

- 远程教育), 2009, 7(9): 233.
- [4] LI K M, ZHANG G, WU J B. Research situation on pharmacological effects of Hirudo [J]. Tradit Chin Med Res (中医研究), 2007, 20(2): 62-64.
- [5] WANG X M, TENG S H, LI S Z, et al. Effects of leech injection on thrombus formation in rats [J]. J N Bethune Univ Med Sci (白求恩医科大学学报), 1998, 24(5): 469-470.
- [6] RAN C F, BAI S J, YANG J. Experiment study on the antithrombotic effect of leech injection [J]. Modern Rehabilitation (现代康复), 2001, 5(5): 73-74.
- [7] LI N, ZHAO X, ZHANG W G. Observation of curative effect on hyperlipidemia of Hirudo [J]. Chin J Misdiagn (中国误诊学杂志), 2008, 8(4): 802-803.
- [8] CHEN Y B, WANG Q, LAI S L. A preliminary study on establishment of cellular injury models of blood stasis syndrome [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med(广州中医药大学学报), 2001, 18(2): 109-114.
- [9] HE L, JIANG W Y, MAO T M. Preliminary exploration on establishing a simulated model of acute and chronic after-qi-stagnation blood stasis by adrenaline injection [J]. Chin J Integr Tradit West Med(中国中西医结合杂志), 2004, 24(3): 244-246.
- [10] CHENG X M, DU H L, LI D. Establishment of syndrome model of blood stasis due to cold accumulation in rats [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med(中国中医基础医学杂志), 2005, 11(8): 604-605.
- [11] WU C Y. On development of researches on blood stasis [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med(南京中医药大学学报), 2004, 20(3): 133-136.
- [12] YIN J X, TIAN J Z, WANG Y Y, et al. Evaluation criterion of tongue appearances in rat model of syndrome of blood stasis [J]. J Bingjing Univ Tradit Chin Med(北京中医药大学学报), 2007, 30(8): 529-531.
- [13] LING X M, DING H, LUO S D, et al. Study on the pharmacological mechanism of angelica polysaccharide on the immunocompetence and the effects of its ant-oxidation [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2002, 22(10): 584-586.
- [14] HU X Q, CHEN L G, QU Y. Effects of Shenghua Decoction on the expression of adhesion molecules in vascular endothelial cells of blood-stasis rats [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2007, 28(9): 1330-1333.
- [15] TONG W X, LI Z H, KOU Q A, et al. Clinical study on the treatment of fatty liver disease(qi-stagnation of and blood-stasis) with Jiangzhi Tongluo soft capsules [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2001, 21(6): 660-664.
- [16] XIE Y H, WANG S W, CUI H M. The effects of hirudoon normal and experimental hemostasis rats' blood rheology [J]. J Fourth Mil Med Univ(第四军医大学学报), 1996, 17(2): 101-103.
- [17] LIANG J Q, MI S Q, WANG N S, et al. Effect of different combinations of Hirudo and Tabanus on hemorrhological parameters in rat model of blood stasis syndrome [J]. Chin New Drugs J(中国新药杂志), 2009, 18(12): 1141-1144, 1154.
- [18] BROWN M S, GOLDSTEIN J L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis [J]. Science, 1986, 232(4746): 34-47.
- [19] STULNIG T M, KLOCKER H, HARWOOD H J. In vivo LDL receptor and HMG-CoA reductase regulation in human lymphocytes and its alterations during aging [J]. J Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1995, 15: 872-878.
- [20] YAN S, LIU G R, LIU F. Effects of "Li Pi Tiaozi capsule" on expressions of ApoE and ApoCIII mRNA in dyslipidemia rats [J]. Shanghai J Tradit Chin Med(上海中医药杂志), 2011, 45(2): 60-62.

收稿日期: 2013-03-01

喹啉酮类小分子 p53-MDM2 结合抑制剂 3D-QSAR 研究

尤贤霞¹, 周琴¹, 胡雁², 胡纯琦^{1,2*} (1.绍兴文理学院化学化工学院, 浙江 绍兴 312000; 2.浙江大学-巴黎高等师范学院药物化学联合实验室, 浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要: 目的 设计、合成高活性的小分子 p53-MDM2 结合抑制剂, 建立具有预测能力的 3D-QSAR 模型。方法 采用分子模拟软件 Sybyl, 利用比较分子场方法(CoMFA)、比较分子相似性指数法(CoMSIA), 选择已报道的具有 p53-MDM2 结合抑制活性的一类有相同母核的 21 个异喹啉酮衍生物作为训练集, 7 个作为预测集进行 3D-QSAR 模型的建立和验证。结果 模型具有较高 $q^2(q^2_{\text{CoMFA}}=0.545, q^2_{\text{CoMSIA}}=0.528)$ 和 $r^2(r^2_{\text{CoMFA}}=0.984, r^2_{\text{CoMSIA}}=0.972)$ 值, 表明 2 组模型具有较高的拟合能力及预测能力。结论 该模型具有较高的预测能力, 为设计、合成高活性的小分子 p53-MDM2 结合抑制剂提供了理论依据。

关键词: 比较分子场法; 比较分子相似性指数法; p53-MDM2; 结合抑制剂; 异喹啉酮

中图分类号: R914.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)09-0963-07

基金项目: 浙江省自然科学基金青年项目(LQ13H300001)

作者简介: 尤贤霞, 女 Tel: (0575)88341521 E-mail: yxxd2013@yahoo.com.cn *通信作者: 胡纯琦, 女, 博士, 讲师 Tel: (0575)88341521 E-mail: hucq@usx.edu.cn

YOU Xianxia¹, ZHOU Qin¹, HU Yan², HU Chunqi^{1,2*} (1.College of Chemistry&Chemical Engineering, Shaoxing University, Shaoxing 312000, China; 2.Zhejiang University-Ecole Normale Supérieure Joint Laboratory of Medicinal Chemistry, College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a predictable 3D-QSAR model for designing novel p53-MDM2 binding inhibitors. **METHODS** A series of isoquinolinone derivatives inhibitors of p53-MDM2 binding were subjected to three-dimensional quantitative structure-activity relationship (3D-QSAR) studies using the comparative molecular field analysis (CoMFA) and comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA) approaches. **RESULTS** The CoMFA model included steric and electrostatic fields for the training set with the cross validated q^2 value of 0.545 and the non-cross-validated r^2 value of 0.984. The cross-validated q^2 value of CoMSIA model was 0.528 and the non-cross-validated r^2 value was 0.972. **CONCLUSION** Based on the information obtained from the model, this model is predictable and therefore more derivatives will be designed for further studies.

KEY WORDS: CoMFA; CoMSIA; p53-MDM2; binding inhibitor; isoquinolinone

p53 基因是与人类恶性肿瘤相关性最高的肿瘤抑制基因之一^[1-3], 受其负反馈调节蛋白 MDM2 (mouse double minut 2, MDM2) 控制, MDM2 在许多肿瘤细胞中高度表达, 使其与 p53 之间的负反馈调节失衡, 从而促进细胞生长以及加速肿瘤的出现及生长^[4]。通过抑制 p53 和 MDM2 的结合作用来激活肿瘤细胞中的野生型 p53, 是抗肿瘤药物靶点的一个重大发现。虽然目前已经发现不少具有 p53-MDM2 结合抑制活性的拟 p53 多肽分子^[5-7], 但研究发现新型非肽类 p53-MDM2 结合抑制剂依然是一个挑战^[8]。而计算机辅助药物设计在 p53-MDM2 结合抑制剂的发现中起到了重要的作用, 如具有高活性的螺环吡啶酮类化合物^[9-10]就是通过基于受体的计算机辅助设计策略获得。在计算机辅助药物设计中, 基于小分子抑制剂定量构效关系研究也有广泛的应用^[11-12], 是设计并获得高活性小分子抑制剂的重要手段。

异喹啉酮衍生物是一类具有良好的 p53-MDM2 结合抑制活性, 且对于肿瘤细胞也有较高增殖抑制活性的化合物^[13]。本文拟利用计算机辅助药物设计中的 CoMFA、CoMSIA 法, 对已报道的异喹啉酮类小分子 p53-MDM2 结合抑制剂进行研究, 并建立 3D-QSAR 模型, 继续探索小分子-MDM2 结合方式, 讨论构效关系, 从而设计、合成新颖的具 p53-MDM2 结合抑制活性的先导化合物。

1 实验部分

1.1 计算方法

本实验所有工作均在美国 Tripos 公司的分子

模拟软件包 Sybyl 6.9 上完成。化合物的结构输入和优化采用 Sybyl 6.9 中的 Build/Edit 下的 Sketch 程序。除特别指出外, 计算中所用参数均为 Sybyl 缺省值。

1.1.1 化合物结构分析 所选化合物的活性数据, 均为荧光偏振实验所测 p53-MDM2 结合抑制活性, 由于其数据在数量级上差别较大, 为使这些数据具有可比性, 笔者采用其负对数 pIC_{50} ($-\log IC_{50}$) 进行模型拟合, 结果见表 1。其中, 不带 * 号的 21 个分子为训练集, 用来建立 3D-QSAR 模型及检验其可靠性。其余带 * 号的 7 个分子为随机选取的测试集, 能够进一步检验模型的预测能力。其结构有如下特点: ①含异喹啉母核, 并且 8 位有反式取代对氯苯环; ②取代苯环上 X、Y 原子各不相同, 取代基 R 也不同。

1.1.2 分子的活性构象确定及叠合 构建所得分子载入 Gasteiger-Hückle 电荷, 然后进行能量最小化操作, 采用 Tripos 标准力场 power 法进行能量优化, 收敛限定为 $0.005 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{nm}^{-1}$, 最大迭代次数为 1 000 次。以活性最高的化合物 11 为模型模板, 并根据该类化合物的公共刚性骨架, 见图 1, 对所有分子进行叠合, 叠合结果见图 2。

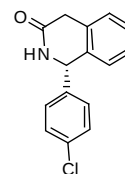


图 1 模型分子基本骨架

Fig 1 The common structure of the training set

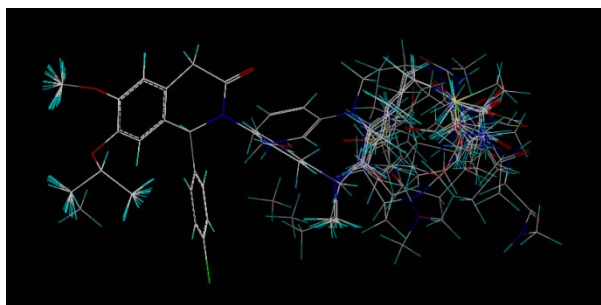


图2 训练集化合物的分子叠合图

Fig 2 Alignment of all compounds used in the training set

1.1.3 比较分子力场分析(CoMFA)与偏最小二乘

表1 异喹啉衍生物训练集和测试集化合物 pIC₅₀ 实验值与预测值结果

Tab 1 Experimental and CoMFA-predicted pIC₅₀ values of isoquinolinone derivatives in both training set and test set

Compd. No.	X	Y	R ₁	R ₂	R ₃	pIC ₅₀				
						Act.	Predicted			
							CoMFA	Res.	CoMSIA	Res.
1	C	C	Et		H	8.72	8.689	0.031	8.644	0.076
2	C	C	Me		H	8.60	8.606	-0.006	8.603	-0.003
3	C	C	Me		H	8.57	8.559	0.011	8.617	-0.047
4	C	C	Me		H	8.44	8.473	-0.033	8.435	0.005
5	C	C	Me		H	8.31	8.316	-0.006	8.314	-0.004
6	C	C	Me		H	8.80	8.806	-0.006	8.800	0
7	C	C	Me		H	8.54	8.528	0.012	8.512	0.028
8	C	C	Me		H	8.48	8.500	-0.020	8.503	-0.023
9	C	C	Me		H	8.20	8.217	-0.017	8.218	-0.018
10	C	C	Me		H	8.44	8.450	0.290	8.446	0.294

法(PLS)分析 将叠合好的分子放入程序自动生成的网格中,以 sp^3 杂化的 C^+ 为探针,以 0.2 nm 为步长移动,每移动一步就计算探针和分子之间的立体场能与静电场能,能量闭值均为 $30 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。使用 Leave one out 交叉验证得到交叉验证的 q^2 ,确定最佳组分数 N ,然后在最佳组分数下建立非交叉验证测试,得到 CoMFA 模型。

实验所得 CoMFA 模型的统计学参数见表 2,结果显示,模型静电场的贡献值约为立体场贡献值的 1.2 倍,说明静电场对该类化合物的活性的影响较前者大。

续表 1

Compd. No.	X	Y	R ₁	R ₂	R ₃	pIC ₅₀				
						Act.	Predicted			
							CoMFA	Res.	CoMSIA	Res.
11	C	C	Me		H	8.85	8.836	0.014	8.845	0.005
12	C	C	Me		H	7.48	7.489	-0.009	7.496	-0.016
13	C	C	Me		H	6.66	6.655	0.005	6.636	0.024
14	C	C	Me		H	7.67	7.691	-0.021	7.662	0.008
15	C	C	Me		H	7.00	6.972	0.028	6.994	0.006
16	C	C	Me		H	6.98	6.986	-0.006	7.005	-0.025
17	C	C	Me		H	8.85	8.838	0.012	8.876	-0.026
18	C	N	Me		H	8.33	8.325	0.005	8.338	-0.008
19	C	N	Me		H	8.15	8.142	0.008	8.145	0.005
20	N	C	Me		H	8.77	8.764	0.006	8.753	0.017
21	C	C	Me		H	6.14	6.198	0.212	6.307	0.103
22*	C	C	Me		H	7.46	7.349	0.111	7.639	-0.179
23*	C	C	Me		OMe	8.70	8.456	0.244	8.319	0.381
24*	C	C	Me		H	8.74	8.654	0.086	8.405	0.335
25*	C	C	Me		H	9.10	8.588	0.512	8.757	0.343
26*	C	N	Me		H	8.11	8.497	-0.387	8.364	-0.254
27*	C	N	Me		H	8.24	8.466	-0.226	8.443	-0.203
28*	N	C	Me		H	8.39	8.723	-0.333	8.904	-0.514

表 2 CoMFA 模型的交叉验证结果

Tab 2 Cross-validated analyses of the CoMFA model method

模型	SE	组分数	q^2	r^2	F	场贡献值	
						立体场	静电场
CoMFA	0.141	4	0.545	0.984	159.180	0.464	0.536

q^2 : 留一法(LOO)交叉验证相关系数; ONC: 最优组分数; r^2 : 非线性回归相关系数; SE: 标准误差; F: F-测试值

q^2 : LOO cross-validated correlation coefficient; ONC: optimum number of components; r^2 : non cross-validated correlation coefficient; SE: standard error of estimate. F: F-test value.

用此 CoMFA 模型对 7 个预测集分子进行活性预测, 并检验其可靠性。训练集 21 个化合物和测试集 7 个化合物的实验值和模型预测值, 结果见表 1, 相关性散点图见图 3A。训练集和测试集数据点拟合直线的 R^2_{pre} 为 0.983 9, 且点基本都在直线附近集中, 说明所建立的 CoMFA 模型可靠, 估值能力和预测能力良好。

1.1.4 CoMSIA 分析 为保证模型可比性, 运用同一集合分子作为训练集和预测集进行 CoMSIA 模型构建。涉及的相互作用场为: 静电场、立体场、疏水场、氢键给体及氢键受体作用^[11], 模型结果见表 3, 训练集和测试集化合物的实验值与模型预测值的相关散点图见图 3B。该模型中, 静电场的贡献高于其他场的贡献, 说明该效应对化合物的活性的影响较大。

用此 CoMSIA 模型对 7 个预测集分子进行活

表 3 CoMSIA 模型的交叉验证结果

Tab 3 Cross-validated analyses of the CoMSIA model

模型	SE	组分数	q^2	r^2	F	场贡献值				
						立体场	静电场	疏水场	氢键给体	氢键受体
CoMSIA	0.154	5	0.528	0.972	103.093	0.064	0.349	0.201	0.135	0.251

q^2 : 留一法(LOO)交叉验证相关系数; ONC: 最优组分数; r^2 : 非线性回归相关系数; SE: 标准误差; F: F-测试值

q^2 : LOO cross-validated correlation coefficient; ONC: optimum number of components; r^2 : non cross-validated correlation coefficient; SE: standard error of estimate. F: F-test value.

2 结果与讨论

2.1 CoMFA 结果讨论

CoMFA 的等值线图对修饰化合物结构给出了半定量的信息。以 10 号化合物作为模板, 显示 CoMFA 模型立体场系数等势图和静电场系数等势图见图 4。其中绿和黄区代表立体场对化合物活性的影响, 在绿色区域引入大体积基团可提高活性, 黄区则相反。从结果中看出, 在侧链一侧引入大取代基团可能对活性有利, 而另一侧不利于大体积基团引入; 红和蓝色区域代表静电场对化合物

性预测, 并检验其可靠性。训练集 21 个化合物和测试集 7 个化合物的实验值和模型预测值见表 1, 相关性散点图见图 3B。训练集和测试集数据点拟合直线的 R^2_{pre} 为 0.985 8, 且点基本都在直线附近集中, 表明该 CoMSIA 模型同样具有较好的拟合和预测能力。

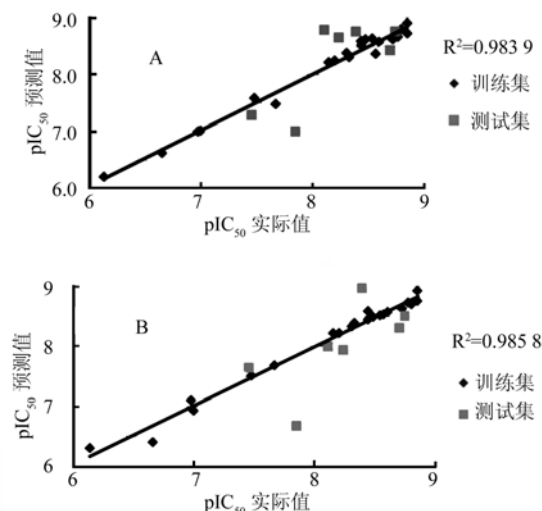


图 3 训练集和测试集化合物的实验值与 CoMFA 模型(A)及 CoMSIA 模型(B)预测值的相关散点图

正方形代表 21 个训练集化合物; 菱形代表 7 个测试集化合物

Fig 3 Correlation scatter of training set and test set compounds experimental values with CoMFA model (A) and CoMSIA models (B) predictive value

Squares indicate the 21 compounds in the training set; diamond indicate the 7 compounds in the test set

活性的影响, 结果显示, 在蓝区引入正电荷基团可得较高的化合物活性, 而在红区则引入带负电荷的基团对活性有利, 该模型中, 由于侧链附近有大片红色区域, 则推测引入吸电子基团可使活性升高。

但 CoMFA 是立体场和静电场的综合模型, 两者信息交错, 单一考虑基团替换, 效果并不理想, 因此, 需综合考虑整取代基上静电场和立体场的综合作用。该 CoMFA 模型从理论上解释了构效关系, 且为今后此类分子设计和结构改造提供了初

步理论依据。

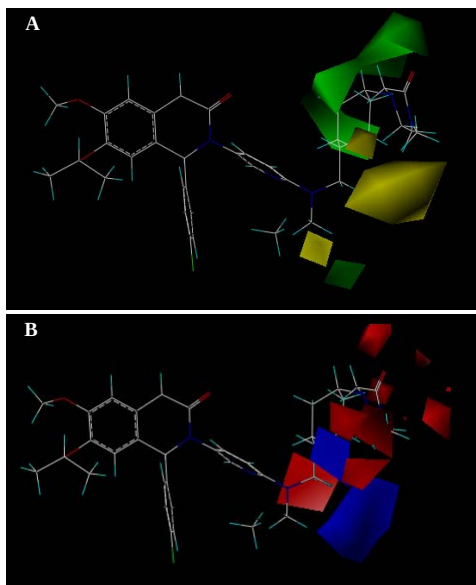


图4 CoMFA 模型立体场系数等势图(A): 绿色/黄色区域分别表示该区域引入大体积基团能够增强/减弱活性。CoMFA 模型静电场系数等势图(B): 红色/蓝色区域分别表示该区域引入电负性基团能够增强/减弱活性。

Fig 4 CoMFA contour maps for the (A) steric field: Green/yellow contours indicate regions where steric bulky groups increase/decrease activity. (B) Electrostatic field: Red/blue contours indicate regions where negative charge increase/decrease activity. Favored and disfavored levels of these displayed fields are fixed at 80% and 20%, respectively.

2.2 CoMSIA 结果讨论

为使 CoMSIA 与 CoMFA 结果具有可比性, 同样选择 10 号化合物作为模板进行分析。立体场等势图(图 5A)显示侧链周围有大块黄色区域, 说明在该区域减小基团位阻可能有利于活性; 静电场等势图(图 5B)中有大块红色区域, 说明增加带负电荷的基团可能增强活性, 该结果与 CoMFA 结果一致; 疏水场等势图(图 5C)中黄色区域表示引入疏水基团有利于化合物活性的提高, 白色区域相反, 说明在侧链引入疏水基团不利于活性保持; 氢键给体场等势图(图 5D)中紫色区域表示氢键给体不利于化合物的活性提高, 青色区域相反, 显示在母核引入氢键受体可能提高活性。氢键受体场等势图(图 5E)中洋红色区域表示氢键受体原子有利于化合物活性提高, 红色区域相反。综上所述, CoMSIA 模型是较 CoMFA 模型更为复杂精确的模型, 对于该类分子的设计尤其是对设计侧链基团的引入具有更好的参考价值。

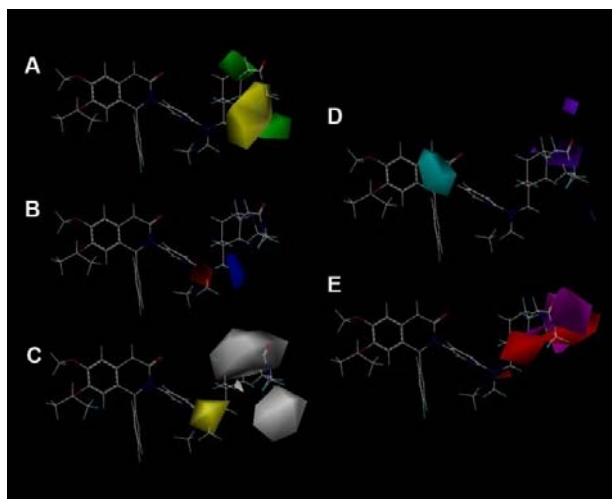


图5 (A)CoMSIA 立体场等势图: 绿色/黄色区域分别表示该区域引入大体积基团能够增强/减弱活性; (B)CoMSIA 静电场等势图: 红色/蓝色区域分别表示该区域引入电负性基团能够增强/减弱活性; (C)CoMSIA 疏水场等势图: 黄色/白色区域分别表示该区域引入疏水性基团能够增强/减弱活性; (D)CoMSIA 氢键给体场等势图: 绿色/紫色区域分别表示该区域引入氢键供体能够增强/减弱活性; (E)CoMSIA 氢键受体场等势图: 粉色/红色区域分别表示该区域引入氢键受体能够增强/减弱活性

Fig 5 CoMSIA contour maps for the: (A)Steric field: Green/ yellow contours indicate regions where steric bulky groups increase/decrease activity; (B):Electrostatic field: Red/blue contours indicate regions where negative charge increase/decrease activity; (C): Hydrophobic field: Yellow/white contours indicate regions where hyrdophobic groups increase/decrease activity; D: Hydrogen donner field: Cyan/purple contours indicate regions where hydrogen donner groups increase/decrease activity; E: Hydrogen acceptor field: Megenta/red contours indicate regions where hydrogen acceptor groups increase/decrease activity. Favored and disfavored levels of these displayed fields are fixed at 80% and 20%, respectively

2.3 化合物设计及其活性预测

基于以上 CoMFA 以及 CoMSIA 构效关系的研究结果, 可见静电场对本系列化合物分子的活性影响较大, 因此考虑引入吸电子基团, 如硝基、氯原子、三氟甲基、羧基等负电基团, 综合立体场的结果, 去掉 10 号化合物中的 N-甲基, 设计得到化合物 29-32。

CoMSIA 疏水场等势图中显示, 化合物 10 的 N, N-二乙酰氨基附近有大块白色区域, 即连入疏水基团可使化合物活性增加, 综合考虑静电场、立体场等因素, 引入硝基、氰基, 拟设计化合物 33-34。考虑氢键受体场对结果影响显著, 因此,

综合静电场、立体场等因素引入氢键受体羰基，设计得化合物 35-36(图 6)。

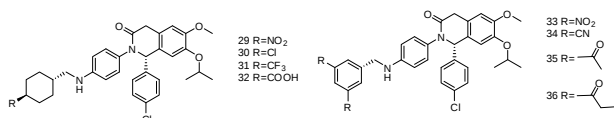


图 6 根据模型所设计的新型小分子

Fig 6 The designed new molecules with modifications on phenyl groups.

3 结论

应用 3D-QSAR 方法分别对一系列具有异喹啉酮结构的 p53-MDM2 结合抑制剂进行了结构与活性的研究，得到了具较高预测及拟和能力的 CoMFA 和 CoMSIA 模型，两者结论基本一致，但 CoMSIA 模型得到的结论更参考价值，结合五大场信息给出了满足高活性化合物的基本因素，其中静电场和氢键受体场影响较大，立体场影响较小，该模型为设计、合成高活性的小分子 p53-MDM2 结合抑制剂提供了理论依据。

REFERENCES

- [1] FAKHARZADEH S S, ROSENBLUM-VOS L, MURPHY M, et al. Structure and organization of amplified DNA on double minutes containing the MDM2 oncogene [J]. Genomics, 1993, 15(2): 283-290.
- [2] FREEDMAN D A, WU L, LEVINE A J. Functions of the MDM2 oncoprotein [J]. Cell Mol Life Sci, 1999, 55(1): 96-107.
- [3] MOMAND J, ZAMBETTI G P, OLSON D C, et al. The MDM2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation [J]. Cell, 1992, 69(7): 1237-1245.
- [4] BOND G L, HU W W, LEVINE A J. MDM2 is a central node in the p53 pathway: 12 years and counting [J]. Curr Cancer Drug Targets, 2005, 5(1): 3-8.
- [5] CHENE P, FUCHS J, BOHN J, et al. A small synthetic peptide, which inhibits the p53-MDM2 interaction, stimulates the p53 pathway in tumour cell lines [J]. J Mol Biol, 2000, 299(1): 245-253.
- [6] GARCÍA-ECHEVERRÍA C, CHENE P, BLOMMERS M J J, et al. Discovery of potent antagonists of the interaction between human double minute 2 and tumor suppressor p53 [J]. J Med Chem, 2000, 43(17): 3205-3208.
- [7] DUNCAN S J, GRUSCHOW S, WILLIAMS D H, et al. Isolation and structure elucidation of chlorofusin, a novel p53-MDM2 antagonist from a fusarium sp [J]. J Am Chem Soc, 2001, 123(4): 554-560.
- [8] KLEIN C, VASSILEV L T. Targeting the p53-MDM2 interaction to treat cancer [J]. Br J Cancer, 2004, 91(8): 1415-1419.
- [9] WANG S M, DING K, LU Y P, et al. Structure-based design of potent, non-peptide small-molecule inhibitors of the MDM2-p53 interaction starting from an inactive lead [J]. Abstracts of Papers of the American Chemical Society, 2005, 230: U2700-U2700.
- [10] DING K, LU Y, NIKOLOVSKA-COLESKA Z, et al. Structure-based design of potent non-peptide MDM2 inhibitors [J]. J Am Chem Soc, 2005, 127(29): 10130-10131.
- [11] LU P, XIA W, ZHANG R S. CoMFA and CoMSIA 3D-QSAR studies on quionolone carboxylic acid derivatives inhibitors of HIV-1 integrase [J]. Eur J Med Chem, 2010, 45(8): 3413-3419.
- [12] GUGAN K, CHANGDEV G G, THIRUMURTHY M, et al. Binding site analysis of CCR2 through in silico methodologies: docking, CoMFA, and CoMSIA [J]. Chem Biol Drug Des, 2011, 78(1): 161-174.
- [13] BERGHAUSEN J, BUSCHMANN N, FURET P, et al. Substituted isoquinolines and quinoxalines: US, PCT/EP2010/070364 [P]. 2011-06-30.

收稿日期: 2012-11-30

半仿生-酶法提取甘草中甘草酸的工艺研究

张卉, 赵婷婷, 戴柳江, 尤晓娟, 郭增军* (西安交通大学医学院药理学系, 西安 710061)

摘要: 目的 研究半仿生-酶法提取甘草中甘草酸的最佳工艺。方法 分别采用β-葡聚糖酶, 果胶酶, 提取用酶, 纤维素酶以及半仿生-纤维素酶对甘草进行提取, 通过高效液相色谱法检测甘草酸得率。以甘草酸得率和干膏收率为考察指标, 对半仿生酶法进行正交试验优化。结果 该法的最佳提取条件为提取温度 80 ℃, 料液比 1:18, 提取时间为 2 h。结论 半仿生-纤维素酶提取甘草酸的方法经济有效, 可作为甘草酸提取工艺应用。

关键词: 甘草; 甘草酸; 半仿生-酶法; 提取工艺

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)09-0969-04

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81172957)

作者简介: 张卉, 女, 博士, 讲师 Tel: (029)82655137
教授 Tel: (029)82655133 E-mail: guozj@mail.xjtu.edu.cn

E-mail: zhanghuilinda@mail.xjtu.edu.cn

*通信作者: 郭增军, 男, 博士,