

# 艾叶中法尼基转移酶抑制剂的分子对接研究

单舒筠\* 王园园 石丽莉

江苏省徐州医药高等职业学校 江苏徐州 221116

**摘要:** 本文选择法尼基转移酶 (FTase) 作为靶标, 利用 Autodock 系列软件, 将 Artemisian A 和 Artemisian B 两个倍半萜内酯二聚体与 FTase 蛋白进行了分子对接。结果: Artemisian A 与 Artemisian B 与 FTase 的结合能分别为-9.5 和-9.2 kcal/mol。两个化合物能够以氢键和疏水作用与两种蛋白相结合。结论: Artemisian A 与 Artemisian B 能够在一定程度上抑制 FTase 的活性, 是这个靶标蛋白的活性抑制剂。

**关键词:** 分子对接; 艾叶; 法尼基转移酶, 香叶基香叶基转移酶

## Molecular docking study of farnesyltransferase inhibitors in *Artemisia argyi*

Shujun Shan , Yuanyuan Wang , Lili Shi

Xuzhou Pharmaceutical Vocational College Jiangsu Xuzhou 221116

**Abstract:** In this paper, farnesyltransferase (FTase ) was selected as the target, and two sesquiterpene lactone dimers Artemisian A and Artemisian B were docked with FTase protein by Autodock series software. Results : The binding energies of Artemisian A and Artemisian B with FTase were -9.5 and -9.2 kcal/mol, respectively. The two compounds can bind to the two proteins by hydrogen bonding and hydrophobic interaction. Conclusion : Artemisian A and Artemisian B can inhibit the activity of FTase to a certain extent and are inhibitors of this target protein.

**Keywords:** Molecular docking; *Artemisia argyi*; farnesyltransferase

Ras 是大鼠肉瘤(rat sarcoma, Ras)的英文缩写。Ras 蛋白是原癌基因 c-ras 的表达产物, 主要包括 K-Ras、N-Ras 和 H-Ras 三个蛋白亚型<sup>[1]</sup>。Ras 蛋白是一种分布在细胞膜内的小分子蛋白质, 被称为细胞信号网络的“分子开关”, 在细胞生长、增殖、发育、分化和癌细胞产生中起重要作用。然而, 若 RAS 蛋白始终处于激活状态, 则会对细胞的生长增殖产生持续的刺激作用, 使细胞处于持续增殖甚至癌变的状态。研究发现, 人类 20-30% 的癌症是由 Ras 基因的获得性功能型突变引起的<sup>[2]</sup>。

Ras 蛋白其生物学功能的实现依赖于其功能的脂质化, 也是使其定位到细胞膜上, 这个过程需要三种酶的修饰, 主要包括: 法尼基转移酶 (Ftase)、香叶基香叶基转移酶 I (GGTase-I) 和香叶基香叶基转移酶 II (GGTase-II)。Ftase 是能够催化 Ras 脂质化的第一步, 是翻译修饰过程中关键性催化酶<sup>[3]</sup>, 是致癌 Ras 生物活性的最重要的修饰过程。目前国内外大量研究集中于寻找 Ftase 抑制剂 (FTI), 并开发了临床药物, 但这些抑制剂的临床副作用较大。

近年来, 研究者许多结构新颖的 Ftase 抑制剂, 这些抑制剂是从天然产物中发现的<sup>[4]</sup>。这些天然产物小分子抑制剂作为一类副作用低、安全、有效的新型 Ftase 抑制剂值得进一步研究, 研究表明, 艾叶中的倍半萜内酯具有较好的 Ftase 抑制作用。Lee 等从艾叶中分离得到一些倍半萜内酯类化合物, 并证

实这类化合物具有 Ftase 的抑制作用<sup>[5]</sup>。艾叶为菊科植物 *Artemisia argyi* Levl.et Vant. 的干燥叶, 是中医临床常用药之一。早在《诗经》时代, 艾叶就已经是很重要的民生植物和传统中药材。艾叶在临床被广泛应用于肿瘤、妇科疾病、呼吸系统、风湿痹痛等疾病并取得了较好的疗效。艾叶中主要含有挥发油、黄酮、多糖、萜类等多种化学成分。研究表明艾叶中的倍半萜内酯二聚体类成分对 Ftase 具有抑制作用, 但是具体的活性成分的结构和作用机理仍不清楚, 值得进一步探索和研究<sup>[6]</sup>。因此, 本研究利用分子对接技术, 对本课题组前期实验分离和筛选出来的倍半萜内酯二聚体类新骨架化合物 Artemisian A 与 Artemisian B 进行分子对接研究<sup>[7]</sup>, 以期发现新的 Ftase 小分子抑制剂, 并为后续的艾叶中倍半萜内酯二聚体的相关研究提供科学依据。

### 一、材料与软件

1.1 平台与软件 本研究主要采用 Autodock tools 1.5.6<sup>[8]</sup>、Autodock Vina<sup>[9]</sup>软件完成。

### 二、方法与结果

#### 2.1 分子对接

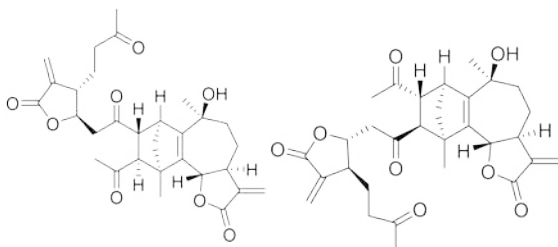
##### 2.1.1 受体蛋白晶体的处理

从蛋白晶体结构数据库 (<http://www.rcsb.org>) 搜索并下载

法尼基转移酶晶体结构 (PDBID: 3E33)。利用 Autodock tools 对法尼基转移酶晶体结构进行进一步处理, 删除原有配体, 去掉水分子和无机离子, 添加氢原子, 给原子电荷, 最后将晶体结构保存为 pdbqt 格式。

### 2.1.2 配体化合物的构建

通过课题组前期实验<sup>[7]</sup>, 已经从艾叶中分离得到 2 个愈创木内酯单元和开环倍半萜杂聚形成的倍半萜二聚体。通过分子绘图 Chemdraw 软件绘制其二维结构, 结构见图 1。接着利用 Chem3D 转换成三维结构并进行结构优化。然后利用 Autodock tools 1.5.6 对化合物结构进行进一步处理, 以 PDBQT 的格式进行保存, 供下一步分子对接使用。



Artemisian A

Artemisian B

图 1: 从艾叶中分离出的倍半萜内酯二聚体类化合物 Artemisian A 和 Artemisian B

### 2.1.3 分子对接参数设置

根据原晶体结构中配体的位置确定两个靶标的网格盒子的中心, 为 (-67.05Å, -28.52Å, 2.44Å), 大小为 (40×40×40Å)。由于蛋白质法尼基转移酶的对接是利用 Autodock Vina 软件完成。在对接过程中, 只改变配体构象, 酶蛋白的构象保持不变。除特别声明外, 其余所有参数均采用默认值。选择结合能 ΔG 最低的构象作为最终对接结果。并依据公式  $K_i = \exp[\Delta G \times 1000 / (R \times T)]$ , 得到化合物的抑制常数  $K_i$ , 其中 ΔG 的单位为 kcal/mol, T=298K, R=1.98719cal/(mol·K)。

### 2.1.4 Artemisian A 和 B 与 Ftase 的分子对接

从表 1 中可以看出 Artemisian A 与 Artemisian B 与 Ftase 的平均结合能分别为 -9.5 和 -9.2 kcal·mol<sup>-1</sup>, 相对应的抑制常数也都小于 1μM, 说明两个化合物对 Ftase 都有较明显的抑制作用。如图 2 和图 3 所示。

表 1 Artemisian A 和 B 与两个蛋白酶的结合能及抑制常数

化合物	Ftase	
	结合能 (kcal/mol)	抑制常数 (μM)
Artemisian A	-9.5	0.154

Artemisian-B	-9.2	0.140
Lonafarib	-7.9	0.230

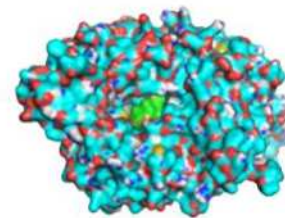
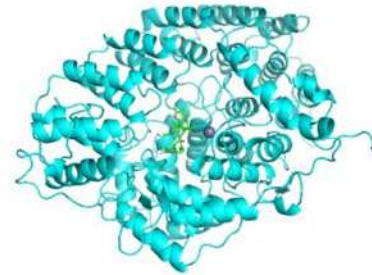


图 2: Artemisian A 与 Ftase 的分子对接结果

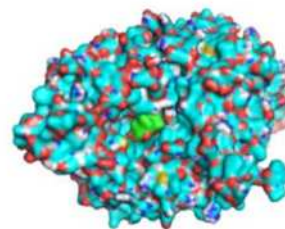
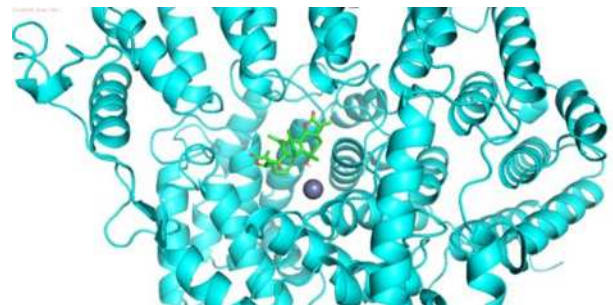


图 3: Artemisian B 与 Ftase 的分子对接结果

对以上 2 个化合物与 Ftase 的分子对接结合模式进行分析发现, Artemisian A 和 B 的分子形状刚好与 Ftase 的活性形成很好的契合。Artemisian A 的羰基作为氢键受体与 Ftase 上的 ASN-158 和 ALA-159 形成强的氢键相互作用, 如图 3 所示。Artemisian B 的羰基作为氢键受体也与 Ftase 上与 ALA-156 和 TRP-102 形成强的氢键相互作用, 如图 4 和图 5 所示。

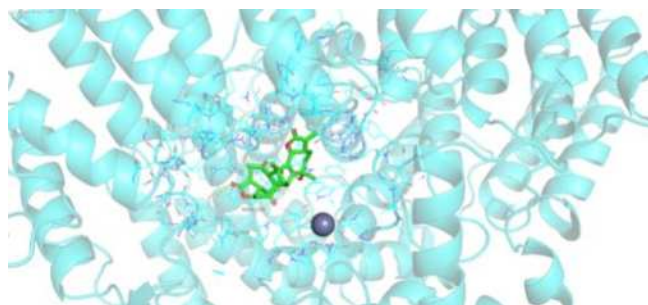


图 4: Artemisian A 与 Ftase 的分子对接分析

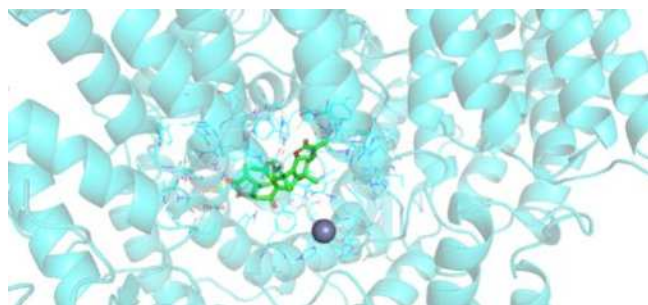


图 5: Artemisian B 与 Ftase 的分子对接分析

### 三、讨论与结论

Ras 蛋白是一种鸟嘌呤结合蛋白，它在细胞生存、信号转导，细胞增殖和恶性转化方面起着重要作用。一旦 Ras 基因发生突变，Ras 蛋白就会始终为结合的 GTP 形式，就会有连续的生长信号导致细胞的恶性增殖，造成生物组织的癌变，Ras 基因突变常见于哺乳动物和人类的许多癌症中。

Ras 蛋白在转导信号时，需要被完全激活并锚定位于细胞膜内侧，这样才能完成修饰的功能。这一过程的关键步骤是在 Ftase 的催化作用下完成的，也就是 Ras 蛋白羧基端的 CAAX 的法尼基化。因此，阻止 Ftase 的活性，也就是 Ftase 抑制剂可以抑制 Ras 蛋白的信号传导，抑制 Ras 蛋白增殖，起到抗肿瘤的作用<sup>[11]</sup>。

艾叶作为传统天然药物，其在临床上具有广泛的应用，也被用于各种肿瘤疾病的治疗。有文献报道<sup>[12]</sup>艾叶的提取物对人的肿瘤细胞具有明显的抑制作用。根据文献研究发现，艾叶中的倍半萜内酯类成分为抑制 Ftase 的活性部位<sup>[5]</sup>。

因此，本研究利用前期课题组已经分离得到的倍半萜内酯类二聚体进行了初步的分子对接研究，选取艾叶中的倍半萜内酯二聚体类成分 Artemisian A 和 Artemisian B 对 Ftase 晶体结构 (PDBID: 3E33) 这个靶蛋白进行分子对接分析，结果表明两个化合物分别对其都具有一定的抑制作用。

基于以上研究，艾叶中倍半萜内酯类二聚体类化合物应该是具有 Ftase 抑制活性的有效部位，本研究揭示了艾叶中倍半

萜内酯二聚体类化合物抗肿瘤的部分分子机制，为进一步开发艾叶中倍半萜内酯二聚体作为抗肿瘤新药提供科学依据和理论基础。

### 参考文献:

- [1] A.D. Cox, S.W. Fesik, A.C. Kimmelman, J. Luo, C.J. Der, Drugging the undruggable RAS: Mission possible?, Nature reviews. Drug discovery, 13 (2014) 828-851.
- [2] C.C. Palsuledesai, M.D. Distefano, Protein prenylation: enzymes, therapeutics, and biotechnology applications, Acs Chem Biol, 10 (2015) 51-62.
- [3] A.D. Cox, C.J. Der, M.R. Philips, Targeting RAS Membrane Association: Back to the Future for Anti-RAS Drug Discovery? Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research, 21 (2015) 1819-1827.
- [4] Dai, Xiaohan, et al. "An overview on natural farnesyltransferase inhibitors for efficient cancer therapy." Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry 35.1 (2020): 1027-1044.
- [5] Lee S H, Lee M Y, Kang H M, et al. Anti-tumor activity of the farnesyl-protein transferase inhibitors arteminolides, isolated from Artemisia[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2003, 11(21):4545-4549.
- [6] 兰晓燕, 张元, 朱龙波, 等. 艾叶化学成分, 药理作用及质量研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(17):14.
- [7] Artemisians A–D, Diseco-guaianolide Involved Heterodimeric [4 + 2] Adducts from Artemisia argyi[J]. Organic Letters, 2017, 19(19):5410-5413.
- [8] Sanner, Michel F. "Python: a programming language for software integration and development." J Mol Graph Model 17.1 (1999): 57-61.
- [9] Eberhardt, Jerome, et al. "AutoDock Vina 1.2. 0: New docking methods, expanded force field, and python bindings." Journal of Chemical Information and Modeling 61.8 (2021): 3891-3898.
- [10] C.A. Rowell, J.J. Kowalczyk, M.D. Lewis, A.M. Garcia, Direct demonstration of geranylgeranylation and farnesylation of Ki-Ras in vivo, The Journal of biological chemistry, 272 (1997) 14093-14097.
- [11] D.B. Whyte, P. Kirschmeier, T.N. Hockenberry, K- and N-Ras are geranylgeranylated in cells treated with farnesyl protein transferase inhibitors, The Journal of biological chemistry, 272 (1997) 14459-14464.
- [12] 刘延庆, 戴小军, 高鹏, 等. 艾叶提取物抗肿瘤活性的体外实验研究[J]. 中药材, 2006, 29(11):3.

基金支持：江苏省卫生健康职业技术教育研究课题

课题编号：WJ202012 课题名称：基于无细胞微环境下天然产物小分子成分与 Ras 蛋白相互作用的筛选研究