应用分子相似性方法发现活性天然产物及潜在药用植物初探

蒋雨惜 / 上海华东师范大学第二附属中学
指导教师　娄为义　段文虎

◉ 课题由来

易瑞沙(Iressa)是抗肺癌靶向药物，对 60% 以上的亚裔女性非小细胞肺癌（Non-small-cell Lung Cancer）患者有很好的疗效，并且没有一般抗癌药物和放疗的毒副作用。这一抗癌药物尽管非常有效，但十分昂贵，给服用该药的患者带来巨大的经济负担。与西药相比，中药具有历史悠久、毒副作用小、价格便宜等优点，那么是否可以找到具有同等功效的中药取代易瑞沙治疗肺癌呢？于是我以寻找具有易瑞沙类似功效的植物为目的，开始了本课题的研究。我想如果用易瑞沙这一药物的结构作模板，从已有的天然产物化合物数据库中寻找与易瑞沙结构类似的化合物，再去找到含有这些化合物对应的植物，那么这些植物就极有可能具有与易瑞沙一样的治疗癌症的功效。

◉ 研究流程和方法

本课题的目的是寻找与抗肺癌药物易瑞沙功效相近，但价格低廉的中药材。经过前期探索，本课题决定采用分子相似性搜索方法与生物活性测试相结合实现这一目标。首先采用已有的分子相似性比对程序，搜寻天然产物数据库，找出与易瑞沙结构相似的化合物；然后用生物化学方法测试这些化合物对肺癌靶点蛋白的抑制能力，找出其中真正有活性的化合物；再对含这些活性化合物的植物提取物进行生物活性测试，最终确定与易瑞沙功效类似、具有潜在抗肿瘤活性的植物，为发现新的天然药物和药用植物提供线索。具体的研究流程如图 1 所示。

◉ 实验方法

➲ 天然产物数据库的准备和预处理及模板分子的准备

上海药物研究所的天然产物数据库 SIMMNPD 收录了 7079 个天然产物结构。采用 Corina 软件对其中每个化合物进行初始三维构象的生成准备处理，随后采用小分子构象分析程序 Cyndi 对每个分子进行多个构象的生成和优化处理。

从蛋白质晶体结构数据库（PDB）中找出易瑞沙与其相应的靶点蛋白 EGFR 复合物的晶体结构（PDB 编号 2ITZ），采用 Sybyl 软件从中抽取出易瑞沙分子的三维结构。

➲ 分子三维相似性计算

应用分子三维相似性比较软件 Shafts 从上述天然产物数据库 SIMMNPD 中寻找与易瑞沙结构类似的化合物。所谓相似性比较，就是将 2 个分子的构象叠合在一起，通过一些相似性准则计算这 2 个分子的相似性。本课题采用的 Shafts 软件是以分子形状相似性与化学基团相似性衡量 2 个分子间的相似性。

➲ 生物活性测试

本研究用酶活性抑制实验方法——酶联免疫吸附法测试化合物和植物粗提物的生物活性。

将筛选得到的具有 EGFR 或 c-Met 酶活抑制作用物（天然产物在 10 ~ 5M 浓度时对受体酪氨酸激酶 c-Met 的抑制率 >50%）配成梯度浓度，进行 IC_{50} 评价。用 4 参数法计算各天然产物分子水平抑制蛋白酪氨酸激酶的 IC_{50} 值（抑制 50% 酶活性所需化合物的浓度，值越低，活性越高）。

上述测试方法也用于测定植物粗提物的生物活性。

➲ 活性化合物类似物搜索

根据生物活性测试确认的活性化合物结构分析，整理得到化合物所具有的共同的“骨架”，再采用 Pipeline Pilot 提供的子结构搜索方法，寻找其他活性化合物类似物，以期寻找到活性更好的化合物。为了提高成功率，采用另外一个天然产物数据库进行搜索操作，用 Shafts 软件对这些活性化合物的类似物与易瑞沙进行三维相似性比

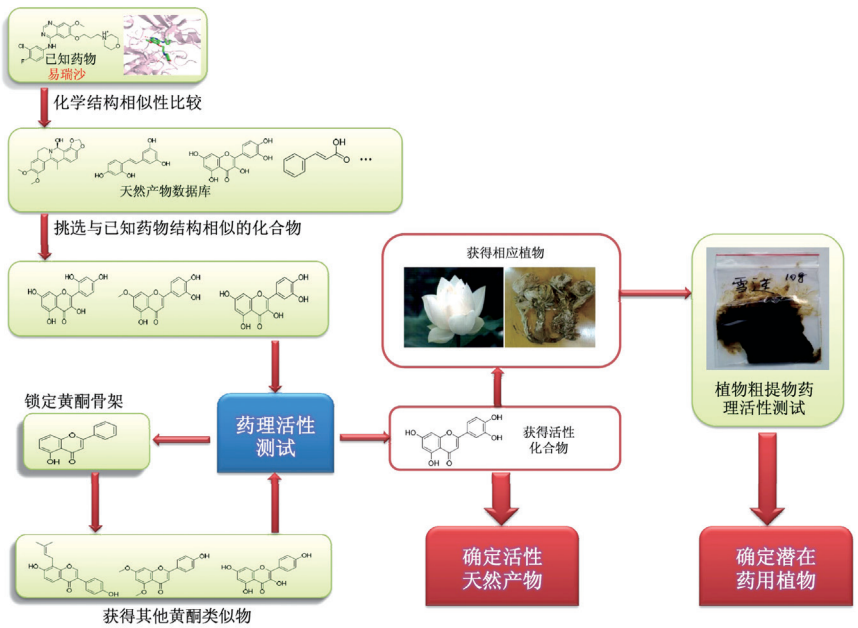


图 1　发现活性天然产物及其对应植物流程

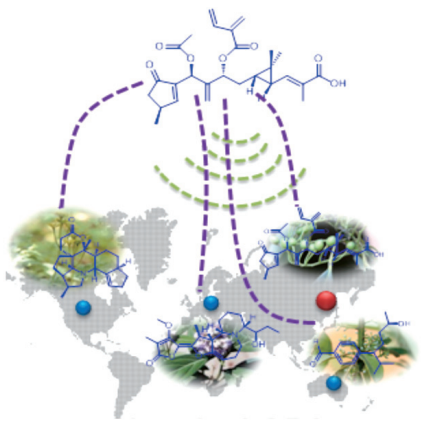


图 2　化学定位导航系统示意图

较，最后将相似度较高的类似物进行生物实验验证。

➲　植物活性组分的提取

通过上面的步骤，得到活性天然产物化合物后，再回到数据库中找出对应的植物，然后提取这些植物的粗提物进行活性筛选与评估，发现有效或新的药用植物。

⦿ 实验结果及讨论

本课题采用抗肺癌药物易瑞沙及其三维结构作为参考模板分子，使用分子三维相似性计算程序 Shafts 计算每个天然产物的构象与易瑞沙的相似性，从 7079 个天然产物中找到了与易瑞沙相似度超过 0.8 的化合物 20 个。

总结本研究结果，本项目应用的基于化合物相似性比较方法搜寻活性天然产物，再进一步发现潜在药用植物方法，类似于“全球定位导航系统（GPS）”：用已知药物的结构“定位导航”，从天然数据库中搜出结构相似的化合物进行生物活性测试，通过测定含有活性化合物植物粗提物的生物活性，获得潜在药用植物的信息，真正做到活性定位、药效功能定位和植物的区域定位。我们将这一方法称为化学定位导航系统（Chemical GPS，见图 2）。这一方法可以推广应用，用于发现可以治疗其他疾病（如糖尿病）的活性天然产物和潜在药用植物。

本研究的创新点概括如下。

◈　最终仅测试了 26 个天然产物，就找到 6 个活性化合物，表明本研究所采用的化学定位导航系统的效率比传统方法高。

◈　应用本研究采用的化学定位导航系统，将研究范围锁定在上述 6 个活性化合物对应的 5 种植物，这 5 种植物的乙醇粗提物均表现出一定的抑制抗肿瘤靶点 c–Met 的活性，4 种植物的结果与他人报道的结果一致。这进一步说明了本研究采用的化学定位导航系统的高效性。

◈　本研究首次发现了豆腐柴的潜在抗肿瘤功效。豆腐柴药食两用，价格便宜，具有进一步研究的价值。

该项目获得第 27 届全国青少年科技创新大赛创新成果竞赛项目中学组生物化学一等奖。

专家评语

该项目实验设计合理，有创新性，技术方法可靠，实验记录完整。建议进一步完善实验，从细胞和动物实验水平进一步证实其抗肿瘤功效，进一步搞清楚其抑制肿瘤的作用机制。 ■