

裂木质素类化合物与 5 α -还原酶的构效关系研究

李小奇, 曹洪玉, 于大永*, 冯宝民*

大连大学生命科学与技术学院, 大连 116622

摘要: 5- α 还原酶(5- α reductase, 5-AR)是治疗良性前列腺增生的关键酶。前期研究发现裂木质素类化合物有抑制 5-AR 的作用,为了深化对荨麻属裂木质素类植物的研究,并探索裂木质素类抑制剂对 5-AR 的抑制作用及二者构效关系,采用同源模建的方法构建 5-AR 的三维空间结构模型,并利用 Ramachandran plot、verify3D 和 ERRAT 程序对模型进行评价,同时通过分子力学等方法对最优模型进行优化。利用分子对接的方法将 5- α 还原酶抑制剂(5- α -reductase inhibitors, 5-ARI)对接到 12 个活性位点,其中 5 个位点与配体对接成功,并预测了 41 种裂木质素化合物的 ADMET 性质。本文研究结果对裂木质素类化合物的药物设计具有一定的理论指导作用,并且为良性前列腺增生的治疗研究提供新思路。

关键词: 荨麻属植物;裂木质素化合物;5-AR;5-ARI;同源模建;分子对接;ADMET 预测

中图分类号: R914

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.5.001

3D-QSAR Studies on Secolignans as 5-alpha Reductase Inhibitors

LI Xiao-qi, CAO Hong-yu, YU Da-yong*, FENG Bao-min*

School of Life Science and Technology, Dalian University, Dalian 116622, China

Abstract: 5-Alpha reductase (5-AR) is a key enzyme in the treatment of benign prostatic hyperplasia. Previous studies found that the secolignans had effect on the 5-AR as inhibitor. In order to study the nettle genus plant and explore the relationship between 5-AR and nonsteroidal inhibitor ecolignans. Homology modeling method was applied to build the three dimensional structure of 5-AR. The obtained protein structure was evaluated by Ramachandran Plot, verify3D and ERRAT program, and optimized by molecular mechanics methods. The optimal protein structure was used for the molecular docking test, the 5-alpha reductase inhibitors were ligands, docked into the active binding sites. The docking data and chart demonstrated that there were 12 binding sites, and 5 of them docked successfully. In addition, 41 Secolignans compounds properties were predicted by ADMET. These results provided the guidance to design new drugs, as well as new ideas for the treatment of benign prostatic hyperplasia.

Key words: nettle genus; 5- α reductase; 5- α reductase inhibitors; homology modeling; docking; ADMET prediction

良性前列腺增生(BPH)的发病机制与人体的 5- α 还原酶(5-AR)活性增高有关。5-AR 是一种与膜结合位于细胞微粒体的还原型辅酶 II (NADPH) 依赖酶^[1]。5-AR 有 I 型 5-AR 和 II 型 5-AR 两种同工酶, I 型 5-AR 主要表达于皮肤、肝脏、脑等器官, II 型 5-AR 主要表达于生殖器皮肤和前列腺^[2], 本文主要讨论 II 型酶^[3]。II 型 5-AR 是含有 254 个氨基酸的蛋白质。该蛋白质具有高亲水性, 相对分子质量为 28.4×10^3 , 对睾酮的亲合力 ($K_m = 4.50 \text{ nmol/L}$) 大于 I 型酶 ($K_m = 1.50 \text{ }\mu\text{mol/L}$)。5-AR 会催化

睾酮(T)转化为双氢睾酮(DHT)^[4], DHT 发挥过强的激素作用, 在前列腺和皮肤等器官内的过高积累会导致良性前列腺增生等疾病^[5]。5-AR 能催化 NADPH 的氢传递到底物 T 空间位阻较小的 α 面, 产生稳定的烯醇后再经质子化转变成 DHT^[6]。由于 T 和 DHT 都能作用于雄激素受体, 而后者对该受体有更高的亲和力, 会发挥过强的雄激素作用, 从而导致 BPH 的产生。

目前治疗 BPH 时一般采用抑制 5-AR 活性的方法。5- α 还原酶抑制剂(5-ARI)已成为目前这类疾病的主要治疗药物^[7]。良性前列腺增生的临床治疗药物一般是 α 受体阻断剂。5-ARI 根据结构中是否含有类甾体母核而分为甾体类和非甾体类。甾体类包括: 非那雄胺、度他雄胺等^[8]。目前, 甾体类 5-

收稿日期: 2015-12-30 接受日期: 2016-03-15

基金项目: 国家自然科学基金(31270398; 31540006); 辽宁省“百千万人才工程”人选项目择优资助项目(2013921008)

* 通讯作者 Tel: 86-411-87402718; E-mail: fengbaomin@dlu.edu.cn

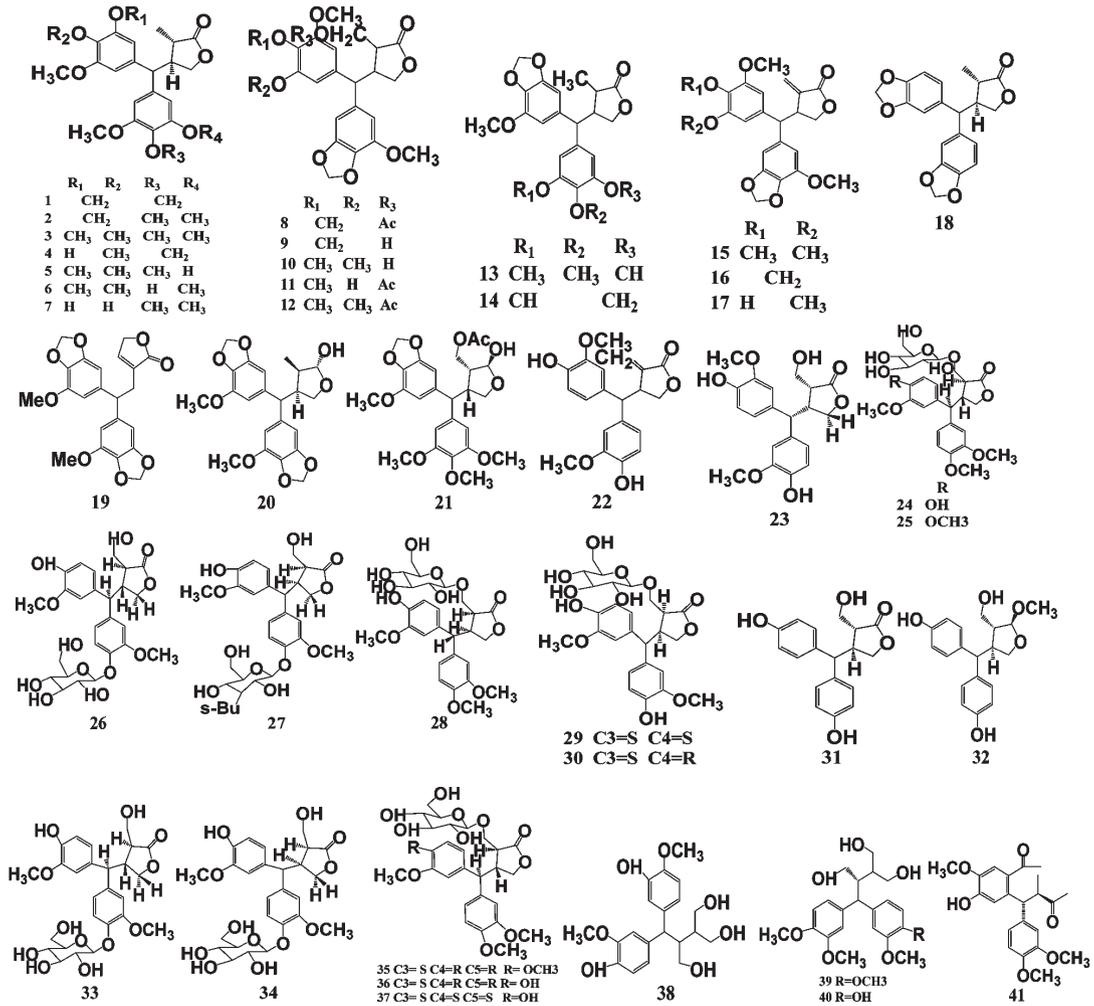


图1 裂木质素类抑制剂配体结构

Fig. 1 Ligands structure of secolignansas

ARI 药物对良性前列腺增生的治疗作用已得到充分证实。但随着甾体类 5-ARI 导致的各种副作用不断被发现,研究人员把目光集中于毒副作用更少的非甾体类萆麻属植物中。

研究人员对萆麻属植物的化学成分分析,发现萆麻中存在的 5-AR 抑制活性成分是裂木质素类化合物。裂木质素类化合物为不常见的木质素类化合物。目前,从萆麻属、草胡椒属、和卷柏属等植物中分离得到 41 种。该类化合物表现出抗肿瘤、抗炎、抗艾滋病病毒、昆虫拒食等药理活性^[9]。相比较传统治疗 BPH 的甾体类药物来说,具有结构新颖,活性高,毒副作用低等明显优势^[10],但目前尚未搞清其具体的作用机制。因此裂木质素化合物与 5- α 还原酶的构效关系研究和应用成了目前需要解决的重要问题。本文对裂木质素类化合物和 5- α 还原酶进

行分子对接的研究,可以帮助探索二者相互作用。

1 计算方法

1.1 蛋白同源模建及分子对接

5-AR 一级结构序列从 Protein Data Bank (PDB) 数据库中获得^[11]。利用 BLAST 模块在 PDB 结构数据库中搜索 5-AR 氨基酸序列的同源模板蛋白序列,选择源性最高的 3CMF 蛋白作为 5-AR 同源建模的模板。利用 MODELLER 的同源模建^[12]程序进行目标序列与模板序列的序列比对,并根据已报道的 5-AR 的一级序列保守区域的信息进行手动调整,去掉蛋白 B 链、配体、水和断点,得出一个最合理的序列比对结果。

使用 PDF (probability density function) 函数定义了蛋白结构中的键长、键角、二面角等几何特性。

PDF 函数对所建模型施加一定的约束条件,并以此构建目标的 3D 结构,函数值可以直接反映所建模型的好坏,一般情况下 PDF Total Energy 越小,表明模型能更好的满足提取的同源约束条件,所建模型的可信度越大。蛋白添加 MMFF 力场,使用 smart minimizer 进行优化,以找到其最优能量构象。

由于 5-AR 附着在膜上发挥蛋白功能,因此要给模型添加隐性膜结构。蛋白动力学优化后所得模型用 verify3D、Ramachandran plot 和 ERRAT 程序来验证其合理性。

采用 LibDock 方法进行分子对接。LibDock 是最快的分子对接工具,原理是根据小分子构象与受体相互作用热区匹配,将配体刚性对接到受体中^[13]。

每个位点都定义一个半径为 9Å 的 sphere 球,将优化后的 41 个裂木质素类抑制剂的配体结构(图 1)逐一对接至 12 个活性位点。得到分子对接绝对自由能、对接构象数、相对自由能,以及“Lib-Dock”综合得分等参数值。

本实验所用的同源建模(Homology Modeling)与

分子对接计算程序为 Accelrys 公司的 Insight II 分子设计软件包^[14],药物分子构建与优化采用 Tripos 公司的 Sybyl-x2.0 分子设计软件包^[15]。

1.2 裂木质素化合物 ADMET 预测

ADMET 预测参数选取被动的肠内吸收性、25℃ 下的水溶性、血脑屏障穿透性、与人细胞色素 P450 2D6 酶结合、肝毒性、与血浆蛋白结合等模块进行测定。

2 结果与讨论

2.1 同源序列的搜索与比对结果

从 PDB 数据库中得到与 5-AR 同源性最高的 3CMF 蛋白,调整后 5-AR 与 3CMF 序列同源性(sequence identity)为 15.7%。序列相似性(sequence similarity)为 39.0%。虽然模板蛋白与目标蛋白同源性较低,会对建模结果的准确性产生一定影响,但由于序列相似性程度较高,同源建模可以做相应定性分析,为研究 5- α 还原酶与非甾体裂木质素类抑制剂的构效关系提供参考。

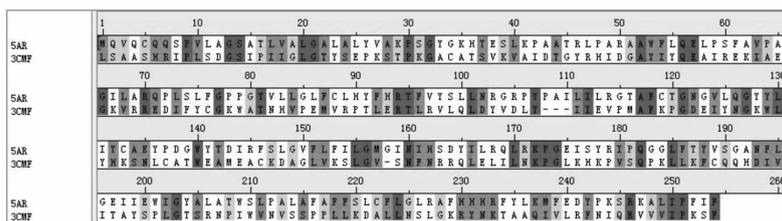


图 2 目标序列与模板序列的比对结果(上方为 5-AR 序列,下方为 3CMF 序列)

Fig. 2 Sequence alignment results of the targeted and the template sequences

注:深蓝色表示的是相同的氨基酸,浅蓝色表示功能相接近的氨基酸

Note: dark blue indicated same amino acid, light blue indicated amino acid with similar function

我们共建立五个蛋白模型,并选出 PDF Total Energy 最低的蛋白模型 4 (PDF Physical Energy: 867.95; DOPE Score: -26665.31)。在使用 verify3D 评估模型时,与最高期望值越接近的模型越好,本试验的分数未达到试验要求的最低分数,因此需要进

行优化。优化后 ERRAT 评估(如图 3)表明模型 overall quality factor 达到 84,相对最初模型有所改善。verify3D 评估分数为 71.11, Ramachandran plot 评估(如图 4)表明,2.37% 残基落入不允许区,97.63% 落入其它区域,模型氨基酸二面角结构较为

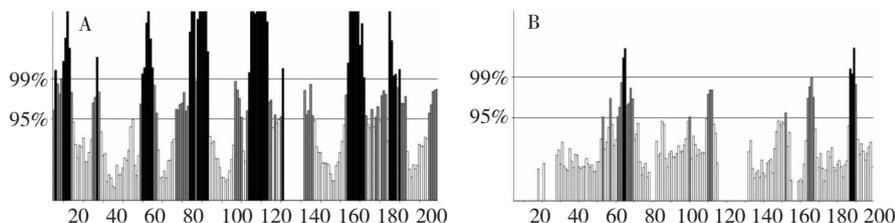


图 3 优化前(A)及优化后(B)模型 ERRAT 评估

Fig. 3 ERRAT evaluation of initial model (A) and final model (B)

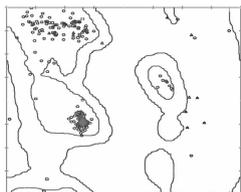


图4 Final Model 拉式图

Fig. 4 Ramachandran plot of Final Model

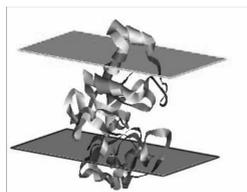


图5 3D 模型结构图

Fig. 5 3D structure of Model

合理。加膜之后 verify3D 评估得分 90.78, 超出 Verify Expected Low Score 38.8381 分, 接近 Expected High Score。因此蛋白模型已达到分子对接的要求, 将优化后的模型作为最终模型, 并进一步把此蛋白三维结构用于分子对接计算。

2.2 活性位点氨基酸及对接数据分析

对优化好的蛋白模型进行计算, 搜索到 12 个可能活性位点, 统计药物分子可对接成功的每个活性位点的周围氨基酸组成列入表 1, 亮氨酸 (LEU) 存在于每个活性位点, LEU 与丙氨酸 (ALA) 的组合存在于多数对接成功的活性位点, 其中 ALA-LEU 存在于活性位点 5, LEU-ALA 存在于活性位点 7, ALA-LEU-ALA 存在于活性位点 10, 二者相连或相近的空间结构保守活性序列具有较强疏水作用, 遇到裂木质素类抑制剂的疏水性甲氧基结构时, 为了防止随着水熵的减少而使自由能增加而引起疏水结合作

用, 并且随着温度增高, 结合力增强。

41 个裂木质素类配体都含有苯环结构, 易与含有苯环的结构发生 $\pi-\pi$ 相互作用, 并且部分具有羟基, 容易与电负性较高的原子产生氢键结合。分析活性位点氨基酸发现, 活性位点 6 周围有 5 个苯丙氨酸 (PHE)、一个酪氨酸 (TYR) 这两种具有苯环结构的氨基酸, 可以与药物分子苯环部分形成 $\pi-\pi$ 键堆积, 发生较强的结合作用。PHE218 和 PHE219 组成的疏水结合腔可以与裂木质素类抑制剂发生疏水作用。另外活性位点 6 还含有一个含硫氨基酸半胱氨酸 (CYS)、一个碱性氨基酸精氨酸 (ARG) 均可以与配体的羟基产生氢键相互作用, 因此预计活性位点 6 与药物对接效果最好, 是潜在的药物结合位点区域。

从化合物 1 对接结果可以看出 (图 5), 裂木质素与模建蛋白的主要作用在活性位点 6 处 (对接分数为 111.796), 活性位点 6 由 PHE218、PHE219 等氨基酸组成。PHE218、PHE219 可形成的疏水结合腔可能与化合物 1 发生疏水相互作用, TYR235 与裂木质素内酯可能产生电荷转移作用, 丝氨酸残基 SER220 与裂木质素以氢键形式结合。程序验证和配体对接的结果都表明建模模型的合理性, 分子对接结果也在分子水平揭示了配体与受体的结合方式。

分析没有对接成功的活性位点空间结构, 发现位点处含有较少或者不含有 PHE, 没有 ALA 与 LEU 组成的空间结构保守活性序列, 或是位点空间太小, 因而裂木质素类抑制剂分子在这些活性位点几乎无相互作用。

2.3 裂木质素类化合物与蛋白相互作用分析

LibDock 综合得分是 LibDock 模块综合绝对自由能、相对自由能和对接姿态数后, 对该对接姿态的

表 1 对接成功的 5 个活性位点的氨基酸残基组成

Table 1 The amino acid residues of 5 active sites

Site	氨基酸组成 Amino acid
5	ALA19、LEU20、LYS29、ARG50、ILE199、GLU200、TRP201、ILE202、TYR204、ALA205、PHE219、LEU236、GLU240、PRO251、PHE252、ILE253、PHE254 Val18
6	PHE218、PHE219、SER220、LEU221、CYS222、PHE223、LEU224、GLY225、LEU226、ARG227、ALA228、PHE229、ARG233、PHE234、TYR235、LEU236、MET238
7	VAL10、LEU11、ALA12、GLY13、SER14、ARG105、SER147、LEU148、VAL150、LEU152、PHE153、ILE154、LEU155、ILE176、SER177、TYR178、ILE180
10	ILE202、GLY203、LEU206、ALA207、THR208、TRP209、LEU211、PRO212、ALA213、LEU214、ALA215、PHE216、ALA217、PHE218、PHE219
11	TRP140、TYR141、THR142、ASP143、ILE144、ARG145、SER147、LEU148、PRO173、GLY174、GLU175、ILE176、SER177

综合性打分,LibDock 综合得分越高,抑制剂对该位点的抑制作用越强。本次计算最终有 5 个位点对接成功,分别是 site5、site6、site7、site10 和 site11。运算成功的每个对接配体都产生了大量的构象,这些构象很多都是同一分子的不同构象,主要区别在于得分不同。为了方便分析和计算,只保留 LibDock Score 打分值最高的一个构象。将综合得分均值排序,得到 41 种小分子药物与活性位点对接的 Lib-Dock Score(表 2)。

由对接结果可知,活性位点 6 平均得分最高为 98.48114,表明小分子抑制剂最易在该位置与 5-AR 蛋白结合。除了疏水结合与 π - π 键作用力之外,活性位点 6 还与抑制剂分子形成氢键。PHE219 的氨基氮与化合物 1、25、26、39 羟基中的氢形成氢键,CYS222 的硫与 2 对数配体形成氢键(4、5、6、7、8、11、13、15、21、25、26、33、34、39),Tyr235 羧基中的氧与化合物 2、9、20、21、24、32 形成氢键,LEU216 羧基中的氧与化合物 14 形成氢键,GLY225 羧基中的氧与化合物 32 苯环侧链羟基中的氧形成氢键。化合物 21 和 32 与多个氨基酸形成氢键,且对接平均得分较高。在活性位点 10 中得分较高的化合物是 38,而化合物 38 除了与活性位点 6 对接分数较高之外,在其他位点对接结果均不好,因此可以据此设计非竞争性抑制剂。化合物 26 在活性位点 10 对接结果也较高,化合物 21、26、38 都是较小的分子,并且



图 6 配体 1 与受体半球对接结果

Fig. 6 Molecular docking model diagram

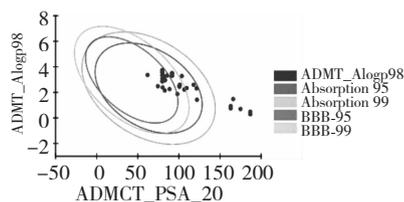


图 7 ADMET 预测结果图

Fig. 7 ADMET Prediction Results

具有较高柔性,易于和蛋白对接。

2.4 ADMET 预测结果分析

ADMET 性质是指分子在有机体内的吸收、分

布、代谢、排泄和毒性等性质。ADMET 描述符可以有助于及早排除 ADMET 性质不好的化合物从而避免后期耗资巨大的结构改造,同时也可以评价结构优化的效果,是否确实改善了 ADMET 属性,从而避免合成所支出的过多资源。

药物在肠道内的吸收是药物治疗的重要因素,主要取决于肠内酶及肠黏膜细胞对药物的代谢及屏障作用。裂木质素类化合物结构差异较大,药效也差异较大。裂木质素类化合物吸收值预测结果(图 6)表明化合物 1~24、化合物 26~30、化合物 38~41 吸收值为 0,表明这些化合物在肠内的吸收情况很好。化合物 26、化合物 31~37 吸收值为 3,表明这些化合物在肠内的吸收情况很差。

分子的水溶性是成药的关键因素之一,药物的分布、药物分子体内的传送及跨膜都要求药物分子具有一定的水溶性。裂木质素类化合物 38 水溶值为 4,表明水溶性最为理想,化合物 1、9、10、14、19、25~29、31~37、39~41 水溶值为 3,表明其水溶性好,其他化合物水溶值为 2,表明水溶性低。

血脑屏障(BBB)影响药物顺利进入脑组织发挥药效作用,所以 BBB 对药物代谢过程中有重要影响。化合物 2~4、13、15、20、21、24、30、41 的血脑屏障通过率中等,化合物 1、5~9、11、12、16、18、22、23、26~29、39、40 的通过率较低,其他化合物血脑屏障穿透性尚不明确。

细胞色素(CYP)是药物和其他内、外源物的主要代谢酶,其活动可受到某些药物的抑制或诱导。药物在体内的生物转化主要依赖于肝脏微粒体中细胞色素 P450(CYP450),CYP450 酶除对少量药物代谢后生成活性代谢产物起作用外,主要是通过氧化还原反应,使绝大多数药物的作用减弱或消失,代谢成为低效能、易排出的物质。CYP450 酶对药物在人体内的代谢稳定性起重要作用。结果显示,裂木质素类化合物 2、5~7、9、10、12、14、16~19、25~27、29、30、40、41 的 CYP450 2D6 酶的抑制数在 1 水平范围内,有一定的抑制作用;化合物 1、3、4、8、11、13、15、20、21~24、28、31~39 对 CYP450 2D6 酶的抑制数在 0 水平范围内,无抑制作用。

肝脏作为药物代谢的重要器官,容易受到药物的损害,而中草药是由各种化学成分组成,这些成分在体内发挥药效的同时,也有发生不良反应的可能,有的甚至对肝脏造成毒性损害。重视这个问题对于保证用药安全,减少和杜绝药源性肝病具有积极的

表2 41种裂木质素抑制剂与活性位点对接的 LibDock Score 表
Table 2 Libdock scores of 41 compound in different active sites of protein

化合物	Site5 Score	Site6 Score	Site7 Score	Site10 Score	Site11 Score	化合物	Site5 Score	Site6 Score	Site7 Score	Site10 Score	Site11 Score
1	74.98	111.8	87.27	0	63.19	22	111.0	121.7	87.86	0	94.27
2	108.0	125	88.44	0	95.06	23	111.0	121.7	87.86	0	94.28
3	0	90.94	47.68	0	81.2	24	88.82	98.40	78.68	87.27	76.42
4	45.67	84.71	65.60	0	28.49	25	0	104.4	0	0	92.9
5	85.68	100.6	89.03	0	84.79	26	91.00	102.3	100.8	101	32.5
6	53.79	90.94	76.75	0	0	27	85.91	104.1	100.2	84.5	0
7	60.19	88.48	51.72	48.17	2.6	28	94.47	106.5	96.11	0	82.54
8	105.5	103.9	76.33	0	78.93	29	70.81	105.6	94.73	78.73	59.9
9	60.16	95.42	62.02	0	74.75	30	93.06	99.94	91.14	0	0
10	81.79	114.5	102.9	0	93.48	31	0	0	0	0	0
11	83.99	105.9	87.28	0	87.94	32	82.56	99.85	84.97	50.63	69.04
12	75.9	126	91.48	0	82.01	33	56.89	98.34	79.63	0	69.6
13	103.4	123.1	94.31	0	93.03	34	0	94.47	94.19	50.92	0
14	63.96	105.5	98.05	0	81.78	35	56.96	123.9	83.92	60.97	70.84
15	88.91	99.12	77.41	0	77.66	36	0	93.34	88.40	0	90.24
16	80.11	104.4	87.32	52.55	75.01	37	0	0	0	0	0
17	70.31	93.5	75.9	0	38.91	38	83.04	112.6	0	91.23	75.8
18	65.81	96.51	94.4	0	76.42	39	84.52	98.99	76.42	32.59	0
19	0	98.28	88.22	0	72.08	40	78.38	76.71	54.1	0	0
20	102.3	107.3	94.64	99.38	94.97	41	72.68	88.00	80.79	0	44.21
21	92.36	120.9	102.8	0	102.1	平均数	67.41	98.48	76.08	20.44	59.44

意义。结果显示,除了化合物**1**,其他均有一定的肝毒性。

血浆蛋白结合率指药物在血浆内与血浆蛋白结合的比率。在正常情况下,各种药物以一定的比率与血浆蛋白结合,因而在血浆中同时存在结合型与游离型。只有游离型(未与血浆蛋白结合)药物才具有药物活性。除了化合物**37**的其他化合物均未与血浆蛋白结合,为游离型,都具有药物活性。

3 结论

本文以3-CMF为模板利用同源模建构建了5-AR的三维结构、并与裂木质素类抑制剂进行对接,找到5-AR模拟蛋白与5-ARI的潜在结合位点。并从41种裂木质素类化合物中筛选出最可发挥药理作用的化合物。本试验计算结果表明,对接结果与预测结果基本一致,蛋白具有多个可能的作用位点,其中位点6是蛋白的最佳结合位点,裂木质素类化

合物**1、2、4、41**的各项参数处于较合理水平,可以作为潜在药物进行进一步实验考察,化合物**9、14**与受体形成氢键,在体内可能有较强的作用,但其对CYP450酶有一定抑制作用,并且加大剂量会造成一定肝毒性,因此通过改造可能获得更好的药物作用,化合物**21、32、40**也有较好活性,另外可以根据化合物**38**设计非竞争性抑制剂。研究结果对于下一步进行基于受体的裂木质素5-ARI的药物分子设计和虚拟筛选等工作具有理论指导意义。

参考文献

- 1 Liu B(刘本), Chang YL(常忆凌), Chen KL(陈科力). Progress 5a-reductase as a natural target for drug screening. *Pharm Biol* (药物生物技术), 2006, 13:468-470.
- 2 Hou SH(侯世浩). Influence of combination therapy with cyclooxygenase-2 inhibitor and 5a-reductase inhibitor in the treatment of rats with prostatic hyperplasia gland. *Xinxiang:*

- Xinxiang Medical University(新乡医学院), MSc. 2012.
- 3 Yang J(杨杰), Qian LX(钱立新). Polymorphisms of phase I or II metabolic enzyme genes and susceptibility to prostate cancer. *Med Recap(医学综述)*, 2006, 12: 10-12.
 - 4 Wang W(王炜), Ji BQ(冀保全), Tang L(唐玲), *et al.* Inhibitory effect of extract of *Urtica mairei* Levi on 5 α -reductase activity. *Lishizhen Me Mater Med Res(时珍国医国药)*, 2008, 19: 2071-2072.
 - 5 Rittmaster RS. 5 α -reductase inhibitors in benign prostatic hyperplasia and prostate cancer risk reduction. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2008, 22: 389-402.
 - 6 Harris GS, Kozarich JW. Steroid 5 α -reductase inhibitors in androgen dependent disorders. *Curr Opin Chem Biol*, 1997, 1: 254-259.
 - 7 Naslund MJ, Miner M. A review of the clinical efficacy and safety of 5 α -reductase inhibitors for the enlarged prostate. *Clin Ther*, 2007, 29: 17-25.
 - 8 Zhang L(张伦). Market analysis of 5 α -reductase inhibitor. *J China Pharm(中国药房)*, 2006, 17: 1529-1531.
 - 9 Lu X(卢轩), Zhang WW(张雯雯), Cheng XH(程兴华), *et al.* Advances in natural products crack lignans compound. *J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报)*, 2014, 11: 922-926.
 - 10 LiQ(李强), Li QJ(廖清江). Progress in research of nonsteroidal 5 α -reductase inhibitors. *Chin New Drugs J(中国新药杂志)*, 2001, 10: 419-423.
 - 11 Zhang XJ(赵雪娇), Jiang S(姜山), He J(何娟). Neuronal nicotinic acetylcholine receptor-homology modeling and functional prediction of a-conotoxin-specific binding receptor. *Chin J Biochem Pharm(中国生化药物杂志)*, 2012, 33: 213-216.
 - 12 Insight II user guide. San Diego: Molecular Simulation Inc. 2000.
 - 13 Zhang YH(张艳慧). Study on the P-glycoprotein homology modeling and molecular-docking simulation. Tianjin: Tianjin University(天津大学), MSc. 2010.
 - 14 Discovery Studio 2. 1; Accelrys Inc: San Diego, CA, USA, 2008.
 - 15 SYBYL Software, Version 6. 9. St. Louis: Tripos Associates Inc, 2002.
-
- (上接第 698 页)
- 6 Werner G, Hagenmaier H, Drautz H, *et al.* Metabolic products of microorganisms. 224. Bafilomycins, a new group of macrolide antibiotics. Production, isolation, chemical structure and biological activity. *J Antibiot*, 1984, 37: 110-117.
 - 7 Wei G(魏刚), Su C(苏超), Zhang DJ(张道敬), *et al.* Isolation, purification and structure identification of secondary metabolites produced by marine actinomycete Y12-26. *Chin J Antibiot(中国抗生素杂志)*, 2011, 36: 571-575.
 - 8 Yu ZG, Zhao LX, Jiang CL, *et al.* Bafilomycins produced by an endophytic actinomycete *Streptomyces* sp. YIM56209. *J Antibiot*, 2011, 64: 159-162.
 - 9 Carr G, Williams DE, Diaz-marrero AR, *et al.* Bafilomycins produced in culture by *Streptomyces* spp. isolated from marine habitats are potent inhibitors of autophagy. *J Nat Prod*, 2010, 73: 422-427.
 - 10 Wei Y(韦艳), Wu B(吴冰). Autophagy and tumor. *Hainan Med J(海南医学)*, 2014, 25: 2413-2415.
 - 11 Wang A(王昂), Gao Y(高赞). Autophagy in tumorigenesis and therapeutic resistance. *J Oncol(肿瘤学杂志)*, 2014, 20: 248-251.
 - 12 Zhdanov AV, Dmitriev RI, Papkovsky DB. Bafilomycin A1 activates HIF-dependent signalling in human colon cancer cells via mitochondrial uncoupling. *Biosci Rep*, 2012, 32: 587-595.
 - 13 Hernandez-breijo B, Monserrat J, Romani D, *et al.* Azathioprine desensitizes liver cancer cells to insulin-like growth factor 1 and causes apoptosis when it is combined with bafilomycin A1. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 272: 568-578.
 - 14 Hayashi Y, Katayama K, Togawa T, *et al.* Effects of bafilomycin A1, a vacuolar type H⁺ ATPase inhibitor, on the thermosensitivity of a human pancreatic cancer cell line. *Int J Hyperthermia*, 2006, 22: 275-285.