

• 研究论文 •

拮抗状态下 α_{1A} , α_{1B} 和 α_{1D} -肾上腺素能受体的分子模拟研究

李敏勇^{a,b} 卢景芬^b 夏霖^{*,a}

(^a 中国药科大学 药物化学教研室 南京 210009)

(^b 北京大学 天然药物与仿生药物重点实验室 北京 100083)

摘要 采用同源建模法对 α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR 的三维结构进行了模拟, 并采用分子力学、分子动力学方法对所得同源模型进行优化, 然后分别采用训练集拮抗剂对接的方法得到拮抗状态下的 α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR 三维结构模型. 得到的模型再采用 FRED 对接软件对测试集中的 18 个化合物进行对接并打分, 再将所得打分结果与其活性进行线性回归, 其回归结果具有良好的拟合效果, 由此回归方程预测的活性与化合物实验值较吻合, 说明我们建立的拮抗状态下的 α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR 的三维同源模型具有一定的合理性, 可作为化合物虚拟筛选模型, 对新化合物进行对接虚拟筛选.

关键词 肾上腺素能受体; 拮抗剂; 同源模型; 分子模拟; 分子对接

Receptor-based Molecular Modeling Study on Antagonist-Bound Human α_{1A} , α_{1B} and α_{1D} -Adrenoceptors

LI, Min-Yong^{a,b} LU, Jing-Fen^b XIA, Lin^{*,a}

(^a Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

(^b National Research Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University, Beijing 100083)

Abstract This investigation was performed to present the construction of rough homology models, the refinement using molecular methanics and molecular dynamics, and the optimization of these models into “antagonist-bound” models using training set docking for α_{1A} -, α_{1B} - and α_{1D} -AR models. A test set consisting of 18 molecules was then docked into to obtained “antagonist-bound” models using FRED program. The docking scores and experimental affinities were analyzed by linear regression to obtain a good correlation. Consequently, this work highlights the rational construction for “antagonist-bound” α_{1A} -, α_{1B} - and α_{1D} -AR models. The knowledge of these models can be used for virtual screening to discover more novel potential molecules.

Keywords adrenoceptor; antagonist; homology model; molecular modeling; docking

近年来, 作为 G 蛋白偶联家族中的重要成员 α_1 -AR 的多样性在分子和药理的水平上都得到了诠释. 在分子水平上, 已经发现并克隆了人类 α_1 -AR 的三种亚型 α_{1a} , α_{1b} 和 α_{1d} , 在药理学上则对应为 α_{1A} , α_{1B} 和 α_{1D} . 三种亚型的 mRNA 都被发现在人类的前列腺中存在, 其中 α_{1a} 的含量为最高. 此外, 由去甲肾上腺素或苯肾上腺素诱导的人类前列腺收缩也被证实与 α_{1a} -AR 亚型的拮抗结

合有关^[1,2].

众所周知, 作为 G 蛋白偶联受体家族中的一员, α_1 -AR 的三维结构很难进行直接测定, 再加上 α_1 -AR 拮抗剂分子的结构存在多样性, 因此从配体结构的角度对 α_1 -AR 拮抗剂分子进行设计成为了此类化合物合理设计的主要内容, 如本小组曾经对 α_1 -AR 拮抗剂的 QSAR 和药效团模型进行研究^[3~6]. 但是近年来, 随着 G 蛋白偶

* E-mail: phenopro@cpu.edu.cn

Received December 16, 2004; revised April 23, 2005; accepted June 29, 2005.

863 计划(No. 2002AA2Z3118)和北京大学天然药物与仿生药物重点实验室基金资助项目.

联受体家族中的牛视紫红质的单晶结构被测出,以牛视紫红质的单晶结构为模板,采用同源蛋白法构建生物大分子的方法,可以间接地提供受体三维模型,从而使对 α_1 -AR拮抗剂进行基于受体结构的设计成为可能。

以往对于 α_{1A} -AR的研究表明,其跨膜螺旋(TM5)上的两个Ser残基比较重要。Wetzel等^[7]发现Ser 192,而不是Ser 188,对除niguldipine及其类似物外的激动剂和拮抗剂结合非常重要;Hwa等^[8]也发现将Ser 188和Ser 192同时突变为其它氨基酸,可降低肾上腺素对 α_{1A} -AR的亲和力,预示此两个Ser残基可能与肾上腺素的儿茶酚环结合;对于 α_{1B} -AR,突变结果证明Ser 208对激动剂的亲和力与功能无影响^[9];不同的 α_1 -AR亚型与肾上腺素儿茶酚芳环 π - π 结合的形式也不一样,将 α_{1A} -AR在TM5区域的Phe 193突变为Leu后,其与肾上腺素的结合能力显著降低,表示Phe 193可能为重要的 π - π 结合位点^[7];从Vaugh等^[10]研究结果可知, α_{1A} -AR TM7区域的Phe 308与Phe 312突变为其它氨基酸后, α_{1A} -AR与其拮抗剂如WB-4101, BMY-7378, (+)-niguldipine, 5-methylurapidil等的结合能力显著降低4~200倍,但与其苯乙胺类激动剂如epinephrine, methoxamine和phenylephrine的亲和力无显著变化,这预示着Phe 308与Phe 312可能为又一个 α_{1A} -AR重要的 π - π 结合位点。对于 α_{1B} -AR, TM6区域的Phe 310也可能为与肾上腺素儿茶酚芳环的 π - π 结合位点^[11]。

但是在与不同的配体(拮抗剂或激动剂)结合时,G蛋白偶联受体也呈现完全不同的构型,因此按照传统方法搭建的G蛋白偶联受体同源模型并不适合直接用于

虚拟筛选,直接生成的 α_1 -AR同源模型也是这样^[12]。因此在本文中我们考虑构建拮抗状态下 α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR的三维结构。首先采用同源建模法对 α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR的三维结构进行了模拟,并采用了分子力学、分子动力学方法对所得同源模型进行修饰,然后分别采用训练集中各个亚型受体的代表性拮抗剂进行拮抗剂-受体复合物的搭建,以模拟出拮抗状态下的 α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR的三维结构。所得到的模型再采用FRED对接软件对测试集中的分子进行对接并且打分,然后将所得打分结果与其活性进行线性回归,其回归结果具有良好的拟合效果,由此回归方程预测的化合物活性与实验值较吻合,说明我们建立的拮抗状态下的 α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR的三维同源模型具有一定的合理性。

1 实验部分

1.1 分子建模系统

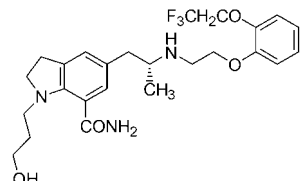
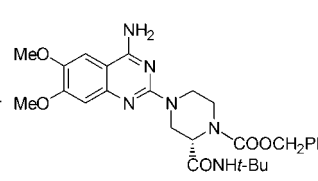
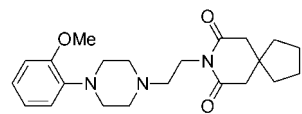
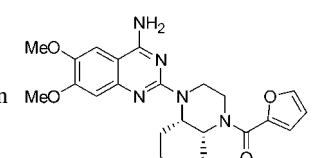
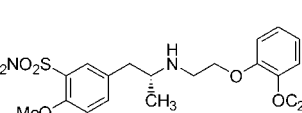
在SGI Octane 2工作站,操作系统为IRIX 6.8,同源模型的构建采用Modeller 6v2^[13]完成,分子力学计算和分子动力学计算采用Accelrys公司的InsightII 2000中的Discover3模块^[14],复合物搭建计算采用InsightII软件中的Affinity模块,对接软件为Openeyes公司的FRED 1.2.9^[15]。

1.2 训练集及测试集化合物的结构与活性数据

训练集(化合物1~3)与测试集(化合物4~21)中的拮抗剂结构与其活性 pK_i 值见表1^[16-22]。在训练集中,选取 α_{1A} -受体的亚型选择性拮抗剂为Silodosin (1), α_{1B} -

表1 训练集(1~3)及测试集化合物(4~21)的结构与生物活性

Table 1 The structures and experimental affinities of the training set (1~3) and test set (4~21)

No.	Name	Structure	Affinity (pK_i)			No.	Name	Structure	Affinity (pK_i)		
			α_{1A}	α_{1B}	α_{1D}				α_{1A}	α_{1B}	α_{1D}
1 ^[16]	Silodosin		10.44	7.70	8.70	2 ^[17]	L-765314		6.38	8.70	7.47
3 ^[16]	BMY-7378		6.60	6.20	8.20	5 ^[16]	Cyclazosin		7.91	9.89	8.49
4 ^[16]	Tamsulosin		9.70	8.90	9.80						

续表

No.	Name	Structure	Affinity (pK _i)			No.	Name	Structure	Affinity (pK _i)		
			α_{1A}	α_{1B}	α_{1D}				α_{1A}	α_{1B}	α_{1D}
6 ^[16]	SNAP-8719		6.53	6.72	8.80	7 ^[16]	SNAP-5089		9.74	6.74	6.20
8 ^[16]	A-131701		9.66	8.16	9.01	9 ^[18]	Fiduxosin		9.80	8.60	9.04
10 ^[16]	Benoxathian		9.70	8.40	9.40	11 ^[16]	WB-4101		9.80	8.60	9.60
12 ^[16]	Siperone		8.10	9.30	7.89	13 ^[16]	AH-11110A		5.60	7.12	5.56
14 ^[19]	RS-513815		7.39	9.17	6.85	15 ^[20]	A-119637		8.58	8.33	9.60
16 ^[20]	A-123189		8.38	8.04	9.51	17 ^[21]	A-315456		6.23	7.86	8.71
18 ^[16]	Discretamine		6.20	6.40	7.60	19 ^[22]	DDPH		7.21	6.88	7.26
20 ^a	Y-1996		6.68	5.75	6.43	21 ^a	F-2000		7.92	6.24	7.28

^a Compounds **20** and **21** were synthesized by our lab with unpublished biological data.

受体的亚型选择性拮抗剂为 L-765314 (**2**), α_{1D} -受体的亚型选择性拮抗剂为 BMY-7378 (**3**)。我们首先采用 InsightII/Builder 构建其三维结构, 再采用共轭梯度法优化至能量梯度的 RMS 小于 $0.42 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{nm}^{-1}$, 所选力场为 CVFF 力场, 最后再赋予 Gasteiger 电荷。

1.3 同源模型的建立

α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR 的一级序列来自 SWISS-PROT 数据库^[23], 采用 Clustal X^[24]对 α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR 的一级序列以及牛视紫红质一级序列进行多重序列比对 (Multiple Alignment), 选取蛋白质权重矩阵为 PAM

series, 然后以解析度为 0.26 nm 的牛视紫红质单晶 X 光衍射结构为模板(PDB 代码: 1L9H), 将序列比对结果输入 Modeller 程序进行计算, 即得到了初始同源模型.

1.4 同源模型的修正

采用分子力学和分子动力学的方法对模型进行修正, 所选力场为 CVFF 力场. 模型修正包括以下步骤: 首先在模型周围加上 5 层的水分子, 对整个体系首先采用最陡下降法优化 10000 步, 接着采用共轭梯度法优化至能量梯度的 RMS 小于 0.42 J·mol⁻¹·nm⁻¹; 然后对体系用分子动力学方法模拟 1 ns, 温度为 300 K, 模拟步长为 1 ps, 再从中选取能量最低的构象.

1.5 拮抗状态下受体模型的搭建

为了得到拮抗状态下受体模型, 我们首先采用 InsightII/Binding Site Analysis 预测可能的活性位点, 然后再依据位点突变和生物活性数据^[7~11], 采用 InsightII/Affinity, 分别将这三个受体所对应的训练集拮抗剂分子对接到其相应的可能结合区域, 然后按照前文讲述的参数进行分子力学和分子动力学优化, 删除配体, 即得到拮抗状态下受体模型, 最后将所得受体结构赋予 Kollman 电荷.

1.6 分子对接

进行对接研究的测试集为 18 个结构不同的化合物. 配体分子的对接区域为前面复合物搭建时选取的可能结合区域, 对接过程中产生配体的最多构象为 1000 个, 构象的 RMSD 收敛限为 0.01 nm. 最后对配体与受体的结合情况采用 Gaussian 对接打分函数进行打分^[25], 利用线性回归方法分析活性与打分值的相关性, 并且建立定量构效方程.

2 结果与讨论

2.1 同源模型的建立及修正

BLASTP 结果显示, α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR 与牛视紫红质之间的同源性分别是 21%, 22%和 25%. 采用 Clustal X 对 α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR 的一级序列以及牛视紫红质一级序列进行序列比对的结果如图 1.

将上述序列比对结果输入 Modeller 程序进行同源模型的构建, 模型产生初始坐标后, 再对分子结构进行进一步的优化. 优化可以消除原子间的重叠和某些不合理的构象, 特别是非保守区的构象, 优化一般采用分子力学和分子动力学方法.

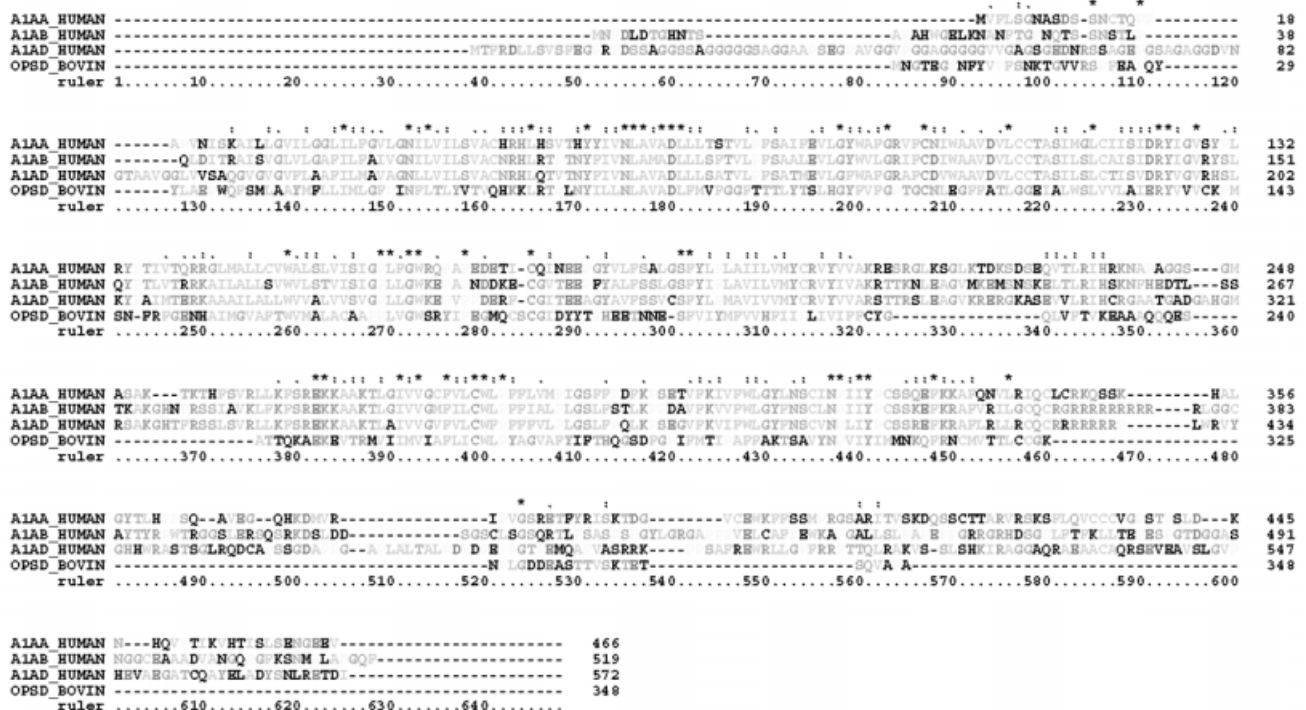


图 1 Clustal X 序列比对结果
Figure 1 The results of sequence alignment using Clustal X program

2.2 拮抗状态下模型的建立与评价

采用 InsightII/Affinity 对接方法模拟拮抗剂配体和受体之间的结合, 我们可以确定他们之间的结合方式. 图 2 为 Silodosin 与 α_{1A} -AR 模型的结合示意图:

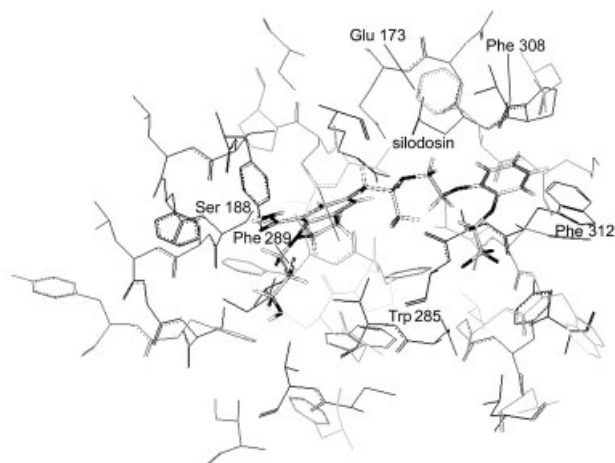


图 2 Silodosin 与 α_{1A} -AR 模型的结合示意图

Figure 2 Binding profiles between Silodosin and α_{1A} -AR model

图中我们可以发现, Silodosin 整个结构中间的 N 原子与 α_{1A} -AR 上面的 Glu 173 以氢键进行结合, 吡啶环上面的酰胺基与 α_{1A} -AR 中的 Ser 188 存在氢键结合, 吡啶环侧链羟基 H 原子和 O 原子还分别与 Phe 289 和 Trp 285 以氢键结合, 此外, Silodosin 结构中的苯环位于由 Phe 308 和 Phe 312 形成的疏水结合腔中, 通过 π - π 作用与结合腔中的芳环集团相互作用, 这些结论和文献报道的 α_{1A} -AR 结合位点较为吻合^[8,10].

L-765314 与 α_{1B} -AR 对接后的位置如图 3 显示. 在 L-765314 与 α_{1B} -AR 的结合模式中, 我们发现 L-765314 喹啉环上面的两个甲氧基分别与 α_{1B} -AR 中的 Ser 211 和 Thr 130 产生氢键结合, 喹啉环上面的氨基还作为氢键供体与 Ala 122 相互作用, 另外结构中哌嗪环上面的酰胺基 H 原子也作为氢键供体与 Thr 198 进行结合, 而与此同时酰胺基上面的 O 原子与 Thr 198 产生氢键.

图 4 显示的是 BMY-7378 与 α_{1D} -AR 的相互作用. 图中我们可以发现, BMY-7378 与 α_{1D} -AR 较少产生氢键, 只有结构中哌啶二酮上面的一个 O 原子作为氢键受体与 α_{1D} -AR 的 Trp 361 残基产生氢键结合, 另外与 α_{1A} -AR 类似的是, α_{1D} -AR 中也存在着一个由 Phe 263 和 Phe 365 组成的疏水结合腔, BMY-7378 中的苯环正是在这个疏水结合腔内与 α_{1D} -AR 产生结合作用.

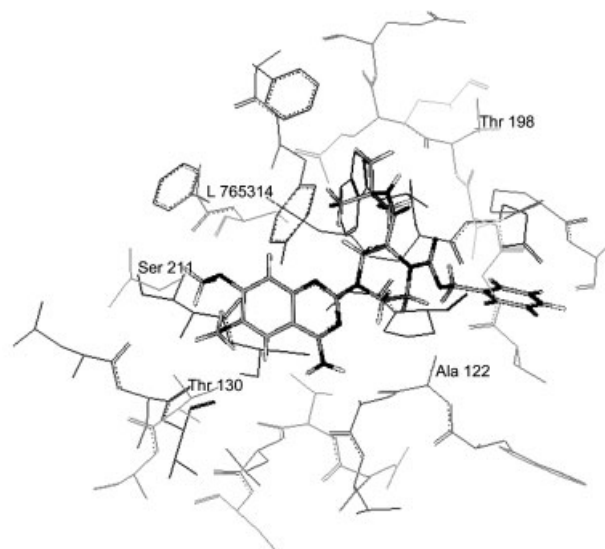


图 3 L-765314 与 α_{1B} -AR 模型的结合示意图

Figure 3 Binding profiles between L-765314 and α_{1B} -AR model

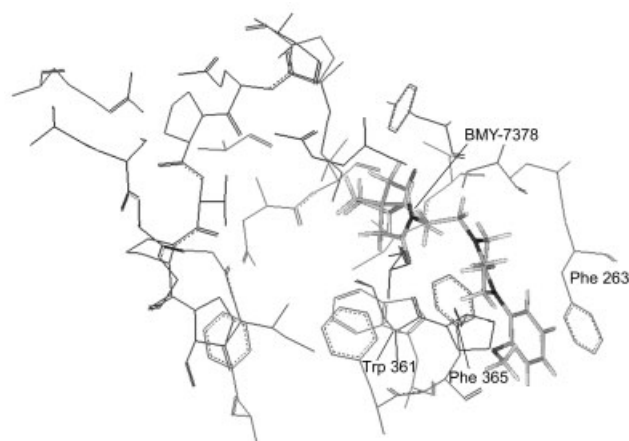


图 4 BMY-7378 与 α_{1D} -AR 模型的结合示意图

Figure 4 Binding profiles between BMY-7378 and α_{1D} -AR model

我们采用 PROCHECK 程序评估模型结构的立体化学参数, 如分子中的键长、键角以及二面角的分布, 尤其是主链的构形中 φ 、 ψ 二面角分布的情形可从产生的 Ramachandran 图检测^[26]. 初始同源模型结构、优化模型结构和拮抗状态模型结构的 φ 、 ψ 二面角分布的情形可见表 2.

原则上来说, 最适合位置的残基比率是结构性质中比较主要的参考指标, 预期其大于 90% 为正常分布. 但是模版结构在此区域很可能低于 90%, 所以新模拟的结构的数值必须与模版结构的数值互相比较. 从表 2 中我们可以看到, 虽然优化前后三个亚型受体的模型最适合

表 2 PROCHECK 的分析结果
Table 2 Results of PROCHECK analysis

Model	PORCHECK result				
	Most favored/%	Additional allowed/%	General allowed/%	Disallowed/%	
Bovine Rhodopsin	79.7	17.2	2.4	0.7	
Homology	α_{1A} -AR	80.1	14.7	3.3	1.8
	α_{1B} -AR	86.6	11.3	1.3	0.8
	α_{1D} -AR	80.1	13.1	4.6	2.1
Optimized	α_{1A} -AR	77.2	20.3	0.7	1.7
	α_{1B} -AR	79.2	19.2	1.1	0.5
	α_{1D} -AR	78.8	18.9	1.2	1.0
Antagonist-bound	α_{1A} -AR	74.9	22.5	1.1	1.5
	α_{1B} -AR	84.0	13.7	2.1	0.3
	α_{1D} -AR	78.8	18.9	2.1	0.9

位置的残基比率均低于 90%，但是考虑到牛视紫红质的最适合位置的残基比率也仅为 79.7%，因此我们认为均可以接受。另外我们注意到在优化前后最适合位置的残基比率均有不同程度的降低，但是较适合位置的残基比率也均降低，因此适合位置的残基比率(等于最适合位置的残基比率+较适合位置的残基比率+一般适合位置的残基比率)均相应升高，比较的结果显示优化后的三个亚型受体模型均好于优化前的模型，优化效果达到了我们预想的目的；而与前面分子力学和分子动力学优化后的模型相比，我们发现拮抗状态模型的不适合位置的残基比率也均有不同程度降低，因此适合位置的残基比率也就相应升高，这就意味着这些模型较单纯分子力学和分子动力学优化的模型更优，从而说明我们构建的拮抗状态模型的几何结构合理性。

我们还采用了 InsightII/Ludi 以及对接能量项对我们的拮抗剂-受体复合物进行打分，其中 E_{vdw} 和 E_{elect} 分别为配体和受体相互作用中的立体相互作用能和静电相互作用能， E_{Total} 为对接后配体-受体复合物的能量 ($E_{Total}=E_{vdw}+E_{Elect}$)。各个分值见表 3。

Insight II/Ludi 产生的 Ludi Score 可直接预测活性 K_i 值，当 Ludi Score 为 300 时， K_i 值为 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，Ludi Score 为 600 时， K_i 值为 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，而当 Ludi Score 为 900 时， K_i 值为 $1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。从 Ludi 打分值我们可以得知，

Silodosin 的平均 Ludi Score 为 942，预测其对 α_{1A} -AR 的 K_i 值小于 $1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，这与其真实值 $0.036 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 较接近；L-765314 的平均 Ludi Score 为 877，推测其对 α_{1B} -AR 的 K_i 值为 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 级别，与其真实值 $2.0 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 符合；BMY-7378 对 α_{1D} -AR 的平均 Ludi Score 为 768，说明其 K_i 值在 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\sim 1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间，也与其真实值 $6.3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 较为吻合。以上结果说明，Ludi Score 与这些配体的生物活性数据基本吻合。而这些复合物的对接能量的结果提示受体与配体的结合能较低，配体-受体复合物较稳定，因此可见我们构建的三个 α_1 -AR 的三维模型质量比较可靠，可作为模型进行下一步的对接工作。

2.3 分子对接结果

我们选取了 Tamsulosin 等 18 个 α_1 -AR 活性已知的化合物，按照前面做拮抗模型时确定下来的结合位点，采用对接软件 FRED 对我们上面搭建的模型进行对接，以 FRED Gaussian score 进行打分，得到的结果如表 4。

为了比较 FRED Gaussian Score 与活性的分析效果，我们尝试将所得到的分值分别与各个亚型的活性 pK_i 值做最小二乘回归分析，结果得到了较好的线性。图 5 是 FRED Gaussian Score 与 α_{1A} -AR 活性之间的相关性图、回归方程与各项回归参数。

表 3 拮抗剂-受体复合物的打分结果

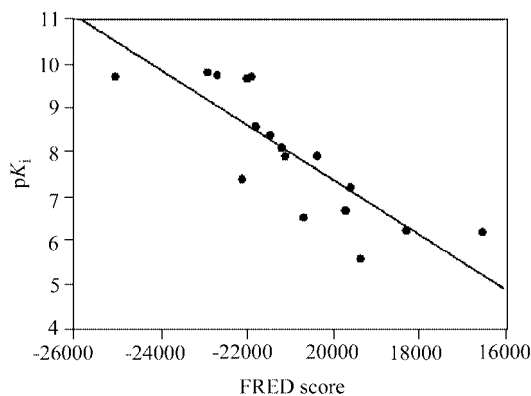
Table 3 Docking score results for antagonist-receptor complexes

化合物	Ludi Score				Docking Energy ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)		
	Score 1	Score 2	Score 3	平均	E_{vdw}	E_{Elect}	E_{Total}
Silodosin	1048	920	857	942	-312.46	-94.09	-406.55
L-765314	1059	833	738	877	-360.44	-71.52	-431.96
BMY-7378	727	608	969	768	-299.87	-18.89	-318.76

表4 训练集化合物对接后的 FRED 分值

Table 4 FRED score of the docking procedures of molecules in the test set

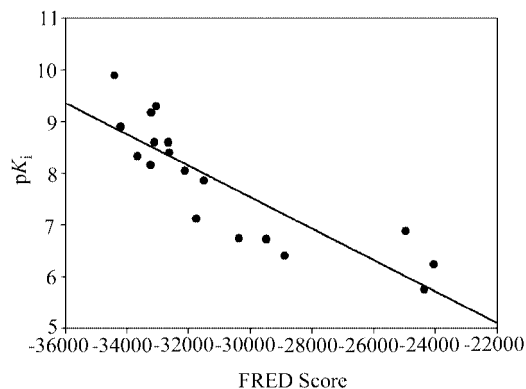
No.	Name	FRED score		
		α_{1A}	α_{1B}	α_{1D}
4	Tamsulosin	-25082	-34201	-29900
5	Cyclazosin	-21133	-34409	-29947
6	SNAP-8719	-20708	-29471	-28271
7	SNAP-5089	-22718	-30367	-26749
8	A-131701	-22022	-33238	-29660
9	Fiduxosin	-22945	-33109	-29712
10	Benoxathian	-21913	-32627	-27184
11	WB-4101	-22923	-32659	-27117
12	Spiperone	-21212	-33052	-27343
13	AH-11110A	-19384	-31757	-23757
14	RS-513815	-22132	-33213	-27022
15	A-119637	-21816	-33660	-28486
16	A-123189	-21474	-32122	-28265
17	A-315456	-18322	-31512	-28122
18	Discretamine	-16553	-28893	-25168
19	DDPH	-19613	-24968	-27433
20	Y-1999	-19724	-24363	-24753
21	F-2000	-20392	-24054	-26645

图5 FRED score 对 α_{1A} -AR 活性 pK_i 值的拟合结果Figure 5 Correlation between the pK_i value and docking score for α_{1A} -AR model

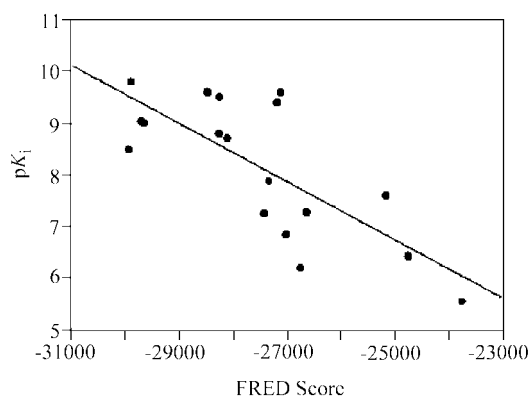
$$pK_i(\alpha_{1A}) = -4.98 - 6.20 \times 10^{-4} \times \text{SCORE}, r^2 = 0.69, SE = 0.82, F = 36.18$$

图6是FRED score与 α_{1B} -AR活性之间的相关性图、回归方程与各项回归参数。

图7是FRED score与 α_{1D} -AR活性之间的相关性图、回归方程与各项回归参数。

图6 FRED score 对 α_{1B} -AR 活性 pK_i 值的拟合结果Figure 6 Correlation between the pK_i value and docking score for α_{1B} -AR model

$$pK_i(\alpha_{1B}) = -1.58 - 3.00 \times 10^{-4} \times \text{SCORE}, r^2 = 0.74, SE = 0.63, F = 44.48$$

图7 FRED score 对 α_{1D} -AR 活性 pK_i 值的拟合结果Figure 7 Correlation between the pK_i value and docking score for α_{1D} -AR model

$$pK_i(\alpha_{1D}) = -7.32 - 5.60 \times 10^{-4} \times \text{SCORE}, r^2 = 0.56, SE = 0.91, F = 20.30$$

由上述三个构效方程可知, FRED score 与各个受体间的 pK_i 均具有较高的回归系数, 其中对 α_{1B} -AR 的回归系数最高, 达到了 0.74, 而对 α_{1D} -AR 的回归系数最低, 但也有 0.56, 因此这三个构效方程均在统计学上面具有一定的相关性. 按照这三个方程对化合物的活性进行预测, 所得到的预测值、试验值与残差见表 5.

从表 5 中我们可以看出, 利用我们得到的构效方程预测化合物的活性, 所得结果与化合物实验值之间虽有一定的误差, 但是这些误差是在 G 蛋白偶联受体同源建模以及对接等精度的允许范围之内, 而我们所构建的拮抗状态模型更充分考虑了配体与受体结合时的结构信息, 所以能充分反应配体与受体结合时的真实性. 因此我们构建的拮抗状态的模型, 其质量要优于一般的同源模型.

表5 测试集活性的预测结果
Table 5 The experimental and predicted affinities in the test set

No.	Name	α_{1A}			α_{1B}			α_{1D}		
		Experimental	Predicted	Residual ^a	Experimental	Predicted	Residual ^a	Experimental	Predicted	Residual ^a
4	Tamsulosin	9.70	10.57	-0.87	8.90	8.68	0.22	9.80	9.42	0.38
5	Cyclazosin	7.91	8.12	-0.21	9.89	8.74	1.15	8.49	9.45	-0.96
6	SNAP-8719	6.53	7.86	-1.33	6.72	7.26	-0.54	8.80	8.51	0.29
7	SNAP-5089	9.74	9.11	0.63	6.74	7.53	-0.79	6.20	7.66	-1.46
8	A-131701	9.66	8.67	0.99	8.16	8.39	-0.23	9.01	9.29	-0.28
9	Fiduxosin	9.80	9.25	0.55	8.60	8.35	0.25	9.04	9.32	-0.28
10	Benoxathian	9.70	8.61	1.09	8.40	8.21	0.19	9.40	7.90	1.50
11	WB-4101	9.80	9.23	0.57	8.60	8.22	0.38	9.60	7.87	1.73
12	Spiperone	8.10	8.17	-0.07	9.30	8.34	0.96	7.89	7.99	-0.10
13	AH-11110A	5.60	7.04	-1.44	7.12	7.95	-0.83	5.56	5.98	-0.42
14	RS-513815	7.39	8.74	-1.35	9.17	8.38	0.79	6.85	7.81	-0.96
15	A-119637	8.58	8.55	0.03	8.33	8.52	-0.19	9.60	8.63	0.97
16	A-123189	8.38	8.33	0.05	8.04	8.06	-0.02	9.51	8.51	1.00
17	A-315456	6.23	6.38	-0.15	7.86	7.87	-0.01	8.71	8.43	0.28
18	Discretamine	6.20	5.28	0.92	6.40	7.09	-0.69	7.60	6.77	0.83
19	DDPH	7.21	7.18	0.03	6.88	5.91	0.97	7.26	8.04	-0.78
20	Y-1996	6.68	7.25	-0.57	5.75	5.73	0.02	6.43	6.54	-0.11
21	F-2000	7.92	7.66	0.26	6.24	5.64	0.60	7.28	7.60	-0.32

^a Residual = Experimental - Predicted.

我们还采用建立的拮抗状态模型进行分子对接虚拟筛选, 设计并且合成了一批新结构类型的 α_1 -AR 拮抗剂, 这些化合物的实验活性与预测活性基本吻合, 初步说明了该模型的应用价值, 这些结果我们将陆续在有关刊物上发表。

3 结论

本文采用同源建模法对 α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR 的三维结构进行了构建, 然后用分子力学和分子动力学优化, 再采用拮抗剂对接的方法得到拮抗状态下的 α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR 三维结构模型. 另外采用 18 个化合物与得到的 α_{1A} -, α_{1B} -和 α_{1D} -AR 三维结构模型进行对接研究, 并在活性与对接打分之间建立构效关系方程, 利用该构效关系方程可以作为化合物虚拟筛选与活性预测的工具。

本文还揭示, 只要优化的方法合适, 采用同源建模方法构建的 G 蛋白偶联受体结构仍然可以作为虚拟筛选的模型进行对接筛选, 并且可从基于受体的角度出发寻求对接打分和活性之间的关系, 从而为虚拟筛选、设计与合成活性更好的化合物提供了理论依据。

致谢 本工作先后得到了北京大学张亮仁教授、张礼和教授, 以及台湾国立清华大学蔡耿彰博士的帮助, 在此一并表示感谢。

References

- Bylund, D. B.; Eikenberg, D. C.; Hieble, J. P.; Langer, S. Z.; Lefkowitz, R. J.; Minnerman, K. P.; Molinoff, P. B.; Ruffolo Jr., R. R.; Trendelenburg, U. *Pharmacol. Rev.* **1994**, *46*, 121.
- Hieble, J. P.; Bylund, D. B.; Clarke, D. E.; Eikenburg, D. C.; Langer, S. Z.; Lefkowitz, R. J.; Minneman, K. P.; Ruffolo, R. R. *Pharmacol. Rev.* **1995**, *47*, 267.
- Li, M. Y.; Du, L. P.; Wu, B.; Xia, L. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 3945.
- Wu, B.; Li, M. Y.; Jiang, Z. Z.; Xia, L. *Acta Chim. Sinica* **2004**, *62*, 1430 (in Chinese).
(吴斌, 李敏勇, 江振洲, 夏霖, 化学学报, **2004**, *62*, 1430.)
- Wu, B.; Li, M. Y.; Jiang, Z. Z.; Xia, L. *Chin. J. Org. Chem.* **2004**, *24*, 1587 (in Chinese).
(吴斌, 李敏勇, 江振洲, 夏霖, 有机化学, **2004**, *24*, 1587.)
- Li, M. Y.; Tsai, K. C.; Xia, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 657.
- Wetzel, J. M.; Salon, J. A.; Tamm, J. A.; Forray, C.; Craig, D.; Nakanishi, H.; Cui, W.; Vaysse, P. J.-J.; Chiu, G. *Recept. Channels* **1996**, *4*, 165.
- Hwa, J.; Perez, D. M. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 6322.
- Hwa, J.; Graham, R. M.; Perez, D. M. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 23189.
- Waugh, D. J. J.; Gaivin, R. J.; Zuscik, M. J.; Gon-

- zale-Cabrera, P.; Ross, S. A.; Yun, J.; Perez, D. M. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 25366.
- 11 Chen, S.; Xu, M.; Lin, F.; Lee, D.; Riek, D.; Graham, R. M. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 16320.
- 12 Bissantz, C.; Bernard, P.; Hibert, M.; Rognan, D. *Proteins* **2003**, *50*, 5.
- 13 Marti-Renom, M. A.; Stuart, A.; Fiser, A.; Sanchez, R.; Melo, F.; Sali, A. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2000**, *29*, 291.
- 14 *InsightII* [molecular modeling package], Version 2000, Accelrys Inc., San Diego, CA, **2000**.
- 15 *FRED* [docking program], Version 1.2.9., Openeyes Scientific Software Inc., Santa Fe, NM, **2003**.
- 16 Bremner, J. B.; Coban, B.; Griffith, R.; Groenwoud, K. M.; Yates, B. F. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 201.
- 17 Patane, M. A.; Scott, A. L.; Broten, T. P.; Chang, R. S. L.; Ransom, R. W.; Disalv, J.; Forray, C.; Bock, M. G. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1205.
- 18 Hancock, A. A.; Buckner, S. A.; Brune, M. E.; Esbenshade, T. A.; Ireland, L. M.; Katwala, S.; Milicic, I.; Meyer, M. D.; Kerwin Jr., J. F.; Williams, M. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2002**, *300*, 478.
- 19 Conley, R. K.; Williams, T. J.; Ford, A. P.; D. W.; Ramage, A. G. *Br. J. Pharmacol.* **2001**, *133*, 61.
- 20 Carroll, W. A.; Sippy, K. B.; Esbenshade, T. A.; Buckner, S. A.; Hancock, A. A.; Meyer, M. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1119.
- 21 Buckner, S. A.; Milicic, I. D.; Anthony, L. J.; Lynch, J. J.; Kolasa, T.; Nakane, M.; Sullivan, J. P.; Brioni, J. D. *Eur. J. Pharmacol.* **2001**, *433*, 123.
- 22 Lu, Z. Z.; Zhang, Y. Y.; Xia, L.; Han, Q.-D. *Acta Pharm. Sin.* **2000**, *35*, 739 (in Chinese).
(吕志珍, 张幼仪, 夏霖, 韩启德, 药学报, **2000**, *35*, 739.)
- 23 Gasteiger, E.; Jung, E.; Bairoch, A. *Curr. Issues Mol. Biol.* **2001**, *3*, 47.
- 24 Higgins, D. G.; Sharp, P. M. *Gene* **1988**, *73*, 237.
- 25 McGann, M. R.; Almond, H. R.; Nicholls, A.; Grant, J. A.; Brown, F. K. *Biopolymers* **2003**, *68*, 76.
- 26 Laskowski, R. A.; MacArthur, M. W.; Moss, D. S.; Thornton, J. M. *J. Appl. Crystallogr.* **1993**, *26*, 283.

(A0412164 ZHAO, C. H.; LING, J.)