

2-苯基4-吡喃酮类 COX-2 抑制剂的 三维构效关系研究*

罗敏贤, 徐洁, 胡小鹏, 罗海彬
(中山大学药学院, 广东 广州 510006)

摘要: 环氧化酶 (cyclooxygenase, COX) 家族是非甾体类抗炎药物的作用靶酶, 其中 COX-2 是 NSAIDs 药物发挥作用与治疗炎症有关的靶点。使用三维定量构效关系研究方法研究 2-苯基 4-吡喃酮类 COX-2 抑制剂的分子结构与生物活性之间的定量关系, 并构建三维定量构效关系模型。CoMSIA 模型证实该类化合物的结构参数和其抑制活性存在明显的相关性 (R^2 为 0.929), 且有较好预测能力 (q^2 为 0.746); 同时使用“留五法”证实模型的稳定和可靠。三维构效关系模型系数等势图显示 Subset A 和 B 的 R 取代基 4 位上官能团变化对活性影响最大, 在结构修饰时需要优先考虑; Subset A 的 R 取代基 2 位上官能团的影响次之。

关键词: COX-2 抑制剂; 2-苯基 4-吡喃酮; CoMFA; CoMSIA; 药物设计

中图分类号: R914.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2009) 05-0072-06

Studies on 3D Quantitative Structure-Activity Relationships-of 2 (4-Methanesulfonylphenyl) pyran-4-ones as Selective COX-2 Inhibitors

LUO Minxian, XU Jie, HU Xiaopeng, LUO Haibin

(School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Cyclooxygenase (COX) is an enzyme that exists in two isoforms, constitutive COX-1 and inducible COX-2. The former is considered to be a “housekeeping” enzyme whereas the latter is induced in pathological condition. With inhibition of COX-2, non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) exhibit their antipyretic, analgesic, anti-inflammatory therapeutic actions. In order to elucidate the relationships between structural character and biological activity of title compounds, 3D quantitative structure-activity relationships (3D-QSAR) methods were performed based on the comparative molecular field analysis (CoMFA) and comparative molecular similarity analysis (CoMSIA) approaches. In this research, a favorable CoMSIA model achieving a satisfied q^2 value ($q^2 = 0.746$ and $R^2 = 0.929$) was derived with the combination of steric and electrostatic fields. Contour maps of the model revealed that important structural attributes should be firstly considered taking place in position 4 of R substitute in both subset A and B while position 2 in subset A in the second place.

Key words: COX-2 inhibitors; 2-(4-methanesulfonylphenyl) pyran-4-ones; CoMFA; CoMSIA; drug design

环氧化酶 (cyclooxygenase, COX) 家族是非甾体类抗炎药物 (non steroidal anti-inflammatory

drugs, NSAIDs) 的作用靶酶。传统上认为环氧化酶 (COX) 存在两种亚型, 结构型环氧合酶 COX-

* 收稿日期: 2009-02-04

基金项目: 中山大学“百人计划”启动基金资助项目

作者简介: 罗敏贤 (1985 年生), 女, 硕士研究生; 通讯作者: 罗海彬; E-mail: hbluo2005@yahoo.com.cn

1 和诱导型环氧合酶 COX-2。COX-1 被称作“看家酶”, 有保护胃肠道黏膜免受外界刺激和维持肾功能正常、凝血的作用; COX-2 是在炎症等病理条件下, 由细胞因子 (IL-1)、有丝分裂原、内毒素等物质诱导产生, 能催化形成炎症介质—前列腺素物质。NSAIDs 药物抑制 COX-2 作用与治疗炎症有关, 对 COX-1 的抑制则导致了该类药物的不良反应^[1]。因此, 开发选择性抑制 COX-2 的 NSAIDs 药物, 有利于提高药物治疗效果并降低药物毒副作用。还有研究表明^[2], COX-2 在直肠癌等肿瘤的成中起着关键作用, 选择性 COX-2 抑制剂将有望被开发成为新一代的治疗与预防癌症的药物。此外, 将该类抑制剂药物应用于治疗神经系统紊乱等疾病也是当今研究的热点^[3-4]。

近些年来对选择性 COX-2 抑制剂定量构效关系 (QSAR) 研究主要集中在三环体系^[5-7], 所建的模型能较好的解释化合物的结构与生物活性之间的关系。Caturla 等^[8]报道了一种三环类化合物—2-苯基4-吡喃酮 (2-phenylpyran-4-one) 系列化合物对 COX-2 有较好的选择性抑制作用, 与其他类型的 COX-2 抑制剂相比, 该类 COX-2 抑制剂具有活性好、副作用小、见效快、药效时间长等优点。目前已有对该系列化合物的 2D-QSAR 研究^[9], 但 2D 模型的拟合能力和预测能力均不理想 (交叉验证相关系数 $q^2 = 0.560$, 非交叉验证相关系数 $R^2 = 0.692$)。比较分子场分析法 (CoMFA, comparative molecular field analysis) 是目前最重要的 3D-QSAR 研究方法之一^[10-11], 它是通过研究化合物与受体非共价相互作用时的静电场和立体场来探寻化合物分子性质。CoMFA 的基本原理是: 如果一组相似化合物以同一种方式作用于同一受体, 那么它们的生物活性就取决于每个化合物周围分子场的差别, 这种分子场可以反映化合物分子与受体之间非键相互作用的特征。通过计算, 将药物分子周围的作用力场与药物分子的生物活性定量地联系起来, 建立一个模型来设计新化合物, 并可以预测新物质的活性大小。和 2D-QSAR 方法比较, 3D-QSAR 方法在物理化学意义上更为明确, 能直接反映分子相互作用过程中底物和受体之间的非键相互作用特征, 因此近 10 年来 3D-QSAR 得到了迅速的发展。

为了深入了解 2-苯基4-吡喃酮系列 COX-2 抑制剂作用机理, 以及为结构修饰提供线索, 本文拟运用 3D-QSAR 方法, 包括 CoMFA 和比较分子相似性指数分析法 (CoMSIA, comparative molecular

similarity indices analysis), 研究该系列化合物结构参数与生物活性之间的定量关系, 建立相应的构效关系模型, 为开发高活性与高选择性的 COX-2 抑制剂提供理论参考。

1 建模方法

1.1 构建系列化合物和结构优化

在 Linux Redhat 9.0 平台上, 使用 Tripos 公司的 SYBYL 7.3.5 软件包构建化合物 p18 (Subset A) 和 p24 (Subset B) 的结构 (表 1), 以此为基础通过修改或增加相应的原子或基团搭建另外 34 个化合物结构。36 个化合物荷载 MMFF94 电荷, 采用 MMFF94 力场优化结构, 优化过程中采用 Powell 能量梯度法, 收敛限定为 0.041 86 kJ/(mol · nm)。

1.2 分子叠合

分子叠合对建立三维构效模型有重要影响。当低能构象确定后, 一般根据药效团进行分子叠合, 使每一个分子采取具有最大力场相似性的空间取向进行力场计算。本文选取最大共同子结构作为叠合模板, 运行分子叠合程序, 使 36 个化合物的公共骨架重合, 进一步考察 R 位取代基对活性的影响。

1.3 建立 CoMFA 和 CoMSIA 三维模型

CoMFA 分析采用 tripos 标准力场, 立体场和静电场的阈值均为 125.565 kJ/mol。CoMFA 区域为 X: -1 ~ 1.2 nm; Y: -1 ~ 0.8 nm; Z: -0.8 ~ 0.6 nm; 步长为 0.1 nm; 其余选项均采用软件默认值。对 2-苯基4-吡喃酮系列化合物的结构参数和相应的 pIC₅₀ 值做偏最小二乘回归 (partial least square, PLS) 分析: 用交叉检验方法 (“留一法”, leave-one-out, LOO), 获得最大交叉验证系数 q^2 以及确定最佳主成分数 (PC); 然后用非交叉验证方法建立 CoMFA 模型, 获得非交叉验证相关系数 R^2 。

CoMSIA 是 CoMFA 方法的一个延伸。CoMSIA 方法共定义 5 种分子场, 其中包括立体场 (S)、静电场 (E)、疏水场 (H)、氢键供体场 (D) 和氢键受体场 (A)。CoMSIA 分析以默认 0.3 为实验衰减因子 (Attenuation Factor) 值。分子与网格边界间的距离、格点大小与 CoMFA 分析设置相同, 建立模型的步骤也相同。

本研究所用的 COX-2 抑制剂的结构以及活性数据 (表 1) 均引自文献 [9] 报道。化合物结构参数与活性相互关系以 CoMSIA 力场的系数等势图显示。

表 1 2-苯基 4-吡喃酮系列化合物实验和预测活性
Table 1 The experimental and predicted pIC_{50} values of the 36 compounds

化合物	Cpd.	取代基		$\text{pIC}_{50}^{\text{a}}(\text{Exp})$	$\text{pIC}_{50}^{\text{b}}(\text{Pred})$
		R	R'		
 Subset A	p01	4-F	SO_2CH_3	6.01	6.34
	p02	4-Cl	SO_2CH_3	6.49	6.34
	p03	4-Br	SO_2CH_3	6.44	6.34
	p04	4-I	SO_2CH_3	6.39	6.35
	p05	4- CF_3	SO_2CH_3	5.61	5.69
	p06	4- CF_3O	SO_2CH_3	5.84	5.85
	p07	4- NO_2	SO_2CH_3	5.40	5.36
	p08	2, 4-diF	SO_2CH_3	7.10	6.90
	p09	3, 4-diF	SO_2CH_3	5.35	5.46
	p10	3, 4-diCl	SO_2CH_3	5.47	5.36
	p11	2-F, 4-Cl	SO_2CH_3	6.70	6.88
	p12	2-F, 4-Br	SO_2CH_3	6.82	6.92
	p13	2-Cl, 4-Br	SO_2CH_3	6.51	6.46
	p14	4-F, 2- CH_3	SO_2CH_3	6.74	6.66
	p15	2-Cl, 4- CH_3	SO_2CH_3	6.62	6.72
	p16	4-Cl, 2- CH_3	SO_2CH_3	6.72	6.64
	p17	2-Cl, 4- CH_3O	SO_2CH_3	6.74	6.66
	p18	H	SO_2CH_3	6.00	6.21
	p19	2- CH_3	SO_2CH_3	6.77	6.66
	p20	3- CH_3	SO_2CH_3	5.87	5.82
	p21	4- CH_3	SO_2CH_3	6.68	6.52
	p22	2-F, 4- CH_3	SO_2CH_3	7.22	7.32
	p23	4- NH_2	SO_2CH_3	5.83	5.90
 Subset B	p24	H	SO_2CH_3	5.74	5.75
	p25	2-F	SO_2CH_3	5.82	5.88
	p26	3-F	SO_2CH_3	5.47	5.76
	p27	4-F	SO_2CH_3	5.97	5.75
	p28	4-Cl	SO_2CH_3	5.67	5.73
	p29	4-Br	SO_2CH_3	5.76	5.72
	p30	4- CF_3	SO_2CH_3	5.16	5.47
	p31	4- CH_3	SO_2CH_3	5.66	5.50
	p32	3, 4-diCl	SO_2CH_3	6.17	5.76
	p33	2, 4-diF	SO_2CH_3	5.95	5.88
	p34	2-F, 4-Cl	SO_2CH_3	5.69	5.86
	p35	4- SO_2CH_3	F	5.01	5.01
	p36	H	SO_2NH_2	5.16	5.15

a 实验活性数据引自文献, b 活性数据通过 CoMSIA/S + E 模型预测得到。

2 结果与讨论

2.1 PLS 分析结果

表2显示了 CoMFA 和 CoMSIA 方法采用不同分子场时得到的三维构效关系模型的统计结果。CoMFA 分析得到统计学结果: 交互验证相关系数

q^2 (通常要求必须大于 0.5) 为 0.676, 最佳主成分数为 5, 非交叉验证的相关系数 R^2 为 0.933, 估算的标准误差 S 为 0.164。立体场和静电场对模型的贡献分别为 58.4% 和 41.6% (见表2), 基团的空间效应和电性分布对活性均有影响, 而且立体场对化合物抑制活性占主导作用。

表2 CoMFA/CoMSIA 模型的 PLS 分析结果

Table 2 Summary of the partial-least-squares analyses for the CoMFA/CoMSIA models

模型	q^2	R^2	PC	S	对模型的贡献/%				
					S	E	H	A	D
CoMFA									
S + E	0.676	0.933	5	0.164	58.4	41.6	—	—	—
CoMSIA									
S + E	0.746	0.929	7	0.174	32.8	67.2	—	—	—
A + D	0.434	0.565	6	0.425	—	—	—	94.7	5.3
H	0.484	0.825	6	0.270	—	—	100.0	—	—
S + E + H	0.685	0.912	6	0.192	18.3	48.4	33.2	—	—
S + E + A	0.739	0.919	6	0.183	25.3	62.4	—	12.3	—
S + E + D	0.759	0.923	8	0.185	32.8	62.4	—	—	4.8
S + E + A + D	0.771	0.926	8	0.182	28.3	54.7	—	12.0	5.0
S + E + H + A + D	0.704	0.926	7	0.182	17.6	38.4	30.3	8.9	4.8

其中, S 为立体场、E 为静电场、H 为疏水场、D 为氢键给体场、A 为氢键受体场; q 为模型的交互验证相关系数, R 为模型的相关系数, S 为估算的标准偏差, PC 为模型的主成分数。

只考虑立体场和静电场时, CoMSIA 模型的 q^2 为 0.746 (明显优于 CoMFA 模型), 具有更优的活性预测能力。在 CoMSIA/ (S + E) 模型中, 立体场和静电场的贡献分别为 32.8% 和 67.2% (说明静电场对化合物的抑制活性占主导作用), 这正好与 CoMFA 模型相反, 很有可能是由于 CoMSIA 模型分子场的能量函数采用了与距离相关的高斯函数形式。在先前的几个工作中, 已经证明了采用 CoMSIA 往往会比 CoMFA 得到更优的三维结构活性关系模型^[12-14]。

只考虑疏水场时, CoMSIA 模型的 q^2 为 0.484; 同时只考虑氢键供体场和受体场时, 相应模型的交互验证相关系数也低于 0.5, 这说明单独使用疏水场或氢键场建立的模型的预测能力较低。在立体场和静电场基础上, 引入疏水场时, 所获得 CoMSIA/ (S + E + H) 模型具有较好的统计学结果 ($q^2 = 0.685$, PC = 6, $R^2 = 0.912$, $S = 0.192$), 但其 q^2 仍然低于 CoMSIA/ (S + E) 模型, 这说明疏水

场的加入反而降低模型的预测能力。

当以立体场、静电场、氢键供体场和受体场等四种分子场建模时, 得到最佳的 CoMSIA 模型, 其交叉验证系数 q^2 为 0.771, 非交叉验证的相关系数 R^2 为 0.926。立体场、静电场、氢键供体场和受体场对模型贡献分别为 28.3%、54.7%、5.0% 和 12.0%。很明显, 对化合物生物活性的影响上, 静电场因素的贡献最大 (超过 50%), 立体场因素的贡献次之, 而氢键供体和受体场因素贡献较小。从模型的交叉验证系数 q^2 来看, CoMSIA/ (S + E + A + D) 模型也明显优于 CoMFA 模型, 具有较好的活性预测能力。考虑到 CoMSIA/ (S + E + A + D) 模型中氢键供体场和受体场的贡献之和仅为 17.0%, 且其 q^2 只比 CoMSIA/ (S + E) 模型高 0.025, 故选择后者所得的结果进行讨论。

CoMSIA/ (S + E + A + D) 和 CoMSIA/ (S + E) 模型的拟合能力如图 1 所示。图 1 证实该类化合物的结构参数和其抑制活性存在明显的相关性

(非交叉验证相关系数 R^2 为 0.926 和 0.929)。

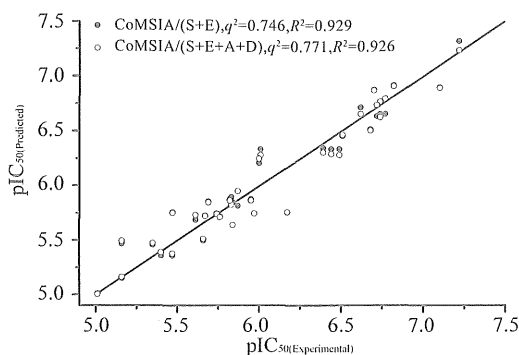


图 1 2-苯基 4-吡喃酮化合物的实验活性和预测活性之间的线性拟合图

Fig. 1 Plots of predicted versus experimental biological activities for 36 compounds

S: steric, E: electrostatic, A: H-bond acceptor, and D: H-bond donor

为了验证模型的可靠性, 分别对 CoMSIA/(S + E + A + D) 和 CoMSIA/(S + E) 模型使用“留五法” (leave-five-out, 每次随机删除 5 个化合物)^[15] 交叉检验方式进行 PLS 分析。30 次建模的平均结果 (q^2) 分别为 0.765 和 0.742, 与现有的结果非常相近 (0.771 和 0.746), 从另一侧面证实 CoMSIA/(S + E + A + D) 和 CoMSIA/(S + E) 模型的稳定和可靠。

2.2 CoMSIA 模型的三维系数等势图

图 2 为 CoMSIA/(S + E) 模型的三维系数等势图。图 2a 中“S”和“NS”表明在该位置空间位阻大基团的引入会有利和不利于生物活性的提高。根据图 2a, 在 Subset A 的 R 取代基上 4 和 2 位上引入有一定空间位阻的基团有利于活性的提高, 例如: 甲基 (化合物 p19、p21 和 p22), 甲氧基 (p17) 等; 在 3 位上引入有空间位阻较大的基团将不利于活性的提高, 如化合物 p20。而对于 Subset B 的 R 取代基上 4 位上的空间位阻基团, 处在“NS”区域, 不利于生物活性的提高, 如化合物 p31。

图 2b 中“+”、“-”表示引入电正性和电负性基团有利于分子生物活性的提高。在 Subset A 的 R 取代基中 2 和 4 位引入电负性基团有利于活性提高, 如化合物 p08、p11、p12、p13 和 p22; 3 位上引入电负性基团则明显降低活性, 如 p09 (相对于 p01) 和 p10 (相对于 p02)。

结合立体场、静电场系数等势图还可以看出, Subset A 的 R 取代基 3 和 4 位上存在立体场和静电

场的协同作用。由于 3 位上引入空间位阻大的基团或电负性基团均不利于活性提高, 故保留 H 为好; 当 4 位上引入具有一定电负性且空间位阻较大基团, 有利于活性提高。对比 p15 和 p17 的分子结构和活性, 其中 p15 的 4 位甲基的 MMFF94 电荷为 +0.134 |e|, p17 氧甲基的 MMFF94 电荷为 -0.082 |e|, 4 位上氧甲基的引入使 p17 的活性有了提高。

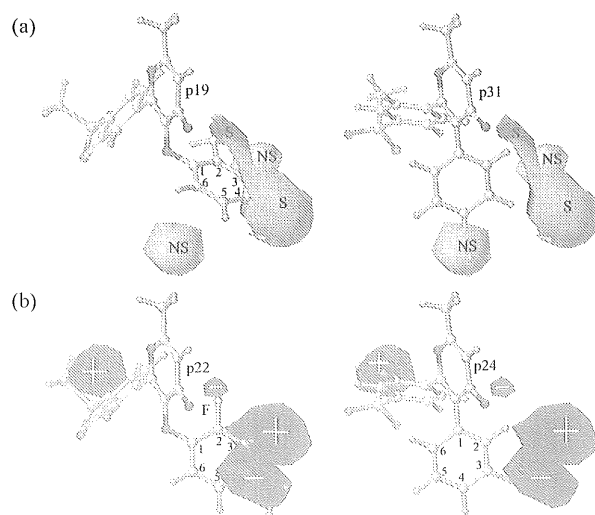


图 2 CoMSIA/S + E 模型的立体场 (a) 和静电场 (b) 三维系数等势图

Fig. 2 Contour maps of the CoMSIA model with the combined steric and electrostatic fields based on the biologically inhibitory activities against COX-2. Contour plots elucidate the steric and electrostatic features in (a-b), respectively (a) 标有“S”和“NS”区域分别表示分子结构中空间位阻有利和不利区域; (b) 标有“+”和“-”区域分别表示分子结构中电正性和电负性有利区域。

3 结 论

对于 2-苯基 4-吡喃酮系列 COX-2 抑制剂, 可以通过三维构效关系研究方法建立预测能力较高的 CoMSIA/(S + E) 和 CoMSIA/(S + E + A + D) 模型 (交叉验证相关系数 q^2 分别为 0.746 和 0.771, 相关系数 R^2 分别为 0.929 和 0.926)。与文献[9]对活性数据采用 2D-QSAR 分析相比, 本文建立的 CoMSIA 模型不仅能很好地解释生物活性, 且拟合能力和预测能力均明显优于文献结果 ($q^2 = 0.560$, $R^2 = 0.692$)。根据本文所建 CoMSIA 模型, Subset A 和 B 的 R 取代基 4 位上官能团变化对活性影响最大, 推断是配体与受体作用的位点, Subset A 的 R 取代基 2 位上官能团的影响次之。在 Subset

A 的 R 取代基 4 位引入既有一定电负性又有适当空间位阻的取代基; 2 位引入电负性基团, 可以明显地增加化合物的生物活性。研究结果为今后优化此类化合物的结构, 为研究和设计新的活性更高的 COX-2 抑制剂, 提供了理论依据。

参考文献:

- [1] KURUMBAIL R G, STEVENS A M, GIERSE J K, et al. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents [J]. *Nature*, 1996, 384: 644.
- [2] OSHIMA M, DINCHUK J E, KARGMAN S L, et al. Suppression of intestinal polyposis in *apcd716* knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2) [J]. *Cell*, 1996, 87: 803.
- [3] TEISMANN P, TIEU K, CHOI D K, et al. Cyclooxygenase-2 is instrumental in Parkinson's disease neurodegeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 5473.
- [4] PASINETTI G M. Cyclooxygenase as a target for the anti-amyloidogenic activities of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in Alzheimer's disease [J]. *Neurosignals*, 2002, 11: 293.
- [5] DESIRAJU G R, SARMA J A R P, RAVEENDRA D, et al. Computer-aided design of selective COX-2 inhibitors: comparative molecular field analysis and docking studies of some 3,4-diaryloxazolone derivatives [J]. *J Org Chem*, 2001, 14: 481.
- [6] DESIRAJU G R, GOPALAKRISHNAN B, JETTI R K R, et al. Computer-aided design of selective COX-2 inhibitors: comparative molecular field analysis and docking studies of some 3,4-diaryloxazolone derivatives [J]. *J Med Chem*, 2002, 45: 4847.
- [7] LIU H, HUANG X, SHEN J, et al. Inhibitory mode of 1,5-diarylpyrazole derivatives against cyclooxygenase-2 and cyclooxygenase-1: Molecular docking and 3D QSAR analyses [J]. *J Med Chem*, 2002, 45: 4816.
- [8] CATURLA F, JIMENEZ J M, GODESSART N, et al. Synthesis and biological evaluation of 2-phenylpyran-4-ones: A new class of orally active cyclooxygenase-2 inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2004, 47: 3874.
- [9] PRASANNA S E, MANIVANNAN, CHATURVEDI S C. QSAR studies on structurally similar 2-(4-methanesulfonylphenyl) pyran-4-ones as selective COX-2 inhibitors: A Hansch approach [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15: 313.
- [10] CRAMER III R D, PATTERSON D E, BUNCE J D. Comparative molecular field analysis (CoMFA). Effect on binding of steroids to carrier proteins [J]. *J Am Chem Soc*, 1988, 110: 5959.
- [11] VISWANADHAN V N, GHOSE A K, REVANKAR G R, et al. Atomic physicochemical parameters for three dimensional structure directed quantitative structure-activity relationships. 4. Additional parameters for hydrophobic and dispersive interactions and their application for an automated superposition of certain naturally occurring nucleoside antibiotics [J]. *J Chem Inf Model*, 1989, 29: 163.
- [12] LUO H B, CHENG C Q, CHENG Y K. The retention properties of nucleobases in alkyl C_8 -/ C_{18} - and IAM-chromatographic systems in relation to $\log P_{ow}$ [J]. *J Chromatogr: B*, 2007, 847: 245.
- [13] LUO H B, CHENG C Q, CHENG Y K. Complex retention behavior of pyrimidines on biomembrane-mimic immobilized-artificial-membrane phase [J]. *J Chromatogr: B*, 2007, 853: 114.
- [14] 李建康, 和凡, 毕惠嫦, 等. 黄酮化合物对细胞色素 CYP1A2 抑制作用及构效关系研究 [J]. *药学学报*, 2008, 43: 1198.
LI J K, HE F, BI H C, et al. Inhibition of human cytochrome P450 CYP1A2 by flavonoids: A quantitative structure-activity relationship study [J]. *Acta Pharm Sin*, 2008, 43: 1198.
- [15] ALEXANDER G, ALEXANDER T. Beware of q^2 ! [J]. *J Mol Graph Model*, 2002, 20: 269.