

DOI 10.19656/j.cnki.1002-2406.20230606

白芷在斑马鱼中的降血糖作用及分子对接研究

赵康琦¹, 金爱静¹, 王晓月¹, 王艳¹, 宋美营², 汤建¹✉, 闻崇炜²

(1. 亳州学院中药学院, 安徽 亳州 236800; 2. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013)

【摘要】目的:初步确定白芷对斑马鱼的降糖作用,并通过分子对接分析其降血糖作用的主要活性成分和关键的结合蛋白。方法:1%葡萄糖诱导6月龄雄性斑马鱼建立高糖模型,以二甲双胍(5 mg/L)为阳性对照药,白芷75%乙醇提取物低剂量组(含生药量66 mg/L)和高剂量组(含生药量200 mg/L),连续给药7 d,断尾测血糖。分子对接中以白芷中含量较高的欧前胡素(1)、异欧前胡素(2)等16个化合物为配体,蛋白酪氨酸磷酸酶-1B(PTP1B)等6个蛋白为受体,采用AutoDock Vina软件进行对接,依据结合能虚拟筛选白芷中降血糖活性成分并初步确定降糖关键蛋白。结果:白芷有明显的降斑马鱼高血糖作用,低剂量组和高剂量组斑马鱼的血糖值较模型组分别降低了27.1%和41.2%。分子对接中香豆素类化合物1~5和9、倍半萜类化合物10的结合能较化合物11~16更高,其中氧化前胡素(4)与醛糖还原酶(AR)的结合力最强,结合能为-9.2 kcal/mol,欧前胡素(1)、珊瑚菜素(3)、白当归脑(6)与AR间的结合能也较高,均超过-9.0 kcal/mol。异欧前胡素(2)、水合氧化前胡素(5)与过氧化酶增殖受体(PPAR γ)、二肽基肽酶-IV(DPP-IV)和PTP1B的结合能力也较强,均超过-7.5 kcal/mol。结论:白芷具有降血糖作用,其主要物质基础可能是香豆素类成分;蛋白AR、PPAR γ 、PTP1B、DPP-IV是其潜在的作用靶点。

【关键词】白芷;降血糖;分子对接;香豆素;醛糖还原酶

【引用格式】

赵康琦,金爱静,王晓月,等.白芷在斑马鱼中的降血糖作用及分子对接研究[J].中医药信息,2023,40(6):32-37.

ZHAO K Q, JIN A J, WANG X Y, et al. Blood sugar-reducing effect of *Angelica dahurica* Radix on zebrafish and its molecular docking study[J]. Information on TCM, 2023, 40(6):32-37.

白芷为伞形科当归属植物白芷[*Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f.]或杭白芷[*A. dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan]的干燥根,具解表散寒、祛风止痛、宣通鼻窍等功效,是临床常用中药材^[1-2]。目前关于白芷的药理活性研究主要集中在抗炎镇痛方面,其主要的药效物质基础是香豆素和挥发油^[3-4]。也有报道白芷具有一定的降血糖活性,在2型糖尿病大鼠模型中,白芷乙醇提取物具有明显的降血糖作用^[5]。白芷甲醇提取物能通过激活G蛋白偶联受

体119(GPR119),有效提高正常和db/db C57BL/6小鼠的血糖耐受性,其中香豆素类化合物珊瑚菜素激活GPR119作用最强^[6]。此外珊瑚菜素还可有效诱导脂肪细胞分化,是过氧化酶增殖受体(PPAR)激动剂,有类似胰岛素的分化诱导活性^[7]。SHIN等^[8]检测了白芷中呋喃香豆素可改善糖性白内障和糖尿病,其机制是抑制醛糖还原酶(AR)。

随着生活方式的改变与饮食结构的变化,2型糖尿病的发病率呈逐年上升趋势,且发病年龄趋向年轻化。新的降糖药物,特别是新机制的降糖药物是重要

基金项目:安徽省高等学校自然科学研究项目(KJ2019ZD80);安徽省大学生创新创业训练计划项目(20221292681);亳州学院科研项目(BYP2021Z01)

第一作者简介:赵康琦(1978-),女,助理实验师,主要从事中药降血糖研究工作。

✉通信作者简介:汤建(1977-),男,教授,主要从事中药资源及活性成分筛选研究工作。

研究领域^[9]。中药具有多途径、多靶点、多环节的整体调节特点,在降血糖以及并发症治疗方面具有独特的优势,是近年来的研究热点^[10]。

本文采用斑马鱼模型,初步评价白芷75%乙醇提取物的降血糖作用;并采用分子对接(molecular docking)技术进一步分析药材中16个主要成分(配体)和6个降血糖相关靶点蛋白间的结合能,筛选出可能具有降血糖作用的白芷成分,初步探讨其降血糖作用机制。

1 材料

罗氏智航血糖仪(罗氏诊断产品上海有限公司); ChemOffice Professional 软件(美国PerkinElmer公司)中的ChemDraw和Chem3D模块;AutoDock Tools1.5.6、AutoDock Vina(美国The Scripps Research Institute); PyMOL(TM) 1.7.4.5 Edu(美国Schrodinger, LLC公司); Discovery Studio 2016 client(美国BIOVIA公司); 斑马鱼AB系(上海费曦生物科技有限公司);二甲双胍(上海信宜天平药业有限公司,批号:67210753);白芷饮片(安徽亳州中药材市场,批号:20220216)。

2 方法

2.1 白芷提取物的制备

白芷粉末(约20目)10 g,加75%乙醇150 mL,回流提取2 h,过滤,滤渣再加75%乙醇150 mL,回流提取2 h。合并两次提取液,旋转蒸除大部分溶剂至糊状,于-20℃存放12 h,冷冻干燥28 h,得土黄色粉末1.96 g,得率19.6%。

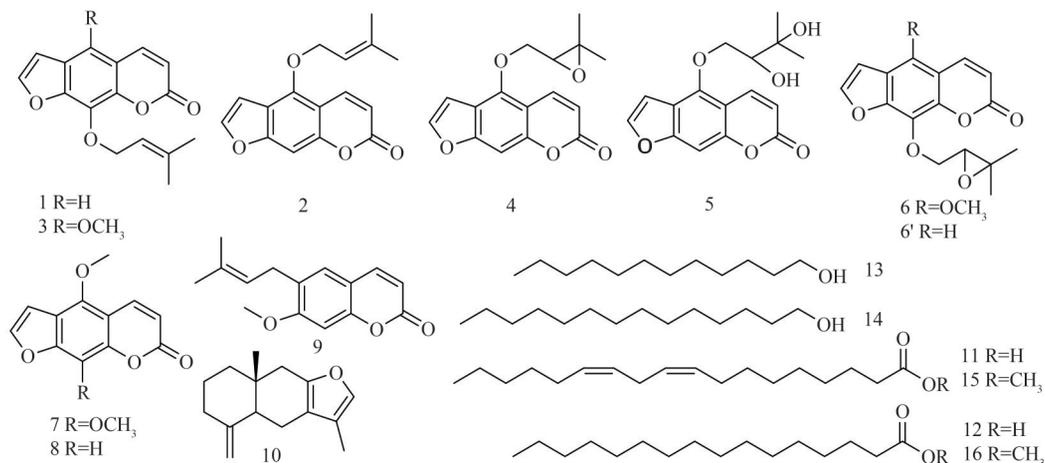


图1 白芷中主要成分(1-16)的化学结构

使用ChemDraw绘制分子平面结构,Chem3D转化成三维结构,MM2处理后保存为mol2文件。采用AutoDock Tools1.5.6对化合物进行加氢等处理,保存为pdbqt文件,以备分子对接。

2.2 白芷提取物降血糖作用研究

6月龄的雄性斑马鱼分为空白组(饲养用水)、模型组(1%葡萄糖)、低剂量组(1%葡萄糖+66 mg/L白芷生药材)、高剂量组(1%葡萄糖+200 mg/L白芷生药材)、阳性对照组(1%葡萄糖+5 mg/L二甲双胍),每组10条。先用1%葡萄糖(空白组用饲养用水)培养斑马鱼7 d,每天更换水体;给药组从第8天开始在饲养用水中添加白芷醇提取物(终浓度分别为66、200 mg/L),阳性对照组添加5 mg/L二甲双胍。连续7 d,每天更换水体。7 d后将鱼捞出,清水洗去残留葡萄糖,置冰水(0℃)内,鱼僵化后取出,吸干鱼表面水分,尾鳍向前3~4 mm处切断鱼尾,试纸条尾部吸入血液,血糖仪检测血糖值。

2.3 分子对接研究

2.3.1 白芷主要成分(配体)的确定

根据前期液相和气相检测结果,选取白芷中含量较为丰富的16个化合物,分别是欧前胡素(imperatorin, 1)、异欧前胡素(isoimperatorin, 2)、珊瑚菜素(phellopterin, 3)、氧化前胡素(oxypeucedanin, 4)、水合氧化前胡素(oxypeucedaninhydrate, 5)、白当归脑(byakangelicol, 6)、异虎耳草素(isopimpinellin, 7)、佛手柑内酯(bergapten, 8)、软木花椒素(suberosin, 9)、苍术酮(atractylon, 10)、亚油酸(linoleic acid, 11)、棕榈酸(palmitic acid, 12)、月桂醇(1-dodecanol, 13)、十四醇(tetradecanol, 14)、亚油酸乙酯(ethyl linoleate, 15)和棕榈酸乙酯(ethyl palmitate, 16)。主要为香豆素类、倍半萜类、脂肪酸(醇)类等。化学结构式见图1。

2.3.2 靶点蛋白的确定

查阅相关文献资料,选择与降血糖活性密切相关的蛋白酪氨酸磷酸酶-1B(PTP1B)、胰高血糖素样肽受体(GLP-1)、二肽基肽酶-IV(DPP-IV)、过氧化

酶增殖受体(PPAR γ)、醛糖还原酶(AR)、脂肪酸受体(GPR40)共6个蛋白为对接受体^[9-15]。从PDB数据库(<https://www.rcsb.org>)中下载其pdb文件,依次经PyMOL和AutoDock Tools1.5.6软件进行预处理,保存为pdbqt文件。见表1。

表1 降血糖相关靶点蛋白

蛋白名称	PDB ID	晶格中心(x,y,z)
蛋白酪氨酸磷酸酶-1B(PTP1B)	5T19	-2.262,64.073,3.083
胰高血糖素样肽受体(GLP-1)	3IOL	-6.005,-16.539,13.545
二肽基肽酶-IV(DPP-IV)	5ISM	41.473,49.899,36.858
过氧化酶增殖受体(PPAR γ)	6MD4	18.485,64.662,14.466
醛糖还原酶(AR)	4XZI	5.224,4.586,35.917
脂肪酸受体(GPR40)	4PHU	-49.778,-2.096,60.175

2.3.3 Autodock Vina 软件对接

设置 AutoDock Tools1.5.6 软件各个靶蛋白对接时的晶格中心和对接空间(Grid Box),对接空间(Grid Box)的尺寸为:30 nm × 30 nm × 30 nm,能量范围为4,均方根偏差(RMSD)在2Å 范围内。得到化合物(配体)和6个靶点蛋白分的能量结合能,受体与其原配体结合能为阈值,结果见表2。结合能力强且结合能优于或接近阈值的化合物被认为是白芷中的降血糖活性成分,据此确定潜在的降血糖靶点。

表2 16个化合物与6种受体对接结合能(kcal/mol)

PDB ID	5T19	3IOL	5ISM	6MD4	4XZI	4PHU	R2
1	-8.0	-7.6	-7.9	-8.0	-9.0	-7.3	-8.0
2	-8.5	-7.0	-7.6	-8.0	-8.9	-7.1	-7.9
3	-6.3	-7.5	-7.7	-8.1	-9.1	-7.2	-7.7
4	-8.1	-7.2	-7.4	-8.1	-9.2	-6.4	-7.7
5	-8.4	-7.0	-7.5	-7.6	-8.9	-6.9	-7.7
6	-6.6	-7.5	-7.9	-8.1	-9.1	-6.4	-7.6
7	-6.4	-6.5	-6.8	-7.1	-7.6	-6.4	-6.8
8	-8.1	-6.2	-6.9	-7.0	-7.9	-6.4	-7.1
9	-8.4	-6.6	-7.4	-8.1	-8.8	-6.4	-7.6
10	-6.3	-6.8	-8.3	-6.7	-8.9	-7.0	-7.3
11	-4.2	-4.4	-4.4	-5.0	-6.9	-4.4	-4.9
12	-4.3	-4.1	-4.5	-5.0	-6.7	-3.4	-4.7
13	-4.1	-4.1	-4.2	-4.4	-5.8	-4.3	-4.5
14	-4.4	-3.8	-4.1	-4.4	-5.9	-3.2	-4.3
15	-3.9	-4.1	-4.1	-5.6	-7.0	-4.0	-4.8
16	-3.5	-4.3	-4.9	-4.6	-6.0	-4.4	-4.7
R1	-6.2	-5.9	-6.3	-6.6	-7.8	-5.7	—
阈值	-9.6	-5.6	-7.4	-6.5	-8.6	-9.1	—

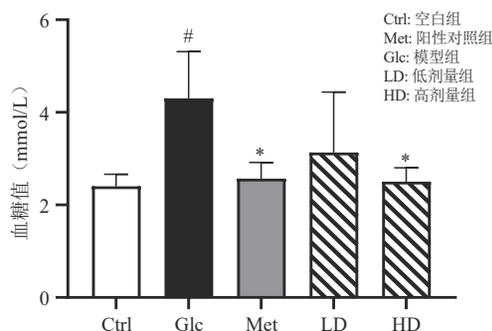
注:R1为某一蛋白与化合物结合能的平均值;R2为某一化合物与蛋白结合能的平均值。

3 结果

3.1 白芷提取物的降血糖作用

6月龄雄性斑马鱼用浓度为1%的葡萄糖溶液连续

培养7 d后,模型组(Glc)斑马鱼的血糖为4.30 mmol/L,约是空白组(Ctrl)的1.8倍($P < 0.05$),斑马鱼高血糖模型是成功的。阳性对照组斑马鱼血糖值是2.57 mmol/L,较模型组降低40.3%($P < 0.05$),但仍高于空白组的正常血糖值2.40 mmol/L。低剂量组、高剂量组的血糖值分别是3.10 mmol/L和2.50 mmol/L,较模型组分别降低27.1%和41.2%,其中高剂量组的血糖值低于阳性对照组。见图2。



注:与Ctrl比较,* $P < 0.05$;与Glc比较,# $P < 0.05$ 。

图2 各组斑马鱼血糖值检测比较

3.2 分子对接分析

香豆素类化合物1~9与6种蛋白进行分子对接所得的结合能在-6.2~-9.2 kcal/mol之间,倍半萜类化合物10与6种靶点蛋白对接所得的结合能在-6.3~-8.9 kcal/mol之间,二者普遍高于脂肪酸(醇)类化合物11~16的结合能,并且香豆素1~5是白芷中含量最为丰富的小分子化合物,故推测白芷香豆素可能是白芷降血糖活性组分。5T19(PTP1B)、3IOL(GLP-1)、5ISM(DPP-IV)、6MD4(PPAR γ)、4XZI(AR)和4PHU(GPR40)等6种蛋白与香豆素1~9的结合能均值分别为-7.6、-7.0、-7.5、-7.8、-8.7、-6.7 kcal/mol,其中对香豆素最为敏感的是AR,另外PPAR γ 、PTP1B、DPP-IV与香豆素的结合能均值也较高。相对而言,GLP-1、GPR40与白芷香豆素的结合能普遍偏低,特别是脂肪酸(醇)类组分,结合能低于-4.4 kcal/mol。说明AR、PPAR γ 、PTP1B、DPP-IV等四种蛋白可能是白芷治疗糖尿病及其并发症的重要靶点。见表2。

香豆素类化合物1、3、4和6对蛋白4XZI的结合能均超过-9.0 kcal/mol,其中化合物4与4XZI的结合能最强,为-9.2 kcal/mol。化合物3、6与4XZI的结合能也较高,均为-9.1 kcal/mol。关于珊瑚菜素(3)降血糖潜力的预测与文献^[7]的报道是一致的。香豆素1、2、4、5、8、9对5T19的结合能均高于-8.0 kcal/mol,但低于阈值-9.6 kcal/mol。香豆素1~4对6MD4的结合能较高,分别是-8.0、-8.1 kcal/mol,且高于阈值-6.5 kcal/mol。倍半萜苍术酮(10)虽然含量较低,但其与蛋白4XZI、

5ISM的结合能较高,分别为-8.9、-8.3 kcal/mol,说明苍朮酮有降血糖的可能性,这与文献^[11]预测的结果是一致的。

化合物1与4XZI的PHE115等5个氨基酸残基之间存在范德华力;羰基O与SER302之间形成氢键;内酯环与LEU300、咪唑环与VAL47之间、异戊烯基末端甲基与HIS110、TRP111、TRP79、TYP48间存在 π - π 疏水作用;异戊烯基末端甲基与TYR20之间存在 π - σ 作用。见图3A。

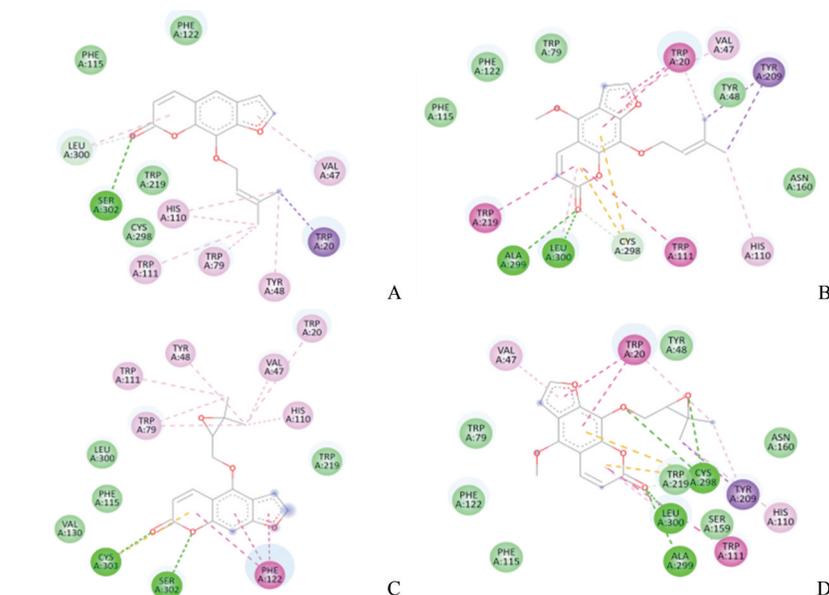
化合物3与4XZI的PHE115等7个氨基酸残基之间存在范德华力;羰基O与ALA299、LEU300之间形成氢键;内酯环与TRP219、TRP111之间,苯环、咪唑环与TRP20间存在 π - π 作用;苯环、内酯环与CYS298氨基酸残基之间存在 π -硫元素作用;异戊烯基末端甲基与TYR209之间存在 π - σ 作用,与HIS110、TRP20等之间存在 π - π 作用。见图3B。

化合物4与4XZI中的LEU300等4个氨基酸残基

之间存在范德华力;内酯环中的两个O分别与SER302、CYS303之间形成氢键;咪唑环、苯环、内酯环与PHE122之间存在 π - π 作用;内酯环与CYS303之间存在 π -硫元素作用;环氧异戊基末端甲基与TRP20之间存在 π - σ 作用;环氧异戊烯基末端甲基与HIS110等6种氨基酸残基之间存在 π - π 作用。见图3C。

化合物6与4XZI中的PHE122等7个氨基酸残基之间存在范德华力;环氧异戊基片段中的两个O与CYS298、羰基O与ALA299、LEU300之间形成氢键;咪唑环、苯环与TRP20、内酯环与TRP111之间存在 π - π 作用;苯环、内酯环与CYS298之间存在 π -硫元素作用;咪唑环与VAL47间、环氧异戊基末端甲基与TRP20、TYR209、HIS110之间存在 π - π 作用,其中一个甲基还与TYR209存在 π - σ 作用。见图3D。

化合物1、3、4和6与4XZI间存在明显的氢键等作用力,这较好地解释了这些化合物与蛋白4XZI间的结合能较高的原因。



注:A为化合物1;B为化合物3;C为化合物4;D为化合物6。

图3 化合物与靶蛋白4XZI对接的2D图

进一步分析化合物结构与结合能,发现含有异戊烯基片段的化合物(1~3,9)及其氧化产物的化合物(4~6)均有较强的结合能,即便是缺少咪唑环的化合物9对5T19、5ISM、6MD4、4XZI等四种蛋白的结合能也有-7.4~-8.8 kcal/mol。相比而言,仅有甲氧基的化合物(7和8),除5T19与8之间的结合能较高(-8.1 kcal/mol)之外,其他的结合能普遍较低。异戊烯基片段在5位还是8位,对化合物的结合能无明显影响。如化合物1和2,对5T19、5ISM、6MD4、4XZI的结合能无明显差异。异戊烯基片段的氧化程度(1与5比较,2与4比

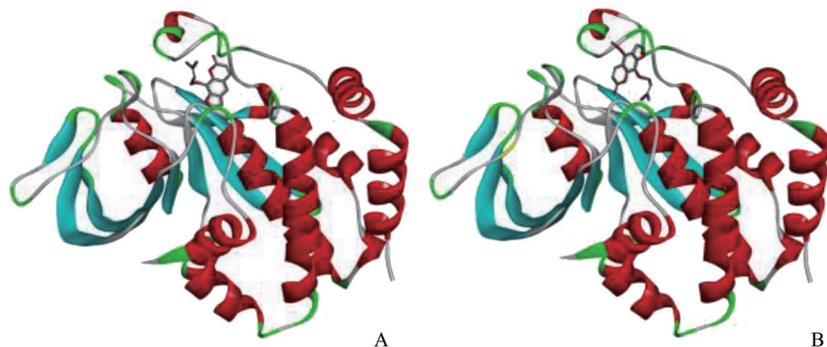
较)也无明显影响。

但异戊烯基对位的甲氧基可能会对结合能有较大影响。如化合物3中5-OCH₃的存在,降低了其与5T19的结合能。进一步分析2D图,和化合物1相比,虽然化合物3与5T19间多了1个氢键,但结合力低于化合物1,这可能是因为化合物1中的3个环与蛋白更靠近的缘故,见图4。

相比化合物6'(6'不是白芷中的主要化学成分,此处仅是为了分子对接而绘制的结构,结合能为-8.2 kcal/mol),化合物6多了5-OCH₃,这明显降低了

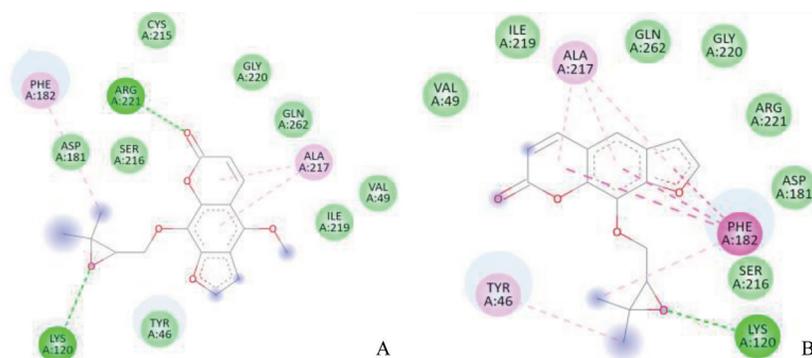
化合物6与5T19的结合能。2D图显示,化合物6与5T19间存在2个氢键,化合物6'与5T19间存在1个氢键和3个 $\pi-\pi$ 键,较前者的结合能更高,见图5。这在一

定程度上也解释了化合物6的结合能(binding energy)明显弱于化合物4(-8.1 kcal/mol)的原因。但这一规律,在其他的3种蛋白(5ISM、6MD4、4XZI)中并未出现。



注:A为化合物1;B为化合物3。

图4 化合物1和化合物3与靶蛋白5T19对接的3D图



注:A为化合物6;B为化合物6'。

图5 化合物6和化合物6'与靶蛋白5T19对接的2D图

4 讨论

糖尿病是最常见的慢性疾病之一,且伴有严重并发症,预计到2040年,其患病率将超过全球成年人口数的10%。因此,糖尿病已成为威胁人类健康的严重危机,急需找到有效的治疗策略^[9-10]。

胰岛素抵抗是糖尿病的发病机制,PTP1B是一种非跨膜磷酸酪氨酸磷酸酶家族成员,研究表明PTP1B是胰岛素信号通路中的关键负调控因子,其是治疗高血糖的潜在靶点^[12]。DPP-IV抑制剂通过抑制DPP-IV减少GLP-1的降解,增加GLP-1的血浆浓度,从而改善餐后血糖^[10,13]。PPAR γ 属于核受体超家族成员,其激动剂可通过多种途径改善胰岛素敏感性,例如调节糖脂代谢、抗炎作用以及间接地改善氧化应激状态^[14]。AR抑制剂是治疗糖尿病并发症的重要药物之一,可通过抑制体内高血糖状态下被激活的多元醇通路中醛糖还原酶的活性减少山梨醇的蓄积,预防和延缓糖尿病及其并发症的发生和发展^[15]。

香豆素类化合物具有广泛的药理活性,关于白芷香豆素的药理活性也有报道,包括抑制PTP-1B^[12]、抑制AR活性,其中白当归素对AR的抑制作用最为显

著,抑制率达80%^[16-17]。白芷提取物以及主要成分欧前胡素、珊瑚菜素均可以上调PPAR γ ,具有基于该机制的降血糖潜力^[7,18]。本实验中,白芷乙醇提取物对1%葡萄糖致斑马鱼高血糖有显著抑制作用,进一步确定了白芷的降血糖作用。进一步的分子对接表明,白芷香豆素与经典的降血糖靶点PTP1B、DPP-IV、PPAR γ 均有较强的结合能力。特别是对糖尿病并发症关键蛋白AR具有最高的结合能力,多个化合物的结合能超过-9.0 kcal/mol。虽然目前关于白芷降血糖的报道较少,但本次实验证明白芷药材具有降血糖的潜力,后续的研究中将会进一步研究白芷香豆素类化合物的降血糖活性和相关机制,特别是糖尿病并发症方面的活性研究,为该药材的开发提供科学依据。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:109-110.
- [2] 王艺涵,赵佳琛,翁倩倩,等. 经典名方中白芷的本草考证[J]. 中国现代中药,2020,22(8):1320-1330.
- [3] 王蕊,刘军,杨天宇,等. 白芷化学成分与药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2020,37(2):123-128.
- [4] 薛艳萍,秦旭华,胡黄婉莹,等. 白芷总香豆素和挥发油镇痛抗炎

- 作用的比较研究[J]. 中国民族民间医药, 2016, 25(8): 20 – 25.
- [5] 黄娟娟. 有氧运动联合白芷、怀牛膝提取物干预对2型糖尿病大鼠糖脂代谢及氧化应激的影响[D]. 开封: 河南大学, 2016: 3 – 10.
- [6] PARK E Y, KIM E H, KIM C Y, et al. *Angelica dahurica* extracts improve glucose tolerance through the activation of GPR119 [J]. PLoS One, 2016, 11(7): e0158796.
- [7] HAN H S, HYELIN J, KANG S C. Phellopterin isolated from *Angelica dahurica* reduces blood glucose level in diabetic mice [J]. Heliyon, 2018, 4(3): e00577.
- [8] SHIN K H, CHUNG M S, CHO T S. Effects of furanocoumarins from *Angelica dahurica* on aldose reductase and galactosemic cataract formation in rats [J]. Archives of Pharmacal Research, 1994, 17(5): 331 – 336.
- [9] 涂珺, 许文华. 糖尿病临床分型及治疗药物的研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(4): 557 – 564.
- [10] 王晨, 陶庆春, 娄锡恩. 中药治疗糖尿病机制研究进展[J]. 环球中医药, 2022, 15(1): 152 – 158.
- [11] 周域, 陆建图, 张小丁, 等. 苍术酮潜在靶点预测及正向分子对接验证[J]. 邵阳学院学报: 自然科学版, 2019, 16(1): 98 – 104.
- [12] 孙程. PTP1B潜在抑制剂: 香豆素衍生物的合成及体外活性检测[D]. 天津: 南开大学, 2013: 3 – 15.
- [13] 曹筱佩. 二肽基肽酶4抑制剂在东亚2型糖尿病患者中的应用与机制探讨[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2017, 33(12): 1071 – 1074.
- [14] 成峰, 沈建华, 罗小民, 等. PPAR γ 激动剂的研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2003, 13(2): 110 – 118.
- [15] 赵雨婷, 冯心池. 中药来源醛糖还原酶抑制剂的研究进展[J]. 药物评价研究, 2021, 44(6): 1338 – 1345.
- [16] OKADA Y, MIYAUCHI N, SUZUKI K, et al. Search for naturally occurring substances to prevent the complications of diabetes. II. Inhibitory effect of coumarin and flavonoid derivatives on bovine lens aldose reductase and rabbit platelet aggregation [J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1995, 43(8): 1385 – 1387.
- [17] KATO A, KOBAYASHI K, NARUKAWA K, et al. 6, 7-Dihydroxy-4-phenylcoumarin as inhibitor of aldose reductase 2 [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2010, 20(19): 5630 – 5633.
- [18] LU X, YUAN Z Y, YAN X J, et al. Effects of *Angelica dahurica* on obesity and fatty liver in mice [J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2016, 14(9): 641 – 652.

(收稿日期: 2022 – 10 – 19)

Blood Sugar – Reducing Effect of *Angelica dahurica* Radix on Zebrafish and Its Molecular Docking Study

ZHAO Kangqi¹, JIN Aijing¹, WANG Xiaoyue¹, WANG Yan¹, SONG Meiyong², TANG Jian^{1✉}, WEN Chongwei²

(1. School of Chinese Materia Medica, Bozhou University, Bozhou 236800, China;

2. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

【Abstract】 Objective: To determine the blood sugar – reducing effect of *Angelica dahurica* Radix (ADR), and to analyze the main bioactive components and target proteins of its blood sugar – reducing effect based on molecular docking. Methods: A hyperglycemic model of six month male zebrafish was established by exposing to 1% glucose solution, then administrated with Metformin (5 mg/L), low – dose of ADR (equal to 66 mg/L herbs) and high – dose ADR (equal to 200 mg/L herbs) for another 7 days. The tail was cut and blood – glucose readings were taken by a glucometer. 16 compounds like imperatorin (1) and isoimperatorin (2) were chosen as ligands, and 6 proteins including protein tyrosine phosphatase – 1B (PTP1B) were selected as receptors. The 16 compounds were docked with receptors separately via software AutoDock Vina, and the hypoglycemic active components of ADR and the target proteins were virtually screened according to the scores. Results: Low – dose and high – dose ADR decreased the blood glucose level by 27.1% and 41.2% compared to the model group. Coumarins 1 ~ 5 and 9, as well as sesquiterpene 10 had higher binding affinity than compounds 11 ~ 16; among them, oxypeucedanin (4) had the strongest affinity of –9.2 kcal/mol to aldose reductase (AR); imperatorin (1), phellopterin (3) and byakangelicol (6) also had high affinity above –9.0 kcal/mol to AR; isoimperatorin (2) and oxypeucedaninhydrate (5) had high affinity above –8.4 kcal/mol to peroxisome proliferator – activated receptor γ (PPAR γ), dipeptidyl peptidase – IV (DPP – IV) and PTP1B. Conclusion: ADR had an obvious blood sugar – reducing effect on zebrafish, probably based on the contained coumarins. AR, PPAR γ , PTP1B and DPP – IV were sensitive to coumarins in ADR as potential targets.

【Key words】 *Angelica dahurica* Radix; Blood sugar-reducing; Molecular docking; Coumarin; Aldose reductase