

P450_{17 α} 抑制剂——17 位取代甾体化合物的三维定量构效关系

苗 及, 凌仰之, 朱 娜, 雷小平*

(北京大学药学院药物化学系, 北京 100083)

摘要: 目的 建立 P450_{17 α} 的 17 位取代甾体抑制剂的三维定量构效关系, 为设计新的、更有效的抑制剂提供理论依据。方法和结果 利用比较分子力场方法, 建立了 P450_{17 α} 抑制剂的三维定量构效关系模型。交叉验证回归系数 R_{CV}^2 、非交叉验证回归系数 R^2 和标准偏差 SEE 分别为 0.538、0.799 和 0.257。说明该系列化合物分子周围立体场和静电场的分布与生物活性间有良好的相关性。用该模型对本室合成的 3 个化合物进行活性预测, 结果与实测值相符。结论 所得模型支持了假设的抑制剂作用机理和作用模型。所得 CoMFA 模型有一定的预测能力, 可用来指导设计新的 P450_{17 α} 抑制剂。

关键词: P450_{17 α} 抑制剂; 比较分子场分析法 (CoMFA); 三维定量构效关系; 甾体化合物

中图分类号: R914.2; R914.5 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2001)07-0507-04

P450_{17 α} 是位于睾丸和肾上腺的细胞色素酶, 是雄激素生物合成途径中的关键酶。其功能是将 21 碳的生物前体孕烯醇酮和孕酮分别在两步中去 C20-乙酰侧链和 17 位羟化, 转化成 19 碳的去氢表雄酮和雄烯二酮。最后由位于前列腺中的 5 α -还原酶将睾酮转化成二氢睾酮。已证明体内的一些疾病是由体内过高的雄激素导致的, 如前列腺良性增生、前列腺癌等。临床上已证明降低体内的雄激素水平是治疗这些疾病的有效方法^[1]。选择性高、作用强的 P450_{17 α} 酶抑制剂可以通过抑制雄激素生物合成中的初始环节, 降低体内雄激素水平, 在临床上用于治疗前列腺疾病。已报道的 P450_{17 α} 抑制剂主要包括甾体类和非甾体类, 而非甾体类抑制剂的选择性都不好。为了进一步阐明 P450_{17 α} 抑制剂的定量构效关系, 本文利用比较分子力场方法 (CoMFA), 对 17 位取代的甾体类抑制剂进行了三维定量构效关系研究。

实 验 部 分

所有工作都是在 Tripos 公司 Silicon Graphics O₂ 计算机工作站上完成的。所用计算程序为 Tripos 公

司的 Sybyl 6.4 分子设计软件包。计算过程所涉及参数除非特别指明, 均为缺省值。

1 化合物的选择

P450_{17 α} (CYP17) 是一种结构尚未知的细胞色素酶。其抑制剂的筛选有多种方法。因此对化合物的活性数据进行了严格考察。本文选择了 31 个甾体抑制剂进行 CoMFA 研究。它们的活性数据源于同一个实验室^[2-4]。每次测试中, 对照样品活性值相同, 认为有可比性。所选取样品是以酮康唑为标准品, 其 IC₅₀ 值为 78 nmol·L⁻¹。比较分子力场分析用 IC₅₀ 的负对数形式 -log IC₅₀。所选用的化合物结构及活性见表 1。

2 活性构象确定

由于酶结构未知, 所以采用分子的最低能量构象作为最可能的药效构象。以活性最好的化合物 31 作为模板分子。其起始构象是在 Sybyl 6.4 的“Build/Edit”模块下建立, 用分子力学程序 Minimize 进行能量优化。优化过程中采用 Powell 能量梯度法, Tripos 力场, 能量收敛限定为 0.001 kcal·mol⁻¹, 优化次数为 1 000。分子载荷为 Gasteiger-Huchel 型电荷。其他化合物以 31 为模板, 构建成相应结构, 也以 Minimize 程序以同样条件能量优化后, 作为最低能量构象。

3 分子叠合

由于抑制剂同属甾体类, 它们与酶结合时部位应一致。它们之间除 17 位取代不同外, 仅 A 环和 D 环有差别。因此以活性最好的化合物 31 为模板, 以

收稿日期: 2000-10-16。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39670855)。

作者简介: 苗 及(1976-), 女, 硕士研究生;

雷小平(1947-), 女, 教授, 硕士生导师。

* 通讯作者 Tel: (010) 62091505, Fax: (010) 62015584,

E-mail: lei-xp@263.net

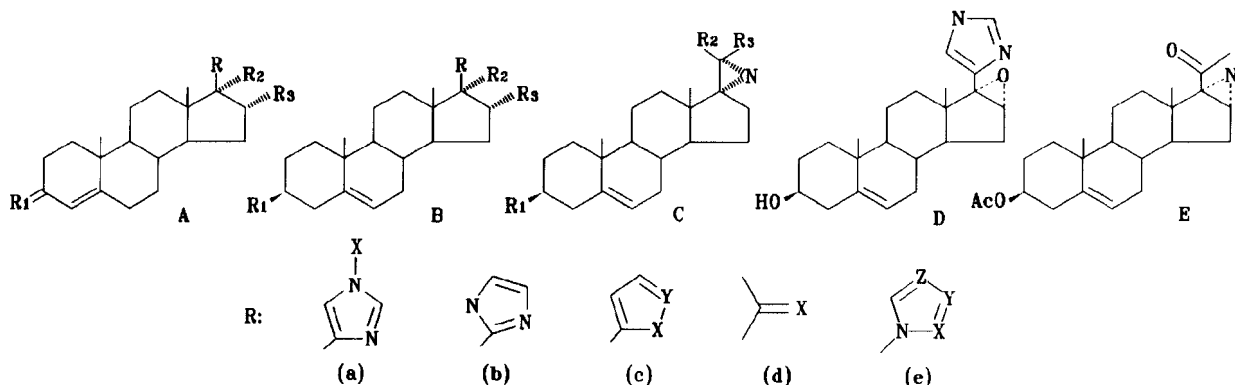
B环和C环上的C8, C9, C10, C11, C12和C13为叠合点进行叠合。叠合图见图1。

4 CoMFA分析

CoMFA分析由 Sybyl 6.4 中的 QSAR 模块来完成

成。分析力场包括立体场和静电场。在 0 - 50 kcal·mol⁻¹内,经多次摸索,将立体场和静电场的能量阈值分别设为 15 kcal·mol⁻¹和 15 kcal·mol⁻¹。先以交叉验证(cross-validation)确定最佳主成分数,再用非

Table 1 Structures and activities of compounds (1 - 31) used in CoMFA



No.	Basic structure	R ₁	R ₂	R ₃	R	IC ₅₀ / nmol·L ⁻¹	- log IC ₅₀
1	B	OH	H	H	(a) X = H	66	7.18
2	D					430	6.37
3	B	OH	C = C		(a) X = H	24	7.62
4	B	OAc	C = C		(a) X = H	75	7.12
5	B	OAc	H	H	(a) X = H	199	6.70
6	B	OAc	H	H	(a) X = Ac	100	7.00
7	A	O	H	H	(a) X = H	58	7.24
8	A	O	OH	H	(a) X = H	1200	5.92
9	A	O	C = C		(a) X = H	50	7.30
10	B	OH	C = C		(b)	21	7.68
11	B	OH	C = C		(c) X = N, Y = N	42	7.38
12	B	OH	C = C		(c) X = O, Y = N	108	6.97
13	B	OH	H	H	(c) X = N, Y = O	1113	5.95
14	A	O	C = C		(c) X = N, Y = N	59	7.23
15	A	O	C = C		(c) X = O, Y = N	39	7.41
16	B	OH	C = C		(d) X = N - OH	73	7.14
17	B	OAc	C = C		(d) X = N - OH	67	7.17
18	B	OAc	C = C		(d) X = OAc	51	7.29
19	B	OH	H	Me		339	6.47
20	B	OH	Me	H		372	6.43
21	E					162	6.79
22	A	O	H	H	(d) X = N - OH	43	7.37
23	A	O	H	H	(d) X = N - OAc	25	7.60
24	A	NOH(E)	C = C		(d) X = N - OH	196	6.71
25	A	NOH(Z)	C = C		(d) X = N - OH	75	7.12
26	A	O	C = C		(e) X = N, Y = N, Z = C	19	7.72
27	B	OH	C = C		(e) X = N, Y = C, Z = N	90	7.04
28	B	OH	C = C		(e) X = C, Y = N, Z = C	8	8.10
29	B	OH	C = C		(e) X = N, Y = N, Z = C	13	7.88
30	A	O	C = C		(e) X = N, Y = C, Z = N	55	7.26
31	A	O	C = C		(e) X = C, Y = N, Z = C	7	8.15



Figure 1 Stereoview of superimposition of P450_{17α} inhibitors (compounds 1 - 31) used in CoMFA

交叉验证 (non-validation) 建立最终的比较分子力场模型。在最小二乘法 (partial least square, PLS) 分析中, column filtering 设为 $4 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

结 果 与 讨 论

1 CoMFA 模型

比较分子力场分析所得 CoMFA 模型的统计学参数为: 交叉验证相关系数 $R_{cv}^2 = 0.538$, 最佳主成分数为 3, 由最佳主成分数建立的 CoMFA 模型的传统相关系数 $R^2 = 0.799$, $F = 35.684$, 标准方差 SEE (standard error of estimate) = 0.257。该模型对 31 个化合物的活性预测值与实测值的相关性如图 2。

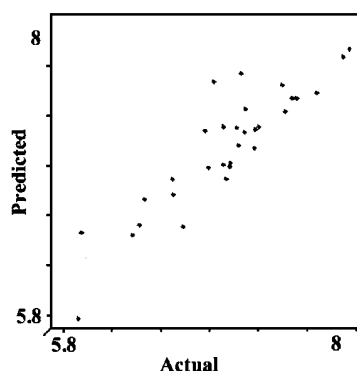


Figure 2 Predicted vs actual biological activities of inhibitors (compounds 1 - 31) from CoMFA model

2 CoMFA 系数等势图

CoMFA 模型系数等势图见图 3 和 4。其中参照分子均为化合物 31。图 3 中绿色和黄色区域代表立体场对化合物活性的影响, 绿色区域表示在该区域附近存在体积大的基团将由于增加立体场而有利于活性的提高, 黄色区域则表示该区域不宜于引入

位阻大的基团, 否则会降低化合物的活性。

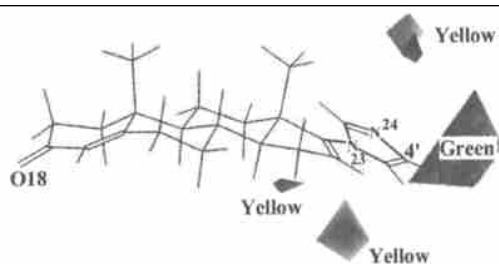


Figure 3 View of the CoMFA steric field graph with compound 31

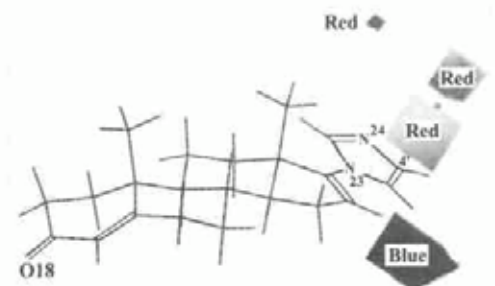


Figure 4 View of the CoMFA electrostatic field graph with compound 31

图 4 中红色和蓝色区域代表静电场对活性的影响: 红色区域表示引入负电性基团有利于提高活性, 蓝色区域则表明引入正电性基团有利于活性提高。

3 关于模型的讨论

在立体场等势图中可以看到, 在甾体骨架的 α 面有一块黄色区域, 说明若此处存在位阻大的基团将不利于抑酶作用; 从静电场等势图中可以看出, 在化合物 31 的杂环附近有多处红色区域, 说明在这些区域引入富电荷的基团将有利于活性的提高。这与文献中假设的竞争性 P450_{17α} 抑制剂的作用机理^[5]和作用模型^[6]相符。该假设认为在距离甾体 D 环适当位置引入具有孤对电子的原子, 如 N 等, 将可能

与 P450_{17 α} 的血红素辅基中的 Fe 原子结合,从而抑制酶的活性。假设的作用模式中是血红素位于甾环的 α 面(图 5)。我们得到的 3D CoMFA 模型更进一步说明了,在甾环 D 环存在富电荷的原子有利于抑酶活性,这支持了上述作用机理。 α 面位阻大的基团不利于抑酶活性,这是与假设的作用模型一致,因为在此处有位阻大的基团,会阻碍杂原子与 Fe 作用,而不利抑酶活性。

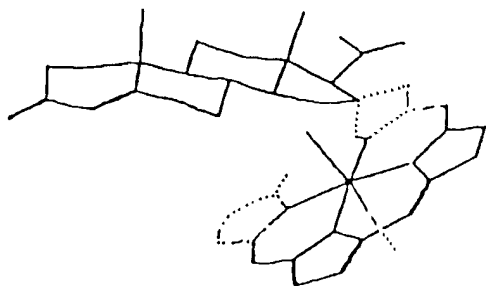


Figure 5 Stereoplot of the substrate heme-complex for the P450_{17 α}

另外,在图 3 和 4 中,化合物 31 杂环 4' 位附近存在的绿色区域和红色区域说明在此处引入有一定体积的推电子基团是有利的。

利用该模型对本室合成的 3 个化合物进行了活性预测。以 3-羟基-17-(2'-噻唑)雄甾-5,16 二烯为母体系列的预测活性大小排序为:4' 位苯基取代衍生物(7.76) > 4' 位氢取代(7.59) > 4' 位甲基取代(7.45)。由于对这 3 个化合物的活性测定与 CoMFA 模型建立所用的化合物活性的测定是在不同条件下

进行的,对照品用化合物 31 而非酮康唑,因而活性数据没有直接的可比性。但实测的抑制率的顺序与预测顺序相同,是 4' 位苯基取代 > 4' 位氢取代 > 4' 位甲基取代。说明该模型对于抑制剂的电性、立体要求有较为准确的描述。

REFERENCES:

- [1] Trachtenberg J. Ketoconazole therapy in advanced prostate cancer [J]. *J Urol*, 1984, **132**(1): 61 - 63.
- [2] Ling YZ, Li JS, Brodie AM, *et al.* 17-Imidazolyl, pyrazolyl and isoxazolyl androstene derivatives, novel steroidal inhibitors of human cytochrome C_{17,20}-lyase (P450_{17 α}) [J]. *J Med Chem*, 1997, **40**(20): 3297 - 3304.
- [3] Njar NC, Katok K, Brodie AM, *et al.* Novel 17-azoly steroids, potent inhibitors of human cytochrome 17 α -hydroxylase/C_{17,20} lyase (P450_{17 α}), potential agent for the treatment of prostate cancer [J]. *J Med Chem*, 1998, **41**(6): 902 - 912.
- [4] Ling YZ, Li JS, Brodie AM, *et al.* Synthesis and *in vitro* activity of some epimeric 20 α -hydroxy, 20-oxime and aziridine pregnene derivatives, as inhibitors of human 17 α -hydroxylase / C_{17,20} lyase and 5 α reductase [J]. *Bioorg Med Chem*, 1998, **6**(10): 1683 - 1693.
- [5] Njar VCO, Klus G, Brodie AM, *et al.* Nucleophilic vinylic "additional-elimination" substitution reaction of 3 β -acetoxy-17-chloro-16-formylandrosta-5,16-diene: a novel and general route to 17-substituted steroids [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1996, **6**(22): 2777 - 2782.
- [6] Ahmed S. A novel molecular modelling study of inhibitors of the 17 α -hydroxylase component of the enzyme system 17 α -hydroxylase / C_{17,20} lyase (P450_{17 α}) [J]. *Bioorg Med Chem*, 1999, **7**(8): 1487 - 1496.

THREE DIMENSIONAL QUANTITATIVE STRUCTURE ACTIVITY RELATIONSHIP OF P450_{17 α} INHIBITORS OF 17-SUBSTITUTED STEROIDS

MIAO Ji, LING Yang-zhi, ZHU Na, LEI Xiao-ping

(Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100083, China)

ABSTRACT: **AIM** To develop a three dimensional quantitative structure activity relationship (3D-QSAR) model and gain further insights into the requirements for potential P450_{17 α} inhibitors. **METHODS AND RESULTS** A predictive 3D pharmacophore model was established based on comparative molecular field analysis (CoMFA). The correlation between the activities and structures was significant with cross-validated value (R^2_{cv}), non-cross-validated value (R^2) and standard error of estimate (SEE) of 0.538, 0.799 and 0.257, respectively. According to this model, the predicted inhibition activities of three compounds synthesized in our laboratory were compatible to actual activities. **CONCLUSION** This model would contribute to the understanding of the interaction between the inhibitors and P450_{17 α} and rational design of novel lead molecules.

KEY WORDS: P450_{17 α} inhibitor; comparative molecular field analysis (CoMFA); 3D-QSAR; steroids compound