

## M 受体及相关选择性药物研究进展

史一鸣, 钮因尧\*, 陆 阳

(上海交通大学医学院药理学系, 上海 200025)

**摘要:** 毒蕈碱受体(M 受体)是体内重要的 G 蛋白偶联受体之一,有  $M_1 \sim M_5$  五种药理学亚型,各亚型在体内的分布和功能不同,受体蛋白结构和信号转导机制也有差异。对 M 受体、相关选择性药物及受体-配体作用位点的研究,将为设计以 M 受体各亚型为靶标的选择性药物提供帮助,对临床治疗多种 M 受体功能紊乱的疾病,如阿尔茨海默病等具有重要意义。

**关键词:** 毒蕈碱受体;胆碱能药物;亚型选择性

**中图分类号:** R962.2;R963 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-0440(2009)05-0355-07

## Muscarinic receptors and related selective drugs: research advances

SHI Yi-ming, NIU Yin-yao, LU Yang

(Department of Pharmacy, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China)

**Abstract:** Muscarinic receptors (M receptors), the important members of G protein-coupled receptors, comprise five subtypes  $M_1 \sim M_5$ . Each subtype has different distribution and biological function *in vivo*, and their protein structures and signal transduction pathways are distinct as well. Studies on M receptors, related selective drugs and receptor-ligand binding sites could provide some information helpful to the design of selective compounds targeting single M receptor subtype. This is very important to develop clinical therapy for various diseases related to M receptors system dysfunction, such as Alzheimer's disease and so on.

**Key words:** muscarinic receptors; cholinergic drugs; subtype selectivity

### 1 引言

胆碱能神经兴奋时,乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)作为神经递质被释放到突触间隙,然后与烟碱受体(N 受体)或毒蕈碱受体(M 受体)结合,产生相应的生物活性。N 受体为离子型受体,被激活后调节细胞内离子浓度,使细胞膜电位发生变化而转导信号;M 受体属视紫红质(rhodopsin)类 G 蛋白偶联受体(GPCR),被激活后通过与其偶联的 G 蛋白转导后续信号,引起细胞内多种生理生化作用。M 受体比 N 受体作用更广泛,M 受体在外周可调节平滑肌收缩、腺体分泌、心率等,在中枢参与发挥学习、记

忆等高级认知功能及运动控制。M 受体功能紊乱会引发阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)、尿失禁和慢性阻塞性肺病等疾病。已有多种以 M 受体为作用靶点的药物,但由于亚型选择性低,大多数副作用较大。对 M 受体各种亚型微观结构的深入认识以及多种 M 受体-配体分子作用模型的建立,为设计高效低毒 M 受体作用药物提供理论指导。

### 2 M 受体

M 受体家族因对捕蝇蕈中的生物碱——毒蕈碱敏感得名。藉由工具药如哌仑西平(pirenzepine)等,可将 M 受体分为 5 种药理学亚型<sup>[1,2]</sup>,国际药理学联合会(IUPHAR)建议依据被发现的顺序将其命名为  $M_1 \sim M_5$ 。目前, $M_1 \sim M_6$  6 种分子生物学分型被克隆并被基因编码相应受体蛋白,其中  $M_1 \sim M_5$  已在体内找到各自对应的药理学亚型。

收稿日期:2009-06-12

作者简介:史一鸣,男,在读博士研究生,研究方向:药理学,Tel:021-63846590-776464,E-mail:sym1985@sjtu.edu.cn

\* 通讯作者:钮因尧,男,博士,副教授,硕士生导师,研究方向:药理学,Tel:021-63846590-776464,E-mail:niuyinyao@sjtu.edu.cn

## 2.1 受体分布及功能

中枢  $M_1$  大量表达于皮质、海马状突起和纹状体,通过影响皮质和海马之间的交互活动发挥调节记忆、学习等高级认知功能,但  $M_1$  对于记忆的形成并非必需<sup>[3,4]</sup>;外周  $M_1$  则与胃酸分泌和迷走神经诱导的支气管收缩有关。 $M_2$  主要分布在脑干、丘脑等区域的胆碱能神经元突触末梢,调控中枢 ACh 释放<sup>[5]</sup>; $M_2$  也存在于心脏和平滑肌,调节心肌收缩力。 $M_3$  主要分布于腺体和平滑肌,调节腺体分泌和平滑肌收缩,大多数平滑肌组织以 4:1 的比例表达  $M_2$  和  $M_3$ , $M_2$  协同  $M_3$  调节肌肉收缩; $M_3$  少量表达于中枢神经系统,生理作用尚不明确,但有实验证明敲除  $M_3$  的小鼠食欲降低,提示  $M_3$  可能参与食欲调控<sup>[3]</sup>。 $M_4$  出现在脑部各区域,但主要表达于纹状体内,与多巴胺(DA)受体共存,抑制纹状体内 DA 释放、调控 ACh 介导的运动能力; $M_4$  在节前神经末梢、肺等外周组织上也有表达,抑制交感和副交感神经信号传递。 $M_5$  是唯一表达于黑质的 M 受体亚型,在黑质中呈离散型分布,研究表明中枢  $M_5$  的分布和功能与 DA 系统紧密相关; $M_5$  在外周少量表达于虹膜、食管、淋巴细胞,生理功能仍在研究中<sup>[3,6]</sup>。M 受体各亚型除了单独或联合调控胆碱能作用外,还协同 DA 系统调节中枢活动: $M_1$  受体可调节前脑 DA 水平;在尾状壳核, $M_2$  与 DA 信号转导关联<sup>[3]</sup>;激活纹状体内  $M_5$  可以促进 DA 释放,而激活该脑区内  $M_4$  则抑制 DA 释放。这为一些中枢神经系统疾病的治疗提供新的靶标和策略,如激动尾状壳核内  $M_2$  治疗精神分裂症,拮抗纹状体  $M_4$  治疗 PD 等。

## 2.2 M 受体微观结构

M 受体蛋白长度介于 460( $M_1$ ) ~ 590( $M_3$ ) 个氨基酸残基,各亚型高度同源,共享约 145 个氨基酸残基。M 受体由 3 个胞外环( $\alpha_1 \sim \alpha_3$ ) 和 3 个胞内环( $i_1 \sim i_3$ ) 以及 7 个疏水跨膜区(TM 1 ~ 7) 组成。 $\alpha_1$  和  $\alpha_3$  环内各有一个保守的 Cys 残基,两者通过二硫键维持受体蛋白构象。一般认为 GPCR 以单体形式存在,但近年研究表明 M 受体可以同源二聚体或异二聚体的形式发挥作用,可能与受体分子间二硫键的形成有关<sup>[7]</sup>。M 受体肽链 N 端位于膜外,有 1 个或多个糖基化位点,C 端伸入细胞质内。各亚型结构上的差异主要在介于 TM 5 和 TM 6 之间的  $i_3$  环( $M_1 \sim M_5$  的  $i_3$  环长度分别为 156, 181, 241, 184, 230 个氨基酸)。 $i_3$  环上邻近 TM5、TM6 的部分残基延续该两跨膜区的柱状  $\alpha$  螺旋结构,其中几个关键氨基

酸残基与 G 蛋白结合并介导一系列生理效应。定位突变实验表明, $i_3$  环 N 端 16 ~ 17 个氨基酸决定 M 受体亚型与 G 蛋白间的选择性偶联,其中的关键残基有如  $M_1$  亚型的 Tyr202(等同于  $M_3$  中的 Tyr255,  $M_5$  中的 Tyr207) 等<sup>[6]</sup>。

## 2.3 配体结合位点分析

配体结合位点主要由跨膜区保守的氨基酸残基构成,其形成一疏水性口袋,通过离子-离子、离子- $\pi$ 、氢键等作用与配体结合。M 受体激动剂主要通过 TM3、TM5、TM6 和 TM7 上的相关残基激活受体<sup>[8]</sup>。其他跨膜区可能也有个别残基参与配体结合,如 TM4 中的 Ala160, TM2 中的 Asn61、Leu64、Asp71,这些残基若发生变异会引起 ACh 等激动剂的亲和力和效能变化<sup>[9]</sup>。除跨膜区外,肽链 N 端也参与受体蛋白与某些配体结合<sup>[8]</sup>,如  $M_1$  选择性配体 AC-42 结合受体需要 N 端、TM1、 $\alpha_3$  环、TM7 的氨基序列参与。

定位突变研究表明 TM3 是 M 受体被激活的关键跨膜区。各 M 受体亚型在 TM3 的 N 端都有一个 Asp 残基(如  $M_1$  的 Asp105),它能与带氨基配体的极性基团结合,引起受体构象变化<sup>[1]</sup>,如 ACh 能与  $M_1$  受体 TM3 的 Asp105 共价结合,对此残基进行变异取代则 ACh 不能激动  $M_1$  受体<sup>[3]</sup>。另外, TM3 的 Asp105 与 TM7 的 Tyr404 在空间位置上十分接近,可能共同发挥配体结合和受体活化作用<sup>[7]</sup>。此外, Val113、Leu116 和 Ser120 也可能与受体的功能及稳定性紧密相关<sup>[10]</sup>,用 Ala 取代这 3 个残基进行变异操作,发现受体表达水平降低。

研究表明, TM6 上的残基不仅参与配体结合过程激活受体,并且具有稳定非活性受体构象的作用,提示 TM6 是一个决定受体活性的关键跨膜区,其中的氨基酸残基与配体结合既可稳定活性构象也可稳定非活性构象,从而使受体产生激动或拮抗活性<sup>[8]</sup>,因此 TM6 是 M 受体激动剂和拮抗剂共同的结合部位。实验发现  $M_5$  亚型 TM6 上的保守残基: Thr454、Trp455、Pro457、Tyr458、Val462、Leu463 和 Val464 与受体功能相关,用 Phe 取代 Tyr458(对应  $M_3$  亚型的 Tyr507),受体与卡巴胆碱(carbachol)的亲和力降低。用碱性氨基酸取代 Ser465 将最大程度提高卡巴胆碱对受体的激动作用,而以酸性氨基酸取代则可小幅增强受体活性,提示 Ser465 对受体的构象变化有一定的影响。TM6 中保守的 Asn 残基对受体与阿托品类化合物的结合特别重要<sup>[1]</sup>,如

Asn508 (M<sub>3</sub>亚型) 被 Ser 取代会降低受体与阿托品类拮抗剂的亲和力<sup>[8]</sup>。

对 M<sub>1</sub> 亚型 TM7 上残基的变异研究显示, Trp405、Asn410、Asn414、Pro415 和 Tyr418 对受体的功能和信号转导通路至关重要<sup>[8,9]</sup>。其中, Asn414、Pro415 和 Tyr418 组成 Asn-Pro-X-X-Tyr 保守序列, 位于 TM7 的末端。Asn414、Tyr418 与 TM3 的 Leu116、Ser120 以及 TM6 的 Phe374 通过范德华力维持受体的静息状态<sup>[11]</sup>。用 His 同时替代 Asn414 和 Tyr418 能增加受体与 ACh 的亲和力, 但会阻断 G<sub>q</sub> 介导的信号通路。

### 2.4 信号转导机制

M 受体与 G 蛋白中 α 单元偶联的主要位置是 i<sub>3</sub> 环和受体羧基端链的近膜段。i<sub>2</sub> 环中保守的 Asp-Arg-Tyr (DRY) 序列与受体的表达和功能有关<sup>[1]</sup>, 而且与 i<sub>3</sub> 环的 N、C 端共同选择与受体偶联的 G 蛋白种类, 该序列中 Arg 残基对转导信号至关重要<sup>[8]</sup>。另有 Ile132、Pro135、Leu136、Arg139 和 Thr143 这 5 个保守残基与受体信号转导相关。

根据 M 受体亚型 i<sub>3</sub> 环的结构、信号转导途径和生物效应的差异, M 受体被分为 2 类。M<sub>1</sub>、M<sub>3</sub> 和 M<sub>5</sub> 主要通过 G<sub>q</sub> 蛋白-磷脂酶 C-二酰基甘油/三磷酸肌醇 (G<sub>q</sub>-PLC-DAG/IP<sub>3</sub>) 通路起作用, 为 M<sub>1</sub> 组; M<sub>2</sub> 和

M<sub>4</sub> 激活 G<sub>i/o</sub>-腺苷酸环化酶 (AC)-cAMP 信号通路, 为 M<sub>2</sub> 组 (图 1)。通过受体在体外细胞的特异表达研究, 发现 M<sub>1</sub> 组受体还可与 PLA<sub>2</sub>、PLD、酪氨酸激酶、钙通道作用; 激活 M<sub>2</sub> 组受体可引起非 Ca<sup>2+</sup> 依赖的 K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup> 通道开放, 使细胞膜极性降低; 还可增加经 ATP 预刺激的 CHO 细胞内 PLA<sub>2</sub> 活性<sup>[12-14]</sup>, 类似现象在其他与 G<sub>i</sub> 偶联的受体中也存在<sup>[12,15]</sup>, 提示尚需一种新的信号转导通路机制对此作出解释。此外, M 受体可以通过离子通道调节胞外 Ca<sup>2+</sup> 内流, Ca<sup>2+</sup> 在 M 受体介导的多个信号转导通路中起重要作用, 如 PLA<sub>2</sub>、PLD、Ca<sup>2+</sup>/CaM 依赖的 AC 等通路都需要 Ca<sup>2+</sup> 介入。另有报道, M 受体可以调控细胞生长和变形, 但其信号转导机制有待确证。

### 3 M 受体相关药物

M 受体在体内介导多种生理活动, 选择性作用于 M 受体亚型的分子可以针对性治疗某些疾病, 且副作用低。选择性 M<sub>1</sub> 受体激动剂是改善记忆力衰退的理想药物之一; M<sub>1</sub> 受体拮抗剂可被用于治疗消化道溃疡; M<sub>2</sub> 和 M<sub>3</sub> 亚型与平滑肌功能关系密切; M<sub>2</sub> 拮抗剂可用于治疗心动过缓或房室阻滞; M<sub>3</sub> 拮抗剂被广泛用于治疗平滑肌活跃过度, 包括尿失禁、慢性阻塞性肺病以及肠易激综合症。药理研究表明 M<sub>2</sub>

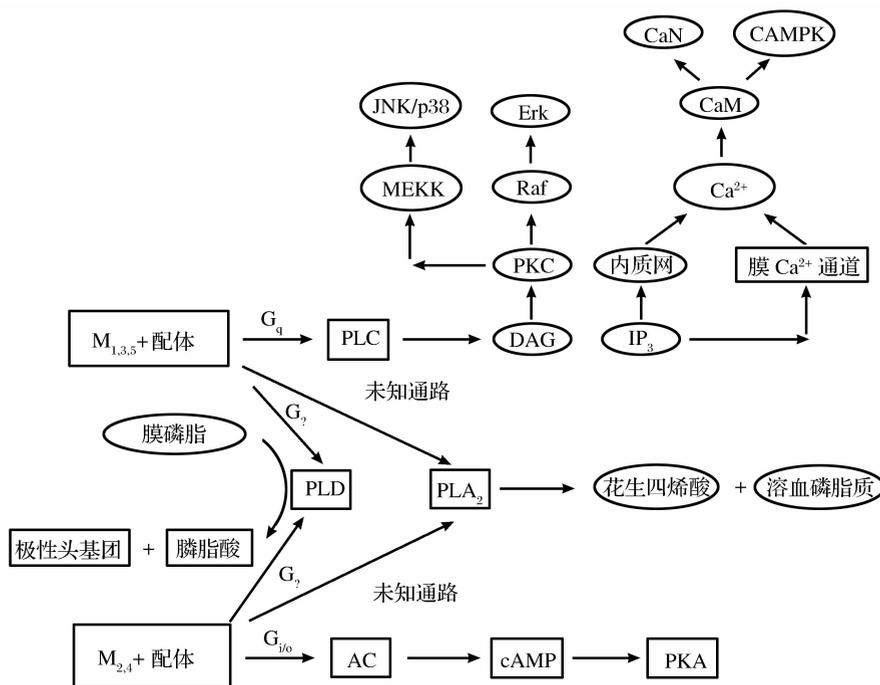


图 1 M 受体信号转导通路

拮抗剂还可能用于治疗认知功能障碍、精神分裂症等,但尚未被临床试验所证实。阻断中枢内 M 受体的药物亦可用于治疗运动疾病,如选择性 M<sub>4</sub>拮抗药可用于治疗 PD,但阻断 M<sub>1</sub>亚型可能导致副作用。M<sub>4</sub>亚型激动剂可用于治疗精神分裂症和止痛。而拮抗 M<sub>5</sub>亚型可治疗药物成瘾,激动 M<sub>5</sub>亚型可治疗局部脑缺血<sup>[3,16]</sup>。

### 3.1 激动剂

由于在 AD 病程中 M<sub>1</sub>受体蛋白保持完整<sup>[3]</sup>,M<sub>1</sub>受体激动剂可以替代内源性神经递质 ACh 激活脑内突触后膜的 M<sub>1</sub>受体,直接增强胆碱能神经功能。研究表明,选择性激动 M<sub>1</sub>受体还能改善淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein)代谢,促进由 α-分泌酶催化的神经营养分泌,抑制 β-分泌酶和 γ-分泌酶的活性,减少淀粉样 β 蛋白(Aβ)源性代谢,并有效抑制 Aβ 引起的胆碱能功能降低导致的神经元退变,提高认知功能,因此对 M<sub>1</sub>亚型受体激动剂的研发意义重大。目前已有各种分子骨架的 M 受体激动剂,如槟榔碱(arecoline)、毛果芸香碱(pilocarpine)、沙考美林(sabcomeline)、咕诺美林(xanomeline)等(图 2),但都因为低效、临床副作用大被先后淘汰,迄今尚未有 M<sub>1</sub>受体激动剂被应用于 AD 临床治疗。目前经 FDA 批准用于治疗 AD 的临床药物均是乙酰胆碱酯酶抑制剂,其通过提高 ACh 水平发挥治疗作用,但疗效受病程限制<sup>[5,15]</sup>。近年研究显示 M<sub>1</sub>变构激动剂可以有效减少 Aβ 形成,改善 AD 症状,有望成为治疗 AD 的新型药物<sup>[17]</sup>。

精神分裂症主要由脑内 DA 系统过度兴奋或受抑制引起。激动 M<sub>4</sub>受体可使黑质及腹侧被盖区(VTA)内的 ACh 水平降低,从而抑制纹状体的 DA 释放,治疗过度兴奋性精神分裂症。而选择性激动 M<sub>1</sub>受体可以改善精神分裂症患者的痴呆症状且能调节前脑的 DA 水平,因此选择性 M<sub>1</sub>/M<sub>4</sub>激动剂如咕诺美林、氯氮平(clozapine)及其代谢产物去甲氯氮平(*N*-desmethylclozapine)是治疗该疾病的理想药物<sup>[15]</sup>。激动尾状壳核内 M<sub>2</sub>受体也可治疗精神分裂症,如 M<sub>2</sub>/M<sub>4</sub>部分激动剂 BuTAC 通过激活 M<sub>2</sub>体现其抗 DA 活性<sup>[18]</sup>。此外,M<sub>4</sub>受体还可作为止痛的靶点,尽管中枢镇痛作用主要由 M<sub>2</sub>受体诱导,但选择性激动 M<sub>4</sub>受体亦可获得理想的止痛效果,且能避免激动 M<sub>2</sub>受体引起的心血管副作用。

### 3.2 拮抗剂

早在1960年就发现M受体与平滑肌收缩有

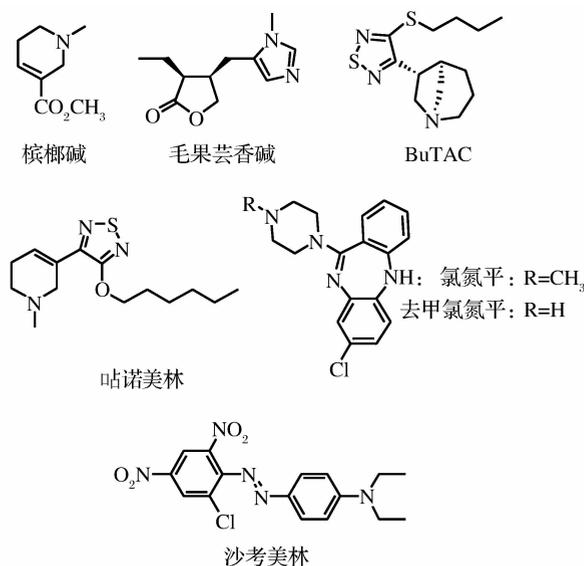


图 2 M 受体激动剂

关,并开发了多种分子骨架的 M 受体拮抗剂(图 3),部分具有显著的亚型选择性,如 4-DAMP、pFH-SiD 为 M<sub>3</sub>亚型选择性拮抗剂(M<sub>3</sub>/M<sub>2</sub>);AF-DX 116 和美索曲明(methoctramine)是 M<sub>2</sub>亚型选择性拮抗剂(M<sub>2</sub>/M<sub>3</sub>)<sup>[3]</sup>。对 M 受体拮抗剂的研发主要针对 M<sub>2</sub>、M<sub>3</sub>亚型展开。单独阻断 M<sub>3</sub>亚型可治疗尿路障碍和呼吸道疾病,同时拮抗 M<sub>2</sub>和 M<sub>3</sub>亚型可治疗胃肠道运动失调。

临床治疗平滑肌收缩过度的常用 M<sub>3</sub>受体拮抗剂有奥昔布宁(oxybutynin)、索非那新(solifenacin)、达非那新(darifenacin)、托特罗定(tolterodine)、噻托溴铵(tiotropium)等。其中托特罗定是较成功的 M<sub>3</sub>受体拮抗剂,虽然其在体外无亚型选择性,对 M<sub>2</sub>和 M<sub>3</sub>亚型的亲和力相似,但在体内却表现出亚型选择性,用于治疗膀胱过度活动症,且无口干等不良反应,作用机制尚未知。噻托溴铵为特殊的“动力学亚型选择性”药物,它与 M<sub>2</sub>亚型的解离速度远大于 M<sub>1</sub>、M<sub>3</sub>亚型,使其在发挥长效支气管扩张作用时产生较小的副作用,被认为是治疗慢性阻塞性肺病的首选药。1,5-苯并二氧杂环类化合物是一类新型、对 M<sub>1</sub>~M<sub>3</sub>亚型具有高亲和力的拮抗剂,其中 1,5-benzodioxepin 衍生物 A 已成为有潜力的候选药物<sup>[19]</sup>。而哌啶类选择性拮抗剂经结构改良,提高了对 M<sub>3</sub>亚型的亲和力和动力学亚型选择性<sup>[20]</sup>,可能成为一类新型尿失禁、肠易激综合症等平滑肌类疾病的治疗药物。M<sub>2</sub>亚型拮抗剂的作用不只局限于

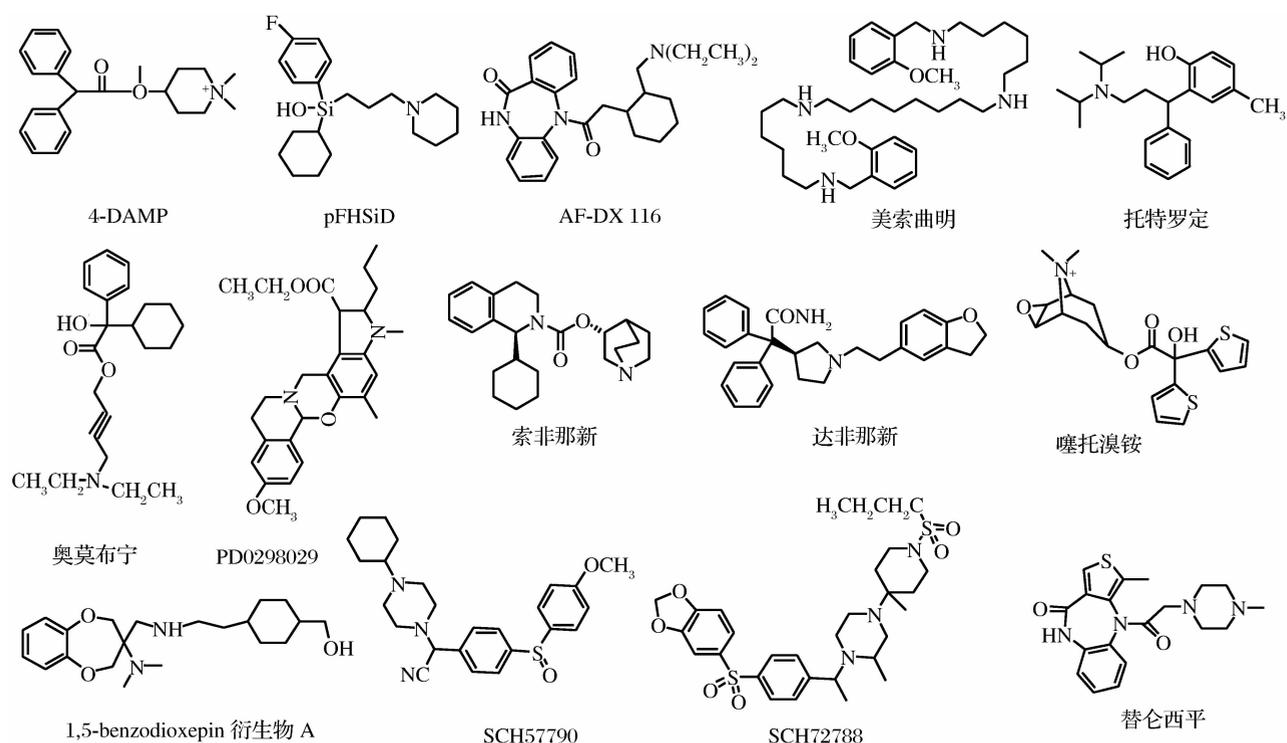


图 3 M 受体拮抗剂

外周系统, 实验证明, 选择性  $M_2$  亚型拮抗剂 SCH57790 可以增强认知能力和记忆力。结构优化 SCH57790 得到的哌啶类  $M_2$  亚型选择性拮抗剂 SCH72788 的生物利用度提高, 对痴呆有一定的疗效。

PD 是由胆碱能系统和 DA 系统失衡引起的神经退行性疾病, 由于  $M_4$  亚型在纹状体中抑制 DA 释放, 因此  $M_4$  受体选择性拮抗剂被开发用于治疗 PD, 如 PD0298029。而亚型选择性低的 M 受体拮抗剂用于治疗 PD 时副作用较大。临床研究发现, 使用亚型选择性 ( $M_4/M_1$ ) 低的 M 受体拮抗剂治疗 PD 2 年以上, 患者大脑中的老年斑和神经原纤维缠结增加<sup>[5]</sup>。

$M_1$  受体拮抗剂在外周主要用于治疗胃溃疡, 如哌仑西平及其衍生物替仑西平 (telenzepine), 二者有类似的  $M_1$  亚型选择性, 但后者与  $M_1$  亚型发生分离的速度更慢, 且容易透过血脑屏障<sup>[6,15]</sup>。

由于对  $M_5$  亚型的功能研究还不完善, 因此针对  $M_5$  亚型的药物研发开展较少。但实验表明阻断  $M_5$  亚型可抑制 VTA 内 DA 释放, 因此  $M_5$  受体拮抗剂可能具有治疗精神分裂症和药物成瘾的潜在疗效<sup>[3,5]</sup>。

### 3.3 变构调节剂

M 受体变构调节剂本身活性极小或无内在活性, 通过与受体大分子特异区域的作用位点结合, 使受体蛋白构象发生变化, 影响 M 受体正位配体与受体的亲和力, 增强或减弱激动剂、拮抗剂的活性<sup>[21,22]</sup>。由于 M 受体变构调节剂的作用位点大多由非保守氨基酸残基组成, 因此该类配体可能具有“绝对的”亚型选择性。

$M_2$  亚型在 M 受体各亚型中对变构调节最敏感, 针对该亚型已进行了大量的变构调节研究。M 受体变构调节剂加拉明 (gallamine) 可抑制心脏的  $M_2$  亚型<sup>[21]</sup>, 它与  $M_2$  亚型的结合主要受  $o_2$  环上的 EDGE (Glu172-Asp173-Gly174-Glu175) 序列以及  $o_3$  环和 TM7 交接处的 Asn419 影响<sup>[23]</sup>。定位突变实验表明, M 受体各亚型可能具有相同的变构调节剂结合部位, 如  $M_2$  亚型  $o_2$  环上的 Tyr177 和 TM7 的 Thr423 是组成变构位点的重要残基, 而在  $M_5$  亚型对应位置上的残基 Gln184 和 His478 有类似作用<sup>[21]</sup> (表 1), 其非保守性对变构调节剂的亚型选择性起着重要作用。此外, 实验发现  $M_1$  和  $M_3$  亚型的变构调节位点都包含至少 2 个非保守残基<sup>[24,25]</sup>。

表1 M受体各亚型变构调节位点

	o <sub>2</sub>	o <sub>3</sub>	TM7
M <sub>1</sub>	QYLVGERTVL <sup>174</sup> AGQ <sup>177</sup> CY <sup>179</sup> IQFLS	...E <sup>397</sup>	TLWE <sup>401</sup> LGY...
M <sub>2</sub>	QFIVGVRTVE <sup>172</sup> DGE <sup>175</sup> CY <sup>177</sup> IQFFS	...N <sup>419</sup>	TVWT <sup>423</sup> IGY...
M <sub>3</sub>	QYFVGKRTVP <sup>207</sup> PGE <sup>210</sup> CF <sup>212</sup> IQFLS	...K <sup>513</sup>	TFWN <sup>517</sup> LGY...
M <sub>4</sub>	QFVVGKRTVP <sup>181</sup> DNQ <sup>184</sup> CF <sup>186</sup> IQFLS	...D <sup>432</sup>	TVWS <sup>436</sup> IGY...
M <sub>5</sub>	QYLVGKRTVP <sup>179</sup> LDE <sup>182</sup> CQ <sup>184</sup> IQFLS	...V <sup>474</sup>	TLWH <sup>478</sup> LGY...

研究表明,绝大多数M受体变构调节剂与M受体激动剂或拮抗剂起负协同作用<sup>[1]</sup>,如二甲基W84对M<sub>2</sub>/M<sub>5</sub>亚型显示高选择性,是M<sub>2</sub>亚型的高亲和变构抑制剂;WIN 51708是M<sub>1</sub>~M<sub>4</sub>的变构抑制剂<sup>[25]</sup>(图4)。同一M受体变构调节剂对M受体各亚型的调节作用也可能不同,如WIN 62577是M<sub>1</sub>,M<sub>2</sub>和M<sub>4</sub>亚型的变构抑制剂,却是M<sub>3</sub>亚型的变构激动剂;神经肌阻断药阿库铵(alcuronium)通过变构调节增强NMS与M<sub>2</sub>和M<sub>4</sub>的结合,但抑制其与M<sub>1</sub>,M<sub>3</sub>,M<sub>5</sub>的结合,其衍生物diallylcaracurine V有类似的M<sub>2</sub>亚型变构调节作用,且对M<sub>5</sub>亚型有高选择性。变构调节剂一般具有较高的亚型选择性,如变构激动剂AC-42、氯氮平和去甲氯氮平对M<sub>1</sub>亚型表现高选择性<sup>[3,26]</sup>,这是变构调节剂相比其他配体最大的优势。

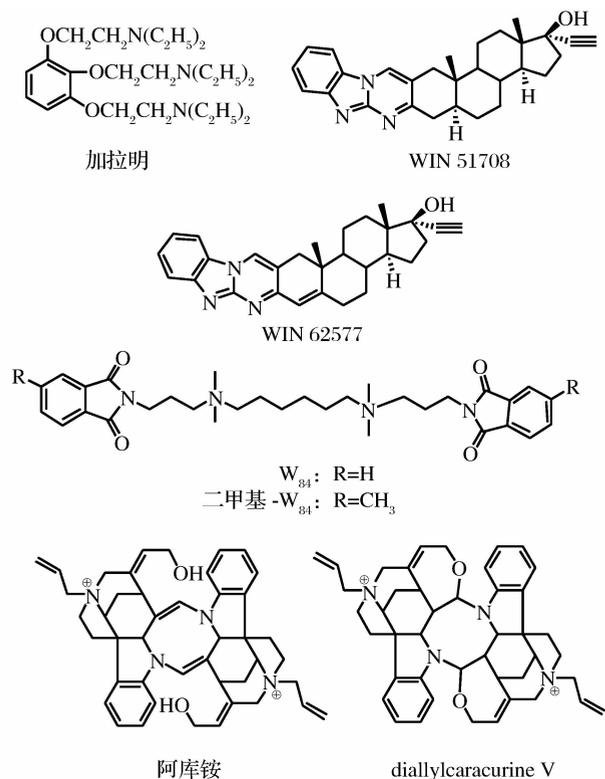


图4 M受体变构调节剂

## 4 总结

近20年来,随着基因技术的引入和计算机辅助药物设计方法的应用,对M受体家族的认识进入分子水平阶段,包括新亚型的发现,蛋白结构中关键结合位点的确定,以及与其他神经递质系统的相互作用。以M受体各亚型为靶点的药物被不断进行结构改良,特别是对变构调节剂的研究和设计,有望获得高效低副作用的临床治疗药物,实现药物靶向治疗。

## 参考文献

- [1] Caulfield MP, Birdsall NJ. International Union of Pharmacology. VII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors [J]. *Pharmacol Rev*, 1998, 50(2):279-290.
- [2] 李新, 宋波. M受体研究的进展[J]. 国外医学药学分册, 2001, 28(1):26-28.
- [3] Eglen RM. Muscarinic receptor subtype: pharmacology and physiology[J]. *Prog Med Chem*, 2005, 43:105-136.
- [4] Wess J. Novel insights into muscarinic acetylcholine receptor function using gene targeting technology[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2003, 24(8):414-420.
- [5] Langmead CJ, Watson J, Reavill C. Muscarinic acetylcholine receptors as CNS drug targets[J]. *Pharmacol Ther*, 2008, 117(2):232-243.
- [6] Mutschler E, Moser U, Wess J, et al. Muscarinic receptor subtypes-pharmacological, molecular biological and therapeutical aspects[J]. *Pharm Acta Helv*, 1995, 69(4):243-258.
- [7] 王昊, 郭政东, 李智. 毒蕈碱样乙酰胆碱受体及其信号转导[J]. 生理科学进展, 2002, 33(3):230-234.
- [8] Seifert R, Wieland T. G protein-coupled receptors as drug targets: analysis of activation and constitutive activity[M]. Weinheim: Wiley-VCH Press, 2005:177-193.
- [9] Lu ZL, Saldanha JW, Hulme EC. Transmembrane domains 4 and 7 of the M(1) muscarinic acetylcholine receptor are critical for ligand binding and the receptor activation switch[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(36):34098-34104.
- [10] Lu ZL, Hulme EC. The functional topography of transmembrane domain 3 of the M<sub>1</sub> muscarinic acetylcholine receptor, revealed by scanning mutagenesis[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(11):7309-7315.
- [11] Lu ZL, Hulme EC. A network of conserved intramolecular contacts defines the off-state of the transmembrane switch mechanism in a seven-transmembrane receptor[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(8):5682-5686.
- [12] Felder CC. Muscarinic acetylcholine receptors: signal transduction through multiple effectors[J]. *FASEB J*, 1995, 9(8):619-625.
- [13] 孙科, 郭正东. M受体-G蛋白信号转导途径研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2008, 35(2):87-91.
- [14] Racké K, Juergens UR, Matthies S. Control by cholinergic mech-

- anisms[J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 533(1-3):57-68.
- [15] Felder CC, Bymaster FP, Ward J, *et al.* Therapeutic opportunities for muscarinic receptors in the central nervous system[J]. *J Med Chem*, 2000, 43(23):4333-4353.
- [16] Eglen RM, Chppin A, Watson N. Therapeutic opportunities from muscarinic receptor research[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2001, 22(8):409-414.
- [17] Jones CK, Brady AE, Davis AA, *et al.* Novel selective allosteric activator of the M<sub>1</sub> muscarinic acetylcholine receptor regulates amyloid processing and produces antipsychotic-like activity in rats [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(41):10422-10433.
- [18] Rasmussen T, Fink-Jensen A, Sauerberg P, *et al.* The muscarinic receptor agonist BuTAC, a novel potential antipsychotic, does not impair learning and memory in mouse passive avoidance [J]. *Schizophr Res*, 2001, 49(1/2):193-201.
- [19] Sonda S, Katayama K, Fujio M, *et al.* 1,5-Benzodioxepin derivatives as a novel class of muscarinic M<sub>3</sub> receptor antagonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(14):925-931.
- [20] Kumar N, Kaur K, Aeron S, *et al.* Synthesis and optimization of novel and selective muscarinic M<sub>3</sub> receptor antagonists [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(18):5256-5260.
- [21] Bowery NG. Allosteric receptor modulation in drug targeting[M]. New York: Taylor & Francis Group, 2006: 287-325.
- [22] Christopoulos A, Kenakin T. G protein-coupled receptor allosterism and complexing[J]. *Pharmacol Rev*, 2002, 54(2):323-374.
- [23] Huang XP, Prilla S, Mohr K, *et al.* Critical amino acid residues of the common allosteric site on the M<sub>2</sub> muscarinic acetylcholine receptor; more similarities than differences between the structurally divergent agents gallamine and bis(ammonio)alkane-type hexamethylene bis-[dimethyl-(3-phthalimidopropyl)ammonium] dibromide[J]. *Mol Pharmacol*, 2005, 68(3):769-778.
- [24] Lazareno S, Popham A, Birdsall NJM. Allosteric interactions of staurosporine and other indolocarbazoles with N-[methyl-3H]scopolamine and acetylcholine at muscarinic receptor subtypes: identification of a second allosteric site [J]. *Mol Pharmacol*, 2000, 58(1):194-207.
- [25] Lazareno S, Popham A, Birdsall NJM. Analogs of WIN 62577 define a second allosteric site on muscarinic receptors [J]. *Mol Pharm*, 2002, 62(6):1492-1505.
- [26] Sur C, Mallorga JP, Wittmann M, *et al.* N-desmethylclozapine, an allosteric agonist at muscarinic 1 receptor, potentiates N-methyl-D-aspartate receptor activity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(23):13674-13679.

(上接第 335 页)

- tion and its suppression by dietary supplementation of (-)-epigallocatechin-gallate [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2000, 64(4):1004-1010.
- [15] Rice-Evans CA, Miller MJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids [J]. *Free Radic Biol Med*, 1996, 20(7):933-956.
- [16] Jovanovic SV, Steenken S, Hara Y, *et al.* Reduction potentials of flavonoid and model phenoxyl radicals. Which ring in flavonoids is responsible for antioxidant activity? [J]. *J Chem Soc Perkin Trans*, 1996, 2(11):2497-2504.
- [17] Jovanovic SV, Hara Y, Steenken S, *et al.* Antioxidant potential of theaflavins. a pulse radiolysis study [J]. *J Am Chem Soc*, 1997, 119(23):5337-5343.
- [18] Cabrera C, Artacho R, Giménez R. Beneficial effects of green tea - a review [J]. *J Am Coll Nutr*, 2006, 25(2):79-99.
- [19] Chen C, Yu R, Owuor ED, *et al.* Activation of antioxidant-response element (ARE), mitogen-activated protein kinases (MAPK) and caspases by major green tea polyphenol components during cell survival and death [J]. *Arch Pharm Res*, 2000, 23(4):605-612.
- [20] Widlansky ME, Hamburg NM, Anter E, *et al.* Acute ECGG supplementation reverses endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease [J]. *J Am Coll Nutr*, 2007, 26(2):95-102.
- [21] Khan N, Afaq F, Saleem M, *et al.* Targeting multiple signaling pathways by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(5):2500-2505.
- [22] Jeong YH, Jung ID, Lee JS, *et al.* (-)-Epigallocatechin gallate suppresses indoleamine 2,3-dioxygenase expression in murine dendritic cells: evidences for the COX-2 and STAT1 as potential targets [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 354(4):1004-1009.
- [23] Surh YJ, Chun KS, Cha HH, *et al.* Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF-kappa B activation [J]. *Mutat Res*, 2001, 480(1):243-268.
- [24] Leone M, Zhai D, Sareth S, *et al.* Cancer prevention by tea polyphenols is linked to their direct inhibition of antiapoptotic Bcl-2-family proteins [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(12):8118-8121.
- [25] Stangl V, Dregar H, Stangl K, *et al.* Molecular targets of tea polyphenols in the cardiovascular system [J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 73(1):348-358.