

华中科技大学

本科生毕业设计[论文]

基于 MPNN 神经网络进行人副流感病毒 3 抑制剂设计

院 系	生命科学与技术学院
专业班级	生物科学（中外合作办学）2101
姓 名	刘铤
学 号	U202113001
指导教师	汪盛副教授

2025 年 05 月 14 日

学位论文原创性声明

本人郑重声明：所呈交的论文是本人在导师的指导下独立进行研究所取得的
研究成果。除了文中特别加以标注引用的内容外，本论文不包括任何其他个人或集
体已经发表或撰写的成果作品。本人完全意识到本声明的法律后果由本人承担。

作者签名：年 月 日

学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解学校有关保障、使用学位论文的规定，同意学校保留
并向有关学位论文管理部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅
和借阅。本人授权省级优秀学士论文评选机构将本学位论文的全部或部分内容编
入有关数据进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论
文。

本学位论文属于 1、保密口，在 年解密后适用本授权书

2、不保密口。

（请在以上相应方框内打“√”）

作者签名：年 月 日

导师签名：年 月 日

摘 要

人副流感病毒3型(Human Parainfluenza Virus Type 3, HPIV-3)感染是造成众多婴幼儿和免疫力低下人群下呼吸道疾病的原因之一。目前尚无临床许可的可用于治疗或预防该病毒的药物。血凝素-神经氨酸酶蛋白(Hemagglutinin-Neuraminidase, HN)是介导HPIV-3进入宿主细胞的重要蛋白,被视为HPIV-3抑制剂设计的重要靶点。

本研究旨在运用基于消息传递神经网络(Message Passing Neural Network, MPNN)的计算方法设计新型的针对HPIV-3 HN蛋白的抑制剂。从ZINC数据库中使用SmallWorld方法调取与已知HPIV-3抑制剂相似度高的分子。使用AutoDock将这些分子与HN蛋白的关键结合位点进行对接。所得对接数据用于训练一个基于Chemprop深度学习框架的有向消息传递神经网络(Directed-Message Passing Neural Network, D-MPNN)模型来预测分子与HN蛋白的结合能力。经验证,该模型在测试集上有较好的表现(AUC-ROC=0.98)。模型用于在蒙特卡洛树搜索(Monte Carlo Tree Search, MCTS)中指导搜索树的生成。搜索树生成由已知抑制剂取代基和多样分子骨架相组合的新型分子。使用ADMET-AI以现有的抗病毒药物(ATC Code=J05)为参考对生成的新型分子进行ADMET属性的预测,优先考虑分子的脂溶性、水溶性、半衰期、人体肠道吸收和临床毒性五大特征。

这一设计流程成功生成了新型的具有高预测分数和良好ADMET属性的抑制剂候选分子,为加快设计HPIV-3小分子抑制剂提供了新思路。

关键词: 人副流感病毒3型; 药物设计; 消息传递神经网络; 蒙特卡洛树搜索

Abstract

Human Parainfluenza Virus Type 3 (HPIV-3) is one of the major causes of lower respiratory infection in infants, children, and immunocompromised populations. However, despite its annual noticeable prevalence, there is no clinically approved antiviral drug or vaccine. Hemagglutinin-neuraminidase(HN) plays a key role in viral entry and thus has long been a promising target for antiviral drug design.

This study aims to use computational methods, especially advanced Message Passing Neural Networks(MPNN), to design a novel inhibitor for HPIV-3 targeting viral Hemagglutinin-Neuraminidase. We retrieved molecules that shared high similarity with 17 known inhibitors in the ZINC database using SmallWorld. AutoDock was used to dock those molecules to an HN key binding site. A Directed Message Passing Neural Network(D-MPNN) was trained using the docking results to predict the binding affinities and achieved high performance (AUC-ROC = 0.98, F1 score = 0.8571) on the test set. This model was further used to guide a Monte Carlo Tree Search(MCTS) to generate new molecules building on known substituents and scaffolds. By leveraging ADMET-AI, newly generated molecules were evaluated based on their lipophilicity, aqueous solubility, half-life, human intestinal absorption, and clinical toxicity.

This design pipeline successfully generated novel inhibitors with high predicted scores and favorable ADMET properties. This study provided a robust approach to screening and designing novel inhibitors for HPIV-3.

Key Words: Human Parainfluenza Virus Type 3; Drug Design; Message Passing Neural Network; Monte Carlo Tree Search

目 录

摘要	I
Abstract	II
1 绪论	1
1.1 研究的背景及意义	1
1.2 人副流感病毒 3 型的结构和生命周期[3]	1
1.3 国内外研究进展	2
1.4 本研究创新点	3
2 相关理论知识描述	5
2.1 计算化学常用的基本概念和算法	5
2.2 蛋白质-小分子对接技术	7
2.3 机器学习相关的概念和算法	9
2.4 蒙特卡洛树搜索	14
2.5 药物 ADMET 属性预测	15
3 研究路线和方法	17
3.1 使用 RDKit 对 17 个已知小分子进行聚类并提取共同骨架	17
3.2 使用 SmallWorld 从 ZINC 数据库中获得具有相似骨架的预对接分子....	18
3.3 使用 Autodock 进行小分子库与 HPIV-3 HN 蛋白的对接	19
3.4 使用 Chemprop 构建筛选 HN 蛋白抑制剂的模型	21
3.5 基于蒙特卡洛树搜索生成新的抑制剂小分子	23
3.6 对生成的新型小分子进行 ADMET 预测	24
4 研究结果	25
4.1 RDKit 聚类和提取共同骨架	25

4.2	SmallWorld 相似性搜索	25
4.3	AutoDock 对接	25
4.4	结合力预测模型构建	26
4.5	蒙特卡洛树搜索生成新分子	28
4.6	ADMET 属性预测	28
5	总结与展望	30
参考文献		32
附录		35
致谢		36

1 绪论

1.1 研究的背景及意义

根据世界卫生组织（WHO）的数据统计，2021 年下呼吸道感染造成两百五十万人死亡，死亡人数占总因病死亡人数的 3.6%，是全球第五大致死病。呼吸道感染易发生在婴幼儿，老年人，以及免疫力低下的人群中。在 5 岁以下婴幼儿的严重下呼吸道感染（Accurate Low Respiration Illness, ALRI）中，人副流感病毒的感染占据了其中的 13%[1]。

人副流感病毒被发现于 20 世纪 50 年代末，是单链 RNA 病毒，它的基因组包含约 15,000 个核苷酸，属于副粘病毒（Paramyxoviridae）科，分别有人副流感病毒 1 型（HPIV-1）、人副流感病毒 2 型（HPIV-2）、人副流感病毒 3 型（HPIV-3）、人副流感病毒 4 型（HPIV-4）四个亚型。其中 1 型和 3 型属于呼吸道病毒属（Respirovirus），2 型和 4 型属于风疹病毒属（Rubulavirus）。在四种亚型中，3 型是大多数 HPIV 感染的罪魁祸首[2]。HPIV-3 感染会导致不同程度的支气管炎，细支气管炎，肺炎，严重的可致患者死亡。

近几年，由于新型冠状病毒（COVID-19）的暴发，人们对于防范病毒感染，尤其是呼吸道病毒感染的意识逐渐增强。随着疫苗的普及以及群体免疫屏障的建立，新型冠状病毒感染病例数大幅下降。其他呼吸道病毒，如流感病毒和副流感病毒，正在重新成为防范呼吸道病毒感染的重点。目前，尽管针对 HPIV-3 感染治疗药物的研究较多，但暂时没有药物得到临床使用的正式许可。同时，针对 HPIV-3 的疫苗开发也仍处于临床实验阶段。因此，不断探索与设计新型的 HPIV-3 抑制剂对于该病毒的预防和治疗至关重要。

1.2 人副流感病毒 3 型的结构和生命周期[3]

HPIV-3 的基因组编码六个关键的结构蛋白，它们分别是血凝素-神经氨酸酶蛋白（Hemagglutinin-Neuraminidase, HN）、融合蛋白（Fusion Protein, F）、核蛋白（Nucleocapsid Protein, N）、磷酸蛋白（Phosphoprotein, P）、大蛋白（Large Protein, L）、基质蛋白（Matrix Protein, M）、细胞质蛋白（Cytoplasmic Protein, C）。这 6

个结构蛋白在 HPIV-3 的生命周期中扮演着尤为重要的角色。

与其他单链 RNA 副粘病毒相似,人副流感病毒的生命周期分为附着与进入、复制与转录、基因组装配、出芽与释放四个部分。首先,HPIV-3 通过位于其病毒包膜(viral envelope)上的 HN 蛋白与宿主细胞膜上的唾液酸受体(sialic acid receptor)发生特异性结合。该结合促使 F 蛋白发生构象变化(conformational change),F 蛋白被激活,从预融合态(pre-fusion state)转变至融合态(fusion state)。变构的 F 蛋白暴露疏水性融合肽,与宿主细胞膜相接触后形成稳定的六螺旋束结构,使得病毒膜与宿主细胞膜融合。包含 HPIV-3 负链 RNA 基因组和相关蛋白的核衣壳(nucleocapsid)进入宿主细胞质。进入宿主细胞质后,以 HPIV-3 的负链 RNA 为模板,在病毒的 RNA 依赖性 RNA 聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase, RdRp)的催化下,转录出编码各种病毒蛋白的 mRNA。HPIV-3 的 mRNA 则利用宿主细胞的翻译机制,在宿主细胞质内翻译出 HPIV-3 的结构蛋白和非结构蛋白。当翻译出来的 N 蛋白浓度达到一定程度时,RdRp 催化负链 RNA 合成正链 RNA。新产生的正链 RNA 作为模板,生成病毒的负链 RNA 基因组。N 蛋白包裹新生成的负链 RNA,与其他结构蛋白(P 蛋白和 L 蛋白)一起在宿主细胞的内质网和高尔基体中进行加工和组装。完成组装的 HPIV-3 核衣壳和包膜蛋白(HN 蛋白和 F 蛋白)在宿主细胞膜聚集。经过一系列诱导反应,宿主细胞膜向外突起,形成芽状结构。新生成病毒随即从宿主细胞膜上脱离。新生成的病毒包膜上的 HN 蛋白发挥神经氨酸酶活性,水解宿主细胞膜上的唾液酸受体,防止新生成的 HPIV-3 再次附着于旧的宿主细胞表面。

1.3 国内外研究进展

近年来,关于 HPIV-3 抑制剂的开发主要集中针对 HPIV-3 的 HN 蛋白和 F 蛋白。

在 F 蛋白方面,Victor K. Outlaw 等人[4]设计了一种胆固醇共轭肽,通过引入几个关键氨基酸的突变,修改 F 蛋白 C 端的七肽重复序列结构域。这种共轭肽与 F 蛋白的 HRN 结构域特异性结合,有效地通过干扰 F 蛋白的组装达到抑制病毒感染的目的。Stewart-Jones 等人[5]利用类似的蛋白质改造的方法,稳定 F 蛋白的预融合态,阻止 F 蛋白在激活后发生构象改变,从而使得病毒的包膜无法与宿主细

胞膜发生融合。然而,这些抑制剂的开发和应用仍面临不少挑战,例如它们的生产成本高,具有较低的口服生物利用度和可能具有较严重的注射部分反应。

在 HN 蛋白方面,虽然 Neu5Ac2en、扎那米韦(zanamivir)及其衍生物(如 BCX-2798)以在体外实验中被证实与 HN 蛋白有较好的结合能力,但它们在临床上被使用的可能性仍旧很低[6]。扎那米韦具有较高的 IC₅₀,病毒的抑制作用欠佳。BCX-2798 虽然在体外实验中表现出良好的活性,但它在临床试验阶段仍进步缓慢。同时,其他针对 HN 蛋白的抑制剂均未进入临床试验阶段。Dirr 等人(2017)的研究[7]揭示了 HN 蛋白结构和功能之间重要的相互关系。研究中阐明了 HN 蛋白关键位点在与抑制剂小分子结合时发生的重排现象,并在此基础上强调了抑制剂中 C-4 取代基的重要作用。Paola Rota 等人[8]开发了一系列针对 HPIV-3 和新城疫病毒(Newcastle Disease Virus, NDV)的 HN 蛋白的新型的唾液酸衍生物抑制剂。通过修改唾液酸衍生物 C-4 和 C-5 位点上的取代基,他们设计出对神经氨酸酶活性具有较强抑制作用的抑制剂。其中,以 BCX-2798 为基础的抑制剂,如叠氮化合物和对甲苯磺酰胺衍生物,在体外试验中表现出亚微摩尔级的 IC₅₀ 值,具有较强的病毒抑制能力。此外,药物重定位研究表明[9],奥司他韦可以与 HN 蛋白形成更为稳定的结合结构,因此它对比扎那米韦和 BCX-2798 有更好的抗 HPIV-3 潜力。

尽管对 HPIV-3 抑制剂的研究取得进展,但目前已有的治疗技术仍存在许多局限性,设计高效、低毒性的新型 HPIV-3 抑制剂仍是当下研究的重点。未来的研究应结合先进的人工智能技术、计算药物设计和结构生物学来探索更多具有临床使用潜力的抗 HPIV-3 药物。

1.4 本研究创新点

本研究创新性地设计了一个针对 HPIV-3 HN 蛋白抑制剂的计算设计框架,此框架融合了分子对接、机器学习、以及基于蒙特卡洛树搜索的新分子生成。其中,本文使用与 HN 蛋白具有高度相似性的小分子库训练了一个基于有向消息传递神经网络的模型来预测分子与 HN 蛋白的结合能力。同时,将此模型用于蒙特卡洛树搜索中,通过给不同已知取代基和骨架的组合打分,指导新抑制剂生成。本研究使用最新人工智能驱动的 ADMET 预测平台对新生成的分子进行药物药代动力学和毒理学的分析。使得经过此框架设计而成的分子同时具有较高的预测结合能力以

及较好的类药性质。此框架在加快 HPIV-3 相关抑制剂设计的同时为药物虚拟设计提供了新的思路和方法。

2 相关理论知识描述

本章将介绍五个方面的内容,为后续的章节奠定理论知识基础。首先,本章将介绍计算化学常用的基本概念和算法。接着,将介绍蛋白质-小分子对接的相关技术。其次,本章将介绍深度学习中消息传递神经网络的基本算法和模型评估的各性能指标。然后,本章将介绍蒙特卡洛树搜索随机算法并介绍其在生成新分子方面的应用。最后,将介绍药物 ADMET 属性预测的方法。

2.1 计算化学常用的基本概念和算法

2.1.1 计算化学常用工具 RDKit

RDKit 是一款常用的计算化学工具,它可以帮助研究者轻松地生成、修改、处理以及挖掘化学分子中的各种信息。

2.1.1.1 摩根指纹 (Morgan Fingerprint)

摩根指纹是一种用来代表化学结构的二元向量 (binary vector)。ECFP (Extended-Connectivity Fingerprints) [10] 是一种最常用的摩根指纹,通常应用于分子结构相似性比较之中。该分子指纹的生成分为初始化、迭代扩展和哈希映射三个部分。首先,基于分子中重原子的原子类型、原子质量、相邻原子数等化学性质,为每一个重原子分配一个标识符 (identifier), 通常为一个整数。接着,根据用户自定义的迭代数 (一般为 2) 进行扩展,每次迭代中,对于每一个重原子,收集其直接相邻原子的信息和标识符,更新自身的标识符,哈希函数 (Hash function) 再进一步将更新的标识符映射到某一长度的二元向量的某一个位置。所获得的这个向量即为分子的摩根指纹。

2.1.1.2 Tanimoto 系数

Tanimoto 系数[11]是一种用于比较两个分子 ECFP 的度量。

$$T(A,B) = \frac{|A \cap B|}{|A \cup B|} = \frac{c}{a + b - c} \quad (2-1)$$

在公式(2-1)中, A 和 B 分别表示 A 分子和 B 分子的 ECFP 指纹, 也即两个二元向量; a 为 A 中数值为 1 的位数, b 为 B 中数值为 1 的位数, c 为 A 和 B 中数值为 1 的共同位数。 $T(A,B)$ 的范围为 0 到 1, 系数的值越接近 1, 两分子越相似。当 $T(A,B)$ 大于 0.7 时便认为 A 分子和 B 分子的结构之间具有较高的相似性。

2.1.1.3 Butina 聚类 (Butina Clustering)

Butina 聚类[12]是一种使用中心点聚类算法 (Centroid-based Clustering) 将相似度较高的分子聚集在一起的方法。

首先, Butina 算法计算所有分子对之间的 Tanimoto 系数, 对于每一个分子, 统计与该分子之间 Tanimoto 系数大于等于 0.7 的邻居分子的个数, 邻居分子最多的分子为中心分子。把该中心分子跟它的所有邻居分子聚集成簇。将剩余未成簇的分子以相同方式进行再分类直至所有分子都分配完成。

2.1.1.4 Murcko 骨架 (Murcko Scaffold)

Murcko 骨架[13]是分子中仅保留环结构和连接环结构的链的部分。生成 Murcko 骨架的过程相当于去除所有取代基, 该方法有助于生成一个聚类的基本骨架, 研究不同取代基对药物作用的影响。

2.1.2 SmallWorld 相似分子搜索

SmallWorld 是一款用于快速从包含海量小分子的数据库中搜索出与查询分子具有一定相似性的小分子化合物的工具。SmallWorld 的搜索基于两个概念: 图编辑距离 (Graph Edit Distance, GED) 和预计算 (precomputed) 的“图的图” (graph of graphs) 网络。图编辑距离是指将一个分子图转换为另一个分子图所需要的最少的编辑操作。“图的图”指搜索中的地图, 每一个节点 (node) 代表一个分子子图, 两个节点之间由边 (edge) 连接, 代表两个分子子图可以通过一次图编辑距离进行转换。

当用户提交一个分子进行查询时, SmallWorld 首先在预计算的庞大网络中找出该分子的节点。然后从该节点开始, 进行广度优先搜索 (Breadth-First Search, BFS),

也即根据用户定义的相似度参数,进行对应层数的搜索,把搜索命中的结果返回给用户。

2.2 蛋白质-小分子对接技术

蛋白质-小分子对接是指采用计算对接算法来预测小分子和蛋白质结合时的构象,同时预测两者结合时的结合能(binding energy)。

AutoDock 组件[14](AutoDock suite)是一款由美国斯克利普斯研究所(The Scripps Research Institute)开发的开源分子对接软件。该软件被世界各地的实验室使用,是药物设计中最常用的蛋白质-小分子对接工具。研究者们通常使用AutoDock 组件来将一个含有成千上万个配体的小分子库与目标蛋白进行对接,获得对接亲和分数(affinity score),对每一个小分子的亲和分数进行排序,筛选出与目标蛋白亲和力强的小分子,从而实现高通量(high throughput)的药物虚拟筛查(virtual screening),减少了湿实验验证潜在药物分子的数量,极大缩短了药物开发的时间,大大提高了药物开发的效率。

其中,AutoDock 是 AutoDock 组件中一个基于经典自由能力场(empirical free-energy force field)和快速拉马克遗传算法(Lamarckian Genetic Algorithm, LGA)的工具。

2.2.1 拉马克遗传算法

拉马克遗传算法是一种融合了孟德尔遗传(Mendelian Inheritance)、达尔文自然选择理论(Natural Selection)以及拉马克获得性遗传思想(Lamarckian Inheritance)的用于求解最优化问题的搜索算法。

在蛋白质-小分子对接中,小分子配体的状态变量(state variable)定义为小分子相对于蛋白质的平移(translation)、取向(orientation)或者构象(conformation)。每个状态变量即可看作一个“基因(gene)”,各个状态变量的不同组合产生不一样的基因型(genotype)。各小分子配体在该状态变量下都有唯一一个对应的原子坐标,该坐标可看作“表型(phenotype)”。

对接算法的起始为一个随机生成的“种群”,包含拥有不同状态变量组合的个体。随机选择个体通过交叉过程(crossover)进行交配,并引入一定比例的随机突

变 (random mutation), 遵循孟德尔第二定则, 产生的子代个体继承来自亲本的状态变量。能量函数 (energy function) 模拟生存环境, 用以计算适应度 (fitness), 即配体与蛋白质的分子间相互作用能量 (intermolecular interaction energy) 以及配体内部的分子内相互作用能量 (intramolecular interaction energy) 之和, 来决定子代个体的存活。适应度高的个体得以存活, 适应度优于平均水平的个体将得以繁殖, 后代数量由比例选择 (proportional selection) 公式来决定。

$$\eta_i = \left\lfloor \frac{f_w - f_i}{f_w - \bar{f}} \right\rfloor \quad (2-2)$$

在公式 (2-2) 中, η_i 代表个体 i 的后代数量; f_i 为个体 i 的适应度; f_w 为最近 N 代中最低的适应度, 也即最高能量, N 为用户定义的参数, 通常为 10。 \bar{f} 为种群的平均适应度。当 $f_w = f_i$, 则认为种群已收敛, 对接终止。

以上为使用遗传算法对状态变量的组合进行全局搜索 (global search), 从而优化配体坐标的过程。为了避免陷入局部最小值 (local minima) 同时加速种群向低能量构象收敛, 引入基于拉马克获得性遗传思想的局部搜索 (local search)。算法使用 Soils 和 Wets[15] 的局部搜索方法, 直接修改状态变量, 找到拥有更低能量的构象, 将这些优化后的状态变量直接用于后代的生成。后代随即拥有亲代优化后的构象, 也即拉马克学说中所述的亲代后天获得的性状可以传递给子代的现象。

2.2.2 柔性残基 (flexible residue)

在分子对接过程中, 受体一般被视为是刚性 (rigid) 的, 即受体各原子的坐标在对接过程中保持不变。AutoDock 在对接的过程中允许用户自定义柔性残基, 也就是允许一些残基的侧链在对接过程中旋转。定义柔性残基的目的在于更好的模拟受体与配体在现实结合时的诱导契合 (induced fit)。

2.2.3 亲和力图 (affinity maps)

亲和力图是一组记录着配体中不同类型的原子与受体在空间中每个网格点上相互作用时的能量, 它由 AutoGrid 生成。AutoGrid 是 AutoDock 的其中一个部分。AutoGrid 将用户定义的对接盒子分为多个三维小格子 (3D grid), 每一个三维小格

子的中心点定义为网格点 (grid point)。AutoGrid4 在正式对接前, 在这些网格点上使用探针原子 (probe atoms) 来模拟配体中的各种原子, 预先计算这些探针原子与受体刚性部分的相互作用能量。

2.2.4 经验自由能力场 (empirical force field)

AutoDock 使用经验结合自由能函数来计算受体和配体之间相互作用的大小。这个力场包含范德华能量项 (Van der Waals force)、氢键能量项 (hydrogen bond)、静电相互作用 (electrostatics)、去溶剂化势 (desolvation potential)。受体和配体之间的总能量为上述四项能量的加权和。

2.3 机器学习相关的概念和算法

2.3.1 机器学习基本概念

2.3.1.1 Dropout 比率

Dropout[16]是一种在训练神经网络时用于减少过拟合现象的一种手段。在每一个训练批次 (batch) 中, 会以 Dropout 比率随机舍弃一部分神经元, 从而迫使神经网络不能过度依赖某些特定的神经元。例如 $\text{dropout} = 0.2$ 表示在每一个训练批次中, 每个神经元有 20% 的概率会在迭代中被暂时舍弃。

2.3.1.2 激活函数 (Activation Function)

激活函数[17]是神经网络中决定一个神经元是否传递信号给下一层的一个关键组件。修正线性函数 (Rectified Linear Unit, ReLU) 是目前深度学习中最常用的激活函数之一。

$$f(x) = \max(0, x) \quad (2-3)$$

公式 (2-3) 表示如果输入大于 0, 那么输出就是输入本身; 如果输入小于 0, 那么输出就是 0。

2.3.1.3 学习率 (learning rate)

学习率[18]是机器学习中的一个控制权重更新步长大小的超参数。在实际中,一般不会使用固定的学习率,而是使用学习率调度 (learning rate scheduling),如在预热阶段 (warmup) 使用较小的学习率然后逐渐增加到设置的最大学习率,或者实行衰减 (decay) 在训练的过程中逐步降低学习率。

2.3.1.4 K 折交叉验证 (K-fold cross-validation)

K 折交叉验证[19]是一种常用的评估模型能力的技术。它将原始数据集随机划分成 K 个容量近似的互斥子集,进行 K 次迭代。在每一次迭代中,选择其中的一个子集作为验证集,其他子集作为训练集。每一轮验证都得到一个模型能力的评估结果,最终模型的评估结果是 K 次结果的平均值。K 折交叉验证使用了数据集中的不同部分进行轮换的训练和验证。在数据集规模较小的情况下,充分利用数据,得到性能更加稳定的模型。

2.3.2 机器学习模型性能评估指标

2.3.2.1 准确率 (Accuracy)

准确率是分类任务中最常见的评估指标,它指被模型正确预测的样本占总样本的比例。

$$\text{Accuracy} = \frac{\text{TP} + \text{TN}}{\text{TP} + \text{TN} + \text{FP} + \text{FN}} \quad (2-4)$$

在公式 (2-4) 中, TP (true positive) 代表真正例,即模型预测和实际均为正类的样本数; TN (true negative) 代表真负例,即模型预测和实际均为负类的样本数; FP (false positive) 代表假正例,即模型预测为正类但实际为负类的样本数; FN (false negative) 代表假负例,即模型预测为负类但实际为正类的样本数。

2.3.2.2 精确率-召回率曲线 (Precision-Recall Curve, PRC)

PRC[20]是用来评估模型在不同阈值下性能的精确率和召回率平衡的指标。PRC 曲线以召回率为横轴,精确率为纵轴。在模型性能评估中,通常使用曲线下

面积 (AUPRC) 进行表示, 范围为[0, 1], 值越大越好。该评估指标适合应用于在类别不平衡的二分类任务下评估正类预测性能。

2.3.2.3 F1 分数 (F1 Score)

F1 分数[21]是精确率和召回率的调和平均数。

$$F1 = 2 \times \frac{\text{Precision} \times \text{Recall}}{\text{Precision} + \text{Recall}} \quad (2-5)$$

F1 分数的取值范围为[0, 1], 1 代表模型实现完美分类。该评估指标适合应用于在类别不平衡的二分类任务下评估正类预测性能。

2.3.2.4 接收者操作特征曲线 (Receiver Operating Characteristic, ROC)

ROC[22]是用来评估模型在不同分类阈值下性能的指标, ROC 曲线以假正例率 (FPR) 为横轴, 真正例率 (TPR 即召回率) 为纵轴。在模型性能评估中, 通常使用曲线下面积 (AUC-ROC) 进行表示。AUC-ROC 为 ROC 曲线下的面积, 范围为 [0, 1], 1 代表模型实现完美分类, 0.5 代表模型为随机猜测, 0 表示模型预测完全错误。

2.3.2.5 混淆矩阵 (Confusion Matrix)

混淆矩阵是一种广泛运用于二分类任务中评估模型性能的可视化工具, 矩阵展示了模型预测值和真实值之间的关系。在二分类任务中, 混淆矩阵是 2x2 的矩阵 (如表格 2-1 所示)。

表格 2-1 二分类任务中混淆矩阵的表格形式

	预测负值 (0)	预测正值 (1)
真实负值 (0)	真正值	假阳性
真实正值 (1)	假阴性	真负值

2.3.3 消息传递神经网络

2.3.3.1 传统的消息传递神经网络

消息传递神经网络[23]是一种用于处理图结构数据的图神经网络(Graph Neural Network, GNN)。它的主要工作原理是通过在图的节点和边之间传递消息,逐步聚合和更新节点的向量表示,以捕捉图的拓扑结构,挖掘图的特征信息。MPNN 的通用模型包括两个主要阶段:消息传递阶段(Message Passing Phase)和读出阶段(Readout Phase)。

在消息传递阶段,MPNN 给每一个节点生成消息并传递给它们的邻居。

$$m_{uv}^{(t+1)} = M_t(h_v^{(t)}, h_u^{(t)}, e_{uv}) \quad (2-6)$$

公式(2-6)是 MPNN 在第 t 步的消息传递, v 代表某节点 v , u 代表 v 的所有邻居节点,数学表示为 $u \in N(v)$, $N(v)$ 是 v 的邻域。 $m_{uv}^{(t+1)}$ 表示在第 t 步,节点 v 从其邻居节点 u 中获得的。消息。 M_t 是一个消息传递函数。 $h_v^{(t)}$ 和 $h_u^{(t)}$ 是节点 v 和 u 在第 t 步的隐藏表示。隐藏表示是指节点在神经网络输入层(input layer)和输出层(output layer)之间的中间层的数值向量,也称为隐藏层(hidden layer)中的数值向量。 e_{uv} 是边 (u,v) 的特征。

接着节点 v 收集所有邻居的消息,通过聚合函数 A_t 整合为一个包含所有邻居和边的消息的向量。

$$m_v^{(t+1)} = A_t(\{m_{uv}^{(t+1)} | u \in N(v)\}) \quad (2-7)$$

在公式(2-7)中, A_t 为聚合函数,聚合函数的种类众多,常见的聚合函数为求和,取均值或最大值。

节点 v 使用更新函数 U_t 更新其隐藏表示,新生成的隐藏表示融合自身和邻居的信息。其中 U_t 为更新函数,通常为神经网络。

$$h_v^{(t+1)} = U_t(h_v^{(t)}, m_v^{(t+1)}) \quad (2-8)$$

当消息传递过程停止,进入读出阶段。MPNN 根据所有节点的最终隐藏状态进

行预测。

$$\hat{y} = R(\{h_v^{(T)} \mid v \in \mathcal{V}\}) \quad (2-9)$$

在公式(2-9)中, \hat{y} 为预测值, R 为读出函数, 函数 R 的具体形式通常由具体任务决定。

2.3.3.2 有向消息传递神经网络

Chemprop[24]采用了消息传递神经网络的变体——有向神经网络。在消息传递阶段, 每一个节点 v 代表一个原子。

$$m_v^{t+1} = \sum_{w \in \mathcal{N}(v)} M_t(h_v^t, h_w^t, e_{vw}) \quad (2-10)$$

公式(2-10)表示在第 t 步原子 v 的消息聚合。其中, h_v^t 和 h_w^t 分别是节点 v 和其邻居 w 在第 t 步的隐藏状态。 e_{vw} 是连接节点 v 和 w 的边(化学键)的特征。此处Chemprop使用求和方式来聚合所有传递的信息。

在消息传递阶段的初始化中, 边隐藏状态的初始化通过公式(2-11)实现。

$$h_{vw}^0 = \tau(W_i \text{cat}(x_v, e_{vw})) \quad (2-11)$$

其中 h_{vw}^0 表示从节点 v 到节点 w 的隐藏状态, τ 是ReLU激活函数, W_i 是学习到的权重矩阵, x_v 是原子 v 的特征, e_{vw} 是连接 v, w 的键的特征, cat 表示向量拼接。

$$m_{vw}^{t+1} = \sum_{k \in \{N(v) \setminus w\}} h_{kv}^t \quad (2-12)$$

在消息传递阶段, 对于边 (v, w) , 它在 $t+1$ 步的消息 m_{vw}^{t+1} , 由所有进入节点 v 的边 (k, v) 聚合而成, k 是属于 v 邻域且不等于 w 的节点。此处的消息函数 M_t 被定义为 $M_t(h_{kv}^t) = h_{kv}^t$, 即直接使用前一步的边的隐藏状态作为消息。然后再使用公式(2-13)进行边的更新。

$$h_{vw}^{t+1} = \tau(h_{vw}^0 + W m_{vw}^{t+1}) \quad (2-13)$$

其中, W 是学习到的权重矩阵, 这里使用了跳跃连接(Skip Connection), 将初始边的表示 h_{vw}^0 加入到每一步的更新中。

当消息传递过程结束后,最终原子 v 获得的信息 m_v 。

$$m_v = \sum_{k \in N(v)} h_{kv}^T \quad (2-14)$$

h_{kv}^T 为所有进入原子 v 的最终隐藏表示,最终原子 v 获得的信息 m_v 表示为它们的和。然后结合原子自身的初始特征 x_v 和获得的信息 m_v ,生成原子 v 的最终隐藏表示 h_v 。

$$h_v = \tau(W_a \text{cat}(x_v, m_v)) \quad (2-15)$$

在读出阶段,将所有原子的最终隐藏状态 h_v 求和,得到整个分子的特征向量 h 。

$$h = \sum_{v \in G} h_v \quad (2-16)$$

最后,将整个分子的特征 h 输入一个前馈神经网络(Forward Neural Network, FNN) $f(\cdot)$ 进行某属性的预测。

$$\hat{y} = f(h) \quad (2-17)$$

综上所述, Chemprop 采用的有向消息传递网络跟传统的消息传递神经网络的最主要区别在于,在有向算法中,消息的传递是单向的,而不是双向的。传统 MPNN 的信息在原子之间进行传递,从邻居原子 w 传递到原子 v 的消息,在下次消息传递过程中可能再传回 w 原子。而在 D-MPNN 中,信息传递通过边,也就是通过连接原子的化学键进行,这个化学键称为有向的化学键(directed bonds)。从边 (k, v) 传递而来的信息用于更新边 (v, w) 的状态时,会排除来自反向边 (w, v) 的信息(即 k 不等于 w)。采用 D-MPNN 可以避免消息在原子之间来回传递(totters),起到了减少噪声的作用。

2.4 蒙特卡洛树搜索

蒙特卡洛树搜索[25]是一种在巨大搜索空间中通过随机模拟和统计分析找出较优决策的算法。MCTS 分为选择(selection)、扩展(expansion)、模拟(simulation)和反向传播(backpropagation)四个步骤。

在选择阶段,从搜索树的根节点(root node)出发,通常使用一种名为上限置信区间算法(Upper Confidence Bound for Trees, UCT)的策略来平衡探索(exploration),

即尝试选择未选择的节点, 和利用 (exploitation), 即选择已知的表现较佳的节点。

$$UCT(n) = \frac{w_n}{v_n} + c \sqrt{\frac{\ln v_p}{v_n}} \quad (2-18)$$

在公式 (2-18) 中, w_n 为节点 n 的累计奖励; v_n 为节点 n 被访问的次数; v_p 为节点 n 的父节点 (parent node) 被访问的次数; c 是一个用来调节探索和利用的常数。UCT 策略通过前半部分实现“利用”, 后半部分实现“探索”。

在扩展阶段, 在被选中的节点上添加新的子节点, 也称为一个行动。在模拟阶段, 在新产生的节点上进行一次随机模拟 (rollout)。在反向传播阶段, 根据上一步模拟的结果, 更新从当前节点一直到根节点这条路径上的所有统计信息。MCTS 反复执行上述四个步骤, 根据节点的统计信息选择最优的行动, 最终对决策作出较可靠的指导。

MCTS 在分子生成中, 从当前分子开始, 通过 UCT 选择一条路径, 直至节点末端, 在节点末端分子采取行动, 通常为一个化学变化, 如增减取代基等操作, 生成一个或者多个新分子。新生成的分子成为搜索树中的新节点。从这些新生成的分子开始, 随机进行一系列的化学变化, 直至达到某个预设条件, 预设条件通常为用户预设的行动步数。接着使用某个评估模型, 对生成的分子进行评估。根据模型评估的结果, 更新从新分子到根分子整条路径的统计信息。通过多次迭代, 可以从蒙特卡洛搜索树中获得得分较高的新分子。

2.5 药物 ADMET 属性预测

ADMET 是药物药代动力学 (Pharmacokinetics, PK) 和毒理学 (Toxicology) 特性的概括代表, 用来评估药物在生物体内的表现。ADMET 中的每一个字母分别代表吸收 (absorption)、分布 (distribution)、代谢 (metabolism)、排泄 (excretion) 和毒性 (toxicity)。

药物的吸收指药物从给药部分进入人体循环的过程。影响药物吸收的关键因素有脂溶性 (lipophilicity)、溶解度 (solubility)、电离状态 (ionization state) 以及分子的大小与形状, 如分子量 (MW) 和拓扑极性表面积 (TPSA)。

药物的分布指药物进入循环后在人体全身组织和体液中转运的过程。影响药物

转运速率和程度的关键因素有血浆蛋白结合率 (Plasma Protein Binding, PPB)、组织结合度 (tissue binding)、表观分布容积 (volume of distribution, Vd) 等。

药物的代谢指药物在人体内发生的酶促反应为主的化学结构转化。药物设计时主要考虑脂溶性较强的药物被肝脏等器官转化为水溶性更好的代谢物所需的时间以及难易程度。

药物的排泄是指药物在人体内代谢之后排出体外的过程。排泄有两个重要的指标, 清除率 (clearance) 和药物的半衰期 (half-life)。清除率是衡量药物从体内消除速率的指标。半衰期是药物浓度降低一半所需的时间。

药物的毒性是指药物对人体产生毒害作用的程度。毒性的来源十分多元, 毒性可能源于药物对靶点的过度作用, 也可能源于药物对非靶点的作用, 也有可能是药物的代谢产物对机体产生的毒害作用。

2.5.1 ADMET-AI

ADMET-AI[26]是一个为小分子药物 ADMET 属性预测而设的平台, 它的核心算法基于 Chemprop-RDKit 的神经网络。ADMET-AI 对用户提交小分子的属性进行预测, 将这些预测结果与一个包含 2579 种已批准上市的药物的 ADMET 属性的参考集进行对比, 预测结果会以相对于这个参考集的某一个子集的百分位数进行呈现。

2.5.2 解剖学治疗学及化学分类系统 (Anatomical Therapeutic Chemical, ATC)

解剖学治疗学及化学分类系统是由世界卫生组织制定的, 将所有药物分为 5 个层级的药物分类方法。ATC 的第一级代码是在解剖学的层级上分类, 第二级代码是在治疗学的层级上分类, 第三级代码是在药理学的层级上分类, 第四级是在化学的层级上分类, 第五级是在化合物层级上进行分类。

其中 J05 开头的药物表示全身使用的抗病毒药物 (Antivirals for Systemic Use), J 表示全身使用的抗感染药物。

3 研究路线和方法

本研究路线(如图 3-1 所示)以 17 个已知的 HPIV-3 HN 蛋白的抑制剂作为起始分子,使用 RDKit 中的摩根指纹和 Butina 算法对起始分子进行类聚并提取共同骨架。这些共同骨架被用于在 SmallWorld 相似性搜索中从 ZINC-ALL-22Q2[27]小分子库中收集 5,814 个相似分子。使用 AutoDock 将这些相似分子与 HN 蛋白的关键结合位点进行对接。对接的结果用来训练一个基于 Chemprop 的 MPNN 模型,用以预测分子与 HN 蛋白的结合能力。经评估的 MPNN 模型作为打分机制,指导蒙特卡洛树搜索以 13 个已知取代基和 20 个代表分子为基础进行新型分子的生成。新生成的 1000 个分子使用 ADMET-AI 平台进行 ADMET 属性预测。

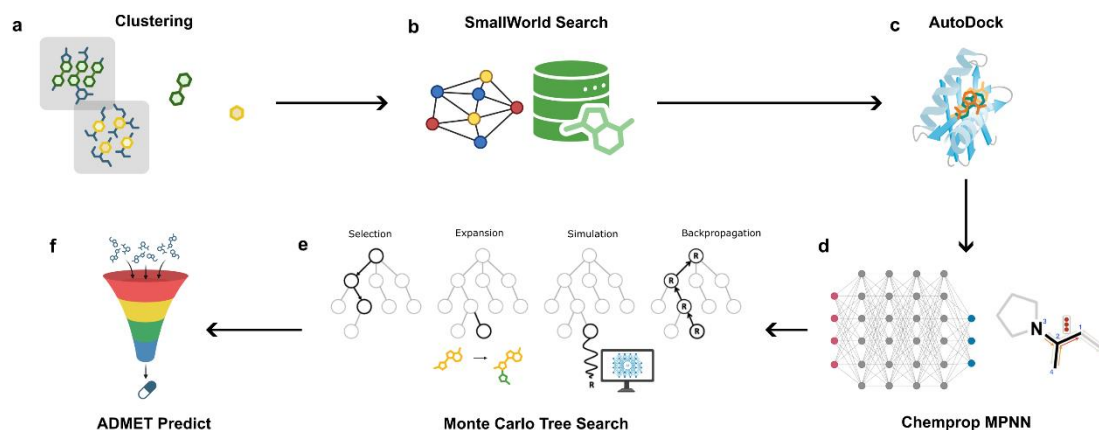


图 3-1 HPIV-3 HN 蛋白抑制剂设计流程示意图

(a) 聚类: 使用 RDKit 识别 17 个已知抑制剂的共同骨架并分组; (b) SmallWorld 搜索: 使用共同骨架进行相似性搜索; (c) AutoDock: 使用 AutoDock 将分子与 HN 蛋白的关键位点对接; (d) Chemprop 消息传递神经网络: 基于 Chemprop 框架进行结合力模型的构建; (e) 蒙特卡洛树搜索: 生成新的抑制剂分子; (f) ADMET 预测: 使用 ADMET-AI 对生成分子进行 ADMET 属性预测。

3.1 使用 RDKit 对 17 个已知小分子进行聚类并提取共同骨架

从已知的 17 个经过实验验证的对 HPIV-3 的 HN 蛋白具有抑制作用的小分子出发,使用 RDKit 工具计算每一个小分子的摩根指纹,并计算各分子对之间的

Tanimoto 系数, 使用 Butina 算法对分子进行聚类, 使用 Tanimoto 系数 0.7 作为阈值。最后生成每个簇的 Murcko 骨架。

3.2 使用 SmallWorld 从 ZINC 数据库中获得具有相似骨架的预对接分子

将 5 个分别代表 5 个类聚的共同骨架作为搜索的输入分子, 使用自定义搜索参数(见表格 3-1)在 ZINC-ALL-22Q2 分子库中进行相似分子的收集。

表格 3-1 SmallWorld 搜索参数

选项	参数	
最大评分距离 (Maximun Scored Distance)	8	
最大匿名距离 (Maximum Anonymous Distance)	4	
末端基团处理 (Terminal Bounds)	下界限 (Down)	6
	上界限 (Up)	6
环结构处理 (Ring Bounds)	下界限 (Down)	6
	上界限 (Up)	2
连接片段处理 (Linker Bounds)	下界限 (Down)	2
	上界限 (Up)	2
突变 (Mutation Bounds)	主要原子 (Major)	2
	次要原子 (Minor)	2
取代处理 (Substitution Bounds)	6	
杂化处理 (Hybridization Bounds)	6	

最大评分距离是指查询分子与命中分子之间最大的经过 SmallWorld 内置评分函数计算的最大距离; 最大匿名距离是指查询分子与命中分子之间最大的拓扑距

离, 这个距离是广度优先搜索的半径限制; 末端基团处理分为上或下, 即增加或删除末端基团; 环结构处理分为上和下, 即断开环结构或形成新的环结构。连接处理也分为上或下, 即插入或删除连接原子。突变操作分为主要原子和次要原子的突变, 主要原子突变指的是原来的原子突变为元素周期表中不同族的原子 (如碳原子突变为氮原子), 而次要原子突变指的是原来的原子突变为同族的原子 (如氧原子突变为硫原子); 取代处理界限指的是在查询分子与命中分子之间发生取代所允许的最大分数。杂化处理界限指的是查询分子与命中分子之间发生杂化所允许的最大分数。

3.3 使用 Autodock 进行小分子库与 HPIV-3 HN 蛋白的对接

3.3.1 确定目标 HN 蛋白的对接位点

使用 PyMol[28]对已有的蛋白质-抑制剂晶体结构进行分析, 其中 HN 蛋白和 NEU5AC2EN 的复合物 (PDB:1V3D[29]) 以及 HN 蛋白和抑制剂 ZANAMAVIR (PDB:1V3E) 的晶体结构显示出共结晶的抑制剂分别结合在 HN 蛋白上的 4 个位点。使用 Boltz-1[30]结构预测模型来预测 HN 蛋白和与已知 17 个小分子的复合体结构显示, 17 个小分子均结合在 HN 蛋白的同一个位点。而这一预测位点是前述 4 个已知结合位点中的一个。该关键结合位点由 13 个氨基酸组成。对接过程均采用此关键位点进行对接。

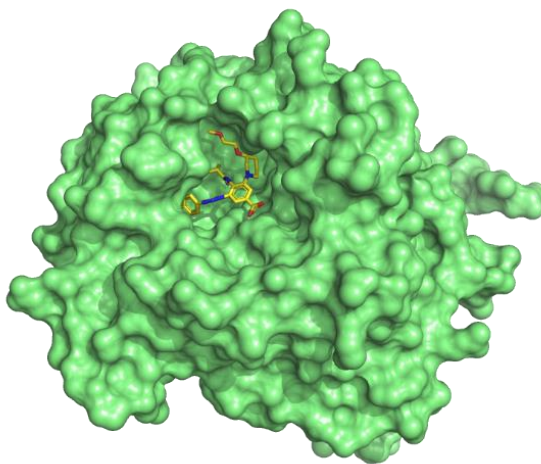


图 3-2 HN 蛋白与小分子结合的关键位点

绿色表示 HN 蛋白; 黄色表示小分子抑制剂。

对接采用 x, y, z 轴方向均为 20\AA 大小的对接盒子。使用 PyMOL 脚本计算对接盒子的中心坐标, 首先获取选定的结合位点的所有原子的三维坐标, 对于 n 个原子的坐标 $[x_i, y_i, z_i]$ (其中 $i=1, 2, \dots, n$), 结合位点的几何中心为所有原子各方向坐标的平均值。

$$x_c = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}, \quad y_c = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n}, \quad z_c = \frac{\sum_{i=1}^n z_i}{n} \quad (3-1)$$

由该方法计算得出的关键位点中心坐标为 $[55.30660502411598, 126.31570945562318, -1.1525179893558108]$ 。

指定 A 链的 409、424、502 号残基[31]为柔性残基, 这三个残基的侧链在对接过程中可以通过旋转进行优化。使用 AutoGrid 为配体的每一个原子类型生成一个亲和力图, 并生成对接盒子的静电势图和去溶剂化势图。

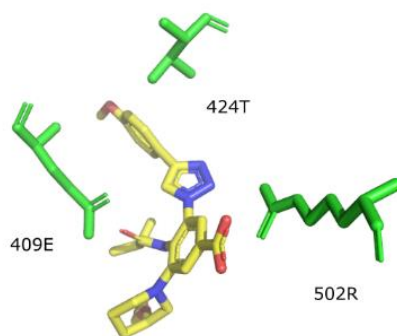


图 3-3 对接中使用的柔性残基

绿色表示氨基酸残基; 黄色表示小分子抑制剂。柔性残基包括谷氨酸 (409E)、苏氨酸 (424T) 和精氨酸 (502R)。

3.3.2 对接

使用 AutoDock 对 HN 蛋白以及 5813 个小分子进行对接。

表格 3-2 AutoDock 对接参数

参数	值
CPU 数量 (cpu_count)	0
随机种子 (seed)	0
日志输出详细度 (verbosity)	1

搜索彻底性 (exhaustiveness)	32
输出构象数 (n_poses)	5
最小 RMSD (min_rmsd)	1.0
最大搜索步数 (max_evals)	0
能量范围 (energy_range)	3

在对接过程中, CPU 数量设置为 0 代表程序自动使用所有可用的 CPU 数进行计算; 种子用以初始化对接的搜索算法, 随机种子设置为 0 代表每次对接均使用不同的随机种子; 搜索彻底性指的是对接程序对构象空间的搜索程度; 输出构象数设置为 5 代表控制对接程序输出配体能量最低的 5 个构象; 最小 RMSD 设置为 1 代表输出的配体构象之间最小的原子位置差异不小于 1.0Å; 最大搜索步数设置为 0 代表程序根据搜索的彻底性自动决定能量评估次数; 能量范围设置为 3 代表输出不同配体的构象之间的能量差在 3.0 kcal/mol 以内。

同时, 使用上述相同的对接参数, 将现有的普遍认为是 HPIV-3 HN 蛋白抑制剂的 BCX-2798 与 HN 蛋白的上述关键结合位点进行对接。

3.4 使用 Chemprop 构建筛选 HN 蛋白抑制剂的模型

3.4.1 输入数据集的准备

将经过 AutoDock 对接的小分子进行分类, 将对接结果中亲和力值小于 -12.715 kcal/mol 的小分子标记为 1, 也即表示该小分子与 HN 蛋白结合。将亲和力值大于 -12.715 kcal/mol 的小分子标记为 0, 也即表示该小分子不与 HN 蛋白结合。将 17 个已知与 HN 蛋白有抑制作用的分子加入数据集中, 标为 1, 表示这 17 个小分子也与 HN 蛋白结合。

3.4.2 数据集的划分

将 130 个对接结果中显示与 HN 蛋白结合的分子划分为正样本(positive sample)再在剩余的 5677 个显示不与 HN 蛋白结合的分子中随机挑选 300 个分子, 划分为负样本(negative sample), 正负样本比例为 1: 2.3, 共计 430 个样本。按照 90: 10 的比列随机分配分子到训练集(train set)和验证集(validate set), 训练集有 387 个

分子,验证集有 43 个分子。将 17 个已知抑制剂小分子分入测试集 (test set),再从剩下的负样本中随机选取 43 个小分子放入测试集,保持测试集中的正负样本比例和其他两个集相近。

3.4.3 模型的训练

表格 1-3 Chemprop 模型训练参数

参数	值
任务类型 (task-type)	classification
训练批次样本量 (batch-size)	32
模型集成数 (ensemble-size)	5
隐藏状态向量维度 (message-hidden-dim)	300
消息传递的层数 (depth)	3
Dropout 比率 (dropout)	0.2
激活函数类型 (activation)	RELU
聚合方法 (aggregation)	Norm
学习率预热的轮数 (warmup-epochs)	2
初始学习率 (init-lr)	0.00001
最大学习率 (max-lr)	0.0001
最终学习率 (final-lr)	0.00001
训练总轮数 (epochs)	32
k 折交叉验证的折数 (num-folds)	10

3.4.4 模型性能评估

本研究问题是一个二分类问题,即药物小分子是否与 HN 蛋白结合。输入模型的数据集为不平衡数据集,其中正负样本比例为 1: 2.3。由于准确率在不平衡数据集上可能被负样本影响,它的参考价值不大。而 AUPRC 和 F1 分数是不平衡数据中反映正类预测性能的重要指标,所以在评估模型性能时,主要根据 AUPRC 和 F1 分数来进行评估,同时结合 ROC-AUC 来综合考虑模型对正负类的预测能力。

3.5 基于蒙特卡洛树搜索生成新的抑制剂小分子

使用蒙特卡洛树搜索生成新的分子结构的基本思路为：对 130 个对接结果显示有较好结合能力的分子进行聚类，并在每一簇中提取分子作为代表，在 17 个原有的抑制剂小分子中提取除了 Murcko 骨架之外的取代基。将获得的所有分子代表作为输入的根节点，添加取代基将作为 MCTS 扩展阶段的行动，后续的子节点为分子代表与取代基的结合。在 MCTS 的模拟阶段中引入前述基于 MPNN 训练的预测结合力的模型作为打分函数。

3.5.1 蒙特卡洛树搜索过程

从一个分子代表（一个根节点）开始，从 13 个取代基中随机选取一个附着到所选结构的连接点上。连接点定义为所选结构中所有带氢的碳原子或氮原子。附着取代基时优先选择增加取代基数量最少的结构单元，并规定不允许在同一原子上增添一个以上的取代基。使用 RDKit 对分子进行修改，在父节点上移除一个氢原子，增加取代基，并验证其化学有效性。舍弃化学有效性检验不通过的分子，并重新生成分子。将新生成的分子添加为搜索树的子节点，此时该子节点的访问次数为 0 ($visit=0$)，总奖励为 0 ($total_reward=0$)。从该子节点开始，随机附着取代基到可用的连接点，直到附着的取代基达 4 个或原分子中已无可被取代的氢原子。取代行动结束后，使用之前基于 MPNN 训练的预测结合力的模型对新生成的分子进行打分，输出 0-1 的分数作为奖励。从该末端分子（节点）出发，沿扩展路径向上至原始根节点，更新路径上所有节点的信息，访问次数加 1，总奖励加本次模型模拟得分。在下一轮迭代中使用 UCB 分数选择子节点。

上述为单个父节点的搜索过程，在多个节点的角度下，为了减少调用 MPNN 模型进行模拟使用的时间，将末端分子节点累计到 100 个再统一调用模型进行打分计算。为了增加化学空间搜索的广度，为每个分子代表创建 10 个搜索任务，即一个分子代表会衍生出 10 个相互独立的蒙特卡洛树，并设置每个蒙特卡洛树的迭代数为 1,000。蒙特卡洛搜索过程中的参数设置见附录表格 1-1。

3.6 对生成的新型小分子进行 ADMET 预测

将由蒙特卡洛树搜索新生成的小分子提交至 ADMET-AI 的预测模型中。由于所设计的小分子应与 HN 蛋白结合,即直接针对 HPIV-3 病毒进入宿主细胞的机制;而且参考其他类似 HPIV-3 的呼吸道病毒,如流感病毒,它们的治疗药物通常归类在 J05 分类下,因此在现有药物参考库中选择 J05 分类中的 77 个小分子药物作为参照。

ADMET 预测提供 20 多种属性的预测结果,对于 HPIV-3 HN 蛋白抑制剂,主要选择 5 个最相关的性质进行评估,它们分别是亲脂性(LogP)、水溶性(Aqueous Solubility)、半衰期(Half Life)、临床毒性(Clinical Toxicity)、人体肠道吸收(Human Intestinal Absorption)。亲脂性影响抑制剂小分子与 HN 蛋白结合位点的结合能力,适中的亲脂性有利于抑制剂与 HN 蛋白结合。水溶性影响抑制剂在体内的溶解和吸收,适中的水溶性有利于口服抑制剂在胃肠道中溶解。半衰期决定抑制剂在人体内起作用的时间,适中的半衰期有利于在减少毒性作用时间和达到预期疗效之间达到平衡。临床毒性在药物安全中至关重要,HPIV-3 感染多发生在婴幼儿群体,这类群体对药物安全性的要求较其他群体更高,需保证 HN 蛋白抑制剂的临床毒性较低。人体肠道吸收对口服药物至关重要,良好的肠道吸收有利于足够浓度的抑制剂通过血液循环到达肺部感染的靶细胞。

ADMET-AI 预测结果返回新生成小分子药物的各种属性在参考集上的百分数。综合五项属性,设计一个评分规则为小分子进行排序。评分规则为:临床毒性越低越好,其他四项属性则适中。具体计算过程为,将临床毒性的百分数直接作为分数加到得分中。对于其他四项属性,“适中”定义为百分数在 40 到 60 之间。如果数值小于 40,则惩罚值为 40 与该值的差;如果数值大于 60,则惩罚值为该值与 60 的差,如果数值在 40 和 60 之间,那么惩罚值为 0。分子的最终得分为临床毒性与惩罚值的和,得分越低越好。

4 研究结果

4.1 RDKit 聚类 and 提取共同骨架

已知的 17 个抑制剂小分子被分为 5 个簇 (如图 4-1 所示), 其中簇 1 包含 11 个分子, 簇 2 包含 2 个分子, 簇 3 包含 1 个分子, 簇 4 包含 2 个分子, 簇 5 包含 1 个分子。簇 1 的共同骨架包含一个哌啶环、一个环己烯环、一个三唑环和一个苯环。簇 2 的共同骨架跟簇 1 相似, 包含一个哌啶环、一个环己烯环、一个三唑环和一个环己烷。簇 3 的共同骨架包含一个哌啶环、一个环丙烷并由一个磺酰胺基团连接一个环己烯环。因簇 4 和簇 5 只包含一个分子, 所以共同结构即为簇中唯一分子本身。

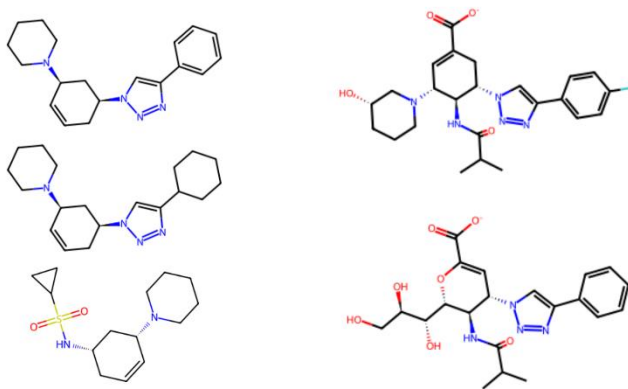


图 4-1 分子共同 Murcko 骨架

4.2 SmallWorld 相似性搜索

经过 SmallWorld Search 的搜索, 一共收集了 5814 个小分子用于构建对接小分子库。

4.3 AutoDock 对接

对接结果显示 BCX-2798 与 HN 蛋白最低构象的亲合力为 -12.715 kcal/mol。对小分子库的对接结果显示, 一共有 130 个小分子与 HN 蛋白的亲合力低于 -12.715 kcal/mol, 占整个小分子库的 2.24%。

4.4 结合力预测模型构建

4.4.1 在验证集上的性能评估

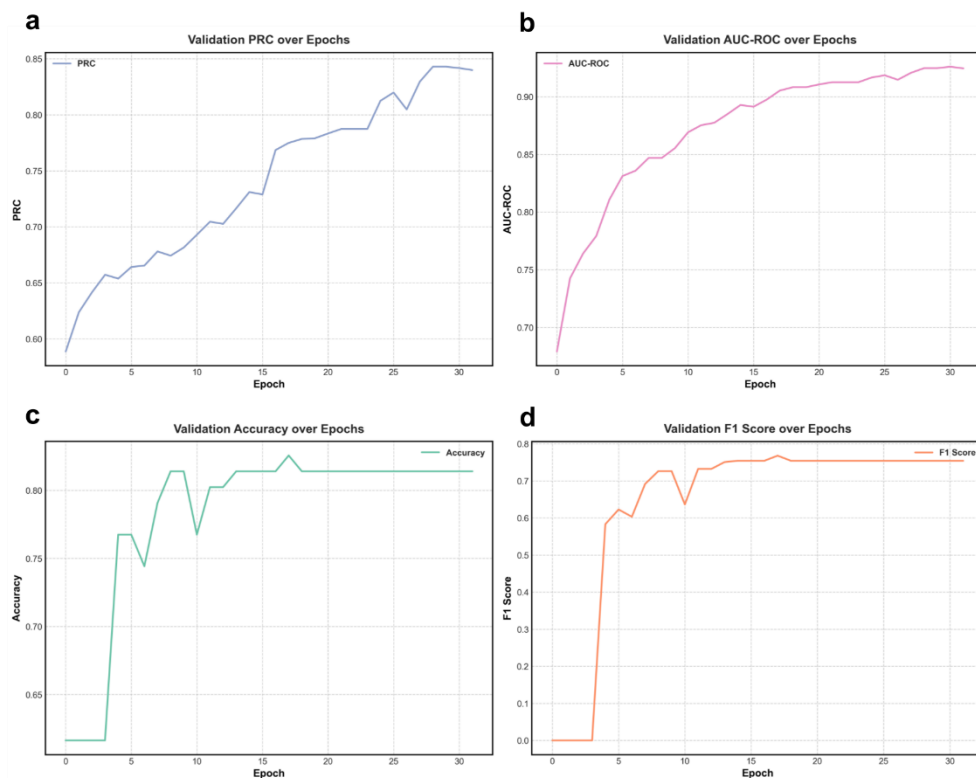


图 4-2 验证集各性能随训练周期的变化

(a) 精确率-召回率曲线 (PRC) 随训练周期的变化, 蓝线表示 PRC 值; (b) 接收者操作特征曲线下面积 (AUC-ROC) 随训练周期的变化, 粉线表示 AUC-ROC 值; (c) 准确率 (Accuracy) 随训练周期的变化, 绿线表示准确率值; (d) F1 分数 (F1 Score) 随训练周期的变化, 橙线表示 F1 分数值。

在早期训练阶段, F1 分数为 0, 表示模型没有预测正样本, 该情况在不平衡数据集中正常出现。在训练周期 4-9, F1 分数快速提升, 从 0 提升至 0.73, 反映模型对正类样本的识别能力增强。F1 分数在经历少许波动后在训练周期 17 达到峰值 0.77, 反映模型对正负样本的识别能力达到最大平衡, 此后 F1 分数稳定在 0.75 左右。PRC 在训练周期 0 到训练周期 28 之间持续上升, 到达峰值 0.84, 在训练后期略有下降, 但基本保持稳定。模型的 AUC-ROC 值在训练周期 0 到训练周期 30 之间持续上升, 到达峰值 0.93, 反映模型区分正负能力的增强, 在训练后期略有下降, 可能存在轻微的过拟合。准确率在训练初期上升, 在训练周期 10-18 之间波

动，后续基本稳定在 0.82 附近。

F1 分数在训练周期 17 达到 0.77 后 PRC 值仍持续上升，说明训练后期模型的召回率下降，即后期更倾向于减少假正例，牺牲了部分正类预测，模型趋于保守预测。原始数据集中负类占比为 0.70，准确率的峰值为 0.83，仅略高于原始数据的负类占比，表明以准确率作为模型评估指标的参考价值有限。

F1 分数 0.77 表明该模型对正类的识别能力良好，ROC-AUC 达到 0.93 表明模型具有较强的区分正负类的能力。

4.4.2 在测试集上的性能评估

表格 4-1 模型在测试集上的各性能指标

AUC	Precision	Recall	F1 score	Accuracy
0.98	0.833	0.8824	0.8571	0.9167

AUC 值为 0.98，表示该模型在测试集上有出色的分类能力；精确率为 0.83，即模型在测试集上预测的真正类占总正类的 83.3%，可靠性较高，但仍存在 16.67% 的假阳性；召回率为 0.8824，表示模型成功预测出 88.24% 的真正类，可靠性较高；F1 分数为 0.8571，可靠性较高；准确率为 0.9167，表示模型在测试集上预测的整体准确率较高。

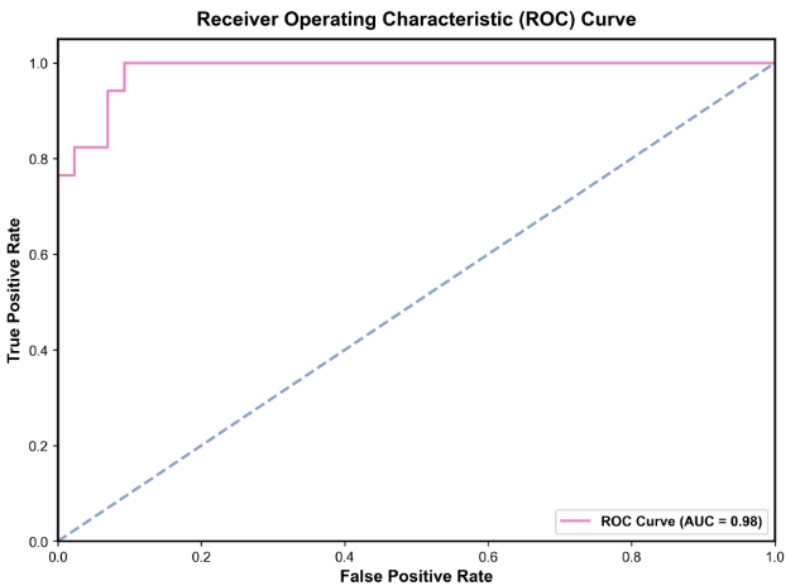


图 4-3 测试集的 ROC 曲线

粉色线表示 ROC 曲线，曲线下面积 (AUC) 为 0.98；蓝色虚线表示随机分类器的基准线 (AUC = 0.5)。

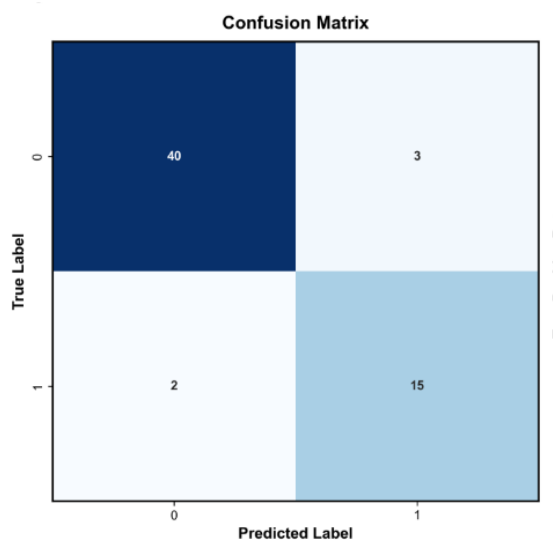


图 4-4 测试集的混淆矩阵

测试集的混淆矩阵显示，模型正确预测了 40 个负类样本和 15 个正类样本，错误预测了 3 个负类样本为正类样本以及 2 个正类样本为负类样本。

4.5 蒙特卡洛树搜索生成新分子

收集所有新生成分子中得分高于 0.6 的分子，并按照得分排序，选出排名前 1000 的分子。

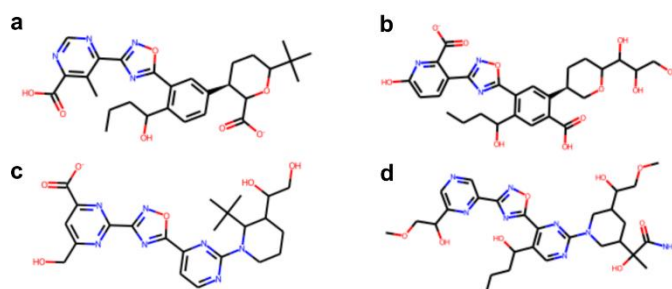


图 4-5 部分潜在药物分子的二维结构

4.6 ADMET 属性预测

对生成的新型抑制剂进行 ADMET 预测。

表格 4-2 部分潜在分子药物的各 ADMET 属性值在参考集上的百分数

分子编号	临床毒性	半衰期	水溶性	亲脂性	人体肠道吸收
a	15.58442	23.37662	36.36364	67.53247	15.58442
b	23.37662	15.58442	61.03896	29.87013	24.67532
c	31.16883	59.74026	57.14286	28.57143	6.493506
d	55.84416	77.92208	37.66234	59.74026	37.66234

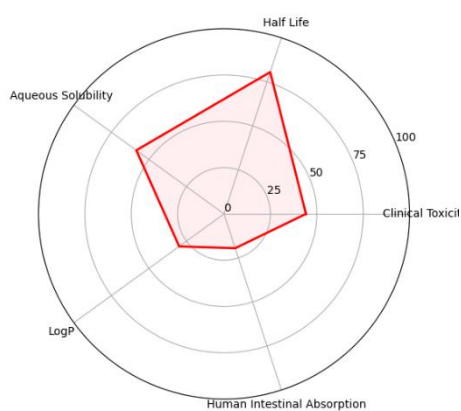


图 4-6 分子 a 各属性的雷达图

图中展示分子 a 在水溶性、脂溶性、人类肠道吸收、半衰期和临床毒性五个属性上的表现，数字表示在参考集上的百分数，红色区域表示分子 a 的属性分布。

5 总结与展望

本研究设计了一整套完整的计算框架来设计针对 HN 蛋白的 HPIV-3 小分子抑制剂。本套设计框架使用 AutoDock 分子对接、Chemprop 消息传递神经网络、蒙特卡洛树搜索方法和 ADMET 属性预测, 虚拟筛选并生成潜在的 HPIV-3 抑制剂。使用 AutoDock 进行分子对接成功筛选了 ZINC 数据库中已知的与 HN 蛋白结合位点有较高空间兼容性的分子骨架结构。使用 Chemprop 训练的基于消息传递神经网络的模型, 有效预测了小分子与 HN 蛋白结合的能力, 在包含 17 个已知抑制剂构成的测试集中获得 0.98 的 AUC 值和 0.8571 的 F1 分数。创新使用蒙特卡洛树搜索来探索新的化学空间, 以不同骨架与取代基为原料, 生成新的组合, 从而得到新的抑制剂小分子。最后通过 ADMET 属性预测成功筛选了在实际应用过程中有价值的 HPIV-3 小分子抑制剂。该设计流程结合了当下各种先进的计算结构生物学工具和人工智能模型, 使用虚拟筛选大大减少了药物设计的时间, 为后续的使用实验方法验证药物的研究提供了有力的预筛选方法。

虽然此设计流程成功生成了 HPIV-3 HN 蛋白的新型抑制剂, 但仍存在一些不足。首先, 使用 MCTS 生成新分子时只运用了 20 个起始分子, 对于每一个分子仅使用了 10 个独立搜索树和 1000 次迭代, 这个搜索量在巨大的化学空间中仍相对不足。同时, MCTS 对计算资源的要求较高, 如使用包含成千上万个起始分子的分子库作为输入, 需要的计算资源庞大。因此, 对于没有高性能计算使用权限的用户来说, MCTS 难以满足在短时间内充分对化学空间进行采样的需求。在 MTCS 的打分函数方面, MTCS 高度依赖由 Chemprop 训练出来的 MPNN 模型。该 MPNN 模型只由 430 个分子训练而成, 训练集规模较小。虽该模型在测试集上表现良好, 但仍可能无法充分对 MCTS 的搜索过程起到很大的引导作用, 也可能无法对 MTCS 生成的多样分子进行十分准确的结合能力的预测。在 MTCS 的 UCT 算法参数设置方面, 选择使用 0.7 的探索常数虽然是一个常用值, 但在具体任务中, 如何在探索新化学空间和利用现有的有潜力的区域之间找到最佳的平衡, 以及减少搜索陷入局部最优解现象的出现, 仍需要更多次的参数调试。

其次, 虽然本设计路线生成的 1000 个新分子均经过 RDKit 工具的化学合理性检验, 但仍有部分分子存在不合理的化学结构。同时, 生成的分子是否稳定, 是否

有生物活性，是否可以在实际生产中由简单的化学方法合成仍存疑。

最后，此药物设计仅仅在计算机上进行，没有经过任何实验操作的验证。Autodock 的对接过程以一个刚性的 HN 蛋白结构作为受体，即使在对接过程中加入可旋转的部分残基侧链，仍无法模拟实际情况中处于动态的 HN 蛋白和抑制剂小分子的结合过程。ADMET 属性预测虽使用了最先进的人工智能技术，但没有实验数据的支撑，预测结果只浮于理论层面。新生成的药物是否可以合成，是否可以和 HN 蛋白有效结合，是否对 HPIV-3 起到抑制作用均需要湿实验的抗病毒活性检测进一步探索。

参考文献

- [1] X. Wang et al., Global burden of acute lower respiratory infection associated with human parainfluenza virus in children younger than 5 years for 2018: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet. Global Health*. 2021, 9(8): e1077–e1087
- [2] M. Xu et al., Epidemiological Characteristics of Parainfluenza Virus Type 3 and the Effects of Meteorological Factors in Hospitalized Children With Lower Respiratory Tract Infection. *Frontiers in Pediatrics*. 2022, 10(): 872199
- [3] B. S. Pritt and M. C. Aubry, Histopathology of viral infections of the lung. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2017, 34(6): 510–517
- [4] V. K. Outlaw et al., Engineering protease-resistant peptides to inhibit human parainfluenza viral respiratory infection. *Journal of the American Chemical Society*. 2021, 143(15): 5958–5966
- [5] G. B. E. Stewart-Jones et al., Structure-based design of a quadrivalent fusion glycoprotein vaccine for human parainfluenza virus types 1–4. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018, 115(48): 12265
- [6] V. P. Chibanga et al., New antiviral approaches for human parainfluenza: Inhibiting the haemagglutinin-neuraminidase. *Antiviral Research*. 2019, 167(): 89–97
- [7] T. Eveno, L. Dirr, I. M. El-Deeb, P. Guillon, and M. von Itzstein, Targeting Human Parainfluenza Virus Type-1 Haemagglutinin-Neuraminidase with Mechanism-Based Inhibitors. *Viruses*. 2019, 11(5): 417
- [8] R. P et al., Design, Synthesis, and Antiviral Evaluation of Sialic Acid Derivatives as Inhibitors of Newcastle Disease Virus Hemagglutinin-Neuraminidase: A Translational Study on Human Parainfluenza Viruses. *ACS infectious diseases*. 2023, 9(3)
- [9] X. Chen et al., Drug repurposing to tackle parainfluenza 3 based on multi-similarities and network proximity analysis. *Frontiers in Pharmacology*. 2024, 15(): 1428925
- [10] D. Rogers and M. Hahn, Extended-Connectivity Fingerprints. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2010, 50(5): 742–754

- [11] P. Willett, J. M. Barnard, and G. M. Downs, Chemical Similarity Searching. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. 1998, 38(6): 983–996
- [12] D. Butina, Unsupervised Data Base Clustering Based on Daylight's Fingerprint and Tanimoto Similarity: A Fast and Automated Way To Cluster Small and Large Data Sets. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. 1999, 39(4): 747–750
- [13] G. W. Bemis and M. A. Murcko, The properties of known drugs. 1. Molecular frameworks. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1996, 39(15): 2887–2893
- [14] G. M. Morris et al., Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*. 1998, 19(14): 1639–1662
- [15] F. J. Solis and R. J.-B. Wets, Minimization by Random Search Techniques. *Mathematics of Operations Research*. 1981,
- [16] N. Srivastava, G. Hinton, A. Krizhevsky, I. Sutskever, and R. Salakhutdinov, Dropout: A Simple Way to Prevent Neural Networks from Overfitting. *Journal of Machine Learning Research*. 2014, 15(56): 1929–1958
- [17] W. S. McCulloch and W. Pitts, A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *The bulletin of mathematical biophysics*. 1943, 5(4): 115–133
- [18] H. Robbins and S. Monro, A Stochastic Approximation Method. *The Annals of Mathematical Statistics*. 1951, 22(3): 400–407
- [19] M. Stone, Cross-Validatory Choice and Assessment of Statistical Predictions. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*. 1974, 36(2): 111–133
- [20] G. Salton, The smart document retrieval project, in *Proceedings of the 14th annual international ACM SIGIR conference on Research and development in information retrieval*, in SIGIR '91. New York, NY, USA: Association for Computing Machinery, 1991, 356–358.
- [21] D. C. Blair, Information Retrieval, 2nd ed. C.J. Van Rijsbergen. London: Butterworths; 1979: 208 pp. Price: \$32.50. *Journal of the American Society for*

- Information Science*. 1979, 30(6): 374–375
- [22] J. A. Swets, Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science (New York, N.Y.)*. 1988, 240(4857): 1285–1293
- [23] J. Gilmer, S. S. Schoenholz, P. F. Riley, O. Vinyals, and G. E. Dahl, Neural Message Passing for Quantum Chemistry, in *Proceedings of the 34th International Conference on Machine Learning*, PMLR, 2017, 1263–1272.
- [24] K. Yang et al., Analyzing Learned Molecular Representations for Property Prediction. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2019, 59(8): 3370–3388
- [25] L. Kocsis and C. Szepesvári, Bandit Based Monte-Carlo Planning, in *Machine Learning: ECML 2006*, J. Fürnkranz, T. Scheffer, and M. Spiliopoulou, Eds., Berlin, Heidelberg: Springer, 2006, 282–293.
- [26] K. Swanson et al., ADMET-AI: A machine learning ADMET platform for evaluation of large-scale chemical libraries. *bioRxiv: The Preprint Server for Biology*. 2023, 2023.12.28.573531
- [27] J. J. Irwin and B. K. Shoichet, ZINC--a free database of commercially available compounds for virtual screening. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2005, 45(1): 177–182
- [28] W. Delano, The PyMOL Molecular Graphics System, 2002.
- [29] T. A. Bowden et al., Crystal Structure and Carbohydrate Analysis of Nipah Virus Attachment Glycoprotein: a Template for Antiviral and Vaccine Design. *Journal of Virology*. 2008, 82(23): 11628–11636
- [30] J. Wohllwend et al., Boltz-1 Democratizing Biomolecular Interaction Modeling, Nov. 20, 2024, *bioRxiv*.
- [31] J. Jiang et al., Functional analysis of amino acids at stalk/head interface of human parainfluenza virus type 3 hemagglutinin-neuraminidase protein in the membrane fusion process. *Virus Genes*. 2018, 54(3): 333–342

附录

表格 1-1 蒙特卡洛树搜索过程参数

参数	值
每个分子生成搜索树的数量 (NUM_TREES)	10
每个搜索树的迭代次数 (TOTAL_ITERATIONS)	1000
输出的分子数量 (NUM_TOP_MOLECULES)	1000
使用模型批量打分的分子数 (PREDICT_BATCH_SIZE)	100
最大取代次数 (MAX_SUBSTITUENTS)	4
最大子节点扩展数 (MAX_CHILDREN_PER_EXPANSION)	8
探索常数 (EXPLORATION_CONSTANT)	0.7
输出分子分数阈值 (SCORE_THRESHOLD)	0.5

致谢

感谢汪盛老师对本毕业设计的大力支持和细心指导！

感谢大学四年一直认真上进的自己！

现在回想起来，轻舟已过万重山。感谢失败，也感谢成功，让我明白：很多执着并无意义，如果事与愿违，那就是上天另有安排。那些真正属于我的，无需我声嘶力竭地追逐，亦无需我的妥协与牺牲；当我什么都不想要的时候，一切如期而至。

未来何如，我想说，我不知道，但我想：

独自去追落日

唱我喜欢的歌

在大陆边缘飞驰，飞驰

然后变得像飓风一样

不可阻挡