Hans Journal of Computational Biology 计算生物学, 2018, 8(3), 41-48
Published Online September 2018 in Hans. http://www.hanspub.org/journal/hjcb
https://doi.org/10.12677/hjcb.2018.83006

Hans汉斯

Study of E-Oligoresveratrol Compounds Bactericidal Mechanism Based on Reversed Docking

Biyu Lv[1], Kun Liu[1], Yingjie Zheng[1], Qiangqiang Yang[2], Weiping Yin[1*]

[1]School of Chemical Engineering and Pharmaceutics, Henan University of Science and Technology, Luoyang Henan
[2]Pharmaceutical Engineering Major, Life Science and Environmental Science Research Centre of Harbin University of Commerce, Harbin Heilongjiang
Email: *yinwp@haust.edu.cn

Received: Aug. 13th, 2018; accepted: Aug. 27th, 2018; published: Sep. 3rd, 2018

Abstract

A study on bactericidal mechanism of E-Oligoresveratrol compounds is by reverse molecular docking method. The PBP2a protein (PDB ID:4CJN) displayed with the highest matching degree from MRSA receptor based on the direct drug designed through the receptor. Comparing between pharmacophore model of the target protein and vancomycin molecular, the results showed that the E-Oligoresveratrol compound played the antibacterial role as glycoprotein peptide antibiotics and had the potential of antibacterial for the natural products. The study revealed that it could be effectively applied to the screening of new drug lead compounds for potential target proteins of small molecular probes.

Keywords

E-Oligoresveratrol Compounds, Natural Products, Bactericidal Mechanism, Reverse Molecular Docking

基于反向分子对接的E-低聚白藜芦醇化合物杀菌机制研究

吕碧玉[1]，刘　坤[1]，郑莹杰[1]，杨强强[2]，尹卫平[1*]

[1]河南科技大学化工与制药学院，河南　洛阳
[2]哈尔滨商业大学，生命科学与环境科学研究中心，制药工程专业，黑龙江　哈尔滨

*通讯作者。

文章引用: 吕碧玉, 刘坤, 郑莹杰, 杨强强, 尹卫平. 基于反向分子对接的 E-低聚白藜芦醇化合物杀菌机制研究[J]. 计算生物学, 2018, 8(3): 41-48. DOI: 10.12677/hjcb.2018.83006

Email: *yinwp@haust.edu.cn

收稿日期：2018年8月13日；录用日期：2018年8月27日；发布日期：2018年9月3日

摘　要

利用反向分子对接方法对E-低聚白藜芦醇化合物的杀菌机理进行研究。通过受体的直接药物设计方法，筛选得到来自MRSA的PBP2a蛋白(PDB ID:4CJN)匹配度最高的为对接受体蛋白。基于靶蛋白药效团模型与万古霉素的研究比较，结果显示E-低聚白藜芦醇化合物似糖肽类抗生素发挥抗菌杀菌作用，是具抗生素潜能的天然产物。研究揭示了小分子探针的潜在靶标蛋白的搜寻及配体-受体的反向对接，可有效应用于新药先导化合物的筛选研究中。

关键词

E-低聚白藜芦醇化合物，天然产物，杀菌机制，反向分子对接

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).
http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Open Access

1. 引言

计算机辅助药物设计(Computer-aided drug design, CADD)的发展是随着结构生物学与计算化学的进程的加快，使得 CADD 技术在整个药物设计与开发中起着越来越重要的作用[1] [2] [3]。如今 CADD 技术介入药物研究最多的领域是针对某一个药物的作用靶标[4]，在已经开发的化合物数据库搜寻筛选中，找到对该靶标具有特异作用的化合物。这些数据库包括以往的基于化学合成的商品化合物数据库的搜索以及近年来国内研究机构已经授权代理销售的 TCMD (中药化学数据库) [5]和 CNPD (中国天然产物数据库) [6]等。显然 CADD 技术一方面大大降低药物开发成本，节省有限的实验资源，另一方面大大缩短药物开发周期，加快新药的发现与制备速度成为国内外目前十分活跃的研究领域。2001 年反向分子对接(inverse docking)概念的提出[7]，以其特有的高效便利等特点，为药物靶点的发现和确认提供了新的思路。基于药物靶分子虚拟筛选构成的两个方面，分为基于受体结构的筛选和基于配体结构的筛选，如 INVDOCK、TarFis Dock、PharmMapper [8]等软件工具被相继开发被提供后，越来越多的天然活性成分的靶点得以识别和验证，使进一步设计新作用特点的先导化合物或治疗药物高通量筛选成为可能，对新药创制具有源头创新意义。

具有重要生理功能和新颖结构的天然产物的发现和研究，是新药研究的主要来源。现有天然产物研究靶点信息学手段总结如图 1 所示。

2. 方法和原理

2.1. 天然产物 E-低聚白藜芦醇化合物杀菌机制靶点筛选以及分子对接模拟实验

2.1.1. 模型构建

以前期我们从植物化学研究发现的、来自芍药科牡丹籽中分离得到的低聚白藜芦醇类近 100 多种中

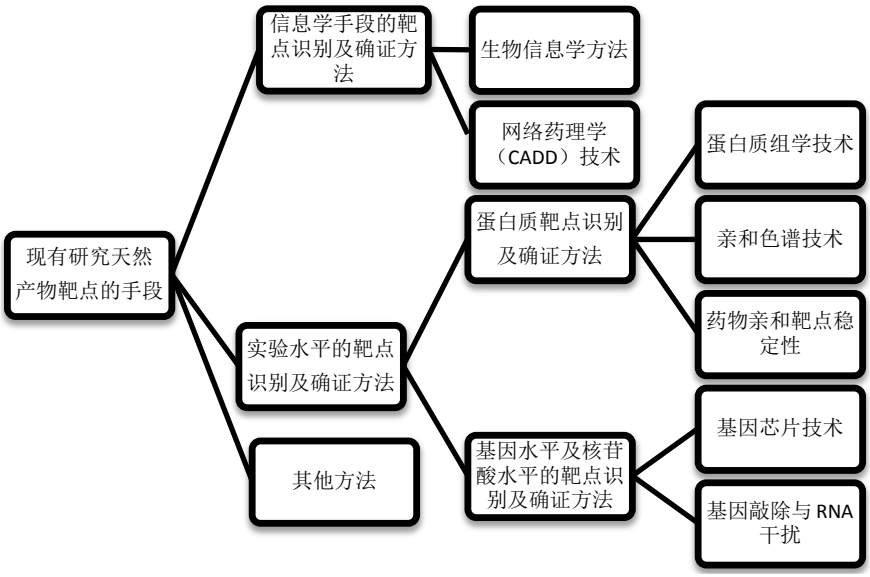


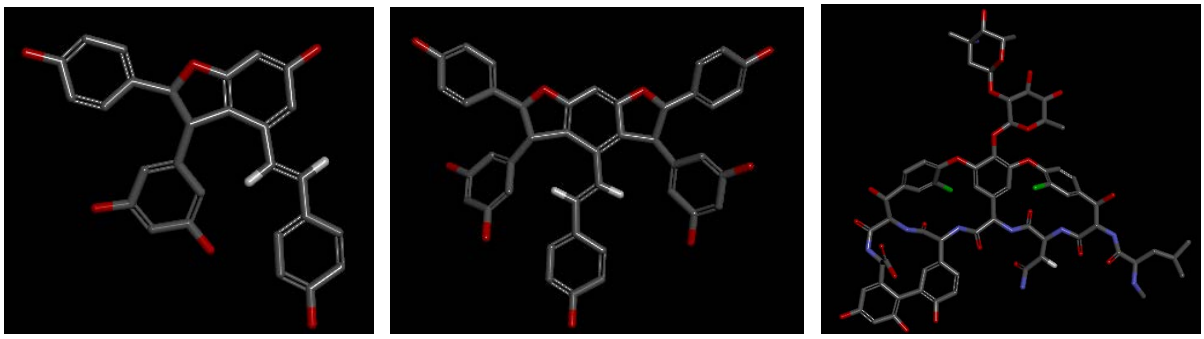
Figure 1. Existing natural products research target informatics means
图 1. 现有天然产物研究靶点信息学手段

[9] [10] [11] [12]，唯有 E-低聚白藜芦醇天然化合物 1 和化合物 2，具有极强的抗革兰氏阳性菌和抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA，分离株)的灭杀作用，详见化合物结构式如图 2 所示。实验采用药敏法体外筛选，结果显示化合物 1 的 MIC 值为 8 μg/mL，其 MBC 值为 16 μg/mL；化合物 2 的 MIC 值为 16 μg/mL，其 MBC 值为 64 μg/mL 当用万古霉素做阳性对照时，万古霉素 48 h 后产生了耐药性，因此断定化合物 1 和 2 具有抗生素样的新的抗生素先导化合物，具有替代抗耐药性抗生素潜能，这一研究具有重大科学理论意义。为取得该理论研究的突破，进一步对 E-低聚白藜芦醇化合物杀菌机制靶点进行筛选以及分子对接的模拟实验。实验的模型构建，即以化合物 1 和 2 以及阳性对照的万古霉素共三个化合物的分子结构提交给 PharmMapper server，经过对他们结构的优化，生成多种构象，选择全体蛋白靶标库，其他参数选为默认。PharmMapper sever 对配体小分子与其数据库中药效团自动匹配， 然后按匹配的打分高低排序。

2.1.2. 小分子探针的预处理

化合物 1 和 2 以及阳性对照的万古霉素共三个化合物的分子结构式如下图 2 所示。

然后利用 DS3.0 里的 Prepare Ligand 模块对这三个化合物进行预处理，结果显示化合物 1 共有十二种可能的空间构象，化合物 2 共有三十六种可能的空间构象，万古霉素则仅有两种可能的空间构象。然后得到 3 个不同化合物最优构象如下图所示。



2.1.3. 受体 PBP2a 靶蛋白的预处理

本次实验拟选择来自 MRSA 的 PBP2a 蛋白作为对接受体蛋白。在 PDB 蛋白数据库中找到 ID 为 4CJN 的靶蛋白下载并在 DS3.0 中打开，如图 3 所示。

通过对 PBP2a 靶蛋白的预处理并定义其受体蛋白的活性位点于 10 号活性区域，详见如图 4 所示。

2.1.4. 利用 Discovery Studio 3.0 对筛选结果进行分子对接验证筛选结果的实验操作

首先将受体蛋白与万古霉素进行分子对接，利用 DS 的 LibDock 模块进行模拟分子对接，模拟分析后可以得到分子对接绝对自由能(Absolute Energy)、对接姿式数(Conf Number)、相对自由能(Relative Energy)，以及 LibDock 综合打分(LibDock Score)等参数值，结果详见如表 1 所示。其中，该抑制剂与位点对接所需的能量是以相对自由能和绝对自由能来表征的，该对接位点的对接越紧密则绝对自由能和相对自由能越低，即抑制剂对该靶蛋白的抑制作用越强。抑制剂与该位点作用的可能性越大则对接姿势数匹配度越高。LibDock 模块综合绝对自由能、相对自由能和对接姿式数对该对接姿式的打分并给出 LibDock 综合打分；LibDock 综合得分越高，表明抑制剂对该位点的抑制作用越强。分子对接二维选取对接匹配度最高、对接姿势最好的进行评价。结果如图 5 所示。

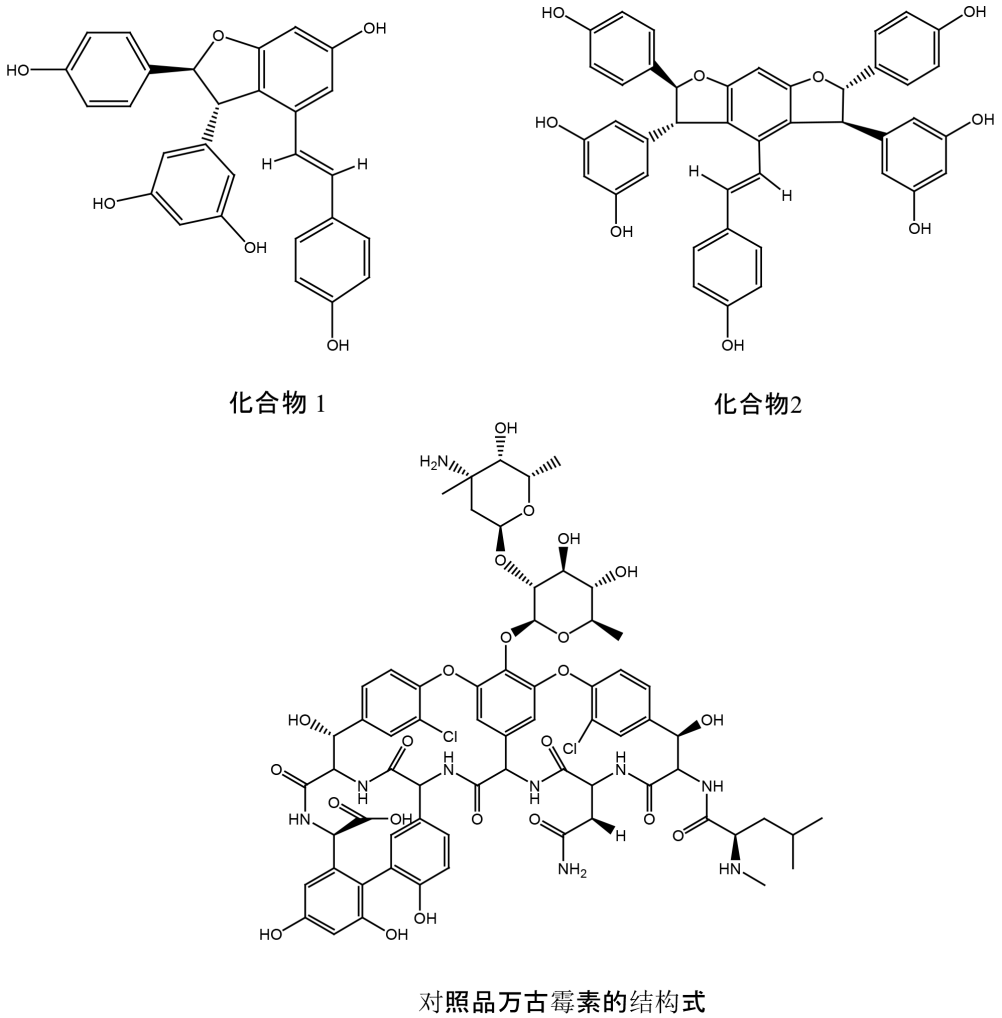


Figure 2. The structures of compounds 1 and 2 and vancomycin
图 2. 化合物 1 和 2 及万古霉素的结构式

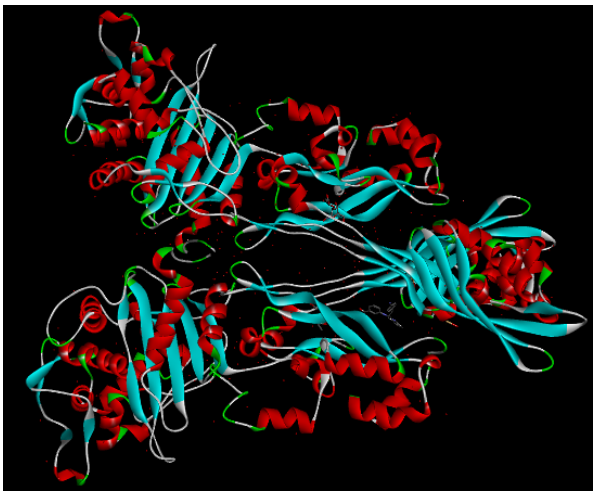


Figure 3. The 2D structures of PBP2a target protein
图 3. PBP2a 靶蛋白二级结构图示

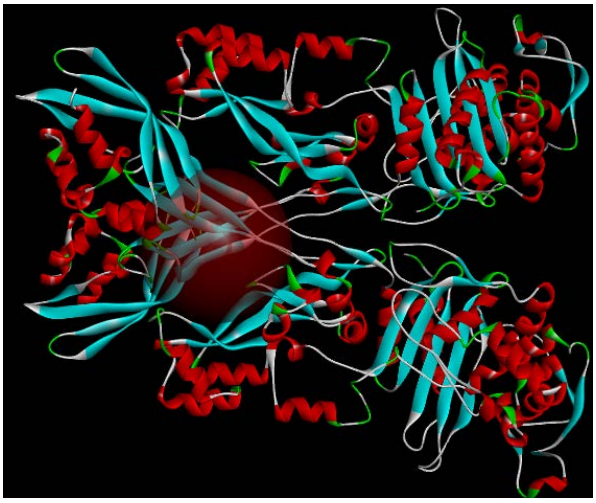
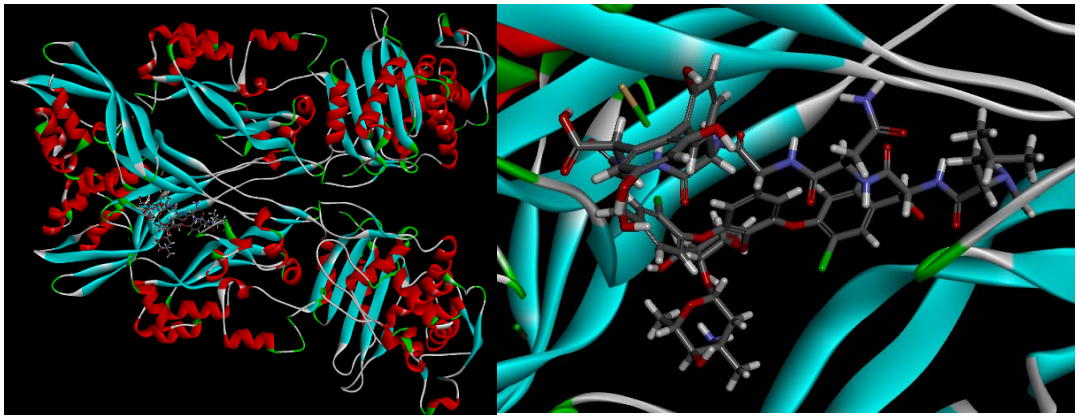
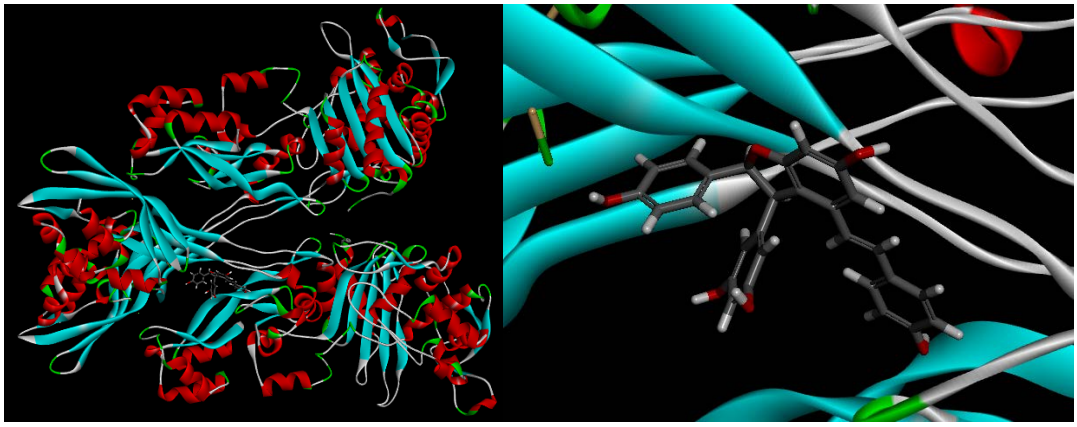


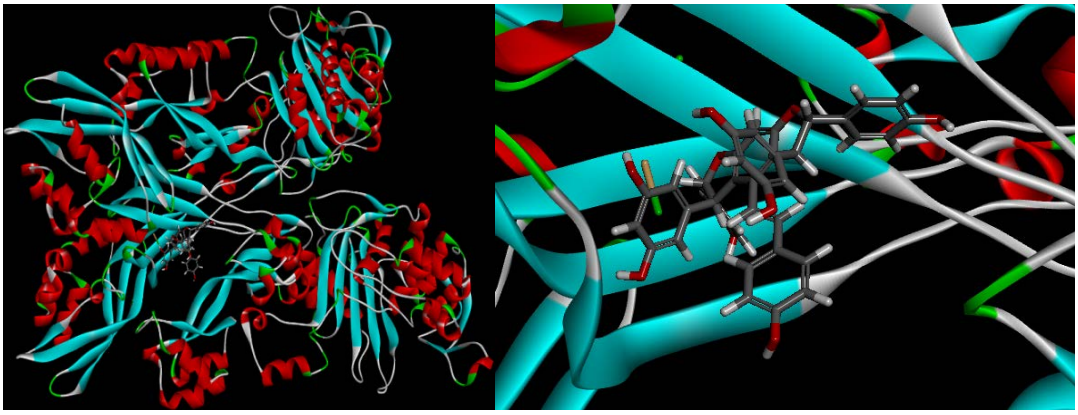
Figure 4. The defined active site of the PBP2a receptor protein
图 4. 定义的 PBP2a 受体蛋白的活性位点



(a) The docking result of vancomycin with PBP2a
(a) 万古霉素与 PBP2a 的对接结果



(b) The docking result of Compound 1 with PBP2a
(b) 化合物 1 与 PBP2a 的对接结果



(c) The docking result of Compound 2 with PBP2a
(c) 化合物 2 与 PBP2a 的对接结果

Figure 5. 2D diagram of three compound molecular dockings for receptor PBP2a protein. (a) vancomycin, (b) Compounds 1, (c) Compound 2
图 5. 3 个化合物与受体蛋白 PBP2a 的 2D 分子对接图。(a) 万古霉素，(b) 化合物 1，(c) 化合物 2

Table 1. Docking parameter table of ligand and PBP2a
表 1. 配体与 PBP2a 的对接参数表

Ligand Name	Absolute Energy	Conf Number	Relative Energy	LibDock Score
万古霉素	205.222	94	12.278	171.009
反式-ε-葡萄素	110.596	20	17.397	132.226
龙胆 H	157.704	5	1.75514	128.212

3. 结果与讨论

3.1. 生成配体-蛋白复合物对接模型构建与模拟结果分析

生成的配体-蛋白复合物对接模型评价方法 PharmMapper 服务器打分中 fit score 可以反映配体构型与药效团模型的叠合情况，因此本实验从上述表 1 的配体与 PBP2a 的对接参数表明，化合物 1 和 2 与阳性对照万古霉素对 PBP2a 的抑制作用相比，前者抑制活性稍弱于抗生素的万古霉素，这个结果与体外抑菌效果实验数据是吻合一致的。对比表 1 各项参数进一步分析可发现，如果从分子对接后形成的内能和对

接姿态及位点综合反应抑菌效果的话，化合物 1 抗菌潜能应最佳；我们的杀菌试验研究也相应表明，两个 E-低聚白藜芦醇化合物杀菌显著，但万古霉素 48 h 已产生耐药现象。这个分子对接揭示了基本结构与分子整体性及药效团与化学结构的药效规律。他们可总结为万古霉素分子基本结构与整体刚性强，分子对接构像难以发生变化，绝对自由能就高，在这种情况下,药物由优势构象转变为药效构象时分子内能增高，如表 1 中的万古霉素的高的 Absolute Energy；另一方面万古霉素化学结构药效团多，作用结合位点最多，在对接姿式上又占有绝对优势，如表 1 中的万古霉素的高的 Conf Number；所以万古霉素得分最高，活性最好；而小分子探针 E-低聚白藜芦醇化合物分子的空间位置和姿态的改变容易，参与对接的形成有利[13]，对接时可提供药物维持的最优构象和药效构象，即药物与受体间的作用力提高，如表 1 中的化合物 1 的 LibDock Score (得分 132.226)，抗菌效果因而较强。然而如表 1 中的化合物 2 分子结构整体药效团少，对接位置和姿态受到限制，因而活性下降。

3.2. 生成配体-蛋白复合物相互作用的化学键分析

分子对接后生成配体-蛋白复合物之间相互作用的作用力。PBP2a 中的氨基酸残基形成的活性口袋与各个化合物对接时形成的化学键作用力。万古霉素与 PBP2a 的氨基酸残基 ValB 277、LysB 273、AspB：295、AspB 275 有氢键作用，与 SerB72、AsnB 306 等氨基酸存在的范德华力作用，以及与 TrpB 205 有一个 δ-P 键的相互作用；对比化合物 1，它与 PBP2a 的结合中形成了以 ValB 277、LysB 316、GluB 294 有氢键作用，Leu B147 存在的范德华力作用和与 LysB 273 的 P-л 共轭作用；化合物 2 与 PBP2a 的结合中形成了与化合物 1 相同的 LysB 273 的 P-л 共轭作用力，为 E-低聚白藜芦醇化合物生成的配体-蛋白复合物相互作用的特征化学键型，以及以 ArgA 298、ThrA 08、TyrB 105 的氢键作用和 SerA 306 的范德华力作用力。综上总结不同类别的化合物化学键力特征，万古霉素显然主要是以多药效团的氢键和范德华疏水键力的作用，为主要化学键作用形式；E-低聚白藜芦醇化合物则是以 LysB 273 的 P-л 共轭以及在氨基酸残基的活性口袋的分子氢键为主要化学键力的结合方式。总之基于分子对接的化学键的作用和构效关系分析，基本阐明了 E-低聚白藜芦醇化合物抑菌杀菌作用显著的机理，与其直接和 PBP2a 蛋白受体结合有关。

4. 结论

研究证明，万古霉素的作用机制是通过抑制革兰氏阳性菌的细胞壁的合成而使细菌无法生存，阻止细菌繁殖，因而对革兰氏阳性菌具有较好的抑制作用[14]。上述分子对接和构效关系的研究可知，万古霉素中大量的亲水基团可以与靶蛋白 PBP2a 活性中心氨基酸残基形成氢键的相互作用，据报道是与 NAM-肽和 NAG-肽中 D-丙氨酰丙氨酸末端的部分相互作用，这样万古霉素分子就被氢键“捆绑”在了 D-丙氨酰丙氨酸上，阻止了 NAM-肽与 NAG-肽参与肽聚糖骨架的形成。另一方面，已知万古霉素提供了次级结合蛋白信息 PBP2a 的抗 MRSA 的作用机制，可有效预测 E-低聚白藜芦醇化合物 1 和 2 与相关的潜在蛋白 PBP2a 作用的构效和安全性评价。本文基于我们前期筛选发现的 E-低聚白藜芦醇天然化合物 1 和 2 的具有的强的抑菌杀菌活性，构效关系研究通过反向分子对接证实的 E-低聚白藜芦醇天然化合物 1 和 2，可以表明该类化合物具有类似万古霉素的抗菌机理；然而基于 MRSA 对甲氧西林的耐药性是有 PBP2a 所介导的机制，进一步推测 E-低聚白藜芦醇天然化合物 1 和 2 不同结构作用效能，和对接显示的与靶蛋白 PBP2a 的相互作用的强的亲和力，有可能具有克服现有 β-内酰胺类抗生素存在的耐药性的巨大潜能，或成为克服 β-内酰胺类抗生素耐药性的新的药物先导化合物。因为随着对万古霉素耐药性研究的急迫性，寻找抑制高水平 PBP2a 转肽酶的活性位点小分子探针新颖结构，是克服 β-内酰胺类抗生素耐药性所必需的。

基金项目

国家自然科学基金资助项目(No. 21472035)。

参考文献

[1] Newman, D.J. and Cragg, G.M. (2016) Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, **79**, 629-661. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01055

[2] Sahu, N.U. and Kharkar, P.S. (2016) Computational Drug Repositioning: A Lateral Approach to Traditional Drug Discovery. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **16**, 2069-2077. https://doi.org/10.2174/1568026616666160216153249

[3] Mangal, M., Sagar, P., Singh, H., *et al.* (2013) NPACT: Naturally Occurring Plant Based Anti-Cancer Compound-Activity-Target Database. *Nucleic Acids Research*, **41**, D1124-D1129. https://doi.org/10.1093/nar/gks1047

[4] Trott, O. and Olson, A.J. (2010) Auto Dock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, **31**, 455-461.

[5] 彭涛, 周家驹. 基于 Web 的中药化学数据库(英文) [J]. 计算机与应用化学, 2004, 21(2): 181-185.

[6] Ye, H., Ye, L., Kang, H., *et al.* (2011) HIT: Linking Herbal Active Ingredients to Targets. *Nucleic Acids Research*, **39**, D1055-D1059. https://doi.org/10.1093/nar/gkq1165

[7] 范胜军, 李学军. 反向分子对接-药物靶点发现和确认的新途径[J]. 生理科学进展, 2012, 43(5): 367-370.

[8] Liu, X., Quyang, S., Yu, B., *et al.* (2010) PharmMapper Server: A Web Server for Potential Drug Target Identification Using Pharmacophore Mapping Approach. *Nucleic Acids Research*, **38**, W609-W614.

[9] Liu, P., Li, X.F., Gao, J.Y., Liu, Y.Q., Hou, X.W., Yin, W.P. and Deng, R.X. (2017) Two New Resveratrol Trimers with Antibacterial Activities from Seed Cake of *Paeonia rockii*. *Chemistry of Natural Compounds*, **53**, 51-55. https://doi.org/10.1007/s10600-017-1909-3

[10] Zhang, H. F., Li, X.F., Wu, K., Wang, M.K., Liu, P., Wang, X. S. and Deng, R.X. (2017) Antioxidant Activities and Chemical Constituents from the Flower of *Paeonia ostii*. *Molecules*, **22**, 1420-3049.

[11] 刘普, 牛亚琪, 邓瑞雪. 紫斑牡丹籽饼粕低聚苷类成分研究[J]. 中国药学杂志, 2014, 49(12): 1018-1021.

[12] 刘普, 李小方, 牛亚琪, 邓瑞雪, 董俊青, 尹卫平. 油用牡丹籽饼粕低聚苷类化合物提取工艺及活性研究[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(6): 79-85.

[13] Dal, P.F., Vera, S.M.B., Franceschelli, S., Forte, G., Marzocco, S., Tuccinardi, T., Poli, G., Nejad, E.S., Hamburger, M., De, T.N. and Braca, A. (2016) Drug Affinity Responsive Target Stability (DARTS) Identifies Laurifolioside as a New Clathrin Heavy Chain Modulator. *Journal of Natural Products*, **79**, 2681-2692. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00627

[14] Rybak, M., Lomaestro, B., Rotschafer, J.C., *et al.* (2009) Therapeutic Monitoring of Vancomycin in Adult Patients: A Consensus Review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *American Journal of Health-System Pharmacy*, **66**, 82-98. https://doi.org/10.2146/ajhp080434

Hans 汉斯

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD
   下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2164-5426，即可查询
2. 打开知网首页 http://cnki.net/
   左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：http://www.hanspub.org/Submission.aspx
期刊邮箱：hjcb@hanspub.org