

# 抑制人乳腺癌细胞MCF-7生长的查尔酮类化合物的三维定量构效关系研究<sup>Δ</sup>

王君瑜\*,刘雪丽,王海桃,杨海\*(青岛市中心医院药学部,山东青岛 266042)

中图分类号 R914.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)34-4787-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.34.11

**摘要** 目的:通过研究抑制人乳腺癌细胞MCF-7生长的查尔酮类化合物的三维定量构效关系(3D-QSAR),为查尔酮类抗肿瘤药物的研发提供理论基础。方法:分析55个查尔酮类化合物的结构和活性(pIC<sub>50</sub>)值,进行分子叠合后,采用比较分子力场分析(CoMFA)模型考察化合物的立体场和静电场,比较分子相似性指数分析(CoMSIA)模型考察化合物的立体场、静电场、疏水场、氢键供体场和氢键受体场,确立最优取代基团并进行预测。结果:CoMFA模型显示立体场、静电场对化合物活性有影响,CoMSIA模型显示疏水场、静电场、立体场对化合物活性影响显著。分子叠合后,在公共骨架上的R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>取代基附近引入亲水性基团,R<sub>1</sub>、R<sub>4</sub>取代基区域引入具有一定负电荷的基团,减少R<sub>2</sub>取代基上的位阻并在R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub>引入正电荷基团,可明显增加查尔酮类化合物的活性。按此结果设计了2种新的化合物,其pIC<sub>50</sub>分别达到了5.538、5.589(CoMFA法)和5.552、5.628(CoMSIA法)。结论:3D-QSAR可准确分析查尔酮类化合物抑制人乳腺癌细胞MCF-7生长活性的结构特征,可为新药的开发研究提供理论指导。

**关键词** 人乳腺癌细胞MCF-7;查尔酮类化合物;三维定量构效关系;比较分子力场分析模型;比较分子相似性指数分析模型;基团;活性

## 3D-QSAR Study on Chalcone Compounds Inhibiting the Growth of Human Breast Tumor Cell MCF-7

WANG Junyu, LIU Xueli, WANG Haitao, YANG Hai (Dept. of Pharmacy, Qingdao Center Hospital, Shandong Qingdao 266042, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To provide theoretical basis for R&D of chalcone anti-tumor drugs by studying 3D-QSAR of chalcone compounds inhibiting the growth of human breast tumor cell MCF-7. METHODS: The structure and activity value (pIC<sub>50</sub>) of 55 chalcone compounds were analyzed. After molecular alignment, comparative molecular field analysis (CoMFA) was used to investigate three dimensional field and electrostatic field, and comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA) was used to investigate steric field, electrostatic field, hydrophobic field, hydrogen bond donor field and hydrogen bond receptor field of chemical compound. Finally, optimal substituent group was confirmed and predicted. RESULTS: CoMFA model showed the effects of steric field and electrostatic field of the compound on its activity; CoMSIA model showed the effects of hydrophobic field, electrostatic field and hydrogen bond acceptor field of the compound on its activity. After molecular alignment, hydrophilic group introduced around R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> substituent group of public frame, and the group with negative charge introduced in R<sub>1</sub>, R<sub>4</sub> substituent group, steric hindrance of R<sub>2</sub> substituent group reduced and positive charge introduced in R<sub>2</sub> and R<sub>4</sub>, can significantly increase the activity of chalcone compounds. 2 new compounds were designed according to above results, pIC<sub>50</sub> of them were 5.538, 5.589 (CoMFA model) and 5.552, 5.628 (CoMSIA method). CONCLUSIONS: 3D-QSAR can accurately analyze the structural character of chalcone compounds inhibiting the growth activity of MCF-7 cells and provide theoretic direction for new drug R&D.

**KEYWORDS** Human breast tumor cells MCF-7; Chalcone compounds; 3D-QSAR; CoMFA; CoMSIA; Hydrophilic group; Activity

查尔酮类化合物是芳香醛酮发生交叉羟醛缩合的产物,其化学名为1,3-二苯基丙烯酮,具有抗肿瘤活性,其主要作用机制为使肿瘤细胞周期停滞,抑制细胞增殖;促使肿瘤细胞凋亡;抑制血管生成;抑制细胞传导过程中的酪氨酸蛋白激酶,阻止配体和受体结合;抗氧化、促进抑癌基因表达,从而抑制癌基因表达。查尔酮类化合物抗肿瘤谱广,对正常细胞毒性低,同时具有免疫增强功能<sup>[1-4]</sup>。

Δ 基金项目:青岛中医药科研计划(No.2015-zyy026)

\* 药师,硕士。研究方向:药物结构。电话:0532-84961431。  
E-mail:86411wjy@163.com

# 通信作者:主管药师,博士研究生。研究方向:药物结构。电话:0532-84961431

量构效关系(QSAR)是利用计算和统计的方法定量地研究系列化合物的结构(包括二维结构、三维结构和电子结构等)与其生物效应(如化合物的活性、药性、药效学、生物利用度等)之间的关系,是药物分子设计研究中的重要理论计算方法和常用手段。其基本原理为化合物的活性可由其物理、化学参数(包括疏水参数、静电参数、立体参数等)的定量表达来表示,且在一定范围内具有加和性。基于QSAR计算所得参数可为生物活性预测、药物分子设计或结构修饰提供理论依据。在本研究中,笔者通过分析抑制人乳腺癌细胞MCF-7活性的查尔酮类化合物的三维定量构效关系(3D-QSAR),建立直观的结构活性等势图,为合理开发新型、有效的抗乳腺癌药物提供理论依据。

# 1 原理与方法

## 1.1 原理

比较分子力场分析 (CoMFA) 法<sup>[5-6]</sup>是研究系列化合物 3D-QSAR 通用的方法, CoMFA 能考虑分子的三维结构信息, 通过计算分子周围三维空间中假想网状格点上的立体场和静电场参数, 再用偏最小二乘 (PLS) 法寻找三维特征信息与化合物活性的联系。比较分子相似性指数分析 (CoMSIA) 法<sup>[7]</sup>是在 CoMFA 法基础之上发展起来的一种较为新颖的 3D-QSAR 方法, 其分子场采用了与距离相关的高斯函数形式, 避免了分子表面附近网格点上能量的显著变化与 CoMFA 方法相比, 后者不需要定义能量阈值, 并定义了 5 种分子力场, 即立体场、静电场、疏水场、氢键供体场和氢键受体场 (后二者统称为氢键场)。

## 1.2 模板选取与分子叠合

本研究选取了 55 个查尔酮类化合物, 均具有抑制 MCF-7 生长的活性, 其化合物结构和活性值 (用  $pIC_{50}$  值表示,  $IC_{50}$  值为达到 50% 抑制效果时抑制剂的浓度,  $pIC_{50} = -\lg IC_{50}$ ) 来源于文献<sup>[8]</sup>, 查尔酮类化合物的化学结构式见图 1。

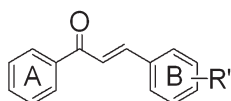


图 1 查尔酮类化合物的化学结构式  
Fig 1 Structure of chalcone compounds

从中选取 44 个分子作为训练集 (Training set) 用于构建三维定量构效关系模型, 11 个分子作为测试集 (Testing set) 对所建模型进行验证, 详见表 1。

表 1 55 种化合物的结构与活性

Tab 1 Structure and activity of 55 compounds

序号	A 环	R' (B 环)	$pIC_{50}$	CoMFA 法		CoMSIA 法	
				预测值	残差	预测值	残差
1*		2'-Cl	5.553	5.305	0.248	5.350	0.203
2		H	5.469	5.418	0.051	5.411	0.058
3		4-Cl	5.602	5.492	0.110	5.528	0.074
4*		吡啶-4-基 <sup>a</sup>	5.143	5.550	-0.407	5.344	-0.201
5		吡啶-3-基 <sup>a</sup>	5.367	5.372	-0.005	5.367	0.000
6		吡啶-2-基 <sup>a</sup>	5.409	5.404	0.005	5.372	0.037
7		4'-MPZ <sup>b</sup>	5.071	5.092	-0.021	5.123	-0.052
8		2'-CH <sub>3</sub>	5.180	5.185	-0.005	5.115	0.065
9		4'-CH <sub>3</sub>	5.268	5.301	-0.033	5.327	-0.059
10		2'-CH <sub>3</sub> O	5.155	5.166	-0.011	5.169	-0.014
11		4'-CH <sub>3</sub> O	5.155	5.203	-0.048	5.206	-0.051
12		2'-F	5.420	5.365	0.055	5.353	0.067
13		4'-F	5.409	5.526	-0.117	5.488	-0.079
14		4'-CF <sub>3</sub>	5.553	5.554	-0.001	5.573	-0.020
15*		2'-Cl	5.509	4.711	0.798	4.759	0.750
16		4'-Cl	5.174	5.220	-0.046	5.218	-0.044
17		H	5.244	5.200	0.044	5.123	0.121
18		2'-F	5.469	5.499	-0.030	5.470	-0.001
19		4'-F	5.194	5.127	0.067	5.072	0.122
20		2'-CH <sub>3</sub>	4.652	4.656	-0.004	4.712	-0.060
21*		4'-CH <sub>3</sub>	5.180	4.726	0.454	4.583	0.597
22		2'-CH <sub>3</sub> O	4.996	5.001	-0.005	5.020	-0.024
23		4'-CH <sub>3</sub> O	4.593	4.615	-0.022	4.669	-0.076

注: \* 为测试集; a 表示 B 环被吡啶环取代; b 表示 4'-(4-甲基哌嗪-1-基)

Note: \* means test set; a means B ring was replaced by pyridine ring; b means 4'-(4-methyl piperazine-1-base)

续表 1  
Continued tab 1

序号	A 环	R' (B 环)	$pIC_{50}$	CoMFA 法		CoMSIA 法	
				预测值	残差	预测值	残差
24		3'-CH <sub>3</sub> O	4.506	4.492	0.014	4.490	0.016
25		2,4'-(CH <sub>3</sub> O) <sub>2</sub>	4.917	4.927	-0.010	4.848	0.069
26		3'-Cl	5.569	5.598	-0.029	5.614	-0.045
27		3'-CN	4.860	4.849	0.011	4.862	-0.002
28*		4'-CF <sub>3</sub>	4.845	5.084	-0.239	5.453	-0.608
29		4'-MPZ <sup>b</sup>	4.842	4.844	-0.002	4.897	-0.055
30		4'-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> N	4.857	4.876	-0.019	4.870	-0.013
31		2,4'-(CH <sub>3</sub> O) <sub>2</sub>	4.788	4.784	0.004	4.742	0.046
32		2'-Cl	4.670	4.672	-0.002	4.719	-0.049
33*		4'-Cl	5.071	4.797	0.274	5.068	0.003
34		2'-Cl	4.324	4.365	-0.041	4.328	-0.004
35		4'-Cl	4.600	4.558	0.042	4.572	0.028
36		吡啶-4-基 <sup>a</sup>	5.102	5.074	0.028	5.067	0.035
37*		吡啶-3-基 <sup>a</sup>	4.866	5.251	-0.385	5.202	-0.336
38		吡啶-2-基 <sup>a</sup>	5.194	5.211	-0.017	5.197	-0.003
39		2'-Cl	5.585	5.573	0.012	5.597	-0.012
40		H	5.319	5.310	0.009	5.306	0.013
41		4'-Cl	5.469	5.462	0.007	5.461	0.008
42*		吡啶-4-基 <sup>a</sup>	5.538	5.291	0.247	5.134	0.404
43		2'-Cl	5.208	5.157	0.051	5.198	0.010
44		2'-F	5.143	5.181	-0.038	5.178	-0.035
45		H	5.222	5.200	0.022	5.209	0.013
46		4'-MPZ <sup>b</sup>	4.860	4.862	-0.002	4.868	-0.008
47*		吡啶-4-基 <sup>a</sup>	4.907	5.335	-0.428	5.141	-0.234
48		2'-Cl	4.650	4.600	0.050	4.602	0.048
49*		2'-CH <sub>3</sub> O	4.928	4.562	0.366	4.947	-0.019
50		H	4.593	4.643	-0.050	4.65	-0.057
51		2'-Cl	5.538	5.539	-0.001	5.555	-0.017
52*		4'-Cl	5.495	5.219	0.276	5.307	0.188
53		H	5.377	5.416	-0.039	5.407	-0.030
54		2'-Cl	5.432	5.432	0.000	5.472	-0.040
55		2'-F	5.456	5.442	0.014	5.436	0.020

注: \* 为测试集; a 表示 B 环被吡啶环取代; b 表示 4'-(4-甲基哌嗪-1-基)

Note: \* means test set; a means B ring was replaced by pyridine ring; b means 4'-(4-methyl piperazine-1-base)

所有化合物结构采用 Chem Draw Ultra 8.0 画出并用导入 Sybyl 7.3 分子模拟软件对结构进行优化<sup>[9]</sup>。在 Tripos 立场中, 利用 Powell 梯度算法进行能量优化, 其中收敛能量设置为 0.05 kcal/mol (1 cal = 4.186 8 J), 迭代次数设置为 1 000。本研究是基于共同骨架结构, 选择活性最大的化合物 3 作为模板分子进行叠合, 通过最小二乘法叠合优化分子间坐标的均方根偏差得到最佳的分子叠合模式。

## 1.3 CoMFA 和 CoMSIA 模型构建

CoMFA 模型构建过程中采用 Tripos 标准立场, 选取 sp<sup>3</sup> 杂化的 C<sup>+</sup> 离子为探针, 对叠合分子周围每个网点格上的立体场及静电场的大小及分布进行计算, 场能阈值 (Cut off) 设为 30 kJ/mol, 其余各项参数均为系统默认值, 通过偏最小二乘方法 (PLS) 确定最佳主成分数, 采用留一法 (Leave-one-out, LOO)<sup>[10]</sup> 进行交叉验证, 得到交叉验证相关系数 ( $q^2$ ); 然后通过非交叉验证进行回归分析, 得到非交叉验证相关系数 ( $r^2$ )、统计方差比 ( $F$ ) 和标准偏差 (SE), 建立相应的 CoMFA 模型; 最后采用 Stedev\*coeff 方法<sup>[11]</sup>, 作出三维等势图。

CoMSIA 研究中,从立体场、静电场、疏水场以及氢键供体场、氢键受体场5种分子场角度来考察化合物结构与活性之间的相互作用。这5种分子场的计算采用的探针原子半径为0.1 nm,带1个正电荷,衰减因子 $\alpha=0.3$ ,其余各项参数均为系统默认值。PLS分析时采用的方法与CoMFA相同,采用留一法进行交叉验证,得到最佳组分数和交叉验证系数,然后进行非交叉验证,得到CoMSIA模型。

#### 1.4 新结构设计及活性预测

通过对“1.3”项下模型进行分析,同时参考文献[12],对原化合物结构进行优化,并采用CoMFA法和CoMSIA法进行活性预测。

## 2 结果与讨论

### 2.1 分子叠合结果

55种查尔酮化合物分子叠合后公共骨架与取代基结果见图2。

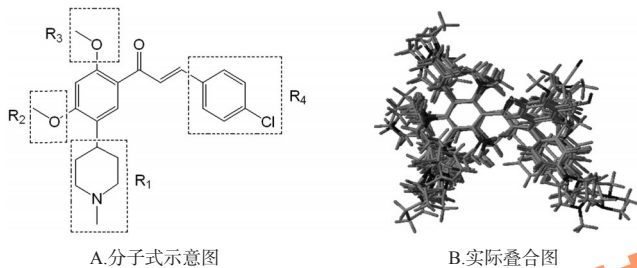


图2 55种查尔酮化合物分子叠合后公共骨架与取代基  
Fig 2 Public frame and substituent group of 5 chalcone compounds after alignment

### 2.2 CoMFA 和 CoMSIA 模型的数据分析结果

CoMFA 和 CoMSIA 模型的  $q^2$  分别为 0.701、0.662,  $r^2$  分别为 0.987、0.979,说明模型预测能力较好且统计学稳定性较好;  $F$  值分别为 342.632、179.779, SE 值分别为 0.043、0.055,表明本研究建立的模型具有较高的置信度和较强的预测能力<sup>[13]</sup>。在 CoMFA 模型中,立体场和静电场的贡献分别为 53.3%、46.7%,立体场作用略大于静电场。在 CoMSIA 模型中,分子场贡献分别为立体场 17.2%、静电场 29.3%、疏水场 31%、氢键供体场 8.6%、氢键受体场 14%,疏水场、静电场、立体场、氢键受体场对活性影响显著。

### 2.3 CoMFA 模型的等势图分析

CoMFA 模型的等势图详见图3。

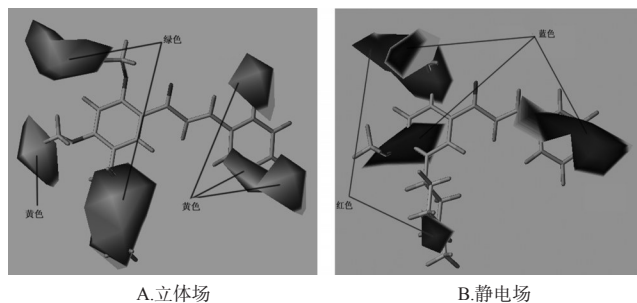


图3 CoMFA 模型的等势图  
Fig 3 Contour plot of CoMFA model

图3A为CoMFA模型的立体场等势图,绿色表示增大该区域取代基位阻对活性有利,黄色区域表示减小该区域取代基位阻对活性有利;结合图2A可知,在 $R_1$ 位置引入较大位阻

对活性有提高作用,而 $R_2$ 、 $R_4$ 位取代基则应尽量减小位阻以提高化合物活性。图3B为CoMFA模型的静电场等势图,蓝色表示在该区域增加带正电荷的取代基有利于提高化合物的活性,红色表示引入带负电荷的取代基对活性有利;结合图2A可知,在 $R_2$ 、 $R_4$ 引入正电荷, $R_1$ 位置引入负电荷可提高化合物活性。

### 2.4 CoMSIA 模型的等势图分析

CoMSIA模型的等势图详见图4(CoMSIA模型的立体场和静电场分布图变化趋势与CoMFA模型基本一致,故不再重复分析)。

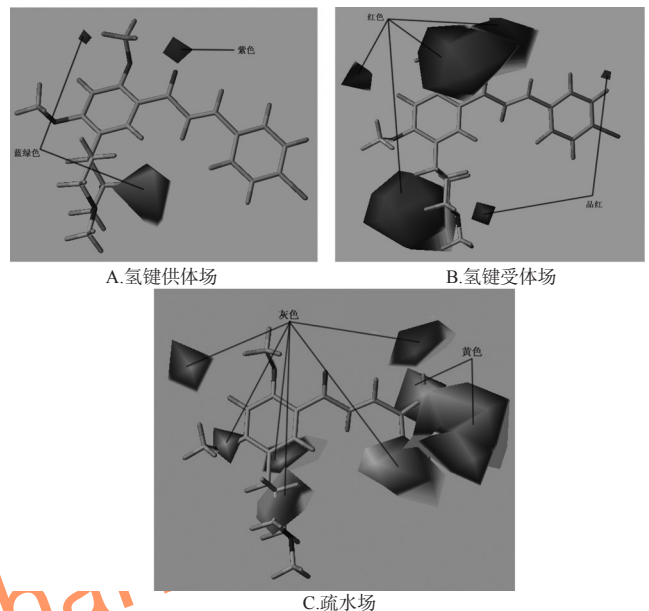


图4 CoMSIA 模型的等势图  
Fig 4 Contour plot of CoMSIA model

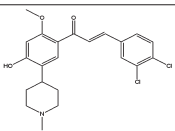
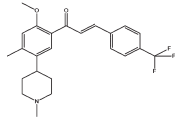
图4A为氢键供体场等势图,蓝绿色表示在此处引入氢键供体对活性有利,紫色区域表示此处的氢键供体对活性不利;结合图2A可知,在 $R_1$ 取代基引入—F和—Cl等质子受体可提高化合物的活性。图4B为氢键受体场等势图,品红色区域中引入氢键受体有利于提高化合物活性,红色区域中引入氢键受体则会降低有机物活性;结合图2A可知, $R_1$ 、 $R_3$ 取代基含有氢键受体不利于化合物活性。图4C为疏水场等势图,黄色区域表示如引入苯环、甲基(— $CH_3$ )、乙基(— $CH_2CH_3$ )和甲氧基(— $OCH_3$ )等疏水性官能团有利于提高化合物活性,灰色区域表示引入亲水性基团如羟基(—OH)、羧基(—COOH)等有利于活性的提高化合物活性;结合图2A可知, $R_1$ 和 $R_2$ 取代基引入亲水性的基团能够提高化合物的活性, $R_4$ 取代基上引入疏水性基团有利于提高化合物的活性。

### 2.5 新结构设计及活性预测结果

通过分析所建模型,并参考文献[10]中的分子对接、活性位点结构等情况,对原有查尔酮化合物进行结构修饰,以得到预测活性较高的化合物,详见表2。其中化合物1在 $R_1$ 上保留位阻较大的甲基哌啶,在 $R_2$ 上引入位阻较小、并带有亲水性的—OH,在 $R_4$ 上引入—Cl以减小位阻,增加基团负电荷;化合物2在 $R_2$ 上引入— $CH_3$ ,增加正电荷的同时减小了位阻,在 $R_4$ 上引入—F以增大疏水性和基团的负电荷。新设计的化合物  $pIC_{50}$  分别达到了 5.538、5.589 (CoMFA 法) 和 5.552、5.628

(CoMSIA法)。

表2 2种新结构设计及CoMFA和CoMSIA模型预测活性  
Tab 2 Design of 2 new structures and predictive activity of CoMFA model and CoMSIA model

编号	结构	pIC <sub>50</sub> 预测值	
		CoMFA	CoMSIA
1		5.538	5.552
2		5.589	5.628

预测化合物活性明显增大,表明构建模型可以有效预测活性。

### 3 结论

本研究主要通过3D-QSAR对抑制人乳腺癌细胞MCF-7生长的查尔酮类化合物的结构特点进行研究,以探讨结构修饰对化合物活性的影响,为能开发出活性高、有临床应用价值的抗肿瘤查尔酮类化合物提供理论基础。查尔酮类化合物抗肿瘤效果正在被广泛研究,Reddy MVB等<sup>[2]</sup>利用化学方法,合成了不同杂环取代的查尔酮类衍生物38个,通过磺酰罗丹明B(SRB)比色法检测,验证了其所合成的38个化合物均有不同程度的抑制肿瘤作用。王丽等<sup>[14]</sup>比较了查尔酮、姜黄素、二苯甲酰甲烷对胃癌细胞MGC-803生长抑制及凋亡的作用,发现低剂量的查尔酮即可诱导细胞凋亡,抑制其增殖,如此避免了其他药物剂量过高对正常细胞产生的毒副作用,还可以通过诱导相应细胞形态、DNA形状改变,诱导MGC-803、BGC823细胞的核固缩、核碎裂、DNA“梯状”现象和凋亡。研究表明,当查尔酮B上引入吸电子基团强的化合物时,其抗MCF-7肿瘤活性显著强于阿霉素<sup>[14]</sup>。

本研究通过建立预测能力及可信度较高的CoMFA模型和CoMSIA模型,定量研究了疏水场、静电场、立体场、氢键供体场、氢键受体场对查尔酮化合物抗肿瘤活性的影响。研究结果表明,R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>取代基附近引入亲水性基团,R<sub>1</sub>取代基引入疏水性基团,R<sub>1</sub>引入具有一定负电荷的基团,R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>引入正电荷基团,减少R<sub>3</sub>上的位阻,可明显增加查尔酮类化合物的活性。以上结论均为设计具有高活性的查尔酮类化合物提供了理论依据。在本研究中,笔者根据预测结果设计的2个化合物,活性均较高。后续正在进行合成工作的研究,以期能够得到抗肿瘤活性较高的查尔酮类化合物。

### 参考文献

[1] 曾平莉,王东,冯骞.查尔酮的合成应用研究进展[J].化工生产与技术,2005,12(3):23.

[2] Reddy MVB, Su CR, Chiou WF, *et al.* Design, synthesis, and biological evaluation of Mannich bases of heterocyclic chalcone analogs as cytotoxic agents[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2008, 16(15):7 358.

[3] Kanazawa M, Satomi Y, Mizutani Y, *et al.* Isoliquiritigenin inhibits the growth of prostate cancer[J]. *European Urology*, 2003, 43(5):580.

[4] 赵乐晶,石玉,刘巍,等.新型查尔酮类化合物的合成及其抗肿瘤活性[J].中国药物化学杂志,2010(3):161.

[5] Cao R, Zeng H, Zhang H. 3D-QSAR studies on a series of inhibitors docked into a new homology model of the DNA-PK receptor[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2009, 15(32):3 796.

[6] Zeng H, Cao R, Zhang H. Combined 3D-QSAR modeling and molecular docking study on quinoline derivatives as inhibitors of P-selectin[J]. *Chemical Biology & Drug Design*, 2009, 74(6):596.

[7] 侯廷军,徐筱杰.比较分子场分析方法研究的最新进展[J].化学进展,2001,13(6):436.

[8] Liu X, Go M. Antiproliferative activity of chalcones with basic functionalities[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2007, 15(22):7 021.

[9] Zhang W, Zhang D, Stashko MA, *et al.* Pseudo cyclization through intramolecular hydrogen bond enables discovery of pyridine substituted pyrimidines as new mer kinase inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2011, 56(23):9 683.

[10] Browne MW. Cross-validation methods[J]. *Mathemat Psychol*, 2000, 44(1):108.

[11] Nair PC, Sobhia ME. Quantitative structure activity relationship studies on thiourea analogues as influenza virus neuraminidase inhibitors[J]. *Eur J Med Chem*, 2008, 43(2):293.

[12] 蒋玉仁,秦伟.苯并噁嗪酮衍生物的3D-QSAR分析[J].物理化学学报,2008,24(10):1 859.

[13] 王晶晶.新型查尔酮化合物(LHC系列)抗肿瘤生物活性的理论和实验研究[D].天津:天津医科大学,2009.

[14] 王丽,张宝旭,阎蕾,等.姜黄素、二苯甲酰甲烷、查尔酮对人胃癌MGC-803细胞生物学行为的影响[J].包头医学院学报,2005,21(1):4.

(收稿日期:2016-05-09 修回日期:2016-09-30)

(编辑:刘明伟)

《中国药房》杂志——RCCSE 中国核心学术期刊,欢迎投稿、订阅