

· 论著 ·

(1,3)- β -D-葡聚糖合成酶小分子抑制剂药效团模型的构建

姜艳娟^{1,2}, 崔俐俊³, 贺潇蒙², 刘娜², 盛春泉^{1,2} (1. 福建中医药大学, 福建 福州 350122; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433; 3. 上海健康医学院药学院, 上海 201318)

[摘要] **目的** 开展基于配体的计算机辅助药物设计, 构建(1,3)- β -D-葡聚糖合成酶[(1,3)- β -D-Glucan Synthase, GS]小分子抑制剂的药效团模型。**方法** 选取结构多样、抑酶活性较好的6个小分子构成训练集, 利用Catalyst的药效团生成模块中的HipHop算法构建药效团模型, 用构建的Decoyset 3D数据库对药效团模型进行评估。**结果** 药效团模型(pharmacophore)02具有较好的富集率因子以及敏感性、特异性参数。用Decoyset 3D数据库对药效团模型进行验证, 该模型具有较好的区分能力。**结论** 本课题开展基于活性配体的GS小分子抑制剂药效团构建, 对新型小分子GS抑制剂的设计和发现具有一定的指导意义。

[关键词] 小分子抑制剂; 药效团模型; 药物设计; 配体

[中图分类号] R914 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2018)02-0116-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.02.005

The construction of pharmacophore model for (1,3)- β -D-glucan synthase small molecule inhibitors

JIANG Yanjuan¹, CUI Lijun³, HE Xiaomeng², LIU Na², SHENG Chunquan^{1,2} (1. Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fu Zhou 350122, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 3. School of Pharmacy, Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201318, China)

[Abstract] **Objective** To perform the ligand-based computer-aided drug design and construct the pharmacophore model of (1,3)- β -D-Glucan Synthase (GS) small molecule inhibitors. **Method** Six small molecules with diverse structures and good inhibitory activity were selected to construct the training set. The HipHop algorithm in Catalyst pharmacophore generation module was utilized to construct the pharmacophore models. The pharmacophore models were evaluated by constructed Decoyset 3D database. **Results** Pharmacophore 02 has a good enrichment factor, sensitivity and specificity parameters. Pharmacophore model validation with Decoyset 3D database proved that the model has good distinguishing capability. **Conclusion** The pharmacophore model of GS small molecule inhibitors was constructed and tested. It will provide valuable information for design and discovery of novel small molecule GS inhibitors.

[Key words] small molecule inhibitors; pharmacophore model; drug design; ligand

(1,3)- β -D-葡聚糖合成酶(GS)抑制剂是一类新型抗真菌药物, 目前上市药物有卡泊芬净(caspofungin)、米卡芬净(micafungin)、阿尼芬净(anidulafungin)等。GS位于真菌细胞壁, 是一个高选择性的抗真菌药物作用靶标。由于人体细胞不存在细

胞壁, 该类抑制剂的毒副作用较低, 同时也可以用于治疗对唑类产生耐药性的真菌感染^[1]。但是, 目前上市的GS抑制剂均含有环六脂肽结构, 这些药物虽然疗效较好, 但存在不能口服、合成难度大、价格昂贵等缺陷。研发合成简便、可口服的GS小分子抑制剂是抗真菌新药研发领域的前沿方向。

现有的GS小分子抑制剂包括萜类^[2]、哌嗪丙醇类^[3]、咖啡酸类^[4,5]、哒嗪酮类^[4,6-9]和取代苯胺类, 其中哒嗪酮类抑制剂显示了最佳的成药前景。尽管GS晶体结构尚未阐明, 但现有小分子抑制剂的骨架结构具有多样性, 在此基础上开展基于配体的计算机辅助药物设计, 为发现拥有自主知识产权的新型小分子GS抑制剂提供可能。

基于配体的药物设计(ligand-based drug de-

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81573283); 国家自然科学基金青年基金项目(21502224)

[作者简介] 姜艳娟, 硕士研究生, 研究方向: 抗真菌药物, Tel: 17621305991, Email: yanjuanjiang@aliyun.com

[通讯作者] 盛春泉, 教授, 博士生导师, 研究方向: 化学治疗药物, Tel: (021)81871205, Email: shengcq@hotmail.com; 刘娜, 高级实验师, 研究方向: 抗真菌药物, Tel: (021)81871230-19, Email: liuna66@aliyun.com

sign)是一种间接的药物设计方法,它的工具即药效团模型。应用药效团模型可以指导化合物改造、预测化合物活性以及高通量虚拟筛选等。药效团模型(pharmacophore)是指药物活性分子中对活性起着重要作用的“药效特征元素”及其空间排列形式。这些“药效特征元素”是配体与受体发生相互作用时的活性部位,可以是某些具体的原子或原子团,也可以是抽象的化学功能结构,如疏水团、氢键受体、氢键供体等。基于配体构建药效团的方法主要有:Catalyst (Accelrys 公司开发,现在作为 DiscoveryStudio (DS)的一个模块),GASP (现在作为 Tripos 公司的 Sybyl 的一个模块),DISCO (现在作为 Tripos 公司的 Sybyl 的一个模块)。前两者应用最为广泛。Catalyst 的药效团生成模块主要包括 HipHop 和 Hypogen 两种算法,前者为定性,只基于公共特征,后者为定量,可预测活性值。两者对训练集的要求也不同。HipHop 是应用广泛的药效团模型产生方法,用于对一组都具有活性的化合物进行基于特性

结构的比对,并自动生成药效团。Hypogen 对训练集要求较高,除了要求化合物分子结构多样性外,还要求活性多样性,活性值至少覆盖 4 个数量级^[10]。

因此,本课题选择 HipHop 算法对目前报道的 GS 小分子抑制剂进行药效团构建。

1 方法

1.1 训练集分子的挑选和准备

训练集要求输入作用于相同靶标、相同结构域 的分子,并且要求结构具有多样性。对萘类、哌嗪丙醇类、咖啡酸类、吡嗪酮类和取代苯胺类的结构进行研究后,发现吡嗪酮类和萘类、咖啡酸、取代苯胺类结构差异过大,而与哌嗪丙醇类具有一定相似性。因此,我们从吡嗪酮类和哌嗪丙醇类中选择训练集分子。通过文献检索,笔者发现目前报道的吡嗪酮类分子有 116 个,在保证结构多样的前提下,选取了抑制活性最好的 5 个吡嗪酮类分子和 1 个哌嗪丙醇类分子 GSI578,构成训练集^[10],详见图 1。

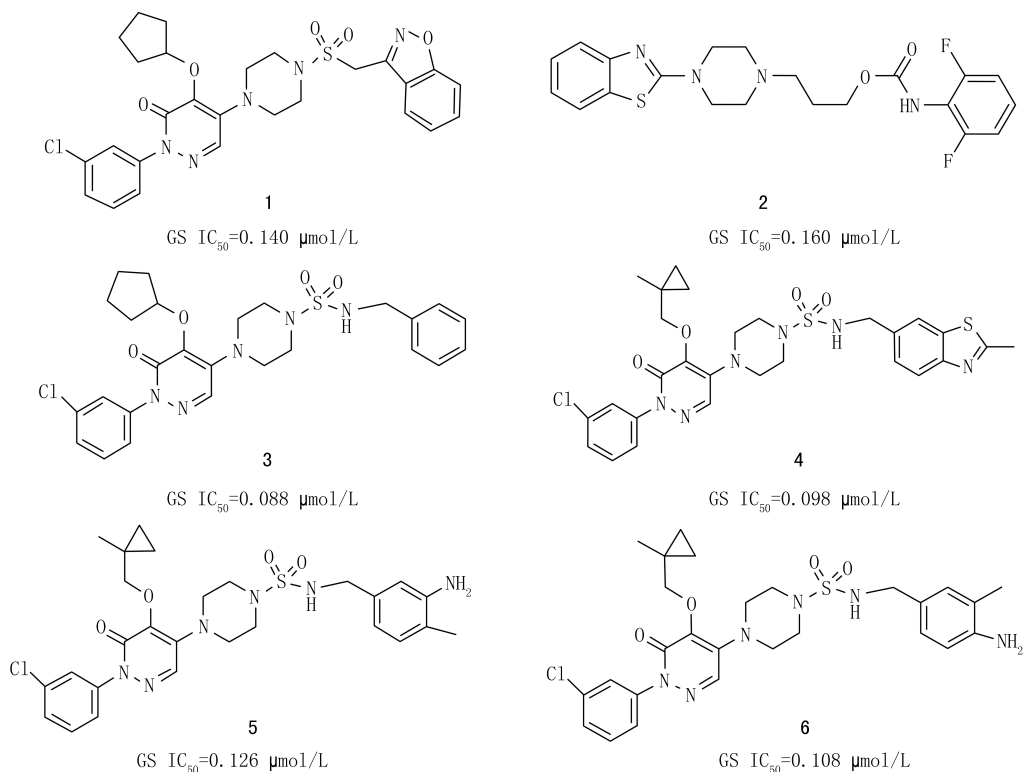


图 1 挑选的 6 个训练集分子

1.1.1 画出分子的二维结构

用 SYBYL 的 SKETCH 模块将这 6 个分子的二维结构画出,用 Minimize 模块进行动力学优化,得到最低能量构象,导出为 mol2 格式备用。

1.1.2 添加属性

用 DS 将 mol2 格式的分子打开,添加属性:

MaxOmitFeat 和 Principal。MaxOmitFeat 默认为 0,表明该化合物必须与所有特征相匹配。Principal 默认为 2,表明该配体是活性配体。

1.1.3 产生多构象

由于输入的构象不一定是活性构象,为了最大限度覆盖配体分子与受体结合时可能存在的各种构

象,用 Generate Conformation 对分子进行处理,产生一系列低能构象。

1.2 药效团特征元素的选取

药效特征元素通常用不同颜色的球体表示(图2B),包括氢键受体(hydrogen bond acceptor, HBA)(绿色球体所示)、氢键给体(hydrogen bond donor, HBD)、疏水中心(hydrophobic, HY)(蓝色球体所示)、电荷中心(positive ionizable or negative ionizable)、芳环中心(ring aromatic)(黄色球体所示)等。选取药效团特征元素首先通过 Feature Mapping 查看训练集分子所具备的药效特征,其次在 Common Feature Pharmacophore 设置药效特征元素,选择 HBA, HBD, HY, positive ionizable, negative ionizable, ring aromatic 6个特征元素。

设置 Minimum Interfeature Distance (药效特

征间最小距离)为 0.5Å, Maximum Features (最大药效特征数)为 5。在 Conformation Generation 中,将 Maximum Conformation 设为 200,表示每个训练集分子最多产生 200 个低能构象; Energy Treshold 设为 10,表示在 10 kcal/mol 的能量截断值范围内产生多构象。运行,查看结果。

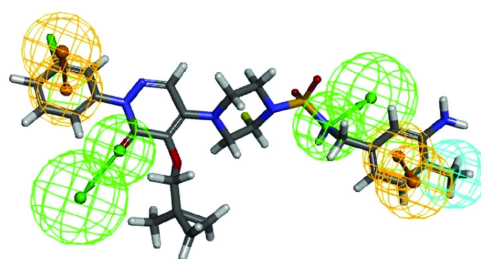
结果产生 10 个药效团模型,每个药效团模型均有 5 个特征元素(图 2A)。查看小分子与药效团的匹配情况,选择打分最高的药效团模型 01(图 2B 为药效团模型 01 与化合物 6 叠合)。

其他设置不变,更改 Maximum Features 为 10,点击运行。

结果产生 10 个药效团模型,每个均有 7 个特征元素(图 3A)。查看小分子与每个药效团的匹配情况,选择打分最高的药效团模型 02(图 3B 为药效团模型 02 与化合物 5 叠合)。

	Features	Rank	Direct Hit	Partial Hit	Max Fit
01	RRHAA	97.872	111111	000000	5
02	RRHAA	97.578	111111	000000	5
03	RRHAA	97.578	111111	000000	5
04	RRHAA	97.578	111111	000000	5
05	RRHAA	97.066	111111	000000	5
06	RRHAA	96.734	111111	000000	5
07	RRHAA	96.734	111111	000000	5
08	RRHAA	96.504	111111	000000	5
09	RRHAA	96.168	111111	000000	5
10	RRHAA	96.168	111111	000000	5

A

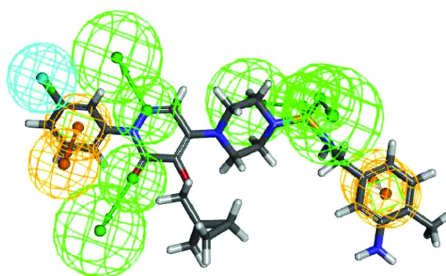


B

图 2 药效团模型 01

	Features	Rank	Direct Hit	Partial Hit	Max Fit
01	RRHAAAA	126.939	111111	000000	7
02	RRHAAAA	126.768	111111	000000	7
03	RRHAAAA	126.768	111111	000000	7
04	RRHAAAA	126.765	111111	000000	7
05	RRHAAAA	126.612	111111	000000	7
06	RRHAAAA	126.612	111111	000000	7
07	RRHAAAA	126.461	111111	000000	7
08	RRHAAAA	126.165	111111	000000	7
09	RRHAAAA	126.166	111111	000000	7
10	RRHAAAA	126.834	111111	000000	7

A



B

图 3 药效团模型 02

1.3 药效团模型的评估

1.3.1 构建 Decoyset 3D 数据库

在前文所述的 116 个哒嗪酮类分子中,挑选出活性较好的 105 个分子,分别用 Sybyl 画出二维结

构,经过 Minimization 获得最低能量构象,保存成 mol2 格式。用 specs2010 随机挑选出结构多样的 2 307 个分子,加上挑选出的 105 个活性哒嗪酮类分子,共计 2 412 个分子作为训练集。

用 Build 3D Database 构建 Decoyset 3D 数据库,将 2 412 个分子生成一系列低能构象,并命名新的数据库。

1.3.2 用 Decoyset 评估药效团模型

在 Search 3D Database 模块中,分别用药效团模型 01 和药效团模型 02 对构建的 Decoyset 3D 数据库进行虚拟筛选,用来评价药效团是否有能力将活性分子从大量的非活性分子中筛选出来。

2 结果和讨论

2.1 比较 Decoyset 筛选结果

2.1.1 药效团模型 01

查看药效团与测试分子的匹配情况,在 Decoyset 的 2 412 个分子中,有 90 个与该药效团模型完全匹配的分子,其中的 79 个为已报道的活性分子(表 1)。

表 1 筛选测试集得到的相关统计参数

序号	参数	数值
1	数据库中的分子总数 (D)	2 412
2	数据库中的活性分子总数 (A)	105
3	数据库中的命中分子总数 (Ht)	90
4	命中列表中的活性分子总数 (Ha)	79
5	活性物质的产率 (%) [(Ha/Ht)×100]	87.78
6	活性物质的比例 (%) [(Ha/A)×100]	75.23
7	富集率因子 (EF)	20.16
8	假阴性 [A-Ha]	26
9	假阳性 [Ht-Ha]	11
10	拟合优度的分数 a(GF)	0.85

其中,

$$\text{富集率因子 (EF)} = \frac{\text{Ha}/\text{Ht}}{\text{A}/\text{D}} = 20.16;$$

计算得出,

$$\text{灵敏度} = \frac{\text{TP(真阳性)}}{\text{TP+FN(假阴性)}} = 0.7524;$$

$$\text{特异性} = \frac{\text{TN(真阴性)}}{\text{TN+FP(假阳性)}} = 0.9952。$$

2.1.2 药效团模型 02

查看药效团与测试分子的匹配情况,在 Decoyset 的 2 412 个分子中,有 84 个与该药效团模型完全匹配的分子,其中的 81 个为已报道的活性分子(表 2)。

其中,

$$\text{富集率因子 (EF)} = \frac{\text{Ha}/\text{Ht}}{\text{A}/\text{D}} = 22.14;$$

计算得出,

表 2 筛选测试集得到的相关统计参数

序号	参数	数值
1	数据库中的分子总数 (D)	2 412
2	数据库中的活性分子总数 (A)	105
3	数据库中的命中分子总数 (Ht)	84
4	命中列表中的活性分子总数 (Ha)	81
5	活性物质的产率 (%) [(Ha/Ht)×100]	96.42
6	活性物质的比例 (%) [(Ha/A)×100]	77.14
7	富集率因子 (EF)	22.17
8	假阴性 [A-Ha]	24
9	假阳性 [Ht-Ha]	3
10	拟合优度的分数 a(GF)	0.99

$$\text{灵敏度} = \frac{\text{TP(真阳性)}}{\text{TP+FN(假阴性)}} = 0.7714;$$

$$\text{特异性} = \frac{\text{TN(真阴性)}}{\text{TN+FP(假阳性)}} = 0.998。$$

经过计算,无论是富集率因子还是敏感性和特异性参数,药效团模型 02 都优于药效团模型 01。

2.2 药效团模型 02 与配体的匹配情况

药效团模型 02 共有 7 个特征元素组成(图 4)。左边为 1 个疏水中心 (HY_3), 依次向右是 1 个芳环中心 (ring aromatic_1) 和 2 个氢键受体 (上为 HBA_4, 下为 HBA_6), 最右边是 1 个芳环中心 (ring aromatic_2) 和 2 个氢键受体 (HBA_7 和 HBA_5)。各特征元素之间的距离和夹角如表 3 所示。

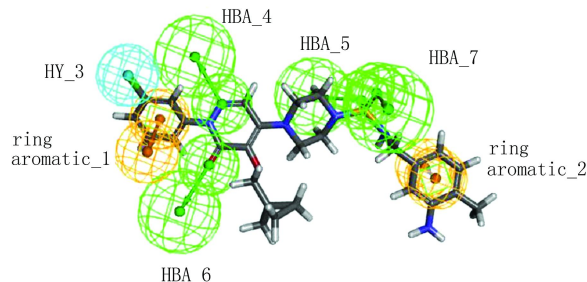


图 4 药效团模型 02 的特征元素

表 3 药效团模型 02 各特征元素间的几何参数

药效团模型 02	距离 (Å)	药效团模型 02	角度 (°)
HBA_4-HBA_6	3.405	HBA_6-HBA_4-HY_3	94.13
HBA_4-HY_3	5.325	ring aromatic_1-HY_3-HBA_6	19.78
HBA_4-ring aromatic_1	3.527	ring aromatic_2-HBA_5-HBA_7	67.37
HBA_6-HY_3	6.524		
HBA_6-ring aromatic_1	3.728		
HY_3-ring aromatic_1	3.135		
HBA_7-HBA_5	2.426		
HBA_7-ring aromatic_2	5.676		
HBA_5-ring aromatic_2	6.149		

将模型与训练集中的高活性分子 5 (GS $IC_{50} = 0.126 \mu\text{mol/L}$) 进行叠合, 分子左侧的间氯苯基与芳香中心 (ring_aromatic_1) 叠合较好, 氯原子与疏水中心 (HY_3) 重合, 哒嗪酮的羰基和 N 原子分别和 HBA_6 和 HBA_4 重合, 砜的 2 个硫羰基分别和

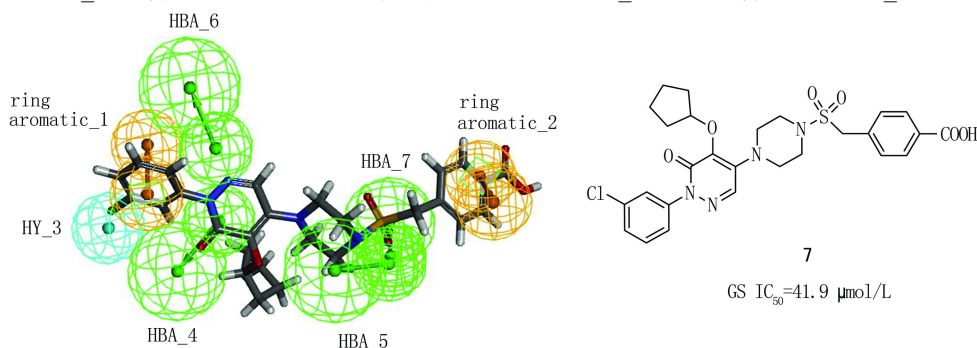


图 5 药效团模型 02 与训练集低活性分子 7 的叠合图

端羧酸苯基与 ring_aromatic_2 存在明显偏差。

通过 Decoyset 的评估验证, 药效团模型 02 具有较好的富集率因子以及敏感性、特异性参数。通过观察与配体的叠合情况, 该模型也能够较好地解释构效关系。

3 讨论

通过文献检索, 从目前报道的 116 个哒嗪酮类分子中, 选取了结构多样、抑酶活性最好的 6 个分子构成训练集。

通过 Feature Mapping 查看训练集分子所具备的药效特征以及在 Common Feature Pharmacophore 设置药效特征元素, 选择 6 个特征元素。当设置 Maximum Features 分别为 5 和 10 时, 分别选择打分最高的药效团模型 01 和 02。对构建的 Decoyset 3D 数据库进行虚拟筛选。

发现药效团模型 02 具有较好的富集率因子以及敏感性、特异性参数。通过观察与配体的叠合情况, 该模型也能够较好的解释构效关系。

本课题开展基于活性配体的 GS 小分子抑制剂药效团构建, 对新型小分子 GS 抑制剂的设计和发现具有一定的指导意义, 有望为发现拥有自主知识产权的新型小分子 GS 抑制剂提供可能。

【参考文献】

[1] Kurtz MB, Douglas CM. Lipopeptide inhibitors of fungal glucan synthase[J]. J Med Vet Mycol, 1997, 35(2):79-86.

HBA_7 和 HBA_5 重合, 磺酰胺末端的苯基与芳香中心 (ring_aromatic_2) 重合 (图 4)。

将模型与测试集中活性最低的化合物 7 (GS $IC_{50} = 41.9 \mu\text{mol/L}$) 进行叠合, 从图 5 可见, 该分子与 HBA_6 无法叠合, 与 HBA_5 几乎没有重叠, 末

- [2] Onishi J, Meinz M, Thompson J, et al. Discovery of novel antifungal (1,3)-beta-D-glucan synthase inhibitors[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(2):368-377.
- [3] Castro C, Ribas JC, Valdivieso MH, et al. Papulacandin B resistance in budding and fission yeasts: isolation and characterization of a gene involved in (1,3)beta-D-glucan synthesis in Saccharomyces cerevisiae [J]. J Bacteriol, 1995, 177(20):5732-5739.
- [4] Taft CS, Enderlin CS, Selitrennikoff CP. A high throughput in vitro assay for fungal (1,3)beta-glucan synthase inhibitors [J]. J Antibiot, 1994, 47(9):1001-1009.
- [5] Ma CM, Kully M, Khan JK, et al. Synthesis of chlorogenic acid derivatives with promising antifungal activity [J]. Bioorg Med Chem, 2007, 15(21):6830-6833.
- [6] Ting PC, Kuang R, Wu H, et al. The synthesis and structure-activity relationship of pyridazinones as glucan synthase inhibitors[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2011, 21(6):1819-1822.
- [7] Kuang R, Wu H, Ting PC, et al. The optimization of pyridazinone series of glucan synthase inhibitors [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2012, 22(16):5268-5271.
- [8] Zych AJ, Lam SQ, Jenkins DM, et al. Lead optimization of a sulfonamide-based piperazine pyridazinone series of glucan synthase inhibitors [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2012, 22(14):4896-4899.
- [9] Zhou G, Ting PC, Aslanian R, et al. SAR studies of pyridazinone derivatives as novel glucan synthase inhibitors [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2011, 21(10):2890-2893.
- [10] 贺潇蒙. 新型抗真菌先导化合物的设计、合成和活性研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2015.

【收稿日期】 2017-08-20 【修回日期】 2018-01-19

【本文编辑】 陈盛新