

药物透过血脑屏障的 3D-QSPR: H₂ 受体拮抗剂的 CoMFA 和 EVA 分析

朱七庆, 屈凌波, 雷新胜, 郭宗儒*

(中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

摘要 目的: 药物透过血脑屏障是药代动力学的重要过程, H₂ 受体拮抗剂是作用于神经外周的抗溃疡药物, 为避免该类药物透过血脑屏障损伤中枢神经, 产生毒副作用, 指导该类药物的设计与合成。方法和结果: 选择了不依赖于实验参数的比较分子力场分析(CoMFA)方法和最近发展的本征值(EVA)方法, 建立了有关的三维药代动力学性质(3D-QSPR)模型。CoMFA 模型的统计参数为: 交叉验证系数 $r_{cv}^2 = 0.625$, 相关系数 $r^2 = 0.893$, $F_{3,17} = 47.270$, 标准偏差 $SE = 0.254$; EVA 模型的统计参数为: 交叉验证系数 $r_{cv}^2 = 0.697$, 相关系数 $r^2 = 0.922$, $F_{3,17} = 67.766$, 标准偏差 $SE = 0.203$ 。结论: 两种方法都能建立三维定量构效模型, EVA 模型有更高的预测能力。

关键词 血脑屏障; 3D-QSPR; H₂ 受体拮抗剂; CoMFA 方法; EVA 方法

研究药物在血液和大脑之间的分布, 预测药物透过血脑屏障的能力, 对设计药物有重要意义。影响药物分子透过血脑屏障的因素很多^[1], 包括药物分子在生理条件下的电离能力、结合血浆白蛋白能力及药物分子的亲脂性和大脑的血流量等。除大脑血流量不能控制外, 其它因素都与分子的性质有关, 通过药物分子的修饰可加以改善。利用比较分子力场分析 CoMFA 方法^[2], 综合考虑分子的物化性质及分子的大小、形状等三维特征, 作者^[3]曾成功地建立了作用于中枢系统的阿片类药物透过血脑屏障(blood brain barrier, BBB)的三维构效模型。为全面考察药物透过 BBB 的构效关系, 本文在 CoMFA 的基础上, 利用本征值方法 EVA^[4](eigen values)研究了作用于神经外周的 H₂ 受体拮抗剂的构效关系。

EVA 是一种新的三维构效关系研究方法, 它基于量子化学的基本原理, 通过求解 Schrödinger 方程得到的电子势能函数, 表征分子的一切性质, 如分子的大小、形状, 分子的电子环境, 及许多物化参数, 它是一个完整的分子描述参数, 回归药物穿过 BBB 的能力与 EVA 描述参数理应得到较好的相关性。与 CoMFA 相比, EVA 只需求解 Schrödinger 方程, 对分子的构象依赖性小, 不必进行分子叠合, 建立的构效方程一般具有较高的预测能力。

EVA 的基本原理

每个分子对应一个唯一的振动模式, 该振动模式能表征分子的形状、大小和电子等性质, 理论化学家常将它作为推断和预测化学现象的主要依据, 振动模式可根据电子势能函数经 Schrödinger 方程解得。EVA 方法建立了生物活性与分子的振动频率之间的定量关系, 共分 3 个步骤:

(1) 将每个振动频率投影到 X-坐标轴上, Y 坐标表示频率的大小, 与分子振动产生的红外光谱相对应, 频率范围定为 $0 \text{ cm}^{-1} \sim 4\,000 \text{ cm}^{-1}$ 。

(2) 对相同和两倍半峰宽内的频率进行强度 $I(\nu)$ 加和, 得到频率 ν 与强度 $I(\nu)$ 曲线, 曲线与分子一一对应。频率强度 $I(\nu)$ 按下式计算:

$$I(\nu) = \sum_i \frac{e^{-(\nu - f_i)^2 / 2\sigma^2}}{\sigma \cdot \sqrt{2\pi}}$$

式中, $I(\nu)$ 为频率强度, ν 为频率的大小, f_i 为第 i 个振动频率的振动因子, σ 为频率高斯分布的半峰宽, 与红外光谱的半峰宽不同, 在 EVA 中, 所有频率的半峰宽 σ 都相同, 在缺省的条件为 10 cm^{-1} 。图 1 为化合物吡唑芳基醚的频率 ν - 强度 $I(\nu)$ 曲线图^[5]。经 AM1 半经验分子轨道理论计算得 136 个正则振动模式, 这些振动的频率在 $1\,200 \text{ cm}^{-1} \sim 1\,500 \text{ cm}^{-1}$ 之间, 图的上方表示频率的分布, 下方为 $\nu - I(\nu)$ 曲线, A 峰仅 1 个频率, 强度低, 而 B 峰为多个频率的强度加和, 峰形高。

(3) 根据 $\nu - I(\nu)$ 曲线, 以一定步长 $\delta \text{ cm}^{-1}$ 逐个记录频率的强度, 由这些强度值(共 $4\,000/\delta$ 个)组成

收稿日期: 1998-10-05

基金项目: 1998 年博士后基金资助项目

* 联系人 Tel: (010)63165249, E-mail: guozr@hotmail.com

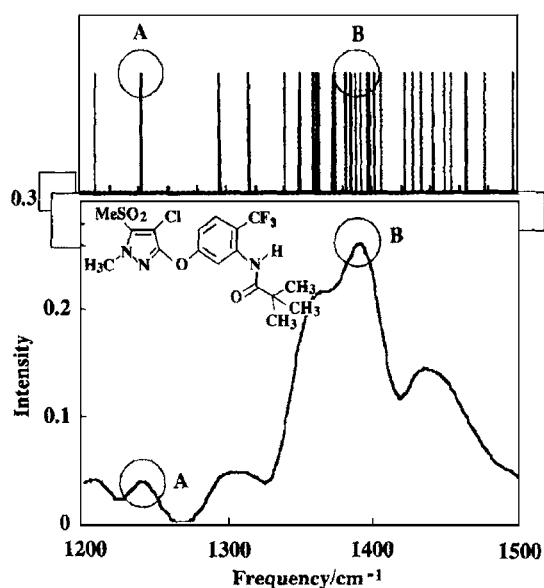


Fig 1 Plot of $\nu - I(\nu)$ of pyrazole trifluorotoluidide ether.

的向量即为 EVA 对分子的描述参数。步长 δ 越小, EVA 对分子的描述就越准确, 在半峰宽为 10 cm^{-1} 时, 5 cm^{-1} 的步长是最佳的选择, EVA 描述参数常由 800 个变量组成。

化合物分子的 EVA 描述参数确定后, 用偏最小二乘法 PLS^[6] 建立活性与 EVA 描述参数之间的定量构效关系。

计算方法

1 药物透过 BBB 能力的表达

对经静脉达中枢神经系统的药, 须经两个步骤产生药效, 即药物分子透过血脑屏障到达作用部位和药物分子结合相应受体产生生物效应。根据 Hansch 所提出的线性自由能相关分析法, 静脉给药的药效活性可用如下方程表达^[7]:

$$\log 1/C_{\text{blood}} = a \times \log A + b \times \log k_x + c \quad (1)$$

C_{blood} 是一定时间内, 达到指定生物效应活性分子的浓度或剂量; A 为活性分子到达受体部位的概率, 对静脉给药, $\log A$ 可定量描述分子透过 BBB 的能力; k_x 为活性分子结合受体产生生物效应的速率常数。

对颅腔给药, 药物活性可近似以下式表达^[7]:

$$\log 1/C_{\text{brain}} = b \times \log k_x + d \quad (2)$$

由(1)-(2)可得:

$$\log(C_{\text{brain}}/C_{\text{blood}}) = a \times \log A + d', \quad d' = c - d \quad (3)$$

根据方程(3), 由测定静脉和颅腔内药物分子的活性值, 可确定药物分子透过 BBB 的能力, $\log(C_{\text{brain}}/C_{\text{blood}})$ 值越大, 药物透过血脑屏障的能力越强。

2 化合物的选择

选择的 H_2 受体拮抗剂包括 21 个化合物, 它们的活性值 $\log(C_{\text{brain}}/C_{\text{blood}})$ 已由实验测定^[8], 其结构和活性数值见图 2^[8]。此组化合物的结构变化较大, 包含多种结构类型, 同时, 化合物的柔性也较大, 有利于比较 CoMFA 和 EVA 各自的建模能力。

3 比较分子力场分析

21 个化合物的三维结构由 Sybyl6.4^[9] 中的 Build/Edit-Sketch 子程序构建; 分子三维结构优化用 Maximin2 分子力学程序进行, 选用 Tripos 力场, 分子荷载 Gasteiger-Huckel 电荷, 介电常数与距离相关, $\epsilon = r_{ij}$, 能量收敛限为 $0.01 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。建立 CoMFA 模型, 关键在于活性构象的确定和模板分子选择, 本组化合物的结构类型变化大, 但 H04 有各类结构的特征, 因此选择它的最低能量构象作为模板分子, 最低能量构象通过系统搜索 Systematic Research 确定, 以 1~12 号原子作为叠合原子并参考亚结构进行叠合, 21 个化合物叠合见图 3。

进行 CoMFA 分析选用 sp^3 杂化的 C^+ 探针计算分子周围立体场和静电场, 探针行进步长和范围均取缺省值。立体场的能量阈值为 $30.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。以交叉验证和非交叉验证偏最小二乘法确定最佳主成分和 CoMFA 模型。

4 EVA 分析

分子构象对 EVA 分析结果有一定的影响, 尤其在求解 1000 cm^{-1} 以下的振动频率时, 本文在进行 EVA 分析时, 所有分子的构象采取与 CoMFA 分析相同的构象以保障两种方法的可比性。分子的正则振动频率由 MOPAC6.0 中的半经验分子轨道理论 AM1 计算, 所得的振动频率根据如下参数转换成相应的 EVA 描述参数: (1) 振动频率半峰宽 σ 为 10 cm^{-1} ; (2) 最低频率 200 cm^{-1} , 最高频率 4000 cm^{-1} ; (3) 根据 $\nu - I(\nu)$ 曲线, 记录频率强度的步长 δ 为 5 cm^{-1} , 因此每个分子的 EVA 描述参数由 760 个数值组成。EVA 的计算过程与 CoMFA 相似, 即在 Sybyl6.4 的 molecular spreadsheet 中, 通过 autofill-EVA 自动计算填入表格。

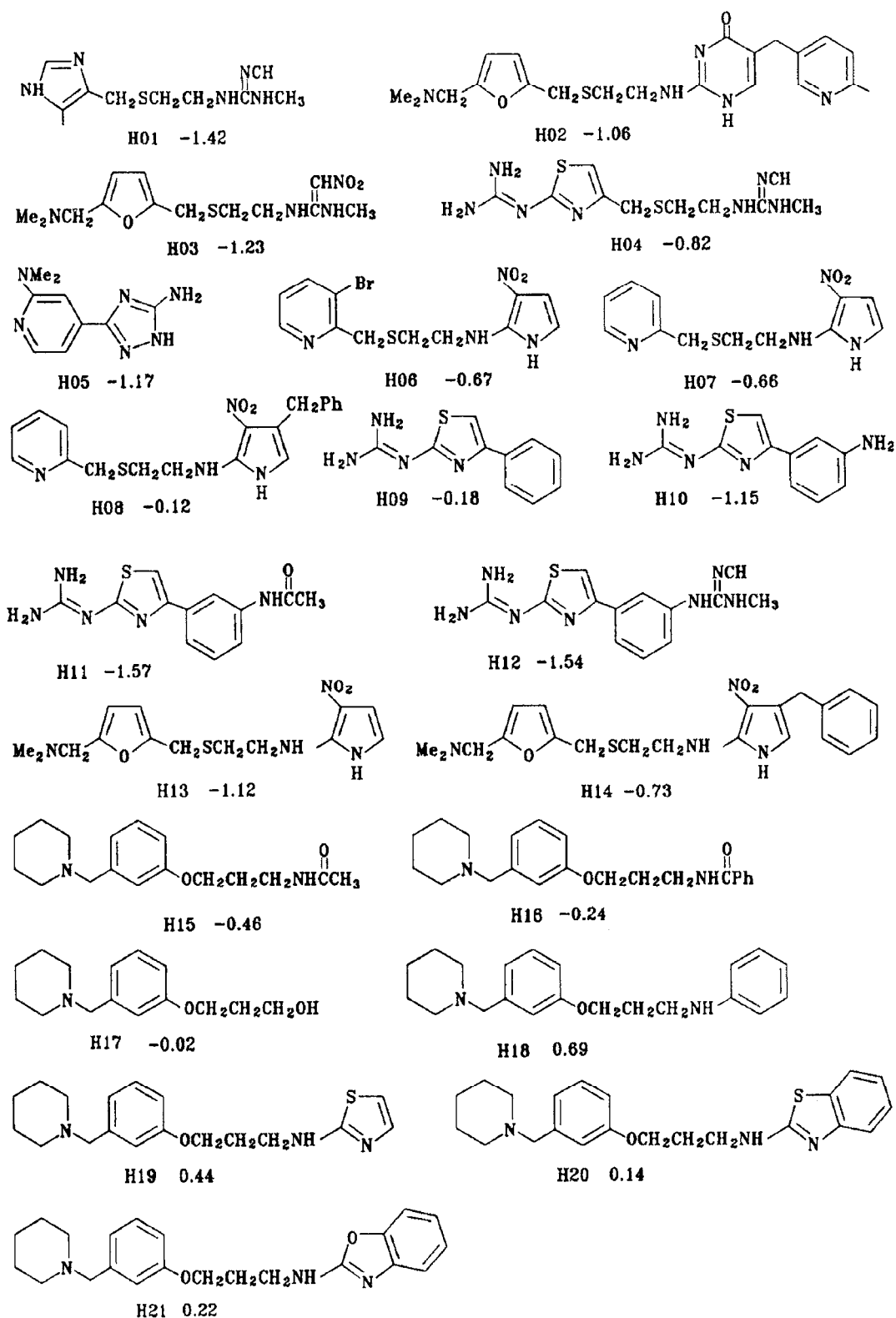


Fig 2 Structures and $\log(C_{\text{brain}}/C_{\text{blood}})$ values of 21 H_2 -receptor histamine antagonists.

结果与讨论

1 比较分子力场模型

H_2 受体拮抗剂的 CoMFA 模型的统计学参数为:交叉验证相关系数 $r_{cv}^2 = 0.625$, 最佳主成分数为 3。由最佳主成分数建立的 CoMFA 模型的传统

相关系数 $r^2 = 0.893$, $F_{3,17} = 47.270$, 标准偏差 $SE = 0.254$ 。药物穿透血脑屏障的能力与其亲水、疏水性有一定的关系, 本文在进行 CoMFA 分析时, 分别用 C^+ 和 H_2O 作为分子探针, 结果表明, 探针的选择对结果没有明显的影响。对于 H_2 受体拮抗剂, 仅用立体场表征分子便可得到有最佳预测能力的

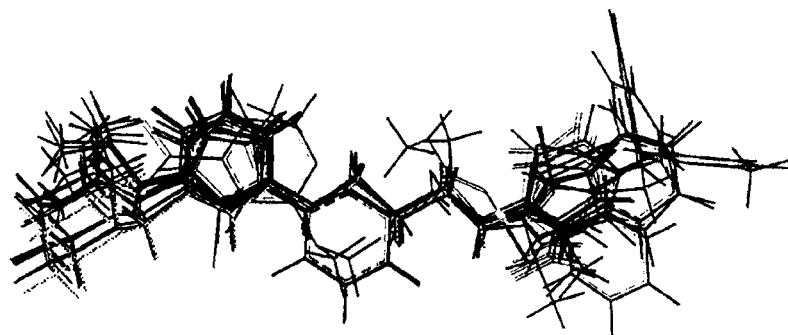


Fig 3 Template molecule H04 and superimposition of 21 H₂-receptor histamine antagonists.

CoMFA 模型。该 CoMFA 模型对 21 个 H₂ 受体拮抗剂透过血脑屏障能力的预测值与实验值的相关图见图 4a。

2 比较分子力场模型的系数等势图

CoMFA 模型的系数等势图见图 5, 参照分子为 H04, 该图提示, 在 H₂ 受体拮抗剂分子的两端有较大的绿色区域存在, 表明引入大体积基团, 分子将易于透过血脑屏障, 这样的分子如 H18~H21 等。对作用于神经外周的药物, 易于穿过 BBB, 不仅不利于提高药效, 还会对中枢神经系统产生毒副作用, 因此, 对于该类药物的设计应该尽量避免在这些区域

引入大基团。从系数等势图提示两个绿色区域间有一定的距离要求, 当分子的长度不能满足这一要求时, 分子将不易于透过 BBB, 象 H01, H03 就属于这种情况。在靠近右端绿色区域处存在一个大的黄色区域, 表明在该区域引入大体积的基团将降低化合物透过血脑屏障的能力, 化合物 H10~H12 在右端绿色区域没有大基团, 且在黄色区域附近为体积较大的苯环, 由于这两方面的原因降低了它们的透过能力。CoMFA 模型没有体现静电作用, 表明该类化合物透过血脑屏障主要决定于立体场或疏水场。

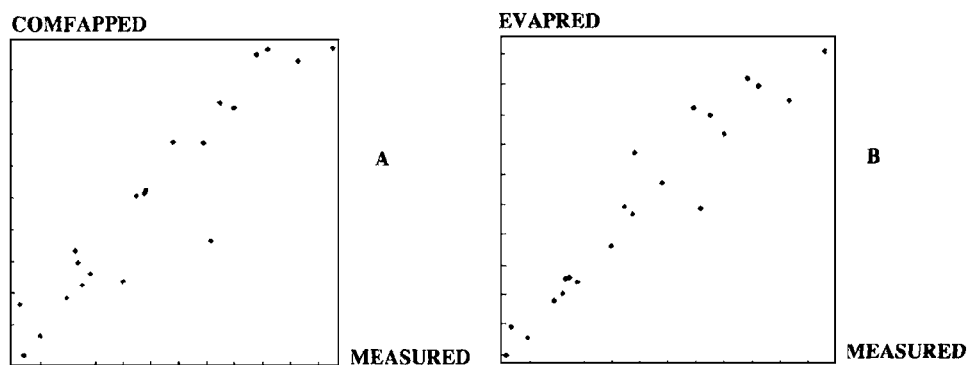


Fig 4 Predicted vs actual $\log(C_{\text{brain}}/C_{\text{blood}})$ of 21 H₂-receptor histamine antagonists.

A. Predicted with CoMFA; B. Predicted with EVA.

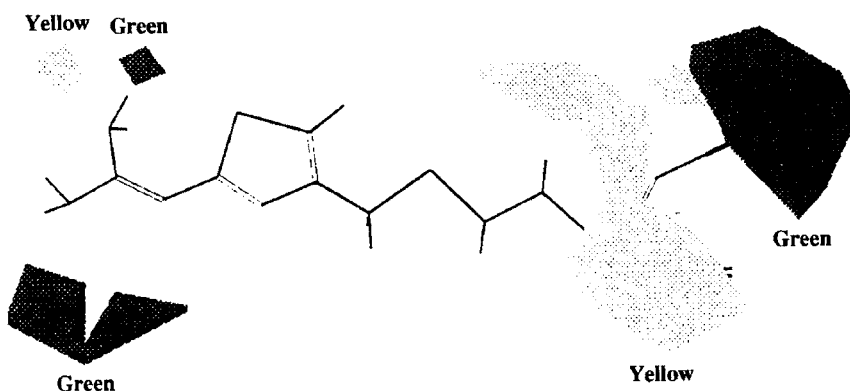


Fig 5 CoMFA STDEV * COEFF contour map of 21 H₂ receptor antagonist.

3 EVA 模型

H₂ 受体拮抗剂 EVA 模型的统计学参数为:交叉验证相关系数 $r_{cv}^2 = 0.697$, 最佳主成分数为 3。由最佳主成分数建立的 EVA 模型的传统相关系数 $r^2 = 0.922$, $F_{3,17} = 66.766$, 标准偏差 $SE = 0.203$ 。该 EVA 模型对 21 个 H₂ 受体拮抗剂透过血脑屏障能力的预测值与实测值的相关图见图 4b, 根据 a, b 两图也可看出, EVA 模型的预测能力高于 CoMFA 模型。

4 EVA 模型判别曲线图

CoMFA 用系数等势图表示构效关系, 而 EVA 建立的是分子振动频率对生物活性的影响, 其结果是通过各种 EVA 曲线图表示, 其中最有用的是 EVA 判别曲线图(图 6), 它通过给出各种振动频率对模型的影响程度, 表示该振动频率对模型的影响, 振动频率越大对应的峰越高。图 6 给出了透过血脑屏障最差的 H11 和透过血脑屏障最好的 H18 的 $\nu-I(\nu)$ 曲线图。图 6 提示, 对模型影响最大的振动频率为 $\sim 1225 \text{ cm}^{-1}$, $\sim 1400 \text{ cm}^{-1}$, $\sim 3025 \text{ cm}^{-1}$ 和 $\sim 3200 \text{ cm}^{-1}$ 的振动, 根据化合物 H18 和 H11 的 $\nu-I(\nu)$ 曲线, H18 的频率强度 $I(\nu)$ 值明显大于 H11, 由此不难解释 H18 的透过能力高于 H11。

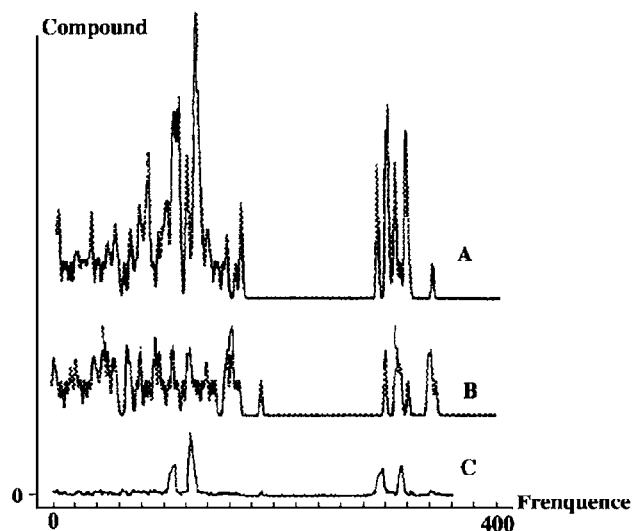


Fig 6 (A) Discriminant power curve of EVA model of 21 H₂-receptor histamine antagonists, (B) $\nu-I(\nu)$ plot of H18, (C) $\nu-I(\nu)$ plot of H11.

5 CoMFA 模型与 EVA 模型比较

CoMFA 通过力场的相似性比较来建立构效关系, 药效构象的确定和分子叠合规则的选取是影响 CoMFA 结果的两大因素。在本研究中, H₂ 受体拮抗剂为一组柔性分子, 活性构象不易确定, 分子叠合也仅作了相应的近似操作, 因此所得模型预测能力较低, 交叉验证系数 r_{cv}^2 为 0.625; 而 EVA 方法依赖分子的构象小, 进行 EVA 计算时不必进行分子叠合, 因而以 EVA 建立的模型有较高的预测能力, r_{cv}^2 为 0.697。

CoMFA 和 EVA 反映的都是活性与三维信息的关系, CoMFA 能给出直观的三维结构以便设计新分子, EVA 则通过各种曲线图间接反应分子结构对活性的影响。

参 考 文 献

- 1 Chadha H, Abraham AMH, Mitchell RC. *Proceedings of an International Conference on the New Concept of a Blood-brain Barrier*, London, 1994.4
- 2 Gramer RD, Patterson DE, Bunce JD. Comparative molecular field analysis (CoMFA) 1: effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. *J Am Chem Soc*, 1988, **110**:5959
- 3 朱七庆, 屈凌波, 郭宗儒. 阿片类药物透过血脑屏障的三维构效研究. *药学学报*, 1999, **34**: (待发表)
- 4 Ferguson AM, Heritage T, Pack SE. EVA: a new theretically based molecular descriptor for using in QSAR/QSPR analysis. *J Comp-Aided Mol Design*, 1997, **11**:143
- 5 Clark RD. Synthesis and QSAR of herbicidal 3-porazolyl 2, 2,2-trifluo rotolyl ethers. *J Agric Food Chem*, 1996, **44**: 3643
- 6 Lindberg W, Persson JA, Wold S. Partial least-square methods for spectroflurimetric analysis of mixture of humic acid and lignin sulfonate. *Anal Chem*, 1983, **55**:643
- 7 Kutter E. Structure-activity correlations of morphine-like analgetics based on efficiencies following intravenous and intraventricular application. *J Med Chem*, 1970, **13**:801
- 8 Young RC, Mitchell RC, Brown TH. Development of a new physicochemical model for brain penetration and its application to the design of centrally active H₂ receptor antagonist. *J Med Chem*, 1988, **31**:656
- 9 The Programm Sybyl 6.4 is available from Tripos Assoc., 1699 S. Hanley Rd, St. Louis, MO 63144

3D-QSPR OF BLOOD BRAIN BARRIER TRANSPORT FOR H₂ RECEPTOR ANTAGONIST BY USING COMFA AND EVA METHOD

Zhu Qiqing (Zhu QQ), Qu Lingbo (Qu LB), Lei Xinsheng (Lei XS) and Guo Zongru (Guo ZR)

*(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and
Peking Union Medical College, Beijing 100050)*

ABSTRACT AIM: To built the model of blood brain barrier transport of 21 H₂ receptor antagonists. **METHODS AND RESULTS:** The model was built by CoMFA (comparative molecular field analysis) and EVA (eigen values) method. Both CoMFA and EVA gave significant relationships with high cross-validation correlation. The CoMFA model yielded a cross-validation 0.625 of r_{cv}^2 , conventional r^2 of 0.893, $F_{3,17} = 47.270$, and SE (Standard Error) = 0.254; the statistical parameters for the EVA model are 0.697 of r_{cv}^2 , conventional r^2 of 0.922, $F_{3,17} = 67.766$, SE (Standard Error) = 0.203. **CONCLUSION:** The results showed that EVA model and CoMFA model have good predictive ability, but the EVA model showed higher predictive ability than the CoMFA model because it can exactly describe all properties of the molecule and is independent of the molecular alignment rule.

KEY WORDS blood brain barrier; 3D-QSPR; H₂ receptor antagonist; CoMFA; EVA

