

五味子素类抑制 HIV 活性的三维定量构效关系研究

李 伟^a 易 翔^b 肖培根^c 褚凤鸣^b 郭彦伸^b
乔延江^c 毕开顺^a 郭宗儒^{*, b*}

(^a沈阳药科大学药理学系 沈阳 110015)

(^b中国医学科学院药物研究所 北京 100050)

(^c中国医学科学院药用植物资源研究所 北京 100094)

摘要 建立了五味子活性成分木脂素类和联苯类化合物抑制 HIV 活性的三维定量构效方程. 采用联苯环原子和苯环质心两种叠合方式, 并区分联苯化合物的不同构型, 共建立了四类 CoMSIA 模型, 其中训练集中联苯类为 *S* 构型并叠合联苯环原子建立的 CoMSIA 模型相关性最好, 交叉验证相关系数 q^2 为 0.71, 非交叉验证相关系数 $r^2 = 0.99$, 标准偏差 $SE = 0.051$, $F = 1000.6$. CoMSIA 方法采用 Gaussian 函数计算场能, 并在 CoMFA 方法的立体和静电场基础上加入疏水场, HLS 分析结果更为准确. 该模型三维等势图证实了某些结构和活性规律, 如联苯基共面性越好, 活性越高, 同时给出了苯环上取代基的体积、电性和疏水性要求, 为该类化合物的结构改造提供了依据.

关键词 五味子, 木脂素联苯环辛二烯类化合物, 联苯类化合物, 比较分子类似性分析 (CoMSIA), 比较分子立场分析 (CoMFA)

3D-QSAR Study of Schizandrins for Anti-HIV Using Comparative Molecular Similarity Indices Analysis

LI, Wei^a YI, Xiang^b XIAO, Pei-Gen^c CHU, Feng-Ming^b GUO, Yan-Sheng^b
QIAO, Yan-Jiang^c BI, Kai-Shun^a GUO, Zong-Ru^{*, b}

(^a Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110015)

(^b Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050)

(^c Institute of Medical Plants Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100094)

Abstract The present study constructs a model of three-dimensional quantitative structure and bioactivity of anti-HIV for a Chinese traditional medicine—Schizandrins, by implementing a new 3D-QSAR technique: comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA). Here four models are built based on different form of biphenyl and two aligned methods. The results of HLS analyses indicate that a good 3D-QSAR model can be obtained if biphenyl prefers *S* form and all the compounds are aligned according to the atoms in biphenyl group. After field expressions in terms of similarity indices in CoMSIA instead of the conventionally used Lennard-Jones and Coulomb-type potentials in CoMFA, the cross-validated q^2 and predictive ability are significantly improved. The CoMSIA coefficient contour plots identify several key features that the torsion angle of two benzene planes is a critical factor for the activity and the substituent at cyclooctadiene is also related to the activity, which are very valuable for designing and optimizing new active structures.

Key words schizandrins, dibenzocyclooctadiene lignans, biphenyl, CoMSIA, CoMFA

* E-mail: zrguo@imm.ac.cn

Received September 17, 2001; revised January 28, 2002; accepted March 4, 2002.

艾滋病迄今已成为世界范围的严重的社会问题. 抗艾滋病药物的创制是一个重要的研究课题. 目前, 人们采用 HIV 蛋白酶和逆转录酶抑制剂作为治疗艾滋病的主要药物^[1,2], 但普遍存在副作用强、耐药性及价格昂贵等缺点^[3,4]. 中医药是中华民族的瑰宝, 从我国丰富的中医药资源中研究开发治疗包括艾滋病在内的各种疾病, 是中医药现代化的重要内容. 中国传统中药五味子为木兰科 (广义) 植物五味子 (*Schizandra Chinensis*) 或华中五味子 (*Kadsura Japonica*) 的干燥成熟果实, 分别称“北五味子”和“南五味子”. 其主要成分木脂素的生物活性报道多集中在肝炎治疗研究领域, 例如其简化物联苯双酯具有良好的保肝降酶作用. 近年来发现五味子对中枢神经系统、癌细胞及 HIV 病毒都有生物活性. 五味子中活性成分联苯环辛二烯木脂素和人工合成的联苯类化合物被证实细胞和分子水平均具有抗艾滋病活性^[5], 但尚不能阐明其作用机理, 作用于靶点的药效团模式亦不清楚. 本文试图从化合物立体结构和电荷分布角度揭示其活性变化规律, 建立该类化合物的 3D-QSAR 模型, 通过三维立体、静电及疏水等势图映射化合物与其靶分子的相互作用, 为对天然联苯类木脂素的结构改造和人工合成抗艾滋病药物提供结构依据.

1 计算方法

所有工作均由 SGI O2 工作站和 Tripos 公司提供的 Sybyl 6.7 软件包完成, 计算中若非特别指明, 所选用参数均为默认值.

比较分子力场分析 (Comparative Molecular Field Analysis, CoMFA) 方法是 1988 年提出的建立化合物

理化性质和其活性之间相互关系的构效方法^[6], 适用于受体未知情况下配体的三维定量构效关系研究. 它在化合物周围建立三维网格, 通过计算网格点上探针原子与化合物分子的相互作用映射受体与化合物的结合信息. 经典的 CoMFA 分别采用 Lennard-Jones 和 Coulomb 势能函数计算空间场能和静电场能, 许多接近分子表面的网格点由于范德华斥力迅速增大而被忽略. 近年来发展的比较分子类似性分析 (Comparative Molecular Similarity Indices Analysis)^[7] 利用 Gaussian 函数分别计算空间场能、静电场能、疏水场能和氢键给予体及接受体场能, 揭示诸力场分布与活性的相关性. 由以下公式^[8]可看出, 距离 r 的较大变化不会引起能量参数 $A_{F,K}$ 急剧变化, 因此能更合理的反映化合物结构与活性的关系.

$$A_{F,K(j)}^q = - \sum_{i=1}^n \text{probe},k \quad i,k e^{-r_{iq}^2}$$

A : the similarity index at grid point q ; probe,k : the probe atom with radius 1 Å, charge +1, hydrophobicity +1, hydrogen bond donating +1, hydrogen bond accepting +1; i,k : the actual value of the physicochemical property k of atom i ; r_{iq} : the mutual distance between the probe atom at grid point q and atom i of the test molecule; α : the attention factor

1.1 化合物的选取

11 个具有联苯环辛烯骨架的木脂素 (以下简称木脂素类 **1** ~ **11**) 由北五味子、南五味子及红花五味子分离得到, 8 个化合物 (**12** ~ **19**) 为人工合成的取代联苯 (以下简称联苯类) (图 1). 化合物活性用感染 HIV 的淋巴细胞 H9 的半数有效抑制浓度 EC_{50} (mol/L) 表示^[5], 列于表 1, 取其负对数作为 QSAR 研究的活性指标.

表 1 训练集和预测集化合物的实验活性和计算活性列表

Table 1 Experimental and calculated EC_{50} of compounds in training set and test set

Compd.	- lg EC_{50}		Resid.	Compd.	- lg EC_{50}		Resid.
	Obsd.	Calcd.			Obsd.	Calcd.	
1	5.52	5.54	- 0.02	110	4.18	4.21	- 0.03
2^a	5.43	5.63	- 0.20	12	4.92	4.92	0.00
3	4.66	4.62	0.04	13	6.40	6.41	- 0.01
4	5.24	5.26	0.02	14	5.98	5.96	0.02
5	7.98	8.02	- 0.04	15	3.81	3.85	0.04
6	4.41	4.44	- 0.03	16	3.81	3.98	- 0.17
7	6.03	5.96	0.07	17^a	4.75	4.98	- 0.23
8	5.65	5.63	0.02	18	5.44	5.39	0.05
9	5.73	5.75	- 0.02	19	3.78	3.81	- 0.03
10^a	4.57	4.58	- 0.01				

^a Representing those compounds in test set and their calculated EC_{50} are predicted by the S1 model

1.2 化合物构象的建立

确定化合物的构象是建立 QSAR 模型的首要 and 关键步骤. 木脂素类由于联苯基的旋转受阻存在对

映异构现象, 文中的化合物绝对构型均已确定, 其中 1~7, 11 为 *S* 构型, 8~10 为 *R* 构型. 结构式在 Sybyl 软件包中由 Sketch 构建. 由于没有化合物与受体的

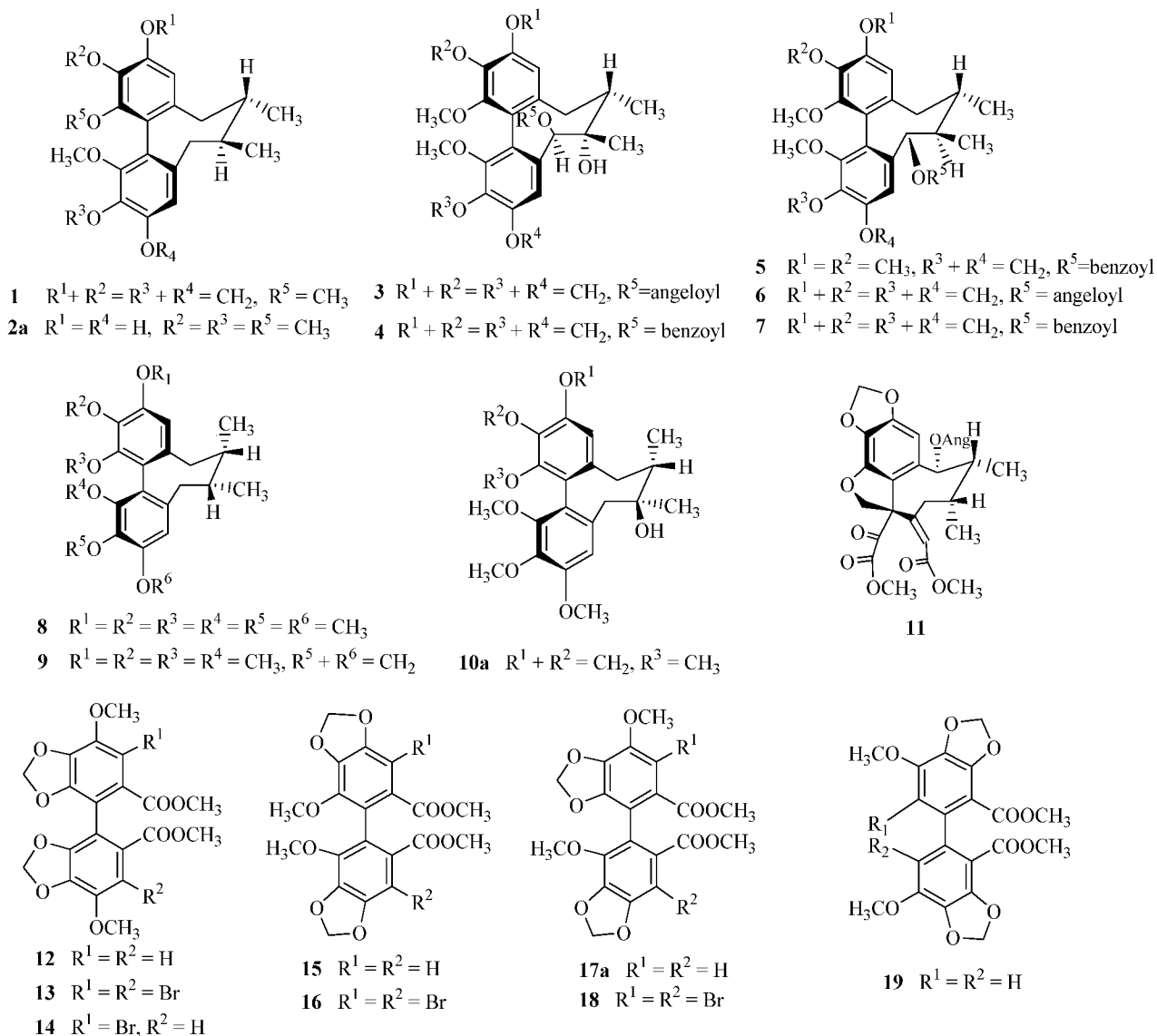


图 1 训练集和预测集中化合物结构式图(a 代表预测集化合物)

Figure 1 Structure of compounds in training set and test set (a represent compounds in test set)

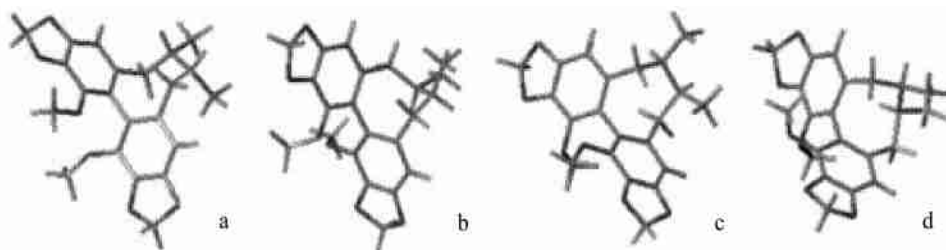


图 2 化合物 1 的低能构象

R 和 *S* 构型中扭曲的船椅式 a 和 c 及船式构象 b 和 d, 其中 a 和 c 为优势构象

Figure 2 Energy minimized conformations of compound 1

In *R* and *S* forms the respective twist-boat-chair conformation (a) and (c) are preferred over the boat forms (b) and (d)

复合物晶体结构数据,以其最低能量构象作为起始点进行构象分析.用模拟退火(Simulated Annealing)程序搜索,循环10次,低温200 K,高温1000 K,平衡时间均为1000 fs.两类构型的环辛基都得到扭曲的船椅式和船式两种构象(图2),前者比后者约稳定12 $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.因此化合物采用扭曲的船椅式的低能构象作为起始构象,在Tripos力场下进行分子力学优化,用Mopac 7.0中的PM3方法计算电荷.

联苯类也存在阻转异构现象,由于测定活性所采用的样品为对映体消旋物,这为3D-QSAR分析带来困难.基于木脂素类的两种构型均有类似活性,推测联苯类化合物中每一对映体对抑制HIV活性可能有相近的贡献,因此构建了两种构型的构象,分别进行QSAR分析.

1.3 分子叠合

在3D-QSAR分析中,分子可采取多种方式排列,不同的叠合方式反映化合物的空间取向和与靶分子结合的模式不同,并直接影响化合物周围各种场能的分布.观察该类化合物,其结构特点为:(1)联苯环上连有多个含氧基团,如羟基、甲氧基或亚甲二氧基;(2)联苯环上邻位取代引起的阻转现象导致两个芳环间有不同程度的夹角.这两种因素可能对化合物的活性变化产生重要影响,为此我们采用两种叠合方式:

第一种方式:叠合联苯环原子,观察联苯不同的夹角引起化合物周围各种场能的变化对活性的影响.*S*和*R*构型木脂素苯环原子叠合后,环辛烯显然处于联苯环两侧,联苯类以*S*构型叠合时,模型命名为S1,若以*R*构型叠合,命名为R1.图3为模型S1的叠合图.

第二种方式:除叠合两个苯环的质心外,第三个叠合点在木脂素类中为八元环的质心,在联苯中为两个甲酸甲酯及1,2,1',2'-碳原子的质心,以确保苯环上取代基有相同的空间取向(图3).此时木脂素

的含氧基及环辛基在空间的取向相同,而联苯环则呈交叉配置.联苯化合物若为*S*构型,叠合后羧酸甲酯基与环辛基取向一致,该模型命名为S2,化合物为*R*构型,所建模型为R2.

1.4 3D-QSAR分析

在19个化合物中随机选取3个化合物(图1中以a标示)作为预测集,用以检验模型的预测能力.其余16个化合物作为训练集.CoMSIA方法在化合物周围分别建立立体场、静电场和疏水场.选取的探针原子半径为0.1 nm,带+1电荷,疏水性和氢键结合能力均为1.衰减因子为0.2.网格步长为0.02 nm.PLS分析时先用交叉验证(Cross-validation)抽一法(Leave-one-out)中的SAMPLES项计算.再用非交叉验证法(Non-cross-validation)获得QSAR模型.考虑到三维网格中某些点的势能函数对化合物的活性影响很小,用AdvCoMFA中的Regon Focus项删除这些网格点后,重新进行交叉验证和非交叉验证,得到最终的QSAR模型.

为比较CoMSIA模型与传统的CoMFA模型的质量,同时建立了CoMFA模型.立体场和静电场的阈值均为125 $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$,探针原子为 sp^3 杂化的碳原子,网格大小和步长同上.

2 结果和讨论

2.1 CoMSIA 分析结果

根据化合物的构型和两种叠合方式建立的四个CoMSIA模型结果列于表2,在两种叠合方式中*S*和*R*训练集的交叉验证相关系数 q^2 均大于0.4,说明方程均具有一定的可靠性和预测能力.同时联苯类为*S*构型时PLS分析结果好于*R*构型,如 q^2 在S1和R1模型中分别为0.71和0.41,在S2和R2模型中分别为0.65和0.63,说明联苯类以*S*构型时建立的QSAR方程更为可靠,然而仅依据QSAR方程是不能决定究竟哪种构型活性较好的,因为PLS分析还

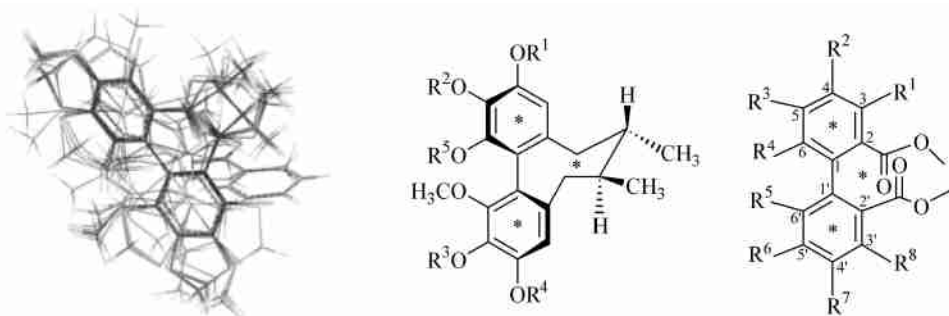


图3 以化合物5为模板按S1方式的叠合图和第二种方式的叠合原子示意图

Figure 3 The aligned compounds of model S1 according to the first method based on compound 5 and aligned atoms in the second method

表 2 四种方法建立的 CoMSIA 模型分析结果

Table 2 Results of CoMSIA analyses in four training sets and test set

Model	q^2	r^2	Std error	F	Optimal component	Predicted activity of new compd.			r_{press}
						2	10	17	
S1	0.71	0.99	0.051	1000.6	8	5.63	4.58	4.98	0.93
R1	0.41	1.00	0.015	9733.0	10	6.68	6.27	4.69	0.23
S2	0.65	0.99	0.11	1743.8	6	5.45	5.07	4.60	0.39
R2	0.63	1.00	0.035	0284.2	9	5.96	5.07	4.66	0.69

受到训练集中其它化合物结构因素的影响.按第一种方式叠合且联苯类为 *S* 构型时建立的 CoMSIA 模型(模型 S1)具有最佳的相关性和预测能力,其交叉验证相关系数 $q^2 = 0.71$,用该模型对随机选取的化合物 2, 10, 17 进行活性预测,实验值与预测值的相关系数为 0.93,预测能力明显高于其它模型.因此在建立木脂素类和联苯化合物三维定量构效关系过程中,叠合联苯环原子,由联苯夹角变化反映的结构对活性的影响信息,较之叠合苯环质心,由取代基的空间取向引起的结构变化,前者更能揭示化合物结构与活性的规律.该类化合物联苯夹角的大小对其抗 HIV 活性的影响,与其保肝作用的影响类似^[9],联苯越趋近于其平面,越有利于活性提高.

2.2 CoMSIA 及 CoMFA 方法比较

CoMSIA 方法以 Gaussian 函数代替 Lennard-Jones 和 Coulomb 函数计算场能后,三维网格点能更客观地计算化合物的立体和静电性质.以 S1 模型为例,用立体场和静电场建立的 CoMFA 模型和 CoMSIA 模型交叉验证相关系数 q^2 分别为 0.57 和 0.59,后者高于前者.加入疏水场后模型可信度进一步增加, q^2 为 0.71,提示化合物的疏水性质在配基与受体作用时有重要影响.表 3 列出了 CoMSIA 及 CoMFA 模型参数,说明由立体场、静电场和疏水场组成的 CoMSIA 有更好的相关性和可信度^[10].

表 3 CoMSIA 和 CoMFA 方法参数比较

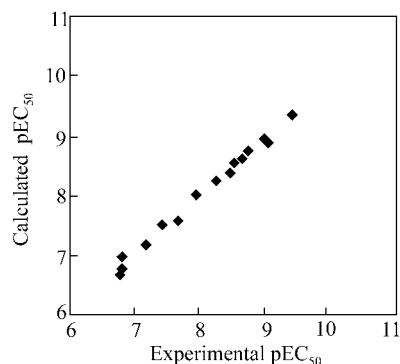
Table 3 The comparison of parameters in CoMFA model and CoMSIA model

	CoMFA	CoMSIA	CoMSIA
		Steric + electrostatic	Steric + electrostatic + hydrophobic
q^2	0.57	0.59	0.71
r^2	0.99	0.99	0.99
SE	0.16	0.14	0.05
F	169.6	136.7	1000.6
Component	5	8	8

2.3 CoMSIA 等势图

按 S1 方法建立的 CoMSIA 模型更准确地反映了

构效关系,实验值与计算值的残差列于表 1 中,图 4 显示了二者相关性.用三维等势图表示的各场能的比例为:立体场 10.0 %,静电场 49.0 %,疏水场 41.0 %,分别示于图 5a, 5b,图 6a, 6b,图 7a, 7b.立体等势图中绿色和黄色区域分别表示大体积和小体积基团有利于提高活性;静电等势图中,红色区域表示负电荷增加活性将提高,蓝色区域则负电荷减小活性提高;疏水场等势图中,黄色和灰色区域分别代表疏水基和亲水基有利于活性提高.

图 4 化合物实验 pEC_{50} 值与 S1 模型计算的 pEC_{50} 值相关图Figure 4 Comparison of experimental pEC_{50} with calculated pEC_{50} obtained from S1 model

2.4 联苯基夹角对活性的影响

联苯类夹角的变化范围在 60 至 75 之间,其中活性较高的化合物 12, 14, 18 联苯夹角依次为 60.7°, 65.0°, 63.4°,活性较低的化合物 12, 15, 16, 19 除 16 外联苯夹角均大于 70°,夹角与活性的相互关系在等势图中表现为:(1) 立体等势图中(图 5b),黄色区域位于羧酸甲酯取代基外侧,其内侧为绿色区域,当联苯夹角较小,苯环共面性增加时,该取代基越接近绿色区,远离黄色区,因此活性增加.(2) 随着联苯夹角增大,苯环和羧酸甲酯的共轭电子云越接近静电等势图中(图 6b)的蓝色区,导致活性下降.由此可知,联苯夹角的大小不仅引起苯环取代基的空间位置不同,对分子的电荷分布也有重要影响,成为决定化合物活性高低的主要因素.

2.5 取代基配置对活性的影响

通过比较不同叠合方式建立的 3D-QSAR 模型,发现联苯夹角是决定该类化合物抗 HIV 活性的重要因素. 木脂素类的八元环以扭曲的船椅式存在较稳定, 苯并环辛烯结构使联苯环不能自由旋转, 且两苯环夹角变化较小, 本文中木脂素的联苯夹角在 65 至 70 ° 之间, 因此活性应在同一水平. 观察化合物 **1**, **2**, **8**, **9**, 虽然构型不同, 但八元环和联苯环上取代基类似, 活性确实相近. 化合物 **4**, **5**, **6**, **7** 的活性差异可能是八元环上取代基的空间位置和立体静电性质不同引起的, 因为化合物 **5**, **7** 的苯甲酰基在等势图中均处于有利于提高活性的位置, 落入立体等势图(图 5a)中最大的绿色区域, 并且处于疏水等势图(图 7a)中右方的黄色区域, 活性较高; 化合物 **4** 的苯甲酰基落入图 5a 中的黄色区域, 化合物 **6** 的当归酰基落入静电等势图(图 6a)的蓝色区, 使活性下降. 因此在进一步的结构改造中, 选择取代基的位置和类型是设计高活性化合物的关键.

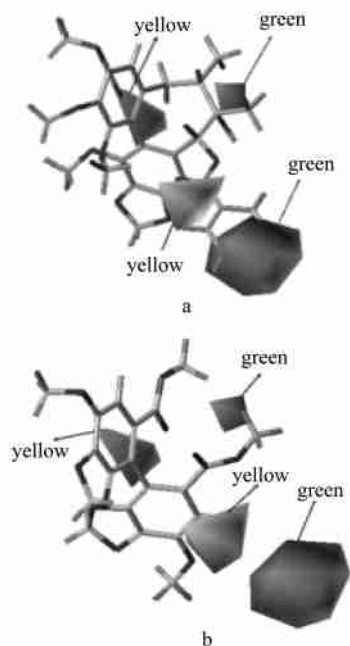


图 5 CoMSIA 立体场等势图

图 a 和图 b 中化合物分别为 **5** 和 **14**

Figure 5 The contour plots of CoMSIA steric fields

The compounds **50** and **14** are shown as the reference compounds respectively in figure a and b

比较化合物 **12**, **13**, **14**, 含溴数目越多, 活性越高, 说明取代基溴在化合物作用于靶分子时有重要的疏水相互作用, 这反映在疏水等势图中(图 7a)下方黄色为联苯化合物苯环 3 取代基所在位置. 在苯

环 3 取代基处出现灰色, 我们认为这是由于化合物 **14** 的不对称性引起的, 将其 R^1 和 R^2 基团互换, 基团附近的疏水场和亲水场也相应交换(见图 7b), 进一步证实推断的合理性.

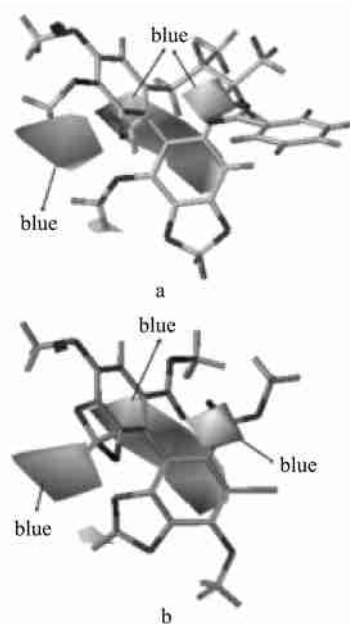


图 6 CoMSIA 静电场等势图

图 a 和图 b 中化合物分别为 **5** 和 **14**

Figure 6 The contour plots of CoMSIA electrostatic fields

The compounds **5** and **14** are shown as the reference compounds respectively in figure a and b

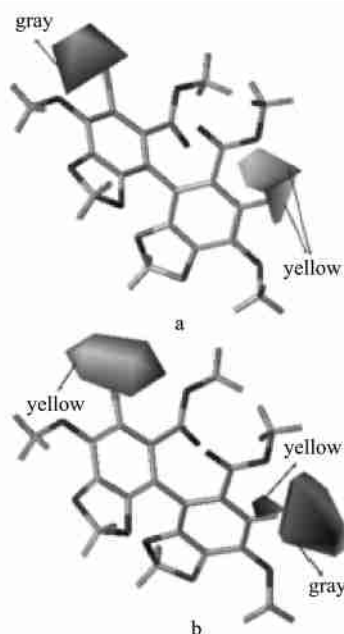


图 7 化合物 **14** 的 CoMSIA 疏水场等势图

Figure 7 The contour plots of CoMSIA hydrophobic fields

a—Compound **14** is shown as the reference compound; b— R^1 group in compound **14** is hydrogen and R^2 group is bromine

3 结论

本文对木脂素类和联苯类进行三维定量构效关系研究,两类化合物都存在对映异构现象,其中木脂素活性为单一对映体活性,因此直接用于 3D-QSAR 分析;联苯类活性数据用消旋体测得,在确定构象时分别建立了两种构型,并依据木脂素类的活性情况假定两种构型对活性的贡献相等,PLS 分析表明两种构型都能建立有意义的 CoMSIA 模型.同时建立了不同叠合方式的三维构效方程,其中第一种方式即叠合联苯环原子得到的 QSAR 模型和三维等势图表明,联苯夹角是决定化合物活性的主要因素,木脂素类八元环取代基的空间取向和结构是提高活性的关键,为进一步进行结构改造提供了指导信息.

References

- 1 Deeks, S. G.; Smith, M. J. *Am. Med. Assoc.* **1997**, 277, 145.
- 2 Moyle, G.; Gazzard, B. *Drugs* **1996**, 277, 145.
- 3 Plattner, J. J.; Norbeck, D. W. *Drug Discovery Technologies*, Ed.: Horwood, E., Chichester, England, **1990**, p. 92.
- 4 Barry, M.; Gibbons, S. *Clin. Pharmacokinet.* **1997**, 32, 194.
- 5 Lee, K. H.; Zhang, S.-X.; Morri-Natschke, S. L. *China Med. College. J.* **1999**, 8, 41.
- 6 Cramer, R. D.; Patterson, D. E.; Bunce, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 5959.
- 7 Klebe, G.; Abraham, U.; Mietzner, T. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 4130.
- 8 *Ligand-Based Design Manual*, Version 6.6, Tripos Inc., St. Louis, **1999**, p. 148.
- 9 GUO, Z.-R. *Medicinal Chemistry*, China Medical & Pharmaceutical Sciences Press, **1994**, p. 106 (in Chinese). (郭宗儒, 药物化学总论, 中国医药科技出版社, 北京, **1994**, p. 106.)
- 10 Hou, T. J.; Li, Z. M.; Li, Z. J. *Chem. Inf. Comput. Sci.* **2000**, 40, 1002.

(A0109171 LU, Y. J.; LING, J.)