

黄酮类多药耐药相关蛋白抑制活性的构效关系研究

乔连生, 贺昱甦, 张燕玲*

(北京中医药大学 中药信息工程研究室, 北京 100102)

[摘要] 该文应用比较分子相似性指数法(comparative molecular similarity index analysis, CoMSIA)对 29 个黄酮类成分的结构与其多药耐药相关蛋白(multidrug-resistance associated protein, MRP) MRP1 和 MRP2 的抑制活性进行了定量构效关系(quantitative structure-activity relationship, QSAR)研究。通过考查不同分子力场组合对 CoMSIA 建模的影响,获得了 MRP1 和 MRP2 抑制活性起重要作用的分子力场,构建了最优 QSAR 模型,并探讨了黄酮类多药耐药相关蛋白抑制剂的结构修饰方法。研究结果不仅可为新药研发提供指导,也有助于部分探讨 MRP1 和 MRP2 的受体结构和含黄酮类中药的协同作用机制。

[关键词] 多药耐药相关蛋白;比较分子相似性指数法;黄酮类化合物;定量构效关系

多药耐药(multidrug resistance, MDR)是导致肿瘤治疗失败的主要原因之一,引起 MDR 的原因很多,其中多药耐药相关蛋白(multidrug-resistance associated protein, MRP)介导的药物外排是 MDR 的重要原因之一。MRP 主要包括 9 个成员,分别为 MRP 1~9。其中 MRP1 和 MRP2 能转运与葡萄糖醛酸、谷胱甘肽、硫酸盐以及其他有机阴离子相结合形成的共轭化合物而引起 MDR^[1]。黄酮类化合物存在于多种植物中,研究表明其对 MRP1 和 MRP2 具有抑制作用,可能开发成为 MDR 调节剂,但目前对于黄酮类化合物抑制剂的作用机制及构效关系尚不完全明确^[2-3]。

文献[4]测得了黄酮类化合物对 MRP1 和 MRP2 的抑制指数,利用 2D-QSAR 的方法建立了黄酮类化合物活性与结构之间的关系,但其并未充分考虑化合物的三维结构特征以及与受体结合的影响。3D-QSAR 不仅有助于获得药效的基团模型,还有助于推演“假想”的受体模型,指导合理药物设计^[5]。比较分子相似性指数分析方法(comparative molecular similarity index analysis, CoMSIA)是较为成功且广为应用的 3D-QSAR 分析方法,其可以分析药物分子的立体场、静电场、疏水场、氢键给体场和氢键受体场与生物活性之间的关系^[6]。因此,本研究采用 CoMSIA 方法分析黄酮类化合物的结构特

点,探讨 MRP1 与 MRP2 受体的结构特征及黄酮类化合物抑制其活性的作用机制,为黄酮类多药耐药调节剂的研发提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 化合物活性数据及构象优化 黄酮类化合物的活性数据来源于文献[4],其结构母核见图 1,其二维结构及抑制活性数值见表 1,其中实测值为 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 下黄酮类化合物的抑制百分数。采用 SYBYL 软件构建分子的三维结构,使用 Tripos 标准力场进行初步能量优化,负载 Gasteiger-Huckel 电荷,最大迭代次数设置为 1 000 次,并利用系统搜寻法获得分子的最低能量构象,其他参数均采用系统的默认值。

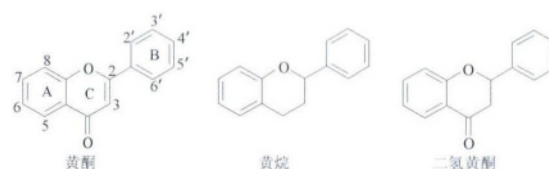


图 1 化合物的基本结构

Fig. 1 The basic structure of the compounds

1.2 分子叠合 将文献[4]中的 29 个黄酮类化合物随机挑选 20 个化合物作为训练集,其余 9 个化合物为测试集(表 1 中标记为星号的化合物),按照其公共骨架进行叠合,模板分子选择结构最简单的黄酮分子 17,分子叠合结果见图 2 3。

1.3 CoMSIA 分析 用偏最小二乘法(partial least square, PLS)对黄酮类化合物的抑制指数和 5 种力

[收稿日期] 2013-07-30

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173522)

[通信作者] * 张燕玲, 副研究员, Tel: (010) 84738620, E-mail: colleen_zhang@163.com

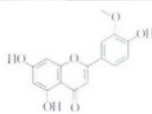
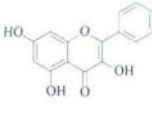
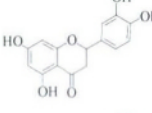
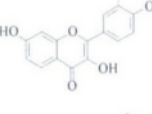
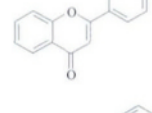
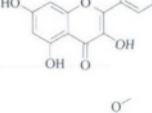
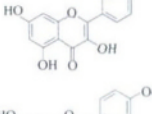
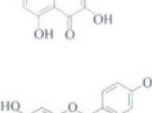
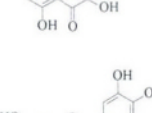
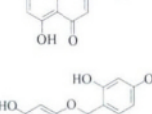
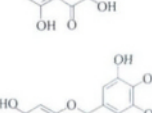
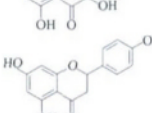

[作者简介] 乔连生, E-mail: 2284607267@qq.com

表 1 MRP1 和 MRP2 抑制剂的活性值和预测结果

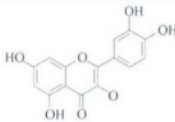
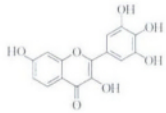
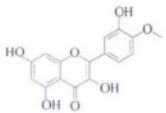
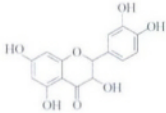
Table 1 The activity values and prediction of MRP1 and MRP2 inhibitor

No.	化合物名称	化合物结构	MRP1 抑制剂			MRP2 抑制剂		
			实测值	预测值	偏差	实测值	预测值	偏差
1*	3',4'-dihydroxyflavone		57	17.17	39.83	16	-4.13	20.13
2*	3'-hydroxyflavone		13	14.71	-1.71	0	0.6	-0.6
3*	3,3',4'-trihydroxyflavone		26	24.07	1.93	17	-3.98	20.98
4	3,3'-dihydroxyflavone		4	16.53	-12.53	1	1.29	-0.29
5	3-hydroxyflavone		3	-1.44	4.44	2	0.96	1.04
6	4'-hydroxyflavone		15	5.07	9.93	1	2.48	-1.48
7	5,7,3',4'-tetramethoxyflavone		76	74.2	1.8	20	19.33	0.67
8	acacetin		18	29.57	-11.57	1	3.18	-2.18
9	apigenin		47	42.62	4.38	2	6.3	-4.3
10	baicalein		48	51.49	-3.49	28	30.8	-2.8
11	catechin		15	20.26	-5.26	0	0.87	-0.87
12	chrysin		10	4.39	5.61	2	-0.4	2.4

续表 1

No.	化合物名称	化合物结构	MRP1 抑制剂			MRP2 抑制剂		
			实测值	预测值	偏差	实测值	预测值	偏差
13	chrysoeriol		85	83.63	1.37	31	29.98	1.02
14	diosmetin		84	85.86	-1.86	17	13.04	3.96
15	eriodictyol		31	28.59	2.41	13	9.18	3.82
16 *	fisetin		2	33.02	-31.02	1	2.33	-1.33
17	flavone		36	33.47	2.53	5	6.73	-1.73
18 *	galangin		43	10.54	32.46	0	0.98	-0.98
19	isorhamnetin		60	58.88	1.12	10	9.04	0.96
20	kaempferide		40	21.23	18.77	2	21.61	-19.61
21 *	kaempferol		72	58.29	13.71	2	-1.58	3.58
22 *	luteolin		53	36.27	16.73	17	2.84	14.16
23 *	morin		30	65.81	-35.81	8	15.43	-7.43
24	myricetin		63	69.81	-6.81	68	63.49	4.51
25	naringenin		2	5.26	-3.26	0	0.51	-0.51

续表 1

No.	化合物名称	化合物结构	MRP1 抑制剂			MRP2 抑制剂		
			实测值	预测值	偏差	实测值	预测值	偏差
26	quercetin		63	61.39	1.61	5	13.53	-8.53
27	robinetin		75	70.82	4.18	76	78.51	-2.51
28	tamarixetin		68	61.32	6.68	8	6.52	1.48
29*	taxifolin		8	0.63	7.37	3	5.72	-2.72

注: * 化合物为测试集化合物。

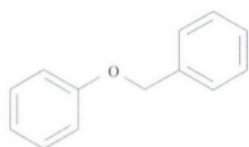


图 2 公共骨架

Fig. 2 Public skeleton

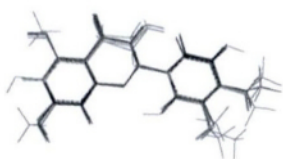


图 3 分子叠合结果

Fig. 3 Molecular alignment results

场指标进行回归。为了发现最佳的力场组合方式,推测受体的结构及其与配体的结合方式,本文同时采用不同力场组合进行 PLS 分析^[7],其统计结果见表 2,其中 S 表示立体场, E 表示静电场, Hyd 表示疏水场, A 表示氢键受体场, D 表示氢键供体场。交叉验证获得 q^2 , 以验证模型的准确性,通常 $q^2 > 0.5$ 的时候,即说明模型具有较好的预测能力。

2 结果与讨论

2.1 MRP1 的 CoMSIA 结果 通过分析不同力场组

表 2 不同场组合得到的 CoMSIA 模型结果

Table 2 Statistical results of CoMSIA with different combinations of fields

类别	不同分子场组合	主成分数	q^2	R^2	F
MRP1 抑制剂	S + E	3	0.619	0.959	50.999
	S + E + Hyd	3	0.644	0.959	50.655
	S + E + A + D	4	0.461	0.950	52.952
	S + E + Hyd + A + D	4	0.481	0.948	51.127
MRP2 抑制剂	S + E	5	0.620	0.957	62.715
	S + E + Hyd	5	0.571	0.953	56.401
	S + E + A + D	5	0.743	0.977	116.953
	S + E + Hyd + A + D	5	0.711	0.974	106.012

合得到的 CoMSIA 模型,其中立体场、静电场和疏水场的组合分析所获得的模型最好,其 q^2 为 0.644,由此可见疏水场对于模型的预测能力具有关键性作用,而氢键场对于 MRP1 抑制剂的活性没有明显作用。其中,立体场、静电场和疏水场的贡献值分别是 0.083, 0.564, 0.353, 这证明静电场对活性起重要作用,这与文献 [4] 所报道的 MRP1 模型一致。

所构建的 CoMSIA 模型见图 4,在立体场中,绿色和黄色分别代表对分子活性有利和不利的立体场分布;在静电场中,蓝色和红色分别代表正电性和负电性对分子活性有利的区域;在疏水场中,黄色和灰色分别代表增大和减弱疏水场对分子活性有利。依据

模型得到如下分析结果:①黄酮分子 3'-4'-位的取代基是影响活性的重要因素^[8],3'-4'-位适宜连接较大体积的基团,4'-位适宜正电性基团,同时 2'-位连接正电性基团也对活性有利;②3'-位有疏水性基团有利于提高分子活性,且立体场要求此处不宜存在较大体积的基团,可以得出此处不连接官能团可能对活性较为

有利;③4-位羰基为必要基团。如 7 号分子中,3'-4'-位的甲氧基为带有正电的较大体积的基团,对活性提高具有关键性作用;同时其 3-位未连接官能团、4-位含有必要基团羰基,对其活性提高亦有帮助;但其 A 环中 5-位含有亲水氧,对其活性具有一定的抑制作用。因此 7 号分子的活性并非最高。

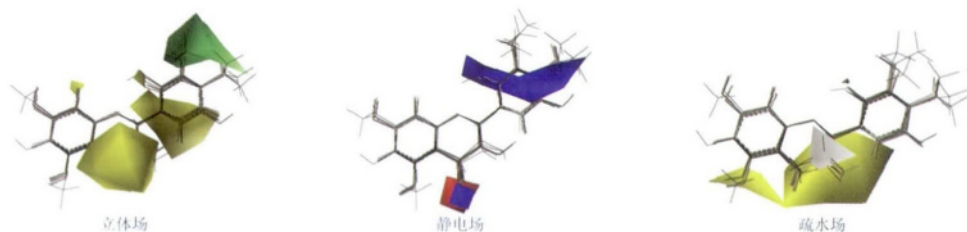


图 4 MRP1 抑制剂的 CoMSIA 模型等值线图
Fig. 4 Contour maps of CoMSIA model of MRP1 inhibitors

2.2 MRP2 的 CoMSIA 结果 根据 MRP2 抑制剂的不同场组合的 CoMSIA 模型分析结果,立体场、静电场、氢键供体场和氢键受体场的分子场组合所获得模型准确性最高,其 q^2 为 0.743,模型中立体场、静电场、氢键供体场和氢键受体场的贡献值分别是 0.042, 0.301, 0.480, 0.177。可见氢键供体场对模型贡献程度最高,4 种场的等值线图见图 5。在氢键供体场中,青色和紫色分别代表增大和减弱氢键供体场对分子活性有利;在氢键受体场中,洋红色和红色分别代表增大和减弱氢键受体场对分子活性有利。模型分析可知:①在立体场中,3'-5'-和 8-位及 6'-位不宜有较大体积的基团,而 5'-位适宜取代较大体积的基团;②在静电场中,4-位羰基为必要负电

基团,4'-位适宜取代正电基团,而 3'-位适宜负电基团;③在氢键供体场中,4'-5'-和 6'-位适宜取代氢键供体基团,而 4-位羰基和 3'-位则不宜取代氢键供体基团;④在氢键受体场中,5'-位适宜取代氢键受体基团,而 4-位羰基和 5-位不宜存在氢键受体基团;⑤其中值得注意的是 5'-位,研究结果表明 5'-位取代较大体积的氢键受体基团有利于活性的提高^[9]。如 27 号分子中,5'-位的羟基是良好的氢键供受体,对活性提高具有重要作用;同时 5-位不存在氢键供受体基团和较大体积的基团以及 3'-位存在的较大体积吸电基团也有利于活性的提高;但是其 4'-位的羟基为负电基团且为氢键供受体,可能对活性具有一定的抑制作用。

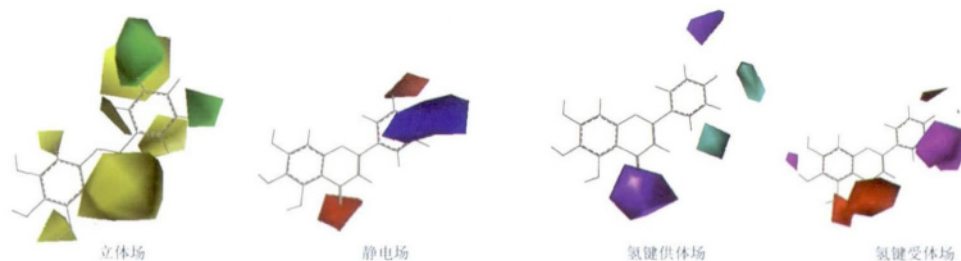


图 5 MRP2 抑制剂的 CoMSIA 模型等值线图
Fig. 5 Contour maps of CoMSIA model of MRP2 inhibitors

3 结论

通过对黄酮类 MRP1 和 MRP2 抑制剂的不同力

场组合的 CoMSIA 研究,结果表明在 MRP1 抑制剂结构中,静电场和疏水场对其抑制活性贡献较大,其

受体结合位点中可能含有更多的疏水氨基酸和带有正负电荷的氨基酸;在 MRP2 抑制剂结构中,氢键场和静电场则对其抑制活性贡献较大,这与“ATP 结合位点的亲水活性化合物能有效抑制 MRP2”的文献研究结果相互佐证^[2],可以推测出 MRP2 抑制剂的受体结合位点中含有更多的亲水性氨基酸。

黄酮类化合物具有抗肿瘤作用,同时又具有抑制肿瘤细胞多药耐药的作用,是有着广泛前景的抗肿瘤药物^[10]。本研究对黄酮类化合物进行了抑制 MRP1 和 MRP2 的 QSAR 研究,可以从理论上指导黄酮类多药耐药相关蛋白抑制剂的研发。同时,黄酮类化合物作为广泛存在于中药中的一大类化合物,可能会使得中药中的有效成分进入细胞发挥药效作用而不会被细胞外排,从而提高生物利用度,以产生更强、更持久的药效,这有助于部分探讨中药治疗疾病时各组分发挥协同作用的作用机制^[11]。

[参考文献]

- [1] 周雪玲,乔静.多药耐药相关蛋白家族生物学功能的研究现状[J].海南医学,2010,21(20):133.
- [2] Pedersen J M, Matsson P, Bergström C A S, et al. Prediction and identification of drug interactions with the human ATP-binding cassette transporter multidrug-resistance associated protein 2 (MRP2; ABCC2) [J]. J Med Chem, 2008, 51(11): 3275.
- [3] 吴茜,李志裕,唐伟方,等.黄酮的结构改造与生物活性[J].天然产物研究与开发,2008,20(3):557.
- [4] Van Zanden J J, Wortelboer H M, Bijlsma S, et al. Quantitative structure activity relationship studies on the flavonoid mediated inhibition of multidrug resistance proteins 1 and 2 [J]. Biochem Pharm, 2005, 69(4): 699.
- [5] 陈凯先,蒋华良,嵇汝运,等.计算机辅助药物设计:原理,方法及应用[M].上海:上海科学技术出版社,2000.
- [6] 曹洪玉.酶抑制剂的三维定量构效关系与分子对接研究[D].大连:大连大学,2007.
- [7] 相玉红,肖爱婧,张卓勇. CoMFA, CoMSIA, HQSAR 方法研究四氢异喹啉衍生物的定量构效关系[J].兰州大学学报:自然科学版,2009,45(4):88.
- [8] Boumendjel A, Baubichon-Cortay H, Trompier D, et al. Anti-cancer multidrug resistance mediated by MRP1: recent advances in the discovery of reversal agents [J]. Med Res Rev, 2005, 25(4): 453.
- [9] 杨帆,刘艾林,杜冠华.黄酮类化合物对肿瘤多药耐药调节作用的研究进展[J].中国新药杂志,2010(2):109.
- [10] 朱荣鑫,张赛龙,金永生.黄酮类化合物抗肿瘤作用研究进展[J].现代药物与临床,2010(1):5.
- [11] 玛依努尔·艾力.异常黑胆质成熟剂总黄酮抗肿瘤及逆转肿瘤细胞耐药性机制研究[D].乌鲁木齐:新疆医科大学,2008.

Study on structure-activity relationship of flavonoids' multidrug resistance-associated protein inhibitory activity

QIAO Lian-sheng, HE Yu-su, ZHANG Yan-ling*

(Beijing University of Chinese Medicine, Research Center of Traditional Chinese Medicine-information Engineering, Beijing 100102, China)

[Abstract] To study the quantitative structure-activity relationship (QSAR) between the structures of 29 flavonoids and the inhibitory activity of their multidrug resistance-associated protein (MRP) 1 and 2 by using the comparative molecular similarity index analysis (CoMSIA). By studying the impact of the combination of different molecular force fields, researchers obtained the molecular force fields that played an important role in inhibiting the activity of MRP1 and MRP2, built the optimized QSAR model, and discussed the structural modification method for flavonoids' multidrug resistance-associated protein inhibitor. The results of the study could not only provide the guidance for new drug R&D, but also help partially discuss the synergy mechanism between MRP1 and MRP2 receptors and traditional Chinese medicines containing flavonoids.

[Key words] multidrug resistance; comparative molecular similarity index analysis; flavonoid; QSAR

doi: 10.4268/cjcm20140525

[责任编辑 张宁宁]