毒蕈碱受体激动剂的三维定量构效关系研究*

朱 军 牛 彦 吕 雯 雷小平

(北京大学药学院药物化学系, 北京 100083)

摘要 采用比较分子场分析法(CoMFA)研究了 55 个四氢吡啶类毒蕈碱受体激动剂的三维定量构效关系(3D-QSAR), 建立了具有较强预测能力的 3D-QSAR 模型. 所得模型的交叉验证相关系数(q^2)为 0.507, 常规相关系数(R^2)为 0.982, 标准方差为 0.218, 说明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存在良好的相关性. 模型不仅很好地预测了训练集和测试集化合物的活性, 而且为设计活性更高的受体激动剂提供了理论依据.

关键词: M_1 受体, 激动剂, 比较分子场分析法, 构效关系

中图分类号: O641, R914

阿尔茨海默型老年痴呆症(Alzheimer's disease, AD) 是一种病因不明的原发性脑部退行性疾病, 是老年人的多发病和常见病, 已经成为全世界所面临的一大问题. 虽然其发病机制尚不明确, 但从众多的病例中发现, 胆碱能神经元的退化是造成痴呆的重要病理因素^[1]. 在脑胆碱能神经元突触的膜上存在着对大脑记忆有重要作用的毒蕈碱受体(Muscarinic receptor, M 受体), 它具有 5 种亚型, 其中以 M_1 受体与 AD 的关系最为密切. 研究表明^[2-4], M_1 受体激动剂不但能直接兴奋胆碱受体, 提高神经系统功能, 还可以增加 β 淀粉样前体蛋白代谢, 降低 tau 蛋白过度磷酸化以及抑制神经细胞凋亡, 能明显改善症状, 延缓病程发展. 因此, 设计有效并有选择性的 M_1 受体激动剂对于 AD 的治疗和预防研究具有十分重要的意义. 然而作为膜蛋白的 M_1 受体是具有七个跨螺旋结构的膜结合受体, 分离和纯化结晶相当困难, 迄今为止尚未看到在三维水平上对 M_1 受体激动剂进行定量构效关系(QSAR)研究的报道. 本研究利用比较分子场分析法(CoMFA)^[5], 在三维立体空间研究了一组四氢吡啶类 M_1 受体激动剂的构效关系, 为更深入地设计新的激动剂提供了一定的理论指导.

1 实验部分

所有计算均在 SGI Silicon Graphics O₂ 计算机工作站上进行, 所用程序为 Tripos 公司的 Sybyl 6.4

分子设计软件包^[6]. 计算过程所涉及到的参数除特别指明外, 均为缺省值.

1.1 化合物的选择

评价 M_1 受体激动剂活性的方法有多种, 本研究选用目前使用较多并认可的 [³H]-Oxo-M (tritiated oxotremorine-M)^[7] 为活性衡量指标, 在严格考察化合物活性数据的基础上, 选择了 55 个化合物(表 1)进行 CoMFA 研究^[7-10]. 这些化合物的活性数据测定条件相同, 药理模型和对照品一致, 数据具有可比性. 在具体计算时, 随机选取 5 个化合物 (表 1 中编号为 4、18、33、47、53) 作为测试集来评价模型的预测能力, 其余 50 个化合物作为训练集产生 3D-QSAR 模型. 55 个化合物的基本结构分为 A、B、C、D、E 五类, 采用的活性数据形式经过 $5-\lg IC_{50}$ (IC_{50} 为半数抑制浓度) 变换, 这种变换不影响模型的内在规律. 所选用的化合物结构和活性见表 1.

1.2 活性构象确定

由于 CoMFA 研究涉及到化合物分子的三维结构, 因此其先决条件是分子构象的选取, 即确定各个化合物的药效构象对 QSAR 研究的影响很大. 因作为膜蛋白的 M_1 受体至今仍未成功阐明其真实的三维晶体结构, 无法得到药物与受体结合的活性构象, 且本文所研究的四氢吡啶类化合物刚性较强, 故采用分子的最低能量构象作为最可能的药效构象, 以活性较佳, 临床研究较多的 Xanomeline(表 1 中编号

2005-04-20 收到初稿, 2005-06-13 收到修改稿. 联系人: 雷小平 (E-mail: leixp@bjmu.edu.cn; Tel: 010-82801505; Fax: 010-62015584)

*国家自然科学基金(30271538)资助项目

表 1 M_1 受体激动剂活性实测数据及 3D-QSAR 模型计算结果Table 1 Experimental and calculated biological activity of M_1 agonists, using the 3D-QSAR model

No.	Basic structure	R	R1	5-IgIC ₅₀ ^a		No.	Basic structure	R	R1	5-IgIC ₅₀ ^a	
				Expt.	Cal.					Expt.	Cal.
1	A	OMe	H	3.66	3.49	29	A	Cl	H	3.97	3.92
2	A	OEt	H	4.24	4.30	30	B	O- <i>n</i> -Bu		2.26	2.00
3	A	O- <i>n</i> -Pr	H	4.80	4.73	31	C	O- <i>n</i> -Bu		2.12	2.16
4 ^c	A	O- <i>n</i> -Bu	H	4.85	4.52	32	D	O- <i>n</i> -Bu		2.32	2.37
5	A	O- <i>n</i> -pentyl	H	4.70	4.49	33 ^c	E	O- <i>n</i> -Bu		3.62	3.07
6	A	O- <i>n</i> -hexyl	H	4.01	4.45	34	E	O- <i>n</i> -hexyl		3.08	3.00
7	A	O- <i>n</i> -heptyl	H	4.21	4.26	35	A	O- <i>n</i> -hexyl	4-Me	3.00	3.05
8	A	O- <i>n</i> -octyl	H	3.52	3.48	36	A	OMe	4-Me	2.00	1.96
9	A	O-4-Mepentyl	H	4.10	4.11	37	A	O- <i>n</i> -hexyl	6-Me	4.22	4.11
10	A	O-3-Mepentyl	H	4.00	3.94	38	A	OEt	6-Me	3.96	3.95
11	A	O-2-Mepentyl	H	3.89	3.89	39	A	O- <i>n</i> -Bu	6-Me	4.05	4.16
12	A	O-1-Mepentyl	H	4.15	4.18	40	A	O- <i>n</i> -pentyl	6-Me	4.05	4.13
13	A	SMe	H	4.64	4.51	41	A	O-4-pentenyl	6-Me	4.00	4.02
14	A	SEt	H	4.72	4.82	42	A	O-3-hexynyl	6-Me	4.22	4.30
15	A	S- <i>n</i> -Pr	H	5.05	5.00	43	A	O- <i>n</i> -hexyl	ring ^b	2.00	1.96
16	A	S- <i>n</i> -Bu	H	4.77	4.72	44	A	O- <i>n</i> -hexyl	2-Me	3.08	3.08
17	A	S- <i>n</i> -pentyl	H	4.32	4.34	45	A	O- <i>n</i> -hexyl	5-Me	3.85	3.52
18 ^c	A	S- <i>n</i> -hexyl	H	4.19	4.29	46	A	OMe	5-Me	2.22	2.49
19	A	S- <i>n</i> -heptyl	H	4.52	4.47	47 ^c	A	O- <i>n</i> -Pr	5-Me	3.77	3.79
20	A	S- <i>n</i> -octyl	H	2.85	2.92	48	A	O-CH ₂ Ph	H	4.10	4.12
21	A	<i>n</i> -Pr	H	3.10	3.10	49	A	O-(CH ₂) ₂ Ph	H	3.82	3.81
22	A	<i>n</i> -pentyl	H	2.84	2.82	50	A	O-(CH ₂) ₃ Ph	H	3.88	3.88
23	A	<i>n</i> -heptyl	H	2.73	2.77	51	A	O-(CH ₂) ₄ Ph	H	3.70	3.66
24	A	<i>n</i> -octyl	H	2.37	2.37	52	A	O-CH ₂ C≡CPh	H	4.07	3.97
25	A	S(O)- <i>n</i> -hexyl	H	2.96	2.98	53 ^c	A	S-CH ₂ Ph	H	4.23	4.66
26	A	S(O)2- <i>n</i> -hexyl	H	3.54	3.52	54	A	S-(CH ₂) ₂ Ph	H	3.64	3.62
27	A	NH- <i>n</i> -hexyl	H	3.22	3.23	55	A	S-(CH ₂) ₃ Ph	H	4.89	4.93
28	A	H	H	4.70	4.72

a) IC₅₀(nmol·L⁻¹): [³H]-Oxo-M (tritiated oxotremorine-M)^[7], the affinity for the agonist conformational state of the muscarinic receptor sites;

M₁ = Muscarinic receptor subtype 1; b) A cyclohexane ring was fused to the tetrahydropyridine between the 5 and 6 positions;

c) the compounds in the test set

为 6)^[11] 作为模板分子. 其起始构象是在 Sybyl 6.4 “Build/Edit”模块下的“sketch molecular”中建立, 先用 Powell 方法进行优化, 能量收敛限定为 0.0042 kJ·mol⁻¹, 优化次数为 1000, 部分原子电荷用 Gasteiger-Hückel 方法计算, 再用系统构象搜索选取模板分子的最低能量构象, 最后再用 Powell 方法进行一次优化的结果作为最终的分子构象. 其它化合物以 Xanomeline 为模板, 取代相应的基团和原子后, 构建成相应结构, 以同样条件优化后, 作为其活性构象.

1.3 分子叠合

分子叠合也是 CoMFA 方法中的关键一步, 对于所建立的三维构效关系模型质量有重要影响. 当活性构象确定后, 一般根据一定的规则, 如药效团、力场等进行分子叠合. 本文选 Xanomeline 的构象作为模板分子进行分子叠合. 综合考虑所研究化合物活性基团要求的核心结构^[7, 12-13], 以确保药效团在空间的分布具有相同性. 此外由于化合物类型较为单一, 且分子骨架刚性较强, 故可选择吡啶环的 N1、C3, 噻二唑环上的 S1、N2、N5(表 1 注释中 A 结构带星号的

原子) 和噻二唑环侧链 R 的首个原子共六个原子为叠合位点, 用 Fit Atoms 模块分别将其余训练集化合物与模板分子进行骨架叠合。

1.4 CoMFA 分析

CoMFA 分析在 Sybyl 6.4 软件包的 QSAR 模块中进行. 分析力场包括静电场和立体场, 对应探针原子分别选用 H^+ 和 sp^3 杂化的 C^+ 原子. 采用偏最小二乘法(PLS), 对分子周围分布的势场值和生物活性进行回归分析. 先以交叉验证抽一法(leave-one-out)来确定模型的最佳主成分数和交叉验证的相关系数, 再用非交叉验证法来建立最终的比较分子场模型. PLS 分析中, 为了减少回归计算的噪音, 柱滤值(column filtering)设为 $2.1 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

2 结果与讨论

2.1 CoMFA 模型

CoMFA 所得模型的统计学参数为: 交叉验证相关系数 $q^2=0.507$, 最佳主成分数为 12; 由最佳主成分数进行非交叉验证建立的 CoMFA 模型的常规相关系数(R^2)为 0.982, 标准方差(SEE)为 0.218, 立体场和静电场的贡献值分别为 71.3% 和 28.7%. 一般认为^[6,14], q^2 大于 0.4 时, 所得模型具有可信的预报能力, 非交叉验证的 R^2 大于 0.9 时, 表明模型有很好的自身一致性. 图 1 为训练集中 50 个化合物和测试集中 5 个化合物的活性实测值与预测值的关系, 可以看出线性关系均很理想(图 1 中直线斜率为 1), 证明所建 CoMFA 模型可靠, 具有较强的预测能力; 而从对随机挑选的预测集化合物 4、18、33、47、53 的活性预测(见表 1)来看, 实测值与预测值之间的残差很小, 这也进一步证明此模型具有很好的预测能力。

图 1 M_1 受体激动剂的活性实测值和 CoMFA 预测值关系图

Fig.1 CoMFA Predicted vs experimental activities of M_1 agonists

图 2 CoMFA 立体场分布图

Fig.2 View of the CoMFA steric field graph with Xanomeline

2.2 CoMFA 的等值面图

图 2 和图 3 分别显示了叠合分子周围立体场和静电场的分布情况, 图中参照分子均为 Xanomeline. 图 2 中 A、B 区域表示重要的立体特征, 在 A 区域增加基团的体积或在 B 区域减少基团的体积, 可获得较高活性的化合物. 图 3 的 C、D 区域则表示重要的静电场特征, 在 C 区域引入负电性基团或在 D 区域增加正电性基团都有利于提高化合物的活性。

2.3 关于模型的讨论

由图 2 可看到, 化合物周围以 A 区域为主; 尤其在噻二唑环侧链处有一块很大的 A 区域, 说明此处存在体积较大的取代基, 这对提高化合物的活性非常有利. 但侧链取代基不可无限伸长, 应在一定的范围之内, 否则会降低化合物的活性, 这从模型的侧链远端有一小块 B 区域可反映出来. 具体而言(见表 1), 当噻二唑环侧链有丁基、戊基、己基等基团结构时, 化合物的活性相对较高(如化合物 4、5、6、16、17、18), 而当变为甲基、乙基等小基团(如化合物 1、2、13、36、46) 或辛基等大基团时(如化合物 8、20、24), 化合物的活性则会有不同程度的下降. 从现有合成的化合物来看^[7], 在噻二唑环侧链处具有 4~6 个碳链长度的烷基结构, 对增大活性较为有利, 如活性较强

图 3 CoMFA 静电场分布图

Fig.3 View of the CoMFA electrostatic field graph with Xanomeline

的化合物 6^[11]已进入临床研究阶段. 另外, 在图 2 中还可看到, 四氢吡啶环上不同位置的连接基团对活性亦有不同的影响, 其中, 四氢吡啶环 2 位的 B 区域表明此处引入基团将降低化合物的活性(如化合物 44), 而 5 位的 A 区域则预示 5 位引入基团对活性影响不大(如化合物 45). 这个结果也与已有的文献报道相一致^[9]. 与立体场比较, 静电场在分子场中所占的比例相对较小, 从其等值面图中的 C 区域可发现, 噻二唑环上有电荷丰富的杂原子(S、N 原子)和噻二唑环侧链的首个原子呈负电性(O、S 原子)都有利于活性的提高(如化合物 4 比化合物 30、31、32 的活性要高; 化合物 5、7、17、19 的活性也优于化合物 22、23). 静电场等值面图中的 D 区域则表明噻二唑环侧链的烷基链上有吸电子基团也有利于提高活性(如化合物 52 的活性高于化合物 50、51). 上述均与文献报道的作用机制相符^[12-13], 报道认为连接在噻二唑环上的烷基链长度对 M₁ 有十分重要的作用, 它不仅能与受体上的疏水口袋发生亲脂性结合, 而且还与受体跨膜部分的一个 α 螺旋的亲脂部分相接近, 稳定受体的活化构象; 同时噻二唑环上的氮原子电荷丰富, 能和 M₁ 受体上的 Asn382 和 Thr192 形成氢键. 硫原子的作用则是增加氮原子的电子云密度, 从而使氮原子形成的两个氢键更加稳定; 而噻二唑环侧链首位是 O、S 等负电性原子, 则可以使侧链以最优的构象参与同受体的成键和活化过程, 与相同长度的烷基链化合物相比, 更有利于活性的提高.

从 CoMFA 所得的预测结果来看, 计算值与实测值吻合较好, 模型具有很好的预测能力, 可作为 QSAR 研究的有力工具. CoMFA 的分析结果揭示了化合物要保持高活性需要满足的静电和立体要求, 这为设计研究新的 M₁ 受体激动剂提供了思路.

References

- Iverson, L. L. *Trends. Pharmacol. Sci.*, **1986**(Supply): 47
- Avery, E. E.; Baker, L. D.; Asthana, S. *Drugs Aging*, **1997**, **11**(6): 450
- Delapp, N. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1998**, **244**(1): 156
- Wilcock, G. K. *Acta Neurol Scand.*, **1996**, **165** ((Supply): s1
- Cramer, R. D.; Patterson, D. E.; Bunce J. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, **110**: 5959
- SYBYL, version 6. 4. St. Louis MO: Tripos Associates, 1998
- Sauerberg, P.; Olesen, P. H.; Nielsen, S. *J. Med. Chem.*, **1992**, **35**: 2274
- Sauerberg, P.; Olesen, P. H.; Suzdak, P. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1992**, **2**: 809
- Quimby, S. J.; Shannon, H. E.; Bymaster, F. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1994**, **4**: 2205
- Sauerberg, P.; Jeppesen, L.; Olesen, P. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, **8**: 2897
- Shannon, H. E.; Bymaster, F. P.; Calligaro, D. O. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1994**, **289**: 271
- Ward, J. S.; Merritt, L.; Klimkowski, V. J. *J. Med. Chem.*, **1992**, **35**: 4011
- Ward, J. S.; Merritt, L.; Calligaro, D. O. *J. Med. Chem.*, **1998**, **41**: 379
- Peng, T.; Pei, J. F.; Zhou, J. J. *Chem. J. Chin. Univ.*, **2003**, **24**(6): 1076 [彭涛, 裴剑锋, 周家驹. 高等学校化学学报 (*Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao*), **2003**, **24**(6): 1076]

Studies on Three-dimensional QSAR of Muscarinic Receptor Agonists*

ZHU, Jun NIU, Yan LÜ, Wen LEI, Xiao-Ping

(School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100083)

Abstract Three dimensional structure-activity relationship of 55 muscarinic receptor agonists were studied using comparative molecular field analysis (CoMFA) technique. The relationship between the activities and structures was significant with cross-validated value (q^2), non-cross-validated value (R^2) and standard error of estimate (SEE) of 0.507, 0.982 and 0.218, respectively. The result indicated that there is a good correlation between the distribution of molecular steric and electrostatic field and bioactivity. This model can not only well predict the activity of the compound in the training set and test set, but also contribute to gain further insights into the requirements for potential agonists and rational design of novel molecules based on the CoMFA contour plots.

Keywords: M₁ receptor, Agonists, CoMFA, Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

Received: April 20, 2005; Revised: June 13, 2005. Correspondent: LEI, Xiao-Ping (E-mail: leixp@bjmu.edu.cn; Tel: 010-82801505; Fax: 010-62015584). *The Project Supported by NSFC(30271538)