

分子动力学模拟法研究丹参酮 II_A 与胆固醇酯转运蛋白的相互作用模式

张洁^{1,2}, 谭初兵², 徐为人^{1,2*}, 李晓博¹, 汤立达²

1. 天津医科大学 基础医学院, 天津 300070

2. 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** 通过研究丹参酮 II_A 与胆固醇酯转运蛋白 (CETP) 的相互作用, 探索其对 CETP 的影响模式。**方法** 基于晶体结构构建丹参酮 II_A 与 CETP 多种形式的复合结构, 并以此为起始结构进行分子动力学模拟, 模拟软件为 Gromacs 4.0, 力场 Gromos 96 53a6, 温度 300 K, 模拟时间 20 ns, 记录轨迹, 分析 CETP 整体形状和局部结构变化, 考察丹参酮 II_A 与 CETP 的相互作用能量。**结果** 磷脂酰胆碱出口区和空腔都装满后 CETP 结构比较刚性, 单装空腔 CETP 结构容易变化。对应于 CETP 框架结构的形态变化, 在与不同配体复合形式下 CETP 两侧的出口区和磷脂酰胆碱出口区以及空腔差异较大, 丹参酮 II_A 与 CETP 相互作用较强的情况出现在 2 个磷脂酰胆碱出口位置和空腔左侧位置。**结论** CETP 是一个结构比较容易变化的载体蛋白, 受装载配体结构和数量的影响容易发生相应变化, 丹参酮 II_A 可能具有通过与磷脂酰胆碱或胆固醇酯共同作用影响 CETP 的形态, 从而抑制其转运的能力。

关键词: 丹参酮 II_A; 胆固醇酯转运蛋白; 相互作用; 转运; 分子动力学

中图分类号: R965.1; R977.15 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)13-1793-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.13.017

Molecular dynamics simulation of interaction mode between tanshinone II_A and cholesteryl ester transfer protein

ZHANG Jie^{1,2}, TAN Chu-bing², XU Wei-ren^{1,2}, LI Xiao-bo¹, TANG Li-da²

1. Basic Medical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design and Drug Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To investigate the interaction between tanshinone II_A (TS II_A) and cholesteryl ester transfer protein (CETP), and to explore the ways of impact on CETP. **Methods** The various structures of TS II_A and CETP were built based on the crystal structure and then performed molecular dynamics (MD). The simulation software is Gromacs 4.0 with force field of Gromos 96 53a6. The temperature is 300 K and the simulation time is 20 ns. All trajectories were recorded to analyze the changes of overall shape and local structures of CETP, and the interaction energy between TS II_A and CETP. **Results** When the phosphatidyl choline zones of CETP were full, the structure was rigid. When only the cavity was loaded, CETP was easy to change. The out area of two side, phosphatidyl choline area and cavity change greatly corresponded to the frame changes of CETP. Stronger interaction between TS II_A and CETP occurred in the two phosphatidyl choline area and the left side of cavity. **Conclusion** CETP is a carrier protein with easily changed structure which changes according to the differences in the number and structures of loading ligands. TS II_A might affect the morphology of the CETP and then inhibit its transportation ability under the help of phosphatidyl choline or cholesterol ester.

Key words: tanshinone II_A; cholesteryl ester transfer protein; interaction; transport; molecular dynamics

高血脂症是中老年的多发病之一, 也是各种心血管疾病的重要风险来源。胆固醇酯转运蛋白 (cholesteryl ester transfer protein, CETP) 是一种疏水性极强的糖蛋白分子, 主要与高密度脂蛋白 (HDL)

收稿日期: 2013-02-25

基金项目: 国家重大新药创制专项 (2011ZX09401-009, 2010ZX09401-307-1-1); 天津科技支撑项目 (10ZCKFSHO1300)

作者简介: 张洁 (1986—), 女, 硕士, 主要从事新药药理研究。E-mail: jierenjane@163.com

*通信作者 徐为人 Tel: (022)23006862 E-mail: xuwr@tjipr.com

网络出版时间: 2013-03-04 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130604.1806.009.html>

中的 HDL3 亚型结合, 在各种脂蛋白间转运胆固醇酯和甘油酸酯, 调节血浆中高密度脂蛋白-胆固醇 (HDL-C) 的水平^[1]。抑制 CETP 的活性可提高 HDL-C 水平, 有望成为治疗高脂血症的新途径^[2-3]。丹参酮 II_A (tanshinone II_A, TS II_A) 对心血管系统具有广泛的活性, 包括调血脂作用^[4]。为了深入探讨其调血脂作用机制, 本实验采用分子动力学模拟方法研究 TS II_A 与 CETP 的相互作用, 探讨其对 CETP 的影响模式, 为寻找 CETP 抑制剂提供参考。

1 方法

1.1 小分子配体的处理

胆固醇酯 (CHE) 和磷酸酰胆碱 (PPC) 采用的晶体结构和位置经过加氢处理; TS II_A 在 Schrödinger 软件中构建立体结构, 以 MM94 力场进行优化, 计算电荷, 用于对接或分子动力学计算。小分子配体

结构见图 1。

1.2 受体处理

CETP 选用蛋白质晶体库 (www.pdb.org) 中下载的晶体结构 (代号为 2OBD), 在 Schrödinger 软件中处理, 把实验中突变的残基回复过来^[5], 去除溶剂、无关的小分子, 初步优化后备用。

1.3 分子动力学计算的起始结构

CETP 的晶体结构中含有 2 个 CHE 和 2 个 PPC 分子^[6-7], 除去这 4 个分子后得到一个长形空腔和 2 个 PPC 出口区 (图 2)。为方便定位和考察结构变化, 选取空腔出口和 PPC 出口周围的 3 个原子形成 1 个三角形, 以周长计算出口大小。根据 2 个 CHE 分子所占的空腔, 选择中心、左侧、右侧周围的四个原子形成了四边形, 以对角距离计算空腔的大小变化。CETP 空腔中各代表位置及对应原子见表 1。

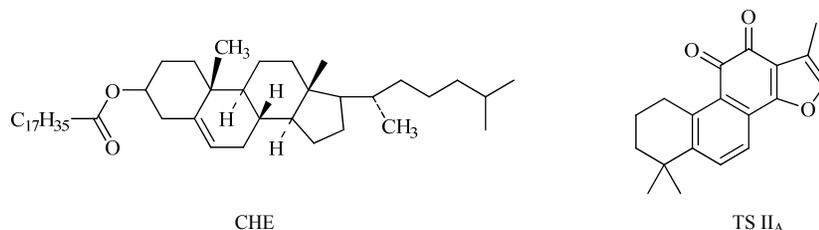


图 1 小分子配体的结构

Fig. 1 Structures of small molecule ligands

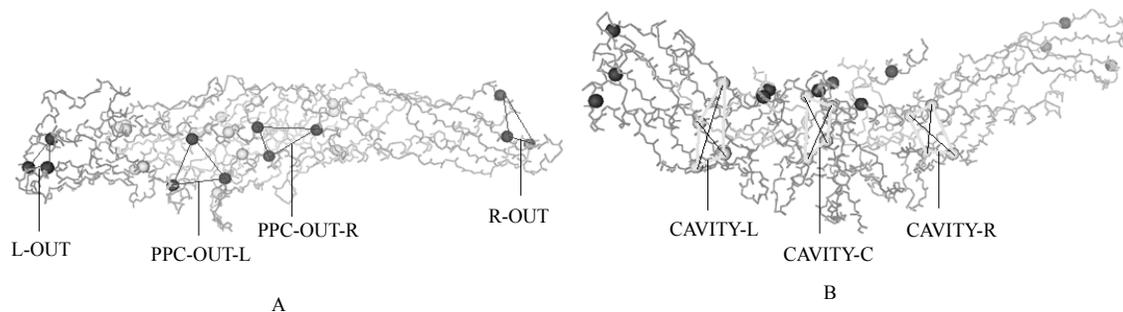


图 2 CETP 空腔俯视图 (A) 和侧面图 (B)

Fig. 2 Top view (A) and side view (B) of CETP cavity

表 1 CETP 空腔中各代表位置及对应原子

Table 1 Representative positions and their corresponding atoms in CETP cavity

位置	位置代号	包含原子序号
左侧空腔出口三角形	L-OUT	3099、3547、4025
右侧空腔出口三角形	R-OUT	467、1049、1536
左侧磷酸酰胆碱出口三角形	PPC-OUT-L	1971、4338、4677
右侧磷酸酰胆碱出口三角形	PPC-OUT-R	2043、2789、4248
空腔左侧四边形	CAVITY-L	4153、3656、3212、2824
空腔中心四边形	CAVITY-C	2008、4533、4343、57
空腔右侧四边形	CAVITY-R	1845、213、764、1205

除去 CETP 晶体结构中相应的 CHE 和 PPC 分子后, 采用 Schrödinger 软件中的 Glide 模块的默认方法进

行对接计算, 得到了 TS II_A 与 CETP 的多种结合方式, 确定了多分子结合的起始结构。结果见表 2。

表 2 多分子结合的起始结构
Table 2 Starting structures of multi-molecules

序号	起始结构代号	包含分子	TS II _A 所处位置
1	CETP-blank	—	—
2	CETP-CHE	CETP、CHE	—
3	CETP-CHE-TS	CETP、CHE、TS II _A (2 分子)	PPC-OUT-L、PPC-OUT-R
4	CETP-PPC-TS	CETP、PPC、TS II _A (3 分子)	CAVITY-L、CAVITY-C、CAVITY-R
5	CETP-TS-2M	CETP、TS II _A (2 分子)	CAVITY-L、CAVITY-R
6	CETP-TS-5M	CETP、TS II _A (5 分子)	PPC-OUT-L、PPC-OUT-R、CAVITY-L、CAVITY-C、CAVITY-R

1.4 分子动力学模拟

利用 Gromacs 4.0 程序对 CETP 及其 5 配体的复合结构进行分子动力学模拟研究。用小分子的 PDB 格式在 prodrgr (网址) 上获得原子类型、拓扑文件和 itp 文件。在 Gromos96 53a6 立场下获得受体蛋白的原子类型文件。在正则系综分子动力学 (NVT) 系统下, 用最陡下降法进行了 5 000 步的能量优化, 使用 Berensen 温度耦合法使系统温度保持在 300 K, 运行 20 ns 动力学模拟, 每 2 ps 保存一个轨迹, 晶体范德华半径 (rvdw) 的截断半径为 0.1 nm, 并进行轨迹分析。

1.5 数据处理

对应原子残基的均方根偏差 (RMSD)、均方根波动 (RMSF)、距离、回转半径等参数, 采用 Gromacs 4.0 程序包的相关程序进行计算, 对距离、回转半径等参数以每 1 个 ns 的平均距离作图。另外以 Gromos 96 力场参数的静电作用项和 Lennard-Jones 计算得到原子间的相互作用能, 根据平衡相的轨迹计算受体与配体分子之间的相互作用能^[8]。

2 结果

2.1 模拟体系的平衡

在分子动力学模拟计算过程中, 以 RMSD 值考察体系平衡情况, 6 个结构在 20 ns 模拟时间内, 都在 500 ps 后达到平衡状态, 所有原子统计的 RMSD 随时间的轨迹接近水平线, 波动范围不超过 0.2 nm, 表明体系处于平衡状态, 其轨迹能够反映平衡状态的动态相互作用。

2.2 不同复合结构下 CETP 的变化

2.2.1 总体形态的变化 图 2 显示了晶体结构中 CETP 的骨架。不同起始结构模拟 20 ns 后的终点骨

架见图 3。与图 2 晶体结构相比, 不同起始结构模拟 20 ns 后的终点骨架有不同程度的改变, 总体上可以概括为缩短和弯曲, 缩短程度由大至小排序为 CETP-CHE-TS、CETP-PPC-TS、CETP-blank、CETP-CHE、CETP-TS-2M 和 CETP-TS-5M。由图 2 可见, CETP 两头略上翘形成一个船形, CETP-CHE-TS、CETP-PPC-TS 变成了直线, CETP-blank、CETP-CHE、CETP-TS-2M 保持了船形, 弯曲更多一些, CETP-TS-5M 则完全弯曲变成了球形。

形态缩短和弯曲的变化可以用回转半径来定量表示, 6 个起始结构在模拟过程中的回转半径随时间延长而变化的过程见图 4。CETP 空载结构在 5 ns 时降低了 0.51 nm, 8 ns 时降低了 0.60 nm, 然后一直维持到 20 ns; CETP 与 CHE 的复合结构在模拟 20 ns 中回转半径缩短速度比空载略快一些, 缩短程度略大一些, 3 ns 时降低了 0.54 nm, 7 ns 时降低了 0.62 nm, 17 ns 时降低了 0.78 nm, 然后一直维持到 20 ns; CETP 与 CHE 和 TS II_A 的复合结构在模拟 20 ns 中回转半径与空载相比, 缩短速度慢和程度小, 5 ns 时降低了 0.30 nm, 18 ns 时降低了 0.39 nm, 到 20 ns 降低了 0.41 nm, 在整个模拟过程中回转半径缓慢缩短; CETP 与 PPC 和 TS II_A 的复合结构在模拟 20 ns 中回转半径与空载的相比, 缩短速度略慢和程度较小, 5 ns 时降低了 0.29 nm, 15 ns 时降低了 0.44 nm, 一直维持到 20 ns; CETP 与 2 个分子 TS 的复合结构在模拟 20 ns 中回转半径与空载相比, 缩短速度变快和程度变大, 2 ns 时降低了 0.46 nm, 9 ns 时降低了 0.90 nm, 一直维持到 20 ns; CETP 与 5 个分子 TS 的复合结构在模拟 20 ns 中回转半径与空载的相比, 缩短速度最快和程度最大, 1 ns 时缩短

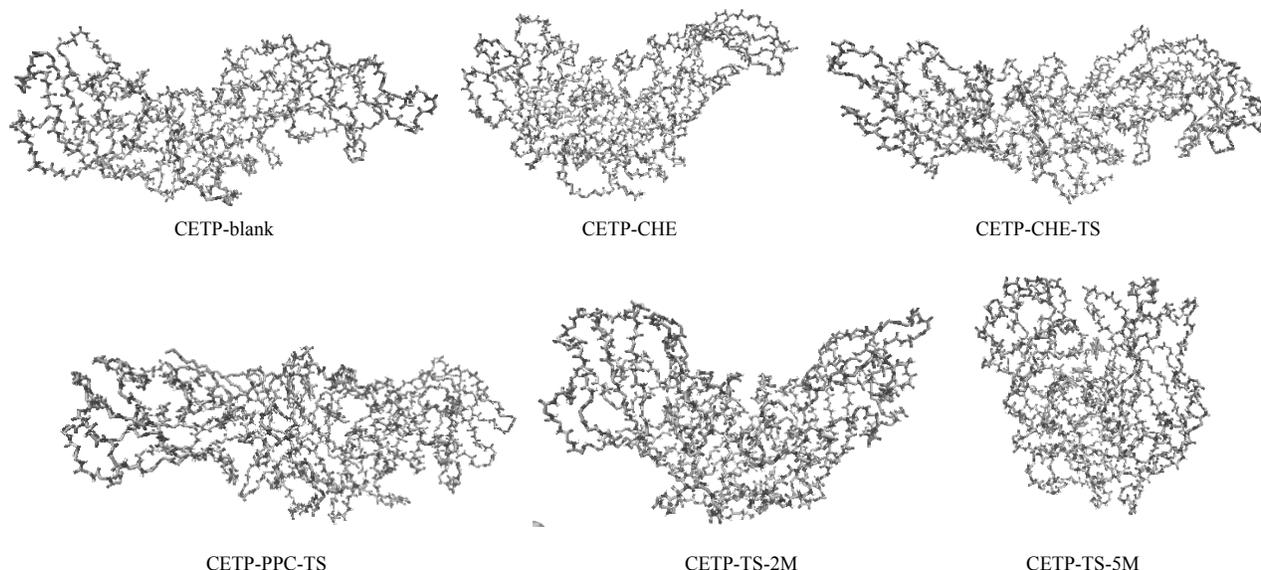


图 3 不同起始结构经过 20 ns 分子动力学模拟后的骨架形状

Fig. 3 Skeleton shapes of different starting structures after molecular dynamics simulation for 20 ns

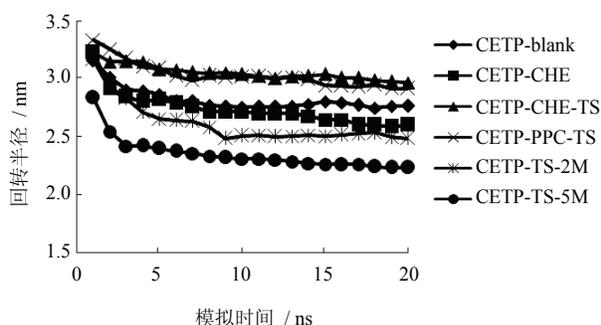


图 4 不同起始结构在模拟过程中的回转半径-时间曲线

Fig. 4 Radius-time of gyration curve of different starting structures in simulation process

了 0.54 nm, 6 ns 时降低了 1.0 nm, 然后基本稳定, 到 20 ns 时下降了 1.15 nm。

总体来看, CETP 是一个结构比较容易变化的载体蛋白, 并且受复合配体结构和数量不同的影响, 形态会发生相应变化。PPC 出口区和空腔都装满后 CETP 结构比较刚性, 单装空腔结构容易变化。从形态变化来看, TS II_A 对 CETP 的形态具有一定的调节作用。

2.2.2 CETP 局部结构的距离变化 不同起始结构模拟后得到最后结构数据 (D_{last})、平均数据 (D_{mean}) 以及最大与最小差值 ($D_{max-min}$) 见表 3。

以模拟终点结构为指标进行考察, 与晶体结构相比, PPC-OUT-L 增加 0.50 nm, PPC-OUT-R 减少 0.19 nm, L-OUT 和 R-OUT 分别增加 1.13、1.16 nm,

CAVITY-R 和 CAVITY-C 分别增加 0.28、0.47 nm, CAVITY-L 增加 0.76 nm。对于 PPC-OUT-L (PPC 左侧出口大小), 在模拟终点时增加的次序为 CETP-CHE-TS > CETP-CHE > CETP-blank > CETP-TS-2M > CETP-TS-5M, CETP-PPC-TS 为减少。对于 PPC-OUT-R (PPC 右侧出口大小), 在模拟终点时 CETP-PPC-TS、CETP-TS-5M、CETP-CHE-TS 增加超过 2 nm, CETP-CHE 和 CETP-blank 变化较小 (0.2 nm 左右), CETP-TS-2M 减少 0.86 nm。对于 L-OUT (左侧出口), CETP-blank 和 CETP-TS-5M 增加超过 1 nm, 变化较小的有 CETP-CHE、CETP-CHE-TS、CETP-TS-2M, CETP-PPC-TS 减少为 -0.85 nm。对于 R-OUT (右侧出口), CETP-blank 变化最大, 各种装载结构都不同程度地减少, 其中增加较大是 CETP-CHE-TS (0.94 nm), 减少较大的是 CETP-TS-5M (0.68 nm)。对于 CAVITY-R (空腔右侧), 影响较大的只有 CETP-TS-5M (增加 0.85 nm)。对于 CAVITY-C (空腔中心), 影响最大的是 CETP-PPC-TS (增加 2.33 nm), 有一定影响的是 CETP-TS-2M (减少 0.55 nm)。对于 CAVITY-L (空腔左侧), 除 CETP-CHE-TS、CETP-TS-2M 影响较小外, 其他复合结构的增加程度都略高于 CETP-blank (0.76 nm)。

$D_{max-min}$ 反映了模拟过程中变化范围, CETP 空载结构的 PPC-OUT-L、PPC-OUT-R、L-OUT、R-OUT、CAVITY-R、CAVITY-C、CAVITY-L 的差值分别为

表3 不同结构模拟后 CETP 局部结构的距离
Table 3 Distances of CETP local structure after being simulated by different structures

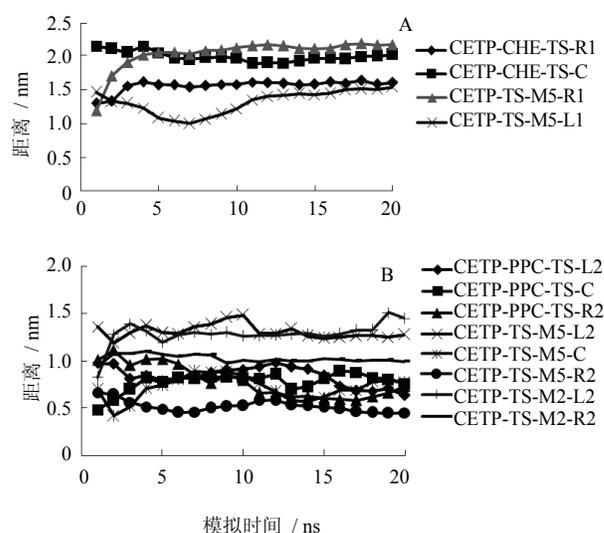
模拟结构	指标	CETP 局部结构的距离 / nm						
		PPC-OUT-L	PPC-OUT-R	L-OUT	R-OUT	CAVITY-R	CAVITY-C	CAVITY-L
CETP-blank	起始	3.52	3.71	3.59	4.40	2.65	3.29	2.83
	D_{last}	4.02	3.52	4.73	5.56	2.93	3.76	3.59
	D_{mean}	4.05	3.73	3.72	4.85	2.95	3.71	3.54
CETP-CHE	$D_{max-min}$	0.60	0.85	1.69	1.15	0.38	0.29	0.93
	D_{last}	4.40	5.72	3.49	4.84	2.96	3.41	3.72
	D_{mean}	4.07	4.90	3.45	4.82	2.93	3.40	3.69
CETP-CHE-TS	$D_{max-min}$	2.33	1.58	1.01	1.03	0.49	0.60	0.70
	D_{last}	4.69	3.93	3.66	5.34	2.62	3.14	3.20
	D_{mean}	4.12	3.92	2.77	5.33	2.64	3.24	3.07
CETP-PPC-TS	$D_{max-min}$	1.47	0.54	1.29	1.38	0.29	0.48	0.27
	D_{last}	3.40	6.34	2.75	4.74	2.78	5.62	3.82
	D_{mean}	2.79	5.74	2.96	4.59	2.64	5.00	3.74
CETP-TS-2M	$D_{max-min}$	1.40	2.33	0.90	0.73	0.38	1.38	0.83
	D_{last}	3.95	2.85	3.23	4.52	2.58	2.75	4.13
	D_{mean}	3.85	3.21	3.74	4.34	2.46	2.86	3.89
CETP-TS-5M	$D_{max-min}$	0.92	0.62	1.52	0.49	0.50	1.34	1.12
	D_{last}	3.89	6.30	4.73	3.72	3.50	3.68	3.17
	D_{mean}	3.19	6.04	4.56	4.19	3.67	3.38	3.29
	$D_{max-min}$	1.39	0.90	1.10	0.77	0.93	0.55	0.64

0.60、0.85、1.69、1.15、0.38、0.29、0.93 nm，表明模拟过程中 PPC-OUT-L、PPC-OUT-R 有一些变化，L-OUT、R-OUT 变化较大，CAVITY-R 和 CAVITY-C 变化较小，CAVITY-L 变化较大。与 CETP 空载相比，所有装载后结构均增加了 PPC-OUT-L 的变化范围，CETP-CHE 和 CETP-PPC-TS 增加 PPC-OUT-R 的变化范围，所有装载后结构都减少 L-OUT 和 R-OUT 的变化范围，CETP-TS-5M 增加 CAVITY-R 变化范围，CETP-PPC-TS 和 CETP-TS-2M 增加 CAVITY-C 变化范围较多，CETP-TS-2M 略增加 CAVITY-L 的变化范围，CETP-CHE-TS 减少 CAVITY-L 变化范围较多。

总体来看，对应于 CETP 框架结构引起的形态变化，CETP 两侧的出口区和 PPC 出口区以及空腔，受不同复合配体结构和数量的影响较大，TS II_A 具有一定的调节相关区域大小的作用。

2.3 不同复合结构下配体与 CETP 的相互作用

不同起始结构在模拟过程中 TS II_A 与空腔中心的距离变化见 5 图。由图 5 可见，CETP-CHE-TS



A-配体起始位置在 PPC 出口；B-配体中心起始位置在空腔
A-ligand starting position at PPC export position; B-starting position of ligand center at cavity

图 5 配体中心与空腔四边形中心的距离-时间曲线
Fig. 5 Distance-time curve for center of ligand and center of cavity quadrangle

的 2 个 TS II_A 起始位置在 PPC 出口区, 模拟过程中位置比较固定, 与空腔中心的距离变化较小。而 CETP-TS-5M 中 2 个在 PPC 出口区的 TS II_A 在模拟过程中位置变化较大, 左侧经历一个缩小过程再回到起始距离, 右侧分子偏移了将近 1 nm。CETP-PPC-TS 在模拟过程中, 3 个 TS II_A 分子位置比较波动, 呈现一定的周期性波动趋势。CETP-TS-5M 在模拟过程中, 左侧的 TS II_A 分子位置比较固定, 空腔中心的 TS II_A 分子位置波动较大, 也有周期性变化趋势, 右侧空腔的 TS II_A 分子位置也基本稳定,

呈小范围周期性变化。在 CETP-TS-2M 模拟过程中, 右侧空腔的 TS II_A 分子位置比较固定, 左侧空腔的 TS II_A 分子向左移动约 0.5 nm 后基本平衡在一个相对固定的位置。总体来看, 空腔中存在 3 个 TS II_A 分子位置会发生周期性变化, 如果存在 2 个 TS II_A 分子能够比较固定。

表 4 显示了以不同起始位置开始, 在模拟过程中 TS II_A 的 RMSF、与 CETP 的结合能, 以及在模拟过程中的强相互作用的残基序号。RMSF 是位置波动的参数, 与图 5 对应, TS II_A 在 CETP-CHE-TS

表 4 不同起始结构中 TS II_A 与 CETP 的相互作用

Table 4 Interaction between TS II_A and CETP in different starting structures

模拟结构	起始位置	RMSF / nm	平均结合能 / (kJ·mol ⁻¹)	0.35 nm 范围内出现的残基序号		
				起始位置	10 ns	20 ns
CETP-CHE-TS	PPC-R	0.2	-131.8	9、193、259、437、459	19、20、194、197、437、459、460、461、462、463	19、20、26、190、194、197、461、462、463、465
	PPC-L	1.8	-132.1	279、281、319、325、336、338、425	204、234、235、273、274、276、278、280、281、320、321	204、205、234、235、273、274、276、278、280、281、320、321、
CETP-PPC-TS	CAVE-L	0.3	-136.0	266、334、376、425、444、451、453	371、420、425、426、429、430、431、437、438	419、420、425、430、431、438
	CAVE-C	0.3	-90.2	202、259、261、371、455	232、420、431、432、437	197、198、203、204、205、207、209、430、431、432、437
	CAVE-R	0.2	-81.0	9、11、132、194、195、226、228、259	22、131、132、195、198、199、200、212、213、467	22、131、195、198、199、209、210、211、467
CETP-TS-2M	CAVE-L	1.0	-145.0	266、334、336、376、425、444、451、453	203、204、266、270、271、321、417、418、420、421、425	203、204、270、271、272、273、297、416、418、420、421、425
	CAVE-R	0.2	-97.9	9、194、198、228、259、261	20、22、29、196、197、436、437、455、461、467、469	26、29、196、197、436、461、467
CETP-TS-5M	PPC-L	0.2	-97.0	278、279、281、421、424、425	196、197、198、200、203、205、206、232、279、280	196、197、203、206、279、280、281、282、432
	PPC-R	0.5	-79.6	193、197、432、437、459、463	92、108、110、281、283、284、432、469、471	106、107、108、154、280、282、283、285、422、432、469、470
	CAVE-R	0.3	-93.4	9、11、194、198、226、228、259	25、197、199、200、212、228、229、230、231、232、259、435、467	7、25、198、199、200、212、228、229、230、467
	CAVE-C	0.2	-107.6	259、261、439	201、202、204、229、232、261、264、321	202、230、231、261、264、336、367
	CAVE-L	1.0	-50.1	266、279、321、338、365、425	279、281、286、287、288、317、319、413、414、416、418	197、198、202、203、286、319、413、414、416、417

模拟的 PPC-L 位置、CETP-TS-2M 模拟的 CAVE-L 位置、CETP-TS-5M 模拟的 CAVE-L 位置波动较大, RMSF 超过 1 nm; 在 CETP-TS-5M 模拟的 PPC-R 位置有一定波动, RMSF 达到 0.5 nm, 在其他位置上, 波动相对较小。

从相互作用能量的角度看, TS II_A 与 CETP 作用强的情况出现在 CETP-CHE-TS 模拟的 2 个 PPC 出口位置、CETP-PPC-TS 和 CETP-TS-2M 模拟的 CAVE-L 位置, 这几个位置的相互作用比其他位置的作用能高出 30 kJ/mol 以上, 表明存在的可能性大大增加。

3 讨论

3.1 CETP 结构变化的意义

从 CETP 的晶体结构到空载模拟过程, 以及不同配体复合模拟过程, CETP 形状出现缩短和弯曲等变化, CETP 两侧的出口区和 PPC 出口区以及空腔在不同装载配体结构和数量影响下差异较大, 表明 CETP 是一个结构比较容易变化的载体蛋白, 空腔比较大, 许多疏水性分子都能方便地通过至少是 4 个出口进入空腔, 同时由于出口多, 进入的分子也容易流出空腔, 推测 CETP 可能正是通过分子流入和流出机制以及变构机制, 与特定分子形成比较稳定的复合结构, 从而实现分子筛选和转运。

3.2 CETP 抑制剂可能的模式

CETP-TS-5M 装了 5 个 TS II_A 分子, 结合能偏高, 结构不稳定, 不作为考察重点。晶体结构一般是比较稳定的结构, 考虑到 CETP 在运送 CHE 的过程中 PPC 也是必需的分子, 可以推测替代配体 PPC 和 CHE 位置都有可能作为 CETP 抑制剂。从其他模拟的结果来看, CETP-CHE-TS、CETP-PPC-TS 在 PPC 出口和空腔都有结合配体, 相对于不完全装载配体的其他结构, 在模拟时能够保持“长型”的构型更好、变化更小, 与晶体结构更接近。因此, 模拟的结果表明如果 CETP 抑制剂结合能力足够强的话, PPC 位置 (PPC 出口) 和 CHE 位置 (空腔), 完全有可能成为抑制剂的结合部位。

3.3 TS II_A 与 CETP 的相互作用

曾有文献报道 torcetrapid 与 CETP、PPC、CHE 的复合结构, 结果显示 torcetrapid 替代了右侧 (根据图 2 位置) 的 PPC, 占据空腔中心略偏右的位置, 并改变了右侧 CHE 的部分位置^[9-11]。本研究考察了

TS II_A 与 CHE 和 PPC 共同形成 CETP 复合结构, 也考察了 TS II_A 单独与 CETP 形成宽松的 (CETP-TS-2M) 和拥挤的复合结构 (CETP-TS-5M), 结果表明 TS II_A 与 CETP 作用强的情况出现在 CETP-CHE-TS 模拟的 2 个 PPC 出口位置、CETP-PPC-TS 和 CETP-TS-2M 模拟的 CAVE-L 位置, 推测 TS II_A 具备一定的抑制 CETP 转运的能力, 但需要 PPC 或者 CHE 的存在, 模式与 torcetrapid 跟 CETP 相互作用的模式可能不同。

CETP 是当前研发新型调血脂药物的重要靶点, 本研究通过对 TS II_A 与 CETP 进行分子对接, 探讨了对接后蛋白质的构象变化, 推测 TS II_A 可能是通过与磷脂酰胆碱或胆固醇酯共同作用而影响 CETP 形态, 从而抑制 CETP 的转运能力, 起到降血脂的作用。目前, CETP 的作用机制与传统的药物作用靶点不同且尚未明确, 不能通过受体-配体结合模式进行研究, 因此本研究结果对新型 CETP 抑制剂的合理化药物结构设计和 CETP 转运机制的研究提供了新的线索, 也为中药高通量筛选提供了新的靶点筛选思路。

参考文献

- [1] Zhang L, Yan F, Zhang S, *et al.* Structural basis of transfer between lipoproteins by cholesteryl ester transfer protein [J]. *Nat Chem Biol*, 2012, 8(4): 342-349.
- [2] Chapman M J, Wilfried L G, Guerin M, *et al.* Cholesteryl ester transfer protein: at the heart of the action of lipid-modulating therapy with statins, fibrates, niacin, and cholesteryl ester transfer protein inhibitors [J]. *Eur Heart J*, 2010, 31(2): 149-164.
- [3] Barter P J, Brewer H B J R, Chapman M J, *et al.* Cholesteryl ester transfer protein: a novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(2): 160-167.
- [4] 杨征, 邱敏. 丹参酮 II_A 的心血管作用及机制研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19(4): 372-374.
- [5] Qiu X, Mistry A, Ammirati M J, *et al.* Crystal structure of cholesteryl ester transfer protein reveals a long tunnel and four bound lipid molecules [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14(2): 106-113.
- [6] Liu S, Mistry A, Reynolds J M, *et al.* Crystal structures of cholesteryl ester transfer protein in complex with inhibitors [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(44): 37321-37329.
- [7] Koivuniemi A, Vuorela T, Kovannen P T, *et al.* Lipid

- exchange mechanism of the cholesterylestertransfer protein clarified by atomistic and coarse-grained simulations [J]. *PLoS Comput Biol*, 2012, 8(1): e1002299.
- [8] Napari I, Vehkamäki H, Laasonen K. Molecular dynamic simulations of atom-cluster collision processes [J]. *J Chem Phys*, 2004, 120(1): 165-169.
- [9] Barter P J, Caulfield M, Eriksson M, *et al.* Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(21): 2109-2122.
- [10] Kastelein J J, van Leuven S I, Burgess L, *et al.* Effect of torcetrapib on carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia [J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(16): 1620-1630.
- [11] Clark R W, Ruggeri R B, Cunningham D, *et al.* Description of the torcetrapib series of cholesteryl ester transfer protein inhibitors, including mechanism of action [J]. *J Lipid Res*, 2006, 47(3): 537-552.