

# 羟基异吲哚酮类衍生物与 HIV-1 整合酶的分子模拟研究

杜文义<sup>1</sup>, 胡建平<sup>1,2\*</sup>, 左柯<sup>1</sup>, 刘嵬<sup>1</sup>, 梁立<sup>1</sup>, 代田洋<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>成都大学, 四川抗菌素工业研究所, 药食同源植物资源开发四川省高校重点实验室, 成都 610106;

<sup>2</sup>乐山师范学院化学学院, 乐山 614004)

**摘要** 为了研究羟基异吲哚酮类衍生物与 HIV-1 整合酶识别的机制以及构象变化, 采用 AutoDock 对 58 个羟基异吲哚酮类衍生物与整合酶进行了分子对接, 并对抑制 HIV-1 整合酶活性较好的两个化合物所形成的复合物模型分别进行了 16 ns 的分子动力学模拟。基于对接复合物模型分析给出了化合物与整合酶结合的主要作用力, 通过分析氢键以及构象的变化, 发现氨基酸残基 N155 与 D64 之间的氢键是维持整合酶催化活性所必需的 DDE 基序结构稳定的关键。另外, 氨基酸残基 Y143 所在的 loop 区与羟基异吲哚酮类衍生物之间的疏水作用力在受体-配体识别的过程中具有重要的作用。

**关键词** 羟基异吲哚酮类衍生物; 分子对接; 分子动力学模拟; HIV-1 整合酶; 构象分析

**中图分类号** Q5; R9    **文献标志码** A    **文章编号** 1000-5048(2016)05-0551-09

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20160508

**引用本文** 杜文义, 胡建平, 左柯, 等. 羟基异吲哚酮类衍生物与 HIV-1 整合酶的分子模拟研究 [J]. 中国药科大学学报, 2016, 47(5): 551–559.

**Cite this article as:** DU Wenyi, HU Jianping, ZUO Ke, et al. Molecular simulation study on the recognition between hydroxy isoindolin ketone derivatives and HIV-1 integrase [J]. J China Pharm Univ, 2016, 47(5): 551–559.

## Molecular simulation study on the recognition between hydroxy isoindolin ketone derivatives and HIV-1 integrase

DU Wenyi<sup>1</sup>, HU Jianping<sup>1,2\*</sup>, ZUO Ke<sup>1</sup>, LIU Wei<sup>1</sup>, LIANG Li<sup>1</sup>, DAI Tianyang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Medicinal and Edible Plants Resources Development of Sichuan Education Department, Sichuan Industrial Institute of Antibiotics, Chengdu University, Chengdu 610106; <sup>2</sup>School of Chemistry, Leshan Normal University, Leshan 614004, China

**Abstract** To discuss the conformational change and the recognition mechanism of hydroxy isoindolin ketone derivatives with HIV-1 integrase, fifty-eight hydroxy isoindolin ketone derivatives were docked to the integrase using AutoDock program. Molecular dynamics simulation with 16 ns was carried out for the two complex modes, respectively, in which the corresponding small molecules exhibited strong inhibition ability. Main force acting on the association of small molecules with integrase was explored based on the docking complex model. After analyzing the hydrogen-bond and conformational changes, it was found that the hydrogen-bond between N155 and D64 was the key factor maintaining the DDE motif stability. Furthermore, the hydrophobic interactions between the loop region where Y143 located and the hydroxy isoindolin ketone derivatives were found to play an important role for their recognition.

**Key words** hydroxy isoindolin ketone derivatives; molecular docking; molecular dynamics simulation; HIV-1 integrase; conformation analysis

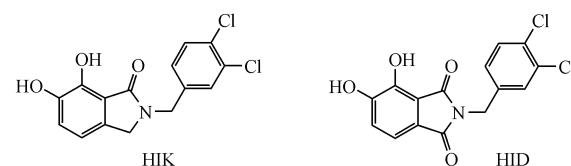
This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 11247018, No. 11147175); the Key Project of

Scientific Research of the Department of Education of Sichuan Province (No. 12ZA066); and the Science and Technology Planning Project of Leshan (No. 14SZD018)

艾滋病最早于19世纪80年代初在美国被发现,并在Gallo等<sup>[1]</sup>的努力下发现其病原是人类免疫缺陷病毒(HIV)<sup>[2-3]</sup>。HIV分为HIV-1和HIV-2亚型,二者核苷酸序列的同源性为40%~60%。目前,全球流行的主要HIV-1病毒。据世界卫生组织报道<sup>[4]</sup>,截至2013年,全世界有超过3500万人感染了HIV-1病毒。

HIV-1的基因可以编码3种酶<sup>[5]</sup>:逆转录酶(reverse transcriptase, RT)、整合酶(integrase, IN)和蛋白酶(protease, PR)。其中IN是一个由288个氨基酸残基组成的蛋白,折叠成3个结构域,分别是N末端结构域(N-terminal domain, NTD)、C末端结构域(C-terminal domain, CTD)和催化核心结构域(catalytic core domain, CCD)<sup>[6]</sup>。其中CCD含有IN催化活性所必需的,由D64、D116和E1523个酸性氨基酸残基所组成的基序(DDE基序),该基序是高度保守的,任何一个发生突变都会破坏酶的活性,从而影响病毒的正常复制。IN能介导逆转录病毒DNA整合到宿主细胞DNA上,整合过程包括两步反应:第一步为3'端加工(3'-processing, 3'-P)反应,在宿主细胞内,IN切除HIV病毒DNA3'末端的2个核苷酸,使末端碱基上的羟基暴露出来,为第二步反应做准备;第二步是链转移(strand transfer, ST)反应,在细胞核内,IN交错切割宿主细胞DNA,然后病毒DNA的3'末端的羟基与宿主细胞DNA的5'端通过共价键连接,形成一个整合后的新DNA,并随着宿主DNA的复制而复制,进而完成HIV-1的复制繁殖。

Zhao等<sup>[7]</sup>对羟基异吲哚酮类衍生物做了体外IN的试验,结果显示该类化合物对IN有较好的抑制作用。但是该类化合物与IN的结合能、识别驱动力以及结合过程中的构象变化情况尚不明确,本研究联合使用分子对接以及分子动力学(molecular dynamics, MD)模拟的方法对这些问题展开研究。用于MD模拟的羟基异吲哚酮类衍生物[2-(3,4-dichlorobenzyl)-6,7-dihydroxyisoindolin-1-ketone, HIK]和羟基异吲哚二酮类衍生物[2-(3,4-dichlorobenzyl)-4,5-dihydroxyisoindolin-1,3-diketone, HID]的化学结构见图1。



**Figure 1** Structure of 2-(3,4-two chloro benzyl)-6,7-two dihydroxy isoindol-1-ketone (HIK) and 2-(3,4-two chloro benzyl)-4,5-two dihydroxy isoindol-1,3-diketone (HID)

## 1 体系与方法

### 1.1 分子对接

分子对接采用AutoDock4.2软件包,它由AutoGrid和AutoDock两个程序组成,采用拉马克遗传算法(Lamarckian Genetic Algorithm, LGA)作为优化方法,分子对接中充分考虑了蛋白质侧链柔性和小分子单键旋转。

Wielens等<sup>[8]</sup>用X衍射得到HIV-1 IN的晶体结构(PDB代码为3L3U),分辨率为1.4 Å。先删除HIV-1 IN晶体结构中的B链和水分子,仅保留A链作为分子对接所需受体。对接时选择D52、D116和E152这3个关键氨基酸残基的质心为对接格子中心,每次对接采集128个构象。在Linux系统下运行AutoDock 4.2进行分子对接,对128个对接结果进行结构簇,将最大簇中能量最低构象定义为近天然对接结果。用AutoDock Tools查看对接结果,而三维结构显示和分析则在Pymol<sup>[9]</sup>中进行。

### 1.2 分子动力学模拟

把HIV-1 IN<sup>[8]</sup>与HIK和HID配体分子对接后的复合物作为MD模拟的初始构象。MD模拟采用AMBER 12程序,力场是AMBER力场,蛋白质的力场参数均基于实验值拟合。模拟温度为300 K,溶剂采用TIP3P水模型<sup>[10]</sup>。首先在溶质HIK和HID外围加上1.0 nm的去头八面体水盒子,总共加入了4 864和4 851个水分子,含水后体系的总原子数分别为16 939和16 899。

在模拟之前,对体系进行了两次能量优化:约束溶质(约束力常数为 $2.09 \times 10^5$  kJ/mol)和去约束优化。为了体系模拟的稳定性,MD模拟也分为两步:

首先进行 1 ns 的约束溶质 MD 模拟(约束力常数为  $4.18 \times 10^3 \text{ kJ/mol} \cdot \text{nm}^2$ ),体系温度从 0 K 逐步升高至 300 K;再进行 15 ns 无约束恒温 MD 模拟。采用 SHAKE 算法<sup>[11]</sup> 约束键长,MD 模拟的积分步长为 2 fs,非键相互作用截断半径设为 1.0 nm,每隔 1 ps 采集一次构象,共采集 16 000 个构象,用 VMD 软件包监控 MD 模拟的构象变化动态过程。

### 1.3 自由能曲面

自由能曲面(free energy landscape, FEL)可以提供一种蛋白质动力学的定量描述,是从反应坐标对联合概率的贡献率而得到。其中,主成分分析(principal component analysis, PCA)可以用来描述体系中最重要的动力学过程<sup>[12]</sup>。自由能的定义为:

$$\Delta G(X) = -k_B T \ln P(x)$$

其中,反应坐标  $X$  表示 PC,  $k_B$  是玻尔兹曼常数,  $T$  是绝对温度,  $P(x)$  是体系对整体 PC 的贡献值。在本工作中,把第一和第二主成分作为反应坐标,并联合使用后面的成簇分析来讨论体系的构象变化信息。

### 1.4 成簇分析

对复合物体系 MD 模拟所得的 16 000 个分子构象进行成簇分析,分析采用 MMTSB 工具<sup>[13]</sup>,计算思路为:逐个计算各个构象间的 RMSD 值,随后

建立 RMSD 矩阵( $N \times N$ ,  $N$  为构象的个数)。设定一个 RMSD 阈值,如果两个构象之间的 RMSD 小于该阈值,则将它们归为一簇。本研究定义的 RMSD 域值为 0.16 nm,该域值小于常规显含水 MD 模拟大致所能到达的 RMSD 极大值,能较好区分各簇的构象差异,通过确定每簇的代表性结构,能有效分析体系的构象特异性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 分子对接

本工作将 58 个羟基异吲哚酮类衍生物<sup>[7]</sup>与 HIV-1 IN 进行了分子对接,表 1 给出了所有小分子配体的分子结构、结合能以及实验测定的 ST 反应的  $\text{IC}_{50}$ 。

基于表 1 提供的结合自由能  $\Delta G$  的数据与实验测定的  $\text{IC}_{50}$ ,图 2 给出了二者之间的相关性。从图 2-A 中可以看出,整体相关性为  $R = 0.05$ ,可见抑制剂的抑制活性难以从对接的结合自由能数据来预测。但是从图 2-B 中可以看出,在  $\lg \text{IC}_{50}$  低于 0(即  $\text{IC}_{50} \leq 1 \mu\text{mol/L}$ )的时候,28 个抑制活性较高的样本与其结合自由能的相关性为  $R = 0.18$ ,相比之前有显著的提升。尽管这有样本数降低的因素,但是可以证明,在  $\text{IC}_{50}$  较低的情况下,分子对接的结合能可以在一定程度上反映小分子的抑制活性。

**Table 1** Molecular structure, binding energy and the  $\text{IC}_{50}$  value of the strand transfer (ST) reaction determined by the experiments

No.	$R_1$	$R_2$	$R_3$	$R_4$	$R_5$	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol/L})$	$\Delta G/(\text{kcal/mol})$	Molecular structure																																																																	
								$R_1$	$R_2$	$R_3$	$R_4$	$R_5$																																																													
1	H	H	H	H	H	12	-4.82																																																																		<img alt="Chemical structure of compound 1: 2-hydroxy-3-(4-hydroxy-2-methyl-5-oxo-1,2-dihydro-3H-indol-3-yl)-5-oxo-1,2-dihydro-3H-indol-3-ylmethane. It features two indole rings connected at their 3-positions. The first indole ring has a hydroxyl group at position 2 and a methyl group at position 4. The second indole ring has a hydroxyl group at position 2 and a methyl group at position 5. Both rings

(Continued)

No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	IC <sub>50</sub> /μmol/L	$\Delta G$ /kcal/mol	Chemical structures of compounds 18–29					
								R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	
18	H	Cl	Cl	H	H	0.1	-5.63	H	Cl	Cl	H	H	
19	Cl	H	F	H	H	2.5	-5.06	Cl	H	F	H	H	
20	H	Cl	H	H	F	1.2	-4.59	H	Cl	H	H	F	
21	F	Cl	H	H	H	2	-4.86	F	Cl	H	H	H	
22	F	H	H	H	Cl	18	-5.12	F	H	H	H	Cl	
23	H	F	F	F	H	4	-5.06	H	F	F	F	H	
24	F	F	F	H	H	2.7	-5.15	F	F	F	H	H	
25	H	F	F	H	F	3.7	-5.14	H	F	F	H	F	
26	F	F	H	H	F	25	-4.98	F	F	H	H	F	
27	Cl	F	H	H	F	8.9	-5.23	Cl	F	H	H	F	
28	H	Cl	F	H	F	4.4	-5.13	H	Cl	F	H	F	
29	F	F	F	F	F	8	-5.12	F	F	F	F	F	

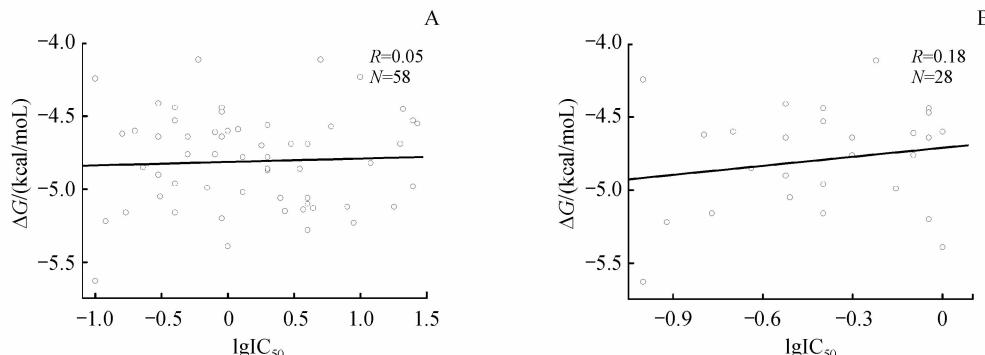


Figure 2 Relativity of binding free energy and tested  $\lg IC_{50}$  between all docking samples (A) and high activity inhibitors (B)

图3给出了 HIK 和 HID 分子对接后的结合模式,黄色虚线表示氢键。从图3可以看出,两个小分子结构中的羰基 O 均与 DDE 基序中 E152 形成了氢键,并且异嘌呤的苯环上的两个羟基与 N144 和 Y143 形成了氢键,这可能是该类化合物与 HIV-1 IN 普适的结合模式。文献[14]中也提到多羟基

芳香基团能在抑制 HIV-1 整合酶的 ST 反应中起到重要的作用。然而,由于计算机模拟存在一定的误差,分子对接的打分与抑制活性不存在明显的相关性,因此本文通过分析 PDB 结构中自带的底物的结合信息来证明对接模型的合理性。

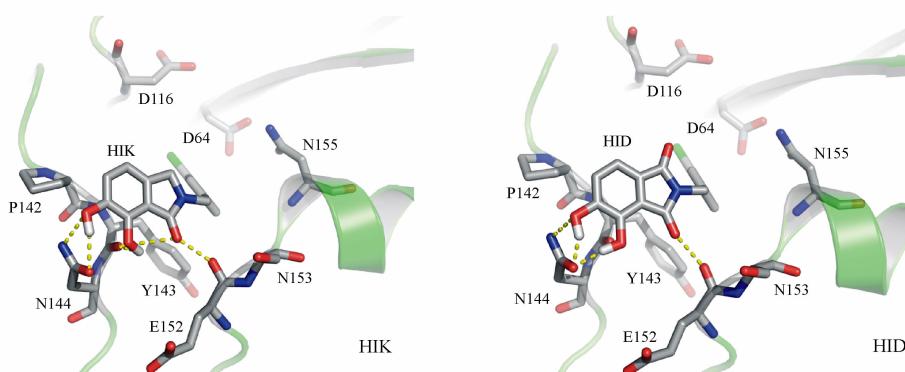


Figure 3 Binding modes of the molecular docking results of HIK and HID

考虑到 HIV-1 整合酶的 PDB 中的底物大多不是 HIV-1 的抑制剂, 同时 Hare 等<sup>[15]</sup>已经证明了 PFV 整合酶与 HIV-1 整合酶在结构和功能上具有很高的同源性, 并且 Hu 等<sup>[16~17]</sup>也使用 BLAST 程序计算了 HIV-1 整合酶的 CCD 区域的 151 个氨基酸和 PFV-IN 核心区域的 145 个氨基酸的同源程度(打分、E 值和相似度分别是 48.9,  $4 \times 10^{-13}$  和 38%), PFV-IN 中具有最大同源性的区域是 K180 ~ L234(包括催化核心 loop 区 E207 ~ E221, 以及 DNA 结合位点 D185 和 E221), 特别值得一提的是两个系统中的 DDE 基序基本保持不变, 因此可以使用 PFV-IN 的 PDB 结构中的底物来证明本研究

中 HIV-1 IN 与羟基异吲哚酮类衍生物对接模型的合理性。表 2 列出了所有具有抑制剂底物的 PFV-IN 的结构信息。分析表中数据可知, 所有的小分子底物的接触残基都包含 D128, D185, P214, Q215 和 E221, 序列比对的结果<sup>[16]</sup>也表明它们分别与 HIV-1 IN 的 CCD 中的 D64, D116, P145, Q146 和 E152 对应, 结果与图 3 中的对接口袋的信息基本一致。另外, 最近的文献<sup>[18]</sup>中也提到 D64, D116, N144, Q146, Q148 和 E152 所组成的口袋是 HIV-1 IN 的 3 个结合位点之一, 口袋信息与图 3 的结合信息完全一致。因此本实验用 Autodock 对接得到的模型是合理的。

**Table 2** Informations of PFV integrase containing substrates in Protein Data Bank and the contact residues of corresponding substrate

PDB ID	Resolution (Å)	Substrate	Sequence	Contact residues(4 Å)
3l2u	3.15	ELV	A:A10-H374;B:D116-F278	D128,D185,Y212,H213,P214,Q215,E221
3l2v	3.20	RLT	A:A10-H374;B:D116-F278	D128,D185,Q186,Y212,P214,Q215,E221
3l2w	3.20	ELV	A:A10-H374;B:D116-F278	D128,D185,Y212,H213,P214,Q215,E221
3oya	2.65	RLT	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,D186,Y212,P214,Q215,E221
3oyb	2.54	ZZX	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,G187,Y212,P214,Q215,E221
3oyc	2.66	ZZW	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,Y212,P214,Q215,E221
3oyd	2.54	ZZV	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,G187,Y212,H213,P214,Q215,E221
3oye	2.74	ZYY	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,Y129,D185,Q186,Y212,H213,P214,Q215,E221
3oyf	2.51	ZYP	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,Y212,P214,Q215,E221
3oyg	2.56	ZY0	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,G187,Y212,P214,Q215,E221
3oyh	2.74	ZYN	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,Y212,P214,Q215,E221
3oyj	2.68	ZZX	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,G187,Y212,P214,Q215,E221
3oyl	2.54	ZZX	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,G187,Y212,P214,Q215,E221
3oyn	2.68	ZZX	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,G187,Y212,P214,Q215,E221
3s3m	2.49	DLU	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,Q186,G187,Y212,P214,Q215,E221,R329
3s3n	2.49	DLU	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,G187,Y212,P214,Q215,E221,R329
3s3o	2.55	DLU	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,Y212,P214,Q215,E221,R329
4bdf	2.52	CIJ	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,P214,Q215,E221
4bdz	2.85	19C	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,P214,Q215,E221
4be0	2.68	BF3	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,P214,Q215,E221
4be1	2.71	CI4	A:L8-Q375;B:D116-R299	D128,D185,P214,Q215,E221

分子对接仅得到了 58 个复合物较稳定的结合模式, 它们在水溶液中如何调整, 以及有怎样的运动模式, 尚不得知。通过分析表 1 中 58 个小分子的对接结果, 发现 18a(HIK) 和 18b(HID) 的对接结合能是两类化合物中最低的, 具有一定的研究意义, 后面将以 HIK 和 HID 为例进行较长时间的显含水 MD 模拟, 对上述问题进行研究。

## 2.2 分子动力学模拟收敛参数

图 4-A 给出了 IN-HID 和 IN-HIK 体系在分子模拟的过程中势能随时间的变化情况。由图 4-A 可知, IN-HID 和 IN-HIK 两个体系的势能变化几乎

一样[分别是  $-(2.07 \times 10^5 \pm 469.3)$  kJ/mol 和  $-(2.08 \times 10^5 \pm 474.1)$  kJ/mol], 波动幅度为 2.2% 和 2.3%, 由于体系总原子数较多, 所以从整体上来看, 两个体系的分子模拟过程平稳可靠。

方均根偏差 (root mean square deviation, RMSD) 表示某一时刻的构象与目标构象所有原子偏差的加和, 是衡量体系是否稳定的重要依据。图 4-B 给出了体系的 C<sub>α</sub> 原子的 RMSD 随时间的变化。从整体来看, 两体系的 RMSD 在 4 ns 后基本达到平衡, 分别是  $(0.22 \pm 0.02)$  和  $(0.18 \pm 0.01)$  nm, 涨落幅度为 7.9% 和 7.8%。从图中可

以看到,在9.5 ns以后,两体系的 RMSD 差距变大,具体来说,分别是( $0.22 \pm 0.02$ )和( $0.17 \pm 0.01$ )nm,这表明体系在9.5 ns后,构象发生了一个较为明显的变化,这可能与IN的抑制机制有一定的关联。

方均根涨落 (root mean square fluctuation, RMSF) 可用来反映体系在模拟过程中相对于平均结构所发生的构象变化,数值越大,对应的区域柔性越大。图 5-A 给出了两个体系整体  $C_\alpha$  原子 RMSF 分布。从图中可以看出,L68 ~ V72、P90 ~ Q95、T125 ~ A133、S147 ~ V150、V165 ~ L172 和 R187 ~ G1926 个区域的涨落较大,通过 VMD 观察

模拟过程可知,L68 ~ V72、R187 ~ G192 和 V165 ~ L172 均暴露在水环境中,T125 ~ A133 是一段偏离质心较多的  $\alpha$  螺旋,P90 ~ Q95 和 S147 ~ V150 处于 loop 区,与周围残基作用较弱,实验证明 S147 ~ V150 中 Q148 参与了病毒与 DNA 的整合<sup>[19]</sup>,推测该区域较大的运动幅度与 IN 的整合作用相关。图 5-B 给出了两个体系 RMSF 的相关性,相关系数  $R = 0.76$  ( $N = 151$ ),具有显著相关性,表明结合不同的抑制剂对 HIV-1 IN 整体的柔性影响不大。另外,根据 RMSF 与实验的 B 因子之间较好的相关性,分别是 0.34 和 0.31,证明整个柔性分析具有较高的可靠性。

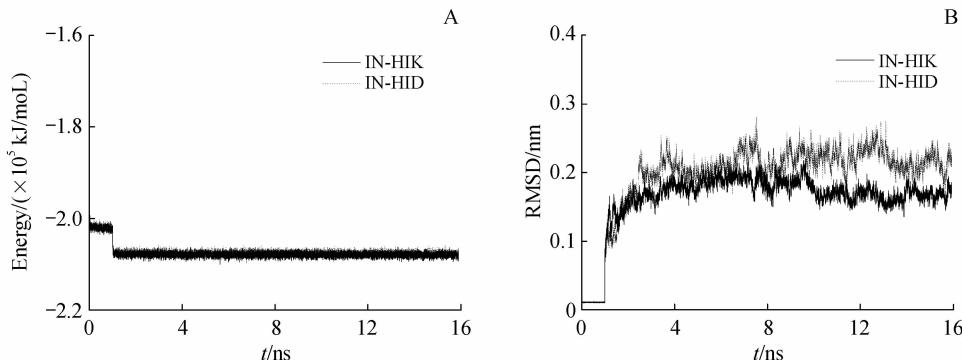


Figure 4 Energy (A) and RMSD of the  $C_\alpha$  atoms (B) in IN-HIK and IN-HID systems versus simulation time

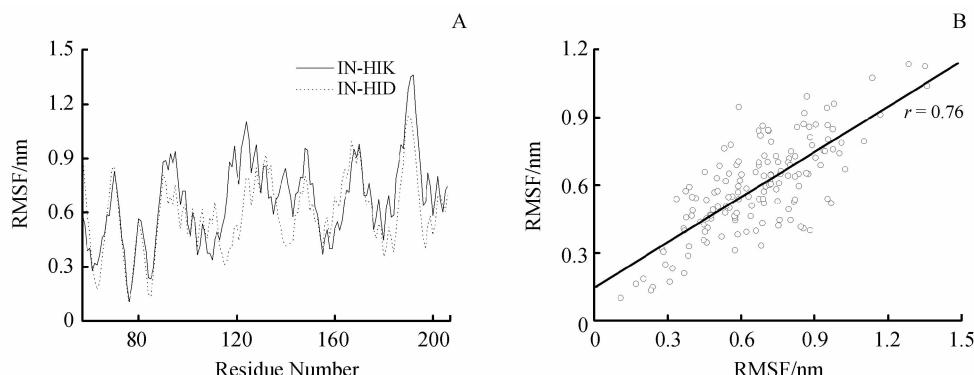


Figure 5 RMSF distribution of the  $C_\alpha$  atoms (A) and the correlation (B) in the IN-HIK and IN-HID systems

### 2.3 氢键分析

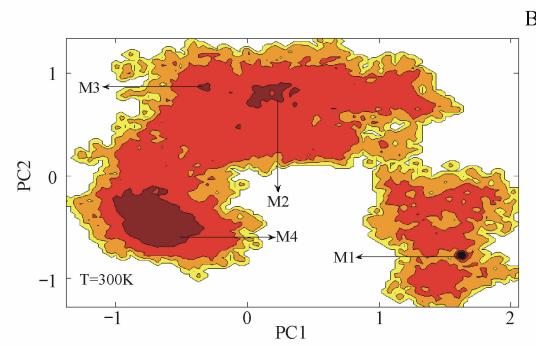
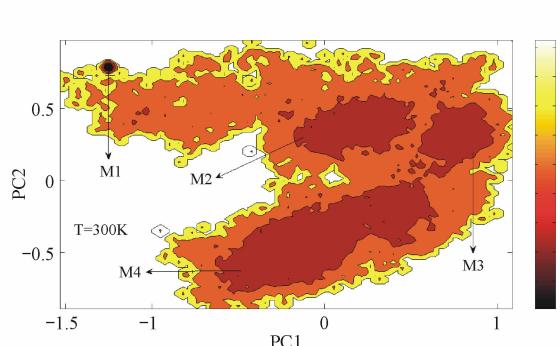
氢键是维持蛋白质分子稳定性以及识别配体的重要作用力,氢键占有率是指氢键在整个模拟轨迹中出现的几率,氢键采用几何判据<sup>[20]</sup>,氢键供体与受体之间的夹角大于  $135^\circ$ ,距离小于 0.35 nm。从整体上来看,小分子的结合对于 IN 内部的氢键影响较小。图 6 用 Cytoscape3.0 软件画出了蛋白质内部的氢键网络图(占有率超过 30%),其中紫

色表示 IN-HIK 中的氢键,绿色表示 IN-HID 中的氢键,红色表示二者都有的氢键。从图 6 可以看出,IN 在结合小分子后,蛋白内部比较稳定的是 D64-N155 和 N120-T97 这两对氢键。参考图 3 结合模式,以及文献[4,7]中提到 D64 是 IN 的核心区域,可以推测 N155 和 D64 之间的氢键是维持 DDE 保守结构的重要作用力。

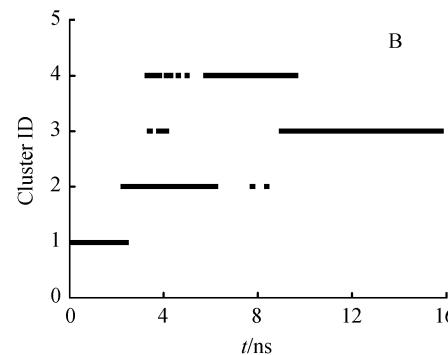
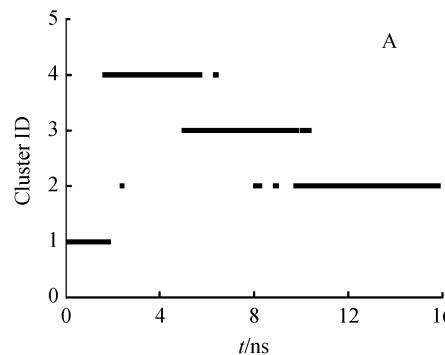
### 2.4 体系构象分析

图 7 给出了 300 K 下 IN-HIK 和 IN-HID 复合物的自由能曲面图, 图中颜色越深表示相应的能量越低。从图中可以看出两个体系均有 4 处相对独立的低能量区域。对比图 7, 两个自由能曲面形状有较大的区别, IN-HID 的构象跃迁空间稍大于 IN-HIK, 体系稳定性略低于后者, 也验证了实验<sup>[7]</sup>中的结果, 即 HIK 比 HID 的结合能更低, 抑制活性更好。

为了分析图 7 中两个体系的能量最低构象, 对 IN-HIK 和 IN-HID 体系分别进行了结构成簇。图 8 分别是以 0.16 nm 的 RMSD 值, 对两个体系的成簇分析结果。从整体上讲, 两个体系的成簇数与上述自由能曲面的低能构象数一致, 同时相对于 IN-HIK, IN-HID 构象跃迁频率更高, 模拟结果与自由能曲面分析结果一致。

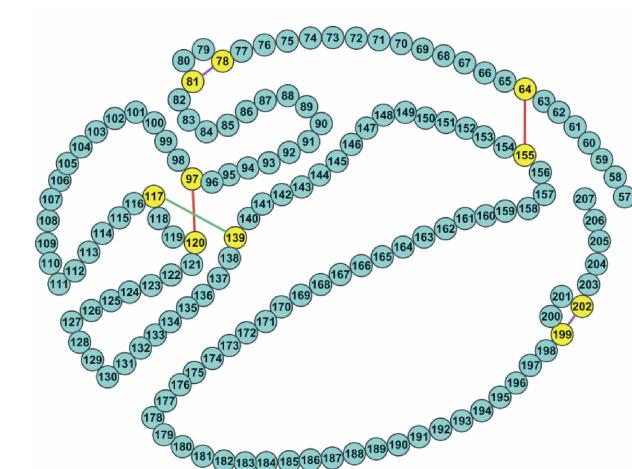


**Figure 7** Free energy landscape versus the principal components PC1 and PC2 in the IN-HIK (A) and IN-HID (B)



**Figure 8** Cluster analysis based on RMSD of the IN-HIK system (A) and IN-HID system (B)

为了更好地分析两个体系在模拟过程中构象的变化, 通过图 4-A 的势能结果找到了这 4 个能量最低的构象。图 9-B 是对 IN-HIK 体系的 4 个能量最低构象的叠落, 从图中可以看出, HIK 结构中的取代苯环与 Y143 的苯环之间一直处于比较稳定的距离(0.5 nm 左右), 证明 Y143 在结合过程中起重要作用, 文献[21]中也提到 Y143 在整合过程中



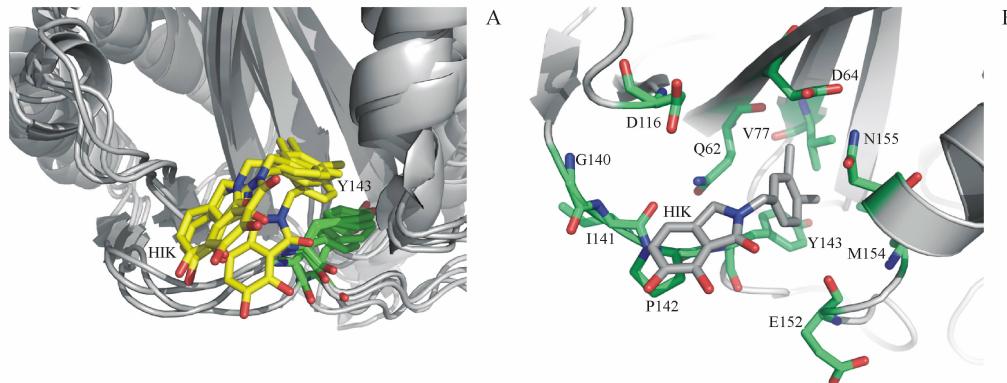
**Figure 6** Hydrogen bonded network within the IN-HIK and IN-HID systems

的重要作用, 这也证明了前面分子对接结果分析的可靠性。

为了更深入地分析 HIK 在蛋白内部与各个残基的作用情况, 以 HIK 的质心为中心, 0.4 nm 为半径, 给出了 HIK 周围的接触残基(图 9-B)。从图 9-B 中可以看出, HIK 周围共有 11 个残基, 其中 G140, I141, P142, Y143, V77 和 M154 是疏水氨基

酸, Q62, D64, D116, E152 和 N155 是亲水氨基酸。与 HIK 的距离最近的是 G140~Y143 段 loop 区, 而它们都是疏水性氨基酸, 所以推测氨基酸之间的疏

水作用是 HIK 与 IN 的识别过程中重要的作用力之一。也证明了文献[21]中提到的 E138~G149 段 loop 区在催化过程中的重要作用。



**Figure 9** Align of the representative conformations in IN-HIK system (A) and the distribution of contact residues in IN-HIK system (B)

### 3 结 论

通过分子对接的能量结果与实验的  $IC_{50}$  值的相关性分析, 得到分子对接的结合自由能并不能反映抑制剂的抑制活性, 但是对于活性较高的抑制剂, 结合自由能可以部分反映抑制活性的结论。基于 MD 模拟的 RMSF 值与实验的 B 因子具有很好的相关性, 证明了分子模拟以及柔性分析的可靠性。对两个体系的氢键分析表明, 残基 N155 和 D64 之间的氢键是维持 DDE 结构稳定的重要作用力。对两个体系的构象分析结果表明, HIK 与 IN 的结合较 HID 更加稳定, 构象跃迁范围更狭窄。模拟还发现氨基酸残基 Y143 在 HIK 与 IN 的识别过程中起到关键性的作用, 以及 G140~Y143 段 loop 区的疏水作用是 IN 与 HIK 识别的重要作用力。模拟结果与实验数据吻合较好, 为更深入理解羟基异吲哚酮类化合物与 HIV-1 整合酶的识别以及 IN 抑制剂的药物设计具有一定的指导意义。

### 参 考 文 献

- [1] Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS[J]. *Science*, 1984, **224**(4648): 500–503.
- [2] Weiss RA. How does HIV cause AIDS[J]? *Science*, 1993, **260**(5112): 1273–1279.
- [3] David DH, Paul D, Bieniasz. HIV-1 at 25[J]. *Cell*, 2008, **133**(4): 561–565.
- [4] World Health Organization. Global summary of the AIDS epidemic[R]. 2013.
- [5] Reddy KK, Singh SK. Combined ligand and structure-based approaches on HIV-1 integrase strand transfer inhibitors[J]. *Chem Biol Interact*, 2014, **218**: 71–81.
- [6] Hu JP, Ke GT, Chang S, et al. Studies on the binding modes of HIV-1 integrase with viral DNA via molecular docking method[J]. *Chem J Chin Univ (高等学校化学学报)*, 2008, **29**(7): 1432–1437.
- [7] Zhao XZ, Maddali K, Vu BC, et al. Examination of halogen substituent effects on HIV-1 integrase inhibitors derived from 2,3-dihydro-6,7-dihydroxy-1H-isoindol-1-ones and 4,5-dihydroxy-1H-isoindole-1,3(2H)-diones[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, **19**(10): 2714–2717.
- [8] Wielens J, Headley SJ, Jeevarajah D, et al. Crystal structure of the HIV-1 integrase core domain in complex with sucrose reveals details of an allosteric inhibitory binding site[J]. *FEBS Lett*, 2010, **584**(8): 1455–1462.
- [9] Schrödinger LLC. The PyMOL molecular graphics system, version 1.3r1. [EB/OL] www.pymol.org.
- [10] Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura JD, et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water[J]. *J Chem Phys*, 1983, **79**(2): 926–935.
- [11] Ryckaert JP, Ciccotti G, Berendsen HJC. Numerical integration of the cartesian equations of dynamics of *N*-alkanes[J]. *J Comput Phys*, 1977, **23**(3): 327–341.
- [12] Wan H, Chang S, Hu JP, et al. Molecular dynamics simulations of ternary complexes: comparisons of LEAFY protein binding to different DNA motifs[J]. *J Chem Inf Model*, 2015, **55**: 784–794.
- [13] Feig M, Karanicolas J, Brooks C. MMTSB tool set: enhanced sampling and multiscale modeling methods for applications in structural biology[J]. *J Mol Graph Model*, 2004, **22**(5): 377–395.
- [14] Wang YJ, Rong J, Zhang B, et al. Design and synthesis of *N*-

- methylpyrimidone derivatives as HIV-1 integrase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, **23**(4): 735–741.
- [15] Hare S, Gupta SS, Valkov E, et al. Retroviral intasome assembly and inhibition of DNA strand transfer [J]. *Nature*, 2010, **464**(7286): 232–236.
- [16] Hu JP, Liu M, Tang DY, et al. Substrate recognition and motion mode analyses of PFV integrase in complex with viral DNA via coarse-grained models [J]. *PLoS One*, 2013, **8**: e54929.
- [17] Hu JP, He HQ, Tang DY, et al. Study on the interactions between diketo-acid inhibitors and prototype foamy virus integrase-DNA complex via molecular docking and comparative molecular dynamics simulation methods [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2013, **31**(7): 734–747.
- [18] Li Y, Xuan S, Feng Y, et al. Targeting HIV-1 integrase with strand transfer inhibitors [J]. *Drug Discov Today*, 2015, **20**(4): 435–449.
- [19] Esposito D, Craigie R. Sequence specificity of viral end DNA binding by HIV-1 integrase reveals critical regions for protein-DNA interaction [J]. *EMBO J*, 1998, **17**(19): 5832–5843.
- [20] Hu JP, Gong XQ, Su JG, et al. Study on the molecular mechanism of inhibiting HIV-1 integrase by EBR28 peptide via molecular modeling approach [J]. *Biophys Chem*, 2008, **132**(2/3): 69–80.
- [21] Huang ML, Grant GH, Richards WG. Binding modes of diketo-acid inhibitors of HIV-1 integrase: a comparative molecular dynamics simulation study [J]. *J Mol Graph Model*, 2011, **29**(7): 956–964.

## · 校园信息 ·

### 中国药科大学 2016 年 1~8 月专利授权情况(1)

序号	专利名称	发明人
1	法莫替丁漂浮-黏附型微片胶囊及其制备方法	吴正红,主雪华,祁小乐,等
2	CAY10404 在制备治疗多发性骨髓瘤药物中的应用	杨烨,万礼,王曼,等
3	一种马来酸依那普利口服定时释放微丸及其制备方法	吴正红,张子歲,祁小乐,等
4	一类具有PARP抑制活性的化合物、其制备方法及用途	李志裕,王欣,史永强,等
5	具有抗血小板聚集活性的哌啶基取代5-羟色氨酸衍生物	李志裕,黄婧,史永强,等
6	5-(4-甲脒基苄氨基)色氨酸衍生物、其制法及应用	李志裕,谢周令,史永强,等
7	一种具有抗耐药性革兰阳性细菌作用的药物组合物	周长林,王嫣蓉,李博,等
8	关白附总生物碱及关附壬素的新用途	王广基,柳祥,汤依群,等
9	诺西肽衍生物及其用途	陈依军,刘为营
10	12-氧代蜀羊泉碱氨基酸缀合物、其制备方法、制剂及其医药用途	查晓明,张陆勇,陈磊,等
11	一种具有免疫调节作用的新型海胆黄多糖的制备方法及结构鉴定	奚涛,马益华,邢莹莹,等
12	一种治疗II型糖尿病或代谢综合征的复方药物组合物	傅继华,李涛,郭可可,等
13	一种新型巯基荧光探针、制备方法及其应用	陈依军,王宗强,史少波
14	含有非天然氨基酸的突变蛋白及其应用	姚文兵,黄捷,高向东,等
15	Withanolides型化合物及其抗肿瘤的用途	孔令义,罗建光,张文娜
16	一种治疗老年痴呆症的中药有效部位及其制备方法与应用	柳文媛,刘佳,赵玉荣,等
17	2-([1,1'-联苯]-4-基)-2-氧代乙基-4-((3-氯-4-甲基苯基)氨基)-4-氧代丁酸酯在制备LSD1抑制剂药物中的应用	查晓明,康迪,周忱,等
18	一种降糖肽及其药物用途	李谦,吴梧桐,严国文,等
19	一种6-取代-5,6-二氯菲啶衍生物的制备方法	徐云根,朱启华,姚魏
20	一种用于治疗和/或预防阿尔茨海默病的药物组合物及其用途	李萍,李若倩,石子琪,等
21	一种新型杂化纳米磷酸钙基因递送系统及其制备方法	孙敏捷,谢颖,张灿,等
22	一种螺环氧化吲哚丁烯酸内酯化合物的合成方法	杜鼎,张瑜,陆涛,等
23	两亲性熊果酸-多糖偶联物的制备及其在肿瘤治疗中的应用	姚静,李园珂,周建平
24	胍类降糖药-多糖共轭物及其制备方法和用途	姜虎林,王凤珍,邢磊
25	一种天然活性药物-多糖靶向复合物的制备及其抗肿瘤的应用	姚静,李园珂,周建平