

基于结构的 CXCR4 抑制剂的虚拟筛选

谷万港¹⁾, 陈雪琴¹⁾, 张丽²⁾, 张旋³⁾

(1) 遵义医学院基础医学院免疫学教研室, 贵州遵义 563000; 2) 昆明医科大学学报编辑部; 3) 药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南昆明 650500)

[虚拟] 目的 发现新的 CXCR4 抑制剂, 进一步对筛选出的抑制剂与 CXCR4 的分子结合模型进行分析. **方法** 以 CXCR4 为靶点, 应用基于 AutoDock Vina 的新的虚拟筛选工具 PyRx 对 ZINC 数据库中的化合物进行虚拟筛选. CXCR4 晶体结构 (PDB ID: 3ODU) 从 PDB 下载, 通过 AutoDockTools 对结构进行处理. 化合物的三维结构从 ZINC 数据库下载, 通过虚拟筛选工具 PyRx 导入, 转换成 pdbqt 格式. PyRx 运行 AutoDock Vina 以后, 筛选以后的化合物构象导入 AutoDockTools 进行分析, 数据处理用 PyMOL 完成. **结果** 经过高通量虚拟筛选, 从 ZINC 数据库中大约 2 万个化合物中得到 1 000 个类药小分子化合物数据库, 再从中进一步筛选靶向 CXCR4 的抑制剂. 经过对建立的化合物数据库的 3 轮筛选, 发现了 5 个高活性的 CXCR4 抑制剂. **结论** 应用基于 AutoDock Vina 的新的虚拟筛选工具 PyRx, 以 CXCR4 为靶点, 对 ZINC 数据库的 2 万个化合物进行虚拟筛选, 发现 5 个新的 CXCR4 抑制剂.

[关键词] CXCR4; 抑制剂; 虚拟筛选; PyRx

[中图分类号] Q789 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 09-0044-04

Discovery of CXCR4 Inhibitors Through Structure Based Virtual Screening

GU Wan-gang¹⁾, CHEN Xue-qin¹⁾, ZHANG Li²⁾, ZHANG Xuan³⁾

(1) Dept. of Immunology, Zunyi Medical College, Zunyi Guizhou 563000; 2) Editorial Department of Journal of Kunming Medical University; 3) School of Pharmaceutical Science & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] Objective The aim of this study was to discover new CXCR4 inhibitors and build 3D interaction model between these inhibitors and CXCR4, through virtual screening the 20000 compounds in ZINC database by using new virtual screening tools of PyRx to run AutoDock Vina. **Methods** The study focused on the target of CXCR4, through virtual screening program of AutoDock Vina to virtual screen the compounds in ZINC database. New virtual screening tools of PyRx was used to run AutoDock Vina. The CXCR4 crystal structure (PDB ID: 3ODU) was downloaded from PDB and modified with AutoDock Tools. Compounds' structures were downloaded from ZINC database and imported with PyRx, then processed into format of pdbqt. The post-screening compounds were imported into AutoDockTools, and the data were outputted with PyMOL. **Results** There were 1 000 small molecular compounds for high-throughput screening from about 20000 compounds in the library. After screening for three times, we found five highly active CXCR4 inhibitors from the 1000 small molecular compounds. **Conclusion** By using the tools of PyRx to run AutoDock Vina, we found five new compounds of CXCR4 inhibitors from ZINC database.

[Key words] CXCR4; Inhibitors; Virtual screening; PyRx

[基金项目] 贵州省科技厅联合基金资助项目 (黔科合 J 字 LKZ[2013]21 号); 遵义医学院博士启动基金资助项目 (谷万港博士主持); 遵义医学院大学生创新实验计划项目 (院发[2013]6502)

[作者简介] 谷万港 (1979~), 男, 山东淄博市人, 理学博士, 副教授, 主要从事病毒免疫学研究工作.

[通讯作者] 张旋. E-mail: snoopykm@126.com

趋化因子受体 CXCR4 是 G 蛋白偶联受体 (GPCR) 家族的一员, 具有 7 次跨膜结构域, 在人体大多数组织和器官均有表达^[1]. 基质细胞衍生因子 -1 (SDF-1, 又称 CXCL12) 是目前发现的 CXCR4 唯一的天然配体. SDF-1 跟 CXCR4 的结合可以激活下游的多条信号通路, 从而发挥生物学作用. SDF-1/CXCR4 不仅可以调控许多重要的生理过程, 如骨髓造血、血管生成、胚胎发育, 免疫细胞、干细胞迁移, 细胞的增殖凋亡等, 而且还参与与许多疾病的发病过程, 如肿瘤转移、HIV 感染和炎症性疾病等^[2]. 随着研究的不断深入, 通过干扰 SDF-1/CXCR4 生物轴而抑制肿瘤的生长及器官特异性转移将可能用于临床, SDF-1/CXCR4 生物轴阻断剂有望为多种恶性肿瘤的治疗提供新的靶点和方法^[3-5]. 由于 CXCR4 在 HIV 感染中扮演了重要的角色, T-tropic HIV 进入宿主细胞需要有辅助受体 CXCR4 的协助才能完成. 因此, 辅助受体 CXCR4 一直是抗 AIDS 药物研发的重要靶点. CXCR4 抑制剂最初是设计用于治疗 HIV 感染^[6].

虚拟筛选技术已经越来越多的被运用到药物研发中. 本研究针对 CXCR4 晶体结构 (PDB ID: 3ODU), 以 CXCR4 为靶点进行抑制剂的虚拟筛选研究. 2012 年, 国外科研人员初步探讨了虚拟筛选技术在 CXCR4 抑制剂研发中的应用. 本研究以 CXCR4 为靶点, 应用基于 AutoDock Vina 的新的虚拟筛选工具 PyRx, 对 ZINC 数据库的 2 万个化合物进行虚拟筛选, 发现了 5 个新的 CXCR4 抑制剂, 进一步对筛选出的抑制剂与 CXCR4 的分子结合模型进行了分析. 这是完整的 CXCR4 晶体结构在 2010 年底被揭示以来, 国内利用该晶体结构进行 CXCR4 抑制剂虚拟筛选的首次报道.

1 材料与方法

1.1 虚拟筛选关键词与材料

本研究采用 AutoDockTools 1.5.4, Autodock Vina, PyMOL, PyRx 来自 The Scripps Institute. 蛋白质晶体结构来自 PDB (Protein Data Bank), 化合物结构来自 ZINC 数据库.

1.2 实验方法

1.2.1 CXCR4 中图分体结构的类取与格式转号

CXCR4 的三维晶体结构 (PDB ID:3ODU) 从蛋白数据库 (PDB) 下载. 用 AutoDockTools 对 CXCR4 的三维晶体结构进行处理, 去掉多余的分子, 根据 Autodock Vina 运行条件对其分子进行优化, 并将其格式转换为 Pdbqt 格式.

1.2.2 化合物结构处理 所有化合物的三维结构从 ZINC 数据库进行下载, 用 PyRx 对化合物结构进行处理并转换成 pdbqt 格式, 从而建立 1 个经过处理的化合物数据库.

1.2.3 建立筛选方法和虚拟筛选 根据文献报道, 运行 AutoGrid, 将 CXCR4 的活性位点中心设置为 -14.685, 4.189, -7.387 (x, y, z), 其它条件设置为默认. 选择拉马克遗传算法 (Lamarckian genetic algorithm, LGA), 采用 PyRx 运行 Autodock Vina 完成虚拟筛选.

2 结果

2.1 CXCR4 分体结构

CXCR4 的三维晶体结构 (PDB ID: 3ODU) 从蛋白数据库 (PDB) 下载. 用 AutoDockTools 对 CXCR4 的三维晶体结构进行处理, 通过删除水分子、加电荷、加氢原子等处理, 将 CXCR4 进行结构最小化处理, 然后转换为 Pdbqt 格式, 经 AutoDock 处理后的 CXCR4 的晶体结构见图 1.

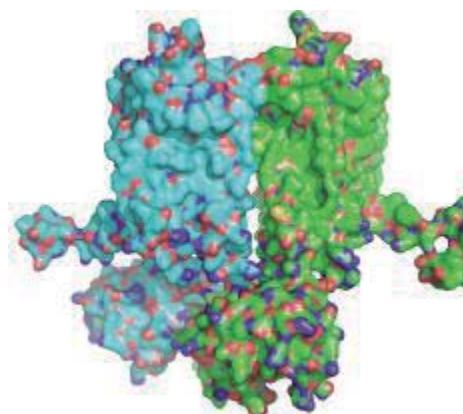


图 1 CXCR4 分体结构 (PDB ID: 3ODUs)

Fig. 1 The crystal structure of CXCR4 (PDB ID: 3ODUs)

2.2 药物结合位点

之前的研究已经发现小分子化合物 AMD3100 是趋化因子受体 CXCR4 的特异性抑制剂, 并且能够明显抑制 HIV 进入宿主细胞. 因此, 选择 AMD3100 与 CXCR4 的结合位点作为筛选中心进行虚拟筛选, 可以扩大筛选范围, 避免漏掉有活性的化合物, 筛选中心设定之后, 经 Gridbox 设置为 $40 \times 40 \times 40$. Gridbox 的设置如图 2.

2.3 虚拟筛选结果

经过首轮高通量筛选, 从 ZINC 数据库大约 2 万个化合物中得到了 1 000 个类药小分子化合物数

数据库. 再进一步从这 1 000 个小分子化合物中筛选靶向 CXCR4 的抑制剂. 通过对建立的化合物数据库进行 3 轮筛选, 笔者发现了活性最高的 5 个化合物, 并将这 5 个化合物作进一步分析, 化合物结构见图 3.

2.4 抑制剂与 CXCR4 的相识作用模型

用 PyMol 对得到的 5 个小分子抑制剂与 CXCR4 的结合模式进行 3D 建模, 结果如图 4. 对这 5 个结合力比较高的小分子抑制剂的结构分析, 并且跟蛋白一起进行建模, 分析结果, 得到化合物跟 CXCR4 之间的结合情况, 发现这 5 个小分子化合物于 CXCR4 结合主要是氢键结合力和疏水相互

作用. 结果提示这 5 个新的小分子化合物可作为潜在的 CXCR4 抑制剂.

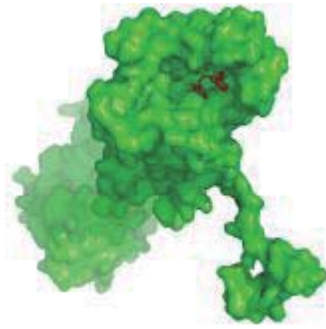


图 2 用于虚拟筛选的 Pocket

Fig. 2 The pocket for virtual screening

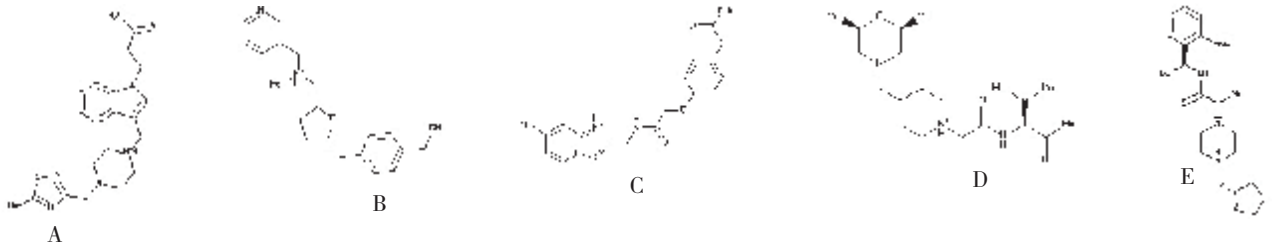


图 3 活性标高的 5 的化合物

Fig. 3 The chemical structure of 5 compounds with the highest activity

A:ZINC55393257; B:ZINC65403265; C:ZINC68527759; D:ZINC69016940; E:ZINC73620742

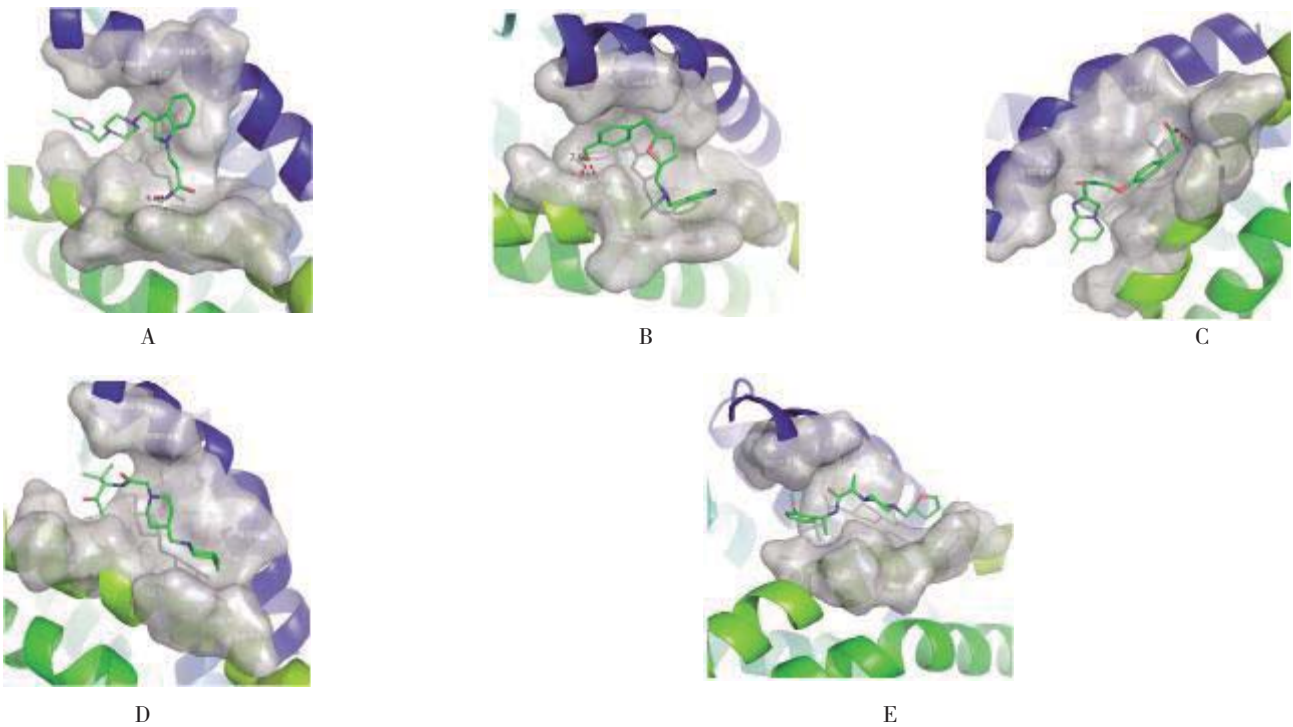


图 4 抑制剂与 CXCR4 的相识作用模型

Fig. 4 The modes of the interaction between the inhibitors and CXCR4

A:ZINC55393257; B:ZINC65403265; C:ZINC68527759 D:ZINC69016940; E:ZINC73620742.

3 讨论

CXCR4 是机体一个重要的趋化因子, 与其天然配体 SDF-1 结合后参与调控许多重要的生理过程. 此外, 研究发现, SDF-1/CXCR4 还与许多疾病包括 HIV 感染、癌症、WHIM 综合症、类风湿性关节炎、肺纤维化等密切相关^[7]. 因此, 以 CXCR4 为靶点, 设计研发特异性的 CXCR4 抑制剂可为上述疾病的治疗提供新的思路和潜在药物. 2008 年, 首个特异性 CXCR4 抑制剂 AMD3100 (Plerixafor) 被美国 FDA 批准用于造血干细胞动员^[8]. 目前还有一些 CXCR4 抑制剂正在进行抗肿瘤、抗 HIV 和 WHIM 综合症的临床试验. 虚拟筛选技术是进行创新药物研究的新技术, 由于其高效、快速、经济等优势, 近年来已经成为一种与高通量筛选互补的药物筛选技术. 目前, 虚拟筛选技术已经用于 CXCR4 抑制剂的研发^[9,10].

本研究以 CXCR4 为靶点, 采用基于 AutoDock Vina 的新的虚拟筛选工具 PyRx 对 ZINC 数据库约 2 万个化合物进行虚拟筛选, 发现了 5 个新的高活性 CXCR4 抑制剂. 笔者的筛选结果可为新的 CXCR4 抑制剂的研发提供有用的结构信息. 本研究还对虚拟筛选工具 PyRx 和分子对接工具 AutoDock Vina 在药物虚拟筛选中的配合使用进行了初步尝试, 这对于新药研究开发具有积极的意义. AutoDock Vina 是一款由 MGL 实验室开发的分子对接软件, 与 AutoDock 4.0 相比, AutoDock Vina 提高了结合模式预测的平均准确度, 通过使用更简单的打分函数加快了搜索速度. 然而, AutoDock 目前只能实现单个配体和受体分子之间的对接, 程序本身没有提供虚拟筛选功能. PyRx 是基于 AutoDock (4.0 及以上版本) 或者 AutoDock Vina 的虚拟筛选工具. PyRx 作为一种新的虚拟筛选工具, 其良好的操作界面使虚拟筛选变的更简单, 为药物虚拟筛选带来了新的变革. 跟之前多个虚拟筛选软件相比, PyRx 实现了多软件的完美整合, 可以在更短的时间内更高效的筛选更多的化合物, 使得虚拟筛选更加高效, 这就大大提高了药物发现的机率.

本研究是国内应用 PyRx 进行 CXCR4 抑制剂虚拟筛选的首次报道, 这对于 CXCR4 抑制剂的研究开发具有新的启示作用. 笔者相信, 随着虚拟筛选新工具 PyRx 等的不断改进, CXCR4 抑制剂的

研发速度必定会大大提高. 然而, 虚拟筛选技术仅仅是创新药物研究的辅助性工具, 仅仅考虑受体配体的相互作用, 而未考虑药物复杂的作用机制以及可能存在的毒性作用等问题. 因此, 本研究通过虚拟筛选发现的 5 个高活性的 CXCR4 抑制剂有待进一步通过实验验证其药理活性及毒性.

[参考文献]

- [1] MURDOCH C. CXCR4: chemokine receptor extraordinaire[J]. *Immunol Rev*, 2000, 177(1):175 - 184.
- [2] JACOBSON O, WEISS I D. CXCR4 chemokine receptor overview: biology, pathology and applications in imaging and therapy[J]. *Theranostics*, 2013, 3(1):1 - 2.
- [3] OTANI Y, KIJIMA T, KOHMO S, et al. Suppression of metastases of small cell lung cancer cells in mice by a peptidic CXCR4 inhibitor TF14016 [J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(20):3 639 - 3 644.
- [4] CHO K S, YOON S J, LEE J Y, et al. Inhibition of tumor growth and histopathological changes following treatment with a chemokine receptor CXCR4 antagonist in a prostate cancer xenograft model[J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(4):933 - 938.
- [5] LING X, SPAETH E, CHEN Y, et al. The CXCR4 antagonist AMD3465 regulates oncogenic signaling and invasiveness in vitro and prevents breast cancer growth and metastasis in vivo[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3):e58 426.
- [6] IWASAKI Y, AKARI H, MURAKAMI T, et al. Efficient inhibition of SDF-1 α -mediated chemotaxis and HIV-1 infection by novel CXCR4 antagonists [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(4):778 - 781.
- [7] DEBNATH B, XU S, GRANDE F, et al. Small molecule inhibitors of CXCR4[J]. *Theranostics*, 2013, 3(1):47 - 75.
- [8] LUAN J, CUI Y, ZHANG Y, et al. Effect of CXCR4 inhibitor AMD3100 on alkaline phosphatase activity and mineralization in osteoblastic MC3T3-E1 cells[J]. *Biosci Trends*, 2012, 6(2):63 - 69.
- [9] KARABOGA A S, PLANESAS J M, PETRONIN F, et al. Highly specific and sensitive pharmacophore model for identifying CXCR4 antagonists. Comparison with docking and shape-matching virtual screening performance [J]. *J Chem Inf Model*, 2013, 53(5):1 043 - 1 056.
- [10] NEVES M A, SIMOES S, SAEMELO M L. Ligand-guided optimization of CXCR4 homology models for virtual screening using a multiple chemotype approach [J]. *J Comput Aided Mol Des*, 2010, 24(12):1 023 - 1 033.

(2014-06-15 收稿)