

# 计算机辅助药物设计方法构建 SGLT-2 抑制剂药效团模型

何芳, 王玫瑰, 阮平平\*

(十堰市太和医院, 湖北医药学院附属医院药学部, 湖北十堰 442000)

**[摘要]** **目的:**为钠-葡萄糖协同转运蛋白(SGLT-2)抑制剂的设计提供指导。**方法:**从相关的文献报道中搜集出大量的活性 SGLT-2 抑制剂小分子,筛选出了 24 个小分子构成训练集,通过 Discovery Studio 3.0 软件,采用 HypoGen 算法产生得到 SGLT-2 抑制剂药效团模型。**结果:**产生的最好的药效团模型包含 1 个氢键供体,1 个氢键受体,1 个芳环和 5 个疏水集团,该模型经 Fischer's randomization 验证,decoy set 验证,均显示该药效团符合要求。**结论:**SGLT-2 蛋白在维持血糖水平过程中扮演中重要的角色,近年来以该蛋白为糖尿病治疗靶点的研究越来越多的受到关注,本方法成功构建出 SGLT-2 抑制剂药效团,为后续的研究垫下理论基础。

**[关键词]** SGLT-2 抑制剂; 药效团; Fischer's randomization 验证; decoy set 验证

**[中图分类号]** R914.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)20-0067-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2016200067

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160804.1046.020.html>

**[网络出版时间]** 2016-08-04 10:46

## Computer-Aided Drug Design Method for Building SGLT-2 Inhibitor Pharmacophore Model

HE Fang, WANG Mei-gui, RUAN Ping-ping\*

(Shiyan Taihe Hospital, Pharmaceutical Department of Affiliated Hospital of Hubei  
University of Medicine, Shiyan 442000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To provide guidance for designing sodium/glucose co-transporters-2 (SGLT-2) inhibitors. **Method:** We collected lots of active micro-molecules of sodium/glucose co-transporters-2 (SGLT-2) inhibitors from relevant literatures, and screened out 24 micro-molecules to build a training set, and obtained 3D-pharmacophore of SGLT-2 inhibitors by using HypoGen method with Discover Studio 3.0. **Result:** The best pharmacophore that we generated contained one hydrogen-bonding donor, one hydrogen-bonding acceptor, one hydrophobic grouping and five hydrophobic groups. The model was verified by Fischer's randomization and decoy set for its eligibility. **Conclusion:** SGLT-2 protein played an important role in maintaining blood sugar balance. In recent years, more and more researchers have paid much attention to the protein as a target for treating diabetes. This method was used to successfully build the pharmacophore of SGLT-2 inhibitors, so as to provide guidance for subsequent studies.

**[Key words]** SGLT-2 inhibitor; pharmacophore; Fischer's randomization; decoy set verification

钠-葡萄糖协同转运蛋白(SGLT-2 蛋白)是由瑞士生物化学家马蒂亚斯韩天格和他的研究团队最早发现,且该团队也最早预期出了该机制可作为糖尿病治疗的可能性。

该蛋白是一类主要存在于肾脏近曲小管的膜转

运蛋白,在机体内维持血糖的水平中扮演者重要的角色。肾脏中该蛋白将肾小球滤过液中的约 90% 的葡萄糖经转运重吸收进入血液从而维持机体血糖的平衡,表现出低容量和高亲和性。鉴于该蛋白这一独特的机制,研究者们通过设计出该类蛋白的抑

**[收稿日期]** 20150921(005)

**[第一作者]** 何芳,从事新药的发现与设计研究,Tel:13886834139,E-mail:13776600917@163.com

**[通讯作者]** \*阮平平,硕士,药师,从事新药的发现与设计合成研究,Tel:13593750074,E-mail:ruanpingpingy@sina.com

制剂从而阻断这一过程,使得肾小球滤过液中的葡萄糖不能被重吸收进入血液从而降低机体血糖水平,以此作为糖尿病治疗的新的思路。

早在 175 年前就已经有科研人员从苹果树皮中提取出一类物质 Phloridzin,后续研究发现该物质能够与 SGLT 蛋白结合显著降低血糖水平,但却对 SGLT 蛋白没有选择性<sup>[1-2]</sup>。但该物质的发现,奠定了 SGLT-2 抑制剂的基本结构模型,后续研究的深入,该类抑制剂结构也变得逐渐清晰。目前,该类研究也已取得较为客观的成果,已有多个 SGLT-2 抑制剂被批准上市用于糖尿病的治疗,如 Dapagliflozin<sup>[3-4]</sup>,Empagliflozin<sup>[5-9]</sup>,Canagliflozin<sup>[10-11]</sup>,Ipragliflozin<sup>[12-15]</sup>,Tofogliflozin<sup>[16]</sup>,Luseogliflozin<sup>[17-18]</sup>等。在我国,由江苏恒瑞医药有限公司所独立研发出的 SGLT-2 抑制剂恒格列净也已完成 I 期临床试验,相关数据尚未公布。

由于 SGLT-2 抑制剂能够独立于胰岛素外发挥降血糖作用,该类抑制剂在糖尿病治疗中表现出极为诱人的前景。为能够顺利开展该类抑制剂的研究,本研究首先从理论上予以探索。利用 Discovery Sdutio3.0 (DS 3.0) 中“3D QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) Pharmacophore Generation”模块,即基于化合物构效关系的药效团,该模块是计算分析出所搜集的小分子活性化合物的构效关系从而构建 SGLT-2 抑制剂药效团,并经一系列验证,用于指导中药复杂成分的筛选,发现更多的药物模型。

## 1 材料与方法

**1.1 训练集小分子的选取** 根据药效团构建时小分子数据库选取原则,选择活性跨度为 4 个数量级的有相关报道的活性小分子作为小分子库,笔者从表 1 所构建药效团的各项参数

Table 1 Parameter of built pharmacophore model

| 药效团    | 总评      | 评差 <sup>a</sup> | 均差 <sup>b</sup> | 相关度     | 特征集团 <sup>c</sup>  | 匹配度    |
|--------|---------|-----------------|-----------------|---------|--------------------|--------|
| Hypo 1 | 124.225 | 108.30          | 1.153 6         | 0.923 8 | HBA,HBD,HYD,RA,5EV | 11.483 |
| Hypo 2 | 133.488 | 99.035          | 1.198 8         | 0.894 3 | 2HBA, HYD,RA,2EV   | 11.788 |
| Hypo 3 | 147.349 | 85.174          | 1.220 4         | 0.838 2 | 2HBA,HYD,RA        | 11.284 |
| Hypo 4 | 156.372 | 76.151          | 1.261 5         | 0.819 6 | HBA,HBD,HYD,RA     | 12.574 |
| Hypo 5 | 158.207 | 74.316          | 1.261 1         | 0.789 1 | HBA,HBD,HYD,RA     | 10.571 |
| Hypo 6 | 160.140 | 72.383          | 1.245 9         | 0.777 3 | 2HBA,HYD,RA        | 10.030 |
| Hypo 7 | 160.648 | 71.875          | 1.271 2         | 0.781 1 | HBA, HBD,HYD,RA    | 10.794 |
| Hypo 8 | 161.368 | 71.155          | 1.251 0         | 0.776 5 | 2HBA, HYD,RA       | 10.600 |
| Hypo 9 | 165.300 | 67.233          | 1.252 2         | 0.755 3 | 2HBA, HYD,RA       | 9.949  |
| Hypo10 | 165.494 | 67.029          | 1.361 7         | 0.754 9 | 2HBA, HYD,RA       | 10.027 |

从所构建药效团中,笔者选取最佳的药效团 Hypo 1。见图 2。

SGLT-2 抑制剂相关文献报道中,搜集出了一系列活性 0~10 万 nmol·L<sup>-1</sup> 不等具有活性报道的小分子,根据药效团构建时训练集小分子选取 16~32 个为宜,每次从中选取 25 个左右小分子进行模型构建筛选,最终,确定了以下 24 个活性小分子作为药效团构建小分子训练集。见图 1。

**1.2 训练集小分子构象的产生<sup>[19]</sup>** 在产生药效团模型之前,笔者将所选取的小分子附加力场,利用 DS 去除配体分子中冗余信息后,对所有小分子产生构象。在构象产生时,笔者选定构象产生模式参数设置为“BEST”(最优化),确保所产生构象尽可能最优化,并限定保留能量小于 20 kcal·mol<sup>-1</sup> 的构象,每个小分子构象数限定不超过 255,以除去冗杂无实际意义的构象,减轻计算工作量。

**1.3 SGLT-2 抑制剂药效团的产生** 在产生得到所有配体小分子构象后,根据已报到活性 SGLT-2 抑制剂结构看出该类结构上主要存在氢键供体或受体、疏水基团、芳香环等,分析其可能存在的药效团,设定选择了氢键受体(HBA),氢键供体(HBD),芳环(RA)和排出体积(EV),默认其他参数不变,采用 HypoGen 算法产生药效团。该法通过寻找与活性化合物相关的药效团特性,首先构建出能够识别活性最强的 2 个小分子的药效团,以该药效团去筛选其他小分子,直至所构建出的药效团能够筛选出训练集中大部分小分子,从而构建出具有活性预测能力的药效团。利用该算法,得到 10 个药效团,其各项参数输出见表 1。

由表 1 看出,评差 > 60,相关度 > 90,RMSD 也接近 1,说明采用 HypoGen 算法所计算出的药效团符合要求,该药效团与训练集小分子中有 92.38% 的相关性,各项参数均符合要求。

## 2 所构建药效团模型的验证

为了验证笔者所构建的药效团是否具有合理性

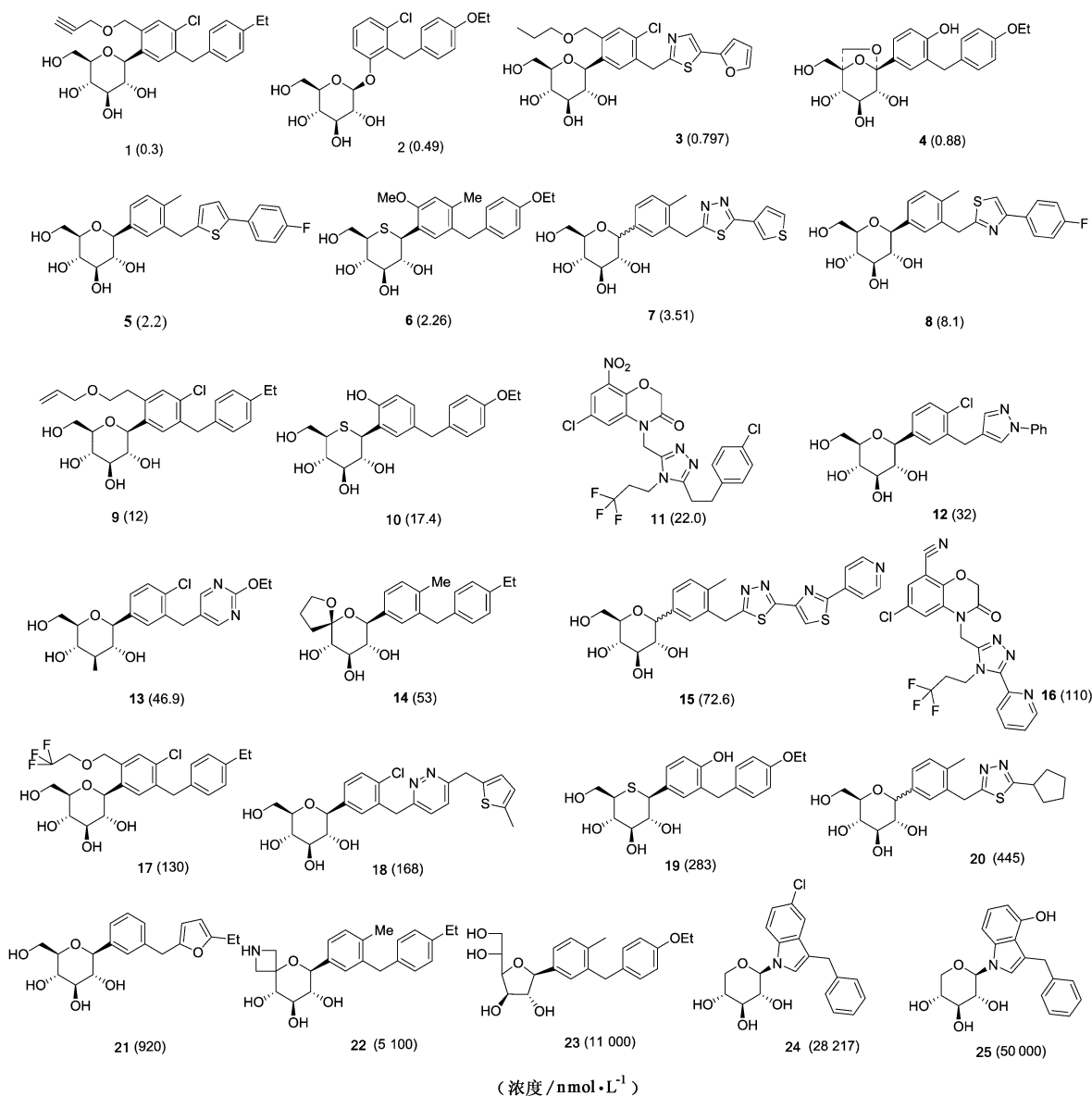


图 1 药效团构建训练集小分子

Fig. 1 Training set micro-molecules built for pharmacophore

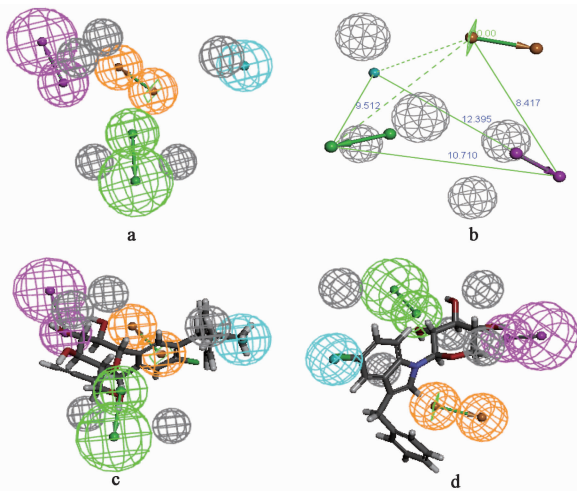
并能够识别出活性 SGLT-2 抑制剂小分子, 笔者对所构建的药效团分别进行 Fischer's randomization 验证和 decoy set 验证。

**2.1 Fischer's randomization 验证**<sup>[20]</sup> Fischer's randomization 验证是在保持训练集小分子不变的情况下, 由软件随机将所输入的活性值随机分配给所输入的小分子, 由此随机产生 19 组不同于真实活性匹配的活性小分子训练集, 计算机仍然采用 HypoGen 算法依次计算出这 19 个“随机训练集”的药效团, 通过对比排除模型构建时的随机性。该法由 DS3.0 软件在设置好参数后自动运行。在验证时, 设定置信度为 95%, 即确保验证结果又 95% 的可能性是合理的。通过计算, 随机产生了 19 个药效

团模型, 输出数据折线图。见图 3。

由图看出, 实际所构建出的药效团的 cost 值均小于随机产生的药效团 cost 值, 说明在 95% 置信度下, 笔者采用 HypoGen 方法构建出的药效团模型具有理论上的实际性。

**2.2 Decoy set 验证**<sup>[21]</sup> Decoy set 是利用所构建出的药效团对小分子数据库进行筛选, 从而判断所构建的药效团模型是否具有筛选能力。该法首先构建出一个包含活性小分子和非活性小分子数据库, 以该数据库为靶标, 利用该药效团进行筛选, 对筛选结果进行统计从而做出判断。笔者从“ZINK”(ZINK database) 小分子数据库中下载了一个包含 13 万个小分子的数据包, 利用 DS 从中随机挑选出了 1 000 个



a. 构建的最好的药效团模型; b. 所选取药效团的三维立体图及其相互间距离; c. 训练集中与该药效团匹配最好的小分子; d. 训练集中与该药效团匹配最差的小分子

图 2 SGLT-2 抑制剂药效团

Fig. 2 Pharmacophore of SGLT2 inhibitors

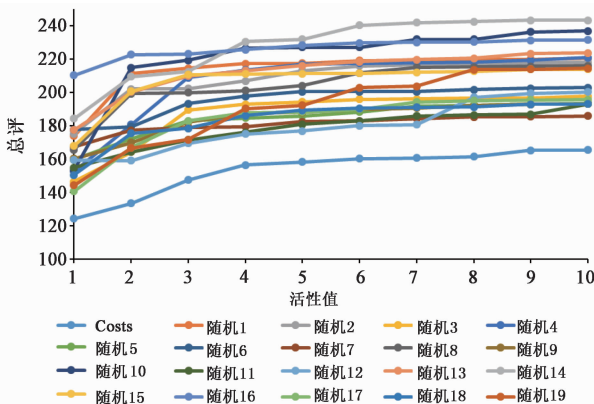


图 3 在 95% 置信度下 HypoGen 方法构建的药效团与随机产生药效团的总评对比

Fig. 3 Comparison for total costs between pharmacophore built with HypoGen method with confidence of 95% and randomly generated pharmacophore

小分子。以从相关文献中选出的 38 个活性小分子为参照,将这 1 000 个小分子中与 SGLT-2 抑制剂活性小分子相似的结构去除,得到 990 个小分子,与 38 个活性合并后组成小分子数据库,并用所得 Hypo 1 进行筛选,筛选结果见表 2。

从表 2 中可以看出,Hypo 1 从 1 028 个小分子筛选出了 39 个可能具有活性的小分子,其中包含了 37 个活性 SGLT-2 抑制剂小分子,筛选率达到 94.87%,证明所构建药效团具有潜在的 SGLT-2 抑制剂活性小分子筛选能力。

### 3 讨论

训练集分子的选用原则:输入的结构具有

表 2 Decoy set 筛选结果

Table 2 Decoy set screening results

| 编号 | 参数                                 | 评价    |
|----|------------------------------------|-------|
| 1  | 数据库中包含的小分子数量 (D)/个                 | 1 028 |
| 2  | 数据库中的活性小分子数量 (A)/个                 | 39    |
| 3  | 能够与药效团匹配的小分子数量 (Ht)/个              | 39    |
| 4  | 能匹配的小分子中活性小分子的数量 (Ha)/个            | 37    |
| 5  | 筛选率 $[(Ha/Ht) \times 100]/\%$      | 94.87 |
| 6  | % 活性分子筛选率 $[(Ha/A) \times 100]/\%$ | 94.87 |
| 7  | 匹配中非活性分子数量 $[A - Ha]/个$            | 2     |
| 8  | 不能匹配的活性小分子数量 $[Ht - Ha]/个$         | 2     |
| 9  | 匹配度 <sup>1)</sup> (GF)/%           | 99.79 |
| 10 | 富集因子 <sup>2)</sup> (EF)            | 25.06 |

注: <sup>1)</sup>  $(Ha/4HtA) (3A + Ht) \times \{1 - [(Ht - Ha)/(D - A)]\}$ ; <sup>2)</sup>  $(Ha \times D)/(Ht \times A)$ 。

多样性,从而能够代表不同类型的结构特征;化合物数量选择 20 个左右为宜,本文中选用 24 个;所选取化合物活性值应包含 3 个以上数量级。药效团构建过程中,应当根据计算出的结构适当调整训练集小分子,直至各项参数满足要求,并经一些列验证可行。

在进行 Decoy set 验证时,所选取的 1 000 个小分子中除去与活性 SGLT-2 抑制剂相似的小分子,具体采用 DS 3.0 “Filter by Property” 和 “Filter by SMARTS” 模块,即由计算机自动分析除去物理和化学性质相似的结构,得到异于 SGLT-2 活性小分子的结构。

本文从小分子配体共同特征出发,采用 HypoGen 算法成功构建出了 SGLT-2 抑制剂药效团,并经 Fischer's randomization 和 Decoy set 验证合理可行,具有较好的筛选能力。本文的创新之处在于利用计算机手段为活性化合物的发现和设计提供了理论参考和依据,避免了传统化合物设计的盲目性,为后期 SGLT-2 抑制剂的设计与合成提供了理论参考。

SGLT 抑制剂最早由苹果树皮中提取出的物质—根皮苷中首次被分离发现,这样就为笔者提供了一个研究思路样,鉴于 SGLT-2 抑制剂构效关系的局限性,本研究所构建出的 SGLT-2 抑制剂药效团模型,可以针对中药复杂的成分进行筛选<sup>[22]</sup>,期望发现该类抑制剂更多的药效分子,从而发现该类抑制剂全新的药效模型,为 SGLT-2 抑制剂的研究开拓更为广阔的前景。

#### [参考文献]

[1] Rossetti L, Smith D, Shulman G I, et al. Correction of hyperglycemia with phlorizin normalizes tissue sensitivity to insulin in diabetic rats[J]. J Clin Invest, 1987, 79

- (5):1510-1515.
- [ 2 ] Ehrenkranz J R L, Lewis N G, Kahn C R, et al. Phlorizin: a review[J]. *Diabetes-Metab RES*, 2005, 21(1):31-28.
- [ 3 ] Baileys, Clifford J. Renal glucose reabsorption inhibitors to treat diabetes[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2011, 32(2):63-71.
- [ 4 ] Lee J, Kim J Y, Choi J, et al. Pyrimidinyl methylphenyl glucoside as novel C-aryl glucoside SGLT2 inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(23):7046-7049.
- [ 5 ] Grempler R, Thomas L, Eckhardt M, et al. Empagliflozin, a novel selective sodium glucose cotransporter-2 (SGLT-2) inhibitor: characterisation and comparison with other SGLT-2 inhibitors [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2012, 14(1):83-90.
- [ 6 ] Handelsman Y, Mechanick J I, Blonde L, et al. American association of clinical endocrinologists medical guidelines for clinical practice for developing a diabetes mellitus comprehensive care plan [J]. *Endoc Pract*, 2011, 17(2):1-3.
- [ 7 ] Imamura M, Nakanishi K, Suzuki T, et al. Discovery of ipragliflozin (ASP1941): a novel C-glucoside with benzothiophene structure as a potent and selective sodium glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitor for the treatment of type 2 diabetes mellitus [J]. *Bioorg Med Chem*, 2012, 20(10):3263-3279.
- [ 8 ] Brand T, Macha S, Mattheus M, et al. Pharmacokinetics of empagliflozin, a sodium glucose cotransporter-2 (SGLT-2) inhibitor, coadministered with sitagliptin in healthy volunteers [J]. *Adv Ther*, 2012, 29(10):889-899.
- [ 9 ] Kang S Y, Kim M J, Lee J, et al. 1, 2, 4-triazinylmethylphenyl glucoside as novel C-aryl glucoside SGLT2 inhibitors[J]. *B Kor Chem Soc*, 2011, 32(8):2938-2940.
- [10] Sumihiro N, Shigeki S, Mitsuya H, et al. Discovery of canagliflozin, a novel C-glucoside with thiophene ring, as sodium-dependent glucose cotransporter 2 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes mellitus [J]. *J Med Chem*, 2010, 53(17):6355-6360.
- [11] Sukanta S, Dr S S. Canagliflozin (incokana): a first-in-class anti-diabetes drug [J]. *J Drug Del Therap*, 2013, 3(3):145-146.
- [12] Friedrich C, Metzmann K, Rose P, et al. A randomized, open-label, crossover study to evaluate the pharmacokinetics of empagliflozin and linagliptin after coadministration in healthy male volunteers [J]. *Clin Ther*, 2013, 35(1):A33-42.
- [13] Tahara A, Kurosaki E, Yokono M. Pharmacological profile of ipragliflozin (ASP1941), a novel selective SGLT2 inhibitor, *in vitro* and *in vivo* [J]. *Nau-Schmi Arch Pharm*, 2012, 385(4):423-436.
- [14] Kashiwagi A, Takahashi H, Ishikawa H, et al. double-blind, placebo-controlled study on long-term efficacy and safety of ipragliflozin treatment in patients with type 2 diabetes mellitus and renal impairment: results of the Long-Term ASP1941 safety evaluation in patients with type 2 diabetes with renal impairment (LANTERN) study [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2015, 17(2):152-160.
- [15] Veltkamp S A, Kadokura T, Krauwinkel W J J, et al. Effect of ipragliflozin (ASP1941), a novel selective sodium-dependent glucose co-transporter 2 inhibitor, on urinary glucose excretion in healthy subjects [J]. *Orig Re*, 2011, 31(12):839-851.
- [16] Ohtake Y, Sato T, Kobayashi T, et al. A Novel C-arylglucoside with an o-spiroketal ring system, as a highly selective sodium glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor for the treatment of type 2 diabetes [J]. *J Med Chem*, 2012, 55(17):7828-7840.
- [17] Yamamoto K, Uchida S, Kitano K, et al. TS-071 is a novel, potent and selective renal sodiumglucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor with anti-hyperglycaemic activity [J]. *J Pharm*, 2011, 164(1):181-191.
- [18] Hiroyuki K, Takahiro O, Yuko H T, et al. (1S)-1,5-anhydro-1-[5-(4-ethoxy-benzyl)-2-methoxy-4-methylphenyl]-1-thio-D-glucitol (TS-071) is a potent, selective sodium-dependent glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor for type 2 diabetes treatment [J]. *J Med Chem*, 2010, 53(8):3247-3261.
- [19] 谭勇, 朝学杰, 刘大胜, 等. 基于分子网络分析方法探索沈氏降压四物汤治疗高血压的分子机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(5):199-205.
- [20] Chen X M, Lu T, Lu S, et al. Structure-based and shape-complemented pharmacophore modeling for the discovery of novel checkpoint kinase 1 inhibitors [J]. *J Mol Model*, 2010, 16(7):1195-1204.
- [21] Khalaf R A, Abdula A M, Mubarak M S. Taha MODiscovery of new  $\beta$ -D-glucosidase inhibitors via pharmacophore modeling and QSAR analysis followed by *in silico* screening [J]. *J Mol Model*, 2011, 17(4):443-464.
- [22] 杨珍, 王退却, 张艳军, 等. 基于细胞萃取及分子对接的淫羊藿中雌激素样作用成分分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(20):67-71.