

基于糖尿病相关靶点 SWELL1-LRRC8 的中药单体抑制剂虚拟筛选

杨子博, 支爽, 代霖霖, 张岩, 李冬冬*

天津市医药科学研究所, 天津 300020

摘要: 目的 利用计算机辅助技术筛选糖尿病相关靶点 SWELL1-LRRC8 的中药成分活性结构。方法 按照类药性对中药单体进行筛选, 以 Autodock Vina 对接筛选, 在 PASS 中预测中药单体的糖尿病治疗活性, 以 Gromacs 进行动力学验证。结果 cnicidimonal、dianthramine 与关键残基 R103、D102 和 L101 同时存在作用, dianthramine 有更好的 PASS 预测结果并且与受体结合更为稳定。结论 cnicidimonal、dianthramine 可能存在潜在糖尿病治疗活性。

关键词: SWELL1-LRRC8; 糖尿病; 分子动力学模拟; 石竹胺

中图分类号: R914.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2022)06-1223-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.06.008

Virtual screening of monomer inhibitors in traditional Chinese medicine based on diabetes related target SWELL1-LRRC8

YANG Zi-bo, ZHI Shuang, DAI Lin-lin, ZHANG Yan, LI Dong-dong

Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Science, Tianjin 300020, China

Abstract: Objective Screening of active structures of diabetes-related targets SWELL1-LRRC8 by computer-aided technology.

Methods The monomers of traditional Chinese medicine were screened according to their drug-like properties, and Autodock Vina was used for docking screening. The diabetes treatment activity of traditional Chinese medicine monomers was predicted in PASS, and Gromacs was used for kinetic verification. **Results** cnicidimonal and dianthramine have simultaneous effects with key residues R103, D102 and L101. dianthramine has better PASS prediction results and is more stable in binding with receptors. **Conclusion** cnicidimonal, dianthramine may have potential activity.

Key words: SWELL1-LRRC8; diabetes; molecular dynamic simulation; dianthramine

糖尿病发病年轻化, 易引发心血管疾病等并发症, 23%~33%的 2 型糖尿病患者缺乏对血糖的有效控制。2 型糖尿病与胰岛抵抗、胰岛 β 细胞损伤、非酒精性脂肪肝相关^[1]。SWELL1-LRRC8a 蛋白与胰岛素分泌相关, 在脂肪、骨骼肌等细胞内的组织特异性损伤会影响胰岛素分泌及血糖控制。SWELL1 在鼠和人糖尿病脂肪和 β 细胞内表达减少, 导致胰岛素信号下调、分泌减少, 进而导致葡萄糖不耐受。SWELL1-LRRC8 抑制剂可以修复 SWELL1, 提高胰岛素敏感性并增加胰岛素分泌, 基于 SWELL1 机制恢复血糖控制和胰岛素分泌, 不会引起正常机体低血糖^[2-3]。SWELL1 与不同的 LRRC8 亚型组成不稳定六聚

体 (SWELL1-LRRC8), 2 型糖尿病糖脂毒性等因素不利于 SWELL1-LRRC8 稳定存在, 从而导致 SWELL1 降解。SWELL1-LRRC8 抑制剂与闭合的 SWELL1-LRRC8 结合稳定其结构, 然后与 SWELL1-LRRC8 分离并重启动目标组织的胰岛素信号传导功能。R103、D102 和 L101 是 SWELL1-LRRC8 抑制剂结合关键残基^[4]。中药单体为药物结构多样化设计提供了丰富资源, 药物研发人员越来越注意挖掘药用植物中新型高效的天然产物^[5], 中药在糖尿病治疗中起着非常重要的作用。本文利用计算机辅助技术在 TCMSP、TCMIP 2 个数据库中筛选糖尿病相关靶点 SWELL1-LRRC8 的潜在中药单体抑制剂。

收稿日期: 2022-04-15

基金项目: 天津市卫生健康科技项目 (KJ20083); 天津市卫生健康科技项目 (KJ20121)

作者简介: 杨子博, 助理研究员, 硕士, 从事药物化学研究。E-mail: percadd@gmail.com

*通信作者: 李冬冬, 研究员, 博士, 从事药物化学研究。E-mail: lidongdong2010@163.com

1 材料

Gromacs (2019.4 单精度版)^[6]、TCMSP (<https://old.tcmisp-e.com/index.php>)^[7]、TCMIP (<http://www.tcmip.cn/TCMIP/index.php/Home/Login/login.html>)^[8]、Autodock Tools (Version 1.5.6 Sep_17_14)^[9]、Autodock Vina (Version 1.1.2)^[10]、物质生物活性预测 (PASS Version 2.0, <http://www.way2drug.com/passonline/index.php>)^[11]、CHARMM36 力场^[12]。

2 方法与结果

2.1 分子对接筛选

修复 SWELL1-LRRC8 受体文件 (PDB:6NZZ) 中缺失残基,以 Gromacs 动力学模拟稳定后作为受体文件进行分子对接筛选。整理 TCMSP、TCMIP 2 个数据库中药单体,依类药五原则初步筛选^[13]。以

Autodock Tools 生成受体和配体的 pdbqt 文件。设置 R103、D102 和 L101 附近区域为对接区域,以 Autodock Vina 进行筛选。

SWELL1-LRRC8 动力学模拟在 4 ns 后结构开始稳定,选取 4 ns 最后一帧动力学模拟构象作为受体对接初始构象进行分子筛选。TCMSP 和 TCMIP 数据库中整理出 19 228 个分子结构,利用 LigPlot+ 分析每个中药单体对接结果^[14]。914 个中药单体可与 R103 形成氢键,并与 L101、D102 存在疏水作用,疏水作用原子数较多的中药单体有 gomisins O、cimicifugin、alpha-methylculusins、bifendate、picropodophyllone、picropodophyllin、cniforin B、cynanchoside c2_qt、enhydrin、cnidimonol、dianthramine、euphoscopin E、neokadsuranin,其结构对接能分布见表 1。

表 1 13 个结构对接能分布
Table 1 Docking energy distribution of 13 structures

序号	结构编号	中药来源	结合能/(kcal·mol ⁻¹)								
			构象 1	构象 2	构象 3	构象 4	构象 5	构象 6	构象 7	构象 8	构象 9
1	5411	五味子	-6.8	-6.3	-6.2	-5.8	-5.8	-5.8	-5.8	-5.6	-5.6
2	6372	升麻	-7.2	-6.9	-6.8	-6.7	-6.5	-6.5	-6.5	-6.4	-6.4
3	925	萆澄茄	-6.9	-6.6	-6.6	-6.5	-6.5	-6.5	-6.5	-6.4	-6.4
4	MOL000387	白茅根、黄芪	-6.2	-6.2	-6.1	-6.1	-6.0	-6.0	-5.7	-5.7	-5.7
5	MOL001708	八角莲	-7.1	-7.1	-7.1	-7.0	-7.0	-7.0	-7.0	-6.9	-6.9
6	MOL001710	八角莲	-7.8	-7.7	-7.2	-7.1	-7.0	-6.9	-6.6	-6.5	-6.5
7	MOL003607	蛇床子	-6.5	-6.4	-6.2	-6.1	-6.0	-6.0	-5.9	-5.9	-5.8
8	MOL006871	白薇	-7.7	-7.1	-7.1	-7.1	-7.0	-7.0	-7.0	-7.0	-6.9
9	MOL013119	土茯苓	-6.3	-6.3	-6.2	-6.2	-5.9	-5.9	-5.8	-5.8	-5.7
10	MOL003605	蛇床子	-6.6	-6.4	-6.3	-6.3	-6.3	-6.3	-6.2	-6.1	-6.0
11	MOL005318	人参	-7.1	-6.8	-6.4	-6.4	-6.2	-6.2	-6.1	-6.1	-6.1
12	MOL013407	泽漆	-7.7	-7.2	-7.2	-7.2	-6.9	-6.9	-6.9	-6.8	-6.8
13	MOL009220	南五味子	-6.7	-6.4	-6.1	-6.0	-6.0	-5.8	-5.8	-5.8	-5.7

cnidimonol 9 个对接构象中有 7 个对接构象与关键残基同时存在作用,对接构象 1 和对接构象 6 在不同链间存在相互作用的原子最多。对接构象 1 与 B 链 R103 的 N 原子、C 链 R103 的 NH1 形成氢键,与 B 链 D102、C 链 L101 存在非键作用。对接构象 6 与 C 链 R103 形成氢键,与 B 链 D102、C 链 L101 存在非键作用。对接构象 1 形成 2 个结合力更强的常规氢键,因此对对接构象 1 进行更仔细地分析。cnidimonol 2 个苯环之间,以及 2 个吡喃酮环之间存在 T 型 π - π 作用而发生折叠。芳香环与

SWELL1-LRRC8 A 链残基 D102、C 链残基 D100 形成 Anion- π 键,见图 1。dianthramine 对接构象 8 与 SWELL1 疏水作用最强,其次为对接构象 5。对接构象 8 与 B 链残基 R103 形成氢键,与 C 链残基 LYS98 形成 π -烷键。此外还可以与 B 链 D102、C 链 Y99、D100、L101 形成氢键。与 B 链 D100、L101、D102、R103,与 C 链 K98、Y99、D100、L101、R103、Y106 存在疏水作用,见图 2。

2.2 生物活性预测

利用已知活性结构数据库进行 PASS 预测,在

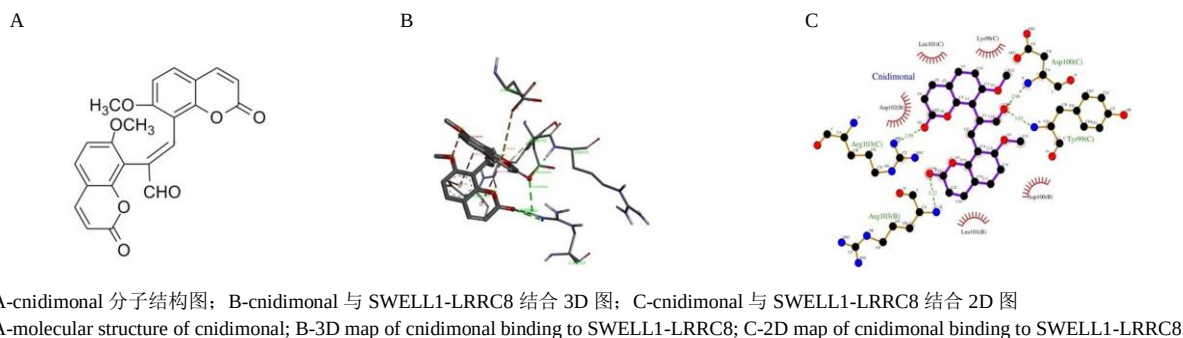


图 1 cnidimonal 与 SWELL1-LRRC8 对接结果

Fig. 1 Results of docking between Cnidimonal and SWELL1-LRRC8

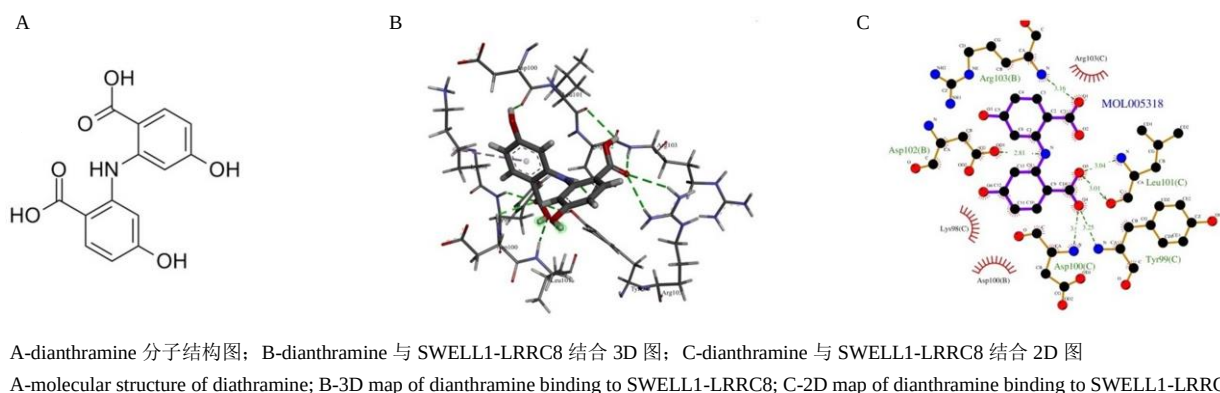


图 2 dianthramine 与 SWELL1-LRRC8 对接结果

Fig. 2 Results of docking between dianthramine and SWELL1-LRRC8

数据库中输入分子对接筛选中结果较好的 SMILES 结构, 进行抗糖尿病活性预测。

对分子对接筛选出的 13 个结构进行抗糖尿病活性预测, 其中 dianthramine (MOL005318) 与抗糖尿病相关记录比较多。PASS 利用收录了 35 000 个结构的数据库与被预测结构进行比对来预测药理作用, 表 2 列出了 dianthramine 与糖尿病相关的活性预测结果, 其他与葡萄糖相关的活性预测结果还有 prunasin β -glucosidase inhibitor 等 56 条记录。Pa 和 Pi 分别表示可能性和不可能性。当 Pa>Pi 时, 说明这个结构很可能用于活性实验验证, 也说明该结构值得进一步的研究。dianthramine 作用于 antidiabetic symptomatic 的数据较为突出, Pa 值 0.312, Pi 值 0.033, 其次是作用于 antidiabetic (type 1), Pa 值 0.145, Pi 值 0.061。其他结构也有与葡萄糖代谢抑制剂相关的结果, 而 dianthramine 存在与抗糖尿病直接相关的活性。

2.3 动力学验证

使用 Gromacs, 选择 CHARMM36 力场、Spc (simple point charge) 水模型, 设置十二面体盒子, 盒子边界设为 1.0 nm, 以 NaCl 中和电性, NVT 和

表 2 dianthramine 生物活性预测

Table 2 dianthramine biological activity prediction

Pa	Pi	活性预测
0.312	0.033	antidiabetic symptomatic
0.249	0.115	antidiabetic
0.145	0.061	antidiabetic (type 1)

NPT 系综平衡后进行动力学模拟。计算 RMSD (root-mean-square deviation) 及受体、配体间的氢键数。

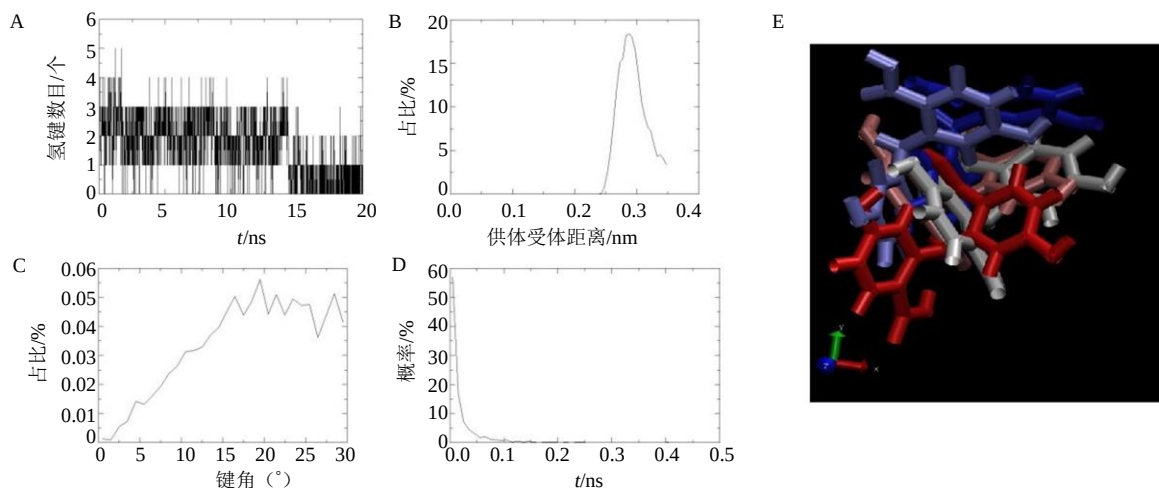
SWELL1 的 loop 区柔性比较大, 但是在动力学模拟中可以达到比较稳定的状态, 尤其 α 螺旋处结构最为稳定。cnidimonal 自身在动力学模拟中没发生折叠等太大变化, 但是不能与 SWELL1-LRRC8 长时间稳定结合, 2 次模拟中, 在 10 ns 左右游离出结合位点。cnidimonal 的活性构象和稳定构象不一致, 推测 4 个芳环的 π - π 作用使其发生折叠, 降低了与靶标蛋白结合的能力, 但是香豆素结构在糖尿病治疗中起着非常重要的作用, 可以对 cnidimonal 做进一步验证。

dianthramine 对接构象 8 与 SWELL1 可以形成 2~3 个氢键, 键长分布在 0.3 nm 左右, 键角分布集中在 15°~30°。氢键寿命主要集中于 20 ps 内。

动力学模拟轨迹显示 dianthramine 在受体中结合位置有小幅变化, 结合方向没有太大变化。在 20 ns 模拟中 dianthramine 与 R103 形成一个稳定氢键, 不同动力学模拟构象可以稳定存在 2 ns 左右, 见图 3。分析显示, dianthramine 分子内形成盐桥, 不利于其与受体稳定结合, 与 D100、D102、R103 和 K98 可形成分子间盐桥, 与 D102 形成的盐桥比较稳定。

dianthramine 对接构象 5 经平衡处理后可更稳

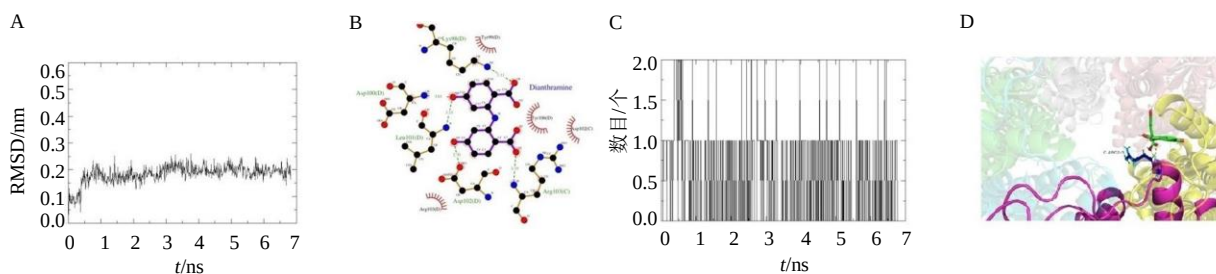
定地与 SWELL1-LRRC8 结合, RMSD 波动非常小, 2 次模拟结果显示至少在 20 ns 内 dianthramine 可以稳定结合在 R103、D102、L101 附近。与 C 链残基 R103 形成 1~2 个氢键, 与 D 链残基 D102、L101 存在疏水作用, 满足 SWELL1-LRRC8 抑制剂的作用条件, 见图 4。dianthramine 在模拟过程中可以与 SWELL1-LRRC8 的 D100、D102、R103、K98 形成盐桥, 从而稳定结合在活性位点。



A-dianthramine 对接构象 8 与 SWELL1-LRRC8 结合的氢键数目统计 B-氢键键长统计 C-氢键键角分布 D-氢键寿命统计 E-20 ns 内 dianthramine 轨迹叠合图
A-hydrogen bond number statistics B-hydrogen bond length statistics C-hydrogen bond angle distribution D-hydrogen bond lifetime statistics, E-superposition of dianthramine trajectories in 20 ns

图 3 dianthramine 对接构象 8 与 SWELL1-LRRC8 结合动力学模拟

Fig. 3 Molecular dynamic simulation of dianthramine docking conformation 8 binding to SWELL1-LRRC8



A-dianthramine RMSD 计算 B-dianthramine 动力学模拟 6.75 ns 处动力学模拟构象与 SWELL1-LRRC8 作用 2D 图 C-dianthramine 与 R103 氢键统计 D-dianthramine 动力学模拟 6.75 ns 处动力学模拟构象与 SWELL1-LRRC8 作用 3D 图
A-RMSD calculation of dianthramine B-2D map of the interaction between dianthramine and SWELL1-LRRC8 at 6.75 ns in the molecular dynamic simulation C-Statistics of the hydrogen bond between dianthramine and R103 D-3D map of interaction between dianthramine and SWELL1-LRRC8 at 6.75 ns in the molecular dynamic simulation

图 4 dianthramine 对接构象 5 与 SWELL1-LRRC8 结合动力学模拟 7 ns 内时长的结果

Fig. 4 Results of molecular dynamic simulation of the binding of dianthramine docking conformation 5 to SWELL1-LRRC8 for 7 ns

3 讨论

香豆素类化合物有降糖作用, 可以通过激活蛋白激酶或腺嘌呤核糖核苷酸依赖的蛋白激酶促进

葡萄糖转运^[15], 从圆柏中分离出的 α -圆柏甲氧基香豆素通过作用于蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B) 发挥抗糖尿病作用。cnidimonal 是由 Cai 等^[16]首次从

蛇床子中分离出来的一类双香豆素类化合物,在对接结果中表现比较突出,与 C 链残基 R103 形成氢键,与 B 链残基 L101、D102 共 21 个原子存在疏水作用。但是自身 4 个芳香环之间 Pi-Pi 作用导致折叠,与 SWELL1-LRRC8 作用减弱,在动力学模拟中逐渐游离出结合位点。香豆素在糖尿病治疗中有非常普遍的应用,因此可以对 cnidimonal 做进一步验证以确定其是否有活性。

dianthramine 类似于双 2-胺基-4 羟基苯甲酸结构,有 5 个活性基团,方便结构修饰,水溶性、酸性很强,参考文献很少,在知网、SciFinder 等数据库中相关文献多为网络药理学分析。dianthramine 是一种对称结构,不易做选择性取代、成酯修饰,但是活性官能团酚羟基、羧基提供了更多衍生化可能性,延长母核结构可令其更容易作用于 SWELL1-LRRC8 不同亚型链之间,增强与关键残基的作用。

dianthramine 与中药人参相关,文献报道其从摩洛哥坚果 *Argania spinosa* (L.) Skeels 果肉中也分离出该氨基酚类化合物,具有降血糖作用。单剂量给药 6 h 后糖尿病鼠血糖水平从 (26.50 ± 0.61) mmol/L 下降到了 (14.27 ± 0.73) mmol/L ($P < 0.001$),服用 7 d 后,血糖和血脂均下降,体质量无明显变化^[17]。

综上,本研究自中药单体中筛选出的 cnidimonal、dianthramine 具有潜在的 SWELL1-LRRC8 活性,为其抑制剂设计提供了新思路,dianthramine 的抗糖尿病活性预测结果表明可以对其进行进一步实验验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2022 Abridged for Primary Care Providers [J]. *Clin Diabetes*, 2022, 40(1): 10-38.
- [2] Kumar A, Xie L, Ta C M, et al. SWELL1 regulates skeletal muscle cell size, intracellular signaling, adiposity and glucose metabolism [J]. *Elife*, 2020, 9: e58941.
- [3] Kang C, Xie L, Gunasekar S K, et al. SWELL1 is a glucose sensor regulating β -cell excitability and systemic glycaemia [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 367.
- [4] Gunasekar S K, Xie L, Kumar A, et al. Small molecule SWELL1 complex induction improves glycemic control and nonalcoholic fatty liver disease in murine type 2 diabetes [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 784.
- [5] 陈士林, 孙奕, 万会花, 等. 中药与天然药物 2015—2020 年研究亮点评述 [J]. *药学学报*, 2020, 55(12): 2751-2776.
- [6] Berendsen H J C, van der Spoel D, van Drunen R. GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation [J]. *Comp Phys Comm*, 1995, 91(1-3): 43-56.
- [7] Ru J, Li P, Wang J, et al. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [8] Xu H Y, Zhang Y Q, Liu Z M, et al. ETCM: An encyclopaedia of traditional Chinese medicine [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019; 47(D1): D976-D982.
- [9] Morris G M, Huey R, Lindstrom W, et al. Autodock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility [J]. *J Comput Chem*, 2009, 30(16): 2785-2791.
- [10] Trott O, Olson A J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. *J Comput Chem*, 2010, 31(2): 455-461.
- [11] Filimonov D A, Lagunin A A, Gloriovova T A, et al. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource [J]. *Chem Heterocycl Com*, 2014, 50: 444-457.
- [12] Brooks B R, Brooks 3rd C L, Mackerell Jr A D, et al. CHARMM: The biomolecular simulation program [J]. *J Comput Chem*, 2009, 30(10): 1545-1614.
- [13] Lipinski C A, Lombardo F, Dominy B W, et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development setting [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 46(1-3): 3-26.
- [14] Laskowski R A, Swindells M B. Swindells. LigPlot+: Multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery [J]. *J Chem Inf Model*, 2011, 51(10): 2778-2786.
- [15] 史静超, 张淑蓉, 柴智, 等. 基于 UPLC-QE-Orbitrap-MS 技术的芪蛭降糖胶囊化学成分分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(16): 116-123.
- [16] Cai J N, Basnet P, Wang Z T, et al. Coumarins from the fruits of *Cnidium monnieri* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(4): 485-488.
- [17] Eddouks M, Khallouki F, Owen R W, et al. Evaluation of glucose and lipid lowering activity of Arganimide A in normal and streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2019, 19(4): 503-510.

[责任编辑 高源]