

# 用分子对接方法预测 HIV-1 整合酶 与金精三羧酸抑制剂的相互作用\*

宋 伟, 陈慰祖, 张小轶, 王存新\*\*

(北京工业大学生命科学与生物工程学院, 北京 100022)

**摘 要:** 用分子对接方法(Docking)研究了 HIV-1 整合酶与其抑制剂金精三羧酸的结合过程. 为弄清金属离子在结合中所起的作用, 选择含有一个  $Mg^{+2}$  或不含  $Mg^{+2}$  的两种不同的整合酶受体分别与金精三羧酸对接. 结果表明,  $Mg^{+2}$  对稳定配体与受体的结合起了重要作用. 金精三羧酸配体与含有一个金属  $Mg^{+2}$  的整合酶受体对接, 最优结合自由能为  $-45.19$  kJ/mol. 当  $Mg^{+2}$  失去后, 整合酶的活性中心构象将发生变化, 使金精三羧酸抑制剂与整合酶的结合自由能( $-24.35$  kJ/mol)明显增加. 预测了未知的 HIV-1 整合酶与其抑制剂金精三羧酸的复合物结构, 并可对基于结构的抗 HIV-1 整合酶的药物设计提供重要信息.

**关键词:** HIV-1 整合酶; 金精三羧酸; 结合自由能; 分子对接

中图分类号: Q615 文献标识码: A

## Prediction of the Interaction of HIV-1 Integrase and Inhibitor Aurintricarboxylic Acid Using Docking\*

Song Wei, Chen Weizu, Zhang Xiaoyi, Wang Cunxin\*\*

(College of Life Science and Bioengineering, Beijing University of Technology, Beijing 100022)

**Abstract** A docking approach is proposed for the prediction of the interaction of HIV-1 integrase(IN) and inhibitor aurintricarboxylic acid. In order to clarify the function of metal ions on the binding process, we chose two kinds of integrase receptors (one with an  $Mg^{+2}$  and another without  $Mg^{+2}$ ) and performed docking with aurintricarboxylic acid respectively. The receptor structure used for docking was made by the following processes. Because there is no report on the three-dimensional structure of IN/aurintricarboxylic acid complex, the only known crystals structure of the complex of the HIV-1 integrase core domain with an inhibitor 5CITEP (PDB code 1QS4) was referenced, and the monomer coordinate (chain A) was selected. Then, the lacked residues from number 141 to 144 were added by using Insight II. The final structure after 200 ps molecular dynamics simulation was used as the receptor structure for docking. The flexibility of the small molecule was allowed through rotating its dihedrals. The genetic algorithm was used and the empirical potential was taken as an energy score function when docking was being done. All possible conformations were searched throughout the full configuration space. The results of our study illustrate that the ion  $Mg^{+2}$  is important for the stability of the binding of the ligand and receptor. In the case of ligand aurintricarboxylic acid docked with integrase with an  $Mg^{+2}$ , the minimized binding free energy is  $-45.19$  kJ/mol. It is found that the water molecules located in the active site are substituted by the carbonyl oxygen atoms of aurintricarboxylic

\* 国家自然科学基金资助项目(29992590-2, 30170230, 10174005)和北京市自然科学基金项目(5032002).

\*\* 通讯联系人, E-mail: cxwang@bjpu.edu.cn 收稿日期: 2002-07-25; 修回日期: 2002-12-30.

acid and the two oxygen atoms in the carboxy group of aurintricarboxylic acid can form a hexahedral ligand structure with the two oxygen atoms of Asp64 and Asp116. Thus, the complex has a much more stable structure with low energy due to a salt bond interaction between aurintricarboxylic acid and  $Mg^{+2}$ . When the  $Mg^{+2}$  is lost, the configuration of integrase in the active site will be changed, which makes the binding free energy ( $-24.35$  kJ/mol) increase distinctly. In the present study the unknown complex structure of HIV-1 integrase and its inhibitor aurintricarboxylic acid has been predicted, which may offer significant information on the drug design of the anti HIV-1 integrase based on structure.

**Key words** HIV-1 integrase, Aurintricarboxylic acid, Binding free energy, Docking

## 1 引言

艾滋病的病原—人体免疫缺陷病毒 HIV-1 是一种逆转录病毒. 在 HIV-1 病毒致病机理研究中发现, 病毒自身产生三种具有催化作用的酶: 逆转录酶 (RT)、整合酶 (IN) 和蛋白酶 (PR), 为 HIV 病毒突破人体免疫防线提供了帮助<sup>[1]</sup>. IN 在 HIV-1 病毒复制中起着十分重要的作用, 负责将逆转录出的病毒 DNA 整合到宿主细胞 DNA 中, 是抗艾滋病毒药物设计的一种非常重要的靶标<sup>[2]</sup>. 但目前对它的研究还很不深入, 至今尚未有抗 IN 的药物. 现在人们常联合采用几种抗 HIV-1 蛋白酶、逆转录酶的抑制剂类药物治疗艾滋病. 所以, 寻找 IN 的催化位点, 研究其与已知抑制剂的结合情况, 有助于设计出 IN 的抑制剂药物, 以便从各个不同阶段阻断艾滋病病毒复制, 这对完善治疗艾滋病的联合疗法是十分有意义的.

目前, 人们对 IN 与其抑制剂的相互作用与识别的信息还知之甚少, 尚未发现 IN 与其抑制剂金精三羧酸形成复合物的三维结构信息. 最近发布的 IN 与其抑制剂 5CITEP (1-(5-chloroindol-3-yl)-3-(tetrazolyl)-1,3-propanedioneenol) 的晶体结构坐标<sup>[3]</sup>, 是目前唯一解析出来的 IN 与其抑制剂结合的三维晶体结构数据. 寻找已知抑制剂或底物与靶酶的结合位点, 是基于结构的药物设计所常用的一种方法, 对于先导化合物的最初优化有很重要的参考价值. 本工作用分子对接 (Docking) 方法, 研究了 IN 与小分子金精三羧酸的结合以及金属  $Mg^{+2}$  在结合中所起的作用, 并预测出其结合模型, 为基于结构的抗 HIV-1 药物设计提供了重要的参考信息.

## 2 体系与方法

以 IN 与 5CITEP 相互作用复合物的晶体结构 (PDB 代码 1QS4) 为参考, 取其中 IN 的单体坐标

(如 A 链), 对 A 链中缺失的 141 ~ 144 号残基, 用 Insight II 上的搭建工具进行补齐. 然后用能量优化和分子动力学 (MD) 模拟方法对体系进行结构修正. 用 GROMACS 程序<sup>[4]</sup>在 300 K 下进行 200 ps 的 MD 模拟, 并对其轨迹进行分析. 发现缺失的残基 141 ~ 144 以及它们相邻的残基确实是方均根涨落 (RMS) 较大的区域 (见图 1). 图 1 中残基 190 ~ 192 对应着晶体结构的 Loop 区, 因此, 涨落也很大. 用于 Docking 的受体 IN 的坐标取自经过 200 ps MD 平衡后的结构, 用 GROMACS 全原子力场给受体 IN 赋部分电荷.

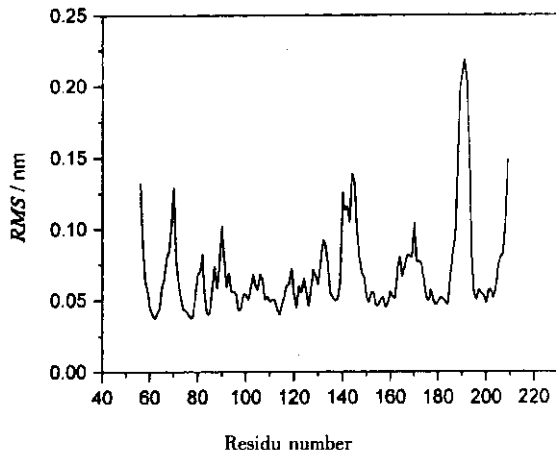


图 1 补全残基坐标后的 HIV-1 整合酶 (1QS4 A 链) 200 ps MD 模拟的结果分析, 主链  $C_{\alpha}$  原子的方均根涨落图

Fig. 1 Root-mean-square fluctuations for the  $C_{\alpha}$  atoms of the HIV-1 integrase (chain 1QS4 A) throughout the 200ps MD

配体小分子金精三羧酸的化学结构含有三个六元环平面 A、B、C (图 2), 其坐标选自用 MOPAC 优化后的分子结构. 金精三羧酸的立体化学结构显示, B、C 环绕各自环平面与中心  $C_n$  原子所形成的单键 a 和 b 旋转  $57^{\circ}$  后可以和 A 环所在平面重合. 这两个单键 a 和 b 是配体分子柔性的主要来源, 配体分子在 Docking 中定义的其余可旋转单键如图 2.

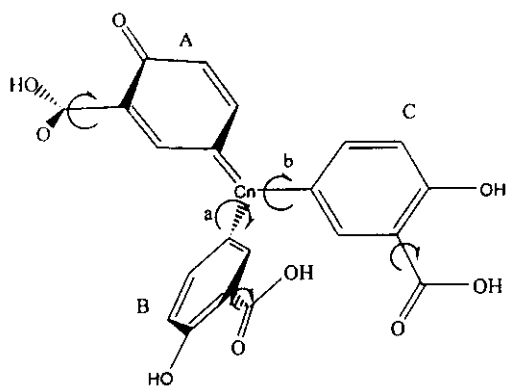


图2 金精三羧酸的化学结构图

A、B、C 表示三个环平面,半圆箭头表示可旋转单键

Fig. 2 The chemical structure of aurotricarboxylic acid

A, B and C show the three ring planes.

The semicircular arrowheads show the rotatable single bonds

本工作采用 Autodock3.0 程序库<sup>[5]</sup>研究金精三羧酸与 HIV-1 整合酶的对接.为弄清金属  $Mg^{+2}$  在结合中所起的作用,我们选择两种不同整合酶受体(含有一个  $Mg^{+2}$  或不含  $Mg^{+2}$ ),分别将其与小分子对接.对接中考虑了小分子配体的柔性,是通过转动小分子可转动二面角来实现的.在执行对接过程中运用遗传算法和半经验势函数作为能量打分函数,对可能的构象做了全空间搜索.用半经验方法<sup>[6]</sup>进行复合物的结合自由能计算.

### 3 结果与讨论

#### 3.1 体系含有一个 $Mg^{+2}$

关于金精三羧酸配体与含有一个金属  $Mg^{+2}$  的 IN 受体对接,对接结果获得的最优结合自由能为  $-45.19$  kJ/mol,该结果在 90 次独立的对接结果中出现了 15 次.另外,还发现有一种较优的结构在 90 次独立的对接结果中出现了 19 次,其结合自由能约为  $-40.58$  kJ/mol.通过分析对接结果发现,对于最优复合物结构,与  $Cn$  原子以单键 a 相连的 B 环平面绕单键旋转约  $90^\circ$  可以与 A 环平面重合.图 3 显示了对接结果中小分子的最优与次优两种构象.在最优构象中,C 环平面的羧基在口袋深处.在次优构象中,C 环平面的羧基旋转靠近 Glu152.

图 3 给出结合位点附近相关的残基结构,两种构象的主要区别是,在最优构象中,C 环平面的羧基在口袋深处.而次优构象的 C 环平面有一个绕 b 键约  $180^\circ$  的旋转,从而使 C 环上的羧基从结合位点口袋深处靠近 Gln148 酰胺基的位置旋转至口袋上端

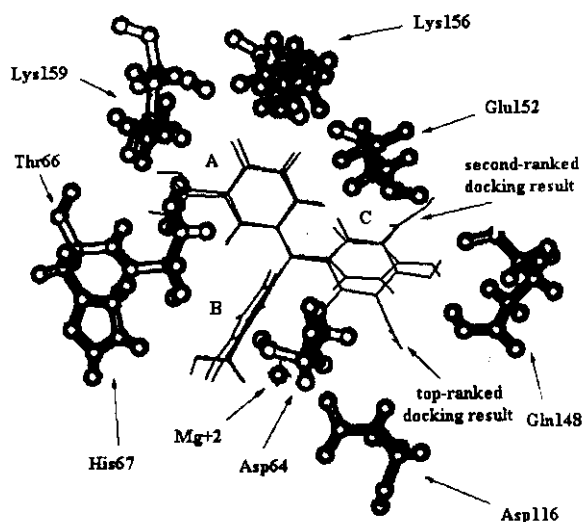


图3 金精三羧酸与含有一个  $Mg^{+2}$  的 IN 的对接结果

Fig. 3 The diagram shows the docking results of

aurotricarboxylic acid and integrase with an  $Mg^{+2}$

靠近 Glu152 羧基的位置.残基 Lys156、Lys159 以及 Thr66 分别与 A 环平面的羰基、羧基形成氢键. B 环平面插入到口袋中,与 His67 形成氢键,其羧基上的氧原子和 Asp64、Asp116 上的氧原子靠近  $Mg^{+2}$ ,均在形成配键的位置上. McCammon 等人对含有一个  $Mg^{+2}$  的 IN 进行了 MD 模拟<sup>[7]</sup>,认为  $Mg^{+2}$  与 Asp64、Asp116 各自的两个氧原子以及四个水分子的八个氧原子形成一种类似八面体的配键相互作用.从分子对接的最优构象来看,金精三羧酸将取代活性部位的水分子,其羧基上的两个氧原子与 Asp64、Asp116 的两个氧原子形成六面体形状的配位结构. C 环平面的羟基与 Gln148 酰胺基形成氢键.羧基的最优与次优位置与 IN 有不同的作用方式.

将上述体系与 IN 和抑制剂 5CITEP 的结合形式比较,发现活性部位的  $\alpha 4$ -螺旋上的残基,如 Glu152、Lys156、Lys159 等在结合中起了重要作用,还发现与  $\alpha 4$ -螺旋处于相对位置的  $\beta$  折叠片上的残基 Thr66、His67 等参与了与小分子的相互作用.另一侧 Loop 区上的 Gln148 也在稳定小分子的结合上起重要作用.所不同的是,金属  $Mg^{+2}$  在稳定结合中发挥了重要作用, $Mg^{+2}$  的存在平衡了 Asp64、Asp116 所形成的高负电荷区域,虽然由于 B 环平面旋转与 A 环平面垂直位置,使小分子内部相互作用能量升高,但使得金精三羧酸 B 环能够插入到活性部位口袋深处,从而使整个体系的能量降低.

在 Docking 结果中,次优构象与最优构象的主

要差异在于, C 环平面有一个绕 b 键约  $180^\circ$  的旋转, 使得 C 环上的取代羧基靠近 Glu152 的羧基.

### 3.2 体系不含 $Mg^{+2}$

IN 晶体结构坐标中的  $Mg^{+2}$  去掉后, 用 GROMACS 程序进行了 200 ps 的 MD 模拟, 平衡后的结构作为受体的初始构象, 然后与小分子进行对接. 图 4 显示出复合物的结合状态. Docking 所得到的结合自由能为  $-23.30$  kJ/mol.

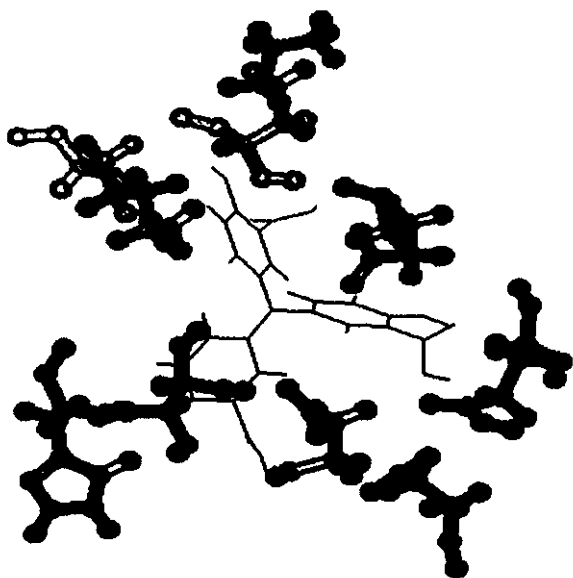


图 4 金精三羧酸与不含  $Mg^{+2}$  的 IN 的对接结果

Fig. 4 The docking result of aurintricarboxylic acid and integrase without  $Mg^{+2}$

IN 失去  $Mg^{+2}$  后, 构象上最主要的变化是  $\alpha$ 4-螺旋的延伸, 这包括从残基 Gln146 到 Gly149 一段肽链由原先的 Loop 区变为  $\alpha$ -螺旋的形式. Gln148 侧链二面角  $\chi_1$  的旋转使其与残基 Gln62 的侧链形成氢键, 这对稳定这一段延伸的  $\alpha$ -螺旋起到重要作用. McCammon 等人的 MD 模拟结果表明<sup>[7]</sup>,  $Mg^{+2}$  的存在使体系活性部位口袋尺寸增加. 在有  $Mg^{+2}$  的情况下, Asp116 与 Glu152 两残基中羧基基团的平均距离为 1.055 nm. 在没有  $Mg^{+2}$  情况下, 这个距离减少到 0.894 nm. 从图 4 可以看到, Glu152 的羧基与残基 Asp64 和 Asp116 的位置靠近, 使金精三羧酸 C 环平面附近的空间变小, C 环平面由水平位置旋转至相对垂直的位置, 且 C 环平面的羧基与 Gln148 的羧基间形成氢键. 与图 3 相比, 金精三羧

酸 A 环平面也产生一个偏转, 偏离了与  $\alpha$ 4-螺旋延伸方向平行的位置. 其主要原因是由 Glu152 残基的相对移动所造成的. 由于  $Mg^{+2}$  的失去, 金精三羧酸 B 环平面附近复合物口袋深处的亲水性和表面电荷分布都随之发生了改变, 因而使 B 环不能结合到活性口袋较深的部位.

## 4 结 论

用 Docking 方法研究了 HIV-1 整合酶 (IN) 与其抑制剂金精三羧酸的结合过程. 结果表明,  $Mg^{+2}$  对稳定配体与受体的结合起了重要作用. 金精三羧酸配体与含有一个金属  $Mg^{+2}$  的 IN 受体对接, 最优结合自由能为  $-45.19$  kJ/mol. 金精三羧酸上的羧基氧将取代活性位点的水分子, 其羧基上的两个氧原子与 Asp64、Asp116 的两个氧原子形成六面体形状的配位结构, 从而与  $Mg^{+2}$  有类似配位键的相互作用, 以获得更加稳定的低能结合状态. 当  $Mg^{+2}$  失去后, IN 的活性中心构象将发生变化, 使金精三羧酸抑制剂与 IN 的结合自由能 ( $-22.09$  kJ/mol) 明显升高. 本工作将为基于结构的抗 HIV-1 整合酶的药物设计提供重要的信息, 并且预测了未知的 HIV-1 整合酶与其抑制剂金精三羧酸的复合物结构.

致谢: 感谢 Olson 教授提供的 Autodock 程序包和 van der Spoel 博士等提供的 GROMACS 程序包.

## 参 考 文 献

- [1] Zeng Yi (曾毅). HIV and Other Related Viruses (艾滋病及其有关病毒), Nankai University Press (南开大学出版社), 1999.
- [2] Brain G T, Michael F S. *J. Mol. Biol.*, 1999, **285**: 1
- [3] Goldgur Y, Craigie R, Cohen G H, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, **96**: 13040
- [4] van der Spoel D, van Buuren A R, Meulenhoff P J, et al. GROMACS User Manual, Version 3.0, Nijenborgh 4, 9747 AG Groningen, The Netherlands, 2001.
- [5] Morris G M, Goodsell D S, Halliday R S, et al. *J. Comput. Chem.*, 1998, **19**: 1639
- [6] Wesson L, Eisenberg D. *Prot. Sci.*, 1992, **1**: 227
- [7] Roberto D L, James M B, McCammon J A, et al. *Biophys. J.*, 1999, **76**: 2999