

基于 PTP1B 活性区域靶向中药成分治疗糖尿病的虚拟筛选及动力学模拟验证

杨子博, 支爽, 代霖霖, 王慧, 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, 在中药成分中针对蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B) 多个作用位点筛选抑制剂。方法 整理 TCMSp 数据库, 利用 Autodock Vina 和 Ledock 筛选, 利用数据库预测中药成分药性、生物活性、药动学, 通过动力学模拟验证结合稳定性。结果 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 有良好的类药性质, 满足类药原则, 有良好的药动学性质, 与 PTP1B 多个活性位点共同作用并稳定结合。结论 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 具有治疗糖尿病的潜在可能性, 可以对其做进一步结构优化、实验验证。

关键词: 糖尿病; 蛋白酪氨酸磷酸酶 1B; 抑制剂; 虚拟筛选; 类药性质; 生物活性; 药动学; 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)04-0848-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.04.006

Virtual screening and molecular dynamics simulation verification of targeting traditional Chinese medicine ingredients based on PTP1B active region to treat diabetes

YANG Zibo, ZHI Shuang, DAI Linlin, WANG Hui, LI Dongdong

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

Abstract: Objective A computer aided technique was used to screen inhibitors targeting multiple action sites of protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) in traditional Chinese medicine. **Methods** The TCMSp database was sorted out, and Autodock Vina and Ledock screening were used to predict the properties, biological activity and pharmacokinetics of traditional Chinese medicine taxonomic drugs by the database, and the binding stability was verified by kinetic simulation. **Results** 2,3,7-Trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene has good pharmacokinetic properties, meets the principle of drug class, and has good pharmacokinetic properties. It interacts with multiple active sites of PTP1B and binds stably. **Conclusion** 2,3,7-Trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene has the potential to treat diabetes, and it can be further optimized and verified in experiments.

Key words: diabetes; PTP1B; inhibitor; virtual screening; drug properties; biological activity; pharmacokinetics; 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene

2 型糖尿病发病机制复杂, 很难找到治疗 2 型糖尿病的完美机制。最近, 治疗糖尿病最常用的药物二甲双胍被发现含有致癌结构 *N*-亚硝基二甲胺^[1]。新的药物并没有彻底缓解全球糖尿病危机, 持续增加的糖尿病患者依旧需要新的药物。天然产物的半合成是一种更有效、更安全的药物开发策略,

对于改进药物特性、增强药动学和药效学至关重要^[2]。本研究尝试利用计算机辅助技术在中药成分中筛选治疗糖尿病的化学结构。

蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B) 是胰岛素信号通路的负调节因子, 在与胰岛抵抗相关的疾病中起着非常关键的作用^[3]。清除神经元或全身的 PTP1B,

收稿日期: 2023-11-14

基金项目: 天津市科技计划项目 (22JCYBJC00200); 天津市卫生健康行业高层次人才项目 (TJSJMYXYC-D2-034)

作者简介: 杨子博, 助理研究员, 硕士, 从事药物化学研究。E-mail: thesun999@163.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

小鼠可以有效的免于肥胖和糖尿病^[4]。由于 PTP1B 在血管内皮生长因子 (VEGF) 通路中负调节, 抑制 PTP1B 也可以促进心血管再生^[3]。PTP1B 还与 β 细胞增生相关, 敲除掉小鼠的 β 细胞后, 小鼠获得了更高水平的 β 细胞增生及葡萄糖引起的胰岛素分泌^[1]。由于 PTPs 结构的相似性, PTP1B 抑制剂缺乏特异性, 部分药物如 trodusquemine、JTT-551 等的临床试验由于缺乏特异性并且存在不良反应而被中止^[5]。

PTP1B 有 2 个活性区域^[6]。PTP1B 抑制剂设计常用的活性区域是由编号为 210~223 的残基组成的区域 A。多数 PTP1B 抑制剂是针对区域 A 的, 但是单独针对区域 A 的结构选择性较差^[5]。由于区域 A 呈现强极性, 针对区域 A 设计的配体膜透过性比较差。为了提高结构特异性, 还要考虑另外 3 个区域 (区域 B、C、D) 的共同作用。区域 B 由残基 Tyr-20、Arg-24、Ala-27、Phe-52、Arg-254、Met-258、Gly-259 组成, 同时作用于区域 A 和区域 B 的结构有更好的选择性^[7]。区域 C 是主要由 46~48 号残基组成的带电区域, 可以形成盐桥、氢键等, 在选择性设计上使用更多。D 区域由 Glu-115、Lys-120、Asp-181、Ser-216 组成, 该区域选择性更强, Lys-120 在区分 TPT1B 和 T 细胞蛋白酪氨酸磷酸酶 (TCPTP) 时起决定作用。多羟基或羧基的抑制剂可以提高 20 倍与 Lys 的结合能力^[8]。B 区域的 Arg-24、Arg-254 和 D 区域的 Lys-120 是关键残基。综上, 本研究针对 PTP1B 活性区域 A 及附近可以提高结构特异性区域, 利用 TCMSP 数据库^[9]进行 PTP1B 潜在抑制剂结构筛选。

1 方法

1.1 对接筛选

从 PDB 数据库^[10]下载蛋白 3D 结构 (PDB ID: 2BGE), 检查、修复结构文件, 利用 Autodock Tools 生成 PDBQT 格式文件。设定在 A、B、C、D 4 个区域内为对接口袋, 对接盒子参数为--center_x56.9--center_y35.4--center_z40.3--size_x32.1--size_y36.7--size_z28.8。利用 OpenBabel 生成 TCMSP 数据库的中药成分分子性质, 筛选相对分子质量 <500 , 氢键供体 ≤ 5 , 氢键受体 ≤ 10 , $\lg P \leq 5$ 的结构, 利用 Autodock Vina 做筛选, 按对接能绝对值由大到小取前 100 个结构。利用 LeDock 做筛选, 按对接能绝对值由大到小取前 100 个结构。对 2 次对接结果取交集, 利用 Pymol、Discovery Studio Visualiser

(DSV)、LigPlot+^[11]分析与活性区域 A 存在作用且同时与 B、C 或 D 区域存在作用的中药成分。

1.2 结构分析

利用 Openbabel^[12]工具生成结构 SMILES 信息, 在 SwissADME^[13]中计算拓扑分子极性表面积 (TPSA)、 $\lg P$ 、氢键供体、氢键受体等信息, 筛选 $\text{TPSA} \leq 140 \text{ \AA}^2$ ($1 \text{ \AA} = 0.1 \text{ nm}$), $\lg P \leq 5$, 氢键供体 ≤ 5 , 氢键受体 ≤ 10 , S.A score <10 的结构, 并判断结构是否满足 Lipinski、Veber、Egan 成药原则。利用已知活性结构数据库 PASS^[14]分析结构潜在用途, 筛选有活性的概率 (P_a) $>$ 没有活性的概率 (P_i) 且与糖尿病相关的项目。

1.3 药动力学预测

利用 Openbabel 等工具生成结构 SMILES 信息, 在 pkCSM 数据库^[15]中计算结构药动力学性质, 统计结果并分析。稳态分布体积 (VD_{ss}) >0.45 被认定为比较高的值; 血脑屏障透过率 ($\lg \text{BB}$) >0.3 有较好的血脑屏障透过能力, $\lg \text{BB} < -1$ 则比较差; 中枢神经系统通透性 ($\lg \text{PS}$) >-2 被认为可以进入中枢神经系统, $\lg \text{PS} < -3$ 则无法进入中枢神经系统; 细胞色素 P450 (CYP) 是一种重要的单氧酶, 在组织中广泛存在, 与药物代谢相关, CYP 对药物有抑制或激活作用, 酶的抑制剂会破坏药物的代谢, 可能产生与预期相反的效果。2D6 和 3A4 是与代谢相关的 CYP 2 个重要异构体。较低的清除率可以使药物被清除前更多到达治疗部位, $\text{Total clearance} < 0.5$ 被认为有较低的清除率。Ames 测试阴性说明结构无致癌风险; 大鼠口服急性毒性 (LD_{50}) >2.0 被认为致癌风险高^[16]。

1.4 分子动力学模拟验证

利用 Gromacs 2019, 使用 AMBER99SB-ILDN 力场, TIP3P 水模型, 设置 nstlist 为 1、cutoff-scheme 为 Verlet、ns_type 为 grid、rlist 为 1.2 做能量最小化。设置 continuation 为 no、constraint_algorithm 为 lincs、cutoff-scheme 为 Verlet、coulombtype 为 PME、tcoupl 为 V-rescale 做 NVT 平衡。设置 pcoupl 为 Berendsen、pcoupltype 为 isotropic、tau_p 为 2.0、ref_p 为 1.0 做 NPT 平衡, 待体系平衡后做动力学模拟并以分子力学/广义波恩模型表面积 (MM/GBSA)^[17]分析主要作用力。

2 结果

2.1 对接筛选

根据分子性质筛选出 2 857 个中药成分, 利用

Autodock Vina 筛选, 如图 1 所示, 对接能最低的结构是双靛蓝 (bisindigotin, MOL011100) 和二氢血根碱 (dihydrosanguinarine, MOL001463), 对接能为 -9.0 kcal/mol ($1 \text{ cal}=4.2 \text{ J}$); 对接能最高的结构是五味子醇甲 (schisandrin, MOL005604), 对接能为 -4.7 kcal/mol 。Ledock 筛选结果中对接能最低的结构是 taurochenideixycholicacid (MOL009666), 对接能为 -6.65 kcal/mol ; 对接能最高的结构是白前苷 B (glaucoside B, MOL012930), 对接能为 -1.69 kcal/mol 。Vina 给出的结合能更低。

合并 2 次筛选结果得到结构 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene (MOL000225)、刺桐苯乙烯 (eryvariestyrene, MOL000452)、掌叶大黄二蒽酮 C (palmidin C, MOL002253)、5,7-dihydroxy-2-[(2*S*,3*R*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl]chromen-4-one (MOL003037)、甘草宁 D (gancaonin D, MOL004861)、槲皮素-7-*O*-葡萄糖苷 (quercetin 7-*O*-glucoside, MOL005921)、isoprincepin (MOL009551)、bisindigotin (MOL011100)、异丙甲素 A (isatisine A, MOL011108)、异靛蓝 (isoindigo, MOL011335), 见表 1。

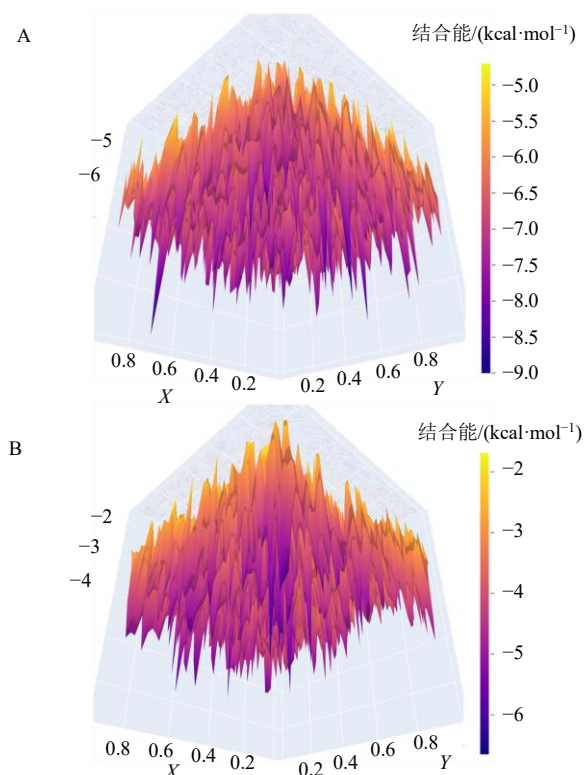


图 1 Autodock Vina (A) 和 Ledock (B) 对接结果统计
Fig. 1 Results of docking with Autodock Vina (A) and Ledock (B)

表 1 Autodock Vina 及 Ledock 对接结果交集部分的结构

Table 1 Structures from section of Autodock Vina and Ledock intersection

MOL ID	化合物	对接能/($\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)	
		Vina	LeDock
MOL000225	2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy- <i>E</i> -styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5 <i>H</i> -benzocycloheptene	-7.7	-5.08
MOL000452	刺桐苯乙烯 (eryvariestyrene)	-7.6	-5.03
MOL002253	掌叶大黄二蒽酮 C (palmidin C)	-7.8	-5.13
MOL003037	5,7-dihydroxy-2-[(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl]chromen-4-one	-7.9	-5.25
MOL004861	甘草宁 D (gancaonin D)	-8.4	-5.43
MOL005921	槲皮素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷 (quercetin 7- <i>O</i> -glucoside)	-7.8	-5.01
MOL009551	isoprincepin	-8.8	-5.15
MOL011100	双靛蓝 (bisindigotin)	-9.0	-5.26
MOL011108	异丙甲素 A (isatisine A)	-7.6	-5.74
MOL011335	异靛蓝 (isoindigo)	-8.0	-5.01

Pymol 中显示 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与残基 Gln-266、Arg-221、Asp-181、Lys-120 形成氢键 (图 2A), 在 LigPlot+ 中显示 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-

benzocycloheptene 与残基 Asp-48、Asp-181、Lys-120 形成氢键, 与残基 Arg-221 形成 2 个氢键, 与亲水残基 Tyr-46、Gln-262、Ser-216、Cys-215 存在非键作用, 与疏水残基 Ala-217、Gly-220、Phe182 存在非键作用 (图 2B)。

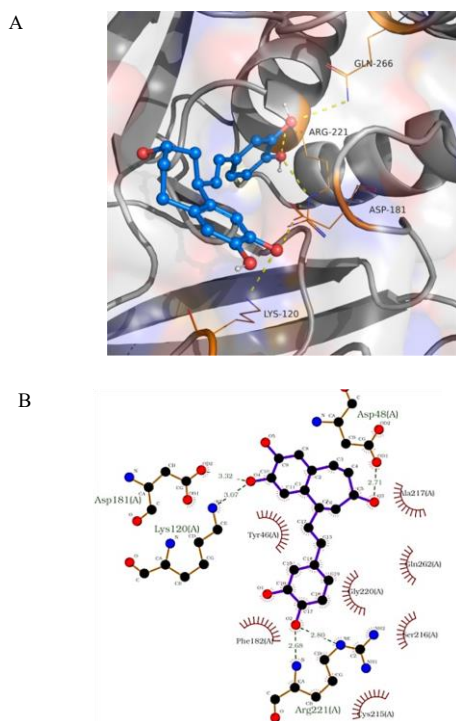


图 2 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-E-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5H-benzocycloheptene 与 PTP1B 对接结果在 Pymol (A) 和 LigPlot+ (B) 中的分析

Fig. 2 Analysis of docking results of 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-E-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5H-benzocycloheptene and PTP1B in Pymol (A) and LigPlot+ (B)

2.2 结构分析

2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-E-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5H-benzocycloheptene、甘草宁 D、槲皮素-7-O-葡萄糖苷、双靛蓝、异丙甲素 A、异靛蓝满足所有类药原则。除结构掌叶大黄二萜酮 C 和 5,7-dihydroxy-2-[(2S,3R)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl]chromen-4-one 外都有较高的吸收能力 (ABS)。所有结构的 S.A score < 6, 生物利用度为 55%, 见表 2。

PASS 数据库分析显示, 除结构 isoprincepin 和异丙甲素 A 外, 其他结构都可以用于糖尿病的治疗, 如 antidiabetic (type 1)、antidiabetic、antidiabetic (type 2)。或者可以作用于胰岛素, 如用于抑制 insulysin 的 insulysin inhibitor, 或增加胰岛素效用的 insulin sensitizer、insulin promoter。此外, 还有多个与葡萄糖相关的作用, 如抑制碳水化合物水解的 alpha glucosidase inhibitor、beta-glucosidase inhibitor, 抑制半乳糖向葡萄糖转化的 UDP-glucose 4-epimerase inhibitor 等与糖尿病相关的潜在作用, 见表 3。

2.3 药动力学预测

所有结构肠吸收能力都比较强, 异丙甲素 A 肠吸收比值相对低一些^[15]。2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-

表 2 类药性质分析

Table 2 Drug-like properties analysis

类药性质	MOL ID									
	MOL000225	MOL000452	MOL002253	MOL003037	MOL004861	MOL005921	MOL009551	MOL011100	MOL011108	MOL011335
ABS	高	高	低	低	高	高	高	高	高	高
TPSA(A ²)	101.1	40.46	135.2	138.8	120.3	118.2	138.0	86.68	123.0	58.20
n-ROTB	2	5	1	4	5	1	4	2	2	0
MW	328.3	294.3	494.4	464.4	384.3	300.2	494.4	490.5	406.3	262.2
MlgP	1.67	4.24	2.11	0.19	0.51	0.07	0.58	2.36	-0.42	1.91
H-bond acceptors	5	2	7	9	7	6	9	4	6	2
H-bond donors	5	2	5	4	4	5	5	2	4	2
Lipinski's violations	是	是; 1 violation: MLOGP > 4.15	是	是	是	是	是	是	是	是
veber violations	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是
egan violation	是	是	否; 1 violation: TPSA > 1316	否; 1 violation: TPSA > 1316	是	是	否; 1 violation: TPSA > 1316	是	是	是
S.A score	3.88	2.95	4.38	4.66	3.62	3.10	5.19	4.46	4.38	2.39
%F	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
pains alert	1 alert: catechol A	0	0	0	0	1 alert: catechol A	1 alert: catechol A	1 alert: ene_ five het E	0	0

ABS 为 GI absorption, ROTB 为可旋转键个数, H-bond acceptors 为氢键受体个数, H-bond donors 为氢键供体个数, S.A score 为合成难易指数, %F 为生物利用度指数。

ABS means GI absorption, ROTB means number of rotatable bonds, H-bond acceptors means numbers of acceptor atoms of hydrogen bond, H-bond donors means numbers of donor atoms of hydrogen bond, S.A score means score of the synthetic accessibility, %F means bioavailability score.

表 3 PASS 数据库分析结果
Table 3 Results of PASS analysis

MOL ID	Pa	Pi	功能
MOL000225	0.125	0.109	antidiabetic (type 1)
MOL000225	0.329	0.109	insulin promoter
MOL00045	0.293	0.086	antidiabetic
MOL00045	0.221	0.051	antidiabetic (type 2)
MOL00045	0.495	0.051	insulysin inhibitor
MOL00045	0.146	0.027	insulin sensitizer
MOL00045	0.256	0.208	insulin promoter
MOL00225	0.123	0.115	antidiabetic (type 1)
MOL00225	0.537	0.039	insulysin inhibitor
MOL00225	0.252	0.217	insulin promoter
MOL00303	0.224	0.099	antidiabetic symptomatic
MOL00486	0.337	0.023	antidiabetic symptomatic
MOL00486	0.185	0.184	antidiabetic
MOL005921	0.215	0.108	antidiabetic symptomatic
MOL005921	0.452	0.067	insulysin inhibitor
MOL005921	0.090	0.056	insulin sensitizer
MOL01110	0.287	0.244	diabetic neuropathy treatment
MOL01110	0.408	0.084	insulysin inhibitor
MOL011335	0.451	0.013	diabetic neuropathy treatment
MOL011335	0.289	0.046	antidiabetic symptomatic
MOL011335	0.206	0.013	diabetic retinopathy treatment
MOL011335	0.166	0.035	antidiabetic (type 1)
MOL011335	0.200	0.084	diabetic nephropathy treatment
MOL011335	0.479	0.057	insulysin inhibitor
MOL011335	0.461	0.039	insulin promoter
MOL011335	0.070	0.059	insulin like growth factor 1 antagonist

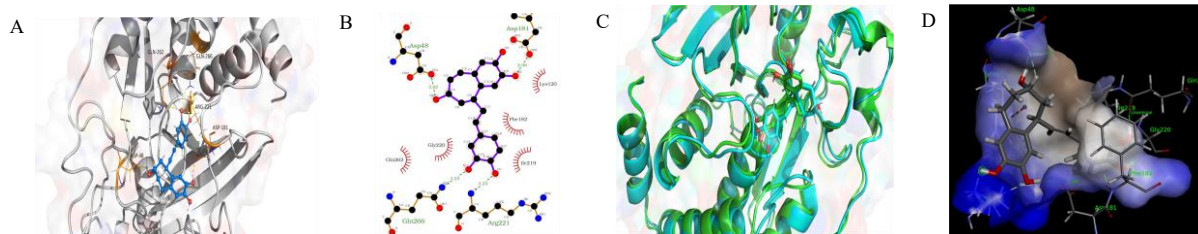
dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 分布容积较高^[18]。所有结构的血脑屏障通透性比较差，刺桐苯乙烯、双靛蓝、异靛蓝有可能可以进入中枢神经系统^[15]。双靛蓝可以作为 2D6 的底物，除 5,7-dihydroxy-2-[(2*S*,3*R*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl]chromen-4-one、槲皮素-7-*O*-葡萄糖苷、异丙甲素 A 外都可以用作 3A4 的底物。所有结构都不是 2D6 的抑制剂，2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 等结构不是 3A4 的抑制剂。所有结构都满足清除指数要求，且无致癌风险。LD₅₀ 在 2.069～2.740 mol/kg，说明这些结构只有在高剂量时才会致死，见表 4。

2.4 动力学模拟

PyMol 分析显示,2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与残基 Gln-262、Gln-266、Arg-221、Asp-181、Asp-48 形成氢键(图 3A)。LigPlot+分析显示,2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与 Asp-48、Asp-181、Gln-266、Arg-221 形成氢键，与疏水残基 Phe-182、Gly-220、Ile-219，与亲水残基 Gly-262，及残基 Lys-120 存在

表 4 药动力学分析结果
Table 4 Results of pharmacokinetic analysis

药动力学指标	MOL ID									
	MOL000225	MOL000452	MOL002253	MOL008087	MOL004861	MOL005921	MOL009551	MOL011100	MOL011108	MOL011335
吸收 肠道吸收(human)%	71.492	89.285	96.643	80.114	75.259	71.037	84.334	96.547	64.685	92.703
分布 VDss(human)/(lgL·kg ⁻¹)	0.893	0.284	-2.183	-0.612	-0.685	1.023	-0.245	-0.527	0.226	0.142
BBB permeability(lg BB)	-1.048	-0.113	-0.921	-1.556	-1.242	-1.053	-1.340	0.695	-0.809	0.073
CNS permeability(lg PS)	-2.293	-1.191	-2.959	-3.443	-3.293	-3.046	-3.471	-1.284	-3.311	-1.881
代谢 底物	2D6	否	否	否	否	否	否	否	是	否
	3A4	是	是	是	否	是	否	是	是	否
抑制剂	1A2	否	是	是	否	是	否	否	是	否
	2C19	是	是	否	否	是	否	否	是	否
	2C9	是	是	是	是	是	否	否	否	否
	2D6	否	否	否	否	否	否	否	否	否
	3A4	否	是	否	是	是	否	是	否	否
排泄 总清除率(lg mL·min ⁻¹ ·kg ⁻¹)	-0.067	0.244	-0.323	0.374	0.293	-0.038	-0.131	0.403	0.093	0.060
毒性 Ames 毒性	否	否	否	否	否	否	否	否	否	否
LD50(mol·kg ⁻¹)	2.521	2.364	2.618	2.378	2.344	2.404	2.506	2.266	2.740	2.069



A-2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与 PTP1B 结合模式图; B-LigPlot+ 分析结果; C-对接构象和动力学模拟构象对比; D-DSV 分析结果。

A-Binding model of A-2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene and PTP1B; B-analysis results in LigPlot+; C-comparison of docking conformation and dynamical simulation conformation; D-analysis results in DSV.

图3 分子动力学模拟最后一帧中 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 构象与 PTP1B 作用分析

Fig. 3 Analysis of the interaction between 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene and PTP1B in the last frame of molecular dynamics simulation

非键作用(图3B)。2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 在动力学模拟中没有发生太大的构象变化(图3C)。DSV 分析显示, 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与 ASP-181、ASP-48、GLN-262 形成常规氢键, 与 Gly-220、Asp-48、Lys-120 形成碳氢键, 与 Asp-181 形成 Pi-Donor 氢键, 与 Tyr-46、Ile-219 存在 Pi/Alkyl 疏水作用。羟基与亲水口袋的作用及七元环、苯环与疏水区域的作用使 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 稳定结合在活性区域和 PTP1B 特征区域(图3D)。

对 Backbone 做最小二乘拟合, 分别计算 Backbone 和 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 的均方根误差(RMSD), 计算结果显示蛋白和 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 在模拟中都非常稳定, RMSD 波动范围小于 1 Å, 见图4。

分子动力学模拟轨迹氢键分析显示 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与 PTP1B 可以形成 4 个左右氢键, 键长约 3 Å, 见图5。

相比关键残基 Arg-24、Arg-254, 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与关键残基 Lys-120 发生作用的可能性更大, 最近距离约为 4 Å, 可以形成 1 个氢键, 约 50 个 PTP1B 原子位于距离 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 5 Å 范围内, 见图6。

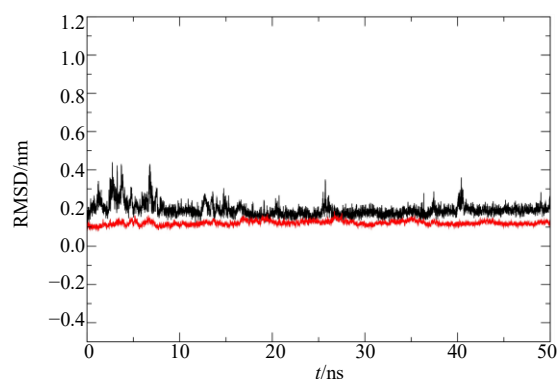


图4 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与 PTP1B 结合的复合物 RMSD 分析

Fig. 4 RMSD analysis of complex of 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene and PTP1B

2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与 PTP1B 复合物的范德华力贡献值为-29.59 kcal/mol, 电子效应贡献值为-6.80 kcal/mol, 极性作用在溶剂化自由能中的贡献值为 8.50 kcal/mol, 非极性在溶剂化自由能中的贡献值为-4.92 kcal/mol, 气态作用能 ΔG_{GAS} 为-36.39 kcal/mol, 溶剂作用能 ΔG_{SOLV} 为-36.39 kcal/mol, 总能量 ΔG_{TOTAL} 为-32.82 kcal/mol, 结合自由能 ΔG 为-24.76 kcal/mol, 见图7、表5。

3 讨论

Autodock Vina 和 LeDock 对接结合能都比较低的结构有10个, 其中2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与 PTP1B 的 Autodock Vina 对接结合能为-7.7 kcal/mol, 说明其与 PTP1B 结合比较稳定。与常用

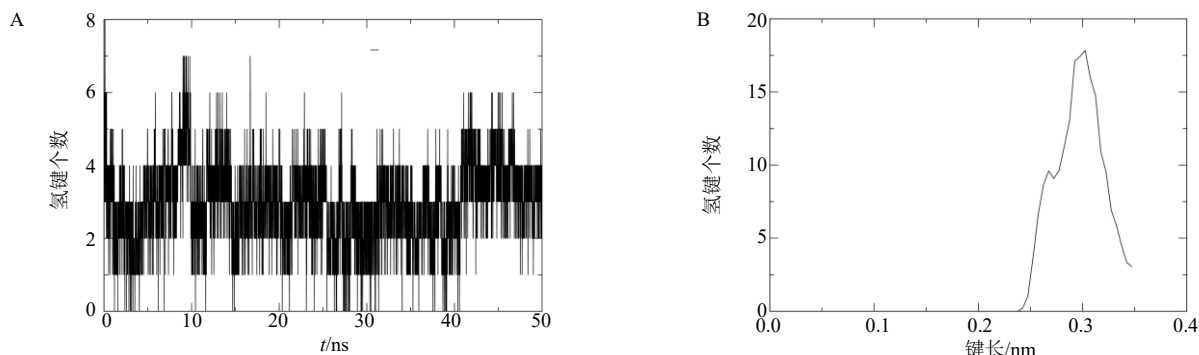


图 5 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与 PTP1B 氢键个数 (A) 及键长 (B)

Fig. 5 Statistics of the number (A) and bond length (B) of hydrogen bonds between 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene and PTP1B

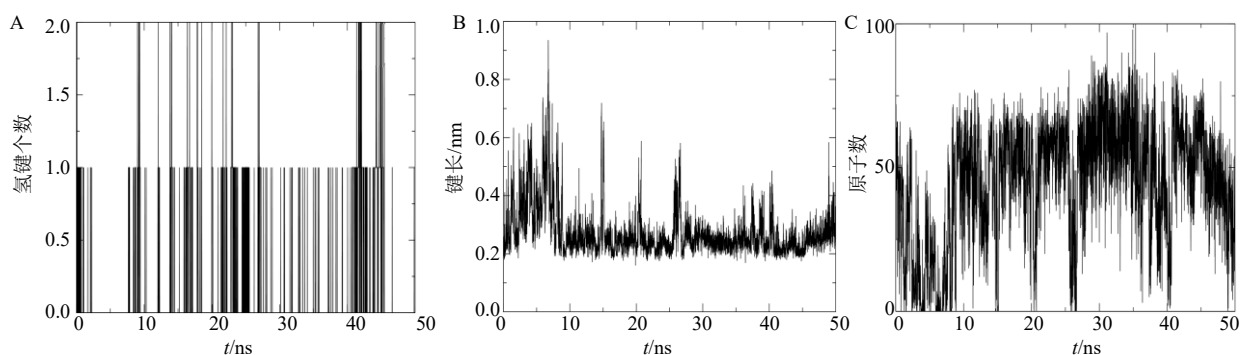


图 6 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与残基 Lys-120 氢键个数 (A)、键长 (B) 及 5 Å 范围内 PTP1B 原子数 (C)

Fig. 6 Statistics of hydrogen bonds between 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene and residue Lys-120 (A), bond length (B), and statistics of PTP1B atoms within 5 Å (C)

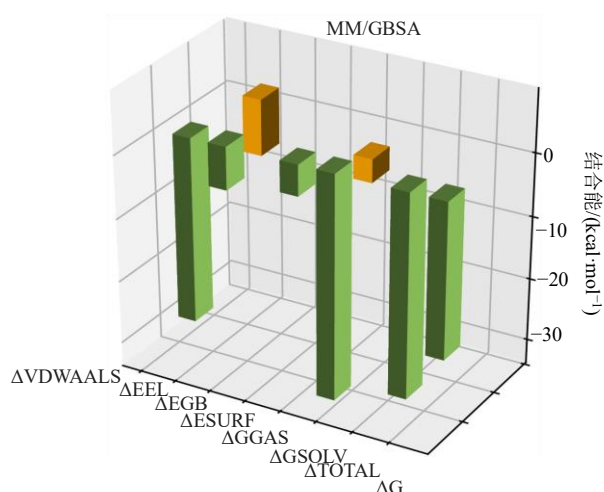


图 7 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与 PTP1B 作用力类型分析
Fig. 7 Analysis of force types between 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene and PTP1B

表 5 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与 PTP1B 作用力

Table 5 List of forces between 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene and PTP1B

作用力类型	结合能/(kcal·mol ⁻¹)
ΔVDWAALS	-29.59
ΔEEL	-6.80
ΔEGB	8.50
ΔESURF	-4.92
ΔGGAS	-36.39
ΔGSOLV	3.57
ΔTOTAL	-32.82
ΔG	-24.76

PTP1B 抑制剂靶向区域 A 的残基 Arg-221 形成 2 个氢键, 与 PTP1B 选择性设计区域 C 的残基 Asp-48 形成氢键, 与选择性区域 D 的残基 Asp-181 及关键残基 Lys-120 形成氢键, 符合跨活性区域共同作用提高 PTP1B 抑制剂选择性的设计要求。

2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 在胃肠道高吸收,TPSA 为 $101.1 \text{ \AA}^2$, 可以通过细胞膜。 $\lg P$ 值 1.67, 说明其有良好的口服吸收, 同时满足 Lipinski^[19]、Veber^[20]、Egan^[21] 等的类药原则, 合成难度较低。药物作用预测显示 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 可以用于治疗 1 型糖尿病, 或用作胰岛素激动剂。在 pkCSM 数据库预测结果中表现出较好的药动学性质, 肠吸收率 71.492%, 清除指数较低, 能有效抵达治疗部位。Ames 测试阴性, 无致癌风险。 LD_{50} 值 2.521 mol/kg , 在较高剂量时才会致死^[22]。

在分子动力学模拟 0~1 ns 的区间内, 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 有小幅的构象变化, 之后虽然有波动, 但是根据 RMSD 可以判断 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 能够以一个稳定构象稳定结合。对比受体 RMSD 轨迹, 受体在 0~1 ns 区间内也有小幅构象转变, 由此推测 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 在模拟开始的 RMSD 变化, 一定程度上可能是受体构象改变所影响。2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 的稳定构象与 A 区域残基 Arg-221 和 WPD 区域残基 Asp-181 同时形成氢键。特征区域 C 平而宽, 完全暴露在蛋白表面。2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与常见的 PTP1B 抑制剂相同, 在对接构象和动力学模拟构象中与区域 C 的残基 Asp-48 形成氢键。

气相自由能包括成键作用和非键作用, 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与 PTP1B 的结合不涉及成键作用, 非键作用中范德华力起主要作用。溶剂化自由能包括极性作用和非极性作用, 非极性作用值为 -4.92 kcal/mol , 占主导地位。2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 结合自由能为 -24.76 kcal/mol , 结合 MM/GBSA 分析数值, 说明 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与 PTP1B 的结合是一个范德华力主导的自发过程。

在 TCMSP 数据库中显示 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 与豆蔻相关, 豆蔻与糖尿病、肥胖、胰岛素依赖型糖尿病相关。2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 在 PubChem 数据库中 ID 是 162880943, 但是没有相关生物信息的记录, 在 Reaxys 数据库及常用搜索引擎中只有少量的相关信息。2001 年 Kikuzaki 等^[22]报道利用光谱法从大豆蔻中识别出 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene。

综上所述, 豆蔻中的成分 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 在计算机辅助药物设计分析中表现出良好的类药性质及药动学性质, 存在治疗糖尿病的潜在可能性。分子动力学模拟结果显示 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 可以自发的与 PTP1B 多个活性区域共同作用稳定结合, 可能是一个 PTP1B 的潜在特异性抑制剂, 可以对 2,3,7-trihydroxy-5-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzocycloheptene 做进一步的结构优化及实验验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Kanwal A, Kanwar N, Bharati S, *et al.* Exploring new drug targets for type 2 diabetes: Success, challenges and opportunities [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(2): 331.
- [2] Najmi A, Javed S A, Al Bratty M, *et al.* Modern approaches in the discovery and development of plant-based natural products and their analogues as potential therapeutic agents [J]. *Molecules*, 2022, 27(2): 349.
- [3] Thiebaut P A, Besnier M, Gomez E, *et al.* Role of protein tyrosine phosphatase 1B in cardiovascular diseases [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 101: 50-57.
- [4] Cho H. Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) and obesity [J]. *Vitam Horm*, 2013, 91: 405-424.
- [5] Liu R X, Mathieu C, Berthelet J, *et al.* Human protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B): From structure to clinical inhibitor perspectives [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13): 7027.
- [6] Jin T T, Yu H B, Huang X F. Selective binding modes and allosteric inhibitory effects of lupane triterpenes on protein tyrosine phosphatase 1B [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20766.
- [7] Chen X, Gan Q, Feng C G, *et al.* Virtual screening of novel and selective inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B over T-cell

- protein tyrosine phosphatase using a bidentate inhibition strategy [J]. *J Chem Inf Model*, 2018, 58(4): 837-847.
- [8] Li X Q, Wang L J, Shi D Y. The design strategy of selective PTP1B inhibitors over TCPTP [J]. *Bioorg Med Chem*, 2016, 24(16): 3343-3352.
- [9] Ru J L, Li P, Wang J, *et al.* TCMSp: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [10] Berman H M, Westbrook J, Feng Z, *et al.* The protein data bank [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(1): 235-242.
- [11] Laskowski R A, Swindells M B. LigPlot+: Multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery [J]. *J Chem Inf Model*, 2011, 51(10): 2778-2786.
- [12] O'Boyle N M, Banck M, James C A, *et al.* Open Babel: An open chemical toolbox [J]. *J Cheminform*, 2011, 3: 33.
- [13] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42717.
- [14] Lagunin A, Stepanchikova A, Filimonov D, *et al.* PASS: Prediction of activity spectra for biologically active substances [J]. *Bioinformatics*, 2000, 16(8): 747-748.
- [15] Pires D E V, Blundell T L, Ascher D B. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures [J]. *J Med Chem*, 2015, 58(9): 4066-4072.
- [16] Daoui O, Mazoir N, Bakhouch M, *et al.* 3D-QSAR, ADME-Tox, and molecular docking of semisynthetic triterpene derivatives as antibacterial and insecticide agents [J]. *Struct Chem*, 2022, 33(4): 1063-1084.
- [17] Valdés-Tresanco M S, Valdés-Tresanco M E, Valiente P A, *et al.* gmx_MMPBSA: A new tool to perform end-state free energy calculations with GROMACS [J]. *J Chem Theory Comput*, 2021, 17(10): 6281-6291.
- [18] Daina A, Zoete V. A boiled-egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules [J]. *ChemMedChem*, 2016, 11(11): 1117-1121.
- [19] Lipinski C A, Lombardo F, Dominy B W, *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 46(1-3): 3-26.
- [20] Veber D F, Johnson S R, Cheng H Y, *et al.* Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates [J]. *J Med Chem*, 2002, 45(12): 2615-2623.
- [21] Egan W J, Merz Jr K M, Baldwin J J. Prediction of drug absorption using multivariate statistics [J]. *J Med Chem*, 2000, 43(21): 3867-3877.
- [22] Kikuzaki H, Kawai Y, Nakatani N. 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical-scavenging active compounds from greater cardamom (*Amomum subulatum* Roxb.) [J]. *J Nutr Sci Vitaminol*, 2001, 47(2): 167-171.

[责任编辑 高源]