

理论研究

 β -环糊精包合阿德福韦的理论研究任晓文^{1,3}, 王 博^{1,2}, 李洪起¹, 连潇嫣¹, 徐为人³

(1. 天津药物研究院 制剂研究工程中心, 天津 300193; 2. 河南大学 药学院, 河南 开封 475001;

3. 天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300193)

摘要:目的 采用计算机辅助模拟设计对环糊精的包合作用进行理论研究, 从分子水平对 β -环糊精(β -CD)包合阿德福韦(PMEA)的可行性进行研究和探讨。方法 受体 β -CD结构取自剑桥晶体结构库中“HEGXUM”的晶体复合物, 不同价态的配体PMEA在OPLAS2005分子力场下经过优化后, 以对接方法研究包合作用。结果 在包合过程中, PMEA容易被 β -CD包合, 包合后容易形成PMEA- β -CD包合物; 包合过程中以 β -CD:PMEA=2:1包合较 β -CD:PMEA=1:1包合更容易形成包合物; 分子间的范德华作用能起主要作用, 而静电作用能起次要作用; 配体PMEA所带的价电荷数也会对包合作用产生影响, PMEA在中性或带正电时可能有利于 β -CD单分子包合, 带负电荷有利于双分子 β -CD包合。结论 β -CD与PMEA容易形成PMEA- β -CD包合物, 包合的模式受 β -CD摩尔比例和PMEA的带电状态的影响。

关键词: β -环糊精; 阿德福韦; PMEA; 包合作用; 理论研究

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2009)03-0173-04

Theoretical studies on the inclusion complexes of PMEA and β -cyclodextrin

REN Xiao-wen, WANG Bo, LI Hong-qi, LIAN Xiao-yan, XU Wei-ren

(1. The Pharmaceutics Engineering Research Center, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China;

2. Pharmaceutical College of Henan University, Kaifeng 475001, China; 3. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design and Drug Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

Abstract: **Objective** Using the method of assistant simulation deesign by computer to investigate the rules of forming inclusion complexes between cyclodextrin (β -CD) and adefovir (PMEA) from the molecular level. **Methods** The structures of β -CD were from the crystalline structure (HEGXUM). The structures of PMEA with different charges were optimized under OPLAS2005 force field. The inclusion complexes were simulated by docking method of Glide in Schrodinger software package. **Results** PMEA and β -CD easy to form the PMEA- β -CD inclusion complex. The 2 parts of β -CD are more easily to form the inclusion complex with than PMEA than one part. Among the total energy, Van der Waals energy play a major role compared with the electrostatic interaction. The different charges states can change the models of inclusion. The positive PMEA favors mono β -CD, and the negative PMEA prefers β -CD dimmer. **Conclusion** β -CD and PMEA can easy to form the inclusion complex. The portion of β -CD and the charges states of PMEA have effects on the models of inclusion complexes.

Key words: β -cyclodextrin, adefovir, inclusion, theoretical research

基金项目 天津市支撑项目 (09ZCKFSH01200)

作者简介 任晓文(1966—), 女, 副研究员, 主要从事缓控释制剂及固体分散体技术的研究。

Tel: (022) 23006953, E-mail: rxwtj@yahoo.com.cn

阿德福韦化学名称为 9-[2-(磷酸甲氧基)乙基]腺嘌呤,简称 PME A。捷克科学院的有机化学与生物化学研究所的 Antonin Holý 首先合成了 PME A。随后美国生物技术公司 Gilead Sciences 对其进行研发,开始了 PME A 用于治疗乙肝的研究。由于 PME A 结构中存在极性较强的磷酸阴离子基团,直接口服 PME A 生物利用度很低,血浆浓度不容易达到治疗要求。笔者研究了 PME A- β -环糊精包合物,使其生物利用度有一定的提高^[1]。为了充分研究 PME A 与 β -环糊精(β -CD)的包合过程,从分子水平认识 β -CD 包合 PME A 的机制,笔者采用对接计算,对 CD 的包合作用进行理论模拟。

1 方法^[2-4]

1.1 模型构建

受体: β -CD,是由 1,4 相连的 7 个葡萄糖组成的环(图 1),取剑桥晶体结构库中“HEGXUM”晶体复合物中的 β -CD 结构,经过加氢,优化后作为对接受体,在此分别采用单分子和两分子 β -CD(图 2)作为受体来研究。

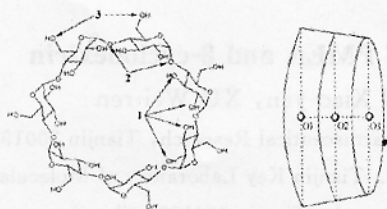


图 1 β -CD 的正面图和侧面框架示意图

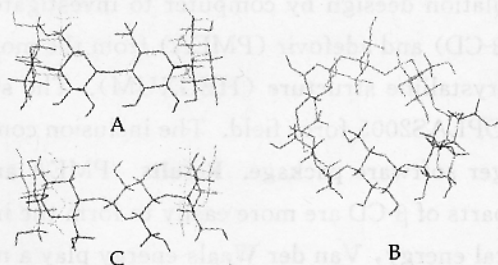


图 2 β -CD 的结构(A)、单分子模型(B)和双分子模型(C)图

配体:PME A,结构见图 3。为了考察 PME A 不同价电子状态对包合作用的影响,特选取 PME A 价电子个数为 0、+1、-1 和 -2 共 4 种情况,并由薛定谔(Schrödinger)软件构建三维结构,优化后作为对接配体。

1.2 包合计算

1.2.1 分子优化

上述受体和配体采用 Schrodinger 软件包中的

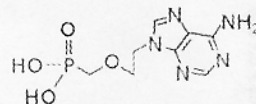


图 3 PME A 结构式

Impact 模块进行优化,选择 OPLAS2005 分子力场,电荷采用力场自带数据,优化方法为默认方法:算法 Truncated Newton,能量收敛标准 4.18×10^{-7} kJ/mol,梯度收敛标准 0.001 nm。

1.2.2 对接计算

采用 Schrödinger 软件包中的 Glide 模块进行对接,分别以单分子和两分子 β -CD 的质心为中心,生成 1 nm×1 nm 和 2 nm×2 nm×2 nm 的受体格点文件,采用 extra precision 选项,其他采用默认方法,每个受体与配体对接后记录最佳的结合模式,以 eMBrAcE 模块进行优化,优化条件和设置同“1.2.1”项,记录最佳的构象,计算分子间的相互作用能(受体和配体之间的范德华相互作用能和静电相互作用能)。

1.2.3 包合模式分析

在图 1 中可以看出, β -CD 是 7 个葡萄糖由 1,4-糖苷键相连形成的环状结构。如果把分子侧过来,可以近似看作这样的框架,即有一个大口和一个小口的桶状结构。7 个 1,4-糖苷(即图 1 中 2 标示的位置)键中的氧原子形成一个近似平面,其中心定义为 O2,近似为分子中心。在图 1 的框架中,为了便于分析配体对接的位置,还把各葡萄糖残基 2,3 位的羟基(即图 1 中标示为 1 的位置)的氧原子构成的近似平面中心定义为 O1,近似为大口的中心。图 1 中标示的位置是 5-羟甲基中的氧原子,把各葡萄糖残基中的对应位置连起来构成的平面,定义其中心为 O3,近似为小口的中心。

图 4 显示了单分子 PME A 与单分子 β -CD 结构的两种模式,一种是嘌呤环进入 β -CD 的空腔结构中,另一种是单磷酸基团进入 β -CD 的空腔结构中。当第一种模式(简称 D 模式)包合时,嘌呤环与 β -CD 的 O3 点的距离较近,单磷酸基团与 O3 点距离较远,第二种包合模式(简称 S 模式)则反之。由于两分子 β -CD 在包合 PME A 时,空间构象不存在 D 模式或者 S 模式,所以在两分子 β -CD 包合一分子 PME A 时,不做模式评价(图 5)。

2 结果与分析^[5-8]

β -CD 包合 PME A 分子模拟的主要参数结果如

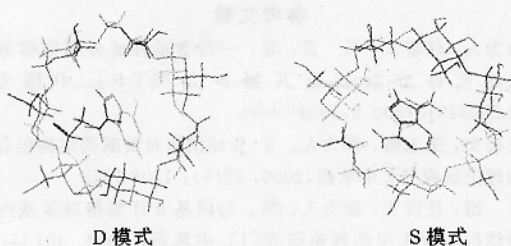
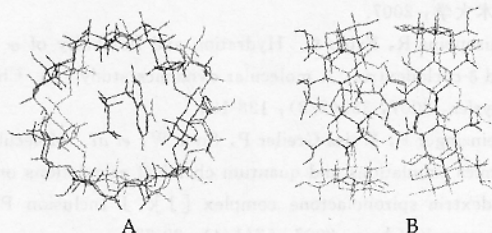
图4 单分子 β -CD与单分子PMEA包含示意图图5 两分子 β -CD与单分子PMEA包含正面(A)、侧面(B)示意图

表1、2。表1中列出了单分子 β -CD包含单分子PMEA(4种价电子)的3种结合能,以及包含过程中 β -CD和PMEA空间构象的包含模式;表2中列出了两分子 β -CD包含一分子PMEA的3种结合能,由于两分子 β -CD包含PMEA时,空间构象不存在D模式或者S模式,故不作模式评价。

表1 单分子 β -CD包含一分子PMEA的主要数据

配体 编号	配体 电荷	范德华相互作用能/ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	静电相互作用能/ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	总相互作用能/ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	包含 模式
1	+1	-104.5	-21.2	-125.7	D
2	0	-101.6	-23.0	-124.6	S
3	-1	-104.08	-17.6	-121.6	D
4	-2	-93.5	-19.0	-112.5	D

表2 两分子 β -CD包含一分子PMEA的主要数据

配体 编号	配体 电荷	范德华相互作用能/ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	静电相互作用能/ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	总相互作用能/ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
1	+1	-122.04	-4.20	-126.191 4
2	0	-133.00	-10.9	-143.983 9
3	-1	-126.00	-15.9	-141.889 0
4	-2	-120.40	-20.0	-140.438 3

2.1 单分子 β -CD包含一分子PMEA结果分析

从总相互作用的能量看,1号配体所需能量最低(-125.7 kJ/mol),4号配体所需能量最高(-112.59 kJ/mol),4种配体对接过程所需平均总能量为 -121.1 kJ/mol ,所需能量大小顺序依次是4号配体>3号配体>2号配体>1号配体。结果表明,4种配体在对接过程中所需能量均较低,均容易被 β -CD所包含。但相比较而言,配体所带电荷价数越高,在对接过程中所需能量越低;带的电荷价数

越低,对接过程所需能量越高。从范德华作用和静电作用看,静电作用能约占范德华作用能的1/4弱,这说明在整个包含过程中,范德华作用能起着主要的作用,而静电作用能起次要作用。

从包含模式来看,4种配体中,只有0价的2号配体包含模式为S模式,其余3种配体包含模式均为D模式。即当 β -CD:PMEA=1:1包含时,D模式:S模式=3:1,这说明单分子 β -CD包含一分子PMEA时,PMEA中性状态和带电状态不同,带电状态更易以D模式进入 β -CD的分子空腔中。

2.2 两分子 β -CD包含一分子PMEA结果分析

从相互作用的总能量看,0价的2号配体包含过程所需总能量最低(-144.0 kJ/mol),3号、4号配体次之,+1价的1号配体所需总能量最高(-126.2 kJ/mol),这说明在包含过程中,配体价电荷数越低,所需能量较低,包合作用较易进行;带正电荷的配体包合作用所需能量较高,包合作用较难进行。从对接过程中范德华作用和静电作用看,在对接过程中,静电作用能所占比重较低(平均为 -12.8 kJ/mol),范德华作用能比重很高(平均为 -125.4 kJ/mol),静电作用能约占范德华作用能的1/10,这说明在整个包含过程中,范德华作用能对包合作用影响较大,而静电作用能对包合作用影响次之。

2.3 单分子和两分子 β -CD包含PMEA的结果比较

从相互作用的总能量看,单分子 β -CD包含一分子PMEA时,对接所需的总能量比较高,平均能量为 $-121.105 3 \text{ kJ/mol}$;两分子 β -CD包含一分子PMEA时,对接所需的总能量比较低,平均能量为 $-138.125 6 \text{ kJ/mol}$,这说明两分子 β -CD包含PMEA比单分子 β -CD包含PMEA所需总能量较低,包合作用更容易进行。

从范德华作用和静电作用方面看,两分子 β -CD包含一分子PMEA时,对接过程所需的范德华平均作用能为 -125.4 kJ/mol ,平均静电能为 -12.8 kJ/mol ;而单分子 β -CD包含一分子PMEA时所需的范德华平均作用能为 -100.9 kJ/mol ,平均静电能为 -20.2 kJ/mol 。比较而言,两分子 β -CD包含一分子PMEA与单分子 β -CD包含一分子PMEA,范德华作用增加,而静电作用降低。

从配体的价电荷数来看,两分子 β -CD包含一分子PMEA时,配体电荷数较低时,对接所需的总能量较低,包合作用容易进行;而单分子 β -CD包含

一分子PMEA时,配体电荷数较低时,对接所需的总能量较高,包合作用不易进行。这说明在进行包合作用且配体电荷数较高时, β -CD:PMEA=1:1包合作用容易进行;配体电荷数较低时, β -CD:PMEA=2:1包合作用容易进行。

3 结论

以薛定谔药物软件,系统研究了 β -CD对PMEA结构的包合作用,总结分析可以得到以下规律和启示:(1)PMEA在不同的电荷状态时都能够被 β -CD包含;(2)两分子 β -CD包含单分子PMEA比单分子 β -CD包含一分子PMEA所需能量要低,提示在实际的试验中,可以增加 β -CD摩尔比例;(3)配体PMEA所带的价电荷数也会对包合作用产生影响,不同的带电状态会主要影响不同的包合模式。PMEA在中性或带正电时可能有利于 β -CD单分子包含,带负电荷有利于双分子 β -CD包含。

理论计算研究给出了比较明确的结果,在实际工作中需要根据理论的结果进行深入的研究,发现最有利于提供生物利用度的包合物。本研究用理论方法研究包合物对进一步的具体实验提供了较好的理论基础。

参考文献

- 徐为人,任晓文,马晋,等.一种含活性成分阿德福韦或其盐的固体分散物及其制备方法[P].中国专利:ZL200310107200.9,2008-04-30.
- 任晓文,王玉丽,徐为人,等. β -环糊精对黄酮类结构包合作用的理论研究[J].中草药,2008,39(9):1308-1312.
- 王博,任晓文,徐为人,等.羟丙基- β -环糊精对苯基丙烯酸类结构包合作用的理论研究[J].中草药,2009,40(4):558-562.
- 于艳敏.环糊精包结作用的分子模拟研究[D].合肥:中国科学技术大学,2007.
- Giuseppina R, Fabio G. Hydration and flexibility of α -, β -, γ - and δ -cyclodextrin: A molecular dynamics study [J]. Chemical Physics, 2007, 333(2/3): 128-134.
- Weinzinger P, Weiss-Greiler P, Snor W, et al. Molecular dynamics simulations and quantum chemical calculations on β -cyclodextrin spironolactone complex [J]. J Inclusion Phenom Macrocyclic Chem, 2007, 57(1/4): 29-33.
- Rudiyak V, Yu A, Avakyan V G, et al. Structural features of cyclodextrin inclusion complexes: Correlation of binding energies with thermochemical data [J]. Russ J Phys Chem, 2005, 79(Suppl 1): S28-S32.
- Chikara I, Yasuji L. Molecular simulation on interaction of polychlorodibenzodioxin and cyclodextrins [J]. Yamaguchi-ken-ritsu Daigaku Seikatsu Kagakubu Kenkyu Hokoku, 2005, 31: 41-48.

(收稿日期 2009-03-12)

文 摘

蒿属植物 *Artemisia tripartita* 中生物活性多糖的分离与鉴定 [英]/Xie G... // Phytochemistry. -2008, 69(6). -1359~1371

在美国西部,蒿属植物 *A. tripartite* Rydb. 用于治疗感冒、咽喉痛、扁桃体炎、头痛和创伤,但其生物活性成分不清。从该植物叶水提取物中分离得到5个多糖部位(A-I ~ A-V),对其组成成分进行了定性、定量分析,并检测了这5个多糖部位的免疫调节活性。

将该植物干燥、粉碎的叶用沸水提取1h,水提液经离心、醇沉、超滤、滤过等处理得到多糖粗提物,粗多糖进一步通过离子交换色谱法精制得到酸性多糖,酸性多糖再经过尺寸排阻色谱分离并根据总的碳水化合物洗脱特征,得到5个主要洗脱部位A-I、A-II、A-III、A-IV、A-V,各部位蛋白质的量均小于2.4%。Yariv试验表明,A-I部位不含阿拉伯半乳聚糖,而其他4个多糖部位均含有II型阿拉伯半

乳聚糖。5个多糖部位含硫酸盐均不少于3.4%,提示该植物多糖可能硫酸化。A-I ~ A-V的平均相对分子质量分别为 3.55×10^5 、 2.51×10^5 、 1.26×10^5 、 7.8×10^5 、 4.9×10^5 。该植物多糖主要由木糖、葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖和氨基半乳糖组成,另含少量的半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸、甘露糖、来苏糖和葡萄糖胺。A-II ~ A-V中的主要成分是木糖(>50%),而A-I中葡萄糖的量相对较高(29.5%)。 ^1H NMR (600 MHz)显示,多糖部位A-II、A-III、A-IV、A-V都具有相同的骨架,它们的氢谱与从其他植物中分离得到的阿拉伯半乳聚糖的氢谱相似;而部位A-I的氢谱中这些相关化学位移的信号非常微弱,提示A-I部位不含阿拉伯半乳聚糖,这与Yariv试验的结果相符。药理实验显示,A-I ~ A-V 5个多糖部位显示巨噬细胞激活活性,增加胞内活性氧种的产生,促进NO、IL-6、IL-10、INF- α 、单核细胞趋化蛋白1的分泌。此外,这5个多糖部位对