

褪黑激素受体拮抗剂的三维定量构效关系研究*

朱丽荔 徐筱杰

(北京大学化学与分子工程学院, 北京 100871)

摘要 采用两种分子场分析方法即比较分子场分析法 (CoMFA) 和比较分子相似因子分析法 (CoMSIA) 进行了 37 个褪黑激素受体拮抗剂的构效关系研究. 计算结果表明, 两种方法得到的构效关系模型都具有较好的预测能力. 在计算中, 还考察了不同格点距离和电荷计算方法对构效关系模型的影响. 通过分析分子场等值面图在空间的分布, 可以观察到叠合分子周围分子场特征对化合物活性的影响, 为设计新的褪黑激素拮抗剂提供了一些理论依据.

关键词: 褪黑激素, 拮抗剂, 三维定量构效关系 (3D-QSAR), 比较分子场分析法 (CoMFA), 比较分子相似因子分析法 (CoMSIA)

中图分类号: O641

睡眠问题一直是困扰不少人们尤其是老年人的一个很常见的问题. 夜间的失眠往往会导致日间工作效率的低下, 而且还增加了工业事故和交通事故的发生率^[1]. 近年来发现一种由荷尔蒙合成在夜间从人体的松果腺释放的褪黑激素, 对人体有一定的催眠作用. 大量文献对褪黑激素的生物化学、药理学以及生理学等不同方面进行了报导. 设计有效的具有选择性的褪黑激素受体拮抗剂对于确定褪黑激素在人类疾病中的作用有非常重要的意义, 并且对于治疗失眠和提高人体睡眠质量也有很大作用.

某些吲哚类和喹啉类化合物对褪黑激素有明显的抑制作用, Rudiger Faust 等^[1]曾系统地报导了几类化合物对褪黑激素的抑制作用. 但是迄今为止尚未看到在三维水平上进行定量构效关系的报导. 本文利用两类分子场分析方法即比较分子场分析法 (CoMFA) 和相似因子分析法 (CoMSIA) 研究了这类化合物的结构和活性关系, 为设计新的褪黑激素拮抗剂提供了一些理论依据.

1 研究方法

1.1 CoMFA 和 CoMSIA 的原理

比较分子力场分析方法 (CoMFA) 是 1988 年提出的, 至今已经成为应用最为广泛的 3D-QSAR 方法^[2-3]. 它的基本原理是: 结构相似、作用机理相同的一系列化合物的生物活性取决于化合物周围分子场的分布, 这种分子场可以反映药物分子与受体之间非键相互作用的特性. 比较分子相似因子分析法 (CoMSIA) 是近几年提出的一种新的分子场分析法, 与 CoMFA 的原理类似^[4]. 这种方法的特点是, 能量函数采用了与距离相关的高斯函数, 而不是传统的 Coulomb 和 Lennard-Jones 函数的形式, 因此可以避免在传统方法中由静电场和立体场函数形式所引起的缺陷^[4]. 实验证明, CoMSIA 往往能得到比 CoMFA 更加稳定的 3D-QSAR 模型^[5-10], 但未必能得到比 CoMFA 更好的结果^[11].

1.2 模型构建和活性构象选择

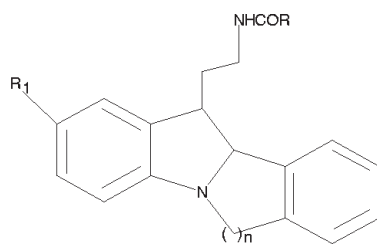
本文研究的化合物的结构和活性均来自文献^[1], 分子结构以及生物活性见表 1. 在计算中, 选取 37 个分子产生三维构效关系模型. 化合物分子的搭建, 优化均采用相同的方法. 所有的 CoMFA 计算由 Tripos 公司 SYBYL 软件的相应模块支持^[12], 在

表 1 褪黑激素拮抗剂活性数据及 CoMFA 计算结果

Table 1 Structures of melatonin antagonists, experimental and calculated biological activity by the best 3D-QSAR model from CoMFA analyses^{*}

No.	<i>n</i>	R ₁	R	log(1/ <i>k_i</i>)		Residue
				Obse.	Cal.	
5a	1	H	CH ₃	-1.23	-1.28	0.05
5b	1	H	CH ₂ CH ₃	-1.24	-1.38	0.14
5c	1	H	(CH ₂) ₂ CH ₃	-1.08	-1.11	-0.06
5d	1	H	<i>c</i> -C ₃ H ₅	-2.35	-2.57	0.22
5e	1	H	<i>c</i> -C ₄ H ₇	-3.05	-3.03	-0.02
7a	1	OCH ₃	CH ₃	1.22	0.72	0.50
7b	1	OCH ₃	CH ₂ CH ₃	0.77	0.79	-0.02
7c	1	OCH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	1.30	1.20	0.10
7d	1	OCH ₃	<i>c</i> -C ₃ H ₅	0.02	-0.10	0.12
10a	1	OCH ₂ CH ₃	CH ₃	0.68	0.42	0.26
10b	1	OCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	0.59	0.60	-0.01
10c	1	OCH ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	0.80	0.94	-0.14
10d	1	OCH ₂ CH ₃	<i>c</i> -C ₃ H ₅	-0.74	-0.80	0.06
13	1	Cl	Me	-1.53	-0.81	-0.72
20a	2	H	CH ₃	-1.56	-1.23	-0.33
20b	2	H	CH ₂ CH ₃	-0.97	0.26	-1.23
20c	2	H	(CH ₂) ₂ CH ₃	-0.57	-0.46	-0.11
20d	2	H	<i>c</i> -C ₄ H ₇	-2.55	-2.45	-0.10
21a	2	OCH ₃	CH ₃	0.29	-0.24	0.53
21b	2	OCH ₃	CH ₂ CH ₃	0.92	0.26	0.66
21c	2	OCH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	0.70	0.87	-0.17
21d	2	OCH ₃	<i>c</i> -C ₄ H ₇	-2.51	-2.45	-0.06
23a	3	H	CH ₃	-2.35	-2.01	-0.34
23b	3	H	CH ₂ CH ₃	-1.66	-1.95	0.29
23c	3	H	(CH ₂) ₂ CH ₃	-1.80	-1.72	-0.08
23d	3	H	<i>c</i> -C ₃ H ₅	-1.72	-1.67	-0.05
23e	3	H	<i>c</i> -C ₄ H ₇	-2.49	-2.68	0.19
25a	3	OCH ₃	CH ₃	-0.80	-0.57	-0.23
25b	3	OCH ₃	CH ₂ CH ₃	-0.15	-0.11	-0.04
25c	3	OCH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	0.30	-0.15	0.15
25d	3	OCH ₃	<i>c</i> -C ₃ H ₅	-1.08	-0.97	-0.11
25e	3	OCH ₃	<i>c</i> -C ₄ H ₇	-1.50	-1.43	-0.07
27a	3	OCH ₂ CH ₃	CH ₃	-2.07	-1.63	-0.44
27b	3	OCH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	-1.34	-1.65	0.31
27c	3	OCH ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃	-0.81	-0.84	0.03
27d	3	OCH ₂ CH ₃	<i>c</i> -C ₃ H ₅	-1.93	-1.82	-0.11
30	3	Cl	CH ₃	-0.70	-1.53	0.83

Note: prediction using the best CoMFA model



* Structure of melatonin antagonist

SGI Octane 2-CPU 图形工作站上完成。

CoMFA 计算中很重要的一步就是研究分子的活性构象的选择。一般情况下,化合物的活性构象不一定是能量最低构象,但往往是处于能量较低的状态。严格来讲,药物分子的准确的活性构象只能从其和受体相互作用的复合物结构中才会得到。但不能得到复合物的晶体结构时,也常采用化合物的晶体结构作为其活性构象^[3]。计算选用化合物

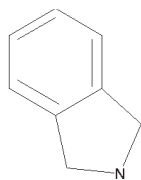


图 1 叠合的分子骨架图

Fig. 1 The molecular skeleton to perform molecular alignment

5a 的晶体结构作为模板^[1], 搭建出其它分子的坐标, 晶体结构来自剑桥晶体结构数据库. 搭建的分子采用 MMFF(merck molecular force field)力场^[13], 用分子力学方法优化, 优化的收敛条件为能量的 RMS (root mean square)值小于 $0.42 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{nm}^{-1}$. 对于有柔性侧链的分子, 采用了其能量最低的构象.

1.3 CoMFA 和 CoMSIA 分析

CoMFA 方法中最关键的步骤是化合物分子的叠合, 分子重叠好坏对模型质量有明显的影响. 一

般采用活性最高的分子作为叠合的参考分子, 其它分子叠合到该分子之上. 本文选用化合物 7c 作为参考分子进行分子叠合, 其叠合的参考分子骨架见图 1.

在 CoMFA 分析中, 分子与网络边界间的距离为 0.15 nm . 用 sp^3 带一个正电荷的 C 探针离子来计算分子在每个格点上的立体场(范德华能)和静电场(静电能). 计算时, 能量截断值为 $125 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. 计算得到分子在每个格点上的分子场后, 首先用偏最小二乘(PLS)进行交互验证来确定模型最佳主成份数和交叉验证的进行回归系数. 最后用不带交叉验证的 PLS 方法进行回归计算, 建立 CoMFA 模型. 由表 2 和表 3 所得的最佳 CoMFA 分析数据见表 1(采用的是 HUCKLE 电荷).

CoMSIA 计算中, 我们共考察了 5 种场, 包括立体场、静电场、疏水场和氢键场(氢键给体、氢键受体)对于构效关系模型的影响. 采用缺省探针来计算分子在每个格点上的分子场能. 在计算中, 衰减

表 2 格点距离对 CoMFA 计算结果的影响

Table 2 Results of the CoMFA analyses using different grid spacing

	Grid spacing (nm)			
	0.10	0.15	0.20	0.25
q^2	0.595	0.631	0.548	0.454
r^2	0.883	0.884	0.907	0.815
F	60.420	60.999	48.880	35.196
SD	0.440	0.438	0.404	0.553
N	4	4	6	4
Fraction steric	0.807	0.793	0.838	0.764
Electrostatic	0.193	0.207	0.162	0.236

N is principle component; q is correlation coefficient based on leave-one-out cross-validation; r is linear correlation coefficient; SD is standard deviation; F is value of F test

表 3 不同电荷计算方法对 CoMFA 计算结果的影响

Table 3 Results of the CoMFA analyses using different partial charges

	DEL-RE	GASTEIGER	GASTEIGER -HUCKLE	HUCKLE	MMFF	PULLMAN
	q^2	0.585	0.597	0.599	0.637	0.605
r^2	0.851	0.879	0.878	0.911	0.875	0.884
F	45.665	58.119	57.599	51.476	56.186	60.999
SD	0.496	0.447	0.449	0.395	0.454	0.438
N	4	4	4	6	4	4
Fraction steric	0.663	0.769	0.831	0.887	0.838	0.807
Electrostatic	0.367	0.231	0.169	0.113	0.162	0.193

N 、 q 、 r 、SD、 F same as Table 2

表 4 褪黑激素拮抗剂的 CoMSIA 计算结果

Table 4 Results of the CoMSIA analyses using different field combinations

	S + E	S + E + D	S + E + A	S + E + H	S + E + D + A + H
q^2	0.495	0.491	0.487	0.564	0.533
r^2	0.699	0.822	0.695	0.928	0.924
F	25.488	23.122	25.078	20.393	21.508
SD	0.695	0.560	0.699	0.475	0.418
N	3	6	3	14	13
Fraction steric	0.677	0.392	0.656	0.224	0.182
Electrostatic	0.323	0.231	0.308	0.155	0.120
H-donor		0.376			0.179
H-acceptor			0.035		0.048
Hydrophobic				0.620	0.470

S = Steric, E = Electrostatic, D = H-Donor, A = H-Acceptor, H = Hydrophobic. N 、 q 、 r 、SD、 F same as Table 2

因子设置为 0.3, 部分电荷采用 HUCKLE 电荷, 分子与网格边界间的距离、格点大小与模型拟合步骤与 CoMFA 计算相同. 得到的 CoMSIA 分析数据见表 4.

2 结果和讨论

2.1 CoMFA 分析

在 CoMFA 计算中, 格点距离的选取对计算结果会有明显的影响. 为了能让所有化合物得到最佳的构效关系模型, 本文采用了一系列的不同格点距离, 包括 0.10、0.15、0.20、0.25 nm, 并建立得相应的 CoMFA 模型(见表 2).

表 2 中数据显示, 格点距离对于模型有明显的影响. 当格点距离为 0.15 nm 时, 所得的模型具有最大的交叉验证回归系数 ($q^2 = 0.631$), 同时模型的 SD 值和 F 检验值明显好于其它的模型. 当格点距

离大于 0.25 nm 时, 空间网格的分布相对较稀, 某些分子场特征没有很好的得到表达; 但当格点距离小于 0.10 nm 时, 虽然空间场具有了更高的连续性, 但是太多的格点给 PLS 的计算带来明显噪音. 因此本文选用了 0.15 nm 作为最佳的格点距离.

同样在 CoMFA 计算中, 不同电荷计算方法的选取对计算结果也有一定的影响. 为了能让所有化合物得到最佳的构效关系模型, 本文也采用了一系列不同的电荷计算方法, 包括 DELRE、GASTEIGER、GASTEIGER-HUCKLE、HUCKLE、MMFF、PULLMAN, 并建立得相应的 CoMFA 模型(见表 3, 格点距离为 0.15 nm)

从计算结果可见, 当电荷计算方法为 HUCKLE 时, 所得的模型具有最大的交叉验证回归系数 ($q^2 = 0.637$), 同时模型的 SD 值和 F 检验也较好, 故本文选用了 HUCKLE 作为最佳的电荷计算方法.

表 5 格点距离对 CoMSIA 计算结果的影响

Table 5 Results of the CoMSIA analysis using different grid spacing

	2.5 nm	2.0 nm	1.5 nm	1.0 nm
q^2	0.559	0.551	0.564	0.525
r^2	0.884	0.866	0.928	0.842
F	33.546	32.335	20.393	33.053
SD	0.516	0.486	0.415	0.519
N	5	6	14	5
Fraction				
Steric	0.221	0.284	0.224	0.256
Electrostatic	0.171	0.194	0.155	0.205

N 、 q 、 r 、SD、 F same as Table 2

2.2 CoMSIA 分析

在 CoMSIA 分析中, 格点距离仍然为 0.15 nm, 电荷计算方法采用 HUCKLE 方法, 得到的 CoMSIA 模型计算结果见表 4.

从计算结果中可以看出, 不同势场的选择对最终结果即交叉验证回归系数 q^2 有明显影响, 除了考察立体场和静电场以外, 加入疏水场可以明显提高模型的预测能力. 在 CoMSIA 计算中, 我们也系统考察了格点距离的选取对计算结果的影响. 采用了一系列不同格点距离, 包括 0.10、0.15、0.20、0.25 nm, 并建立得相应的 CoMSIA 模型 (见表 5), 电荷计算方法为 HUCKLE 法.

从表 5 的计算结果中可以看出, 格点距离的变化对于模型的影响很小, 从最大的 $q^2 = 0.564$ (0.15 nm) 到最小的 $q^2 = 0.525$ (0.10 nm), 变化要明显小于 CoMFA 在同样条件下的变化.

对于格点距离和电荷计算方法的变化, 两种模型呈现不同的反应. 从计算结果中可以看出, CoMFA 对条件变化的敏感程度要远大于 CoMSIA, 这也和前面报导的结果完全吻合^[6-7]. 也就是说, CoMSIA 较 CoMFA 稳定. CoMFA 的不稳定性归因于 Lennard-Jones 势能形式以及截取值 (cut-off value) 的人为设定. 例如, 在某个空间取向, 叠合分子的一些原子与某些网格非常靠近, 这个格点上的 Lennard-Jones 势能会急剧变大. 同时, Lennard-Jones 势能被强制设定为截取值, 靠近这些格点的使用截取

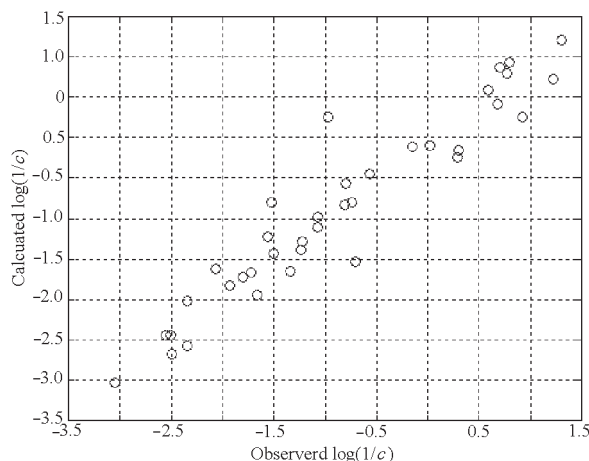


图 2 分子的实际活性和预测活性之间的关系图
Fig. 2 The plot of experimental activities vs predicted values

值可能在最终模型中引入不可预知的不稳定性. 而在 CoMSIA 中, 引入依赖于距离的高斯型函数, 可避免在原子位置附近数值的奇异性以及分子表面附近格点处势能的急剧变化. 因此 CoMSIA 可以部分克服 CoMFA 的一些内在缺陷.

CoMSIA 和 CoMFA 模型所得的分析结果中的交互验证系数都大于 0.4, 表示两者都有着较高的质量和较强的预测能力. 图 2 显示了采用最佳 CoMFA 模型得到的预测活性和实测活性之间的关系.

2.3 CoMFA 等势面图

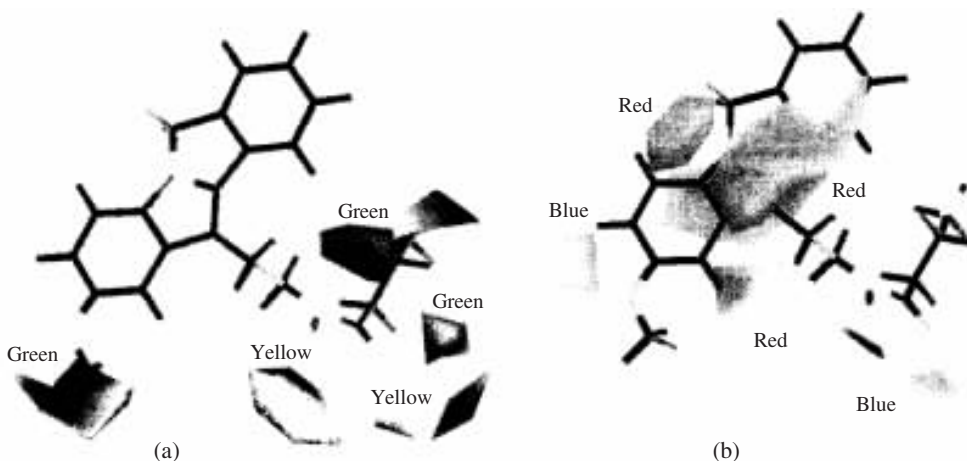


图 3 CoMFA 等势面图
Fig. 3 The contour maps of CoMFA fields
a) electrostatic field, b) steric field

对于同是最优的条件 (格点距离 0.15 nm, HUCKLE 电荷算法) 下, 由 CoMFA 所得的 3D-QSAR 模型 ($q^2 = 0.637$) 比由 CoMSIA 所得的 3D-QSAR 模型 ($q^2 = 0.564$) 具有更好的预测能力. 此外, 在只考虑了立体场和静电场的 CoMFA 模型中, 立体场对模型的贡献起主要作用. 从 CoMFA 的计算结果中, 可以很直观地看到各种场性质包括静电场、立体场等对分子生物活性的影响. CoMFA 通过由 QSAR 方程中空间格点上对生物活性影响较大的点相连接, 而在叠合分子的周围用不同颜色的等势面表示不同性质的等值空间区域.

图 3 (a) 显示了具有最高活性的分子 7c 周围的立体场. 图中绿色和黄色表示重要的立体特征. 如果要获得较高生物活性, 可在绿色区域增加基团的体积或在黄色区域减少基团的体积. 从立体场的等值线图可以看到, 在分子周围等值面的分子以绿色区域为主, 仅在取代基团 R 附近靠近五元杂环有一小块黄色的区域. 其中在苯环取代基团 R₁ 附近有一较大的连续的绿色区域, 说明在此处有体积较大的取代基对于提高化合物的活性非常有利. 图 3 (b) 则显示了具有最高活性的分子 7c 周围的静电场. 图中的红色和蓝色表示重要的静电特征. 如果要获得较高生物活性, 可在蓝色区域增加正电荷的基团或在红色区域增加带负电荷的基团. 和立体场比较, 静电场在分子场中所占的比例相对较小, 为 0.162. 在分子的周围, 以红色区域为主, 在这些区

域内引入负电基团可能有利于提高分子的活性; 在分子周围, 只有一块较大的蓝色区域. 这个区域位于取代基 R₁ 所在苯环位置附近, 在此处引入正电基团, 对提高活性有利.

References

- 1 Rudiger F, Garratt P G, Jones R, Yeh L K. *J. Med. Chem.*, **2000**, **43**: 1050
- 2 Cramer R D, Patterson D E, Bunce J D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, **110**: 5959
- 3 Hou T J, Xu X J. *Progress in Chemistry*, **2001**, **13**: 436 [侯廷军, 徐筱杰. 化学进展 (*Huaxue Jinzhan*), **2001**, **13**: 436]
- 4 Klebe G, Abraham U, Mietzner T. *J. Med. Chem.*, **1994**, **37**: 4130
- 5 Hou T J, Li Y Y, Xu X J. *J. Mol. Model.*, **2000**, **6**: 438
- 6 Hou T J, Li Z M, Li Z, Liu J, Xu X J. *J. Chem. Info. Comp. Sci.*, **2000**, **40**: 1002
- 7 Zhu L L, Hou T J, Xu X J. *J. Mol. Model.*, **2001**, **7**: 223
- 8 Zhu L L, Hou T J, Xu X J. *J. Chem. Info. Comp. Sci.*, **2001**, **41**: 1032
- 9 Hou T J, Xu X J. *Chemometr. Intell. Lab.*, **2001**, **56**: 123
- 10 Zhu L L, Hou T J, Xu X J. *Acta Chim.-Sin.*, **2001**, **59**: 877 [朱丽荔, 侯廷军, 徐筱杰. 化学学报 (*Huaxue Xuebao*), **2001**, **59**: 877]
- 11 Gu C M, Hou T J, Xu X J. *Chem. J. Chinese Universities*, **2001**, **22**: 1864 [顾长明, 侯廷军, 徐筱杰. 高等学校化学学报 (*Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao*), **2001**, **22**: 1864]
- 12 Tripos 6.5 Users Guide. St. Louis, USA: Tripos Inc., 2001
- 13 Halgern T A. *J. Comput. Chem.*, **1996**, **17**: 490

3D-QSAR Analyses of Melatonin Antagonists*

Zhu Li-Li Xu Xiao-Jie

(College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871)

Abstract In this paper, two kinds of 3D-QSAR techniques: comparative molecular fields analysis (CoMFA) and comparative similarity indices analysis (CoMSIA) were applied using a data set of 37 melatonin antagonists. The influences of different grid spacing and partial charge models were systematically investigated. The CoMFA contour plots identified several essential features including steric and electrostatic fields, which are valuable for us to take insight into the mechanisms of the intermolecular interactions between inhibitors and receptor.

Keywords: Melatonin, Antagonist, 3D-QSAR, CoMFA, CoMSIA