维普资讯 http://www.cqvip.com

云 南 植 物 研 究 2006, 28 (1): 95~99
Acta Botanica Yunnanica

旱生香茶菜二萜化合物细胞毒活性的三维构效研究*

易 平[1,2], 邱明华[1**], 孙汉董[1]
(1 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204; 2 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要: 应用比较分子力场法 (COMFA) 研究了一系列旱生香茶菜二萜化合物对人红细胞白血病 (K562)、人早幼粒白血病 (HL-60)、人胃腺癌 (MKN-28) 和人结肠癌 (HCT) 细胞体外抗肿瘤活性进行了三维定量构效关系的初步研究, 其结果将为香茶菜二萜的结构修饰和简化, 先导化合物的发现提供理论依据。

关键词: 旱生香茶菜; 对映-贝壳杉烯型二萜; 细胞毒活性; 三维定量构效关系; 比较分子力场法
中图分类号: Q 946 **文献标识码**: A **文章编号**: 0253-2700(2006)01-095-05

3D QSAR Studies on Cytotoxin Actives of Ent-kauranoids from *Isodon xerophilus* (Labiatae) by CoMFA

YI Ping[1,2], QIU Ming-Hua[1**], SUN Han-Dong[1]
(1 *Laboratory of Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences*, Kunming 650204, China;
2 *Graduate School of the Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100039, China)

Abstract: It is our aim to establish the CoMFA models of the ent-kauranoids from *Isodon xerophilus* and guide the design for new anti-cancer drugs. The advanced 3D-QSAR (quantitative structure-activity relationship) method CoMFA (comparative molecular field analysis) was used to study the QSAR relationship of ent-kauranoids with cytotoxicity activity *in vitro* and led to four CoMFA models. The results of CoMFA models reveal the 3D-relationship between bioactivities and structures of these ent-kauranoids, and will be helpful to further design and find new drugs for higher anti-cancer activities.

Key words: *Isodon xerophilus*; Ent-kaurenoids; Cytotoxicity; 3D-QSAR; CoMFA

香茶菜二萜化合物的研究, 最早于 1910 年, 日本学者八木 (Yagi, 1910) 从延命草 (*Isodon japonica* Hara) 得到苦味结晶, 虽有众多日本学者的努力, 但直到 1964 年饭高等用 X-晶体衍射分析, 才确定了延命素 (enmein) 的化学结构具有 6, 7-断裂-对映-贝壳杉烷 (6, 7-seco-ent-kaurane) 的骨架 (Fujita 等, 1965, 1966)。我国香茶菜二萜的结构研究始于上世纪 70 年代, 孙汉董研究组从抗肿瘤植物冬凌草 (*Isodon rubescens*) 中分离并鉴定了冬凌草素甲 (oridonin)、乙 (ponicidin)、丙 (rubescensin C) 等; 药理实验证明: 甲素对人食管鳞状癌细胞株 CaES-17 有明显细胞毒活性 (河南省医学科学研究所药理药化组等, 1978), 乙素对艾氏腹水癌有明显的细胞毒活性 (张覃沐等, 1980)。之后该研究组从 50 余种香茶菜属植物中分离了 550 个二萜化合物, 包括 430 多个新结构, 4 个新骨架类型, 具有显著抗肿瘤活性的达 20 余个, 成为世界香茶菜二萜的研究中心。该研究组系统深入的研究, 大大丰富了对映-贝壳杉烷类二萜化合物的内容, 使香茶菜属植物二萜化合物的结构分类更加清晰, 活性更加明了, 有可能通过三维构效、药效团分析等计算机辅助药物设计手段达到简化结构, 明确活性部位, 以发现活性更好、结构更简的先导化合物。为此我们对旱生香茶菜二萜化合物的抗肿瘤活性 (孙汉董等, 2001) 进行了三维构效研究, 发现了具有较好的模型相关性和抗肿瘤活性的化合物, 并预测了结构, 有进一步研究的

* 基金项目: 云南省自然科学基金重点项目 (2004C0008Z) 资助
** 通讯联系人 Corresponding author phone. Tel + 86-871-5223253, Fax: + 86-871-5150227. E-mail: mhchiu@mail.kib.ac.cn
收稿日期: 2005-06-02, 2005-07-13 接受发表
作者简介: 易平 (1974-) 男, 博士研究生, 主要从事天然药物的计算机辅助设计。

维普资讯 http://www.cqvip.com

价值。本文报道这一研究的初步结果。

1 材料和方法

1.1 结构优化和数据处理

本文的化合物的结构的输入和优化采用 Cambridgesoft Chem3D 8.0，力场采用 Maximin2。其余工作均在 SGI fuel 工作站和 Tripos 公司的 Sybyl 6.9 软件包完成。计算中除特别指出外，所用参数均为缺省值。

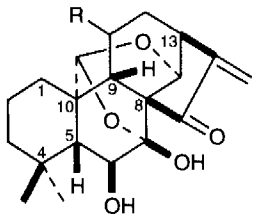
香茶菜二萜类化合物的编号和活性数据以专著《香茶菜属植物二萜化合物》报道（孙汉董等，2001）的为准，具有可比性，活性以测定值-$\log IC_{50}$表示，-$\log IC_{50}$值越大，表明活性越好。分子结构和活性指标分别列于图1和表1。

表1 旱生香茶菜总二萜及其化合物的细胞毒活性测试结果及数据预处理

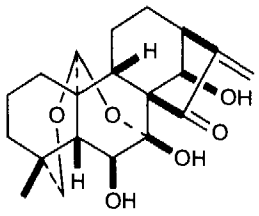
Table 1 Data set for CoMFA analysis with their IC_{50} (μM) and pIC_{50} (M) values

化合物	K562		HL-60		HCT		MKN-28	
	IC_{50}	3-$\log IC_{50}$	IC_{50}	1-$\log IC_{50}$	IC_{50}	2-$\log IC_{50}$	IC_{50}	1-$\log IC_{50}$
1	2.22	2.6536	0.45	1.3468	55.30	0.2573	0.12	1.9208
2	0.73	3.1367	0.29	1.5376	61.59	0.2105	0.17	1.7696
3	0.83	3.0809	0.47	1.3279	15.38	0.8130	0.46	1.3372
4	2.96	2.5287	0.44	1.3565	80.80	0.0926	2.19	0.6596
5	138.84	0.8575	3.93	0.4056	ND		ND	
6	1.17	2.9318	0.87	1.0605	52.78	0.2775	1.86	0.7305
7	2.75	2.5607	0.19	1.7212	ND		0.07	2.1549
8	4.26	2.3706	2.08	0.6819	ND		1.54	0.8125
9	2.95	2.5302	2.29	0.6402	15.35	0.8139	2.23	0.6517
10	8.07	2.0931	2.05	0.6882	61.90	0.2083	1.68	0.7747
11	5.20	2.2840	>100		13.69	0.8636	0.92	1.0362
12	8.00	2.0969	2.82	0.5498	ND		>100	
13	0.30	3.5229	0.44	1.3565	8.61	1.0650	0.46	1.3372

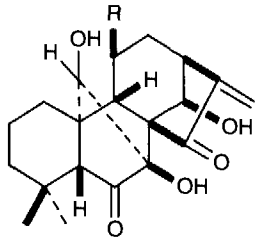
（半数有效抑制浓度 IC_{50}（μg/ml）；K562——人红细胞白血病模型；HL-60——人早幼粒白血病模型；HCT——人结肠癌模型；MKN-28——人胃腺癌模型）



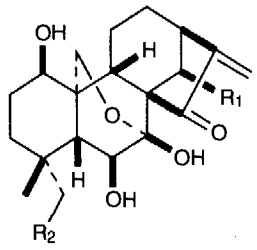
xerophilusin A(**1**) R=OAc
xerophilusin B(**2**) R=H
macrocalin B(**10**) R=OH



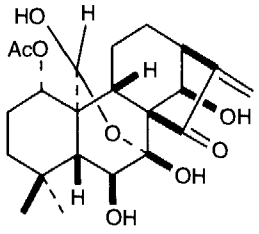
xerophilusin D(**3**)



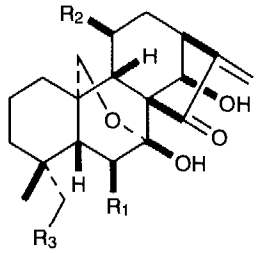
xerophilusin F(**4**) R=OAc
phyllostachysin A(**12**) R=OH



xerophilusin G(**5**) R_1=OH,R_2=OAc
xerophilusin H(**6**) R_1=H,R_2=OAc
xerophilusin I(**7**) R_1=R_2=H



xerophilusin J(**8**)



xeroholusin K(**9**) R_1=OH,R_2=OAc,R_3=H
rosthorin A(**11**) R_1=R_2=OH,R_3=H
longikaurin B(**13**) R_1=OH,R_2=H,R_3=OAc

图1 香茶菜二萜类化合物的分子结构

Fig. 1 The molecule structures of ent-kauranoids from *Isodon xerophilus*

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.2 活性构象的确定和分子叠合

活性构象在 Cambridgesoft Chem3D 中构建，并采用 MM2 力场优化为最小能量构象，结构导入 Tripos 的 Sybyl 6.9 中，载入 Gasteiger-Huckel 电荷，以对映—贝壳杉烯型二萜共有的乙烯基和羰基为叠合点，考察 R 取代基对活性的影响。叠合的结果见图 2。

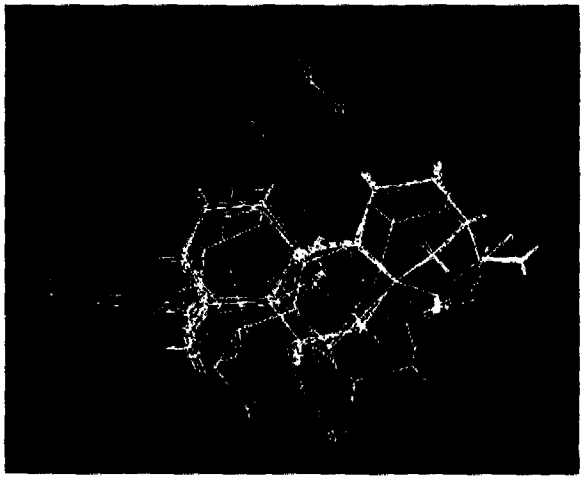


图 2　13 个分子的叠加图

Fig. 2　Alignment of compounds 1-13

1.3 比较分子力场分析（CoMFA）与 PLS 分析

比较分子力场研究由 SYBYL 的 QSAR 模块完成。首先以香茶菜二萜类对活性数据的-logIC_{50}为因变量进行 CoMFA 分析。CoMFA 场类型选择 Tripos Standard，立体场（steric），静电场（electrostatic）阈值皆为 30 Kcal/mol，使用带正电的 sp^3 杂化的碳原子作为探针，探针移动步长为 2.0Å。用偏最小二乘法（partial least square，SPL）处理 CoMFA 项和活性负对数值，设柱滤值设为 2.0 Kcal/mol，先用交叉验证的"leave-one-out"方法进行交叉验证并确定最佳主成分数，再用非交叉验证建立 CoMFA 模型。最终将活性与立体场和静电场的相互关系以系数等势图在图形工作站上显示出来，直接给出影响活性的立体场和静电场信息。在对活性数据直接 CoMFA 分析所得的 CoMFA 模型分别命名为 MODEL1、MODEL2、MODEL3、MODEL4。对 MODEL 在工作站中以活性、立体场和静电场的相互关系以系数等势图（coefficient contour maps）在图形工作站中显示出来。

2 结果与讨论

2.1 CoMFA 人红细胞白血病（K562）模型 MODEL1

化合物 **1**、**2**、**6**、**7**、**8**、**9**、**11**、**12**、**13** 的模型 MODEL1 比较分子力场分析的统计学参数为：交叉验证系数分别为 $q^2 = 0.391$，最佳主成分数为 4。模型具有较好的预测能力。由最佳主成分数 4 建立的 CoMFA 模型的非交叉验证相关系数为 $r^2 = 0.999$，标准偏差 SE = 0.018，F = 1177.952。

2.2 CoMFA 人早幼粒白血病（HL-60）模型 MODEL2

化合物 **1**、**2**、**3**、**6**、**8**、**9** 的模型 MODEL2 比较分子力场分析的统计学参数为：交叉验证系数分别为 $q^2 = 0.491$，最佳主成分数为 2。模型具有较好的预测能力。由最佳主成分数 2 建立的 CoMFA 模型的非交叉验证相关系数为 $r^2 = 0.996$，标准偏差 SE = 0.029，F = 404.047。

2.3 CoMFA 人结肠癌（HCT）模型 MODEL3

化合物 **1**、**2**、**3**、**9**、**10**、**11**、**13** 的模型 MODEL3 比较分子力场分析的统计学参数为：交叉验证系数分别为 $q^2 = 0.551$，最佳主成分数为 1。模型具有较好的预测能力。由最佳主成分数 1 建立的 CoMFA 模型的非交叉验证相关系数为 $r^2 = 0.830$，标准偏差 SE = 0.165，F = 24.423。

2.4 CoMFA 人胃腺癌（MKN-28）模型 MODEL4

化合物 **1**、**2**、**3**、**4**、**6**、**8**、**9**、**11**、**13** 的模型 MODEL4 比较分子力场分析的统计学参数为：交叉验证系数分别为 $q^2 = 0.481$，最佳主成分数为 2。模型具有较好的预测能力。由最佳主成分数 2 建立的 CoMFA 模型的非交叉验证相关系数为 $r^2 = 0.978$，标准偏差 SE = 0.082，F = 133.362。

2.5 CoMFA 系数等势图

CoMFA 模型的系数等势图见图 3、4、5 和 6。

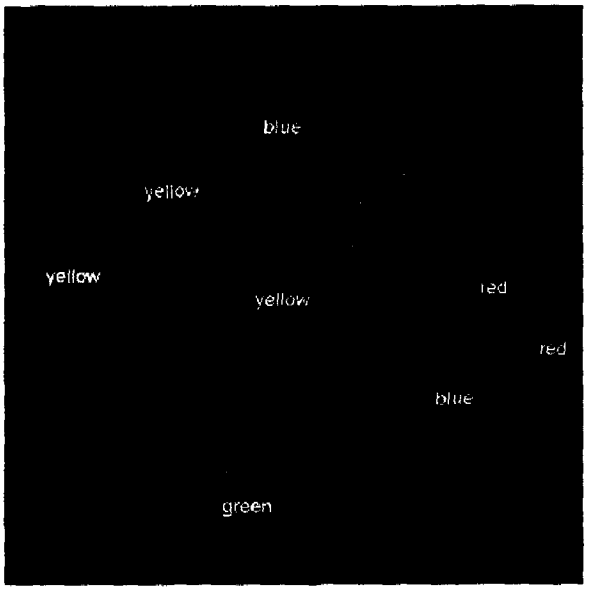


图 3　CoMFA 人红细胞白血病（K562）模型 MODEL1 系数等势图（图中的化合物是 13 longikaurin B）

Fig. 3　Steric and electrostatic contour map of MODEL1 (the compound in fig 3 is logikaurin B)

维普资讯 http://www.cqvip.com

绿色和黄色代表立体场对化合物活性的影响，绿色表示在该区域附近引入体积大的基团有利于提高活性，黄色则相反。红色和蓝色则表示静电场对活性的影响，红色区域引入负电性基团有利于提高活性，蓝色区域引入正电性基团有利提高活性。

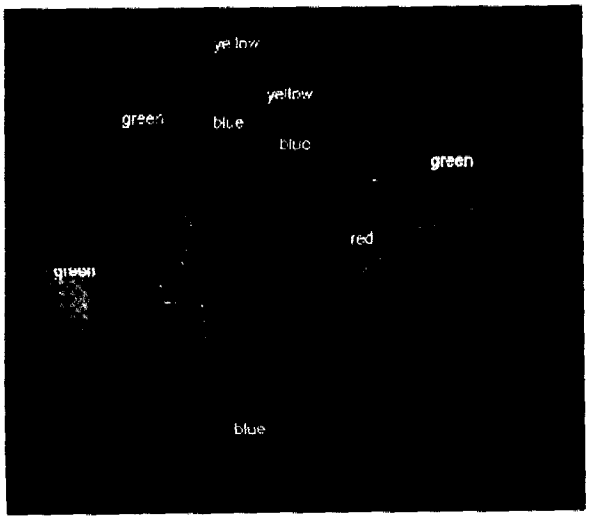


图4 CoMFA人早幼粒白血病（HL-60）模型MODEL2系数等势图
（图中的化合物是2 xerophilusin B）
Fig. 4 Steric and electrostatic contour map of MODEL2
(the compound in fig 4 is xerophilusin B)

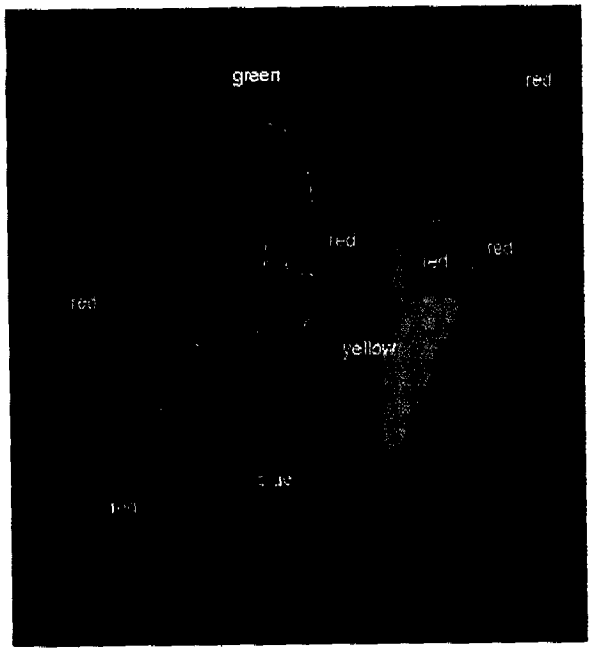


图5 CoMFA人结肠癌（HCT）模型MODEL3系数等势图
（图中的化合物是13 longikaurin B）
Fig. 5 Steric and electrostatic contour map of MODEL3
(the compound in fig 5 is logikaurin B)

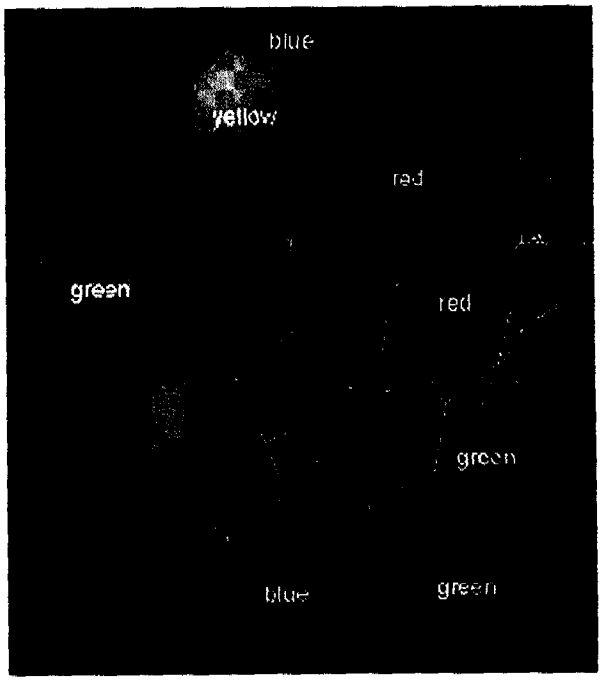
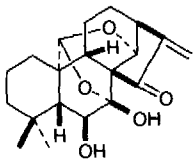
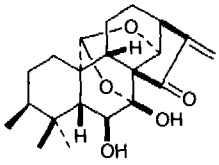
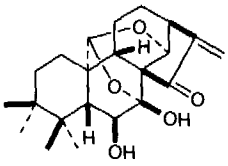


图6 CoMFA人胃腺癌（MKN-28）模型MODEL4系数等势图
（图中的化合物是1 xerophilusin A）
Fig. 6 Steric and electrostatic contour map of MODEL4
(the compound in fig 6 is xerophilusin A)

表2 CoMFA人早幼粒白血病（HL-60）模型MODEL2预测的高活性的化合物

Table 2 The predicted high bioactivity compounds from MODEL2 (HL-60)

化合物	Actual value ($-\log IC_{50}$)	Predicted value ($-\log IC_{50}$)
 xerophilusin B(**2**)	1.5376	1.5513
		1.5617
		1.5671

维普资讯 http://www.cqvip.com

表3　CoMFA人结肠癌（HCT）模型MODEL3预测的一个高活性的化合物

Table 3　The predicted high bioactivity compounds from MODEL3 (HCT)

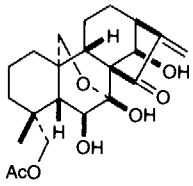
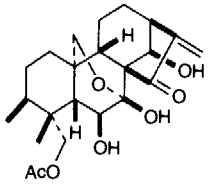
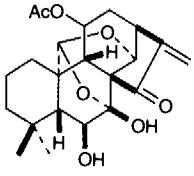
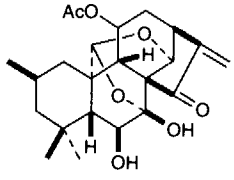
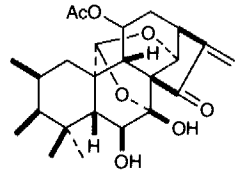
化合物	Actual value ($-\log IC_{50}$)	Predicted value ($-\log IC_{50}$)
 longikaurin B(**13**)	1.065	0.8810
		0.8922

表4　CoMFA人胃腺癌（MKN-28）模型MODEL4预测的二个高活性的化合物

Table 4　The predicted high bioactivity compounds from MODEL4 (MKN-28)

化合物	Actual value ($-\log IC_{50}$)	Predicted value ($-\log IC_{50}$)
 xerophilusin A(**1**)	1.9208	1.9094
		1.971
		1.977

上述研究表明除了红细胞白血病（K562）模型MODEL1外，其它的3种模型在2，3位取代小的略显正电的甲基等，都具有更高的活性预测值。目前我们正在进行其它更多的同类二萜化合物的活性和结构预测，以期得到活性更高、结构更简的化合物，为活性化合物的结构修饰和简化提供理论预测。同时一些具有相近结构的天然香茶菜二萜进行细胞毒活性测定。

致谢：本项目得到中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室基金支持。

〔参　考　文　献〕

孙汉董，许云龙，姜北，2001．香茶菜属植物二萜化合物［M］．北京：科学出版社，95—104

河南省医学科学研究所药理药化组，中科院昆明植物研究所植化室等，1978．一种新的抗肿瘤物质——冬凌草素［J］．科学通报，**73**（1）：53—56

张覃沐，孙汉董，林中文等，1980．冬凌草中又一抗肿瘤有效成分［J］．科学通报，**25**（22）：1051—1054

Fujita E，Fujita T，Fuji K，*et al*，1966．Terpenoids-II：The chemical conversion of enmein into (-)-kaurane-the absolute configuration of enmein［J］．*Tetrahedron*，**22**（10）：3423—3441

Fujita E，Fujita T，Fuji K，*et al*，1965．The absolute configuration of enmein．Transformation of enmein into (-)-kaurane［J］．*Chem Pharm Bull*，**13**（8）：1023—1027

Yagi SJ，1910．On "Plectranthin"，a bitter principle derived from *Plectranthus glaucocalyx* Maxim．var．*japonicus* Maxim［J］．*J Kyoto Med Soc*，**7**：30