

基于中草药活性成分的 GSK-3 β 抑制剂的分子模拟

唐文强^{1,3}, 张静晓^{2*}, 张丽雷^{2*}

¹陕西国际商贸学院医药学院, 西安 712046; ²湖北民族学院化学与环境工程学院, 恩施 471934;

³陕西省中药绿色制造技术协同创新中心, 西安 712046

摘要: 使用分子对接和分子动力学方法, 研究了一类中草药活性成分抑制糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β) 的机理。结果表明: 筛选出的芦丁、杨梅酮、二氢丹参酮 I 和人参皂苷 Rb1 能够与 GSK-3 β 良好地结合, 其中芦丁、杨梅酮和二氢丹参酮 I 主要结合于 GSK-3 β 的 ATP 结合口袋区域, 人参皂苷 Rb1 主要结合于 GSK-3 β 的 T-loop 区域, 配体和蛋白之间形成的氢键的数目和存活率是影响结合能力的主要因素, 氢键的形成主要取决于配体中的含氧和含氮基团。基于这些有效成分进行结构设计可能获得 GSK-3 β 的高效抑制剂。

关键词: 糖原合成酶激酶-3 抑制剂; 中药活性成分; 分子对接; 分子模拟

中图分类号: R28; Q966

文献标识码: A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.12.006

Molecular Simulation of GSK-3 β Inhibitors Based on Active Components of Chinese Herbal Medicines

TANG Wen-qiang^{1,3}, ZHANG Jing-xiao^{2*}, ZHANG Li-lei²

¹School of Pharmacy, Shanxi Institute of International Trade & Commerce, Xi'an 712046, China;

²College of Chemistry and Environmental Engineering, Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, China;

³Co-Innovation Center of Shanxi Green Manufacturing Technology of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 712046, China

Abstract: Molecular docking and dynamic methods were employed to explore the inhibition mechanism of several constituents from herbal medicines with Glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β). The results showed that four selected constituents, which included rutin, myricanone, dihydrotanshinone I and ginsenoside Rb1, fitted well within the binding cleft of GSK-3 β . Among them, rutin, myricanone and dihydrotanshinone I mainly binded to the ATP-binding pocket region of GSK-3 β , and ginsenoside Rb1 mainly binded to the T-loop region of GSK-3 β . The number and the survival rate of hydrogen bonds are the main factors affecting the binding ability. The formation of hydrogen bonds mainly depends on the oxygen-containing and nitrogen-containing groups in these ligands. Structural design based on these active ingredients may result in a highly effective inhibitor of GSK-3 β .

Key words: glycogen synthase kinase-3 inhibitor; active ingredients of herbal medicine; molecular docking; molecular simulation

糖原合成酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3) 是一种组成型活性蛋白激酶, 通过对 100 多种底物的磷酸化参与众多细胞功能的调节^[1]。GSK-3 通过 β -连环蛋白^[2] 和 c-Myc^[3] 控制细胞的增殖, 并且通过 TNF α , IL-1 β 和 IL-6 等细胞因子表达炎症^[4]。因此, GSK-3 的过量表达会导致癌症和炎症等疾病^[5,6]。GSK-3 抑制剂的研究最初集中于神经性疾病, 如阿尔茨海默病的治疗, 如今 GSK-3 抑

制剂作为抗癌药物也已经成为研究的热点, 并开发了许多 GSK-3 抑制剂^[1,7-9]。

GSK-3 具有 GSK-3 α 和 GSK-3 β 两种亚型, GSK3 α 主要参与糖原代谢过程, GSK3 β 主要调控癌细胞基因转录、加速细胞周期、参与肿瘤细胞侵袭与转移及凋亡过程, 是肿瘤治疗的重要靶点。GSK-3 β 具有折叠的 N 端和 α 螺旋的 C 端两个结构域, ATP 结合口袋位于两个结构域之间, 主要的氨基酸残基包括 Lys85、Asp133 和 Val35 等, 另外, 其活性区域包括 T-loop 区和正调节因子 Tyr216, 主要的氨基酸包括 Arg96、Arg180 和 Lys205 等。目前研制的 GSK-3 β 抑制剂主要包括蒽酮类、蒽玉红类和马来酰胺类

收稿日期: 2018-07-02 接受日期: 2018-11-07

基金项目: 湖北省教育厅科学研究计划 (B2017099); 陕西省高校科协青年人才托举计划 (20180312)

* 通信作者 E-mail: zhanglilei@outlook.com

等多种类型^[10],然而,多数抑制剂的作用机理是结合于 GSK-3 β 的 ATP 结合口袋部位,从而不仅阻断目标底物蛋白的磷酸化,同时阻止了所有底物的磷酸化,导致 Wnt 信号传导通路中的 β 连环蛋白浓度增加,长期使用具有引发癌症的危险^[11,12]。如果设计作用靶标是 T-loop 区的抑制剂,可以阻碍底物与 T-loop 区的结合,从而阻断底物的磷酸化,但不会影响 axin, β -连环蛋白,因这些蛋白不需要预磷酸化,可以直接与活性部位结合^[13]。因此,此类药物不会击中 Wnt 信号路径,与 ATP 的竞争抑制剂相比,减少癌症发生的可能性。故识别与 T-loop 区的氨基酸的相互作用是这类抑制剂开发的可行方法。

课题组前期利用系统药理学方法建立了一个中药有效成分筛选的模拟体系,通过 ADME 筛选,靶点预测和验证等方法,从多味中草药中筛选出了与 GSK-3 β 靶点有相互作用的 22 个有效成分^[14]。本文在前期研究基础上,采用分子对接和分子动力学方法研究了这 22 个活性成分分别与 GSK-3 β 靶点的 ATP 结合口袋和 T-loop 区域的结合方式,揭示其与 GSK-3 β 靶点的相互作用机理,为中草药的药用机理研究和 GSK-3 β 抑制剂的开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料的准备

从蛋白质晶体数据库(RCSB PDB)中获取 GSK-3 β 的晶体结构模型(PDB ID:5K5N),除去结晶水和配体 PF-04802367,并补全氢原子,记为 GSK-3 β ,作为分子模拟的 GSK-3 β 蛋白模型。采用该晶体结构的原因是它是迄今为止分辨率最高的 GSK-3 β 蛋白晶体模型。小分子化合物的分子结构从化学结构数据库(<http://www.chemspider.com/>)中获取,作为配体的初始构象。

1.2 分子对接

分子对接采用 AutoDock Vina 程序^[15]进行,使用半柔性对接方法将配体分子与 GSK-3 β 进行对接,其中,GSK-3 β 被视为一个刚体,与配体分子所有的可旋转键进行对接。结合位点分别设定为 GSK-3 β 的 ATP 结合口袋和 T-loop 区域,口袋大小为 $20 \times 20 \times 20 \text{ \AA}^3$ 的盒子,网格间距为 1.0 \AA ,中心分别为 ATP 结合口袋和 T-loop 区域的中心。根据在 AutoDock Vina 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

分子动力学(MD)模拟采用 GROMACS(版本 2016.4)程序^[16],将分子对接得到的复合物结构作为 MD 模拟的初始构象,GSK-3 β 部分采用 amber99sb-ildn 力场,小分子配体部分采用 GAFF 力场和 AM1-BCC 电荷。在复合物结构的周围建立可将其完全包围且延伸 8 \AA 的立方体水模型的周期性结构,并加入 5 个 Cl 离子,使体系保持电中性,体系原子的总数目大约为 66 000 个。在进行 MD 模拟之前,首先进行 500 步的能量极小化动力学,再进行 100 ps 的限制性动力学,令溶剂弛豫。优化结束后,采取缓慢升温的方法,将体系温度在 200 ps 内由 0 K 缓慢加热至 310 K,之后进行 20 ns 的 NPT 模拟,时间步长 2 fs。在动力学模拟过程中,运用 Velocity-rescale 方法控制体系温度,将蛋白和配体作为一组,其他原子作为另外一组,分别进行控温。设置所有和氢原子相连的键被认为是不振动的,使用 PME (particle mesh ewald)方法计算长程静电相互作用,范德华相互作用的截断值为 12 \AA 。

1.4 结合自由能的计算

采用连续介质模型 MM-PBSA (molecular mechanics Poisson-Boltzmann surface area)方法计算配体与蛋白复合物的结合自由能,此方法采用分子力学和连续介质模型估算复合物的结合自由能。

MM-PBSA 方法的计算方程式:

$$G = E_{\text{mm}} - TS_{\text{mm}} + G_{\text{solvate}}$$

$$G_{\text{solvate}} = G_{\text{polar}} + G_{\text{nonpolar}}$$

式中 E_{MM} 为气相内能项, TS_{MM} 为气相熵项, G_{solvate} 为溶剂能量项, G_{polar} 和 G_{nonpolar} 分别为极性项和非极性项。计算采用 g_MMPBSA 程序^[17]进行,非极性项 G_{nonpolar} 采用溶剂可及表面(SASA)方法进行计算:

$$G_{\text{nonpolar}} = \gamma S_{\text{SASA}} + \beta$$

其中 $\gamma = 2.2 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{nm}^{-2}$, $\beta = 3.84 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。每个复合物采用 51 个结合构象,在全部 20 ns 模拟中,选取最后 1 ns 为平衡状态,即从 19 ns 开始(包含第 19 ns)取样,间隔为 20 ps,选取一个结构,至 20 ns 结束,共 51 个构象,采用这 51 个构象的极性和非极性项的平均值作为计算值。

2 结果与讨论

2.1 分子对接

首先考察了对接方法的合理性,对已知晶体结

构(PDBID:5K5N)^[18]中的配体 PF-04802367 与重新对接后的 PF-04802367 的结构进行了叠合,结果如图 1 所示。图中黑色部分是原始蛋白晶体中配体 PF-04802367 的结构,白色部分是重新对接后配体 PF-04802367 的结构,从图中可见,对接后配体的结构与原晶体中的结构基本重合,能够很好地重现晶体构象,表明对接方案是合理的。

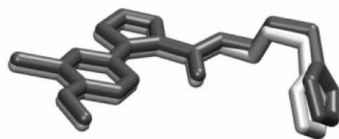


图 1 配体 PF-04802367 在原晶体中的结构与重新对接后的结构叠合图

Fig. 1 The overlapped structures of ligand PF-04802367 in the crystal and re-docking systems

表 1 分子对接结果

Table 1 The results of molecular docking

编号 No.	化合物 Compound	中药 Herb	结合能量 Binding affinity (kcal/mol)	
			ATP pocket	T-loop
M01	Rutin	银杏 <i>Ginkgo biloba</i> 麻黄 <i>Ephedrae herba</i> 钩藤 <i>Uncaria rhynchophylla</i>	-8.9	-6.9
M02	5,2',6'-Trihydroxy-6,7-dimethoxyflavone-2'-O-D-glucoside	黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i>	-7.6	-5.9
M03	Isocorynantheic acid	钩藤 <i>Uncaria rhynchophylla</i>	-7.4	-6.1
M04	Leucocyanidin	麻黄 <i>Ephedrae herba</i>	-7.7	-6.4
M05	Herbacetin	麻黄 <i>Ephedrae herba</i>	-7.6	-6
M06	Vallesiachotamine	钩藤 <i>Uncaria rhynchophylla</i>	-8.3	-6.3
M07	Scuteamoenoside	黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i>	-7.2	-5.4
M08	Geissoschizinc acid	钩藤 <i>Uncaria rhynchophylla</i>	-8.1	-6.6
M09	Savigenin	黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i>	-7.9	-6
M10	2',5,8-Trihydroxy-6,7-dimethoxyflavone	黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i>	-8.2	-5.9
M11	Ajmalicine	钩藤 <i>Uncaria rhynchophylla</i>	-8.1	-7.2
M12	(2S)-7,2',6'-Trihydroxy-5-methoxyflavanone	黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i> 钩藤 <i>Uncaria rhynchophylla</i>	-8.1	-6.3
M13	Quercetin	三七 <i>Panax notoginseng</i> 麻黄 <i>Ephedrae herba</i> 灯盏细辛 <i>Erigeron breviscapus</i> 银杏 <i>Ginkgo biloba</i>	-7.8	-6.4
M14	(2S,12Br)-Methyl-2-((E)-1-oxobut-2-en-2-yl)-1,2,6,7,12,12b-Hexahydroindolo [2,3-a]quinolizine-3-carboxylate	钩藤 <i>Uncaria rhynchophylla</i>	-8	-5.6
M15	2',5,6',7-Tetrahydroxyflavanone	黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i>	-7.2	-5.6
M16	Myricanone	川芎 <i>Rhizome chuanxiong</i>	-8.5	-6
M17	Dihydratanshinone I	丹参 <i>Salvia miltiorrhizae</i>	-9.5	-6.2
M18	Wogonin	黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i>	-7.7	-6
M19	Leucopelargonidin	麻黄 <i>Ephedrae herba</i>	-7.6	-6.5
M20	Ginsenoside-Rb1	三七 <i>Panax notoginseng</i> 人参 <i>Panax ginseng</i>	-5.5	-6.9
M21	Senkyunolide-K	川芎 <i>Rhizome chuanxiong</i> 银杏 <i>Ginkgo biloba</i>	-6.6	-4.9
M22	Apigenin	麻黄 <i>Ephedrae herba</i> 丹参 <i>Salvia miltiorrhiza</i> 黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i>	-8.2	-6.1
M23	PF-04802367	灯盏细辛 <i>Erigeron breviscapus</i> -	-7.6	-6.4

将筛选得到的 22 个中草药有效成分作为配体,与 GSK-3 β 的 ATP 结合口袋以及 T-loop 区域进行对接,对接结合能量的结果如表 1 所示。从结果可见,所有的结合能量均为负值,表明所筛选得到的化合物均可以与 GSK-3 β 的 ATP 结合口袋以及 T-loop 区域结合。另外,绝大部分配体结合于 ATP 结合口袋的能量高于结合于 T-loop 区域的能量,表明这些配体倾向于结合在 GSK-3 β 的 ATP 结合口袋区域,从而与 ATP 竞争结合达到抑制的目的。

其中,芦丁(M01)、杨酶酮(M16)和二氢丹参酮 I (M17) 等成分的结合能量均高于配体 PF-

04802367 的结合能量,表明这些化合物有可能获得更好的抑制活性,并且已经有研究表明,芦丁(M01)^[19]、杨酶酮(M16)^[20]和二氢丹参酮 I (M17)^[10]具有良好的抗肿瘤活性,并且对 GSK-3 β 具有一定的抑制作用,与分子对接结果一致。另外,人参皂苷 Rb1 (M20) 在 GSK-3 β 的 T-loop 区的结合能高于在 ATP 结合口袋的结合能,表明人参皂苷 Rb1 (M20) 可能更易结合于 GSK-3 β 的 T-loop 区域,从而达到抑制作用。

2.2 分子动力学模拟

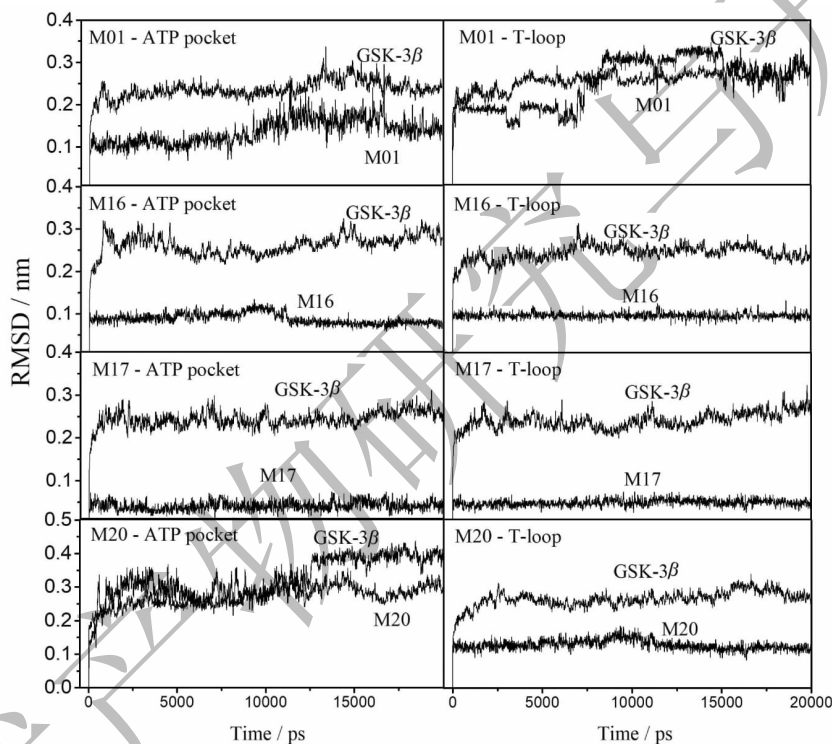


图 2 GSK-3 β 复合物模型分子动力学模拟期间 RMSD 值随时间的变化

Fig.2 The values of RMSD during molecular dynamics simulation of GSK-3 β complexes

为了进一步研究所筛选得到的配体与 GSK-3 β 的相互作用机理,选取芦丁(M01)、杨酶酮(M16)、二氢丹参酮 I (M17) 和人参皂苷 Rb1 (M20) 分别结合于 GSK-3 β 的 ATP 结合口袋区域和 T-loop 区域的构象为初始结构,进行了 20 ns 的分子动力学模拟。选取这些成分的原因是芦丁(M01)、杨酶酮(M16)、二氢丹参酮 I (M17) 结合于 GSK-3 β 的 ATP 结合口袋区域的结合能均大于原晶体结构中配体 PF-04802367 的结合能,并且是所筛选配体中结合能最高的化合物,可能具有较优的抑制活性。另外,人参皂苷 Rb1 (M20) 结合于 GSK-3 β 的 T-loop 区域的结

合能高于在 ATP 结合口袋区域的结合能,可能是可结合于 T-loop 区域的 GSK-3 β 有效抑制剂。

通过分子模拟过程中构象的均方根偏差(RMSD)验证结构是否达到平衡,结果如图 2 所示。从图中可见,经过约 2 ns 的模拟后,构象中蛋白和配体的 RMSD 值上下波动范围均稳定在 1 Å 的范围之内,表明所研究构象经过平衡后均达到稳定结构。

从最后 1ns 的运动轨迹中,取出最低能量结构对配体与蛋白之间的相互作用进行了分析。使用软件 Ligplot + 计算得到芦丁(M01)、杨酶酮(M16)、二氢丹参酮 I (M17) 和人参皂苷 Rb1 (M20) 与 GSK-

3β 的 ATP 结合口袋区域和 T-loop 区域的相互作用网络。

配体和蛋白之间的相互作用主要包括疏水作用和氢键作用。芦丁(M01)、杨酶酮(M16)、二氢丹参酮 I(M17) 和人参皂苷 Rb1(M20) 分别与 GSK- 3β 的

ATP 结合口袋区域的关键氨基酸如 Val135、Phe67 和 Asp133 等, 以及 T-loop 区域的关键氨基酸 Leu88、Asp181 和 Cys218 等形成了若干强度不同的疏水作用和氢键作用。

表 2 小分子配体与 GSK- 3β 残基间的氢键相互作用

Table 2 The hydrogen bond interactions between small molecule ligands and GSK- 3β residues

模型 Models	配体原子 Ligand atom	残基 Residues	键长 Bond length	存活率 Survival rate
M01- ATP pocket	N	Asp133	3.40	63%
M01- ATP pocket	O	Asp133	2.66	98%
M01- ATP pocket	O	Gln185	2.91	95%
M16- ATP pocket	O	Val135	3.13	65%
M17- ATP pocket	N	Lys85	2.94	35%
M20- ATP pocket	O	Asn186	2.78	8%
M20- ATP pocket	N	Lys183	3.21	5%
M01- T-loop	O	Leu88	2.79	48%
M01- T-loop	O	Gly202	2.77	50%
M01- T-loop	O	Glu125	2.57	37%
M01- T-loop	O	Glu125	2.72	32%
M16- T-loop	O	Asp181	2.94	20%
M16- T-loop	O	Asp200	3.25	5%
M17- T-loop	N	Arg96	3.34	2%
M17- T-loop	N	Arg96	2.97	3%
M17- T-loop	N	Arg96	2.83	5%
M20- T-loop	N	Lys183	3.40	17%
M20- T-loop	O	Asp181	2.58	5%
M20- T-loop	O	Asp181	2.51	8%
M20- T-loop	O	Tyr222	2.92	11%
M20- T-loop	N	Ser219	2.87	28%
M20- T-loop	O	Ile217	3.07	16%

氢键是维系蛋白质与配体分子结合稳定性的重要作用力。分别对芦丁(M01)、杨酶酮(M16)、二氢丹参酮 I(M17) 和人参皂苷 Rb1(M20) 与 GSK- 3β 形成的氢键进行了分析, 并对模拟过程中 10 ns 至 20 ns 的运动轨迹中的氢键统计了存活率。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°。结果如表 2 所示。

从结果可见, 形成的氢键均为配体中的含氧和含氮基团与蛋白的残基之间的氢键, 表明配体的含氧和含氮基团为形成氢键的关键部分。芦丁(M01)

与 GSK- 3β 的 ATP 结合口袋区域的残基 Asp133 和 Gln185 形成了 3 个主要氢键, 其中两个氢键的存活率达到 95% 以上, 是其能够与 GSK- 3β 的 ATP 结合区域形成稳定相互作用的主要原因, 另外, 芦丁(M01) 与 GSK- 3β 的 T-loop 区域的残基 Leu88、Gly202 和 Glu125 形成了 4 个主要氢键, 然而其存活率均仅在 40% 左右, 氢键的稳定性小于在 ATP 结合口袋区域的氢键, 这也是芦丁(M01) 更倾向于与 GSK- 3β 的 ATP 结合区域结合的原因。杨酶酮(M16) 与 GSK- 3β 的 ATP 结合口袋区域的残基

Val135 形成了一个存活率为 65% 的氢键,相较于与 T-loop 区域的残基 Asp181 和 Asp200 形成的存活率分别为 20% 和 5% 的两个氢键更稳定,是该化合物更倾向于与 GSK-3 β 的 ATP 结合区域结合的原因。二氢丹参酮 I (M17) 与 GSK-3 β 的 ATP 结合区域的残基 Lys85 形成存活率为 35% 的氢键,相较于与 T-loop 区域的残基 Arg96 形成的存活率 4% 左右的三个氢键更加稳定,因此,二氢丹参酮 I (M17) 更倾向结合于 GSK-3 β 的 ATP 结合区域。

另外,人参皂苷 Rb₁ (M20) 与 GSK-3 β 的 ATP 结合口袋区域的残基 Asn186 和 Lys183 形成两个氢键,存活率分别为 8% 和 5%,氢键并不稳定,与 T-loop 区域的残基 Lys183、Asp181、Tyr222、Ser219 和 Ile217 形成了 6 个氢键,存活率分别为 17%、5%、8%、11%、16% 和 28%,尽管存活率不高,但是由于形成氢键数目较多,并且存活率高于与 ATP 结合口袋区域形成的氢键,故人参皂苷 Rb₁ (M20) 更易结合于 T-loop 区域。

综上所述,所研究的 4 个配体与 GSK-3 β 的残基形成氢键的数目和稳定性,与其和 ATP 结合区域和 T-loop 区域的结合能力具有相同的趋势,是影响化合物与 GSK-3 β 结合能力的重要因素。

2.3 结合自由能分析

由于对接得到的结合能量只考虑了分子内能和

分子间的能量,是较为粗糙的,并且也没有考虑溶剂对配体结合的影响,为了更准确反应配体和蛋白在水溶剂作用下的结合能量,采用 MM-PBSA (Molecular Mechanics-Poisson Boltzmann Surface Area, 分子力学泊松玻尔兹曼表面积) 方法计算了配体与 GSK-3 β 的结合自由能,结果如表 3 所示。

将结合自由能分为范德华力、静电力、极性溶剂化能和非极性溶剂化能四个部分。从表 3 中可见,芦丁 (M01)、杨酶酮 (M16) 和二氢丹参酮 I (M17) 在 ATP 结合口袋内的结合能量均大于在 T-loop 区域的能量,这与前述分子对接能量分析和分子动力学氢键分析的结果一致,这主要是由于小分子配体与 GSK-3 β 的 ATP 结合口袋区域形成了更为稳定的氢键的原因,并且从结合自由能的分解可见,范德华力、静电力和非极性溶剂化能有利于配体的结合,而极性溶剂化能对配体的结合是不利的。另外,人参皂苷 Rb₁ (M20) 与 GSK-3 β 的 T-loop 区域的结合自由能大于 ATP 结合口袋区域的结合自由能。这表明人参皂苷 Rb₁ (M20) 更易结合于 T-loop 区域从而起到抑制作用,与前述结果一致,研究类似与人参皂苷 Rb₁ (M20) 的相关结构化合物,特别是其与 GSK-3 β 的 T-loop 区域形成氢键部分的结构,有可能获得与 GSK-3 β 的 T-loop 区域具有相互作用的抑制剂。

表 3 配体与 GSK-3 β 相互作用的结合自由能分析结果

Table 3 Binding free-energy analysis of the interaction between ligands and GSK-3 β

Molecules	M01		M16		M17		M20	
	ATP pocket	T-loop	ATP pocket	T-loop	ATP pocket	T-loop	ATP pocket	T-loop
VDW	-183.780	-98.212	-167.023	-17.617	-168.468	-127.845	-235.782	-285.978
Elec	-94.025	-155.203	-33.725	-1.377	-33.779	-6.079	-156.952	-112.223
Polar	195.055	238.381	115.453	2.980	127.117	64.385	316.404	294.769
SASA	-20.054	-14.520	-18.092	-2.318	-16.207	-13.450	-27.044	-31.757
binding	-102.800	-29.698	-103.429	-17.730	-97.405	-83.032	-103.906	-135.653

3 结论

以一类中草药的活性成分为研究对象,通过分子对接发现,芦丁、杨酶酮、二氢丹参酮 I 和人参皂苷 Rb₁ 能够与 GSK-3 β 良好地结合,其中,芦丁、杨酶酮、二氢丹参酮 I 主要结合于 GSK-3 β 的 ATP 结合口袋,人参皂苷 Rb₁ 主要结合于 GSK-3 β 的 T-loop 区域。通过分子动力学模拟获取了配体与蛋白复合

物的稳定构象,通过氢键分析发现,配体和蛋白形成的氢键的数目和存活率是影响抑制能力的主要因素,氢键的形成主要取决于配体的含氧和含氮基团与蛋白残基的相互作用。基于人参皂苷 Rb₁ 的结构,特别是其与 GSK-3 β 的 T-loop 区域残基形成氢键部分的结构,通过分子设计有望获得结合于 GSK-3 β 的 T-loop 区域的有效抑制剂。

参考文献

- 1 Eleonore B, Steven FG, Richard S, *et al.* Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): regulation, actions, and diseases [J]. *Pharmacol Therapeut*, 2015, 148: 114-131.
- 2 Nam-Chul H, Takashi T, Jennifer LS, *et al.* Mechanism of phosphorylation-dependent binding of APC to β -catenin and its role in β -catenin degradation [J]. *Mol Cell*, 2004, 15: 511-521.
- 3 Carolin S, Matthias W, Maximilian R, *et al.* PI3K signaling maintains c-myc expression to regulate transcription of E2F1 in pancreatic cancer cells [J]. *Mol Carcinogen*, 2009, 48: 1149-1158.
- 4 Eléonore B, Suzanne MM, Richard SJ. Innate and adaptive immune responses regulated by glycogen synthase kinase-3 (GSK3) [J]. *Trends Immunol*, 2010, 31(1): 24-31.
- 5 Claudia H, Nadja D, Jürgen S, *et al.* Glycogen synthase kinase 3- β : a master regulator of toll-like receptor-mediated chronic intestinal inflammation [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2010, 16: 1850-1858.
- 6 Amy W, Andrey U, Sunandana C, *et al.* Molecular pathways: revisiting glycogen synthase kinase-3 β as a target for the treatment of cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 1891-1897.
- 7 David JD, Aleksandar K, Thomas S, *et al.* GSK3 inhibitors regulate MYCN mRNA levels and reduce neuroblastoma cell viability through multiple mechanisms, including p53 and Wnt signaling [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13: 454-467.
- 8 Inelia M, Leonardo GM, Cristóbal CT, *et al.* Neuroinflammation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. A rational framework for the search of novel therapeutic approaches [J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 112.
- 9 Emma EV, Douglas JE, Linda O, *et al.* Glycogen synthase kinase 3 protein kinase activity is frequently elevated in human non-small cell lung carcinoma and supports tumour cell proliferation [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e114725.
- 10 Liu Q (刘谦), Tang YY (唐圆圆), Zhang GH (张国海), *et al.* Progress in research of glycogen synthase kinase-3 β and its inhibitors from natural medicines [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formul* (中国实验方剂学杂志), 2010, 9: 223-229.
- 11 Jurgen B, Barbara L. The Wnt connection to tumorigenesis [J]. *Int J Dev Biol*, 2004, 48: 477-487.
- 12 Lustig B, Behrens J. The Wnt signaling pathway and its role in tumor development [J]. *J Cancer Res Clin*, 2003, 129: 199-221.
- 13 Paul P. Wnt signaling and cancer [J]. *Gen Dev*, 2000, 14: 1837-1851.
- 14 Zhang JX, Li Y, Chen XT, *et al.* Systems pharmacology dissection of multi-scale mechanisms of action for herbal medicines in stroke treatment and prevention [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e102506.
- 15 Oleg T, Arthur JO. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. *J Comput Chem*, 2010, 31: 455-461.
- 16 Berk H, Carsten K, David DS, *et al.* GROMACS 4: algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation [J]. *J Chem Theory Comput*, 2008, 4: 435-447.
- 17 Rashmi K, Rajendra K, Andrew, *et al.* g_mmpbsa: A GROMACS tool for high-throughput MM-PBSA calculations [J]. *J Chem Inf Model*, 2014, 54: 1951-1962.
- 18 Liang SH, Chen JM, Normandin MD, *et al.* Discovery of a highly selective glycogen synthase kinase-3 inhibitor (PF-04802367) that modulates tau phosphorylation in the brain: translation for PET neuroimaging [J]. *Angew Chem Int Edit*, 2016, 55: 9601-9605.
- 19 Meng Y (孟莹), Lu S (逯双), Chen MY (陈明月), *et al.* Pharmacokinetics of rutin, quercitrin, and isoquercitrin in *Hedyotis diffusa* in normal and tumor-bearing rats [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2018, 6: 1345-1350.
- 20 Ren ZM (任泽明), Tong YL (童晔玲), Dai GH (戴关海), *et al.* Effect of myricanone on tumor *in vitro* [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中华中医药学刊), 2014, 10: 2423-2425.