

天然黄酮类化合物及其衍生物的构效关系研究进展

钟建青¹, 李 波², 贾 琦¹, 李医明¹, 朱维良^{2*}, 陈凯先^{1,2*}

(1. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 2. 中国科学院上海药物研究所药物发现与设计中心, 上海 201203)

摘要: 天然黄酮类化合物是广泛分布于自然界的一大类化合物, 已有文献报道其具有抗癌、抗氧化、抗炎、保肝、抗血栓形成、舒张血管、抗病毒、抗菌和抗过敏等多种药理活性。但该类化合物因溶解度差、生物利用度不高等自身缺点而限制了临床上的广泛应用。目前国内外许多课题组选择以天然黄酮为研究对象, 通过结构改造研究其针对不同生理活性的构效关系, 力求克服其自身缺点, 开发出一批具有新颖结构的黄酮类药物的先导化合物。本文总结分析了近几年该类化合物构效关系的研究进展, 期望为黄酮类衍生物的设计合成提供参考。

关键词: 黄酮类化合物; 衍生物; 构效关系

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 06-0622-09

Advances in the structure-activity relationship study of natural flavonoids and its derivatives

ZHONG Jian-qing¹, LI Bo², JIA Qi¹, LI Yi-ming¹, ZHU Wei-liang^{2*}, CHEN Kai-xian^{1,2*}

(1. College of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Drug Design and Discovery Center, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract: Flavonoids are a large class of compounds widely distributed in nature. Many pharmacological activities of flavonoids have been reported such as anti-cancer, antioxidant, anti-inflammatory, hepatoprotective, antithrombotic, vasodilator, antiviral, antibacterial, antiallergic, and so on. In recent years, domestic and foreign research groups choose natural flavonoids and optimize their chemical structures in order to develop a number of new derivatives with stronger pharmacological activities. As part of the mechanisms are not clear, we need to strengthen in-depth research in the SAR (structure-activity relationship) study for targeted and efficient structure optimization. This paper systematically summarize current researches in the SAR studies of flavonoids and their derivatives, which can serve as a reference for synthesizing new flavonoid derivatives.

Key words: flavonoids; derivatives; structure-activity relationship

黄酮类化合物 (flavonoids, 图 1) 是一类多酚类抗氧化剂, 是葛根、补骨脂、黄芩、银杏、沙棘、槐米等临床常用中药材的主要活性成分。该类化合物不仅数量众多, 而且结构复杂, 具有许多重要的生理活性, 如抗氧化、抗癌、抗炎、抗菌、抗病毒、抗过敏、抗糖尿病并发症等, 特别是异黄酮类化合物作为天然雌激素, 在治疗妇女更年期综合征方面已经得到

了较好的应用^[1]。

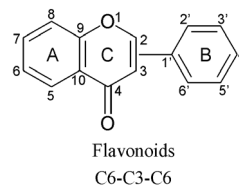


图 1 黄酮类化合物基本骨架结构

天然黄酮类化合物虽然生理活性丰富并且广泛存在于自然界 (图 2), 但因其溶解性差、生物利用度不高等缺点而限制了它们的临床应用^[2, 3]。因此对自

收稿日期: 2010-11-05.

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项资助项目 (2009ZX09311).

*通讯作者 Tel: 86-21-50806600-1205,

E-mail: wlzhu@mail.shcnsc.ac.cn

自然界含量较高的天然黄酮进行半合成的结构修饰,使之达到成药要求,是合理开发利用该类化合物的一条重要途径,并且该方法具有原料来源丰富、化学合成步骤少、生产成本相对较低等优势。因此,国内外许多课题组都选择以天然黄酮为研究对象,通过结构改造和优化研究其针对不同生理活性的构效关系,以求开发出一批具有新颖结构的黄酮类药物的先导化合物。

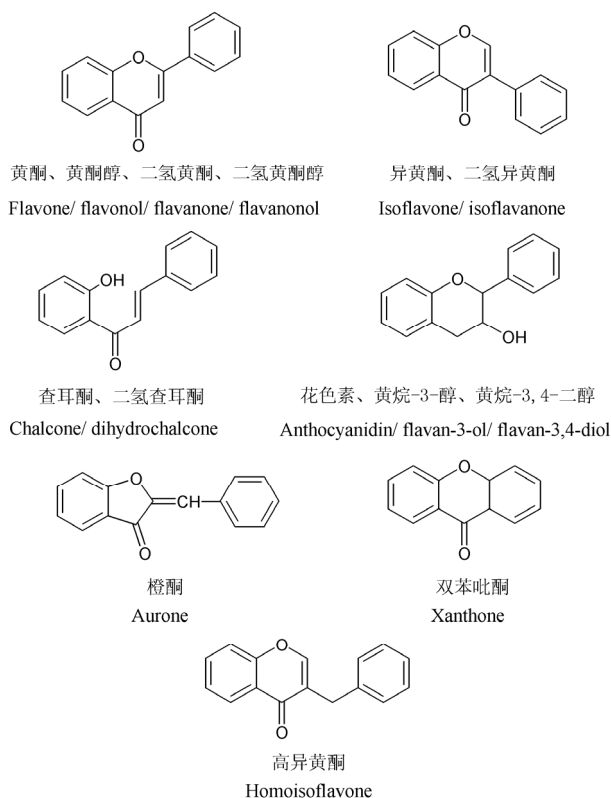


图2 黄酮类化合物7种主要结构母核

据文献报道,目前黄酮类化合物的结构修饰主要集中在C环2、3位,A环5、6、7、8位,B环2'、3'、4'位,各种不同类型的取代基如卤素、烷(氧)基、芳基、吡啶基、氨基、羧基、磺酸基、磷酸基等及其他各种官能团均被引入,以此来丰富其种类和改善其化学性质。本文依据不同的药理活性分类,如抗肿瘤(anticarcinogenic)、抗氧化(antioxidant)、抗炎症(anti-inflammatory)、抗血栓形成(antithrombotic)、舒张血管(vasodilating)、抗病毒(antiviral)、抗菌(antiseptis)等,总结分析近几年黄酮类化合物构效关系的研究进展,期望为黄酮类衍生物的设计合成提供参考。

1 抗肿瘤(anticarcinogenic)

黄酮类化合物抗肿瘤活性最为引人注目。国内外

文献报道也较多,涉及肿瘤细胞的生长、凋亡等各个过程,与许多肿瘤细胞相关信号分子有关。

Plochmann等^[4]测定了23种不同的黄酮类化合物在人白血病细胞系Jurkat E6-1的细胞毒性。实验推测出以下结论:①C环4位羰基和2位、3位间的双键是诱导肿瘤细胞毒性的活性结构;②A环上各位点的甲氧基取代或者葡萄糖苷酸化可使所测化合物的肿瘤细胞毒性显著提高。该实验所测23种黄酮类化合物中,黄腐酚(xanthohumol)(图3)的肿瘤细胞毒性最强,其在A环6位上接有异戊二烯取代基,该取代基提高了化合物的亲脂性,使其更易跨过生物膜,从而具有更高的细胞毒性。

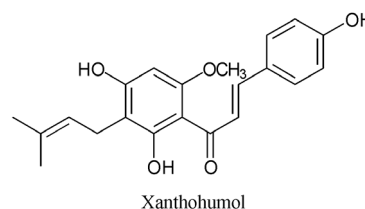


图3 肿瘤细胞毒性最强的化合物黄腐酚

Cárdenas等^[5]测定了8种天然黄酮类化合物、桂皮酸及其3个衍生物和20个人工合成的黄酮类化合物对人HeLa、KB、MCF-7、SKMEL-28和鼠F3II、LM3、LP07、B16-F0细胞的体外抗增殖活性,发现咖啡酸丁酯(caffeic acid butyl ester)、咖啡酸乙酯(caffeic acid ethyl ester)、2'-硝基黄酮(2'-nitroflavone)、2',6-二硝基黄酮(2',6-dinitroflavone)、芹菜黄素(apigenin)(图4)具有较强的抗肿瘤细胞增殖活性,并且这一系列黄酮类化合物均具有选择性作用在肿瘤细胞上的特点,对于正常细胞株不表现抗增殖活性。进一步分析这一系列化合物的构效关系发现:①对于天然黄酮类化合物,B环4'位羟基是活性必需基团,A环5位和7位甲氧基取代会降低其活性;②对于人工合成的黄酮类化合物,A环6位的Cl或Br原子取代的化合物具有中等强度活性,在此基础上B环2'位引入F原子可以使其活性增强并且改变其不同细胞系间的选择性;③B环2'位的硝基取代可以大大提高活性,其次为4'位硝基取代。

López-Posadas等^[6]采用休眠的和伴刀豆球蛋白A(concanavalin A)激活的鼠脾细胞作为模型,研究了9种不同结构的黄酮类化合物和5种多酚类黄酮化合物对白细胞的生存、增殖以及对环氧化酶2(cyclooxygenase II)、诱生型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、促炎细胞因子(TNF- α ,

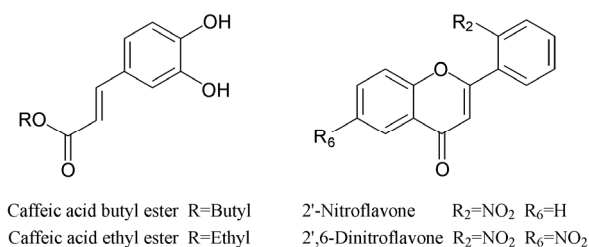


图4 抗肿瘤细胞增殖活性较强的化合物

IFN- γ , IL-2) 表达的影响。结果显示所测黄酮类化合物都具有较强的抗白细胞增殖作用, 实验测得槲皮素 (quercetin)、木犀草素 (luteolin) 和芹菜素 (apigenin) (图5) 能显著抑制细胞因子分泌。通过对黄酮类化合物的构效关系分析发现: ① C 环 2, 3 位间双键、B 环 3', 4' 位、C 环 3 位和 A 环 5 位的羟基可以增强活性; ② B 环取代位置变化 (2 或 3 位) 对活性影响不大; ③ C 环 3 位糖基化使活性几乎完全丧失。

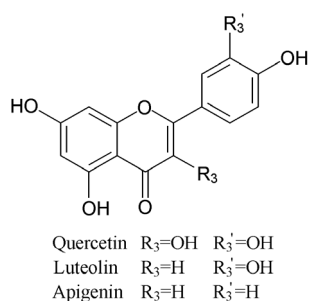


图5 抑制细胞因子分泌活性较强的化合物

生理核苷和许多核苷类药物是亲水性分子, 需要依靠特异性的跨膜蛋白即核苷转运子 (nucleoside transporter, NT) 完成其跨膜转运。NT 具有调节机体内信号核苷局部浓度的重要功能, 此外其对于核苷类药物吸收也起着关键作用。NT 包括两个主要家族: ENT (equilibrative nucleoside transporters) 家族和 CNT (concentrative nucleoside transporters) 家族。其中 CNT 家族的 hCNTs (human concentrative nucleoside transporters) 在慢性淋巴细胞白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL) 细胞中病理性的过度表达多发生于癌症患者体内并且影响抗代谢物质的化学疗法, 目前仍然没有针对 hCNTs 的非核苷类特异性抑制剂上市。Wang 等^[7]建立了稳定表达人 hCNT1、hCNT2 和 hCNT3 的 PK15NTD (nucleoside transporter deficient) 细胞模型并测定了 100 个苯并吡喃酮衍生物对人 hCNTs 的抑制作用。该实验发现: ① 黄酮类化合物是高效的 hCNT2 和 hCNT3 抑制剂, 其中 6-羟基-7-甲氧基黄酮活性最强 ($IC_{50} 0.57 \pm 0.20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),

其可以选择性抑制 hCNT3, 抑制活性是 CNT 标准抑制剂根皮苷 (phloridzin, $IC_{50} 25 \pm 3.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 40 多倍; ② 查耳酮类化合物可以中等强度选择性抑制 hCNT3。通过三维定量构效关系研究方法 (3D-QSAR) 分析推出: ① 黄酮和异黄酮类化合物苯并吡喃酮母核 A 环 7、8 位的羟基是抑制 hCNTs 的活性基团; ② 静电作用、疏水性、氢键供体性质对黄酮类化合物与 hCNTs 间的相互作用影响较大; ③ 3D-QSAR 研究结果表明在黄酮和核苷这两类化合物与受体 hCNT 结合位点处氢键相互作用具有相似性, 提示今后黄酮类化合物可作为最有潜力的非核苷类 CNT 选择性抑制剂深入研究。

乳腺癌耐药蛋白 (breast cancer resistance protein, BCRP) 是新近发现的一种肿瘤耐药相关蛋白。Zhang 等^[8]研究了 5 个系列的 25 种黄酮化合物与 BCRP 相互作用的构效关系并建立了定量构效关系方程, 结果发现 C 环上的 2, 3 位双键、B 环连接在 2 位、5 位羟基、3 位无羟基以及在 6, 7, 8 位或 4' 位引入疏水取代基都能促进黄酮化合物与 BCRP 的相互作用。

PIM-1 蛋白是 *pim-1* 肿瘤基因的产物, 属于丝氨酸/苏氨酸激酶。PIM-1 蛋白失调与人恶性肿瘤淋巴瘤、白血球过多症、前列腺癌等发病过程密切相关。Holder 等^[9]用 15 种黄酮化合物作为 PIM-1 蛋白抑制剂, 采用 3D-QSAR 研究方法建立了一个比较分子场分析 (CoMFA) 模型, 预测黄酮类化合物与 PIM-1 蛋白结合时的立体和静电化学性质。实验结果表明: ① 由于 PIM-1 蛋白结合位点处存在空间阻碍作用, 平面型分子更容易与 PIM-1 蛋白结合; ② A 环 8 位正电性取代基和 B 环 4' 位负电性取代基可以促进黄酮化合物与 PIM-1 蛋白活性位点的结合。

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 与肿瘤细胞血管生成有关。Anso 等^[10]研究了 20 种黄酮类化合物在 NCI-H157 细胞上对于组织缺氧诱导的 VEGF 生成的影响。结果发现在较低的低微摩尔级浓度下, 芹菜黄素、木犀草素、漆树黄酮 (fisetin) (图6) 和槲皮素即可以抑制组织缺氧诱导的 VEGF 表达。构效关系研究表明: ① A 环 5、7 位和 B 环 4' 位羟基是活性必需基团; ② B 环 3' 位羟基取代不能抑制 VEGF 表达, 但能增加肿瘤细胞毒性; ③ 黄酮与黄酮醇较黄烷酮活性高出很多, 这说明 C 环 2, 3 位间的双键对于活性非常重要。

醛酮变位酶 I (glyoxalase I, GLO I) 是甲基乙二醛 (methylglyoxal, MG) 解毒作用的限速酶, 作为糖酵解的副产物可以诱导细胞凋亡。该酶通常在大多数

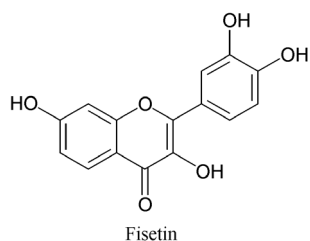


图6 抑制 VEGF 表达的活性化合物

的肿瘤细胞里高表达,但在正常细胞中含量较低。针对 GLO I 这一特点,可将 GLO I 特异性抑制剂设计成有效的抗癌药物。Takasawa 等^[11]测定了一系列同时具有顺式 4 位羰基和 5 位羟基的平面型分子构型的天然黄酮类化合物(这一特殊结构与 GLO I 作用底物 MG/GSH (methylglyoxal/glutathione) 的过渡态具有结构相似性)(图 7) 对 hGLO I (人醛酮变位酶 I) 的抑制活性,构效关系研究表明:① B 环上的羟基取代可以增强活性;② C 环 3 位、A 环 7 位糖基取代降低活性;③ A 环 6 位羟基取代较甲氧基等其他基团取代活性更高;④ C 环 2,3 位间的双键对活性贡献不大。研究者还得出结论:黄酮类化合物较已知的 hGLO I 有效抑制剂 BBG (*S-p*-bromobenzylglutathione) 体外抑制活性更高,但是对于 HL-60 白血病细胞抗增殖活性却弱于 BBG,这是由于该系列黄酮类天然产物的生物膜透过率较低,非平面型分子的溶解度优于平面型分子,但平面型分子更加有利于与 GLO I 结合位点结合,这一矛盾使得 hGLO I 药物抑制剂设计产生了一定的难度。

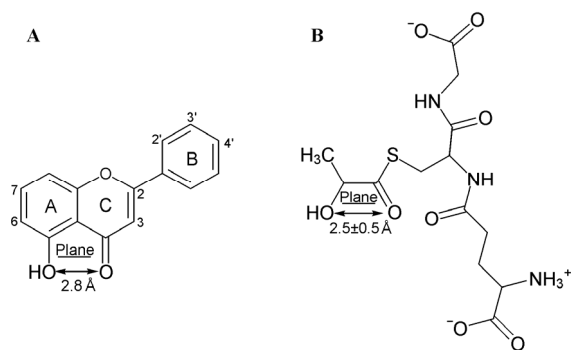
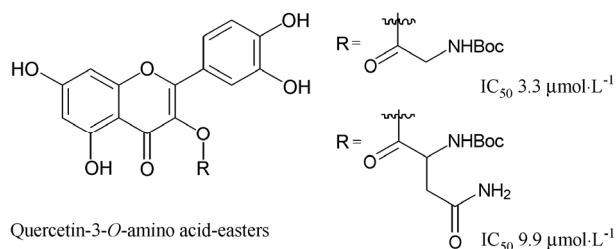


图7 A: 黄酮类化合物 4 位羰基和 5 位羟基的平面构型; B: MG/GSH 的过渡态

Src 是一个抗癌药物热门靶标,属于非受体酪氨酸激酶,参与癌症早期上游信号转导,可在乳房、肺、胃、结肠、食管、皮肤等几种人肿瘤中被激活。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR) 属于蛋白酪氨酸激酶家族 (protein tyrosine kinases,

PTKs), 已经证实其在上皮细胞起源的许多肿瘤以及表皮细胞增殖紊乱引起的疾病(如银屑病)中高水平表达。Huang 等^[12]半合成了 15 个新型槲皮素衍生物——槲皮素-3-*O*-氨基酸酯(图 8)。该实验比较了槲皮素及其新型衍生物对于 Src 和 EGFR 的选择性抑制作用,发现这一系列新型衍生物对于 Src 的抑制作用较槲皮素有所增强(IC_{50} 3.3~9.9 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),而其对于 EGFR 的抑制作用较槲皮素有所减弱。该实验采用 LIGPLOT 程序统计分析这些化合物与受体之间疏水和氢键相互作用发现,新型槲皮素衍生物与 Src 之间平均有 14 个疏水作用、3.5 个氢键作用;与 EGFR 平均有 9 个疏水作用、2.5 个氢键作用。结合生物实验测定结果分析得出以下结论:疏水作用和氢键作用对于不同激酶抑制活性强弱有重要影响;疏水作用和氢键作用数目越多,对于激酶的抑制作用越强。

图8 Src 抑制活性较强的槲皮素-3-*O*-氨基酸酯

细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450) 是肝脏中参与药物代谢的最重要的一种多功能氧化还原酶系。其中, CYP1A2 亚家族含量占 CYP450 总量的 13%, 参与代谢 5%~10% 的临床常规药物, 是近年来药物代谢研究领域备受关注的热点之一。CYP1A2 参与代谢多种前致癌剂, 包括黄曲霉毒素、芳香化合物、芳香胺和杂环胺等氨基化合物, 将其激活后生成各种致癌性物质。因此深入研究 CYP1A2 抑制剂具有重要的意义。Li 等^[13]通过体外人肝微粒体法检测黄酮类化合物对 CYP1A2 的抑制活性, 采用 3D-QSAR 研究方法研究不同类型的黄酮类化合物分子结构参数与 CYP1A2 抑制活性之间的三维定量关系, 建立相应的构效关系模型, 分析了其抑制机制, 结果表明:① 黄酮类化合物和受体蛋白 CYP1A2 的静电相互作用对化合物的抑制活性起支配作用;② 羟基取代基的数目和位置对黄酮类化合物的活性有显著的影响, 适当位置上两个羟基取代可以大大增强其抑制活性, 而单羟基取代则使得化合物的抑制活性降低;③ C 环上 2 位和 3 位之间的碳碳双键变成单键, 破坏了黄酮的共轭体系, 大大降低了其抑制活性;④ 异黄酮 (B

环接在 3 位) 对于 CYP1A2 的抑制能力远小于黄酮 (B 环接在 2 位); ⑤ 相对于黄酮, α -萘黄酮 (图 9) 的 π - π 共轭体系更有利于提高化合物的抑制活性, 在 α -萘黄酮基础上, 6 位、3' 位、4' 位引入带正电基团或疏水基团, 同时 5 位引入带负电基团, 能有效改善化合物的 CYP1A2 抑制活性。

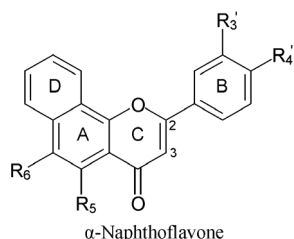


图 9 α -Naphthoflavone 的基本骨架结构

2 抗氧化 (antioxidant)

Cai 等^[14]采用改进的 ABTS⁺和 DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 方法测定了 91 种天然黄酮类化合物及其多种衍生物的清除氧自由基活性, 这些化合物均提取自具有抗癌相关活性的中草药。该实验发现这一系列天然黄酮类化合物清除氧自由基活性差别较大, 某些具有较强活性, 某些似乎并无活性。对较强活性化合物 (图 10) 进行构效关系研究发现: ① 黄酮类化合物清除氧自由基活性的关键在于其基本骨架上羟基取代基的数目和位置, 相邻位点的羟基取代基数目越多活性越强, 无羟基取代基则无活性; ② A 环、B 环上的邻苯二羟基和 C 环 3 位的 -OH、-galloyl 取代基是重要活性基团; ③ 苯基色原酮 (C6-C3-C6) 是基本活性骨架, 骨架中心的吡喃环氧化状态影响活性, C 环上的 2 位和 3 位间的双键和 4 位羰基共轭, 可以起到电子离域作用, 有利于骨架结构稳定; ④ 羟基取代基的糖基化降低了黄酮类化合物清除氧自由基活性, 甲氧基取代也会降低黄酮类化合物的活性; ⑤ 不同数目、不同布局的取代基对活性影响程度也不相同。

Seyoum 等^[15]构建了 52 种天然和半合成的黄酮类

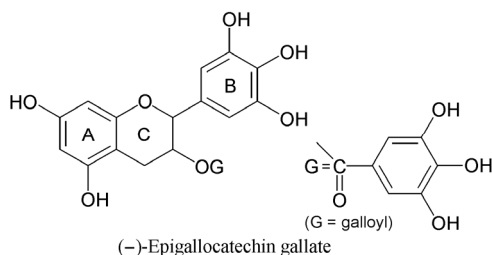


图 10 清除氧自由基活性最强化合物

化合物清除自由基 DPPH 模型, 并采用软件 Gaussian 98W 和 Chem3D[®]计算了自由基生成热 ΔH_f 和自旋密度, 实验推测: ① 黄酮化合物基本骨架上羟基取代基是清除自由基的活性基团, 羟基的取代位置和取代形式较取代基数目更能影响其活性。例如, 黄酮母核 A 环和 B 环相邻位点两个或 3 个羟基取代较单羟基取代和间位羟基取代活性大大提高; ② 对于黄酮苷类化合物, 黄酮苷元是活性基团, 糖基无活性; ③ 羟基取代基清除自由基机制主要是通过电离出氢原子中和氧自由基并且与已经电离的黄酮化合物结合成二聚体, 防止逆向结合从而稳定的清除自由基。

Amaral 等^[16]提取分离了两种临床常用治疗癌症和炎症的药用植物 *Geranium robertianum* L. 和 *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. 的黄酮类活性成分, 采用 ABTS/HRP 和 DPPH[·] 方法研究了黄酮类化合物抗氧化活性与清除自由基功能的相关性, 构效关系研究发现这一系列天然黄酮化合物抗氧化活性的结构特征 (图 11) 为: ① B 环 3', 4' 邻位二羟基取代; ② B 环与 C 环 4 位羰基通过 2, 3 位双键产生共轭作用; ③ 3 位和 5 位羟基取代基和 4 位羰基之间的共轭作用。

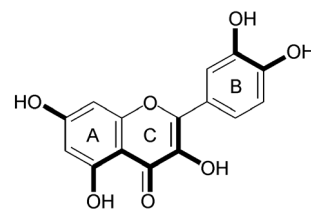


图 11 清除氧自由基活性相关 3 个结构特征

过氧化亚硝酸盐 (ONOO^-) 是一种高毒性的氧化和硝化基团, 通过超氧化物和一氧化氮的相互作用在机体内产生。其在体内可以氧化或者亚硝基化生物活性分子, 这种性质与一些疾病具有相关性。

Heijnen 等^[17]通过清除过氧化亚硝酸盐自由基实验得出结论: ① 多酚类化合物清除自由基的活性受苯环上给电子取代基影响显著; ② B 环 3', 4' 位羟基取代并且 A、C 环上同时具有 3, 5, 7 位 3 个羟基取代基的黄酮醇类化合物具有最高的清除自由基活性; ③ C 环上的 3 位羟基基团是活性中心, A 环 5, 7 位给电子取代基可以促进其清除自由基活性。

Sadeghipour 等^[18]研究了 11 种天然黄酮化合物抑制过氧化亚硝酸盐诱导的酪氨酸硝化作用的构效关系。实验测得一组最有效的天然黄酮类化合物: 儿茶素、黄衫素、木犀草素、槲皮素和杨梅素, 这些化合物的共有结构是 B 环上的 3', 4' 位邻二羟基; 第二组

较有效的天然黄酮类化合物是:柚皮素、山柰酚和桑黄素,这些化合物的共有结构是B环上的4'位的羟基取代基。比较以上两组化合物的抑制活性发现,第二组较第一组减弱了50%,由此推测这两组化合物可能具有相同的活性必需基团,即B环上的羟基取代。B环上3',4'位邻二羟基以及4'位单羟基取代是抗氧化活性的重要活性基团,但当B环3'位单羟基取代则使活性较弱或者消失。C环上2,3位双键和4位羰基则较少影响活性。

Modak 等^[19]从 *Heliotropium sinuatum* 树脂状渗出液提取了黄酮类化合物,通过测定其抗氧化活性并进行理论计算得出结论:① 黄酮类化合物分子骨架上羟基取代基的数目和位置与抗氧化活性密切相关,B环上3',4'位羟基取代的黄酮化合物活性最高,这类化合物脱氢作用的 ΔH 值最低;② 根据自旋密度图分析,C环2,3位双键有利于已形成自由基的共振稳定性。

3 抗炎 (anti-inflammatory)

脂氧化酶 (lipoxygenase, LO) 抑制剂能保护血脂免受因自由基引起的超氧化作用的破坏,从而具有抗炎作用。已经证实某些天然黄酮类化合物具有有效的脂氧化酶抑制活性,但仅限于对天然存在的一些黄酮化合物的实验,这些实验中的天然黄酮类化合物缺乏足够的结构差异性,无法进一步分析黄酮类化合物抑制 LO 的构效关系。

Vasquez-Martinez 等^[20]以色原酮骨架作为模板,在C环2,3位引入不同的烷基或芳香基,在其他不同的位点引入羟基合成了41种异黄酮类衍生物(图12),并进行了体外抑制人脂氧化酶 (human lipoxygenase, hLO) 同工酶 12-hLO、15-hLO-1 和 15-hLO-2 的抑制活性测试。测定结果与已知具有 hLO 抑制活性的槲皮素、黄芩素、漆树黄酮等天然黄酮化合物作比较,构效关系分析得出如下结论:① 黄酮类衍生物基本骨架的芳香性和氧化状态对于抑制活性和选择性非常重要,修饰和改造黄酮基本骨架,就可以使之成为 12-hLO、15-hLO-1 的选择性抑制剂;② A 环、B 环上的邻苯二酚结构是活性必需基团;③ 异黄酮和异黄烷酮更倾向于抑制 12-hLO,异黄烷更倾向于抑制 15-hLO-1,较少以 15-hLO-2 为靶标;④ 各种化合物与受体蛋白的结合方式不同,当 B 环引入取代基后,由于异黄烷 C 环柔性较高,与受体蛋白结合方式发生很大变化,导致其衍生物的抑制活性消失,而异黄酮、异黄烷酮 C 环刚性较强,其 B 环取代衍生物抑制活性得以保留。

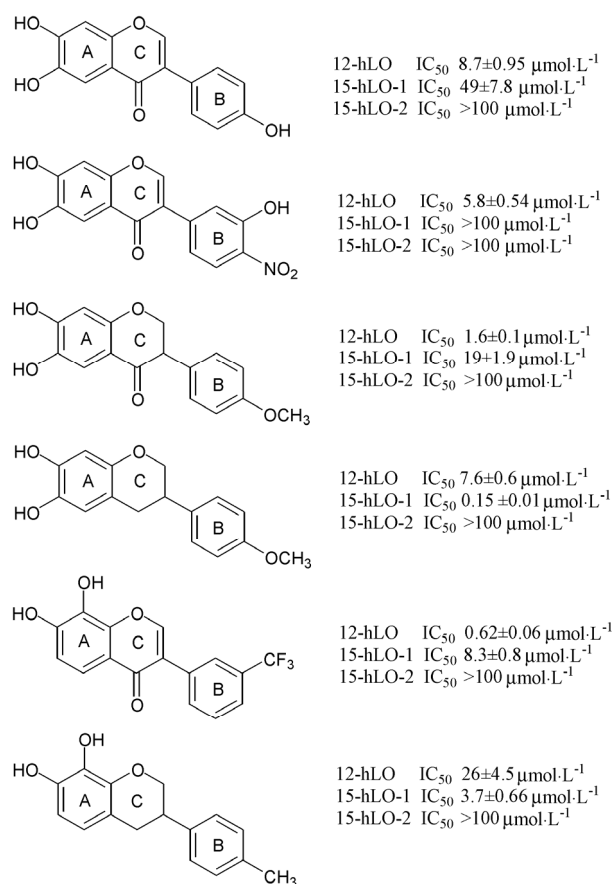


图 12 hLO 抑制活性较强的化合物

4 保护心血管 (cardiovascular protection)

黄酮类化合物因其保护心血管作用受到广泛关注。有文献报道黄酮类化合物可能是通过抗血栓形成和舒张血管等机制起到保护心血管的作用。到目前为止,黄酮类化合物保护心血管的作用机制和构效关系仍然没有完全被阐明。流行病学研究和实验数据表明日常饮食中摄入丰富的黄酮类化合物可以降低患心血管疾病的风险。

4.1 抗血栓形成 (antithrombotic) Jiang 等^[21]挑选了多种蔬菜和中草药中具有代表性的 12 种天然黄酮类化合物,通过实验研究其对凝血激酶组织因子 (thrombocinase tissue factor, TF) 的抑制作用以及在脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的人单核细胞里的抑制凝血活性,分析了这 12 种天然化合物抑制 TF 活性的构效关系。结果发现:① B 环 3'位和 A 环 7 位的甲氧基取代可大大提高 TF 的抑制活性,不同取代基的促活性顺序为: -OCH₃ > -OH > -H; 甲氧基取代之所以显著提高 TF 抑制活性,原因可能是引入甲氧基后,黄酮化合物的亲脂性增加了,从而增加了生物膜透过率;② 实验测得黄烷醇、儿茶素、表儿茶素都具有抑制 TF 活性但不具有 C 环 2,3 位双键和 4 位

羰基这两个典型结构特征, 该结构特征可能并不是 TF 抑制活性所必须的活性基团; ③ A、B 环上邻位羟基取代明显提高 TF 抑制活性; ④ 糖基取代降低了 TF 抑制活性, 根据现有的研究推测, 不管糖基取代的位置和结构如何, 都极少提高黄酮苷元的活性。

4.2 舒张血管 (vasodilating) Dong 等^[22]设计并合成了一系列黄酮衍生物 (图 13), 通过动物实验和 3D-QSAR 预测了其促进血管舒张活性与结构的关系, 发现黄酮类化合物的某些结构特征可能与促血管舒张活性相关: ① C 环 4 位羰基和 2, 3 位双键促进血管舒张; ② A、B 环同时具有羟基取代基可以显著提高生物活性; ③ 糖基化基团取代大大降低了扩血管活性; ④ 具有较高生物活性的衍生物常常具有靠近色原酮骨架的亚甲基、烯丙基或者亚甲二氧基取代。

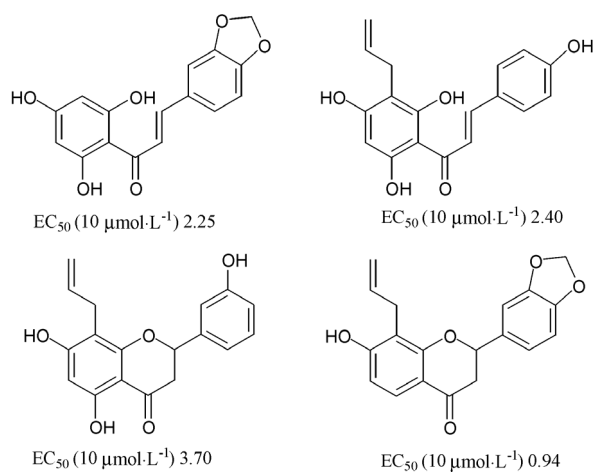


图 13 血管舒张活性较强的化合物

Xu 等^[23]采用猪冠状动脉研究了 17 种天然黄酮类化合物的血管舒张效应的构效关系, 并采用密度泛函理论方法计算了这些化合物的化学参数。实验所得的黄酮类化合物血管舒张效应潜能排序如下: 黄酮 (芹菜苷配基和木犀草素) > 黄酮醇 (山柰酚和槲皮素) > 异黄酮 (染料木黄酮和大豆黄酮) > 二氢黄酮[醇] (柚皮素) > 查耳酮 (根皮素) > 花色素 (花葵素) > 黄烷[醇] ((+)-儿茶素和 (-)-表儿茶素)。构效关系研究显示: A 环 5, 7 位羟基、B 环 4' 位羟基、C 环 2, 3 位双键和 4 位羰基是活性必需基团。通过比较芦丁与槲皮素、染料木苷与染料木黄酮、葛根黄素和大豆黄酮的活性得出: 糖基取代使活性大大降低。分子体积和总能量也可以用于预测黄酮类化合物的血管舒张活性。研究发现血管舒张活性最强的黄酮类化合物芹菜苷配基、木犀草素、山柰酚与染料木黄酮的结构特征与实验所推测的构效关系一致。

5 抗病毒 (antiviral)

神经氨酸酶 (neuraminidase, NA) 属于一个糖基水解酶家族, 可以释放末端 *N*-乙酰神经氨酸 (*N*-acetylneuraminic acid, 糖蛋白类、糖脂类和多糖类的残基)。病毒性 NA 是预防流行性感冒病毒传播的最受关注的有效靶标之一, 被广泛用做识别流感病毒表面上的抗原决定簇, 延伸为 HxNx 标记法。现在急需研究出价廉易得的 NA 抑制剂来预防流感病毒传播。

Liu 等^[24]研究了 25 种黄酮类化合物抑制 3 种流感病毒 NAs 的构效关系 (图 14), 3 种 NAs 分别是: A/PR/8/34 (H1N1)、A/Jinan/15/90 (H3N2) 和 B/Jiangshu/10/2003。推测出黄酮类化合物抑制 NAs 潜能排序为: 橙酮 > 黄酮/黄酮醇 > 异黄酮 > 二氢黄酮/二氢黄酮醇、黄烷/黄烷醇。构效关系分析得出如下结论: ① A 环 7 位羟基、B 环 4' 位羟基、C 环 4 位羰基和 2, 3 位双键是活性必需基团; ② 糖基取代基团极大的降低了 NAs 抑制活性。实验随后采用致细胞病变效应法 (cytopathic effect, CPE) 测试 8 种黄酮类化合物的体外抗病毒活性, 结果与所推测构效关系一致。

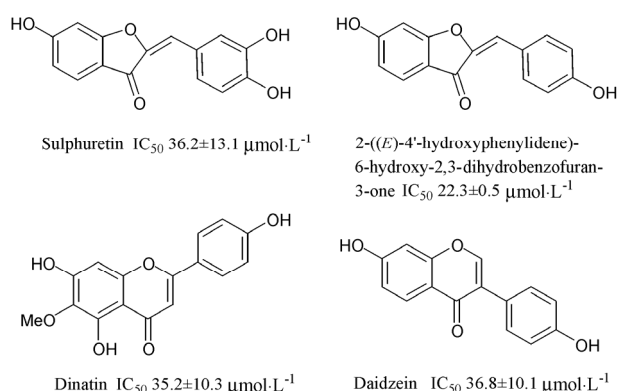


图 14 NAs 抑制活性较强的化合物

Ryu 等^[25]从中草药 *Cudrania tricuspidata* 的根部提取了 6 种天然黄酮类活性化合物, 测定了其抑制 NAs 活性的 IC_{50} 值, 结合计算机虚拟分子对接方法进行构效关系分析发现: 这 6 种黄酮类化合物与 NAs 相互作用的活性基团是 B 环上的间苯二酚取代和 A 环上的极性取代基团。极性取代基团可与 NAs 受体在活性位点处形成氢键作用, 从而提高相应的抑制活性。

严重急性呼吸综合征 (severe acute respiratory syndromes, SARS) 是一种因感染 SARS 相关冠状病毒而导致的一种新型、传染性强、病情进展快速的呼吸道传染病。SARS 相关冠状病毒 (SARS-associated

coronavirus, SARS-CoV) 的“3C”状蛋白水解酶(3CL^{pro}), 因其在冠状病毒生命周期的关键作用, 是目前研发治疗 SARS 特效药物最有希望的靶标。Chen 等^[26]以槲皮素-3- β -半乳糖苷为母核, 合成了一系列新型黄酮苷衍生物, 结合其抑制 SARS-CoV 3CL^{pro} 的生物活性测定结果推测: ① 槲皮素 A 环上 7 位羟基取代是活性必需基团, 7 位无羟基取代的衍生物抑制活性降低; 另外, 7 位引入一个较大的糖取代基, 衍生物仍具有抑制活性; ② 糖取代基被乙酰化后抑制活性降低; ③ 不同种类糖取代基替换半乳糖苷取代基对抑制活性无影响。

6 抗菌 (antiseptis)

黑色素可以保护真菌使其对抗自由基、毒素、紫外线、X 射线、 γ 射线、极端温度和水解酶等环境压力, 因此黑色素是人体和植物感染致病性真菌的重要致病因子。黑色素生物合成酶 (trihydroxynaphthalene reductase, 3HNR) 由此成为杀菌剂和选择性抗真菌剂的热门靶标。Brunskole 等^[27]测定了 27 种不同结构母核的黄酮类化合物在大肠杆菌模型中抑制重组 3HNR 的活性。发现鸡豆黄素 A (biochanin A) 是活性最强的化合物 ($IC_{50} = 12 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。构效关系研究表明: ① 黄酮母核上 A 环 5 位和 7 位的羟基是重要的抑制活性基团; ② C 环 3 位、A 环 6 位和 B 环 3' 位羟基取代能降低抑制活性。该实验还发现黄酮类化合物不仅可以在体内抑制 3HNR, 还可在体外抑制真菌生长, 具体机制有待进一步研究。

7 结语

综上所述, 目前国内外对于天然黄酮类化合物及其衍生物分别从动物实验、细胞实验、激酶实验、化学实验、计算机辅助药物设计等多方面进行了构效关系研究。研究发现黄酮类化合物生理活性与其化学结构密切相关, 母核、取代基、取代位置分布对其药理活性都可能会产生影响: ① 天然黄酮类化合物往往具有较高的清除氧自由基活性; 天然黄酮化合物母核上的羟基取代基数目越多, 其清除氧自由基活性越强, 特别是邻位羟基取代可以大大提高其活性; 苯环上的邻苯二酚结构是其重要的活性基团; ② 对于新型黄酮衍生物来说, A 环、B 环上的极性基团取代对于多种激酶活性具有促进作用; 极性取代基团可与激酶受体在活性位点处形成氢键相互作用, 从而提高相应的活性; 不同激酶具有不同的“口袋”结构, 需要不同结构的配合物, 实验组要针对药物作用靶标设计不同结构的黄酮衍生物; ③ C 环上 C4 位羰基与 C2、C3 位双键为选择性活性必需基团, 即在

某些特定药理活性作用机制中属于活性必需基团; ④ 绝大多数黄酮苷的活性不如黄酮苷元; ⑤ 根据文献报道, 激酶活性较强的黄酮化合物其细胞活性不一定强; 极性取代基团是激酶活性的保障基团, 但是极性取代基团能够降低生物膜透过率, 而细胞活性与其生物膜透过率息息相关。因此, 建议设计新型黄酮衍生物时, 兼顾极性和生物膜透过率, 两者必须平衡才能使其具备成药性。

天然黄酮类化合物及其半合成衍生物的构效关系因其分子结构和药理作用机制的多样性而变得相当复杂。这些化合物具有抗癌、抗氧化、抗炎、抗血栓、舒张血管、抗病毒、抗菌等不同药理活性和多靶标协同作用的特点。针对这些特点, 笔者认为借助网络药理学的方法深入分析和探讨黄酮类化合物的体内作用机制与构效关系将会大有可为。

References

- [1] Yuan JP, Wang JH, Liu X. Research advance on the biological activities of soybean isoflavones (I) Metabolism and estrogenic behaviors of soybean isoflavones [J]. J Chin Inst Food Sci Technol (中国食品学报), 2003, 3: 81-85.
- [2] Crozier A, Del Rio D, Clifford MN. Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds [J]. Mol Aspects Med, 2010, 31: 446-467.
- [3] Erlund I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology [J]. Nutr Res, 2004, 24: 851-874.
- [4] Plochmann K, Korte G, Koutsilieris E, et al. Structure-activity relationships of flavonoid-induced cytotoxicity on human leukemia cells [J]. Arch Biochem Biophys, 2007, 460: 1-9.
- [5] Cárdenas M, Marder M, Blank VC, et al. Antitumor activity of some natural flavonoids and synthetic derivatives on various human and murine cancer cell lines [J]. Bioorg Med Chem, 2006, 14: 2966-2971.
- [6] López-Posadas R, Ballester I, Abadía-Molina AC, et al. Effect of flavonoids on rat splenocytes, a structure-activity relationship study [J]. Biochem Pharmacol, 2008, 76: 495-506.
- [7] Wang CM, Pimple S, Buolamwini JK. Interaction of benzopyranone derivatives and related compounds with human concentrative nucleoside transporters 1, 2 and 3 heterologously expressed in porcine PK15 nucleoside transporter deficient cells. Structure-activity relationships and determinants of transporter affinity and selectivity [J]. Biochem Pharmacol, 2010, 79: 307-320.
- [8] Zhang S, Yang X, Coburn RA, et al. Structure activity relationships and quantitative structure activity relationships

- for the flavonoid-mediated inhibition of breast cancer resistance protein [J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 70: 627–639.
- [9] Holder S, Lilly M, Brown ML. Comparative molecular field analysis of flavonoid inhibitors of the PIM-1 kinase [J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15: 6463–6473.
- [10] Anso E, Zuazo A, Irigoyen M, et al. Flavonoids inhibit hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression by a HIF-1 independent mechanism [J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 79: 1600–1609.
- [11] Takasawa R, Takahashi S, Saeki K, et al. Structure–activity relationship of human GLO I inhibitory natural flavonoids and their growth inhibitory effects [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16: 3969–3975.
- [12] Huang H, Jia Q, Ma JG, et al. Discovering novel quercetin-3-*O*-amino acid-esters as a new class of Src tyrosine kinase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2009, 44: 1982–1988.
- [13] Li JK, He F, Bi HC, et al. Inhibition of human cytochrome P-450 CYP1A2 by flavonoids: a quantitative structure-activity relationship study [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 1198–1204.
- [14] Cai YZ, Sun M, Xing J, et al. Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants [J]. *Life Sci*, 2006, 78: 2872–2888.
- [15] Seyoum A, Asres K, El-Fiky FK. Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67: 2058–2070.
- [16] Amaral S, Mira L, Nogueira JM, et al. Plant extracts with anti-inflammatory properties—a new approach for characterization of their bioactive compounds and establishment of structure–antioxidant activity relationships [J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17: 1876–1883.
- [17] Heijnen CGM, Haenen GRMM, Vekemans JAJM, et al. Peroxynitrite scavenging of flavonoids: structure activity relationship [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2001, 10: 199–206.
- [18] Sadeghipour M, Terreux R, Phipps J. Flavonoids and tyrosine nitration: structure–activity relationship correlation with enthalpy of formation [J]. *Toxicol In Vitro*, 2005, 19: 155–165.
- [19] Modak B, Contreras ML, González-Nilo F, et al. Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from the resinous exudate of *Heliotropium sinuatum* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15: 309–312.
- [20] Vasquez-Martinez Y, Ohri RV, Kenyon V, et al. Structure–activity relationship studies of flavonoids as potent inhibitors of human platelet 12-hLO, reticulocyte15-hLO-1, and prostate epithelial 15-hLO-2 [J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15: 7408–7425.
- [21] Jiang WW, Kou JP, Zhang Z, et al. The effects of twelve representative flavonoids on tissue factor expression in human monocytes: structure-activity relationships [J]. *Thromb Res*, 2009, 124: 714–720.
- [22] Dong XW, Liu T, Yan JY, et al. Synthesis, biological evaluation and quantitative structure-activities relationship of flavonoids as vasorelaxant agents [J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17: 716–726.
- [23] Xu YC, Leung SWS, Yeung DKY, et al. Structure–activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery [J]. *Phytochemistry*, 2007, 68: 1179–1188.
- [24] Liu AL, Wang HD, Lee SMY, et al. Structure–activity relationship of flavonoids as influenza virus neuraminidase inhibitors and their *in vitro* anti-viral activities [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16: 7141–7147.
- [25] Ryu YB, Curtis-Long MJ, Lee JW, et al. Structural characteristics of flavanones and flavones from *Cudrania tricuspidata* for neuraminidase inhibition [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 4912–4915.
- [26] Chen LL, Li J, Luo C, et al. Binding interaction of quercetin-3- β -galactoside and its synthetic derivatives with SARS-CoV 3CL^{pro}: structure–activity relationship studies reveal salient pharmacophore features [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14: 8295–8306.
- [27] Brunskole M, Zorkob K, Kerbler V, et al. Trihydroxynaphthalene reductase of *Curvularia lunata* — a target for flavonoid action? [J]. *Chem Biol Interact*, 2009, 178: 259–267.