

一类中草药有效成分与 BCL2 相互作用的分子模拟研究

张丽雷, 杨 春, 张静晓*, 陈盼盼, 刘晓洁

湖北民族学院化学与环境工程学院, 恩施 445000

摘要: 以一类中草药有效成分为研究对象, 使用分子对接和分子动力学方法, 研究了其与 BCL2 酶的相互作用。结果表明, 筛选出的人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 具有最好的对接结果。通过分子动力学方法分别获取了人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 与 BCL2 结合的稳定结构。其中, 人参皂苷 Re 与 Asn143、Arg146、Phe104 等 9 个氨基酸残基有疏水作用, 形成了 2 个稳定性不同的氢键, 其中 O 原子与残基 Glu136 形成的氢键较为稳定。人参皂苷 Rb₁ 分别与残基 Phe112、Glu136、Arg146 等 9 个氨基酸残基有疏水作用, 形成 7 个氢键, 其中与残基 Asp140 和 Asp103 中的 O 原子形成的 2 个氢键最为稳定。

关键词: 分子对接; 分子动力学; BCL2; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rb₁

中图分类号: O64

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.7.017

Molecular Simulation Study on the Interaction of Active Components of Chinese Herbal Medicine with BCL2

ZHANG Li-lei, YANG Chun, ZHANG Jing-xiao*, CHEN Pan-pan, LIU Xiao-jie

Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, China

Abstract: Taking the effective constituents of a kind of Chinese herbs as the research objects, the interactions between these objects and BCL2 were studied using molecular docking and molecular dynamics methods. The results showed that ginsenoside Re and ginsenoside Rb₁ had the best docking results. Ginsenoside Re had hydrophobic interactions with 9 amino acid residues in BCL2, such as Asn143, Arg146, Phe104, and formed two hydrogen bonds with different stability, in which the hydrogen bond between O atom and residue Glu136 was more stable. Ginsenoside Rb₁ had hydrophobic interactions with 9 amino acid residues of BCL2, like Phe112, Glu136 and Arg146. In addition, seven hydrogen bonds were also formed between ginsenoside Rb₁ and BCL2, among them, two hydrogen bonds with Asp103 and Asp103 respectively were more stable.

Key words: molecular docking; molecular dynamics; BCL2; ginsenoside Re; ginsenoside Rb₁

细胞凋亡是由基因控制的细胞自主的有序的主动死亡过程^[1], 通常情况下, 细胞凋亡过程受机体严格的调控, 以维持整个生命过程中各组织器官的稳定性。但当细胞凋亡失控时, 可引起细胞过度凋亡, 导致相关疾病的发生^[2], 探索发现药物抗细胞凋亡的机理是研发新型调控细胞凋亡药物的重要途径。细胞凋亡途径主要有 3 条: 线粒体通路, 死亡受体通路和内质网通路, 其中线粒体通路的主要调控者为 BCL2 家族, 其家族既有抗细胞凋亡基因又含有促细胞凋亡基因^[1]。文献^[3]研究发现, BCL2 家族的 BCL2 基因是一种重要的凋亡抑制基因, 可通

过抑制氧化应激酶, 影响钙离子内流, 以及抑制线粒体细胞色素 C 的释放, 稳定线粒体膜电位和通过抑制半胱氨酸酶活性等多种机制来抑制细胞凋亡。一些抗细胞凋亡中药成分的机理, 是通过诱导抗细胞凋亡 BCL2 基因的表达, 同时抑制促细胞凋亡 Bax 基因的表达, 从而提高 BCL-2/Bax 的比值, 起到抗细胞凋亡的作用^[4]。

本课题组^[5]利用化学信息学方法建立了一个中药有效成分筛选的模拟体系, 通过药代动力学筛选, 靶点预测等方法, 从 10 味中草药中筛选出与 BCL2 靶点有相互作用的 15 个有效成分。本文在前期研究基础上, 采用 Autodock vina 程序^[6]将筛选后的 15 个有效成分分别与 BCL2 进行分子对接, 随后挑选代表性分子进行分子动力学 (MD) 模拟, 通过分析分子模拟的轨迹以及计算得到的相互作用能,

收稿日期: 2017-02-13 接受日期: 2017-05-02

基金项目: 湖北省教育厅科学技术研究计划 (B2016095)

* 通信作者 Tel: 86-718-8437531; E-mail: zhangjingxiao@outlook.com

预测了它们与 BCL2 的结合位点以及相互作用方式。

1 材料与方法

1.1 材料的准备

从蛋白质晶体数据库 (PDB 数据库) 中获取在 BAX · BH3 结构域多肽链下的 BCL2 晶体结构 (PDB 号:2XA0), 除去晶体结构中的晶体水并补全氢原子, 记为 BCL2, 作为分子模拟的 BCL2 蛋白模型。配体的分子结构从化学结构数据库 (<http://www.chemspider.com/>) 中获取, 并采用 GAMESS 量子化学软件包^[7], 在 B3LYP 方法, 6-31G(d,p) 基组水平上进行结构优化, 通过频率分析保证其处于稳定结构, 作为分子对接时配体的初始构象。

1.2 分子对接

采用 AutoDockVina 程序将配体分子与 BCL2 进行对接, 使用半柔性对接方法, BCL2 被视为一个刚体, 和配体分子所有的可旋转键进行对接。最有可能的结合位点采用搜索全局优化法 (Iterated Local Search Globule Optimizer) 搜索^[6,8]。最佳的结合位点设定为涵盖 BCL2 整个活性口袋大小为 $30 \times 30 \times 30 \text{ \AA}^3$ 的盒子内, 盒子的网格间距为 1.0 \AA , 以配体分子的几何中心为中心。在每个对接过程中, 根据在 AutoDockVina 的评分函数计算出的结合亲和能筛选出 10 个最有可能的模型。

1.3 分子动力学模拟

MD 模拟采用 NAMD (版本 2.11) 程序, 将分子对接得到的复合物结构用做 MD 模拟的初始构象, 采用 CHARMM 27 全原子力场。在复合物的周围建立可将复合体完全包围且延伸 5 \AA 的立方体水模型的周期性结构, 原子的总数目大约为 12400 个。在进行分子动力学模拟之前, 用最陡下降法和共轭梯度法优化水分子, 使整个体系达到稳定的平衡状态, 并将整个体系优化至收敛。优化结束后, 为了避免快速升温对溶质分子带来的影响, 采取缓慢升温的方法, 将体系温度在 220ps 内由 0K 缓慢加热至 310K, 之后进行 10ns 的 NPT 模拟, 时间步长为 2fs。在动力学模拟过程中, 应用 Langevin 动力学^[9] 控制温度, 碰撞频率为 1.0 ps^{-1} 。设置所有和氢原子相连的键被认为是非振动的, 使用 PME (Particle Mesh Ewald) 方法^[10] 用来计算长程静电相互作用, 范德华相互作用的截断值为 12 \AA 。

2 结果与讨论

2.1 分子对接

为验证对接方案的合理性, 考察了苯基四氢喹啉酰胺与 BCL2 的对接模式, 选用该体系作为参考的主要原因是, 蛋白质数据库中已经存在苯基四氢喹啉酰胺与 BCL2 复合物的晶体结构 (PDB ID: 2W3L), 依据成簇情况和最低结合能取得合理的对接构象, 结合能为 -10.3 kcal/mol 。然后将取得的对接后构象 (如图 1 中黑色结构) 与原晶体结构中的苯基四氢喹啉酰胺 (如图 1 中白色结构) 进行叠合, 结果如图 1 所示, 其均方根偏差值为 0.73 \AA , 表明对接后配体构象与原晶体结构小分子基本重合, 能够很好地重现晶体构象, 也说明对接方案具有合理性。

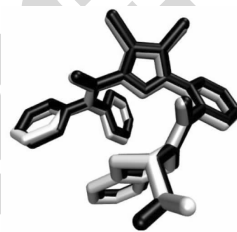


图 1 对接构象与原晶体结构中苯基四氢喹啉酰胺的叠合
Fig. 1 Superposition of phenyl tetrahydroisoquinoline amide docking conformation and crystal structure

表 1 分子对接的最优化模型结果

Table 1 The results of molecular docking

配体中文名称 Ligand Chinese name	配体英文名称 Ligand English name	结合能量 Binding affinity (kcal/mol)
川芎内酯	(Z)-ligustilide	-6.1
芹黄素	Apigenin	-6.9
黄芩甙元	Baicalein	-7.0
刺槐素	Acacetin	-6.6
β -谷甾醇	β -sitosterol	-8.1
人参皂苷 Re	Ginsenoside Re	-8.6
人参皂苷 Rb ₁	Ginsenoside Rb ₁	-8.6
人参皂苷 Rd	Ginsenoside Rd	-8.2
毛钩藤碱	Hirsutine	-7.2
山柰酚	Kaempferol	-6.7
千层纸素 A	Oroxilin_A	-7.1
槲皮素	Quercetin	-6.7
豆甾醇	Stigmasterol	-8.2
丹参酮 IIA	Tanshinone_IIA	-7.3
汉黄芩素	Wogonin	-6.7

以课题组前期^[5]从一类中草药中筛选得到的与 BCL2 酶靶点相关的 15 个化合物为研究对象,分别与 BCL2 进行分子对接,结果如表 1 所示。从表中可见,人参皂苷 Re (Ginsenoside-Re), 人参皂苷 Rb₁ (Ginsenoside-Rb₁) 具有最高的打分,表明它们可能与 BCL2 具有较好的空间匹配度和结合能力。对接后的复合物构象如图 2 所示,从图中可见人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 均结合在 BCL2 的活性口袋中。研究表明^[4]人参皂苷 Re 可用于治疗糖尿病,人参皂苷 Rb₁ 具有促进学习记忆能力,增强认知能力等促智作用,两者对心肌细胞均具有良好的保护作用^[11],人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 具有良好的抗细胞凋亡作用^[7],作用机理是通过诱导抗细胞凋亡基因 BCL2 的表达,同时抑制对细胞凋亡有诱导作用的基因 Bax 的表达,从而提高 BCL2/Bax 的比值,最终起到抗细胞凋亡的作用,与对接结果一致。

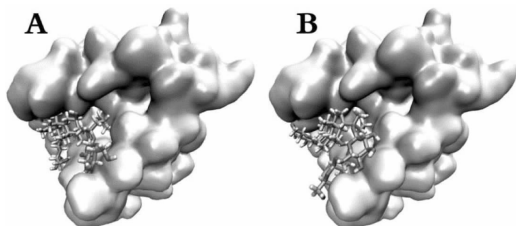


图 2 人生皂苷 Re (A) 和人参皂苷 Rb₁ (B) 与 BCL2 的对接构象

Fig. 2 The docking conformations of BCL2 with ginsenoside-Re (A) and ginsenoside-Rb₁ (B)

2.2 分子动力学

分别将人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 与 BCL2

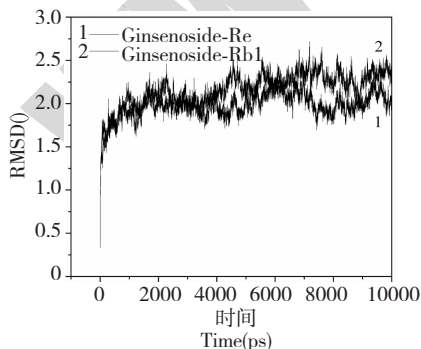


图 3 BCL2 复合物模型 MD 模拟期间骨架原子的均方根偏差

Fig. 3 RMSD of the skeleton atoms in the BCL2 complex model during MD simulations

对接之后的结果作为初始构象,进行 2ns 的分子动力学模拟。为了检测 MD 轨迹的稳定性,对其均方根偏差 (root mean square deviation, RMSD) 进行了计算,结果如图 3 所示。从图中可见,这两个体系的骨架原子在经过约 1000ps 的运动之后, RMSD 值趋于稳定,最后稳定在 0.3Å 左右,体系达到平衡结构。

从最后的 1000ps 的运动轨迹中,取出最低能量结构进行了相互作用分析。使用软件 Ligplot +^[13] 计算得到人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 分别与 BCL2 模型的相互作用网络,结果如图 4 所示。从图中可见,人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 均与 BCL2 形成疏水相互作用,其中,人参皂苷 Re 与包括 Asn143、Arg146、Phe104、Ala149、Leu137、Phe112、Phe153、Tyr108、Val133 的 9 个氨基酸残基有疏水作用,与 Gly145 和 Glu136 两个氨基酸残基形成了 2 个氢键,键长分别为 3.26Å 和 2.75Å。人参皂苷 Rb₁ 分别与残基 Phe112、Glu136、Arg146、Met115、Phe153、Ala149、Phe104、Tyr108、Arg107 有疏水作用,与 BCL2 的 4 个氨基酸残基,即 Arg139、Asp140、Tyr202、Asp103,形成了 7 个氢键,键长分别为 2.97Å、3.13Å、3.13Å、2.51Å、2.60Å、2.65Å 和 2.69Å。由于蛋白质和药物分子之间形成的氢键有利于它们的结合,说明人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 均与 BCL2 形成了较强的相互作用。

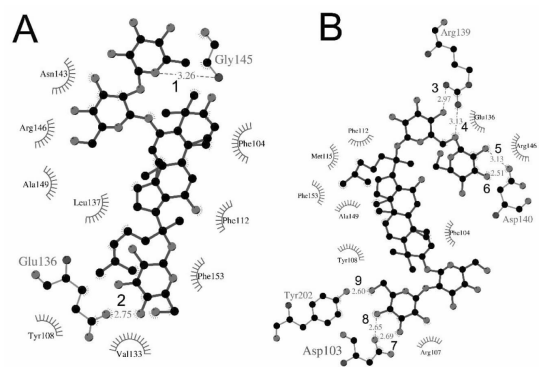


图 4 人参皂苷 Re (A)、人参皂苷 Rb₁ (B) 与 BCL2 模型的相互作用网络

Fig. 4 The interaction networks of ginsenoside-Re (A) and ginsenoside-Rb₁ (B) with BCL2 model

对人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 分别与 BCL2 的相互作用力进行了分析,结果如图 5 所示。从图中可以看出它们之间的相互作用主要由范德华力和静电力组成,作用力在不同模拟时间较为稳定,人参皂苷 Re 与 BCL2 之间的范德华力平均值为 -59.3

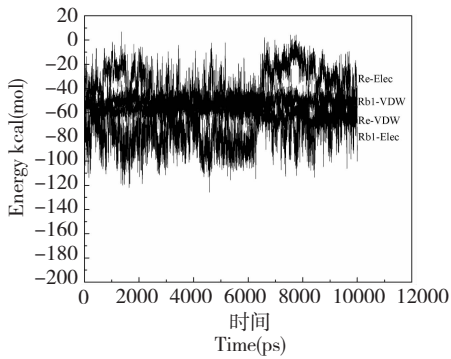


图5 人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 与 BCL2 的相互作用力 (VDW: 范德华力, Elec: 静电力)

Fig. 5 Interaction forces of ginsenoside-Re (A) and ginsenoside-Rb₁ (B) with BCL2 model

kcal/mol, 静电力平均值为-37.9 kcal/mol, 主要作用

力为范德华力, 人参皂苷 Rb₁ 与 BCL2 之间的范德华力的平均值为-51.3 kcal/mol, 静电力的平均值为-74.4 kcal/mol, 主要作用力为静电力。

2.3 氢键分析

氢键是维系蛋白质与配体分子稳定性的重要作用力, 分别对人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 与 BCL2 形成的几条氢键进行了分析, 判断氢键采用的几何依据为键长不大于 3.5 Å, 键角不大于 30°, 以 1000 ps 到 2000 ps 的运动轨迹为研究对象, 计算了平均键长, 平均键角, 以及键长存活概率(氢键长度小于 3.5 Å 的概率), 键角存活概率(键角小于 30° 的概率)和氢键的存活概率(氢键长度小于 3.5 Å, 同时键角小于 30° 的概率), 结果如表 2 所示, 表中编号与图 3 一致。

表 2 氢键情况统计表

Table 2 Hydrogen bond statistics table

编号 No.	平均键长 Average key length(Å)	键长存活率 Key length survival rate(%)	平均角度 Mean angle(°)	角度存活率 Angle survival rate(%)	存活率 Survival rate(%)
1	3.9	41.5	48.1	10.0	5.0
2	3.1	97.5	23.7	65.2	64.5
3	3.4	67.5	90.3	2.0	0.8
4	3.7	32.5	61.5	1.5	1.5
5	3.3	92.0	92.8	0.3	0.3
6	2.7	100.0	15.4	99.9	99.9
7	2.7	100.0	87.8	0.7	0.7
8	2.7	100.0	10.4	100.0	100.0
9	2.8	99.9	91.3	0.2	0.2

由表 2 与图 3 可见, 人参皂苷 Re 与 BCL2 形成的两个氢键中, 人参皂苷 Re 的 O 原子与残基 Gly145 的 N 原子之间产生的氢键(编号 1)的平均键长为 3.9 Å, 平均角度为 48.1°, 氢键存活率只有 5.0%, 表明这个氢键并不稳定。人参皂苷 Re 的 O 原子与残基 Glu136 的 O 原子之间产生的氢键(编号 2)的平均距离为 3.1 Å, 平均角度为 23.7°, 氢键存活率为 65.2%, 表明这个氢键最为稳定, 是人参皂苷 Re 与 BCL2 形成相互作用的主要原因。

另外, 人参皂苷 Rb₁ 与 BCL2 之间形成了 7 条氢键, 如图 6 和表 2 所示, 其中 5 条氢键(编号 3、4、5、7 和 9)的存活率均不大于 2%, 表明这几条氢键形成的作用相对较弱, 并且不稳定, 不是人参皂苷 Rb₁ 与 BCL2 形成相互作用的主要因素。另外两条

氢键, 人参皂苷 Rb₁ 中的 O 原子与残基 Asp140 中的 O 原子形成的氢键(编号 6)的平均键长为 2.7 Å, 平均角度为 15.4°, 存活率达到 99.9%。人参皂苷 Rb₁ 中的 O 原子与残基 Asp103 中的 O 原子形成氢键(编号 8)的平均键长 2.7 Å, 平均角度为 10.4°, 存活率达到 100%, 说明这两个氢键作用最为强烈, 是人参皂苷 Rb₁ 与 BCL2 形成较强相互作用的主要原因。

3 结论

本文以从一类中草药有效成分中筛选出的与 BCL2 酶有相互作用的配体分子为研究对象, 分别与 BCL2 酶进行分子对接, 结果发现人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 具有较好的对接效果, 并对其对接后的

复合物进行了动力学模拟,得到了人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 与 BCL2 作用的关键氨基酸。结果发现人参皂苷 Re 与包括 Asn143、Arg146、Phe104、Ala149、Leu137、Phe112、Phe153、Tyr108、Val133 的 9 个氨基酸残基有疏水作用,人参皂苷 Rb₁ 分别与氨基酸残基 Phe112、Glu136、Arg146、Met115、Phe153、Ala149、Phe104、Tyr108、Arg107 有疏水作用,对复合物的稳定存在起到了一定作用。人参皂苷 Re 分别与氨基酸残基 Gly145 和 Glu136 形成了 2 个氢键,其中 O 原子与残基 Glu136 形成的氢键较优,是人参皂苷 Re 与 BCL2 相互作用的主要因素。人参皂苷 Rb₁ 与 BCL2 的 4 个氨基酸残基(包括 Arg139、Asp140、Tyr202、Asp103)形成了 7 个氢键,其中与 Asp140 和 Asp103 中的 O 原子形成的氢键是配体和受体形成较强相互作用的主要原因。

参考文献

- Zhao YC (赵彦超), Gu Y (顾耘). 细胞凋亡通路研究进展. *Modern Med J* (现代医学), 2013, 41: 285-288.
- Li M (李敏), Lin J (林俊). The apoptotic pathways and their mechanisms. *J Int Obstetrics Gynecol* (国际妇联科学杂志), 2014, 41: 103-107.
- He JC (何静彩). Effects of BCL-2 expression to apoptosis passway in photofrin-mediated photodynamic therapy of esophageal cancer. Guangzhou: Southern Medical University (南方医科大学), MSc. 2014.
- Zhang LY (张丽英). Effect of ginsenoside Re on anti-oxidation and anti-apoptotic in the early stage of diabetes. Changchun: Jilin University (吉林大学), MSc. 2012.

(上接第 1101 页)

- Pant G, Prakash A, Pavani JVP, et al. Production, optimization and partial purification of protease from *Bacillus subtilis*. *J Taibah Univ Sci*, 2015, 9(1): 50-55.
- Guo JH (郭建华), Zhao JQ (赵健乔), Cao Z (曹政). Influence of Several *Bacillus subtilis* Cofermentation on Protease Activity. *J Anhui Angi Sci* (安徽农业科学), 2015, 43(9): 11-12.
- Hamilton CE, Gundel PE, Helander M, et al. Endophytic mediation of reactive oxygen species and antioxidant activity in plants; a review. *Fungal Divers*, 2012, 54(1): 1-10.
- Li HY, Hao ZB, Wang XL, et al. Antioxidant activities of extracts and fractions from *Lysimachia foenumgraecum* Hance. *Bioresource Technol*, 2009, 100: 970-974.
- Gião MS, Pereira CI, Pintado ME, et al. Effect of technologi-

- Zhang J, Li Y, Chen X, et al. Systems pharmacology dissection of multi-scale mechanisms of action for herbal medicines in stroke treatment and prevention. *Plos One*, 2014, 9(8): e102506.
- Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem*, 2010, 31: 455-461.
- Schmidt MW, Baldrige KK, Boatz JA, et al. General atomic and molecular electronic structure system. *J Comput Chem*, 1993, 14: 1347-1363.
- Baxter J. Local optima avoidance in depot location. *J Opera Res Soc*, 1981, 32: 815-819.
- Pastor RW, Brooks BR, Szabo A. An analysis of the accuracy of Langevin and molecular dynamics algorithms. *Molecul Phys*, 1988, 103: 1409-1419.
- Darden T, York D, Pedersen L. Particle mesh Ewald; An N² log(N) method for Ewald sums in large systems. *J Chem Physics*, 1993, 98: 10089-10092.
- Yu C (于晨). Progress in research on cardioprotective effects of Ginsenoside. *Tianjin Pharm* (天津药学), 2010, 22(4): 45-47.
- Yang QY (杨秋娅), Li XY (李晓宇), Liu GL (刘皋林). Research progress in pharmacological activities of Ginsenoside Rb. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2013, 48: 1233-1237.
- Laskowski RA, Swindells MB. LigPlot + : Multiple ligand - protein interaction diagrams for drug discovery. *J Chem Infor Model*, 2011, 51: 2778-2786.

- cal processing upon the antioxidant capacity of aromatic and medicinal plant infusions; From harvest to packaging. *LWT-Food Sci Technol*, 2013, 50: 320-325.
- Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Compos Anal*, 2006, 19: 669-675.
- Dai S (代沙). Study on extraction, content determination and antioxidative activity of antioxidative substance from *Perilla frutescens* leaves. Chengdu: Sichuan Agricultural University (四川农业大学), MSc. 2013.
- Ola AR, Thomy D, Lai D, et al. Inducing secondary metabolite production by the endophytic fungus *Fusarium tricinctum* through coculture with *Bacillus subtilis*. *J Nat Prod*, 2013, 76: 2094-2099.