



**题 目 分子对接和基于结构的药物设计策略**

**姓 名\_\_\_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_**

**学 号\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**专 业\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

分子对接和基于结构的药物设计策略

摘要：药物研究已经成功地将丰富的分子建模方法应用于很多研究复杂的生物和化学体系的药物研究项目中。计算和实验策略的整合，在新的有前途的化合物的识别和开发中具有重要价值。分子对接是研究分子间（如配体和受体）相互作用并预测其结合模式和亲合力的一种理论模拟方法。近年来分子对接方法已成为计算机辅助药物研究领域的一项重要技术，在数据库搜寻、组合库设计及蛋白作用研究方面得到了广泛发展。

关键词：药物研究、分子建模方法、分子对接、计算机辅助药物、AutoDock

1引言

计算机辅助药物设计（computer-aided drug design, CADD）是利用计算机化学基本原理，通过模拟药物与受体生物大分子的相互作用或通过分析已知药物结构与活性内在关系，合理设计新型结构先导化合物的药物设计方法。基于受体结构的药物设计(structure-based drug design，SBDD)是计算机辅助药物设计的重要分支，随着X-射线衍射以及核磁共振等技术的发展，越来越多的生物大分子的三维结构被测定出来，SBDD也就更具现实意义。基于受体三维结构的药物设计方法有：全新药物设计(de novo drug design)和分子对接法(dock)，有人也将分子对接当作诸多全新药物设计方法中的一种。

2分子对接

2.1分子对接简介

分子对接（molecular docking）是通过研究小分子配体与受体大分子相互作用，预测其结合模式和亲和力进而实现基于结构的药物设计的一种重要方法。根据配体与受体作用的“锁钥原理”（lock and key principle），分子对接可以有效地确定与靶受体活性部位空间和电性特征互补匹配的小分子化合物。

分子对接法将小分子配体放置于受体的活性位点处，并寻找其合理的取向和构象，使得配体与受体的形状和相互作用的匹配最佳。在药物设计中，分子对接方法主要用来从小分子数据库中搜寻与受体生物大分子有较好结合性的小分子，进行药理测试，从中发现新的先导化合物。

2.2分子对接理论

2.2.1化学机理

配体-受体相互作用有许多决定因素。当配体和受体充分接近，配体可以慢慢对接到受体的活性位点。这需要配体和受体的相互识别。这种识别可能由配体和受体之间的静电相互作用促成，然后被氢键和范德华相互作用加强。结合时，水分子将被替换，当然有一些水分子可能会保留在接口部分影响到对接。此外，配体和受体的结合通常还伴随着整个蛋白质分子中部分原子的小范围移动。

配体-受体相互作用常常描述成焓-熵补偿，其中焓驱动紧密结合，熵驱动松弛结合。焓的驱动包括静电、氢键和范德华相互作用。熵驱动有几种产生原因，如配体-受体结合时伴随的熵减过程，包括平动熵和转动熵。此外，由于结合过程存在配体-受体相互作用和配体-溶剂、受体-溶剂相互作用之间的竞争。因此，配体和受体周围的溶剂对于他们的结合也有非常重要的影响，通常在极性溶液和非极性溶液中配体和受体受到的亲和力有着很大的差异。另外，离子强度和环境的pH值会影响受体和配体之间的静电相互作用，从而影响配体-受体的相互结合。

2.2.2分子表征(Molecular representation)方法

分子表征方法一般分为3种：原子表征法(atomic representation)、表面表征法(surface representation)和网格表征法(grid representation)。原子表征法是通过函数计算分子相互作用，此种表征方法最准确，但是计算复杂且耗时长，常常被用在分子对接最后的排序过程。在大分子间的对接算法中，多用分子表面表征方法。与原子表征相比，表面表征极大降低了计算复杂度，并提高了运算速度。网格表征法是分子对接中各参数预处理的计算方式，先将受体结合位点区域划分为网格，在网格点上存储受体的理化性质，因此计算时不用累读数据，从而能够极大提高运算速度，但准确性不及前两种方法。

2.2.3对接机制

分子对接机制大致可分为3类：①刚性对接机制：对接过程中，假设整个体系(受体与配体)的构象不发生变化。这种简化机制比较适合大分子之间的对接，具有计算速度较快的优点。②柔性对接机制：对接过程中，受体与配体构象都可自由变化。这种机制最能精确计算对接结果，但由于搜索空间太大，导致计算时间过长，效率较低。③半柔性对接机制：对接过程中，假定受体为刚性，结构不发生变化，配体则具有一定柔性。该方式比较适合处理小分子和大分子间的对接，为目前分子对接方法中较为常用的一种方法。

2.2.4分子对接构象搜索方法

分子对接的目的是找到底物分子和受体分子的最佳结合位置。因此，分子对接面临的最重要的问题就是如何找到最佳的结合位置以及如何评价对接分子之间的结合强度。当然，这两个问题也是相互关联的。如何找到最佳的结合位置就要牵涉到构象搜索方法。常用的构象搜索方法有系统搜索法和非系统搜索法。系统搜索法通过系统的改变每一个扭转角产生所有可能的构象，从中挑选出能量较低的构象，但计算量非常大。所以通常使用非系统搜索法来寻找能量较低构象，常用方法有：（1）分子动力学方法（Molecular dynamics，MD）；（2）随机搜索（Random search）；（3）遗传算法（Genetic algorithm，GA）；（4）距离几何算法（Distance geometry，DG）等。随机搜索又包含：（1）完全随机算法；（2）蒙特卡罗法（Monte Carlo，MC）；（3）模拟退火法（Simulated annealing，SA）。

2.3分子对接软件

2.3.1概述

AutoDock，SLIDE，DOCK和最近发布的AutoDock Vina，是几种主要的分子对接软件。虽然这些软件采用不同的搜索算法与打分函数来进行分子对接计算，但其功能都较为相似且囊括了分子对接领域的最新研究成果。例如现今这些软件中，配体和受体都可选用柔性对接模式。用户既可选用不同构象的配体来进行分子对接，也可选用不同构象的受体进行分子对接。下文中重点介绍AutoDock。

2.3.2 AutoDock

AutoDock由Scripps研究所Olson课题组开发，是目前应用最为广发的分子对接软件之一。AutoDock其实是一个软件包，其中主要包含AutoGrid和AutoDock两个程序。其中AutoGrid主要负责格点中相关能量的计算，而AutoDock则负责构象搜索及评价, 目前最新的版本为4.01。

AutoDock采用多种功能来实现分子对接：高水准的打分函数(包含广泛使用的Amber分子力场等)、基于网格的刚性分子对接、柔性对接受体活性中心(其构象可改变)、通过拉马克遗传算法搜索最高结合亲和性的配体位置、取样与次好策略相结合来解决潜在的全局最优化问题等。

2.3.2.1评价函数

AutoDock的评价函数包括经验势能函数以及经验结合自由能。

1.经验势能函数

AutoDock的经验势能函数包括三项：静电作用、范德华作用和氢键作用。静电作用形式为

其中为与距离有关的介电常数，采用sigmoid函数形式

其中B=-A;=78.4(水在25℃时的介电常数)；A=8.5525；=0.003627;k=7.7839。

范德华作用采用Lennard—Jones形式

以及是原子类型有关参数。

氢键采用Lennard—Jones形式

以上二式中和分别为参数,氢键参数和范德华参数都来自AMBER力场。

2.经验结合自由能

AutoDock的经验结合自由能评价函数包括5项:

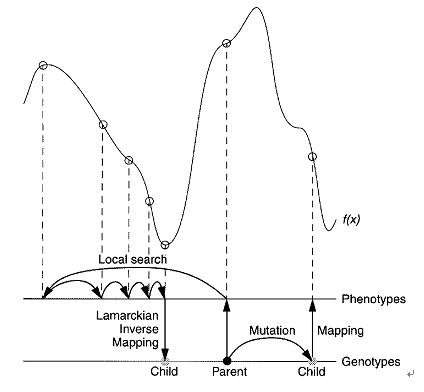
其中右边的△G是与实验拟合得出的各项系数，第一项是由配体与受体之间的范德华作用引起的结合自由能；第二项是由氢键作用引起的结合自由能；第三项是由静电作用引起的结合自由能；第四项是由配体的内旋转自由能被冻结而引起的结合自由能变化；第五项是由于配体与受体结合的去溶剂化效应引起的结合自由能。现在己发展了多种配体-受体结合自由能的经验计算方法，这是计算生物学和药物设计中的一个重要研究课题。

经验结合自由能相对于经验势函数的优势是前者的得分能够直接与配体的抑制常数相关,

其中是抑制常数，R是气体常数，T为热力学温度。

2.3.2.2柔性搜寻方法

AutoDock在早期版本中使用的是模拟退火算法（Simulated Annealing Algorithm）来寻找配体与受体最佳的结合位置状态，而从3.0版本开始使用一种改良的遗传算法，即拉马克遗传算法（Lamarckian Genetic Algorithm，LGA）。测试结果表明，LGA比传统的遗传算法和模拟退火具有更高的效率。在LGA方法中，作者把遗传算法和局部搜索（Local search）结合在一起，遗传算法用于全局搜索，而局部搜索用于能量优化。LGA算法引入了拉马克的遗传理论，这个操作过程可下图。

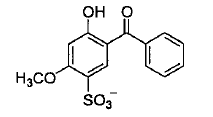


LGA算法操作过程图

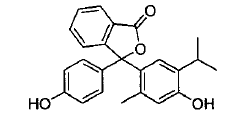
2.4分子对接应用案例

2.4.1胸苷酸合成酶

胸苷酸合成酶是抗增殖和抗癌试剂的一个靶标，因为它在脱氧胸苷一磷酸(dTMP)的合成中起着至关重要的作用，由此也影响DNA的合成。利用DOCK对精细化学品数据库 (Fine Chemical Directory,现已与MDL／ACD合并)进行搜寻，所采用的打分函数包括范德华作用能和静电作用能。然后对得分较高的化合物进行溶剂化校正，并重新排序。DOCK搜寻到底物、一些与已知的抑制剂有关的化合物以及一些新的化合物。胸苷酸合成酶与舒利苯酮的复合物的二个晶体结构被解析出来，这些结构显示，酶的磷酸结合位点没有被磺酸基占据，而是被溶剂中的一个阴离子占据。这二个结构使得人们注意到胸苷活性位点中一些以前没有研究的区域，利用DOCK将一些与舒利苯酮(sulibenzone) 结构相似的化合物对接到这个区域，发现了一些活性更高的化合物，例如，酚百里酚酞(phenolthymol—phthalein)，其IC50为7um。



对胸苷酸合成酶进行DOCK搜寻发现舒利苯酮的结构



对胸苷酸合成酶进行进一步DOCK搜寻发现酚百里酚酞的结构。

2.4.2流行感冒血凝素

流行感冒病毒是以病毒的糖蛋白血凝素为媒介进入宿主的，血凝素在核内低pH值条件下会发生构象转换，导致病毒膜与核膜的融合。因此，有可能利用某些化合物阻断由血凝索引起的膜融合，从而防止流感病毒的感染。为寻找这样的化合物，对血凝素蛋白的高pH值形态进行了DOCK研究，搜寻出的靶标位点并非一个经典的结合位点，只是因为它与血凝素蛋白中与融合有关的部位结构相似。搜寻只采用形状打分函数，首先由精细化学品数据库(Fine Chemical Directory)的55000个化合物中粗选出5000个化合物，然后进一步对这5000个化合物更细致的搜寻(打分函数稍有区别)，并利用分子图形学检查其中得分较高的几百个分子，最后选择其中的43个进行药理测试。其中一个化合物能可逆地抑制血凝素的构象转换，阻断由病毒引起的血细胞溶解。但这个化合物毒性太大，没有进行进一步的抗病毒测试。但它的一个同系物具有相似的抑制构象转换的能力，并且具有体内活性



（a）DOCK最初找到的能够抑制由PH值变化引起的血凝素的构象转换的化合物结构



(b)进一步搜寻得到的先导化合物的类似物，在体内有抗病毒活性。

3问题与展望

作为一种有效的先导化合物发现方法，分子对接模拟计算已被广泛应用于药物研究的诸多领域。但尽管如此，目前开发的分子对接程序仍然存在许多大的挑战。除去评价函数的局限性和假阴性现象，配体及受体的柔性是制约目前程序可靠性指标的主要因素。目前所使用的对接程序多数只考虑配体的柔性，而实际结合过程中由于配体和受体的“诱导契合”作用，受体分子的构象也会有很大变化。因此，受体分子的柔性问题将是未来对接程序发展的又一大的挑战。

随着计算机技术日新月异的发展，基于分子对接模拟计算的辅助药物研究必将成为现代药物发现必不可少的重要手段。而且，可以预见，未来的新药研究将是一场革命性的信息的研究，而计算机辅助方法无疑是有效集成并合理应用各类信息群集的重要工具。

参考文献：

1. Leonardo G. Ferreira, Ricardo N.dos Santos, Glaucius Oliva and Adriano D.Andricopulo. Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies.Molecules2015,20, 13384-13421;

2. Halperin I, Ma B, Wolfson H, et al. Principles of docking:An overview of search algorithms and a guide to scoring functions[J]. Proteins, 2002, 47(4): 409-443.

3. Kitchen D B, Decornez H, Furr J R, et al. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications [J]. Nat Rev Drug Discov, 2004, 3(11): 935- 949.

4.分子对接在药物设计中的应用；罗小民博士学位论文，指导教师：陈凯先;蒋华良。中国科学院上海药物研究所2000.6.1

5．Goodsell DS，Olson AJ．Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing．Proteins 1990，8(3)：195-202．

6.Goodsell DS，Morris GM，Olson AJ Automated docking of flexible ligands：applications of AutoDock．J Mol Recognit 1996，9(1)：1-5．

7．Morris GM，Goodsell DS，Halliday RS，Huey R，Hart W E，Belew R K，Olson AJ．Automated Docking Using a Lamarckian Genetic Algorithm and Empirical Binding Free Energy Function．J Computational Chemistry 1998．19：1639-1662．

8．Bodian DL，Yumasaki Rb，Buswell RL,，Stearns．JF，White JM，Kuntz ID．Inhibition of the fusion-inducing conformational change of influenza hemagglutinin by benzoquinones and hydroquinones．Biochemistry 1993，32(12)：2967-2978．

9．Shoichet BK，Stroud RM，Santi DV，Kuntz ID，Perry KM．Structure—based discovery of inhibitors of thymidylate synthase．Science 1993，259(5100)：1445-1450．

10. Drwal,M.N.;Griffith,R.Combination of ligand-and structure-based methods in virtual screening.Drug Discov. Today Technol. 2013, 10, e395–e401.

11. Huang,S.Y.;Zou,X.Advances and challenges in protein-ligand docking.Int.J. Mol. Sci. 2010,11, 3016–3034.