

刘冰,陈宁,赵丹,等.水鬼蕉生物碱类化合物抗肿瘤分子对接研究[J].黑龙江农业科学,2020(7):99-105.

水鬼蕉生物碱类化合物抗肿瘤分子对接研究

刘冰^{1,2},陈宁^{1,2},赵丹³,郑威¹,徐昶儒^{1,2},王淑静^{1,2},邹翔^{1,2},汲晨锋^{1,2}

(1. 哈尔滨商业大学 药物工程技术研究中心,黑龙江 哈尔滨 150076;2. 国家教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心,黑龙江 哈尔滨 150076;3. 哈尔滨商业大学 食品学院,黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:水鬼蕉(*Hymenocallis littoralis*)中总生物碱作为体外抗肿瘤的主要药效物质基础,对60种人体癌细胞系有较强的特异性,近年来备受关注,但实际的作用机制尚不明确,本文在前期水鬼蕉生物碱类化合物化学结构研究基础上,整理收集生物碱类小分子化合物,对已知化学信息进行归纳总结,基于eEF1A1和mTOR两种关键蛋白的晶体结构,对水鬼蕉生物碱类化合物进行计算机模拟分子对接。结果表明:石蒜碱与eEF1A1和mTOR蛋白作用模式较好,进入了关键作用的口袋中,是水鬼蕉发挥抗肿瘤作用的关键化合物。

关键词:水鬼蕉;生物碱;分子对接;抗肿瘤

水鬼蕉(*Hymenocallis littoralis*)又被称为美洲水鬼蕉或蜘蛛百合,为石蒜科水鬼蕉属植物,原产地主要为拉丁美洲等地。植物水鬼蕉在我国广泛分布于广东、海南等亚热带温带地区^[1]。水鬼蕉属于多年生鳞茎草本植物,种植成本低、容易生长,喜生于光照、温暖、潮湿肥沃的土壤,盆栽越冬温度15℃以上,野生常于秋季采挖,藏于室内,水鬼蕉无论是在药用还是观赏方面,均有极为重要的开发利用价值,具有广泛应用前景^[2]。

《中华本草》中记载,水鬼蕉性温味辛,以叶及鳞茎入药具有消肿止痛、舒筋活血的功效^[1]。现代药理学研究表明,水鬼蕉总生物碱具有抗恶性肿瘤、抗病毒、抑制神经系统、降低血压、杀死疟原虫等多种药理作用^[3-6],且对多种癌细胞都有显著的抑制作用^[6-9]。近年来研究发现,水鬼蕉碱的抗肿瘤作用机制主要是通过诱导细胞凋亡及细胞毒作用^[10]。水鬼蕉碱对人乳腺癌细胞MCF7、人胰腺癌细胞、人急性白血病细胞、人淋巴细胞性白血病细胞等细胞株均有诱导凋亡的作用^[11]。Kekre等^[12]对人淋巴瘤细胞进行研究,试验结果显示水鬼蕉碱对人淋巴瘤细胞有显著的增殖抑制效果。水鬼蕉碱可特异靶向eEF1A,抑制黑色素瘤的增

殖、促进其凋亡并降低耐药性。Chen等^[4-5]通过eEF1A/mTOR通路对AHL抗肝癌活性及对能量代谢干预的作用机制,并对血清中代谢物和主要酶进行检测,因水鬼蕉碱对eEF1A1的亲和力强,引起下游的mTOR的改变,而mTOR控制肿瘤能量代谢的开关,eEF1A1和mTOR两种蛋白密切相关,建立水鬼蕉干预肝癌细胞调控网络体系,得出AHL有可能通过eEF1A1/mTOR信号通路控制着HepG2细胞的能量代谢的相关酶,引起肿瘤细胞能量供给不足而达到抗肿瘤活性。

目前,从水鬼蕉的鳞茎中提取并分离出了18种生物碱类化合物,包括水鬼蕉碱、水仙环素、水仙花碱、水鬼蕉种碱、小星蒜碱、石蒜碱、高石蒜碱、网球花胺、石蒜宁碱、条纹碱、7-去氧-水仙环素、利拉克敏、漳州水仙花碱等^[9-10]。与常规试验筛选相比,分子对接发现药物作用靶点的过程更加简单高效且节省人力物力,对确定活性化合物的作用靶点和阐述其作用机制具有重要提示作用。本文在前期水鬼蕉生物碱类化合物化学结构研究基础上,整理收集生物碱类小分子化合物,对已知化学信息进行归纳总结,基于eEF1A1和mTOR两种关键蛋白的晶体结构,对水鬼蕉生物碱类化合物进行计算机模拟分子对接,为其抗肿瘤作用机制研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

蛋白质晶体结构数据库(RSCB PDB,网址: <http://www.rcsb.org>)、小分子化合物结构下载(PubChem,SciFinder)、中药系统药理学数据

收稿日期:2020-03-18

基金项目:黑龙江省自然科学基金(H2017001);黑龙江省博士后基金(LBH-Z16095);哈尔滨商业大学在站博士后支撑计划(2017BSH003);哈尔滨商业大学在站博士后科研支撑计划(2017BSH001)。

第一作者:刘冰(1987-),男,博士,助理研究员,从事天然药物化学研究。E-mail: tianxiaguixinaa@163.com。

通信作者:陈宁(1981-),男,博士,副研究员,从事中药化学研究。E-mail: 13936689822@126.com。

库与分析平台(TCMSP,网址:<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)、Pymol软件、Autodock Vina分子对接程序。本文所用到计算均在DELL T5820工作站上进行。

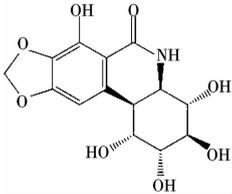
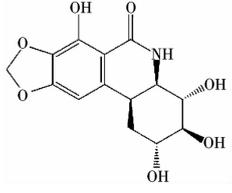
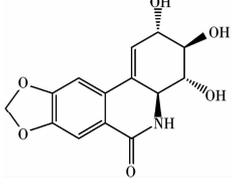
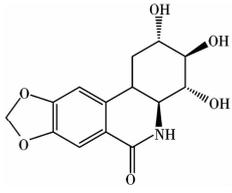
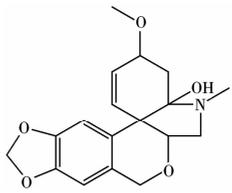
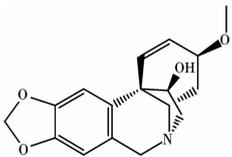
1.2 方法

1.2.1 水鬼蕉生物碱类化合物的收集整理 以“水鬼蕉”作为关键词,从TCMSP数据库中搜索生物碱类化学成分,从Pubchem、SciFinder数据

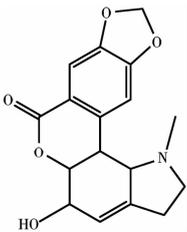
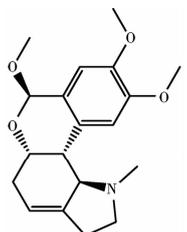
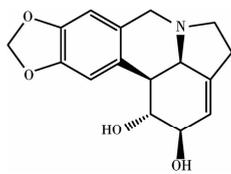
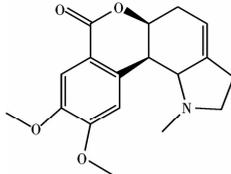
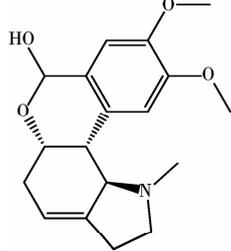
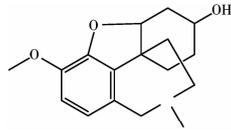
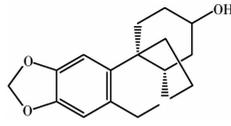
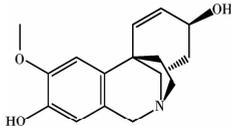
库下载相应化合物结构及文献(表1),用Chem3D转为mol2格式,建立配体小分子化合物库。所有配体小分子均采用分子程序MM2的Minimize energy模块进行结构优化,得到的稳定优势构象保存为mol2格式。使用Openbabel软件批量处理mol2格式的小分子,转换为pdbqt格式保存。

表1 水鬼蕉生物碱类化合物

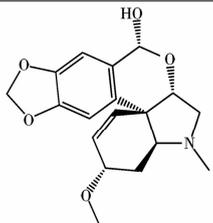
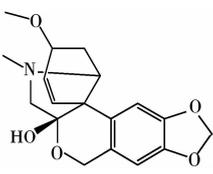
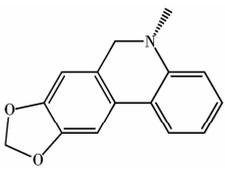
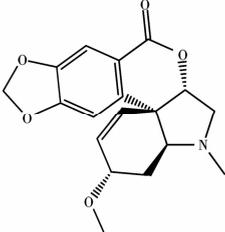
Table 1 Alkaloids in *Hymenocallis littoralis*

序号 No.	名称 Name	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	结构式 Structural formula
1	水鬼蕉碱 Pancratistatin	$C_{14}H_{15}NO_8$	325.275	
2	水仙克拉辛碱 Narciclasine	$C_{14}H_{13}NO_7$	307.26	
3	7-脱水水仙克拉辛碱 7-deoxynarciclasine	$C_{14}H_{14}NO_6$	292.268	
4	7-脱水-反式-二氢水仙克拉辛碱 7-deoxy-trans-dihydronarciclasine	$C_{14}H_{15}NO_6$	293.276	
5	水鬼蕉种碱 Littoraline	$C_{18}H_{21}NO_5$	331.368	
6	网球花胺 Haemanthamine	$C_{17}H_{19}NO_4$	301.343	

续表 1

序号 No.	名称 Name	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	结构式 Structural formula
7	小星蒜碱 Hippeastrine	$C_{17}H_{17}NO_5$	315.326	
8	6-邻甲基甘氨酸 6-O-methyllycorenine	$C_{19}H_{25}NO_4$	283.414	
9	石蒜碱 Lycorine	$C_{16}H_{17}NO_4$	287.315	
10	高石蒜碱 Homolycorine	$C_{18}H_{21}NO_4$	315.369	
11	石蒜裂碱 Lycorenine	$C_{18}H_{23}NO_4$	317.385	
12	石蒜胺碱 Lycoramine	$C_{17}H_{23}NO_3$	289.369	
13	条纹碱 Vittatine	$C_{16}H_{17}NO_3$	271.316	
14	去甲基马里替丁 Demethylmaritidine	$C_{16}H_{19}NO_3$	273.332	

续表 1

序号 No.	名称 Name	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	结构式 Structural formula
15	漳州水仙碱 Pretazettine	$C_{18}H_{21}NO_5$	331.368	
16	多花水仙碱 Tazettine	$C_{18}H_{21}NO_5$	331.368	
17	5,6-二氢双色水仙碱 5,6-dihydrobicolorine	$C_{15}H_{13}NO_2$	239.274	
18	6 α -去氧-8-氧多花水仙碱 Macronine	$C_{19}H_{23}NO_5$	345.395	

1.2.2 受体结构信息来源及处理 本文所用蛋白为 eEF1A1(1G7C)和 mTOR(1FAP),从 PDB 数据库中搜索其 PDB ID 并下载其三维结构,如图 1 所示,对蛋白用 Notepad 去除 HOH、SO₄²⁻等

小分子,采用 AutoDock 进行加氢、计算点电荷及设置原子类型,并根据受体蛋白复合物中配体及活性口袋确定对接的活性位点及对接参数,将处理后的蛋白保存。

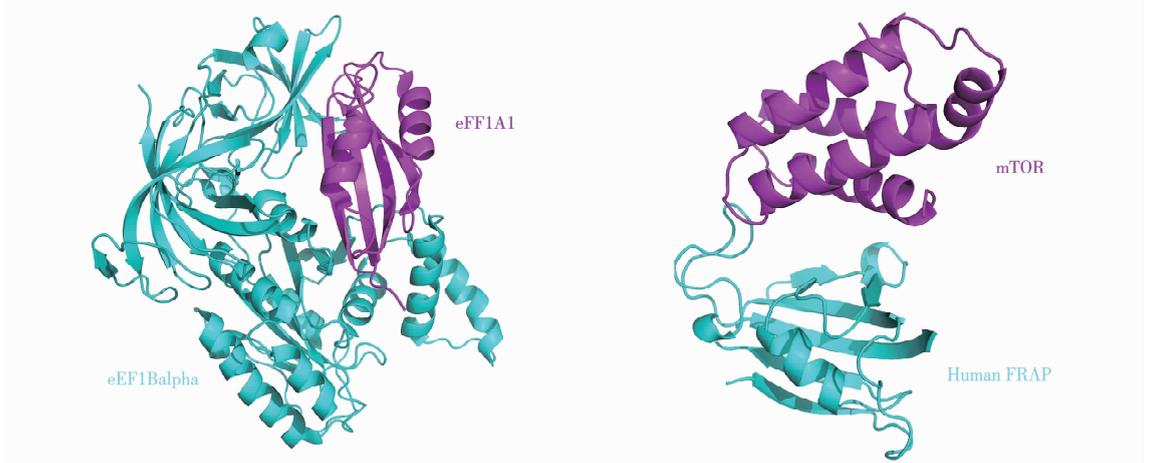


图 1 eEF1A1-eEF1Balpha(1G7C)和 mTOR-human FRAP(1FAP)晶体复合物
Fig.1 eEF1A1-eEF1Balpha (1g7c) and mTOR-human FRAP(1FAP) crystal complexes

1.2.3 分子对接 软件选择:蛋白活性中也不含 Autodock 4.2 和 AutoDock Vina 默认原子类型所缺乏的原子,无需添加原子参数,使用更快速、准确的 AutoDock Vina 进行分子对接计算。

参数文件及虚拟筛选脚本准备:使用 Auto-Grid 进行能量格点计算,根据原配体的坐标文件设置 Grid Box 中心坐标为:eEF1A1(1G7C):18.071、30.746、19.776, mTOR(1FAP):-10.634、24.240、31.772,盒子大小为 60×60×60 个网格点,每个小网格点的距离为 0.037 5 nm。使用 AutoDock 搜索网格范围内受体,采用拉马克遗传算法进行构象搜索,能量评定最大次数为 2 500 000,每个小分子配体都设定得到 10 个构象,计算 CPU 选择为 10,其他参数选择默认值,分子对接计算:运行 AutoGrid 进行格点中相关能量的计算^[13]。

AutoDock Vina 虚拟筛选批量处理脚本准备:运行 AutoDock Vina 进行针对 eEF1A1(1G7C)和 mTOR(1FAP)蛋白活性中心进行配体库的构象搜索,搜索算法沿用 Autodock 4.2 搜索算法,进行半柔性对接^[14]。

1.2.4 数据分析与作用模式图像 采用 Pymol 软件对分子对接结果进行分析(分子对接打分与作用模式分析)。

2 结果与分析

2.1 分子对接打分

水鬼蕉生物碱与 eEF1A1(1G7C)和 mTOR(1FAP)蛋白的对接打分结果如表 2 所示。对接打分 < -7 的化合物与受体结合较好,石蒜碱类化合物综合打分较好。

2.2 分子对接作用模式分析

通过 Pymol 软件分析水鬼蕉生物碱与靶蛋白相互作用模式发现,化合物石蒜碱与 eEF1A1 和 mTOR 蛋白的作用模式较好。

2.2.1 石蒜碱与 eEF1A1 相互作用 如图 2 所示,石蒜碱的 N 氢与 eEF1A1 的氨基酸残基 Asp1199 有氢键作用,石蒜碱的亚甲二氧基的氧原子与 eEF1A1 的氨基酸残基 Gln249 有氢键作用,石蒜碱的羟基与 eEF1A1 的氨基酸

残基 Asp360 有氢键作用。

表 2 水鬼蕉生物碱类化合物与 eEF1A1 和 mTOR 分子对接打分

Table 2 Molecular docking scoring of alkaloids from alkaloids with eEF1A1 and mTOR

序号 No.	名称 Name	对接打分 Scoring of molecular docking	
		mTOR	eEF1A1
1	水鬼蕉碱 Pancratistatin	-8.2	-8.4
2	水仙克拉辛碱 Narciclasine	-7.8	-7.6
3	7-脱氧水仙克拉辛碱 7-Deoxynarciclasine	-8.0	-8.4
4	7-脱氧-反式-二氢水仙克拉辛碱 7-deoxy-trans-dihydrnarciclasine	-7.9	-8.7
5	水鬼蕉种碱 Littoraline	-8.4	-7.6
6	网球花胺 Haemanthamine	-8.6	-8.3
7	小星蒜碱 Hippeastrine	-8.6	-8.5
8	6-邻甲基甘氨酸 6-O-methyllycorenine	-7.9	-7.2
9	石蒜碱 Lycorine	-8.4	-8.5
10	高石蒜碱 Homolycorine	-8.2	-7.9
11	石蒜裂碱 Lycorenine	-8.1	-7.5
12	石蒜胺碱 Lycoramine	-8.3	-7.8
13	条纹碱 Vittatine	-8.6	-7.8
14	去甲基海边全能花定碱 Demethylmaritidine	-7.4	-7.4
15	漳州水仙碱 Pretazettine	-8.5	-8.7
16	多花水仙碱 Tazettine	-8.3	-8.0
17	5,6-二氢双色水仙碱 5,6-dihydrobicolorine	-7.3	-7.5
18	6 α -去氧-8-氧多花水仙碱 Macronine	-8.7	-8.2

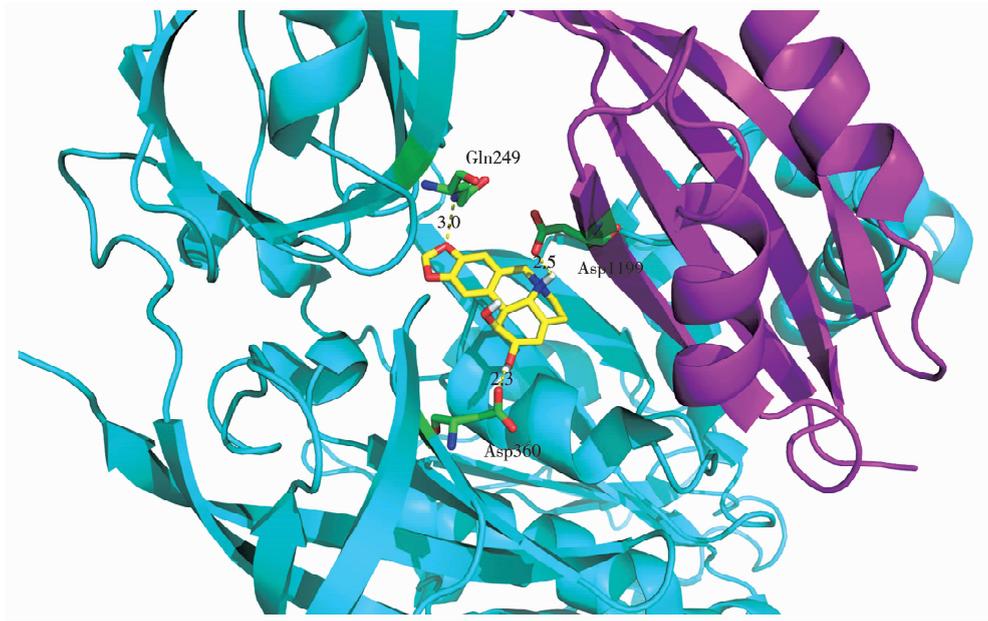


图2 石蒜碱与 eEF1A1 分子对接效果图

Fig. 2 Molecular docking effect of lycorine and eEF1A1

2.2.2 石蒜碱与 mTOR 相互作用 如图3所示,石蒜碱与 mTOR 的氨基酸残基 Phe2039 和

Tyr2105 有疏水作用,石蒜碱的羟基与 human FRAP 蛋白的氨基酸残基 Glu54 有氢键作用。

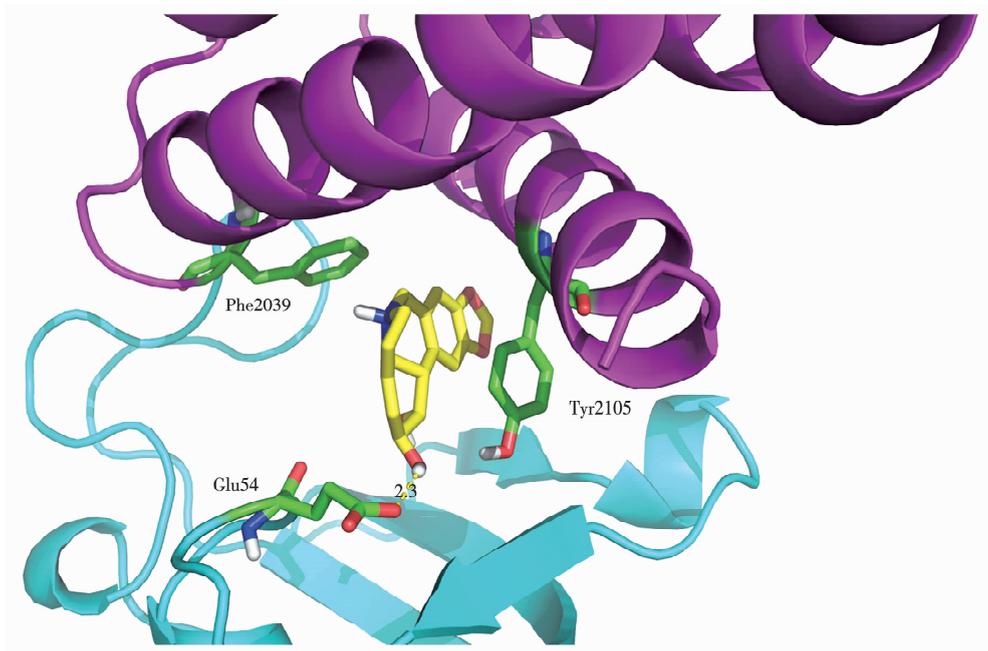


图3 石蒜碱与 mTOR 分子对接效果图

Fig. 3 Molecular docking effect of lycorine and mTOR

3 结论

综合分子对接打分值与相互作用模式分析,与其余生物碱相比较,石蒜碱进入了 eEF1A1 和

mTOR 两个蛋白产生活性的口袋中,关键基团通过氢键及疏水作用与 eEF1A1/mTOR 蛋白相互作用,控制 HepG2 细胞的能量代谢,引起肿瘤细

胞能量供给不足而达到抗肿瘤活性,是水鬼蕉发挥抗肿瘤作用的关键化合物。

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:205-206.
- [2] 沈金,何迪明. 水鬼蕉的栽培技术与应用功效[J]. 北京农业,2013(9):39.
- [3] Chen N. Chemical constituents from *Hymenocallis littoralis*[J]. Letters in Organic Chemistry,2016,10(20):309-320.
- [4] Ji Y B, Chen N, Zhu H W. Alkaloids from beach spider Lily(*Hymenocallis littoralis*) induce apoptosis of HepG-2 cells by the Fas-signaling pathway[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention,2014,15(21):3919-3925.
- [5] 果婷婷,王辉强,李玉环,等. 石蒜碱及其衍生物的药理作用研究进展[J]. 中国医药生物技术,2018,13(5):463-466.
- [6] 杨月莹,于淼,季宇彬. 石蒜属植物生物碱药理作用的研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版),2016,32(2):129-131.
- [7] 李健,于淼,高世勇,等. 石蒜科植物中生物碱的药理作用研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版),2014,30(2):168-171.
- [8] 秦昆明,李笑,徐昭,等. 石蒜碱及其衍生物的药理作用研究

概况[J]. 北京联合大学学报(自然科学版),2009,23(1):6-10.

- [9] Pettit G R, Backhaus R A, Boettner F E, et al. Antineoplastic agents, 294. variations in the formation of pancratistatin and related isocarbostryls in *Hymenocallis littoralis* [J]. Journal of Natural Products, 1995, 58(1): 37-43.
- [10] Lin L Z, Hu S F, Chai H B, et al. Lycorinealkaloids from *Hymenocallis littoralis* [J]. Phytochemistry, 1995, 40(4): 1295-1298.
- [11] Wang M P, Li L F, Wang Q Y, et al. Anti-dengue-virus activity and structure-activity relationship studies of lycorine derivatives [J]. ChemMedChem, 2014, 9(7): 1522-1533.
- [12] Kekre N, Criffin C, McNulty J, et al. Pancratistatin causes early activation of caspase-3 and the flipping of phosphatidyl serine followed by rapid apoptosis specifically in human lymphoma cells [J]. Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 2005, 56(1): 29-38.
- [13] 李佩祯. 计算机辅助酶抑制剂的分子设计与分子模拟研究[D]. 兰州:兰州大学,2014.
- [14] 王雪洁. 菊苣治疗尿酸血症多靶点作用机制的分子对接研究[D]. 北京:北京中医药大学,2016.

Study on Anti-tumor Molecular Docking of Alkaloids of *Hymenocallis littoralis*

LIU Bing^{1,2}, CHEN Ning^{1,2}, ZHAO Dan³, ZHENG Wei¹, XU Chang-ru^{1,2}, WANG Shu-jing^{1,2}, ZOU Xiang^{1,2}, JI Chen-feng^{1,2}

(1. Pharmaceutical Engineering Technology Research Center, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China; 2. National Center for Anti Cancer Natural Medicine Engineering, Harbin 150076, China; 3. School of Food, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: As the main pharmacodynamic substance base of anti-tumor *in vitro*, total alkaloids of *Hymenocallis littoralis* show strong specificity to sixty human cancer cell lines and have attracted much attention in recent years. However, the actual mechanism of action is still unclear. In this paper, based on the previous studies on the chemical structure of alkaloids, small molecular compounds of alkaloids were sorted out and collected, and the known chemical information was summarized. Based on the crystal structure of two key proteins, eEF1A1 and mTOR, the computer simulated molecular docking of the alkaloid compounds of *Hymenocallis littoralis* was carried out, and it was found that lyalline had a good action pattern with eEF1A1 and mTOR proteins, entered into the pocket of the key role. It is a key compound that plays an anti-tumor role.

Keywords: *Hymenocallis littoralis*; alkaloid; molecular docking; antitumor