

一类细胞凋亡诱导剂的结构特征研究

张静晓¹, 李燕¹, 付新梅², 潘艳秋^{*1}, 杨凌³

(1. 大连理工大学 化工学院, 辽宁 大连 116024;

2. 大连理工大学 精细化工国家重点实验室, 辽宁 大连 116024;

3. 中国科学院大连化学物理研究所 药物资源开发研究组, 辽宁 大连 116023)

摘要: 许多抗癌药物通过引起癌细胞的凋亡来达到治疗目的, 因此开发能诱导癌细胞凋亡的药物一直是癌症研究的热点. 以 153 个结构各异的具有 caspase-3 激活作用的细胞凋亡诱导剂为研究对象, 通过三维定量构效关系(3D-QSAR)分析, 得到了一个基于位阻场、静电场、疏水场、氢键供体场和受体场参数的最优比较分子相似性指数法(CoMSIA)模型. 该模型($Q^2 = 0.51$, $R_{\text{ncv}}^2 = 0.89$ 和 $R_{\text{pred}}^2 = 0.82$)具有良好的内部一致性和预测能力, 通过对模型的等值线图分析发现: (1) R_2 取代基提高诱导剂活性的因素包括位阻大、负电性大、有亲水性和具有氢键供体作用; (2) 位阻适中和/或具有氢键供体作用的 R_4 取代基, 以及位阻小和/或亲水的 R_1 取代基对提高分子的活性是有利的; (3) N-甲基-N-苯基-1-萘胺类细胞凋亡诱导剂具有正电性的 A 环 3 号位或 C 环 7 号位取代基, 以及具有负电性的 B 环 1 号位取代基有利于提高诱导剂的生物活性. 对该模型的分析更有利于认识细胞凋亡诱导剂的分子特征, 并为设计和开发新型细胞凋亡诱导剂提供理论指导.

关键词: 细胞凋亡诱导剂; caspase 激活作用; 三维定量构效关系(3D-QSAR); 比较分子力场法(CoMFA); 比较分子相似性指数法(CoMSIA)

中图分类号: Q594; O622 **文献标识码:** A **doi:** 10.7511/dllgxb201501002

0 引言

细胞凋亡(apoptosis)是程序性细胞死亡的一种形式, 通过清除多余的衰老细胞维持体内细胞在数量、形态和功能上的平衡. 细胞凋亡调控异常会导致个体不能正常发育、严重畸形或者不能存活, 与许多疾病的发生密切相关. 如在癌症的研究过程中, 人们发现癌症的发生不仅与癌细胞的生长速度有关, 而且与癌细胞的死亡速率密切相关, 因此, 细胞凋亡的异常调控被认为是癌症发生和发展的重要影响因素之一. 在癌症治疗中, 用细胞凋亡诱导剂加快癌细胞的凋亡速度, 特异性地杀死癌细胞, 将会达到治疗癌症的目的.

细胞凋亡可由两条途径介导: 一条是死亡受体介导的信号激活细胞内的 caspases(半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶), 另一条是通过线粒体释

放的凋亡酶激活因子激活 caspases. 这些活化的 caspases 可降解细胞内重要的蛋白, 从而引起细胞死亡, 因此, caspase 在介导细胞凋亡的过程中起着非常重要的作用. Caspase-3 是 caspase 家庭中最关键的凋亡执行分子之一, 它可以剪切许多关键的凋亡靶蛋白酶, 使细胞不可逆地走向死亡, 研究具有 caspase-3 激活作用的细胞凋亡诱导剂是癌症研究的热点.

近二十多年中, 已经发现了许多类具有药理学作用的细胞凋亡诱导剂, 如黄酮类及其衍生物(如汉黄芩素^[1]、紫杉醇^[2]等)、蒽醌衍生物(如 EMO、PHY^[3]等)、多环类化合物(如 N-苯基烟酰胺类^[4]、藤黄酸^[5]、JET-522^[6]等)、烃类(如二烯丙基二硫^[7]、姜酮酚^[8]等)、多肽类(如 RGD 多肽类^[9]、polyoxypeptins A 和 B^[10])等, 其中, N-苯基烟酰胺类、汉黄芩素、JET-522、EMO 和藤黄酸等

诱导剂都被证明是通过激活 caspase-3 来达到诱导癌细胞凋亡的目的. Cai 的研究小组通过高通量筛选实验筛选出一类具有 caspase-3 激活作用的细胞凋亡诱导剂, 包括 N-苯基烟酰胺类^[4]、4-苯胺基-2-(2-吡啶基)嘧啶类^[11-12]、4-芳氨基喹啉类^[13-14]、N-苯基-1H-吡唑并[3,4-*b*]喹啉-4-胺类^[15]等. 这几类诱导剂通过作用在 caspase-3 活化上游某个靶点, 诱导 T47D 乳腺癌细胞的凋亡.

传统的药物研究方法研发周期长, 非常消耗人力、物力和财力, 计算机辅助药物设计通过定量地分析小分子结构及其物理化学特征与生物活性之间的关系, 归纳出分子结构特点和生物活性之间的规律, 从而能更好地指导开发具有高药理作用的化合物, 大大缩短了研发周期, 降低了人力和财力的消耗. 本文以 153 个来自 Cai 的研究小组的细胞凋亡诱导剂为研究对象进行药物设计. 由于这类诱导剂分子的具体作用靶点尚不清楚, 采用间接药物设计方法, 包括比较分子力场法 (CoMFA) 和比较分子相似性指数法 (CoMSIA), 建立诱导剂的分子结构特征与其生物活性之间的三维定量构效关系 (3D-QSAR) 模型, 为设计和开发高活性的新型细胞凋亡诱导剂提供理论指导.

1 材料与方法

1.1 数据集

数据集由 9 类具有 caspase-3 激活作用的细胞凋亡诱导剂组成, 如图 1 所示, 包括 N-苯基烟

酰胺^[4] (M001)、4-苯胺基-2-(2-吡啶基)嘧啶类^[11-12] (M010)、4-芳氨基喹啉类^[13-14] (M034)、N-苯基-1H-吡唑并[3,4-*b*]喹啉-4-胺类 (M041)^[15]、(4-萘基)苯基甲酮类 (M054)^[16]、N-甲基-N-苯基-1-萘胺类 (M060)^[16]、4-苯胺基-N-甲基嘧啶并[3,2-*d*]嘧啶类 (M097)^[17]、4-苯胺基-N-甲基嘧啶并[2,3-*d*]嘧啶类 (M105)^[17]、N-芳基-9-氧-9H-芴基-1-甲酰胺类 (M115)^[18-19], 共 153 个化合物小分子. 化合物的结构及其对应的活性数据 (EC_{50}) 均来自 Cai 的研究小组. 建模过程中, EC_{50} 值被转化为 pEC_{50} ($-\log EC_{50}$), 作为定量构效关系研究的因变量. 遵循训练集和验证集的分子比例为 4 : 1 的原则, 随机选择 119 个化合物作为训练集, 其余 34 个化合物作为验证集来验证所建模型的可靠性. 图 2 为 20 个代表性化合物的分子结构及其活性数据.

1.2 构象优化和分子叠合

3D-QSAR 模型的建立和分析在 SYBYL 6.9 软件包 (Tripos 公司) 中进行. 利用该软件中的 Sketch molecule 模块构建小分子化合物初始的三维结构. 小分子能量优化的参数设置为 Tripos 力场、Gasteiger-Huckel 电荷、Powell 共轭能量梯度法, 能量收敛限定为 $2\ 090\ \text{J}/(\text{mol} \cdot \text{nm})$ ^[20]. 为了构建具有较好预测能力的 QSAR 模型, 基于配体分子的公共骨架对所有的化合物进行了叠合, 在叠合过程中, 以拥有最高 pEC_{50} 值的 M071 号分子 ($pEC_{50} = 8.70$) 作为模板分子. 如图 3(a) 所示, 蓝色加粗部分是分子叠合过程所选的公共子

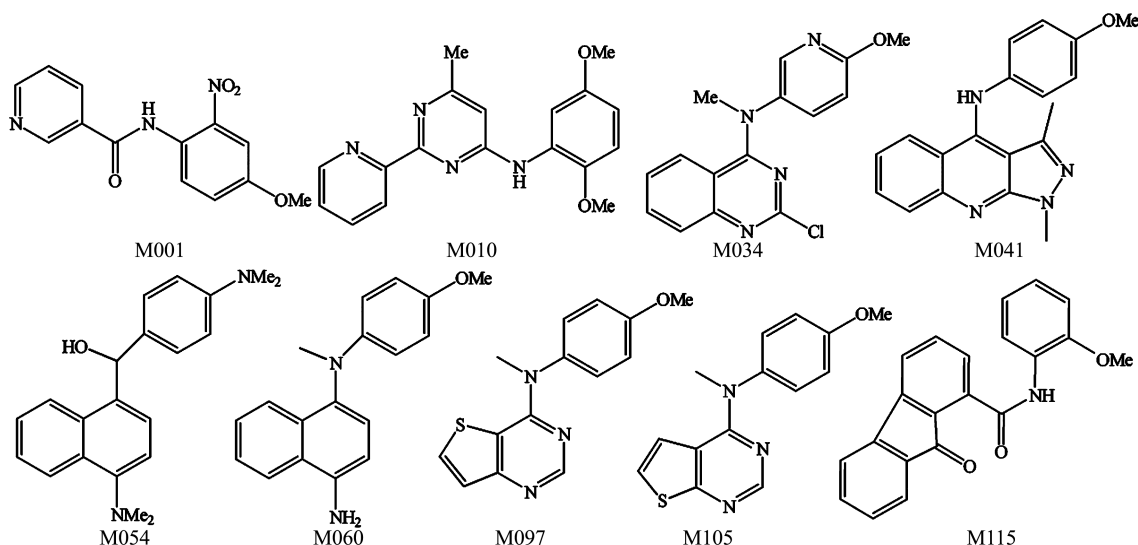


图 1 9 类细胞凋亡诱导剂的代表性分子结构

Fig. 1 Representative molecular structures of nine series of apoptosis inducers

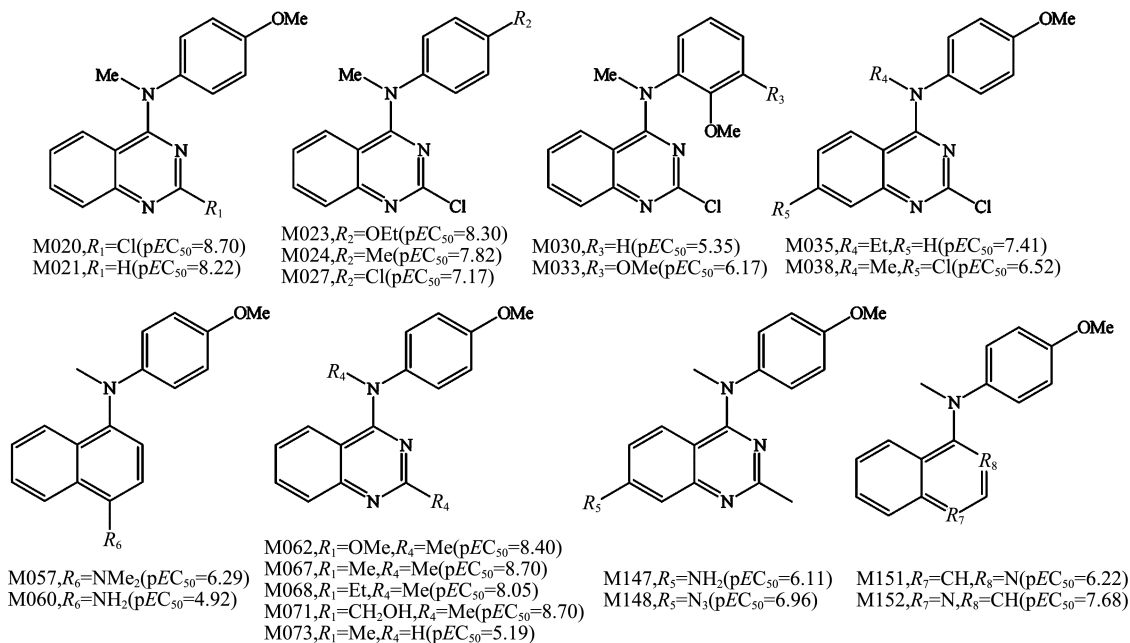


图 2 代表性细胞凋亡诱导剂的分子结构及其活性信息

Fig. 2 Molecular structures and activities of representative apoptosis inducers

架,所有分子叠合的效果如图 3(b)所示。由图可见,数据集中的所有分子叠合良好,为构建 QSAR 模型奠定了基础。

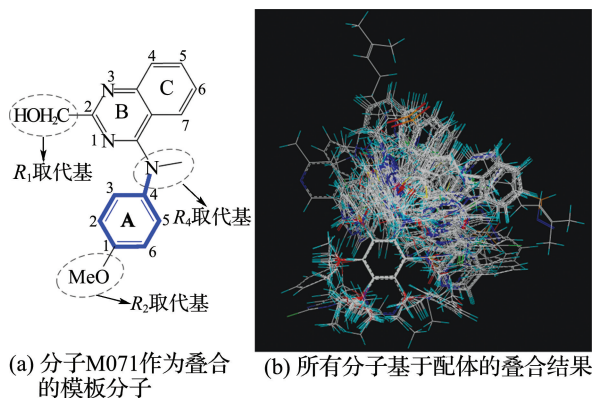


图 3 数据集中所有分子的叠合图

Fig. 3 Molecular alignment of all molecules in the dataset

1.3 CoMFA 和 CoMSIA 分析

骨采用 CoMFA 和 CoMSIA 两种分析模型研究小分子诱导剂与其活性之间的定量构效关系。在 CoMFA 分析中,叠合后所有的小分子被放入一个步长为 0.2 nm 的三维网格中,以一个带正电荷的 sp^3 碳原子为探针,分别对每个网格点上位阻场 (steric field) 和静电场 (electrostatic field) 的大小及分布进行了探测,计算过程中的能量阈值设定为 144 kJ/mol,其他参数采用系统默

认值。CoMSIA 分析是 CoMFA 分析的一种延伸,除了具有 CoMFA 分析中的位阻场和静电场外,还引入了疏水场 (hydrophobic field)、氢键供体场 (hydrogen-bond donor field) 和受体场 (hydrogen-bond acceptor field)。在 CoMSIA 分析中,网格步长设置为 0.5 nm,其他参数的设置和 CoMFA 分析中一致。分子 j 上的原子 i 在网格点 q 上 CoMSIA 相似性指数 (A_F) 可由下面公式^[21]计算得到:

$$A_{F,k}^q(j) = - \sum \omega_{\text{probe},k} \omega_{i,k} e^{-\frac{r_{i,q}^2}{\alpha^2}} \quad (1)$$

式中: k 为位阻场、静电场、疏水场、氢键供体场和受体场的描述符, $\omega_{\text{probe},k}$ 为探针离子的分子场特征 (原子半径为 0.1 nm、电荷为 +1、疏水性为 +1、氢键受体和供体的强度都为 +1), $\omega_{i,k}$ 为原子 i 的分子场特征 k 的实际数值, $r_{i,q}$ 为探针离子在网格点 q 上与原子 i 之间的距离。

1.4 PLS 分析

为了构建具有统计显著性的 3D-QSAR 模型,以 CoMFA 和 CoMSIA 中的各个分子力场为自变量,以 pEC_{50} 为因变量进行了 PLS 分析。在 PLS 分析中,先用交叉验证抽一法 (leave-one-out) 计算验证系数 Q^2 ,得到最佳主成分数 N_c ,然后采用非交叉验证法计算获得 QSAR 模型,并得到非交叉验证相关系数 R_{ncv}^2 。相关系数 R_{pred}^2 由下式计算得到:

$$R^2_{\text{pred}} = 1 - \frac{\sum (Y_{\text{actual}} - Y_{\text{mean}})^2}{\sum (Y_{\text{pred}} - Y_{\text{actual}})^2} \quad (2)$$

式中: Y_{actual} 为验证集中化合物的实验活性, Y_{mean} 为训练集中化合物的平均活性, Y_{pred} 为验证集中化合物的预测活性.

2 结果与讨论

2.1 CoMFA 和 CoMSIA 模型

在 QSAR 建模过程中,从 153 个诱导剂中随机选取 119 个化合物作为模型的训练集,其余 34 个化合物作为验证集.通过 PLS 分析,最终得到了较优的 CoMFA 和 CoMSIA 模型(如表 1 所示),最优的 CoMFA 模型仅由位阻场描述符组成.最终 7 个成分的交叉验证系数 $Q^2=0.32$,非交叉验证系数 $R^2_{\text{ncv}}=0.88$,标准差 e_{se} 为 0.31.使用验证集来检验该模型时,验证集预测值相关系数 R^2_{pred} 为 0.75,验证集的最小预测偏差 e_{p} 为 0.74.在统计分析中,如果模型的 $Q^2<0.4$,表明此模型的预测能力小于均值预测能力.故最优

CoMFA 模型的预测能力并不理想.

最优的 CoMSIA 模型由位阻场、静电场、疏水场、氢键供体场和受体场 5 种力场的描述符构建而成.模型的统计结果显示,交叉验证系数 Q^2 为 0.51($Q^2>0.4$),最佳组分数 N_c 为 7,标准差为 0.29,表明此模型具有良好的内部预测能力.较高的非交叉验证系数($R^2_{\text{ncv}}=0.89$)表明该模型中的预测值和实验值自洽性良好.用验证集来检验该模型,结果为 $R^2_{\text{pred}}=0.82$, $e_{\text{p}}=0.63$,表明此模型良好的外部预测能力.在构建 CoMSIA 模型的 5 个力场中,静电场和氢键受体场的贡献率分别为 25%和 29%,明显高于其他 3 个力场的贡献率,表明氢键受体场和静电场对细胞凋亡诱导剂的生物活性影响比较大.

图 4 是最优 CoMSIA 模型中所有小分子诱导剂实验和预测活性值之间线性拟合图.由图可见,数据集中所有分子均匀地分布在趋势线的两侧,分子的预测值和实验值非常接近,表明 CoMSIA 模型良好的预测能力.

表 1 CoMFA 和 CoMSIA 模型的统计结果
Tab. 1 Statistical results of the CoMFA and CoMSIA models

模型	Q^2	N_c	R^2_{ncv}	e_{se}	F	R^2_{pred}	e_{p}	力场贡献率				
								S	E	H	D	A
CoMFA	0.32	7	0.88	0.31	116.58	0.75	0.74	1	—	—	—	—
CoMSIA	0.51	7	0.89	0.29	130.30	0.82	0.63	0.12	0.25	0.19	0.15	0.29

注:S,位阻场;E,静电场;H,疏水场;D,氢键供体场;A,氢键受体场

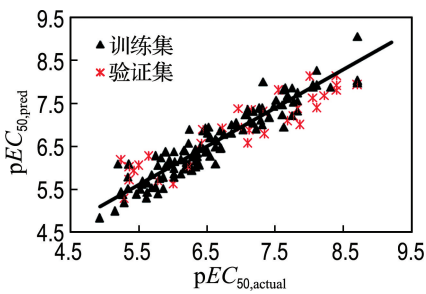


图 4 最优 CoMSIA 模型中小分子诱导剂的实验和预测活性值之间的线性拟合

Fig. 4 The predicted versus actual pEC_{50} values of the training and test sets based on the optimal CoMSIA model

2.2 三维等值线图

为了进一步地分析各个力场对诱导剂分子活性的影响,以 M071 号分子为模板分析最优

CoMSIA 模型的 $StDev * Coeff$ 三维等值线图,结果如图 5 所示.由图可见,这些等值线图能非常直观地反映诱导剂小分子的各个不同力场对其生物活性的影响.

图 5(a)是最优 CoMSIA 模型的位阻场等值线图,其中绿色云团表示这一区域中大的取代基有利于诱导剂分子的生物活性,黄色区域代表大的取代基不利于分子的活性.对应图 2 结构式由图 5(a)可见,在 R_1 和 R_4 取代基附近有一个较大的黄色云团,而在 R_4 取代基以及 B 环和 C 环后方有一个大的绿色云团,表明 R_1 取代基位置上连接一个较小的取代基有利于提高小分子的诱导活性,而 R_4 取代基处连接一个中等大小的取代基有利于提高小分子的生物活性.结果与诱导剂分子的实验结果是一致的,例如, M067 号分子($pEC_{50}=8.70$)在 R_1 取代基处有一个相对较小

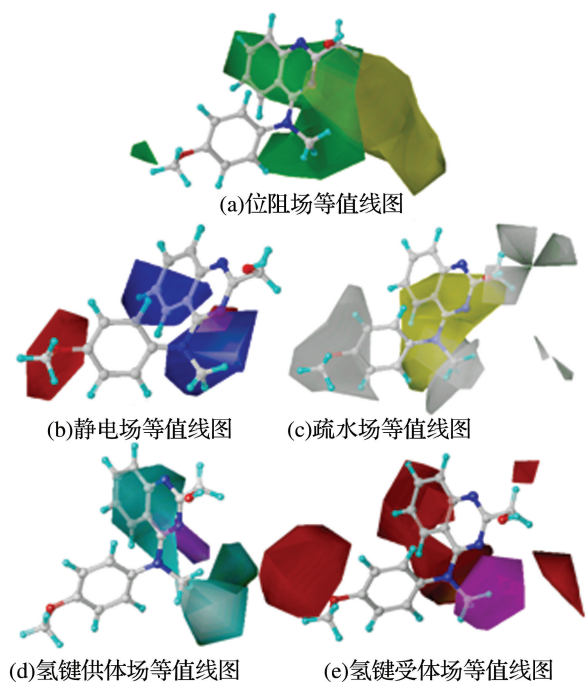


图5 最优 CoMSIA 模型的等值线图

Fig. 5 Optimal CoMSIA model contour plots

的甲基取代基,活性高于在 R_1 处取代基为乙基的 M068 号分子($pEC_{50} = 8.05$);在 R_4 处为甲基取代基的 M020 号分子($pEC_{50} = 8.70$),活性明显高于 M035 号分子(R_4 位取代基为乙基, $pEC_{50} = 7.41$); R_4 取代基非常小时也不利于分子的活性,如 M073 号分子($pEC_{50} = 5.19$)的 R_4 位取代基为 H,活性明显小于 R_4 位取代基为甲基的 M067 号分子。同理, R_2 取代基处出现了一个小的绿色云团,表明此位置上一个较大的取代基有利于分子的活性。

最优 CoMSIA 模型的静电场等值线图如图 5(b)所示,在蓝色区域引入正电性的基团或在红色区域引入负电性的基团有利于提高诱导剂小分子的生物活性。对应图 2 结构式由图 5(b)可见,在 R_2 取代基处有一个较大的红色云团,表明在 R_2 处引入负电性的基团有利于诱导剂的活性。譬如 M020 和 M023($pEC_{50} = 8.30$)号分子由于在 R_2 位置引入了具有负电性取代基(分别是 OMe 和 OEt 取代基),而具有较高的活性。同样的现象也发生在 B 环的 1 号位上,此处的红色小云团表明在此位置引入负电性的取代基有利于分子的诱导活性。在 A 环的 3 号位上有一个较大的蓝色区域,表明诱导剂分子在该区域是正电性的基团能提高其生物活性。结果与实验值也是一致的,如 M030($pEC_{50} = 5.35$)和 M033($pEC_{50} = 6.17$)号分子在此 3 号位上含有 OMe 取代基,分子活性较

低。同理,C 环的 7 号位上有一个蓝色云团,表明在此区域引入正电性的基团有利于分子的生物活性。

图 5(c)是最优 CoMSIA 模型的疏水场等值线图。图中的黄色和白色云团分别代表该区域中疏水性和亲水性的取代基能提高分子的生物活性。对应图 2 结构式由图 5(c)可见, R_2 取代基有一个较大的白色云团,表明该位置上亲水性的基团有益于分子生物活性,可以通过分子实验活性来证明,如 M020、M023、M024($pEC_{50} = 7.82$)和 M027($pEC_{50} = 7.17$)号分子具有共同的分子骨架,仅在 R_2 位上的取代基不同,分别是 OMe、OEt、Me 和 Cl,而其活性则是逐渐降低的。同理 R_1 取代基上两个白色的云团也显示了该区域中引入亲水性基团是有利于诱导剂分子活性的。而围绕 R_4 取代基和 B 环有一块大的黄色云团和两块小的白色云团,表明在这一区域内取代基的疏水性对诱导剂分子的活性影响比较大。

最优 CoMSIA 模型氢键供体场的等值线图如图 5(d)所示。图中青色云团代表该区域中氢键供体基团将有利于提高诱导剂分子的活性,紫色云团表示氢键供体基团在该区域不利于分子的生物活性。对应图 2 结构式由图 5(d)可见,围绕着 R_4 取代基有两个青色区域,表明在这一区域具有氢键供体作用的取代基能提高分子的生物活性,可以用实验数值来证明,如 M062($pEC_{50} = 8.40$)、M067 和 M071 号分子在该区域都含有氢键供体基团(Me),生物活性明显高于其他诱导剂的活性。同理 C 环周围的青色区域表明该区域氢键供体取代基有利于分子的生物活性。另外,在 B 环的 1 号位上出现了紫色区域,表明该区域中氢键供体基团不利于小分子的诱导活性。M021 号分子($pEC_{50} = 8.22$)在 B 环 1 号位上具有氢键受体取代基($-N-$),活性大于在该位上取代基为 $-C-$ 的 M152 号分子($pEC_{50} = 7.68$)。

图 5(e)为最优 CoMSIA 模型的氢键受体场等值线图,其中紫色云团代表氢键受体场在这一区域有利于分子活性,红色云团代表氢键受体场在这一区域不利于分子活性。对应图 2 结构式由图 5(e)可见, R_4 和 R_1 取代基周围发现了红色和紫色云团,结果与氢键供体场的结果一致。此外,在 R_2 取代基处出现一个红色的云团,表明在此区域氢键受体基团不利于诱导剂分子的活性。M020 和 M023 号分子在该区域处存在氢键供体基团(OMe 和 OEt),分子的活性明显高于其他诱

导剂分子的生物活性。

通过对最优 CoMSIA 模型的 5 个力场等值线图进行分析,确定了此类化合物作为细胞凋亡诱导剂的分子结构特点.以 M071 号分子为模板,分析得出了各取代基处的力场作用特征,如图 6 所示.

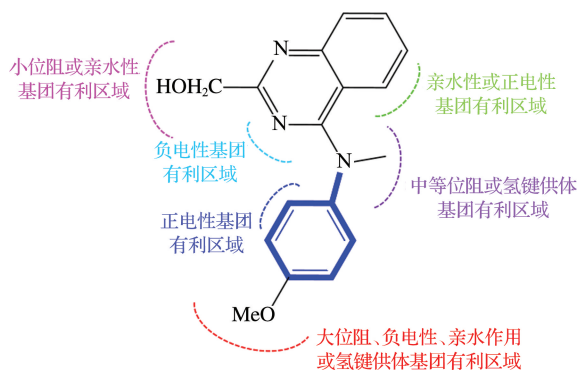


图 6 各取代基处的力场作用特征

Fig. 6 Interaction features of compound at each substituent

2.3 诱导剂分子结构比较分析

目前,具有 caspase-3 激活作用的细胞凋亡诱

导剂主要包括多环类、黄酮类和烃类等,代表性的化合物如图 7 所示.其中,Cai 的研究小组通过 T47D 乳腺癌细胞 caspase-3 活化检测法筛选出了一大批多环类的细胞凋亡诱导剂^[22],如 N-苯基烟酰胺^[4]、藤黄酸^[5]、2-氨基-3-氰基-7-二甲氨基-4-芳基-1H-苯并吡喃^[23]、2-氯-N-(4-甲氧基苯基)-N-甲基喹啉-4-胺(M020)^[13]等;来自大蒜的二烯丙基二硫(DADS)能通过激活 caspase-3 诱导人类白血病 HL-60 细胞的凋亡^[7];姜酮酚([6]-paradol)及其结构类似物也是通过激活 caspase-3 途径引起口腔鳞状细胞癌 KB 的凋亡^[8].

由图 7 可见,具有 caspase-3 激活作用的凋亡诱导剂呈现出结构多样性,通过作用在 caspase 级联反应上游某个已知的或是未知的作用靶点来激活 caspase-3,最终诱导细胞凋亡.由于这类分子结构多样,作用靶点不明,很难对其进行综合的比较和分析.因此,本文用间接的药物设计方法对 153 个具有公共骨架的细胞凋亡诱导剂进行结构和活性的比较分析,有助于指导开发更高效的细胞凋亡诱导剂.

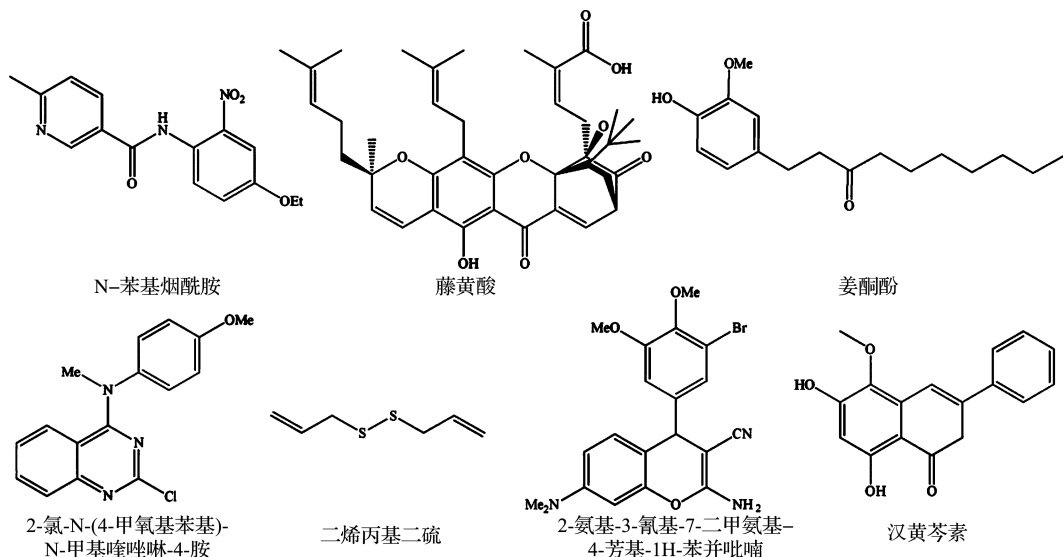


图 7 Caspase-3 激活作用的细胞凋亡诱导剂

Fig. 7 Apoptosis inducers through activation of caspase-3

3 结 论

采用 3D-QSAR 中的 CoMFA 和 CoMSIA 两种方法,对 153 个具有 caspase-3 激活作用的细胞凋亡诱导剂进行三维定量构效关系研究.结果显示,CoMSIA 模型($Q^2 = 0.51$, $R_{ncv}^2 = 0.89$ 和 $R_{pred}^2 = 0.82$)具有良好的可靠性和预测能力.通过该模型中 5 个力场等值线图的分析,确定了此类化合物

作为细胞凋亡诱导剂的结构特点.具体结论如下:

(1)诱导剂分子中的 R_1 、 R_2 和 R_4 取代基,以及 B 环的 1 号位、A 环的 3 号位和 C 环的 7 号位是提高生物活性的关键位点.

(2) R_2 位取代基提高诱导剂分子活性的因素有位阻大、负电性大、有亲水性和具有氢键供体作用.

(3)在 R_4 取代基处引入位阻中等大小和

(或)有氢键供体作用的基团,以及 R_1 位置引入位阻小和(或)亲水的取代基时,诱导剂小分子的生物活性会增加。

(4)A 环的 3 号位和(或)C 环的 7 号位引入正电性基团,以及 B 环的 1 号位引入负电性取代基,都将有利于增加诱导剂分子的活性。

参考文献:

- [1] Lee Woan-ruoh, Shen Shing-chuan, Lin Hui-yi, *et al.* Wogonin and fisetin induce apoptosis in human promyeloleukemic cells, accompanied by a decrease of reactive oxygen species, and activation of caspase 3 and Ca^{2+} -dependent endonuclease [J]. **Biochemical Pharmacology**, 2002, **63**(2):225-236.
- [2] Wang T H, Wang H S, Soong Y K. Paclitaxel-induced cell death; where the cell cycle and apoptosis come together [J]. **Cancer**, 2000, **88**(11):2619-2628.
- [3] Chen Yen-chou, Shen Shing-chuan, Lee Woan-ruoh, *et al.* Emodin induces apoptosis in human promyeloleukemic HL-60 cells accompanied by activation of caspase 3 cascade but independent of reactive oxygen species production [J]. **Biochemical Pharmacology**, 2002, **64**(12):1713-1724.
- [4] Cai S X, Nguyen B, Jia S J, *et al.* Discovery of substituted N-phenyl nicotinamides as potent inducers of apoptosis using a cell- and caspase-based high throughput screening assay [J]. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2003, **46**(12):2474-2481.
- [5] Zhang H Z, Kasibhatla S, Wang Y, *et al.* Discovery, characterization and SAR of gambogic acid as a potent apoptosis inducer by a HTS assay [J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2004, **12**(2):309-317.
- [6] LI Hong-liang, ZHANG Hai-wei, CHEN Dan-dan, *et al.* JTE-522, a selective COX-2 inhibitor, inhibits cell proliferation and induces apoptosis in RL95-2 cells [J]. **Acta Pharmacologica Sinica**, 2002, **23**(7):631-637.
- [7] Kwon K B, Yoo S J, Ryu D G, *et al.* Induction of apoptosis by diallyl disulfide through activation of caspase-3 in human leukemia HL-60 cells [J]. **Biochemical Pharmacology**, 2002, **63**(1):41-47.
- [8] Keum Young-sam, Kim Jin, Lee Keun-hyung, *et al.* Induction of apoptosis and caspase-3 activation by chemopreventive [6]-paradol and structurally related compounds in KB cells [J]. **Cancer Letters**, 2002, **177**(1):41-47.
- [9] Buckley C D, Pilling D, Henriquez N V, *et al.* RGD peptides induce apoptosis by direct caspase-3 activation [J]. **Nature**, 1999, **397**(6719):534-539.
- [10] Umezawa K, Nakazawa K, Ikeda Y, *et al.* Polyoxypeptins A and B produced by *streptomyces*: Apoptosis-inducing cyclic depsipeptides containing the novel amino acid (2S, 3R)-3-hydroxy-3-methylproline [J]. **Journal of Organic Chemistry**, 1999, **64**(9):3034-3038.
- [11] Sirisoma N, Kasibhatla S, Nguyen B, *et al.* Discovery of substituted 4-anilino-2-(2-pyridyl) pyrimidines as a new series of apoptosis inducers using a cell- and caspase-based high throughput screening assay. Part 1: Structure-activity relationships of the 4-anilino group [J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2006, **14**(23):7761-7773.
- [12] Sirisoma N, Pervin A, Nguyen B, *et al.* Discovery of substituted 4-anilino-2-arylpyrimidines as a new series of apoptosis inducers using a cell- and caspase-based high throughput screening assay. 2. Structure-activity relationships of the 2-aryl group [J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 2009, **19**(8):2305-2309.
- [13] Sirisoma N, Kasibhatla S, Pervin A, *et al.* Discovery of 2-chloro-N-(4-methoxyphenyl)-N-methylquinazolin-4-amine (EP128265, MPI-0441138) as a potent inducer of apoptosis with high in vivo activity [J]. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2008, **51**(15):4771-4779.
- [14] Sirisoma N, Pervin A, Zhang H, *et al.* Discovery of N-(4-methoxyphenyl)-N,2-dimethylquinazolin-4-amine, a potent apoptosis inducer and efficacious anticancer agent with high blood brain barrier penetration [J]. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2009, **52**(8):2341-2351.
- [15] Zhang H Z, Claassen G, Crogran-Grundy C, *et al.* Discovery and structure-activity relationship of N-phenyl-1H-pyrazolo[3,4-b]quinolin-4-amines as a new series of potent apoptosis inducers [J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2008, **16**(1):222-231.
- [16] Jiang S, Crogran-Grundy C, Drewe J, *et al.* Discovery of (naphthalen-4-yl)(phenyl)methanones and N-methyl-N-phenylnaphthalen-1-amines as new apoptosis inducers using a cell- and caspase-based HTS assay [J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 2008, **18**(21):5725-5728.
- [17] Kemnitzer W, Sirisoma N, Jiang S, *et al.* Discovery of N-aryl-9-oxo-9H-fluorene-1-carboxamides as a new series of apoptosis inducers using a cell- and caspase-based high-throughput screening assay. 2. Structure-activity relationships of the 9-oxo-9H-fluorene ring [J]. **Bioorganic & Medicinal**

- Chemistry Letters**, 2010, **20**(3):1288-1292.
- [18] Kemnitzer W, Sirisoma N, Nguyen B, *et al.* Discovery of N-aryl-9-oxo-9H-fluorene-1-carboxamides as a new series of apoptosis inducers using a cell- and caspase-based high-throughput screening assay. 1. Structure-activity relationships of the carboxamide group [J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 2009, **19**(11):3045-3049.
- [19] Kemnitzer W, Sirisoma N, May C, *et al.* Discovery of 4-anilino-N-methylthieno[3,2-*d*]pyrimidines and 4-anilino-N-methylthieno[2,3-*d*]pyrimidines as potent apoptosis inducers [J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 2009, **19**(13):3536-3540.
- [20] Grant J A, Williams R L, Scheraga H A. Ab initio self-consistent field and potential-dependent partial equalization of orbital electronegativity calculations of hydration properties of N-acetyl-N'-methyl-alanineamide [J]. **Biopolymers**, 1990, **30**(9-10):929-949.
- [21] ZHANG Bai-dong, LI Yan, ZHANG Hui-xiao, *et al.* 3D-QSAR and molecular docking studies on derivatives of MK-0457, GSK1070916 and SNS-314 as inhibitors against Aurora B kinase [J]. **International Journal of Molecular Sciences**, 2010, **11**(11):4326-4347.
- [22] Sirisoma N, Pervin A, Zhang H, *et al.* Discovery of N-methyl-4-(4-methoxyanilino) quinazolines as potent apoptosis inducers. Structure-activity relationship of the quinazoline ring [J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 2010, **20**(7):2330-2334.
- [23] Kemnitzer W, Drewe J, Jiang S, *et al.* Discovery of 4-aryl-4H-chromenes as a new series of apoptosis inducers using a cell- and caspase-based high-throughput screening assay. 1. Structure-activity relationships of the 4-aryl group [J]. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2004, **47**(25):6299-6310.

Studies of structural feature of a series of apoptosis inducers

ZHANG Jing-xiao¹, LI Yan¹, FU Xin-mei², PAN Yan-qiu^{*1}, YANG Ling³

(1. School of Chemical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China;

2. State Key Laboratory of Fine Chemicals, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China;

3. Laboratory of Pharmaceutical Resources Discovery, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China)

Abstract: A large number of anti-cancer agents exert their therapeutic effects through inducing apoptosis in malignant cells. Therefore, developing apoptosis-inducing drugs is always one of the hotspots in the field of cancer research. 153 structurally diverse apoptosis inducers with caspase-3 activation are studied by three-dimensional quantitative structure-activity relationships (3D-QSAR) analysis, resulting in an optimal CoMSIA (comparative molecular similarity indices analysis) model which is constructed based on the parameters of steric, electrostatic, hydrophobic, hydrogen-bond donor and receptor fields. The experimental results show that this CoMSIA model ($Q^2=0.51$, $R_{\text{ncv}}^2=0.89$ and $R_{\text{pred}}^2=0.82$) displays excellent inter-consistency and predictive abilities. Meanwhile, from analyzing CoMSIA contour maps, it can be concluded that (1) the R_2 substituent with one or more features of bulk, electronegativity, hydrophilicity and H-bond donor is beneficial to the activity; (2) medium-sized and/or H-bond donor substitution of R_4 , as well as the R_1 substituent with small and/or hydrophilic group can improve the activity; (3) the apoptosis inducers N-methyl-N-phenyl naphthalen-1-amines with electropositive groups in 3-position of ring-A or 7-position of ring-C, and 1-position of ring-B possessing the electronegative groups will benefit the apoptosis-inducing bio-activity. These conclusions may be helpful to understanding the molecular characteristics of apoptosis inducers, as well as providing theoretical guidance for the design and development of novel apoptosis inducers.

Key words: apoptosis inducer; caspase activation; three-dimensional quantitative structure-activity relationships (3D-QSAR); comparative molecular field analysis (CoMFA); comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA)