

• 药理与临床 •

黄酮类化合物对 CYP1A1 酶抑制活性的 3D-定量构效关系研究

何庆^{1,2}, 陈萍萍^{1,2}, 李昊², 吕沐瀚², 梁思成², 齐晓怡^{1*}, 熊霞¹, 葛广波³

1. 西南医科大学附属医院 皮肤科, 四川 泸州 646000

2. 西南医科大学附属医院 消化内科, 四川 泸州 646000

3. 上海中医药大学交叉科学研究院, 上海 201203

摘要: 目的 通过构建 3D-定量构效关系 (quantitative structure-activity relationship, QSAR) 模型, 研究黄酮类化合物对细胞色素 P450 酶 1A1 (cytochrome P450 1A1, CYP1A1) 的抑制活性。方法 借助 Topomer CoMFA 方法开展黄酮类化合物结构-CYP1A1 抑制活性构效关系研究; 通过体外孵育体系对化合物 CYP1A1 抑制活性进行评价, 开展预测模型验证和优化; 通过分子对接技术探究黄酮类化合物抑制 CYP1A1 活性的作用机制。结果 构建的 3D-QSAR 模型交叉验证相关系数 (q^2) 为 0.800, 非交叉验证系数 (r^2) 为 0.965 0, 外部验证的相关系数 (r_{pred}^2) 为 0.956 7, 表现出良好的稳定性和预测能力。利用该模型预测 9 种黄酮类化合物的 CYP1A1 抑制活性, 实验值与预测值的相关系数 r^2 为 0.832 8。分子对接结果显示, 黄酮类化合物能与 CYP1A1 空腔内的 THR497、ASN222、ASN255、SER116 和 ASP313 等残基形成氢键, 影响该类化合物的 CYP1A1 抑制活性大小。结论 构建的模型具有良好预测能力与稳定性, 为设计高活性分子提供理论参考, 为新型 CYP1A1 酶抑制剂的开发提供新的思路。

关键词: 细胞色素 P450 酶 1A1; 黄酮类化合物; 酶抑制剂; 定量构效关系; Topomer CoMFA; 分子对接

中图分类号: R285.51 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)05-1343-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.05.014

3D-QSAR study on flavonoids as CYP1A1 inhibitors

HE Qing^{1,2}, CHEN Ping-ping^{1,2}, LI Hao², LYU Mu-han², LIANG Si-cheng², QI Xiao-yi¹, XIONG Xia¹, GE Guang-bo³

1. Department of Dermatology, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

2. Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

3. Institute of Interdisciplinary Integrative Medicine Research, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To study the inhibitory activity of flavonoids on CYP1A1 enzyme by constructing a 3D-quantitative structure-activity relationship (3D-QSAR) model. **Methods** The structure-activity relationship between structure of flavonoids and inhibitory activity of CYP1A1 were observed by Topomer CoMFA method. The inhibitory activities of compounds were evaluated by using the incubation system *in vitro*, and the results were used for subsequent verification and optimization of the model. The action mechanism of flavonoids and CYP1A1 was studied by using molecular docking. **Results** The cross validation correlation coefficient (q^2) of the obtained model was 0.800, the non-cross validation coefficient (r^2) was 0.965 0, and the correlation coefficient (r_{pred}^2) of the external validation was 0.956 7, suggesting that the model was robust and suitable for screening of CYP1A1 inhibitors. The model was used to predict the inhibitory activities of nine unreported flavonoids, and the results showed a good correlation coefficient between experimental and predicted values ($r^2 = 0.832 8$). The results of molecular docking showed that small molecule compounds could form hydrogen bonds with amino acid residues THR497, ASN222, ASN255, SER116, and ASP313 in CYP1A1. This might be essential for the CYP1A1 inhibiting activities of flavonoids. **Conclusion** The model has good estimation ability and

收稿日期: 2020-11-04

基金项目: 国家自然科学基金优秀青年基金资助项目 (81922070); 国家自然科学基金青年基金资助项目 (82003850); 四川省大学生创新创业训练项目 (S201910748117)

作者简介: 何庆 (1997—), 女, 本科, 研究方向为代谢酶抑制剂筛选研究。E-mail: QingHE327@163.com

*通信作者: 齐晓怡, 女, 博士, 讲师, 主要从事药物代谢及动力学研究。E-mail: 7xiao1@163.com

stability, which can provide theoretical reference for the design of high activity molecules and new ideas for the development of novel CYP1A1 enzyme inhibitors.

Key words: CYP1A1; flavonoids; enzyme inhibitor; quantitative structure-activity relationship; Topomer CoMFA; molecular docking

细胞色素 P450 酶 1A1 (cytochrome P450 1A1, CYP1A1) 是人体内重要的细胞色素 P450 酶。CYP1A1 结构中共含有 512 个氨基酸, 相对分子质量为 5.816×10^4 , 包含 12 个 α 螺旋和 3 个 β 折叠。其中, α 螺旋部分形成了 6 个底物识别位点^[1], 可选择性识别、结合和催化不同类型的化合物^[2]。研究表明, CYP1A1 的活性与急慢性炎症、肺损伤、动脉粥样硬化、肿瘤等多种疾病的发生、发展密切相关^[3]。CYP1A1 能够代谢和活化杂环芳胺、工业芳胺、多环芳烃类^[4-5]等多种环境致癌和致突变物质, 促进 DNA 突变并最终形成肿瘤^[6]。CYP1A1 介导的前致癌物活化与癌症的发生发展关系密切, 抑制其催化功能是癌症化学预防的潜在靶点^[7-8]。黄酮属于天然多酚类化合物, 广泛分布于蔬菜、水果、草药中, 至今已发现上千种不同类型的黄酮类化合物^[9]。黄酮类化合物具有保护心血管、抗氧化、抗衰老、调血脂、调节免疫等作用^[10]。黄酮类化合物可以抑制 CYP1A1 酶的活性^[11-14], 降低 CYP1A1 介导的前致癌物活化, 预防癌症^[15]。然而, 黄酮类化合物与 CYP1A1 抑制活性的构效关系少见报道。

定量构效关系 (quantitative structure-activity relationship, QSAR) 是基于配体的计算机辅助药物设计的主要方法之一, 通过对化合物结构特征和生物活性进行定量分析, 建立合理的数学模型, 广泛用于新化合物的活性预测、筛选及设计。3D-QSAR 不仅能够考察药物分子不同的构型或构象对其活性及性质的影响, 还能够反映受体与配体的相互作用信息^[16]。CoMFA 和 CoMSIA 是目前应用最广泛的三维定量构效方法^[17-18]。本研究采用第二代 CoMFA (Topomer CoMFA)^[19-20]构建黄酮类化合物与 CYP1A1 抑制活性的 3D-QSAR 模型, 为黄酮类化合物与 CYP1A1 抑制活性的构效关系提供参考, 并为筛选 CYP1A1 抑制剂提供更加快速有效的方法。

1 材料

1.1 药品与试剂

7,4'-二羟基黄酮 (7,4'-dihydroxyflavon, 批号 AB151809, 质量分数为 97%) 购自德国 ABCR 公司; 4',5'-二羟基黄酮 (4',5'-dihydroxyflavone, 批号

L14161, 质量分数为 98%)、5,6-二羟基黄酮 (5,6-dihydroxyflavone, 批号 H27039, 质量分数为 97%) 购自 Alfa Aesar 公司; 7,8-二羟基黄酮 (7,8-dihydroxyflavone, 批号 D1916, 质量分数 > 98%)、6-甲氧基黄酮 (6-methoxyflavone, 批号 M1346, 质量分数 > 99%) 购自 TCI 公司; 异黄腐酚 (isoxanthohumol, 批号 JOT-11423, 质量分数 \geq 98%)、芫花素 (5,4'-dihydroxy-methoxyflavone, 批号 JOT-10632, 质量分数 \geq 98%) 购自成都普菲德生物技术有限公司; 5,6,7-三甲氧基黄芩素 (5,6,7-trimethoxyflavone, 批号 B29309, 质量分数 \geq 97%) 购自上海源叶生物科技有限公司; 石吊兰素 (lysinotin, 批号 MB4495, 质量分数 \geq 98%) 购自美仑生物。

7-乙氧基试卤灵为课题组自制; 葡萄糖-6-磷酸 (glucose 6-phosphate, G-6-P) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G-6-PDH)、 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (β -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, β -NADP)、 $MgCl_2$ 购自美仑生物; PBS 缓冲液购自中国医药集团有限公司; CYP1A1 酶 (批号 8191004) 购自 Gentest 公司。

1.2 仪器

SpectraMaX M4 酶标仪 (上海美谷分子仪器有限公司); MS-100 型恒温混匀仪 (杭州奥盛仪器有限公司)。

2 方法

2.1 数据集来源与能量优化

通过查阅相关文献, 选取 50 种已报道的对 CYP1A1 有抑制作用的黄酮类化合物, 其化学结构与活性数据见图 1 和表 1。CYP1A1 抑制活性采用半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC_{50}) 表示, 为更好地获得黄酮类化合物的结构与活性之间的线性拟合情况, 将其负对数值 pIC_{50} 作为模型的因变量。

$$pIC_{50} = -\lg IC_{50}$$

采用 Chemoffice 16.0 构建化合物的三维结构, 导入 SYBYL-X2.0 软件中, 在 Compute Minimize 模块对化合物进行能量优化^[21-22], 采用 Powell 能量

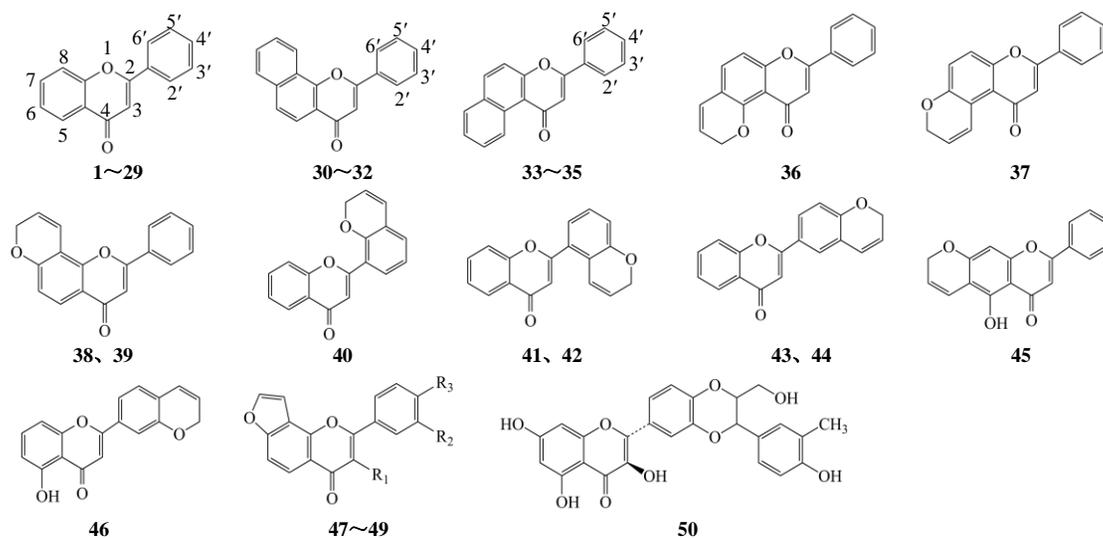


图 1 50 种黄酮类化合物的结构

Fig. 1 Structures of 50 flavonoids

梯度法, 选择 Tripos 分子力场, 进行优化, Gradient 设置为 21 J/mol, 分子电荷设置为 Gasteiger-Hunckel, 最大迭代次数设置为 1000。优化完成后将其导入分子表单。

2.2 Topomer CoMFA 模型构建

Topomer CoMFA 方法是对传统 CoMFA 方法的一种改进, 是 CoMFA 与 Topomer 技术的联合, 能够在短时间内快速、准确预测化合物的活性并构建 3D-QSAR 模型。将 50 个黄酮类化合物按 4 : 1 分成训练集和测试集。根据化合物取代基不同, 分为不同类型的结构层, 从不同结构层中随机挑选化合物组成测试集, 剩下的化合物为训练集。以黄酮作为公共骨架, 随机选择一个分子作为模板, 切割分子的方式为“Split into two”, 如图 2 所示, 切出 2 个取代基 (R_1 、 R_2) 片段。软件自动识别剩余的化合物并以相同的方式进行切割, 遇到程序不能自动识别的分子, 选择与模板分子尽可能相同的方式手动切割, 直至所有的训练集分子被切割完为止。

Topomer CoMFA 采用偏最小二乘法 (partial least squares method, PLS) [23] 建模分析, 当所有训练集分子切割完成后, 程序会自动计算每个分子片段的立体场和静电场性质, 再以立体场和静电场性质描述符为自变量, 以训练集化合物分子的 pIC_{50} 为因变量构建模型。测试集不参与 QSAR 模型的建立, 仅用于模型的外部验证, 以检测模型的实际预测能力。

2.3 实验验证

采用构建的 Topomer CoMFA 模型预测 9 种黄

酮类化合物的 CYP1A1 抑制活性。96 孔板中加入 100 mmol/L PBS 缓冲液 (pH 7.4) 及还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinamideadenine dinucleotide phosphate, NADPH) 产生体系 (1 mmol/L $NADP^+$ 、10 mmol/L G-6-P、1 U/mL G-6-PDH、4 mmol/L $MgCl_2$) 和 CYP1A1 酶, 总体积为 200 μ L, 轻轻震荡混合。分别加入样品或纯乙醇, 于恒温混匀仪 37 $^{\circ}C$ 预孵育 3 min; 加入反应辅因子 (β -NADP) 起始反应; 采用酶标仪连续监测反应 10 min。产物试卤灵激发波长 560 nm, 发射波长 590 nm。

2.4 分子对接

采用 SYBYL-X2.0 中的 Surflex-Dock [24] 进行分子对接, 对接所使用的蛋白酶晶体结构来源于 RCSB PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/structure/4I8V>), 晶体结构的 PDB ID 为 4I8V [1], 对接模式为 Surflex-Dock (SFXC)。在对接前对蛋白进行处理, 从复合物中提取配体 A/BHF602, 删除不需要的配体及所有水分子, 给蛋白加氢加 Gasteiger-Hückel 电荷, 设定距离配体分子 0.5 nm 范围内的所有氨基酸残基为活性口袋进行叠合, 然后将模板分子 1 号化合物与蛋白晶体进行对接。用总打分函数、配体与受体对接的不适当程度和极性打分函数评价对接结果。总打分函数表示受体与配体的亲和能力, 打分越高越好; 不适当程度的绝对值越接近零, 表示配体与受体对接时的不适当程度越小; 当结合位点位于分子表面时, 极性打分函数越高越好, 当结合位点位于分子内部时, 极性打分函数越低越好。

表 1 50种黄酮类化合物的结构及活性数据

Table 1 Structures and pIC₅₀ values of inhibitors used for modeling

序号	化合物名称	取代基	IC ₅₀ /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	pIC ₅₀ 实验值	pIC ₅₀ 预测值	残差
1	flavone	—	0.980	6.009	6.00	0.01
2	2'-ethynylflavone	2'-CCH	1.640±0.300	5.785	5.78	0.00
3*	5-ethynylflavone	5'-CCH	1.230±0.250	5.910	6.32	-0.41
4	3'-hydroxyflavone	3'-OH	5.000	5.301	5.32	0.01
5*	4'-hydroxyflavone	4'-OH	18.290	4.738	5.13	-0.39
6*	chrysin	5-OH, 7-OH	1.290±0.260	5.889	6.29	-0.40
7*	apigenin	4'-OH, 5-OH, 7-OH	5.100±1.800	5.292	5.42	-0.13
8	kaempferol	3-OH, 4'-OH, 5-OH, 7-OH	4.900±2.700	5.310	5.10	0.21
9	quercetin	3-OH, 3'-OH, 4'-OH, 5-OH, 7-OH	30.000±6.200	4.523	4.49	0.03
10	myricetin	3-OH, 3'-OH, 4'-OH, 5-OH, 5'-OH, 7-OH	34.000±26.000	4.469	4.43	0.04
11	oroxylin	5-OH, 6-OCH ₃ , 7-OH	0.952	6.021	6.18	-0.16
12	scutellarein	4'-OH, 5-OH, 6-OH, 7-OH	21.700	4.664	5.12	-0.46
13	fisetin	3-OH, 3'-OH, 4'-OH, 7-OH	61.120±4.960	4.214	4.23	-0.02
14	luteolin	3'-OH, 4'-OH, 5-OH, 7-OH	15.660±2.910	4.805	4.81	-0.01
15	acacetin	4'-OCH ₃ , 5-OH, 7-OH	0.100±0.020	7.000	6.62	0.38
16	3',4'-dimethoxy-5,7-dihydroxyflavone	3'-OCH ₃ , 4'-OCH ₃ , 5-OH, 7-OH	0.072	7.143	7.23	-0.09
17	wogonin	5-OH, 7-OH, 8-OCH ₃	0.121	6.917	6.67	0.25
18	genistin	3-OH, 3'-OH, 4'-CH ₃ , 5-OH	28.000	4.553	4.67	-0.12
19	7-methoxybaicalein	5-OH, 6-OH, 7-OCH ₃	0.641	6.193	6.28	-0.09
20	2'-flavonepropargylether	2'-OCH ₂ CCH	0.560	6.252	6.30	-0.05
21	3'-flavonepropargylether	3'-OCH ₂ CCH	0.020	7.699	7.42	0.28
22	4'-flavonepropargylether	4'-OCH ₂ CCH	0.650	6.187	6.12	0.07
23	5-flavonepropargylether	5-OCH ₂ CCH	1.600	5.796	5.83	-0.03
24	6-flavonepropargylether	6-OCH ₂ CCH	0.480	6.319	6.14	0.18
25*	7-flavonepropargylether	7-OCH ₂ CCH	0.510	6.292	6.39	-0.10
26	5H7FPE	5-OH, 7-OCH ₂ CCH	0.350±0.060	6.456	6.55	-0.09
27	5H3'FPE	5-OH, 3'-OCH ₂ CCH	0.043±0.003	7.367	7.59	-0.22
28	baicalin	5-OH, 6-OH, 7-GluA	14.300	4.845	4.53	0.31
29	wogonoside	5-OH, 7-GluA, 8-OCH ₃	23.800	4.623	4.85	-0.23
30	α -naphthoflavone	—	0.055	7.260	7.00	0.26
31	α -NF2'PE	2'-OCH ₂ CCH	0.063	7.201	7.31	-0.11
32	α -NF4'PE	4'-OCH ₂ CCH	0.072	7.143	7.13	0.01
33	β -naphthoflavone	—	0.046	7.337	7.20	0.14
34*	β -NF2'PE	2'-OCH ₂ CCH	0.083	7.081	7.51	-0.43
35	β -NF4'PE	4'-OCH ₂ CCH	0.041	7.387	7.33	0.06
36*	5,6-pyranoflavone	—	0.320±0.110	6.495	7.11	-0.62
37	6,5-pyranoflavone	—	0.150±0.062	6.824	7.15	-0.33
38	7,8-pyranoflavone	—	0.270±0.015	6.569	6.87	-0.30
39	5-hydroxy-7,8-pyranoflavone	5-OH	0.110±0.021	6.959	7.04	-0.08
40	2'3'PF	—	0.370±0.068	6.432	6.32	0.11
41	3'2'PF	—	2.430±0.870	5.614	5.74	-0.13
42	5H3'2'PF	5-OH	0.720±0.220	6.143	5.91	0.23
43*	4'3'PF	—	0.320±0.072	6.495	6.78	0.29
44*	5H4'3'PF	5-OH	0.360±0.230	6.444	6.95	-0.51
45	5H76PF	5-OH	0.150±0.030	6.824	6.84	-0.02
46	5H3'4'PF	5-OH	0.140±0.052	6.854	6.84	0.01
47	lanceolatin B	R ₁ =H, R ₂ =H, R ₃ =H	0.076±0.008	7.119	6.87	0.25
48*	pongol	R ₁ =OH, R ₂ =H, R ₃ =H	0.690±0.110	6.161	6.52	-0.36
49	pongapin	R ₁ =OCH ₃ , R ₂ +R ₃ =OCH ₂ O	0.071±0.008	7.149	7.29	-0.14
50	dehydrosilybin	—	0.430±0.040	6.367	6.52	-0.15

“*”为测试集分子，其余为训练集分子

“**”are test set molecules, the others are training set molecules

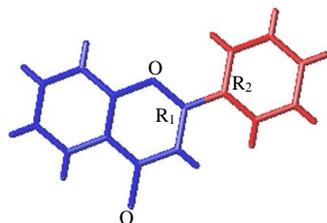


图2 黄酮的分子片段切割示意图

Fig. 2 Cutting of flavonoids

3 结果

3.1 Topomer CoMFA 模型统计结果分析

对于所建 Topomer CoMFA 模型, 交互验证复相关系数 (q^2)、拟合复相关系数 (r^2) 和外部验证相关系数 (r_{pred}^2) 越大表示模型的相关性越好, 预测能力越强; q^2 的标准误差 (q^2 stderr)、 r^2 的标准误差 (r^2 stderr) 和标准估计偏差 (SEE) 越小证明模型质量越高。当 $q^2 > 0.500$ 、 $r^2 > 0.600$ 时, 表明建立的模型具有显著的统计学意义^[25-26], 当 $r_{pred}^2 > 0.5$ 表明模型具有较强的外部预测能力^[27]。本研究建模各参数如表 2 所示, 模型 $q^2 > 0.500$, $r^2 > 0.600$, 表明模型具有较好的拟合与内部预测能力, 模型 $r_{pred}^2 = 0.9567$, 表明模型具有较好的外部预测能力。

表 2 Topomer CoMFA 的分析结果

Table 2 Statistical results of Topomer CoMFA

参数	数值
主成分数 (n)	5
交叉验证复相关系数 (q^2)	0.800
拟合复相关系数 (r^2)	0.965 0
外部验证相关系数 (r_{pred}^2)	0.956 7
交叉验证标准偏差 (q^2 stderr)	0.48
拟合的标准偏差 (r^2 stderr)	0.20
标准估计误差 (SEE)	0.198
Fisher 验证值 (F)	189.893

采用该模型对训练集和测试集化合物的活性进行预测, 结果见表 1。化合物训练集和测试集 pIC_{50} 实验值与预测值的线性回归图如图 3 所示, 所有样本均匀分布在 45° 直线附近, 表明所建模型具有良好的可靠性和预测能力。

3.2 3D-QSAR 分析

Topomer CoMFA 方法构建的 3D-QSAR 模型构建不仅可以获得模型评价参数, 还可以获得各取代基的静电场和立体场三维等势图。其中, 静电场等势图用红色和蓝色表示, 立体场等势图用绿色和黄色表示。静电场中, 红色代表在此区域引入吸电性基团有利于增大化合物分子的预测活性值, 蓝色代

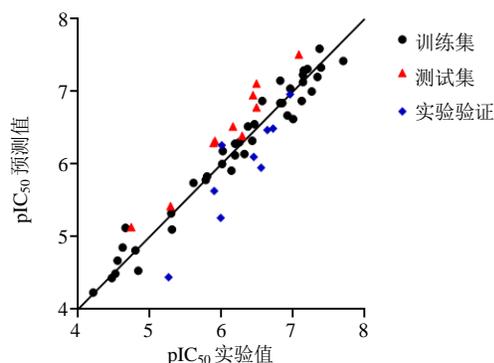


图3 实验数据与预测的 pIC_{50} 值之间的线性回归分析

Fig. 3 Linear regression between experimental and predicted pIC_{50} values

表在此区域引入供电性基团有利于增大化合物分子的预测活性值; 立体场中, 绿色代表在此区域引入大体积取代基有利于增大化合物分子的预测活性值, 相反, 黄色代表在此区域引入小体积取代基有利于增大化合物分子的预测活性值。

以化合物 **1** ($pIC_{50} = 6.01$) 为模板生成的 Topomer CoMFA 模型各基团静电场和立体场三维等势图如图 4 所示。图 4-A 中, R_1 分子片段的 C-3 附近有一小块黄色色块图, 表明在此处引入小体积取代基有利于活性值升高。通过比较化合物 **48** ($pIC_{50} = 6.16$)、化合物 **47** ($pIC_{50} = 7.12$) 的结构及活性值关系可以看出, 当其他基团不变时, 将化合物 **48** R_1 分子片段 C-3 位上的羟基换成氢原子, 此位置上取代基体积逐渐减小, 化合物活性值随之升高。同时, R_1 分子片段的 C-5、C-6、C-7、C-8 位在立体场中被大片绿色区域围绕, 当其上的氢原子被更大体积的基团取代时, 有利于 CYP1A1 抑制活性值的升高。如化合物 **24** ($pIC_{50} = 6.32$)、化合物 **25** ($pIC_{50} = 6.29$) 与化合物 **1** ($pIC_{50} = 6.01$) 相比, 分别在 C-6、C-7 位用体积更大的氧丙炔基取代了氢原子, 其 CYP1A1 抑制活性升高。图 4-C 中, R_2 分子片段的 C-3'、C-4'、C-5' 位在立体场中被绿色区域围绕, 如化合物 **21** ($pIC_{50} = 7.70$)、化合物 **22** ($pIC_{50} = 6.19$) 分别在化合物 **1** ($pIC_{50} = 6.01$) 的基础上, 在 C-4'、C-5' 位用体积更大的氧丙炔基取代氢原子, 活性显著提高。

由图 4-B 可以看出, R_1 分子的 C-3、C-6 位在静电场被蓝色区域所覆盖, 当引入供电性基团时其 CYP1A1 抑制活性提高。对比化合物 **6** ($pIC_{50} = 5.89$) 和化合物 **11** ($pIC_{50} = 6.02$), 保持其他基团不变,

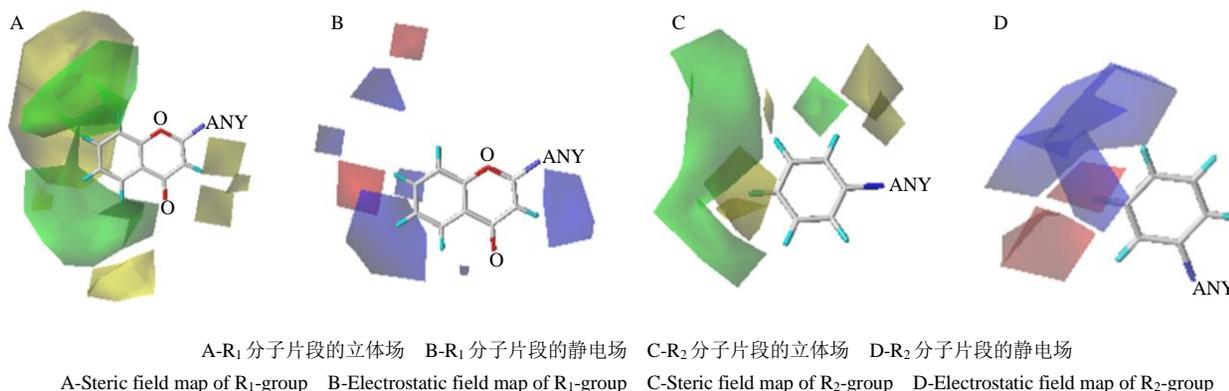


图4 化合物1的Topomer CoMFA模型的等势图

Fig. 4 Contour map of Topomer CoMFA model of compound 1

化合物6 C-3位上的氢原子被甲氧基替换,成为化合物11,供电性增强,化合物活性增高。同理,由图4-D可以看出,R₂分子的C-4'位在静电场中被蓝色区域所覆盖,对比化合物6(pIC₅₀=5.89)和化合物15(pIC₅₀=7.00),保持其他基团不变,化合物6 C-4'上的氢原子被甲氧基替换,成为化合物15,供电性增强,化合物活性增强。

3.3 实验验证结果分析

用于实验验证的化合物结构与活性数据见表3,化合物pIC₅₀实验值与预测值的线性回归关系如图3所示,其相关系数为0.8328,从图中可以看出化合物取值点基本分布在45°直线附近,表明所建模型具有良好的可靠性和预测能力。

3.4 对接结果分析

分子对接结果见表4和图5,棒状表示配体,线状表示氨基酸残基,虚线表示氢键给体,图5-A为配体分子与CYP1A1酶蛋白受体的对接位点。由图5-B可知,模板分子配体与晶体结构中的主要氨基酸残基共形成了1个氢键,与THR497形成氢键相互作用,总打分函数、配体与受体对接的不适

当程度和极性打分函数分别为4.8375、-1.7306、0.0462。图5-C为实验活性最高的化合物E与蛋白质氨基酸残基氢键相互作用的示意图,与ASN222和ASN225残基各形成1个氢键,总打分函数、配体与受体对接的不适当程度和极性打分函数分别为7.9305、-0.9918、1.9204。相较于模板分子而言,化合物5的2个氢键作用力对其抑制活性十分重要,化合物5与CYP1A1的亲合性明显高于模板分子,这可能是其活性更强的原因。图5-D为实验活性最低的化合物B与蛋白质氨基酸残基氢键相互作用的示意图,化合物B与配体分子分别在SER116、ASP313残基各形成1个氢键,总打分函数、配体与受体对接的不适当程度和极性打分函数分别为6.0658、-0.3242、1.2139。相较于模板分子而言,这两个氢键的作用力可能是其活性更强的原因;而与活性最高的化合物E对比可以发现,形成氢键的残基位点不同,化合物的抑制活性也有差异。

化合物I不与配体形成氢键,其总打分函数、配体与受体对接的不适当程度和极性打分函数分

表3 实验验证所用黄酮类化合物的结构与活性数据

Table 3 Experimental values, predicted values and residual of flavonoids used for experimental verification

序号	取代基	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)	pIC ₅₀ 实验值	pIC ₅₀ 预测值	残差
A	4'-OH, 7-OH	1.024±0.174	5.990	5.26	0.730
B	4'-OH, 5'-OH	5.448±1.165	5.264	4.44	0.824
C	5-OH, 6-OH	0.279±0.022	6.554	5.95	0.604
D	7-OH, 8-OH	0.989±0.115	6.005	6.26	-0.255
E	4'-OCH ₃ , 5-OH, 6-OCH ₃ , 7-OH, 8-OCH ₃	0.110±0.007	6.959	6.96	-0.001
F	4'-OH, 5-OCH ₃ , 7-OH, 8-CCC(CH ₃) ₂	1.266±0.029	5.898	5.63	0.268
G	4'-OH, 5-OH, 7-OCH ₃	0.228±0.058	6.642	6.47	0.172
H	5-OCH ₃ , 6-OCH ₃ , 7-OCH ₃	0.190±0.010	6.721	6.49	0.231
I	6-OCH ₃	0.352±0.070	6.453	6.10	0.353

表 4 实验验证所用的黄酮类化合物的分子对接结果

Table 4 Results of molecular docking of flavonoids used for experimental verification

序号	化合物名称	总打分函数	不适当程度	极性打分函数
I	flavone	4.837 5	-1.730 6	0.046 2
A	7,4'-dihydroxyflavone	6.135 5	-0.875 5	1.375 3
B	4',5'-dihydroxyflavone	6.065 8	-0.324 2	1.213 9
C	5,6-dihydroxyflavone	6.311 2	-2.246 9	2.103 4
D	7,8-dihydroxyflavone	5.580 8	-0.861 0	3.429 0
E	lysionotin	7.930 5	-0.991 8	1.092 4
F	isoxanthohumol	8.650 1	-1.770 3	2.813 5
G	5,4'-dihydroxy-methoxyflavone	6.494 7	-1.729 1	0.744 3
H	5,6,7-trimethoxyflavone	6.592 4	-0.868 5	0.942 2
I	6-methoxyflavone	6.671 7	-0.466 7	0.013 3

化合物 1 为模板分子

Compound 1 is a template molecule

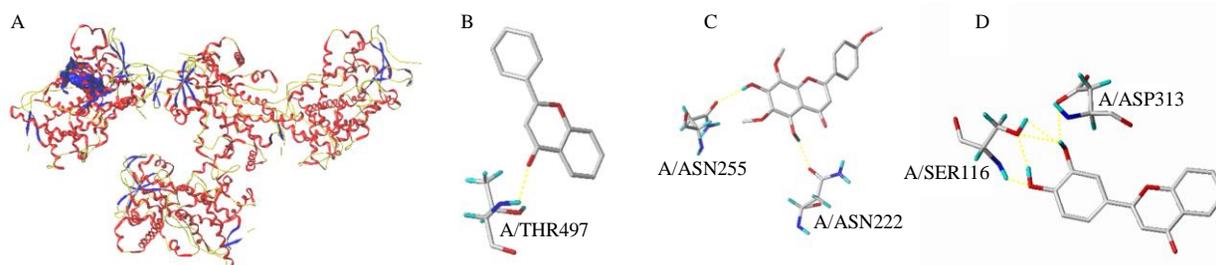


图 5 配体与 CYP1A1 的对接模型 (A) 及化合物 1 (B)、化合物 E (C)、化合物 B (D) 与 CYP1A1 分子的氨基酸残基之间形成的氢键示意图

Fig. 5 Docking mode between reference ligand and CYP1A1 (A), hydrogen bond interaction diagram of compound 1 (B), compound E (C), and compound B (D) with amino acid residues

别为 6.671 7、-0.466 7、0.013 3。相较于模板分子而言，其抑制活性稍强，表明氢键的形成并不是增加化合物抑制活性的唯一因素。

4 结论

本研究利用 Topomer CoMFA 方法对 50 个黄酮类化合物进行了建模分析。该模型通过提供立体场和静电场的可视化图像，直观地揭示了化合物中不同的取代基结构对其活性的影响。统计结果 $q^2=0.800$ 、 $r^2=0.965 0$ ，表明所建立的模型具有较高的预测能力和良好的稳定性。利用模板分子和实验测出的活性分子进行分子对接，探究配体和受体蛋白之间的关系，对接结果表明小分子与大分子蛋白的氨基酸残基 THR497、ASN222、ASN255、SER116 和 ASP313 可以形成氢键，表明所建模型具有良好的可靠性，可为设计高活性分子提供理论参考。本研究为分析黄酮类化合物的 CYP1A1 抑制活性提供了高效的方法，为新型 CYP1A1 酶抑制剂的开发提供新的思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Walsh A A, Szklarz G D, Scott E E. Human cytochrome P450 1A1 structure and utility in understanding drug and xenobiotic metabolism, [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(18): 12932-12943.
- [2] 周晓英, 田李星, 黄祺, 等. 细胞色素酶 P4501A1 (CYP1A1) 与免疫性疾病关系的研究进展 [J]. *感染、炎症、修复*, 2017, 18(2): 120-124.
- [3] Gdula-Argasińska J, Czepiel J, Totoń-Żurańska J, et al. Resolvin D1 down-regulates CYP1A1 and PTGS2 gene in the HUVEC cells treated with benzo(a)pyrene [J]. *Pharmacol Rep*, 2016, 68(5): 939-944.
- [4] Shimada T, Fujii-Kuriyama Y. Metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons to carcinogens by cytochromes P450 1A1 and 1B1 [J]. *Cancer Sci*, 2004, 95(1): 1-6.
- [5] Kim D, Guengerich F P. Cytochrome P450 activation of arylamines and heterocyclic amines [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2005, 45: 27-49.
- [6] Wogan G N, Hecht S S, Felton J S, et al. Environmental and chemical carcinogenesis [J]. *Semin Cancer Biol*,

- 2004, 14(6): 473-486.
- [7] Chun Y J, Ryu S Y, Jeong T C, *et al.* Mechanism-based inhibition of human cytochrome P450 1A1 by rhapontigenin [J]. *Drug Metab Dispos*, 2001, 29(4): 389-393.
- [8] Androutsopoulos V P, Spyrou I, Ploumidis A, *et al.* Expression profile of CYP1A1 and CYP1B1 enzymes in colon and bladder tumors [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82487.
- [9] 李建康, 和凡, 毕惠嫦, 等. 黄酮类化合物对细胞色素 P450 CYP1A2 的抑制作用及其构效关系研究 [J]. *药学学报*, 2008, 43(12): 1198-1204.
- [10] 李萌茹, 周玉枝, 杜冠华, 等. 中药黄酮类化合物抗衰老作用及其机制研究进展 [J]. *药学学报*, 2019, 54(8): 1382-1391.
- [11] Shimada T, Tanaka K, Takenaka S, *et al.* Structure-function relationships of inhibition of human cytochromes P450 1A1, 1A2, 1B1, 2C9, and 3A4 by 33 flavonoid derivatives [J]. *Chem Res Toxicol*, 2010, 23(12): 1921-1935.
- [12] Sridhar J, Liu J, Foroozesh M, *et al.* Insights on cytochrome p450 enzymes and inhibitors obtained through QSAR studies [J]. *Molecules*, 2012, 17(8): 9283-9305.
- [13] Androutsopoulos V P, Papakyriakou A, Vourloumis D, *et al.* Comparative CYP1A1 and CYP1B1 substrate and inhibitor profile of dietary flavonoids [J]. *Bioorg Med Chem*, 2011, 19(9): 2842-2849.
- [14] Goyal N, Liu J, Lovings L, *et al.* Ethynylflavones, highly potent, and selective inhibitors of cytochrome P450 1A1 [J]. *Chem Res Toxicol*, 2014, 27(8): 1431-1439.
- [15] Androutsopoulos V P, Papakyriakou A, Vourloumis D, *et al.* Dietary flavonoids in cancer therapy and prevention: Substrates and inhibitors of cytochrome P450 CYP1 enzymes [J]. *Pharmacol Ther*, 2010, 126(1): 9-20.
- [16] Khandelwal A, Narayanan R, Gopalakrishnan B. 3D-QSAR CoMFA and CoMSIA studies on tetrahydrofuroyl-L-phenylalanine derivatives as VLA-4 antagonists [J]. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11(19): 4235-4244.
- [17] Cramer R D, Patterson D E, Bunce J D. Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins [J]. *J Am Chem Soc*, 1988, 110(18): 5959-5967.
- [18] Klebe G, Abraham U, Mietzner T. Molecular similarity indices in a comparative analysis (CoMSIA) of drug molecules to correlate and predict their biological activity [J]. *J Med Chem*, 1994, 37(24): 4130-4146.
- [19] Cramer R D, Jilek R J, Guessregen S, *et al.* "Lead hopping". Validation of topomer similarity as a superior predictor of similar biological activities [J]. *J Med Chem*, 2004, 47(27): 6777-6791.
- [20] Cramer R D, Cruz P, Stahl G, *et al.* Virtual screening for R-groups, including predicted pIC50 contributions, within large structural databases, using topomer CoMFA [J]. *J Chem Inf Model*, 2008, 48(11): 2180-2195.
- [21] Clark M, Cramer R D, Opdenbosch N V. Validation of the general purpose Tripos 5.2 force field [J]. *J Comput Chem*, 1989, 10(8): 982-1012.
- [22] 仝建波, 雷珊, 秦尚尚, 等. 基于 Topomer CoMFA 方法的喹诺酮羧酸类衍生物的 QSAR 研究及分子设计 [J]. *分析测试学报*, 2018, 37(5): 517-524.
- [23] Tenenhaus M, Vinzi V E, Chatelin Y M, *et al.* PLS path modeling [J]. *Comput Stat Data Anal*, 2005, 48(1): 159-205.
- [24] Clark R D, Strizhev A, Leonard J M, *et al.* Consensus scoring for ligand/protein interactions [J]. *J Mol Graph Model*, 2002, 20(4): 281-295.
- [25] Clark M, Cramer R D, Jones D M, *et al.* Comparative molecular field analysis (CoMFA). 2. Toward its use with 3D-structural databases [J]. *Tetrahedron Comput Methodol*, 1990, 3(1): 47-59.
- [26] 胡松青, 米思奇, 贾晓林, 等. 苯并咪唑类缓蚀剂的 3D-QSAR 研究及分子设计 [J]. *高等学校化学学报*, 2011, 32(10): 2402-2409.
- [27] Ji Y J, Shu M, Lin Y, *et al.* Combined 3D-QSAR modeling and molecular docking study on azacycles CCR5 antagonists [J]. *J Mol Struct*, 2013, 1045: 35-41.

[责任编辑 李亚楠]