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase activity by tea and grape seed extract and their constituent catechins [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60:8924-8929.
- 7 Chen YT, Qu MM, Liu PY, et al. Studies on bioactive compo-

- nents and pharmacological effects of kiwifruit [J]. Southeast Horticult(东南园艺), 2016, 5: 55-60.
- 8 Liu W, Hui GH. Kiwi fruit (*Actinidia chinensis*) quality determination based on surface acoustic wave resonator combined with electronic nose [J]. Bioengineered, 2015, 6(1): 53-61.
  - 9 Sun LF, Li XF, Li G, et al. *Actinidia chinensis* planch. Improves the indices of antioxidant and anti-inflammation status of type 2 diabetes mellitus by activating Keap1 and Nr2 via the upregulation of microRNA-424 [J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 10: 213-227.
  - 10 Pan YJ, Jiang WW, Nie CP, et al. Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase by 7 kinds of extracts of Guizhou national medicines [J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2012, 27: 385-388.
  - 11 Chen GL, Guo MQ. Rapid screening for  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from *Gymnema sylvestre* by affinity ultrafiltration-HPLC-MS [J]. Front Pharmacol, 2017, 2(228): 21-29.
  - 12 Wu D, Gao Y, Xiang H, et al. Study on antidepressant mechanism of *Bupleurum* based on network pharmacology [J]. Acta Pharm Sin B(药学报), 2018, 53: 210-219.
  - 13 Cao XM, Zhang HH, Zhou J. Studies on the lanolin-type triterpenoids and their  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities in *Ganoderma lucidum* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2017, 48: 1275-1281.
  - 14 He ZM, Lyu N, Nan ML, et al. Rapid screening of acetylcholinesterase inhibitors in total alkaloids from the yellow vine by UF-LC-MS [J]. Chin J Anal Chem(分析化学), 2017, 45: 211-216.
  - 15 Hsin KY, Ghosh S, Kitano H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology [J]. PLoS One, 2013, 8: e83922.
  - 16 Shi CH, Li DW, Zhao YQ. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological activities of kiwifruit roots [J]. Drugs & Clinic(现代药物与临床), 2011, 26: 203-207.
  - 17 Zhang FF, Zhong ZG, Zhang WY, et al. In vitro antitumor activity of kiwifruit extract from Yamanashi [J]. Chin Med Pharmacol(中医药学刊), 2005, 23: 261.
  - 18 Liu CJ, Li X, Yang YH. Ultrasonic extraction of root mites from *actinidia chinensis* and its antioxidant activity in vitro [J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2012, 33: 300-304.
  - 19 Chen YX, Tang YJ. A drug combination for treating hepatitis B: CN200510031908. X [P]. 2007-01-24.
  - 20 Basile A, Vuotto ML, Violante U, et al. Antibacterial activity in act in *idiachinensis*, *Feijoa sellowiana* and *Aberia caffra* [J]. Int J Antimicrob Ag, 1997, 8: 199-203.
  - 21 Liu YJ, Liu JF, Tian XY, et al. Study on hypoglycemic and blood lipid activity of soft jujube kiwifruit polysaccharide [J]. Food Sci Biotechnol(食品与生物技术学报), 2012, 31(1): 86-89.
  - 22 David R, Julio C. Is it reliable to take the molecular docking top scoring position as the best solution without considering available structural data? [J]. Molecules, 2018, 23: 1038-1051.
- 
- (上接第 205 页)
- 39 Wang YF. Studies on intervention effects of GSE on depression [D]. Chengdu: Chengdu University of TCM(成都中医药大学), 2009: 22-23.
  - 40 Brorson  $\phi$ , et al. Grapefruit seed extract is a powerful in vitro agent against motile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi sensu lato* [J]. Infection, 2007, 35: 206-208.
  - 41 Lee HS, et al. Antimicrobial and biodegradable PLGA medical sutures with natural grapefruit seed extracts [J]. Mater Lett, 2013, 95: 40-43.
  - 42 Choi JS. Seed-surface disinfection and germination effects of grapefruit seed extract (GSE) on *Lactuca sativa* seeds [J]. Toxicol Environ Health, 2017, 9: 169-175.
  - 43 Woo CG, et al. Treatment of air filters using the antimicrobial natural products propolis and grapefruit seed extract for deactivation of bioaerosols [J/OL]. Aerosol Sci Tech, 2015.
  - 44 Alonso D, et al. Chitosan-based microcapsules containing grapefruit seed extract grafted onto cellulose fibers by a non-toxic procedure [J]. Carbohydr Res, 2010, 345: 854-859.
  - 45 Anon. Natural sourcing presents antimicrobial grapefruit seed extract for personal care uses [J]. Focus on Surfactants, 2013, 4: 4.