姜黄素类似物抑制酪氨酸酶活性 3D-QSAR 模型的研究

蔡伟平[1]，韦星船[1]，郑成[1]，何浏[1]，赵文忠[2]，郑希[3]
（1.广州大学化学化工学院，广东广州 510006）（2.广东拉芳家化股份有限公司，广东汕头 515041）
（3.广东工业大学轻工化工学院，广东广州 510006）

摘要：三维定量构效关系（3D-QSAR）是一种合理的药物设计方法，是目前使用最多的方法之一。本文根据前期合成的 28 个姜黄素类似物其结构与抑制酪氨酸酶活性关系，建立了统计学意义显著的 3D-QSAR 模型，交叉验证系数 q^2 为 0.609，模型相关系数 R^2 为 0.997，F 统计量的值为 77.070。对该模型的可靠性和预测能力进行了分析。应用该模型设计了 6 个结构对称的姜黄素类似物 A1、A2、B1、B2、B3 和 B4，对 6 个化合物进行合成、分离提纯以及结构表征。其中，化合物 A2 和 B3 经 SCI Finder 检索为未见合成报道的新型化合物。以左旋多巴（L-DOPA）为底物，测试合成物对酪氨酸酶的抑制活性，其中化合物 B1 的活性最强，所有合成物的活性均比姜黄素好，并且实验值与预测值十分接近，说明 3D-QSAR 模型具有良好的外部预测能力。

关键词：姜黄素类似物；3D-QSAR；数理统计；酪氨酸酶抑制活性
文章篇号：1673-9078(2017)8-41-50 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.8.008

A 3D-QSAR Model of the Tyrosinase Inhibitory Activity of Curcumin Analogues

CAI Wei-ping[1], WEI Xing-chuan[1], ZHENG Cheng[1], HE Liu[1], ZHAO Wen-zhong[2], ZHENG Xi[3]
(1.School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China) (2.Guangdong Lafang Family Chemical Co., Ltd, Shantou 515041, China) (3.School of Chemical Engineering and Light Industry, GDUT, Guangzhou 510006, China)

Abstract: As a rational drug design approach, the three-dimensional quantitative structure-activity relationship (3D-QSAR) is one of the methods that is currently used most often for drug design and development. Based on the relationship between the structure and tyrosinase inhibitory activity of 28 curcumin analogues, a 3D-QSAR model with statistical significance was established, with a cross-validation correlation coefficient q^2 of 0.609, a correlation coefficient R^2 of 0.997, and an F statistic of 77.070. The reliability and predictive ability of the model were analyzed. Six curcumin analogues (A1, A2, B1, B2, B3, and B4) with a symmetrical structure were designed based on the model. These compounds were then synthesized, separated, and purified, and their structures were characterized. Among them, compounds A2 and B3 were new compounds that have not previously been reported. Using levodopa (L-DOPA) as substrate, the tyrosinase inhibitory activities of the six compounds were measured. Among them, B1 exhibited the strongest activity, and the activities of all compounds were higher than that of curcumin. Additionally, the experimental values were very close to the predicted values, suggesting that the 3D-QSAR model has good external predictive capabilities.

Key words: curcumin analogues; three-dimensional quantitative structure-activity relationship; mathematical statistics; tyrosinase inhibitory activity

酪氨酸酶是一种复杂的多亚基结构含铜氧化还原酶，也称多酚氧化酶[1]，在果蔬中普遍存在。酪氨酸酶具有独特的双重催化功能，是生物体内合成黑色素的关键酶，也是引起水果、蔬菜发生酶促褐变的主要酶类[2]。酪氨酸酶催化氧化果蔬中的内源性多酚物质生成黑色素[3]，严重影响果蔬等食品的外观品质、营养及商品价值[4]，因此，开发高效酪氨酸酶抑制剂，对于食品保鲜和防腐具有重要意义。

姜黄素属于植物多酚，是从姜科植物的根茎中提取出来的具有共轭酮结构的化合物，具有降血脂[5]、保护心血管系统[6]以及抗血凝和抑制血小板聚集的作用[7]，还有抗肿瘤、利胆、消除胃痛、抗氧化、抗菌、抗风湿[8~11]以及抗 HIV 等作用[12,13]。姜黄素还可用作食品添加剂和天然染料，如食用和化妆品色素[14~16]，

收稿日期：2017-01-19
基金项目：广东省科技计划项目（2013B090600090）
作者简介：韦星船（1964-），女，博士，教授，研究方向：药物化学及精细化学品合成

可作为发用染料的补色剂[17~19]。

近年的研究表明，姜黄素具有高度共轭的 1,3-二酮型结构，该种结构的化合物及其类似物大多有抑制酪氨酸酶活性作用[20~24]，姜黄素及其类似物可用作酪氨酸酶抑制剂。

姜黄素具有众多的生物活性，但由于其结构不够稳定，生物利用率较低，未能广泛推广应用。为了获得结构稳定，生物利用率更高的姜黄素替代物，需要对姜黄素进行合理的结构改造或合成具有姜黄素结构特点的新型姜黄素类似物[25~29]。

本文选择 28 个具有酪氨酸酶抑制活性的姜黄素类似物建立可靠性较好的 3D-QSAR 模型，探讨化合物结构与活性的关系，基于此模型设计 6 个具有较高抑制酪氨酸酶活性的姜黄素类似物。根据设计所得的化合物选择合适的反应条件合成，并对合成产物进行分离提纯。以 L-多巴为底物，测试不同浓度的姜黄素类似物对酪氨酸酶的抑制率，并求得半数抑制浓度 IC_{50}，与 3D-QSAR 模型预测所得数据进行对比分析。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

主要仪器包括电子天平（型号 FA1104B 上海菁海仪器有限公司）；旋转蒸发仪（型号：RE-2000A 上海亚荣生化设备仪器）；真空干燥箱（型号：DZG-6050SA 上海森信实验仪器）；核磁共振仪（型号：Bruker A V ANCE 400 德国 Bruker 公司）；红外光谱仪（型号：P/N0030-102 德国 Bruker 公司）；元素分析仪（型号：EA3000 意大利利曼公司）。

用于建立模型的化合物来自本实验室前期合成的 28 个结构对称的姜黄素类似物；合成化合物所用试剂均为分析纯试剂。

1.2 模型数据

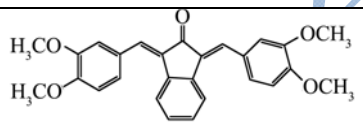
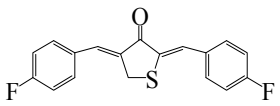
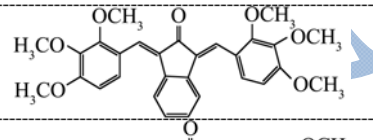
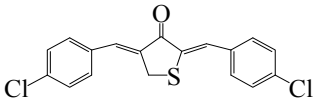
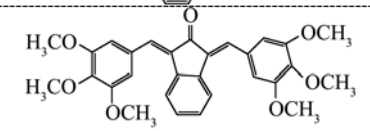
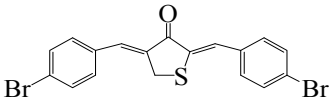
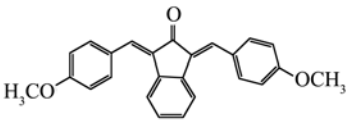
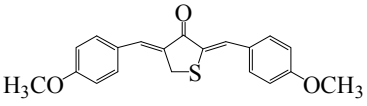
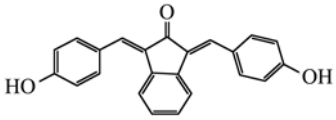
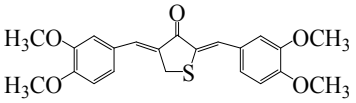
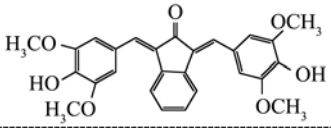
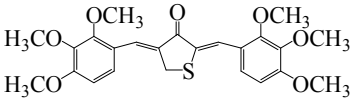
所选取的化合物来自本实验室前期合成的 28 个结构对称，且具有共同碳链骨架的姜黄素类似物，先对这些化合物进行抑制酪氨酸酶活性测试并得到活性数据即半数抑制浓度 IC_{50} 值。建立 3D-QASR 模型所使用的活性值要求最大值与最小值之差介于 1~2 之间为宜，故 IC_{50} 值不能直接用于进行 3D-QSAR 研究，这里选用 pIC_{50} 作为化合物的活性值：

$$pIC_{50}=-\lg(IC_{50}) \quad (1)$$

化合物的结构及活性值如表 1 所示。

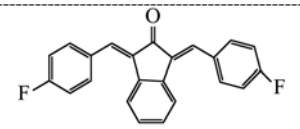
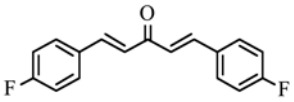
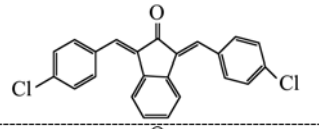
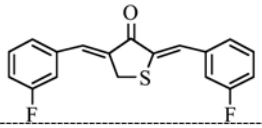
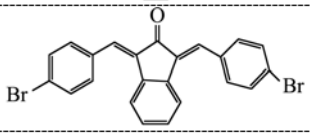
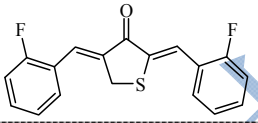
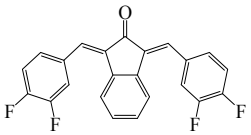
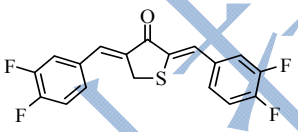
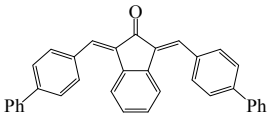
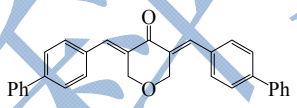
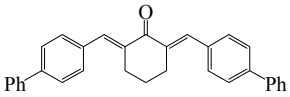
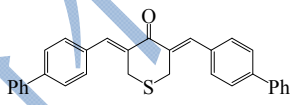
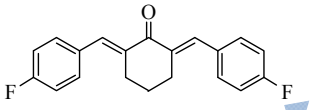
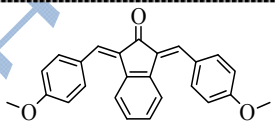
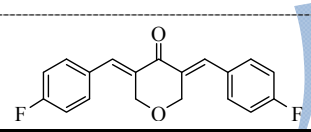
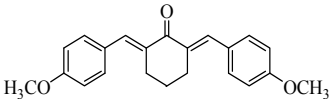
表 1 具有酪氨酸酶抑制活性的姜黄素类似物

Table 1 Curcumin analogues with tyrosinase inhibitory activity

化合物	化合物结构	pIC_{50}	化合物	化合物结构	pIC_{50}
D1		1.034	H1		0.406
D2		1.020	H2		0.566
D3		0.943	H3		0.558
D4		0.463	H4		1.317
D5		1.553	H5		0.607
D6		1.257	H6		0.612

转下页

接上页

D7		1.374	H7		-0.076
D8		0.621	H8		0.429
D9		0.585	H9		0.594
D10		0.859	H10		0.583
D11		1.283	H11		1.227
D12		0.537	H12		0.590
D13		0.943	H13		0.857
D14		1.407	H14		0.578

1.3 方法

1.3.1 3D-QSAR 模型的建立

表 2 力场计算方法及其特点

Table 2 Force field calculation methods and their characteristics

力场名称	小分子	大分子	蛋白质-配体复合物	金属蛋白酶
Tripos	2	2	2	2
Amber/Kollman	-	1	-	1
MMFF94/MMFF94s	2	2	1	1

注：1 表示该力场含有该类分子所有的参数，是针对该类分子的首选力场；2 表示该力场适用于该类分子但有时需要考查参数是否完整。

表 3 能量最小化计算方法及其特点

Table 3 Energy minimization calculation methods and their characteristics

方法	分子大小	相对速度	其他特点
Powell	大或小	最快	最有效
Conjugate gradient	小	慢	Powell 方法不适用时使用
Steepest descent	小且几何条件不良	速率大时快	步长大
BFGS	小且自由度低	最慢	步长小

本模型的建立选择化合物 D1、H1、H8 和 H12 作为测试集，其余化合物作为训练集。

首先使用 SYBYL 软件进行化合物分子的搭建，为所有的不饱和键上添加必要的氢原子，将分子命名并以 MOL2 的格式分别保存于测试集（test.mdb）和训练集（training.mdb）文件夹中。

力场是预测分子几何构象的一种重要方式，常用的力场计算方法有 Tripos、Amber/Kollman 和 MMFF94/MMFF94s 等，针对不同的分子结构需要选择不同的力场，如表 2 所示。在 SYBYL 中，提供了多种的优化方法以到达能量函数的局部极小，这些方法都是先进行现行搜寻的，它们的使用特点如表 3 所示。本文根据本模型的分子结构特点选择 Tripos 力场和 Powell 优化方法。

利用 Tripos 力场对分子进行能量最小化计算时需要设置合适的参数，首先导入需要优化的分子，选择 Tripos 力场并指定电荷类型为 Gasteiger Huckel 电荷，介电函数（Dielectric Function）为距离（Distance），介电常数（Dielectric constant）为 1.00；指定优化方法为 Powell，终止方式（Termination）为步进（Gradient），初始最优化类型（Initial Optimization）为单一（Simplex）。其它参数如表 4 所示。对所有分子采用同样参数进行能量最小化计算并再次保存。

表 4 能量最小化计算的参数设置

Table 4 Parameter settings of energy minimization calculation

参数类型	数值	参数类型	数值
NB Cutoff	8.00	最大迭代次数	1000
Max displacement	0.01	最小能量变量	0.05
Simplex threshold	1000.0	精确度	0.001
LS step size	0.001	状态更新	1
Graphics update	1	非键重置	10
RMS displacement	0.001	步长	0.005
Simplex iterations	20	导数重置	100
Checkpoint interval	0	阈值	-10

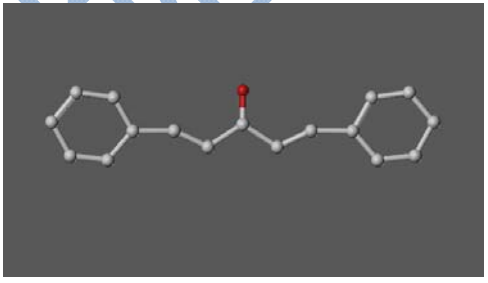


图 1 化合物骨架

Fig.1 Compound backbone

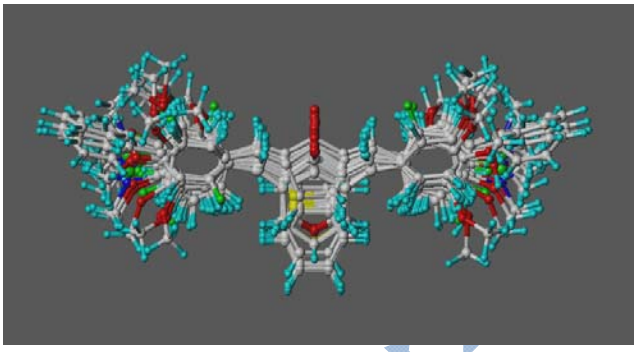


图 2 分子叠合效果图

Fig.2 Effect of molecular alignment

选择训练集中抑制酪氨酸酶活性最高的化合物 D5 作为模板分子，选出训练集化合物的共同骨架（图 1）对训练集中的分子进行叠合，叠合效果如图 2 所示，叠合后的分子保存到新的分子表单（命名为 training01）中。

1.3.2 用 CoMFA 建立 3D-QSAR 模型

为 training01 表单中的化合物导入活性数据，计算出 CoMFA 相关参数值，采用抽一法（leave one out）对训练集化合物进行交叉验证，调整最优组成分数，通过偏最小二乘（PLS）运算得到 3D-QSAR 模型，并保存为 training01.pls 文件。

1.3.3 预测活性计算

利用已经建立好的 3D-QSAR 模型对训练集和测试集的化合物进行生物活性的预测计算。在训练集分子表单 training01 中直接利用 training01.pls 模型文件可预测训练集化合物的生物活性。预测测试集化合物的活性时，首先将模板分子 D5 导入测试集，并以 D5 作为模板将测试集分子叠合并保存为 test01。然后打开 test01 分子表单利用 training01.pls 模型文件预测测试集的化合物的生物活性值。

1.3.4 3D-QSAR 模型的分析与检验

建立 3D-QSAR 模型的关键是化合物的叠合，每个化合物选取一种构象，每一个构象都是所对应分子的活性结构，叠合的效果将直接影响数据分析结果。该系列化合物具有相同碳链骨架，所有分子均采用 tripos 力场进行能量最小化计算以优化结构构象，分子叠合效果比较理想。

1.3.5 3D-QSAR 模型的统计学分析

表 5 3D-QSAR 模型的相关系数

Table 5 Correlation coefficient of 3D-QSAR model

化合物数量	q^2	R^2	F 值	标准差
14	0.609	0.997	77.070	0.095

模型的相关系数值如表 5 所示。交叉验证系数 q^2 为 0.609，最佳组成分数为 14。偏最小二乘回归分析得到模型相关系数 R^2 为 0.997，F 统计量的值为 77.070。交叉验证系数用于评价拟合方程的预测能力，q^2 越大预测能力越强（一般要求大于 0.5）；R^2 值越大所反映的两变量的共变量比率越高，模型与数据的拟合程度越好；查阅相关的 F 统计量临界值表可知 F 统计量远大于临界值 K，即回归分析效果显著。

1.3.6 3D-QSAR 模型的预测能力

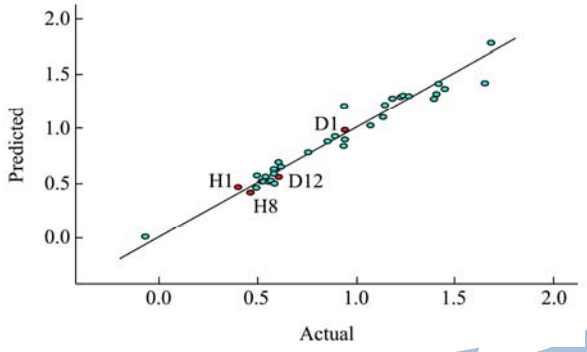


图 3 样本的实际 pIC_{50} 值与 3D-QSAR 模型预测值

Fig.3 Actual pIC_{50} values of samples and the values predicted by the 3D-QSAR model

判断一个 3D-QSAR 模型预测效果好坏最直观的方法是查看化合物活性的实际测试值与预测值的差值，图 3 为化合物样本的实际 pIC_{50} 值与 3D-QSAR 模型估计的拟合值的比较，由图可见实际值与拟合值十分接近，该 3D-QSAR 模型对 pIC_{50} 值所做的预测是比较准确的。实际值和预测值十分接近，表明了本文所建立的模型具有较显著的统计学意义。而作为外部验证的测试集中计算值和实验值也比较相近（图 3 中红色的点），显示该模型具有较强的预测能力，能用于指导姜黄素类似物的设计合成，提高姜黄素类似物抑制酪氨酸酶活性。

1.3.7 静电场和立体场三维等势图分析

3D-QSAR 模型不仅可以准确地预测化合物的活性，通过立体场及静电场的三维等势图可以直观地分析化合物分子各取代基团对活性的影响以及判断引入何种基团更有利于增强活性。如图 4 所示，红色区域代表增加负电性基团有利于增大活性，蓝色表示正电性基团有利；图 5 中，绿色表示增大基团会增加活性，黄色则表示不宜增大基团。

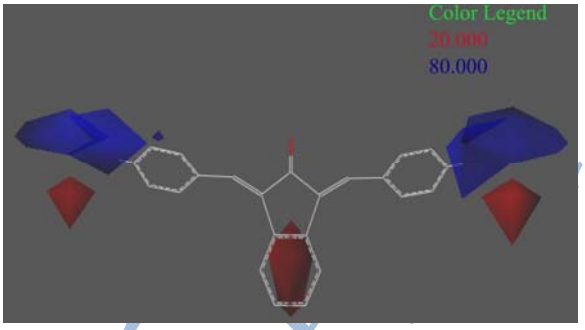


图 4 3D-QSAR 模型静电场的三维等势图

Fig.4 Three-dimensional potential map of the electrostatic field of the 3D-QSAR model

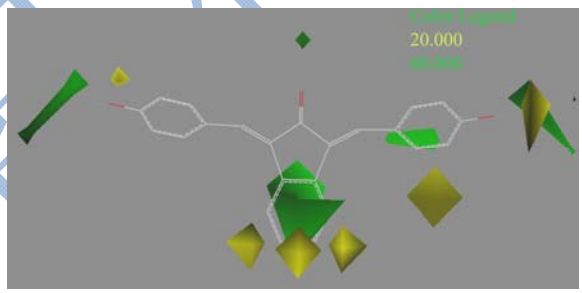


图 5 3D-QSAR 模型立体场的三维等势图

Fig.5 Three-dimensional potential map of the stereo field of the 3D-QSAR model

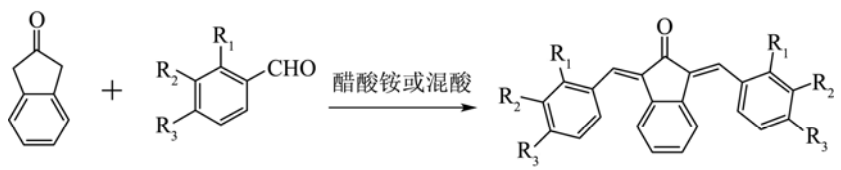
1.4 姜黄素类似物的设计与合成

1.4.1 化合物的结构设计

根据 3D-QSAR 模型的分析结果，设计了 6 个结构对称的姜黄素类似物，并用 3D-QSAR 模型预测这些化合物的抑制酪氨酸酶的活性，预测结果如表 6 所示。

根据 3D-QSAR 模型设计得到共 6 个化合物，可分为 2 个系列，其合成路线如下：

系列 1：



A1: R_1=F, R_3=R_3=H; A2: R_1=H, R_2=R_3=F

系列 2：

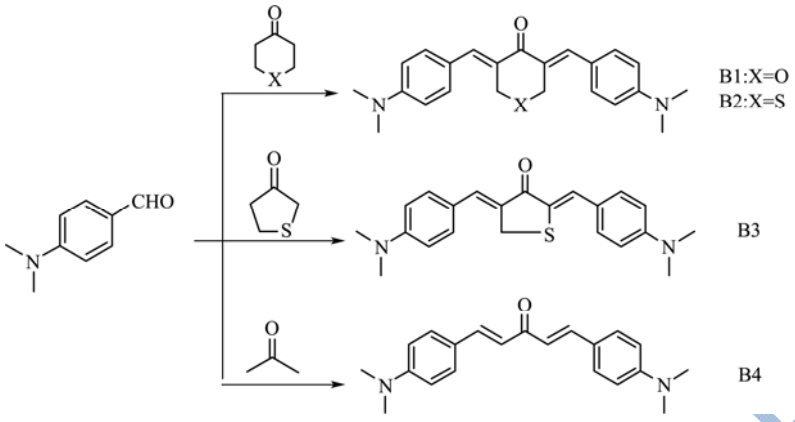
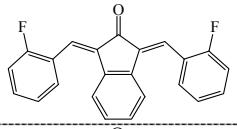
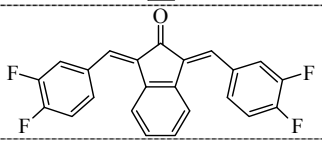
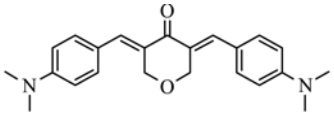
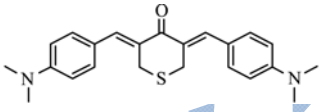
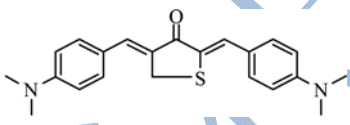
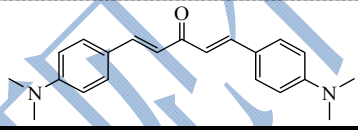


表 6 化合物结构及其酪氨酸酶抑制活性的预测值

Table 6 Structures of compounds and their predicted tyrosinase inhibitory activity values

名称	化合物结构	pIC_{50} 预测值
A1		1.447
A2		1.145
B1		1.684
B2		1.523
B3		1.423
B4		1.397

1.4.2 化合物的合成与表征

化合物 A1 和 A2 的合成：将相应的芳香醛（2-氟苯甲醛、3,4-二氟苯甲醛，0.003 mol）与 2-茚酮（0.001 mol）混合置于圆底烧瓶中，加入 8 mL 无水乙醇溶解，称取 0.05 g 乙酸铵作为催化剂加入到圆底烧瓶中，搅拌均匀。常温（30 ℃）静置反应 2~4 d，有固体析出，TLC 跟踪反应进度显示反应体系的 2-茚酮已经反应完全后，用冰乙醇抽滤洗涤，重结晶，抽滤洗涤，干燥，得到化合物 A1 和 A2。

化合物 B1、B2、B3 及 B4 的合成：将相应的四氢吡喃酮、四氢噻喃酮、噻吩酮、丙酮（0.001 mol）与对二甲氨基苯甲醛（0.002 mol）混合置于圆底烧瓶中，加入 8 mL 无水乙醇，以 30%的 NaOH 溶液作为催化剂逐滴滴加到圆底烧瓶中（1.5 mL），摇匀。常温（30 ℃）静置反应 1~2 周，其中，四氢吡喃酮、四氢噻喃酮、丙酮与对二甲氨基苯甲醛反应均有固体析出，TLC 跟踪反应进度显示反应体系已经反应完全后，有固体析出的产物用冰乙醇抽滤洗涤，重结晶，抽滤洗涤，干燥，得到化合物 B1、B2 和 B4。无固体析出的产物用乙酸乙酯萃取分离弃去水相，蒸除有机相中的溶剂，过硅胶柱（洗脱剂为乙酸乙酯与石油醚 1:4 的体积比混合所得），得到纯净的产品化合物 B3。

化合物 A1（1,3-二[2-氟苯亚甲基]-2-茚酮）的结构表征：产率 77%，棕黄色固体，熔程 mp 为 101.2 ℃~102.0 ℃。$C_{23}H_{14}F_2O$，元素分析（w/%，实测值/计算值）：C(80.22/79.20)，H(4.10/4.14)。^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm)：8.02 (s, 2H), 7.42 (m, 2H), 7.27 (m, 2H), 7.19(m, 2H), 7.17(m, 2H), 7.16(m, 2H),7.07 (m, 2H)。

化合物 A2（1,3-二[3,4-二氟苯亚甲基]-2-茚酮）的结构表征：产率 87%，黄绿色固体，mp 为 140.7 ℃~141.3 ℃。$C_{23}H_{12}F_4O$，元素分析（w/%，实测值/计算值）：C (72.40/72.63), H (3.11/3.18)。^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm)：7.75 (s, 2H), 7.52 (m, 2H), 7.33 (m, 2H), 7.19(m, 2H), 7.17(m, 2H), 7.12 (m, 2H)。

化合物 B1（3,5-二[4-(二甲氨基)苯亚甲基]-四氢吡喃-4-酮）的结构表征：产率 76%，橙黄色固体，mp 为 255.3 ℃~256.0 ℃。$C_{23}H_{26}N_2O_2$，元素分析（w/%，实测值/计算值）：C (76.02/76.21), H (7.18/7.23)。^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm)：7.74 (m, 4H), 7.71 (s, 2H), 6.94 (m, 4H), 4.29(s, 4H), 3.05(s, 12H)。

化合物 B2（3,5-二[4-(二甲氨基)苯亚甲基]-四氢噻喃-4-酮）的结构表征：产率 74%，橙黄色固体，mp 为 190.7 ℃~191.5 ℃。$C_{23}H_{26}N_2OS$，元素分析（w/%，

实测值/计算值）：C (72.16/72.98), H (6.88/6.92)。^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm)：7.73 (m, 4H), 7.62 (s, 2H), 6.94 (m, 4H), 3.44(s, 4H), 3.05(s, 12H)。

化合物 B3（2,4-二[4-(二甲氨基)苯亚甲基]-四氢噻吩-3-酮）的结构表征：产率 79%，棕红色固体，mp 为 203.7 ℃~204.3 ℃。$C_{22}H_{24}N_2OS$，元素分析（w/%，实测值/计算值）：C (72.17/72.49), H (6.43/6.64)。^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm)：7.84 (s, 1H), 7.76(m, 2H), 7.61(m, 2H), 7.42(s, 1H), 6.99(m, 2H), 6.94 (m, 2H), 4.01(s, 2H), 3.05(s, 12H)。

化合物 B4（1,5-二[4-(二甲氨基)苯亚甲基]-1,4-戊二烯-3-酮）的结构表征：产率 63%，棕黄色固体，mp 为 155.2 ℃~156.1 ℃。$C_{21}H_{24}N_2O$，元素分析（w/%，实测值/计算值）：C (78.40/78.71), H (7.48/7.55)。^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm)：7.93 (d, 2H, J = 6 Hz), 7.71 (m, 4H), 6.96 (d, 2H, J = 9 Hz), 6.94(m, 4H), 3.05(s, 12H)。

1.4.3 姜黄素类似物抑制酪氨酸酶活性的测试

实验是以紫外分光光度法（以物质对光的选择性吸收来进行分析）来测量样品对酪氨酸酶的抑制作用及酪氨酸酶的活性。本实验利用紫外区将酪氨酸酶和多巴在酶催化下形成氧化产物多巴色素，多巴色素在 475 nm 处有最大吸收，吸光系数 ε=3700 (cm·mol/L) 来进行的。

（1）取一烧杯及 500 mL 容量瓶，洗净后吹干，再用分析天平分别称取磷酸二氢钠和磷酸氢二钠，实验要求的磷酸盐缓冲溶液为 500 mL pH 值为 6.8 的溶液，其浓度为 0.0160 mol/L。

（2）用分析天平精密称量样品，0.0020 g，放于 2.5 mL 的离心管中，用移液枪移取 1 mL 的 DMSO（二甲基亚砜）放入离心管中，充分溶解样品。

（3）酪氨酸酶的提取，将洗净后的新鲜马铃薯于 4 ℃冷藏 4 h，切成丁状于-4 ℃冷藏过夜，取 50 g 置于组织捣碎机，加入 50 mL 磷酸盐缓冲溶液，打碎，用四层医用纱布过滤，取上清液，置于离心管，设置转速为 4000 r/min，离心 10 min。取上清液即为酪氨酸酶溶液，需现配现用。

（4）称取 0.2270 g 多巴，加入精馏水 50 mL，配成浓度为 4.55 mg/mL 的溶液。

（5）分别取 40 μL 至 200 μL 不等的样品溶液，480 μL 底物，70 μL 酶溶液，用缓冲液将体系补充到 2000 μL，以不加酶只加抑制剂和底物为空白，室温下测定反应 1 min 内在波长 475 nm 紫外光照射下吸光度随时间的变化曲线，得斜率 q_i。并将斜率 q_i 与 q_0 度相比得以百分比，即为酪氨酸酶剩余酶活力。

2 结果与讨论

表 7 姜黄素类似物对酪氨酸酶的抑制活性

Table 7 Tyrosinase inhibitory activity of curcumin analogues

化合物	实验值 IC_{50}/(μmol/L)	预测值 IC_{50}/(μmol/L)
A1	35.03	35.72
A2	70.77	71.61
B1	21.38	20.70
B2	29.48	30.00
B3	35.37	37.76
B4	39.13	40.12
姜黄素	87.35	-
曲酸	34.68	-

姜黄素类似物对酪氨酸酶的抑制率及相应的浓度如表 7 所示。实验过程中对每个姜黄素类似物首先抽取 40 μL 的样品溶液测试其抑制率，根据该抑制率的大小相应的调整样品溶液的用量。表中给出的实验值 IC_{50} 是根据实验中姜黄素类似物的用量及相应的抑制率通过曲线拟合得到函数计算而得，其中化合物 A1 的曲线拟合如图 6 所示，预测值 IC_{50} 是由 SYBYL 软件预测得到的 pIC_{50} 通过式（1）计算所得。

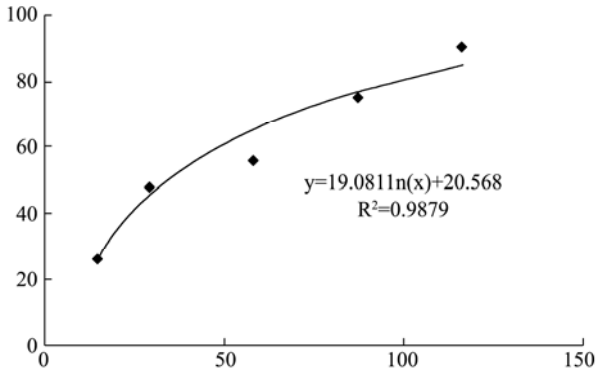


图 6 化合物 A1 的终浓度抑制率回归曲线

Fig.6 Regression curve of the final concentration inhibitory rate of compound A1

从表 7 可以看出，实验值 IC_{50} 与预测值比较接近，其中，化合物 A1、A2、B2、B3 和 B4 的预测值比实验值稍大，化合物 B1 的预测值比试验值小，这些误差的出现一方面是试验过程中人为或系统误差造成，另一方面是由于 3D-QSAR 模型不够完善导致预测出现偏差造成。但总体上看，预测值与实验值相差不大，并且，活性大小的顺序一致（B1>B2>A1>B3>B4>A2），说明 3D-QSAR 模型所考虑的化合物的立体场、静电场等参数对化合物的抑制酪氨酸酶活性具有显著地影响，该模型可靠性较好。从分子结构上

看，化合物 B1 的结构特征更符合 3D-QSAR 模型的要求，如图 7 所示，分子的蓝色区域表示负电荷密度高，红色区域代表正电荷密度高，由图可知，分子中间区域负电荷密度高，分子两端苯环之外正电荷密度高，对比 3D-QSAR 模型的三维等电势图（图 7）发现，分子中间区域引入负电性基团有利于增强活性，在分子两端引入正电性基团有利于增强活性，故该化合物的抑制酪氨酸酶活性较高。

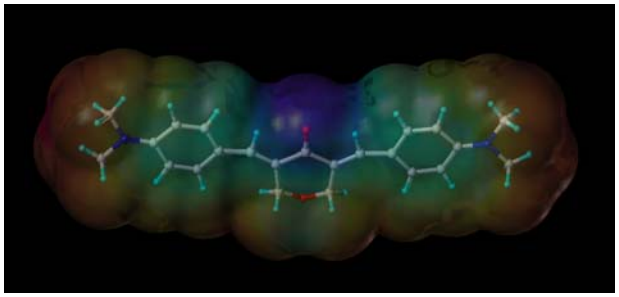


图 7 化合物 B1 的分子表面电势图

Fig.7 Molecular surface potential map of compound B1

3 结论

3.1 本文以姜黄素为先导化合物，利用前期合成的姜黄素类似物测得其酪氨酸酶抑制活性以及抗氧化活性，根据 3D-QSAR 模型特点和要求选择结构对称的 28 个姜黄素类似物及其酪氨酸酶抑制活性，利用 Tripos 公司的 SYBYL 软件建立 3D-QSAR 模型，并对该模型的预测能力进行了分析，然后基于 3D-QSAR 模型设计了 6 个结构对称的姜黄素类似物。

3.2 本文对设计出来的化合物进行合成及结构表征分析，经 SCI Finder 检索，化合物 A2(1,3-二[3,4-二氟苯亚甲基]-2-茚酮)、B3(2,4-二[4-(二甲氨基)苯亚甲基]-四氢噻吩-3-酮)为未见合成报道的全新化合物。对合成出来的化合物进行了相应的活性测试，印证了 3D-QSAR 模型预测结果的准确性。并且所合成的姜黄素类似物均具有较好的生物活性，无需通过大量化合物的合成，达到了合理的药物设计效果，节省了大量时间与成本。

3.3 目前，计算机辅助药物设计已成为药物开发的主流，3D-QSAR 方法的应用也越来越广泛，为科研人员带来了极大的方便。然而，药物分子的活性除了跟自身结构有关外还跟受体周围环境有关，目前计算机辅助药物设计仍然存在许多不足之处。它没有考虑受体蛋白所处的环境，如酸碱性和脂水分配等。另外，计算机辅助设计有时会得到一些无意义的原子的集合，虽然能与受体很好的结合，在模型中具有很好的活性，而实际上缺乏合理性和实用性。如果设计出来的化合物分子量过大（>500）、水溶性太小或结构中氢键供体和氢键受体总数大于 10，这样的化合物就不具有类药性，是没有实际意义的。建立 3D-QSAR 模型所需的参数包括立体场参数、静电参数、疏水场参数等，这些参数并不是孤立的，庞大的数据计算对计算机技术的要求很高。因此，计算机辅助药物设计的算法需要进一步的优化，需要对环境进行模拟计算。

3.4 另一方面，要建立一个可靠性更好，适用范围更广的 3D-QSAR 模型或数学统计模型，需要更多化合物及其活性数据。尽管目前已有大量的姜黄素类似物、衍生物及其生物活性，但这些数据往往来自不同的课题组，不同的研究人员，来自不同实验环境条件的数据值往往有一定的偏差，故这些数据不能共用于建立共享模型。因此，化合物的活性测试若能建立一个统一的标准，来自不同实验室的数据将能实现共享，可为建立模型提供大量的数据，大大加速高活性化合物的筛选进程。

参考文献

[1] Brunet P C J. The metabolism of the aromatic amino acids concerned in the cross: linking of insect cuticle [J]. Insect Biochem.,1980, 10(5): 467-500

[2] 陈清西,林建峰,宋康康.酪氨酸酶抑制剂的研究进展[J].厦门大学学报,自然科学版,2007,46(2):274-283
CHEN Qing-xi, LIN Jian-feng, SONG Kang-kang. Development of tyrosinase inhibitors [J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2007, 46(2): 274-283

[3] Tsukamoto T, Ichimaru Y, Kancgac N, et al. Identification and isolation of endogenous insect phenoloxidase inhibitors [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1992, 184(1): 86-92

[4] 李韶勇,孙命,曲娜,等.黑色素的合成及其常见抑制剂的作用机理[J].天津师范大学学报,自然科学版,2002,22(1):17-22
LI Shao-yong, SUN Ming, QU Na, et al. The synthesis of melanin and the mechanism of its common inhibitors [J]. Journal of Tianjin Normal University (Natural Science Edition), 2002, 22(1): 17-22

[5] YANG Y S, SU Y F, YANG H W, et al. Lipid-lowering effects of curcumin in patients with metabolic syndrome: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. Phytotherapy Research, 2014, 28(12): 1770-1777

[6] Northcott J M, Yeganeh A, Taylor C G, et al. Adipokines and the cardiovascular system: mechanisms mediating healthand disease [J]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 2012, 90(8): 1029-1059

[7] Yakub G, Toncheva A, Manolova N, et al. Curcumin-loaded poly (l-lactide-co-D, l-lactide) electrospun fibers: Preparation and antioxidant, anticoagulant, and antibacterial properties [J]. Journal of Bioactive and Compatible Polymers: Biomedical Applications, 2014, 32(14): 423-429

[8] Datta R, Hakder S K, Zhang B. Role of TGF-β signaling in curcumin-mediated inhibition of tumorigenicity of human lung cancer cells [J]. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 2013, 139(4): 563-572

[9] 韦星船,曹敏峰,段彦飞,等.联苯基姜黄素类似物的合成及其抗氧化活性研究[J].中国新药杂志,2014,23(23): 2777-2780
WEI Xing-chuan, CAO Min-feng, DUAN Yan-fei, et al. Synthesis and antioxidant activity of biphenyl curcumin analogues [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2014, 23(23): 2777-2780

[10] Deodhar S D, Sethi R, Srimal R C. Preliminary study on antirheumatic activity of curcumin (diferuloyl methane) [J]. The Indian Journal of Medical Research, 2013, 138(1): 170

[11] Varaprasad K, Mohan Y M, Vimala K, et al. Synthesis and characterization of hydrogel-silver nanoparticle-curcumin composites for wound dressing and antibacterial application [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2011, 121(2): 784-796

[12] Gandapu U, Chaitanya R K, Kishore G, et al. Curcumin-loaded apotransferrin nanoparticles provide efficient cellular uptake and effectively inhibit HIV-1 replication in vitro [J]. Plos One, 2011, 6(8): 1-6

[13] Shehzad A, Ha T, Subhan F, et al. New mechanisms and the anti-inflammatory role of curcumin in obesity and obesity-related metabolic diseases [J]. European Journal of Nutrition, 2011, 50(3): 151-161

[14] Hanif R, Qiao L, Shiff S J, et al. Curcumin, a natural plant phenolic food additive, inhibits cell proliferation and induces cell cycle changes in colon adenocarcinoma cell lines by a prostaglandin-independent pathway [J]. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 1997, 130(6): 576-584

[15] Srivastava K C, Bordia A, Verma S K. Curcumin, a major component of food spice turmeric (*Curcuma longa*) inhibits aggregation and alters eicosanoid metabolism in human blood platelets [J]. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 1995, 52(4): 223-227

[16] Pothitirat W, Gritsanapan W. Quantitative analysis of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin in the crude curcuminoid extract from *Curcuma longa* in Thailand by TLC-densitometry [J]. Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences, 2005, 32(1-2): 23-30

[17] Brewer T L, Arnold J W, Punyakumleard S. Applying the coating of polyimide film containing curcumin dye to the substrate, patterning by photolithography: U.S. Patent 5,674,648 [P]. 1997-10-07

[18] Canamares M V, Carcia-Ramos J V, Sanchez-Cortes S. Degradation of curcumin dye in aqueous solution and on ag nanoparticles studied by ultraviolet-visible absorption and surface-enhanced raman spectroscopy [J]. Applied Spectroscopy, 2006, 60(12): 1386-1391

[19] Martin R L, Raiaratnam M M, Turci P. Photoactive esterification product of a diazooxide compound and a curcumin dye and photoresist materials with product: U.S. Patent 4,818,658 [P]. 1989-04-04

[20] 韦星船,叶海碧,霍梦月,等.吡啶基姜黄素类似物对酪氨酸酶的抑制活性[J]. 食品科技,2013,38(5):266-269
WEI Xing-chuan, YE Hai-bi, HUO Meng-yue, et al. Tyrosinase inhibitory activity of pyridyl asymmetrical curcumin analogs [J]. Food Science and Technology, 2013, 38(5): 266-269

[21] Patil S, Srinivas S, Jadhay J. Evaluation of crocin and curcumin affinity on mushroom tyrosinase using surface plasmon resonance [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 65(10): 163-166

[22] 韦星船,缪绸雨,段彦飞,等.2-茚酮基姜黄素类似物对酪氨酸酶的抑制作用[J].食品科学,2013,34(15):66-68
WEI Xing-chuan, MIAO Chou-yu, DUAN Yan-fei, et al. Synthesis and tyrosinase inhibitory activity of 2-indanone-baed curcumin analogs [J]. Food Science, 2013, 34(15): 66-68

[23] 韦星船,霍梦月,郑成,等.含氮姜黄素类似物的合成及其酪氨酸酶抑制效应[J].化工进展, 2014,33(8):2155-2159
WEI Xing-chuan, HUO Meng-yue, ZHENG Cheng, et al. Synthesis and tyrosinase inhibitory effect of curcumin analogues containing nitrogen [J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2014, 33(8): 2155-2159

[24] Bukhari S N A, Jantanj I, Unsaltan O, et al. Biological activity and molecular docking studies of curcumin-related α, β-unsaturated carbonyl-based synthetic compounds as anticancer agents and mushroom tyrosinase inhibitors [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(24): 5538-5547

[25] Bao B, Ali S, Banerjee S, et al. Curcumin analogue CDF inhibits pancreatic tumor growth by switching on suppressor

micro RNAs and attenuating EZH2 expression [J]. Cancer Research, 2012, 72(1): 335-345

[26] Qiu X, Liu Z, Shao W Y, et al. Synthesis and evaluation of curcumin analogues as potential thioredoxin reductase inhibitors [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2008, 16(17): 8035-8041

[27] Liu H, Liu Y Z, Zhang F, et al. Identification of potential pathways involved in the induction of cell cycle arrest and apoptosis by a new 4-arylidene curcumin analogue T63 in lung cancer cells: a comparative proteomic analysis [J]. Molecular Biosystems., 2014, 10(6): 1320-1331

[28] Pan Y, Wang M, Bu X, et al. Curcumin analogue T83 exhibits potent antitumor activity and induces radiosensitivity through inactivation of Jab1 in nasopharyngeal carcinoma [J]. BMC Cancer, 2013, 13(1): 323-329

[29] Lee H E, Choi E S, Jung J Y, et al. Inhibition of specificity protein 1 by dibenzylideneacetone, a curcumin analogue, induces apoptosis in mucoepidermoid carcinomas and tumor xenografts through Bim and truncated Bid [J]. Oral Oncology, 2014, 50(3): 189-195

现代食品科技