Screening of 14-3-3 σ Natural Product Inhibitors by Molecular Docking

Mingsong Shi

College of Chemistry, Sichuan University, Chengdu Sichuan Email: therotyonth@163.com

Received: Feb. 28th, 2019; accepted: Mar. 20th, 2019; published: Mar. 27th, 2019

Abstract

14-3-3s regulates a variety of biological functions through protein-protein interactions, such as signaling, metabolism, cell growth, and cell proliferation. In this study, 14-3-3 σ was selected as a target to screen for natural product inhibitors of protein-protein interactions. The possible inhibitors were screened from the Taiwan natural product database by molecular docking and the binding models between the inhibitor and 14-3-3 σ were understood by molecular dynamics simulations. The binding free energy of inhibitor/4-3-3 σ was quantitatively investigated by the MM-GBSA method. This study has shown that there are two potential 14-3-3 σ inhibitors.

Keywords

14-3-3, Inhibitor, Natural Product, Molecular Dynamics, Protein-Protein Interaction

通过分子对接筛选14-3-3σ天然产物抑制剂

石明松

四川大学化学学院,四川 成都 Email: therotyonth@163.com

收稿日期: 2019年2月28日; 录用日期: 2019年3月20日; 发布日期: 2019年3月27日

摘要

14-3-3s通过蛋白 - 蛋白相互作用来调控多种生物功能,如信号传导、新陈代谢、细胞生长及细胞增殖等。 本研究选取14-3-3σ作为靶标来筛选蛋白 - 蛋白相互作用的天然产物抑制剂。通过分子对接方法从台湾 天然产物数据库中筛选出可能的抑制剂,并通过分子动力学方法模拟抑制剂与14-3-3σ的复合物的结合 特性。由MMGBSA方法计算结合自由能定量探讨抑制剂与4-3-3σ的结合强度。研究表明存在两种潜在的

文章引用:石明松.通过分子对接筛选 14-3-3σ天然产物抑制剂[J].物理化学进展, 2019, 8(1): 11-21. DOI: 10.12677/japc.2019.81002 石明松

14-3-3σ抑制剂。

关键词

14-3-3,抑制剂,天然产物,分子动力学,蛋白-蛋白相互作用

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY). <u>http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</u>

CC ① Open Access

1. 引言

生物体通过蛋白 - 蛋白相互作用来调控生理过程中的多种生物功能,如信号传导、新陈代谢、细胞 生长及细胞增殖等[1]。通过调节蛋白 - 蛋白相互作用可以实现对相关生理活动的人为调控,所以蛋白 -蛋白相互作用作为新的药物靶标获得医药研究者的广泛关注[2] [3] [4]。14-3-3s 是研究蛋白 - 蛋白相互作 用的模型[5] [6]。

14-3-3s 是广泛存在于真核生物中的信号蛋白,人类主要有七种亚型(α/β, ε, η, γ, τ/θ, σ 和 ζ) [7],这些 不同的亚型在人体分布不均[8]。14-3-3s 各亚型之间除能形成同源或异源二聚体之外,还能与上千种的配 体蛋白形成蛋白 - 蛋白相互作用[9]。研究表明 14-3-3s 主要与磷酸丝氨酸或苏氨酸蛋白相互作用,主要 结合模式有 RSXpSXP (I型结合模式)和 RXXXpSXP (II型结合模式) [10]。还有一种 motif-pS/pT(X₁₋₂)-COOH 结合模式(III 结合模式) [11] [12]。此外,14-3-3s 也与非磷酸化的蛋白作用,称为 IV 型结合模式,如 14-3-3s 与 ExoS 蛋白相互作用[13] [14]。这些结合模式保证了 14-3-3s 蛋白在人体中的广泛作用。

14-3-3s 涉及多种疾病,如肺癌[15],CNS 疾病[16]以及神经系统疾病[17]。14-3-3s 作为治疗这些疾病的新靶标引起了药物研究者的广泛兴趣[1] [16] [18]。14-3-3s 单体由九个α螺旋构成一个杯状两亲性的高度保守的活性空腔[19] [20]。针对 14-3-3s 靶标的研究主要集中在两方面。一方面设计小分子来稳定蛋白-蛋白相互作用,如 fusicoccin 稳定 14-3-3s 与 PMA2 之间的相互作用[21] [22] [23]。pyrrolidone 1 和 epibestatin 稳定 14-3-3s 与 PMA2 之间的相互作用[24]。Cotylenin A 能有效稳定 14-3-3s 与 H⁺-ATPase 复合物[23] [25]。另一方面设计抑制剂分子破坏蛋白 - 蛋白相互作用[5] [6] [26] [27]。如 Thiel 等人就根据 14-3-3s 与蛋白结合模式在 ZINC 数据库中筛选了含有磷酸根的分子作为抑制剂破坏蛋白 - 蛋白相互作用 [28]。

天然产物作为药物分子有着其独特的生理相容性,已经广泛应用于药物开发。对于 14-3-3s 而言,天 然产物的稳定剂在实验阶段获得了成功[21] [22] [23] [29] [30],而抑制剂的研究有待进一步研究。

在本项工作中,我们使用了分子对接从台湾中医天然产物数据库 TCM [31]筛选 14-3-3σ抑制剂。人体中七种 14-3-3s 亚型在一级结构和三级结构都是高度保守的,因此我们选择 14-3-3σ作为 14-3-3s 的模型 蛋白。通过分子动力学定性研究了抑制剂与 14-3-3σ的结合模式,结合自由能定量研究结合强度。通过计算研究发现了两种潜在的 14-3-3σ抑制剂。

2. 计算方法

2.1. 分子对接

台湾中医化合物数据库 TCM 作为全新的先导化合物数据库已经得到了广泛的使用[32][33]。该数据 库主要包含了从 453 种中药材中提取的超过 20,000 种的小分子化合物。 本研究选取 14-3-3σ晶体结构中的单体作为初始结构和受体蛋白(PDB 编码为 1YZ5) [34]。14-3-3σ单体中缺失的氨基酸残基通过手动的方式补全,通过 AutoDockTools 软件[35]生成受体分子的 pdbqt 文件。 在对接中设置 14-3-3σ的 K122 的 C_□原子作为盒子中心,盒子大小设置为 30 Å × 30 Å × 30 Å。每个分子都对接十个合理的结合构象,并选取能量最低的构象作为排序构象。所有对接都采用 AutoDock Vina 软件[36]实现。

从对接结果中选出能量排前 15 个的化合物,根据结构的相似性对化合物归类。归类规则如下:结构 相似手性不同的配体分子归为一类;基本结构单元一致不同取代位置和不同取代基的化合物归为一类。 根据分类规则将前 15 个天然产物分子归为五类,在每一类中选能量最低的化合物代表该类分子。

2.2. 分子动力学

通过分子对接构建五种抑制剂与 14-3-3σ的复合物结构。将复合物体系加 TIP3P [37]水盒子,水盒子 边缘距离复合物最近的距离为 12 Å。通过加抗衡离子将系统的整体电荷保持为电中性。溶剂化后的体系 包含了 232 个氨基酸和一个配体小分子,并有约 15,350 个水分子,构成 79 Å×85 Å×91 Å的系统。14-3-3σ 使用 ff14SB 力场[38],配体小分子没有标准的力场参数,使用 GAFF 力场[39]来生成相关的力场。使用 Gaussian 09 软件[40]在 B3LYP/6-311G 水平[41] [42]下优化配体分子。随后使用 RESP 法计算配体分子的 原子电荷,所有配体分子的力场参数均通过 Antechamber 程序[43]实现。

溶剂化后的体系可能局部不稳定,因此优先对体系进行优化。首先使用 10,000 步的最陡梯度法优化 水盒子,接着在固定蛋白主链的情况下使用 9000 步的最陡下降法和 1000 步的共轭梯度法优化非蛋白 主链部分。最后使用 10,000 步的共轭梯度法优化整个体系。前两步优化过程中添加的限制条件为 200 kcal/mol·Å²,第三步优化不加任何限制条件。优化过的体系通过 200 ps 将温度从 0 K 升到 300 K。在 300 K 使用 200 ps 改变体系的体积维持体系的压强为 1 atm。在 300 K 和 1 atm 下 200 ps 平衡让体系整体达到 稳定。最后运行 300 ns 动力学用于数据分析。在动力学过程中使用 PME 方法[44]描述长程相互作用。为 了有效减少计算量使用 SHAKE 方法[45]处理共价连接的氢原子。在计算过程中步长设置为 0.02 fs,并以 1 ps 间隔保存动力学轨迹。所有的计算都基于 AMBER14 Tools 程序[46]实现。

2.3. 结合自由能计算

通过结合自由能的计算评价抑制剂与 14-3-3σ结合强度。这项工作中选用了隐性水溶剂模型的 MMGBSA 方法来计算。关于 MMGBSA 方法在文献中[47]-[52]已经进行了详细的介绍,这里简单的描述 如下:

$$\Delta G_{binding} = \Delta G_{14-3-3\sigma/inhibitor} - \Delta G_{14-3-3\sigma} - \Delta G_{inhibitor} \tag{1}$$

$$G = E_{gas} + G_{sol} - TS \tag{2}$$

$$E_{gas} = E_{int} + E_{vdW} + E_{ele} \tag{3}$$

$$G_{sol} = G_{GB} + G_{np} \tag{4}$$

$$G_{np} = \gamma \cdot SA + b \tag{5}$$

其中 $\Delta G_{14-3-3\sigma/inhibitor}$, $\Delta G_{14-3-3\sigma}$ 和 $\Delta G_{inhibitor}$ 分别表示抑制剂与 14-3-3 σ 复合物, 14-3-3 σ 和抑制剂的能量变 化。其中式(3)需要的各项能量(E_{int}, E_{vdW} 和 E_{ele})可以直接通过提取动力学轨迹中结构并分析各项能量获 取。而极性溶剂化自由能贡献部分(G_{GB})可以通过 Generalized Born (GB)方程[49]来计算。非极性溶剂化 能(G_{np})可以通过式(5)来计算,其中 $\gamma = 0.0072$ kcal/Å², b = 0.0 kcal/mol。SA 表示可接触表面积,可以通 过程序 MSMS [53]来计算。对于抑制剂与 14-3-3 σ 形成的复合物,从动力学轨迹中提取出 1000 帧用来计

算焓贡献部分。

平动,转动和振动相关的熵贡献(ΔS)是质量和分子内部的偶极矩的函数,可以通过统计平均来计算。 在该工作中,通过 normal mode 分析法[54]计算。由于系统大小合适,计算采用 100 帧结构来计算熵变化。 结合自由能中焓和熵计算使用的构象都是从动力学最后 200 ns 轨迹中平均采样获得。最后获取的能量值 是将每一帧的各项能量统计平均得到,从而计算得到了结合自由能。

3. 结果与讨论

3.1. 筛选结果分析

使用 AutoDock Vina 程序[36]可以快速实现小分子与靶标蛋白的筛选。该项工作中筛选出对接结合自由能排名为前 15 的化合物,这些化合物的对接结合自由能都低于-10.7 kcal/mol,表明这些化合物都能与 14-3-3σ稳定结合。当这些抑制剂占据 14-3-3σ的活性空腔之后就可以竞争性的破坏 14-3-3σ与配体蛋白的 相互作用,从而影响相关生理过程。

为了有效降低后续的计算时间,将前15个化合物手动归为五类,并从这五类中分别选取对接结合自由能最低的化合物继续研究。这五个化合物的结构如图1所示。化合物85531185和95911592的结构中都存在一个大环。而化合物85593830中包含有很多含氮基团,化合物85530919和85532194则包含有较多的含氧基团,这些基团可能有助于与氨基酸残基之间形成氢键从而稳定彼此间的结合。筛选出的五种化合物都包含有大量的苯环,有助于与14-3-3σ两亲性空腔之间形成强的疏水性相互作用。



Figure 1. The structures for the selected five natural compounds 图 1. 虚拟筛选选择的天然产物结构

化合物 85531185 含有一个十六元的大环,而 95911592 则是一个二十一元的大环,另外三种化合物 虽然没有这样的大环,不过有着直接相连的环状单元,这些环状单元导致五种化合物的构象能保持相对 刚性。化合物 85593830,85530919 和 85532194 的可旋转键主要存在于环状单元之间的连接,这样就导 致每个环状单元都能相对的适应 14-3-3σ的活性空腔。化合物中可旋转键有利于化合物与受体蛋白更好的 结合。

3.2. 动力学稳定性

通过分子对接得到了五种天然产物与 14-3-3σ的复合物结构。为了考察配体小分子在 14-3-3σ空腔中的结合稳定性,分析了整个动力学过程中 14-3-3σ蛋白的主链重原子的均方根偏差(RMSD), 图 2 所示。 由图 2 可知除了 85530919 之外的四个体系 RMSD 都基本保持稳定。85532194,85593830 和 95911592 三个体系的稳定性非常好,在整个动力学过程中偏差不超过 0.6 Å,RMSD 值分别为 2.87±0.40 Å,1.98± 0.30 Å 和 4.28±0.55 Å。其中 95911592 体系的 RMSD 值在初始阶段有小幅度的变化,在 100 ns 之后基 本维持稳定。体系 85532194 和 85593830 中 14-3-3σ结构相对于初始结构变化较小,特别是 85593830 体 系不到 2 Å 的偏差,这表明化合物 85532194 和 85593830 两个化合物对 14-3-3σ结构的影响小。而 95911592 体系稳定存在,却对 14-3-3σ的结构带来了较大的变化。85532194,85593830 和 95911592 三种配体分子 导致 14-3-3σ结构发生不同变化的原因可能是这三种配体分子体积上的差异。95911592 可能是由于该受



Figure 2. The RMSD value although the MD times 图 2. 动力学过程中 RMSD 值

体分子中存在一个较大的环,而环状一般都能保持相对的刚性,14-3-3σ为了更好的包合该配体分子就需 要更大的活性空腔。而 85532194 和 85593830 两者虽然也包含了很多的五元环,六元环和螺环,但是并 没有导致体积急剧增加的大环,同时这两种化合物含有一定的可旋转键,这样就可以与受体活性空腔更 好的诱导契合达到局部构型调整以保持较好的包合。85531185 体系的 RMSD 值保持起伏不定,可以看到 RMSD 值为 3.48 ± 0.76 Å。说明该配体与受体的结合不太稳定,配体在受体的结合位点有较大的移动导 致受体分子的结构也有适当的调整,但是整体上来说还是维持在一定的区间。85530919 体系随着动力学 的进行,在 150 ns 之后 RMSD 快速升高,在 200 ns 左右达最大值,可能该配体分子与受体的结合不是太 稳定。

为了获取动力学过程中天然产物与 14-3-3 σ 包合物的结构信息,我们从分子动力学轨迹最后的 200 ns 中间隔 50 ns 均匀提取五个结构。由图 3 可知 85530919 体系随着动力学的进行,天然产物分子从最初的 包埋于受体活性空腔到最后逃离了该空腔。这个与 RMSD 反应的情况一致,也表明该受体分子不能与 14-3-3 σ 形成稳定的包合物。85531185 小分子并没有处于受体分子活性空腔的中心,而是处于活性空腔中 靠近 α 9,这种有限的结合模式可能导致配体分子在空腔中适当的移动,这与 RMSD 的起伏相吻合。 85531185 体系中抑制剂处于 14-3-3 σ 活性空腔中,这就表明该天然产物能作为 14-3-3 σ 的抑制剂。与该体 系类似的还有 95911592 体系,由提取出来的结构可以发现抑制剂处于受体分子活性空腔中,并与 α 7 和 α 9 形成较好的包合作用,配体分子在空腔的位置保持稳定,这也解释了为何该复合物中 14-3-3 σ 蛋白的 RMSD 值基本维持稳定。85593830 化合物在 14-3-3 σ 空腔中的包合不完全,可以明显观察到配体分子有 部分处于活性空腔的外部,这样的包合模式不能有效参与竞争性抑制。而 85532194 化合物在动力学过程 中与 14-3-3 σ 形成了稳定的包合物,而且该配体分子处于受体分子的活性空腔的底部,与形成空腔底部的 α 5 和 α 7 形成稳定的相互作用。





通过 14-3-3σ蛋白主链重原子的 RMSD 值分析和动力学过程复合物结构的分析可以看到 85531185 和 95911592 两种天然产物中存在大环能被 14-3-3σ的空腔所包合。85593830 配体分子的长度较长,很难被整个的活性空腔所包合。而 85530919 与 85532194 在结构上有相似性,但是与受体的包合作用差别较大, 其中 85530919 化合物脱离了受体的活性空腔,而 85532194 化合物能与受体形成很好的复合物。导致这 两者之间差别的原因可能是 85532194 分子中的氢键受体和供体比较分散。

通过分子对接和分子动力学可以发现五个分子的结合位点在 14-3-3σ活性空腔的靠近小口端这边,与 之前实验发现含有磷酸基团的化合物都处于大口端不同[28]。这表明可能磷酸类化合物的结合位点与其它 化合物在于 14-3-3σ形成包合物过程有不同的驱动力。

3.3. 结合自由能

通过对选出的五个天然产物与 14-3-3σ形成的复合物体系的动力学研究发现,85593830 和 85530919 两个体系的结合都不稳定,所以在接下来的计算过程中排除了这两个体系。通过分子动力学定性的研究 外,我们也需要对结合强度进行定量的评估,以找到更加合理的抑制剂。这里对 85532194,85531185 和 95911592 三个复合物体系通过 MMGBSA 方法计算了配体分子与受体之间的结合自由能,表 1~3。

Table 1. Binding free energy for 14-3-3σ/85532194 complex and decomposition to electrostatic interaction, van der Walls interaction, solvation free energies and entropy. Energies are in kcal/mol 表 1. 14-3-3σ/85532194 复合物的结合自由能和能量分解为静电、范德华、溶剂化和熵效应。能量单位为 kcal/mol

	1			1.1/
	complex	receptor	ligand	delta
$E_{_{vdW}}$	-1891.20 (21.41)	-1831.65 (21.25)	-13.89 (2.41)	-45.65 (4.46)
$E_{\scriptscriptstyle ele}$	-16048.39 (104.00)	-16138.05 (104.12)	158.51 (4.74)	-68.84 (16.51)
$E_{_{GB}}$	-4350.46 (84.59)	-4378.93 (84.47)	-62.88 (2.86)	91.35 (13.77)
$E_{\it surf}$	98.65 (1.90)	98.81 (1.81)	5.86 (0.10)	-6.03 (0.42)
$G_{\scriptscriptstyle gas}$	-17939.58 (103.13)	-17969.70 (102.70)	144.62 (5.05)	-114.50 (15.88)
$G_{\scriptscriptstyle solv}$	-4251.81 (83.99)	-4280.11 (83.89)	-57.02 (2.85)	85.32 (13.69)
$E_{\rm gas} + G_{\rm sol}$	-22191.40 (50.61)	-22249.81 (50.38)	87.60 (4.34)	-29.18 (4.20)
TS_{total}	2636.55 (8.30)	2581.41 (8.48)	82.06 (0.38)	-26.92 (4.13)
ΔG^{cal}_{bind}				-2.26

Table 2. Binding free energy for 14-3-3σ/85531185 complex and decomposition to electrostatic interaction, van der Walls interaction, solvation free energies and entropy. Energies are in kcal/mol 表 2. 14-3-3σ/85531185 复合物的结合自由能和能量分解为静电、范德华、溶剂化和熵效应。能量单位为 kcal/mol

	complex	receptor	ligand	delta
$E_{_{vdW}}$	-1875.55 (20.05)	-1820.55 (19.61)	-12.92 (2.10)	-42.08 (3.34)
$E_{_{ele}}$	-16024.62 (125.74)	-16202.57 (125.52)	185.88 (4.10)	-7.92 (2.98)
$E_{\scriptscriptstyle GB}$	-4315.26 (102.56)	-4302.95 (102.74)	-33.15 (1.02)	20.84 (2.68)
$E_{\scriptscriptstyle surf}$	100.02 (1.73)	99.14 (1.66)	6.08 (0.06)	-5.19 (0.45)
$G_{_{gas}}$	-2178.01 (121.58)	-1875.50 (121.01)	-252.50 (6.99)	-50.00 (4.98)
$G_{\scriptscriptstyle solv}$	-4215.24 (101.82)	-4203.81 (102.03)	-27.08 (1.01)	15.65 (2.50)
$E_{gas} + G_{sol}$	-6393.25 (48.81)	-6079.32 (48.12)	-279.58 (6.97)	-34.35 (3.85)
TS_{total}	2646.36 (9.50)	2580.93 (9.07)	89.06 (0.07)	-23.64 (2.94)
$\Delta G^{_{cal}}_{_{bind}}$				-10.71

Table 3. Binding free energy for 14-3-3 σ /95911592 complex and decomposition to electrostatic interaction, van der Walls interaction, solvation free energies and entropy. Energies are in kcal/mol

	complex	receptor	ligand	delta
$E_{_{vdW}}$	-1890.71 (20.30)	-1829.72 (20.08)	-11.11 (1.87)	-49.88 (3.86)
$E_{\scriptscriptstyle ele}$	-16276.67 (119.30)	-16229.67 (119.10)	-37.58 (5.89)	-9.42 (10.66)
$E_{\scriptscriptstyle GB}$	-4278.95 (109.43)	-4283.79 (108.88)	-21.44 (1.92)	26.27 (7.98)
E_{surf}	95.59 (1.58)	96.57 (1.56)	4.90 (0.04)	-5.88 (0.39)
$G_{\scriptscriptstyle gas}$	-1883.83 (128.47)	-1911.16 (127.58)	86.64 (7.30)	-59.31 (10.33)
$G_{\scriptscriptstyle solv}$	-4183.37 (108.67)	-4187.22 (108.16)	-16.54 (1.91)	20.39 (7.91)
$E_{gas} + G_{sol}$	-6067.19 (47.39)	-6098.38 (47.18)	70.11 (6.70)	-38.92 (4.13)
TS_{total}	2621.21 (7.74)	2571.88 (7.61)	73.15 (0.16)	-23.82 (3.52)
ΔG^{cal}_{bind}				-15.10

表 3. 14-3-3σ/95911592 复合物的结合自由能和能量分解为静电、范德华、溶剂化和熵效应。能量单位为 kcal/mol

通过计算可以看到 85532194 体系的结合自由能为-2.26 kcal/mol, 而 85531185 体系的结合自由能为 -10.71 kcal/mol, 是前者的 4.7 倍,这充分显示了后者与 14-3-3σ结合非常强。结合最强的为 95911592 体 系,能达到-15.10 kcal/mol。85532194 化合物结合自由能显示其不能很好的作为抑制剂被使用。相反另 外两个大环的天然产物能与受体很好的结合,这与之前的研究相一致,即破坏蛋白 - 蛋白相互作用需要 使用大大分子量的化合物。实验和理论研究表明植物 14-3-3 与模拟 H+-ATPases 的磷酸化五肽之间的结 合强度为-8.3 kcal/mol [22],由此可以看到天然产物 85531185 和 95911592 可能会对该结合起到抑制作用。 通过结构可以看到这里的两种可能的抑制剂分子也是存在于磷酸化五肽的结合位点,而不是稳定剂 fusicoccin 的结合位点[25]。

结合自由能分解表明溶剂化作用对这些配体分子结合到 14-3-3σ两亲性空腔影响较大,这表明受体的 两亲性活性空腔中的水分子被抑制剂分子竞争性排斥到空腔外相对比较难。将结合能量分解为极性部分 和非极性部分可以看到这两体系中极性相互作用起着负作用,如在 85531185 和 85532194 两个体系做分 别为 12.92 和 22.51 kcal/mol,而非极性相互作用为-47.27 和-51.68 kcal/mol,表明在这些配体分子结合过 程中非极性相互作用是主要的贡献项。在后续的优化过程中需要考虑在一定程度上增加非极性的基团来 增强疏水相互作用,而降低极性相互作用。

对比 85532194 和 85531185 体系可以发现两者最终的结合自由能差别非常大,可是对于熵效应贡献 部分差别只有 3.28 kcal/mol,而 95911592 体系的熵变化和 85531185 体系相差约为 0.2 kcal/mol,这表明 在这三个体系之间的不同主要是由于焓的不同引起。熵之间小的差异可以通过配体结构的刚性来解释, 如 85531185 和 95911592 两个天然产物都是大环化合物,结构保持相对的刚性,而 85532194 中并联的四 个环和支链的其它环也导致其结构刚性。85532194,85531185 和 95911592 三个体系的焓贡献部分分别 为-29.181,-34.35 和-38.82 kcal/mol,焓的绝对值大于熵的绝对值表明在结合过程中焓起到了主导作用, 这些结合为焓驱动的结合。

通过结合自由能的计算表明 85531185 和 95911592 两个大环的天然产物可以作为潜在的 14-3-3σ抑制 剂。而能量的分解也表明在结合中范德华相互作用起主要的作用,而抑制剂与受体的结合是焓驱动的反 应。由于这些抑制剂都是刚性分子,在进行优化的时候可以将两个大环化合物适当的破坏,组成新的化 合物保证更好的结合。

4. 结论

14-3-3s 广泛存在于人体中,并且与癌症、神经系统紊乱等疾病相关。为了有效的治疗这些疾病,

14-3-3s 作为一种全新的靶标得到了广泛的研究,不过目前还没有相关的药物进入临床应用,所以急需相关的研究获取针对该靶标的抑制剂。本文通过分子对接从 TCM 数据库中来寻找天然产物抑制剂。通过分子对接筛选得到五个具有代表性的天然产物。为了研究这些天然产物化合物与 14-3-3σ的结合特性,我们进行了动力学研究。根据结合特征发现其中有两种分子无法稳定的结合在 14-3-3σ的两亲性空腔中。使用 MMGBSA 方法定量的研究三个配体与受体的结合强度,根据计算可以看到其中 95911592 的结合最强为 -15.10 kcal/mol,表明该化合物可以作为潜在的 14-3-3σ的竞争性抑制剂分子先导化合物使用。通过我们的计算发现了 85531185 和 95911592 两种可能的 14-3-3σ抑制剂,不过这里没有进行相关的生物活性的测试,为了获得更加可靠的数据还需要更多的实验研究。

参考文献

- Sluchanko, N.N. (2018) Association of Multiple Phosphorylated Proteins with the 14-3-3 Regulatory Hubs: Problems and Perspectives. *Journal of Molecular Biology*, 430, 20-26. <u>https://doi.org/10.1016/j.jmb.2017.11.010</u>
- [2] Skwarczynska, M. and Ottmann, C. (2015) Protein-Protein Interactions as Drug Targets. *Future Medicinal Chemistry*, 7, 2195-2219. <u>https://doi.org/10.4155/fmc.15.138</u>
- [3] Andrei, S.A., Sijbesma, E., Hann, M., Davis, J., O'Mahony, G., Perry, M.W.D., et al. (2017) Stabilization of Protein-Protein Interactions in Drug Discovery. Expert Opinion on Drug Discovery, 12, 925-940. <u>https://doi.org/10.1080/17460441.2017.1346608</u>
- [4] Wells, J.A. and McClendon, C.L. (2007) Reaching for High-Hanging Fruit in Drug Discovery at Protein-Protein Interfaces. *Nature*, **450**, 1001-1009. <u>https://doi.org/10.1038/nature06526</u>
- [5] Wu, H., Ge, J.Y. and Yao, S.Q. (2010) Microarray-Assisted High-Throughput Identification of a Cell-Permeable Small-Molecule Binder of 14-3-3 Proteins. *Angewandte Chemie International Edition*, **49**, 6528-6532. <u>https://doi.org/10.1002/anie.201003257</u>
- [6] Kaiser, M. and Ottmann, C. (2010) The First Small-Molecule Inhibitor of 14-3-3s: Modulating the Master Regulator. *ChemBioChem*, 11, 2085-2087. <u>https://doi.org/10.1002/cbic.201000483</u>
- [7] Aitken, A., Howell, S., Jones, D., Madrazo, J. and Patel, Y. (1995) 14-3-3 Alpha and Delta Are the Phosphorylated Forms of Raf-Activating 14-3-3 Beta and Zeta. *In Vivo* Stoichiometric Phosphorylation in Brain at a Ser-Pro-Glu-Lys Motif. *The Journal of Biological Chemistry*, 270, 5706-5709. <u>https://doi.org/10.1074/jbc.270.11.5706</u>
- [8] Aghazadeh, Y. and Papadopoulos, V. (2016) The Role of the 14-3-3 Protein Family in Health, Disease, and Drug Development. *Drug Discovery Today*, 21, 278-287. <u>https://doi.org/10.1016/j.drudis.2015.09.012</u>
- [9] Shimada, T., Fournier, A.E. and Yamagata, K. (2013) Neuroprotective Function of 14-3-3 Proteins in Neurodegeneration. *BioMed Research International*, 2013, Article ID: 564534. <u>https://doi.org/10.1155/2013/564534</u>
- [10] Yaffe, M.B., Rittinger, K., Volinia, S., Caron, P.R., Aitken, A., Leffers, H., et al. (1997) The Structural Basis for 14-3-3: Phosphopeptide Binding Specificity. Cell, 91, 961-971. <u>https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80487-0</u>
- [11] Coblitz, B., Shikano, S., Wu, M., Gabelli, S.B., Cockrell, L.M., Spieker, M., et al. (2005) C-Terminal Recognition by 14-3-3 Proteins for Surface Expression of Membrane Receptors. *The Journal of Biological Chemistry*, 280, 36263-36272. <u>https://doi.org/10.1074/jbc.M507559200</u>
- [12] Ganguly, S., Weller, J.L., Ho, A., Chemineau, P., Malpaux, B. and Klein, D.C. (2005) Melatonin Synthesis: 14-3-3-Dependent Activation and Inhibition of Arylalkylamine N-Acetyltransferase Mediated by Phosphoserine-205. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**, 1222-1227. <u>https://doi.org/10.1073/pnas.0406871102</u>
- [13] Ottmann, C., Yasmin, L., Weyand, M., Veesenmeyer, J.L., Diaz, M.H., Palmer, R.H., et al. (2007) Phosphorylation-Independent Interaction between 14-3-3 and Exoenzyme S: From Structure to Pathogenesis. The EMBO Journal, 26, 902-913. <u>https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601530</u>
- [14] Karlberg, T., Hornyak, P., Pinto, A.F., Milanova, S., Ebrahimi, M., Lindberg, M., et al. (2018) 14-3-3 Proteins Activate Pseudomonas Exotoxins-S and -T by Chaperoning a Hydrophobic Surface. *Nature Communications*, 9, 11. https://doi.org/10.1038/s41467-018-06194-1
- [15] Khorrami, A., Bagheri, M.S., Tavallaei, M. and Gharechahi, J. (2017) The Functional Significance of 14-3-3 Proteins in Cancer: Focus on Lung Cancer. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 32, 17. https://doi.org/10.1515/hmbci-2017-0032
- [16] Kaplan, A., Ottmann, C. and Fournier, A.E. (2017) 14-3-3 Adaptor Protein-Protein Interactions as Therapeutic Targets

for CNS Diseases. Pharmacological Research, 125, 114-121. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.09.007

- [17] Cornell, B. and Toyo-Oka, K. (2017) 14-3-3 Proteins in Brain Development: Neurogenesis, Neuronal Migration and Neuromorphogenesis. Frontiers in Molecular Neuroscience, 10, 17. <u>https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00318</u>
- [18] Wilker, E. and Yaffe, M.B. (2004) 14-3-3 Proteins—A Focus on Cancer and Human Disease. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 37, 633-642. <u>https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2004.04.015</u>
- Sluchanko, N.N. and Gusev, N.B. (2017) Moonlighting Chaperone-Like Activity of the Universal Regulatory 14-3-3 Proteins. *The FEBS Journal*, 284, 1279-1295. <u>https://doi.org/10.1111/febs.13986</u>
- [20] Obsilova, V., Silhan, J., Boura, E., Teisinger, J. and Obsil, T. (2008) 14-3-3 Proteins: A Family of Versatile Molecular Regulators. *Physiological Research*, 57, S11-S21.
- [21] Oecking, C., Eckerskorn, C. and Weiler, E.W. (1994) The Fusicoccin Receptor of Plants Is a Member of the 14-3-3-Superfamily of Eukaryotic Regulatory Proteins. *FEBS Letters*, **352**, 163-166. <u>https://doi.org/10.1016/0014-5793(94)00949-X</u>
- [22] Wurtele, M., Jelich-Ottmann, C., Wittinghofer, A. and Oecking, C. (2003) Structural View of a Fungal Toxin Acting on a 14-3-3 Regulatory Complex. *The EMBO Journal*, 22, 987-994. <u>https://doi.org/10.1093/emboj/cdg104</u>
- [23] Ottmann, C., Marco, S., Jaspert, N., Marcon, C., Schauer, N., Weyand, M., et al. (2007) Structure of a 14-3-3 Coordinated Hexamer of the Plant Plasma Membrane H+-ATPase by Combining X-Ray Crystallography and Electron Cryomicroscopy. *Molecular Cell*, 25, 427-440. <u>https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.12.017</u>
- [24] Rose, R., Erdmann, S., Bovens, S., Wolf, A., Rose, M., Hennig, S., et al. (2010) Identification and Structure of Small-Molecule Stabilizers of 14-3-3 Protein- Protein Interactions. Angewandte Chemie International Edition, 49, 4129-4132. <u>https://doi.org/10.1002/anie.200907203</u>
- [25] Ottmann, C., Weyand, M., Sassa, T., Inoue, T., Kato, N., Wittinghofer, A., et al. (2009) A Structural Rationale for Selective Stabilization of Anti-Tumor Interactions of 14-3-3 Proteins by Cotylenin A. Journal of Molecular Biology, 386, 913-919. <u>https://doi.org/10.1016/j.jmb.2009.01.005</u>
- [26] Corradi, V., Mancini, M., Santucci, M.A., Carlomagno, T., Sanfelice, D., Mori, M., et al. (2011) Computational Techniques Are Valuable Tools for the Discovery of Protein-Protein Interaction Inhibitors: The 14-3-3 Sigma Case. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 21, 6867-6871. <u>https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.09.011</u>
- [27] Hartman, A.M. and Hirsch, A.K.H. (2017) Molecular Insight into Specific 14-3-3 Modulators: Inhibitors and Stabilisers of Protein-Protein Interactions of 14-3-3. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **136**, 573-584. <u>https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.04.058</u>
- [28] Thiel, P., Roglin, L., Meissner, N., Hennig, S., Kohlbacher, O. and Ottmann, C. (2013) Virtual Screening and Experimental Validation Reveal Novel Small-Molecule Inhibitors of 14-3-3 Protein-Protein Interactions. *Chemical Communications*, 49, 8468-8470. <u>https://doi.org/10.1039/c3cc44612c</u>
- [29] Richter, A., Rose, R., Hedberg, C., Waldmann, H. and Ottmann, C. (2012) An Optimised Small-Molecule Stabiliser of the 14-3-3-pma2 Protein-Protein Interaction. *Chemistry: A European Journal*, 18, 6520-6527. <u>https://doi.org/10.1002/chem.201103761</u>
- [30] Waterman, M.J.F., Stavridi, E.S., Waterman, J.L.F. and Halazonetis, T.D. (1998) ATM-Dependent Activation of p53 Involves Dephosphorylation and Association with 14-3-3 Proteins. *Nature Genetics*, 19, 175-178. <u>https://doi.org/10.1038/542</u>
- [31] Chen, C.Y.C. (2011) TCM Database@Taiwan: The World's Largest Traditional Chinese Medicine Database for Drug Screening in Silico. PLoS ONE, 6, 5. <u>https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015939</u>
- [32] Wang, W., Wan, M.H., Liao, D.J., Peng, G.L., Xu, X., Yin, W.Q., et al. (2017) Identification of Potent Chloride Intracellular Channel Protein 1 Inhibitors from Traditional Chinese Medicine through Structure-Based Virtual Screening and Molecular Dynamics Analysis. *BioMed Research International*, 2017, Article ID: 4751780. <u>https://doi.org/10.1155/2017/4751780</u>
- [33] Zhang, Q., Gan, Q., Liu, X., Chen, X. and Feng, C.G. (2018) Virtual Screening of Protein Tyrosine Phosphatase 1b Inhibitors Based on Natural Products. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 45, 442-452.
- [34] Benzinger, A., Popowicz, G.M., Joy, J.K., Majumdar, S., Holak, T.A. and Hermeking, H. (2005) The Crystal Structure of the Non-Liganded 14-3-3 Sigma Protein: Insights into Determinants of Isoform Specific Ligand Binding and Dimerization. *Cell Research*, 15, 219-227. <u>https://doi.org/10.1038/sj.cr.7290290</u>
- [35] Sanner, M.F. (1999) Python: A Programming Language for Software Integration and Development. *Journal of Molecular Graphics*, **17**, 57-61.
- [36] Trott, O. and Olson, A.J. (2010) Autodock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, **31**, 455-461.
- [37] Jorgensen, W.L., Chandrasekhar, J., Madura, J.D., Impey, R.W. and Klein, M.L. (1983) Comparison of Simple Poten-

tial Functions for Simulating Liquid Water. *The Journal of Chemical Physics*, **79**, 926-935. <u>https://doi.org/10.1063/1.445869</u>

- [38] Maier, J.A., Martinez, C., Kasavajhala, K., Wickstrom, L., Hauser, K.E. and Simmerling, C. (2015) ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from ff99SB. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 11, 3696-3713. <u>https://doi.org/10.1021/acs.jetc.5b00255</u>
- [39] Wang, J.M., Wolf, R.M., Caldwell, J.W., Kollman, P.A. and Case, D.A. (2004) Development and Testing of a General Amber Force Field. *Journal of Computational Chemistry*, **25**, 1157-1174. <u>https://doi.org/10.1002/jcc.20035</u>
- [40] Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., et al. (2009) Gaussian 09 Rev. A01. Wallingford.
- [41] Becke, A.D. (1988) Density-Functional Exchange-Energy Approximation with Correct Asymptotic Behavior. *Physical Review A*, 38, 3098-3100. <u>https://doi.org/10.1103/PhysRevA.38.3098</u>
- [42] Lee, C.T., Yang, W.T. and Parr, R.G. (1988) Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density. *Physical Review B*, 37, 785-789. <u>https://doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785</u>
- [43] Wang, J.M., Wang, W., Kollman, P.A. and Case, D.A. (2006) Automatic Atom Type and Bond Type Perception in Molecular Mechanical Calculations. *Journal of Molecular Graphics*, 25, 247-260. https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2005.12.005
- [44] Darden, T., York, D. and Pedersen, L. (1993) Particle Mesh Ewald: An N.log(N) Method for Ewald Sums in Large Systems. *The Journal of Chemical Physics*, 98, 10089-10092. <u>https://doi.org/10.1063/1.464397</u>
- [45] Ryckaert, J.P., Ciccotti, G. and Berendsen, H.J.C. (1977) Numerical Integration of the Cartesian Equations of Motion of a System with Constraints: Molecular Dynamics of n-Alkanes. *Journal of Computational Physics*, 23, 327-341. <u>https://doi.org/10.1016/0021-9991(77)90098-5</u>
- [46] Case, D.A., Cheatham, T.E., Simmerling, C.L., Wang, J., Duke, R.E., Luo, R., Walker, R.C., Zhang, W., Merz, K.M., Roberts, B., Hayik, S., Roitberg, A., Seabra, G., Swails, J., et al. (2012) AMBER 12. University of California, San Francisco.
- [47] Srinivasan, J., Cheatham, T.E., Cieplak, P., Kollman, P.A. and Case, D.A. (1998) Continuum Solvent Studies of the Stability of DNA, RNA, and Phosphoramidate-DNA Helices. *Journal of the American Chemical Society*, 120, 9401-9409. <u>https://doi.org/10.1021/ja981844+</u>
- [48] Kollman, P.A., Massova, I., Reyes, C., Kuhn, B., Huo, S.H., Chong, L., et al. (2000) Calculating Structures and Free Energies of Complex Molecules: Combining Molecular Mechanics and Continuum Models. Accounts of Chemical Research, 33, 889-897. <u>https://doi.org/10.1021/ar000033j</u>
- [49] Onufriev, A., Bashford, D. and Case, D.A. (2000) Modification of the Generalized Born Model Suitable for Macromolecules. *The Journal of Physical Chemistry B*, 104, 3712-3720. <u>https://doi.org/10.1021/jp994072s</u>
- [50] Rizzo, R.C., Toba, S. and Kuntz, I.D. (2004) A Molecular Basis for the Selectivity of Thiadiazole Urea Inhibitors with Stromelysin-1 and Gelatinase-A from Generalized Born Molecular Dynamics Simulations. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47, 3065-3074. <u>https://doi.org/10.1021/jm030570k</u>
- [51] Yang, C.Y., Sun, H.Y., Chen, J.Y., Nikolovska-Coleska, Z. and Wang, S.M. (2009) Importance of Ligand Reorganization Free Energy in Protein-Ligand Binding-Affinity Prediction. *Journal of the American Chemical Society*, 131, 13709-13721. <u>https://doi.org/10.1021/ja9039373</u>
- [52] Hou, T.J., Wang, J.M., Li, Y.Y. and Wang, W. (2011) Assessing the Performance of the Molecular Mechanics/Poisson Boltzmann Surface Area and Molecular Mechanics/Generalized Born Surface Area Methods. II. The Accuracy of Ranking Poses Generated from Docking. *Journal of Computational Chemistry*, **32**, 866-877. https://doi.org/10.1002/jcc.21666
- [53] Sanner, M.F., Olson, A.J. and Spehner, J.C. (1996) Reduced Surface: An Efficient Way to Compute Molecular Surfaces. es. Biopolymers, 38, 305-320. <u>https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0282(199603)38:3<305::AID-BIP4>3.0.CO;2-Y</u>
- [54] Case, D.A. (1994) Normal Mode Analysis of Protein Dynamics. Current Opinion in Structural Biology, 4, 285-290. https://doi.org/10.1016/S0959-440X(94)90321-2

Hans汉斯

知网检索的两种方式:

- 1. 打开知网页面 <u>http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD</u>下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2168-6122, 即可查询
- 2. 打开知网首页 <u>http://cnki.net/</u> 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: <u>http://www.hanspub.org/Submission.aspx</u> 期刊邮箱: japc@hanspub.org