

噻唑烷二酮和芳酮酸类 PPAR γ 激动剂三维定量构效关系研究

易翔, 郭宗儒*

(中国医学科学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: 目的 建立 PPAR γ 激动剂-噻唑烷二酮和芳酮酸类化合物的三维定量构效关系, 为设计高活性 PPAR γ 激动剂提供结构信息。方法与结果 用比较分子力场分析方法得到噻唑烷二酮和芳酮酸类化合物 CoMFA 模型, 其交叉验证相关系数 $R^2 = 0.656$, 非交叉验证相关系数 $R^2 = 0.982$, $F_{10,37} = 201.1$, 绝对误差 $SE = 0.115$ 。结论 从 CoMFA 系数等势图中揭示芳酮酸类化合物较噻唑烷二酮类化合物活性更高的原因, 提示芳酮酸类化合物与 PPAR γ 结合时形成了不同于 BRL-PPAR γ 复合物晶体的结合腔。

关键词: 过氧化酶体增殖激活 γ 受体 (PPAR γ); PPAR γ 激动剂; 比较分子力场分析; 噻唑烷二酮; 芳酮酸
中图分类号: R916.1; R916.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-4870(2001)04-0262-07

II 型糖尿病是由于胰岛中 β -细胞胰岛素分泌不足和外周胰岛素耐受引起的内分泌性疾病, 用常规治疗的效果不高。分子药理学研究表明, 过氧化酶体增殖激活 γ 受体 (peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ) 是设计 II 型糖尿病药物的重要靶位。PPAR γ 位于细胞核内, 其激素结合区被活化后, 序列末端的活化因子 II (activating function-2, AF-2) 构象发生改变, 影响了辅活化因子 (co-activating factor-1, SCR-1) 的结合, 从而调动与 PPAR γ 结合的 DNA 序列在表达脂质基因过程中的信号级联放大作用^[1,2]。吡咯列酮等噻唑烷二酮 (thiazolidinedione, TZDs) 化合物^[3,4] 以及芳酮酸类^[7] 化合物作为 PPAR γ 激动剂增强了胰岛素与其靶受体结合的信号传导, 提高胰岛素对其靶组织的敏感性, 从而有效降低血糖, 参与脂肪代谢。本文通过研究这两类化合物的三维定量构效关系, 采用比较分子力场分析方法 (CoMFA)^[5], 揭示影响这些化合物活性的立体结构和电荷分布的量变规律, 指导设计高活性化合物。

实验方法

所有工作均在 SGI O2 工作站用 Tripos 公司 SYBYL 6.5 软件包完成。除特殊指明外所有参数均为 SYBYL 缺省值。

1 化合物的选择

将噻唑烷二酮和芳酮酸两类化合物的结构视作为 3 部分^[6] 组成 (图 1): 中间的苯氧基; 有一定疏水性的 R 基团, 其结构变化可影响与受体的疏水作用, 并调整整体分子的药动学行为; C, C' 部分的羰基和其他杂原子, 可与受体结合并启动级联反应, 是重要药效团。从罗咯列酮 (rosiglitazone, BRL)-PPAR γ 复合物晶体结构中噻唑烷二酮的羰基和杂原子与受体的偶极和氢键相互作用证明其重要性^[1,7]。两类化合物的活性数据来自同一实验室^[7-9], 具有可比性。在计算中活性采用结合常数的负对数 $-\log K$, 见表 1。由于芳酮酸系列中的部分化合物为单一构型 (L), 而 TZD 类活性测定采用消旋体, 为使活性置于同一水平, 假定一种构型活性贡献小至可忽略不计, 故将消旋体的活性加以校正, 增大 $\log 2 = 0.30$ 。

2 模板选取及活性构象确定

从 BRL-PPAR γ 复合物晶体结构^[1] 中剥离配体小分子 BRL, 经分子力学程序 Minimize 进行能量优化, 所得构象与优化前的构象比未见明显变化, 表明 BRL 在晶体中的构象 (活性构象) 接近最低能量构象, 二者迭合图见图 2。

用 CoMFA 所分析的 48 个化合物的构象均参照 BRL 构象, 因 48 个化合物的结构中都含两个以上的芳环, 分子内芳环的 π - π 相互作用, 对构象有很大影响^[10], 以化合物 48 为例, 用 systematic search 法寻找到 3 个最低能量构象 (图 3), 其中 3a 和 3b 是折叠型构象, 能量分别为 16.8 和 13.3

收稿日期: 2000-08-24

作者简介: 郭宗儒, 男, 教授, 博士生导师。

* 通讯作者 Tel: (010) 63165249, Fax: (010) 83155752,

E-mail: zrguo@imm.ac.cn

$\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$, 3c 呈打开型构象, 能量为 $17.8 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。分子在游离状态下, 两个芳环间形成 $\pi-\pi$ 相互作用, 成为折叠型构象, 能量较低; 但与 PPAR γ 结合时, 由于诱导契合作用, 分子呈打开型构象。在分析中分子载 Gasteiger Huckle 电荷, 能量变化收敛到 $0.05 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$, 采用 Powell 能量梯度法、Tripos 力场确定构象。

3 分子叠合

分子叠合是依据所分析的配体分子以相同或相似作用方式与受体结合部位相互作用, 因而确保药效团在空间的分布有相同性, 所以叠合的分子基团是影响 CoMFA 结果的另一重要因素。选定苯氧基部分的苯环质心和 C, C' 部分的羰基碳作为迭合位点, 可确保 48 个化合物的空间取向和构象的变化与活性值的量变规律有可比性。叠合结果见图 4。

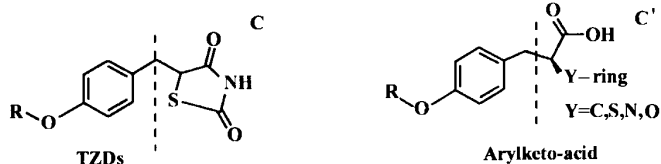


Fig 1 Structures of TZDs and arylketone acid

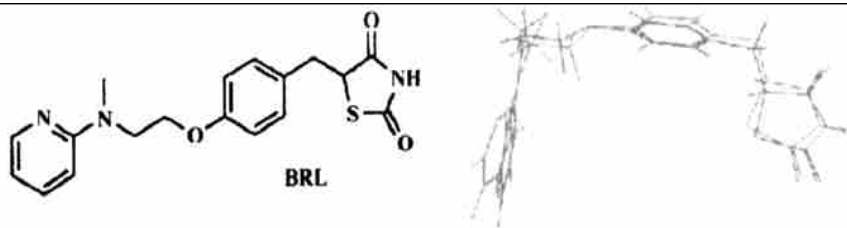


Fig 2 Superimposition of energy-minimized BRL and BRL of complex

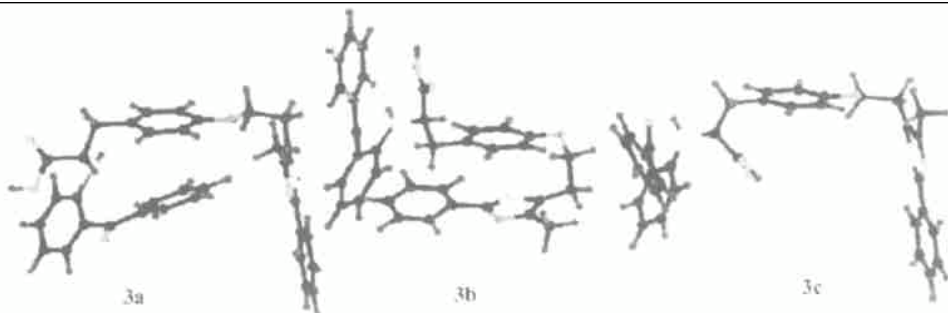


Fig 3 Minimized structure of compound 48



Fig 4 Alignment of analyzed compounds 1 - 48

4 比较分子力场分析 (CoMFA) 与 PLS 分析

选用 $\text{sp}^3 \text{ C}^+$ 为探针对叠合分子外周网格点上的静电场能和立体场能的大小和分布进行了计算, 步长 0.2 nm , COMFA 自动产生的三维网格可包括

全部分子, 其大小为: X. - $1.4 - 1.6 \text{ nm}$; Y. - $0.96 - 1.0 \text{ nm}$; Z. - $0.9 - 1.2 \text{ nm}$, 总共计算的网格点数为: $16 \times 10 \times 11 = 1760$ 个; 静电场能和立

战场能均设为 $30 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。偏最小二乘法 (partial least square, PLS) 分析用抽一法进行交叉验证, 最小行过滤值 (δ_{\min}) 设为 $4.8 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。以获得的主成分数 10, 进行非交叉验证以建立模型。

结果与讨论

1 CoMFA 模型

比较分子力场分析所得 CoMFA 模型的统计学参数为: 交叉验证相关系数 $R^2 = 0.656$, 表明模型预测能力可信, 主成分数为 10; 非交叉验证的 PLS 回归得拟合的相关系数 $R^2 = 0.982$, 绝对误差 $SE = 0.115$, 统计量方差比 $F_{(10, 37)} = 201.1$; 立体场与静电场的贡献分别为 74.1% 和 25.9%。该 CoMFA 模型对 48 个化合物活性预测值与实验值见表 1, 相关图如下:

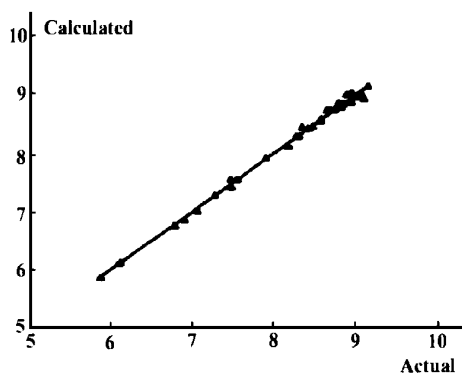


Fig 5 Calculated vs actual values ($-\log IC_{50}$)

2 CoMFA 系数等势图

在 CoMFA 模型中, 立体场与静电场的贡献分别为 74.1% 和 25.9%, 前者是后者的 3 倍, 静电场仅表现为右方较小的蓝色区域 (图 6), 表明静电场作用不明显。

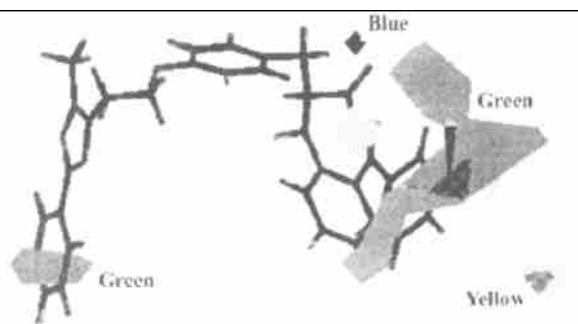


Fig 6 CoMFA STDEV * COEFF contour map

图 6 中, 绿色和黄色区域代表立体场对化合物活性的影响, 绿色表示在该区域引入大体积基团有利于提高化合物活性, 黄色则表示大体积基团对活性不利。化合物 37 - 42 与 43 - 48 的 R 基团和苯氧基部分完全相同, C 部分为噻唑烷二酮, C' 部分为芳酮酸结构。两系列活性表明, 芳酮酸系列活性均强于相应的噻唑烷二酮, 这一关系在 CoMFA 图中表现为右方有较大的绿色区域, 提示与受体结合的 C' 部分具有较大体积并接触受体的表面, 从而激活受体产生活性。而噻唑烷二酮体积较小, 未充满该绿色区域, 因此与受体相互作用减弱, 活性偏低。由此可见, 芳酮酸类衍生物作为 PPAR γ 激动剂较噻唑烷二酮有更广阔的前景。

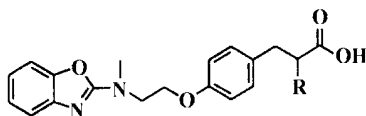
由图 6 右方的绿色区域还可解释化合物 11 - 19 有较高活性, 末端苯环取代基 $-\text{CH}_3$, $-\text{CF}_3$ 和 $-\text{OCH}_3$ 等落入该区域, 能增大与受体的立体相互作用, 提高活性; 倘取代基过大, 如 $-\text{OCH}_2\text{Ph}$ 和 $-\text{Ph}$ 基 (化合物 20, 21 和 26), 已进入图右下方的黄色区域, 使得范德华斥力增大, 体系整体能量上升, 不利于提高活性。另外, 用环状或直链脂肪烃代替苯环 (化合物 7, 33, 34, 35 和 36), 也能进入 CoMFA 图右方的绿色区域, 增加立体场作用, 获得较好活性。

化合物 37 - 42 和 43 - 48 两系列中 R 基团体积逐渐增大, 活性依次增加, 可见 CoMFA 图中大体积基团进入左方的绿色区域, 增加立体场作用, 提高了化合物活性。这一结果可从 PPAR γ 受体与 A 部分的结合腔特点得到佐证: 在较大的结合腔 ($> 1.3 \text{ nm}^3$)^[2], 大体积基团既不引起拥挤, 且可增加疏水作用, 提高激动剂与受体的结合。

本文用 CoMFA 模型预测了 10 个化合物 (49 - 58, 表 2) 的活性, 与文献^[8-10]报道的实验数据比较, 误差较小。

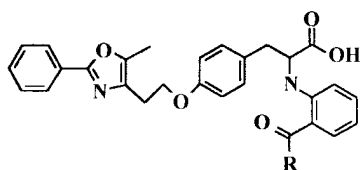
综上所述, PPAR γ 在被激活的过程中, 适当增加激动剂 R 基团和 C, C' 部分基团的体积, 有利于系统整体能量的降低。将化合物 48 与复合物晶体结构中的 BRL 叠合, 发现原有的结合腔无法容纳 N-(2-苯甲酰苯基)-L-芳酮酸取代基, 推测化合物 48 与 PPAR γ 结合时, 结合腔内氨基酸侧链构象有较大改变, 甚至影响 AF-2, 产生比 TZDs 化合物更高的激活效应。TZDs 类化合物吡咯列酮已上市, 但其对肝脏有毒副作用, 芳酮酸类化合物的出现, 为设计高效低毒的新型糖尿病用药提供了方向。

Tab 1 The structure and activities of the 48 compounds in training set

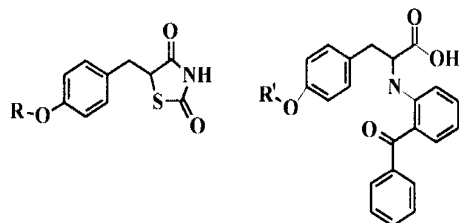


No	R	Actual/ calculated	Residual	No	R	Actual/ calculated	Residual
1		7.85/7.92	- 0.07	14		8.87/8.95	- 0.08
2		7.79/7.81	- 0.02	15		8.88/8.91	- 0.03
3		7.21/7.22	- 0.01	16		8.59/8.62	- 0.03
4		7.37/7.40	- 0.03	17		9.06/9.23	- 0.17
5		8.59/8.59	0.00	18		8.94/8.82	0.12
6		8.73/8.64	0.09	19		8.55/8.57	- 0.02
7		8.49/8.58	- 0.09	20		7.57/7.53	0.04
8		7.70/7.66	0.04	21		7.48/7.57	- 0.09
9		8.93/8.80	0.13	22		8.17/8.15	0.02
10		8.79/8.69	0.10	23		7.67/7.68	- 0.01
11		8.95/8.90	0.05	24		8.89/8.95	- 0.06
12		8.87/8.99	- 0.12	25		8.31/8.20	0.11
13		8.88/8.85	0.03	26		7.61/7.60	0.01

Continued

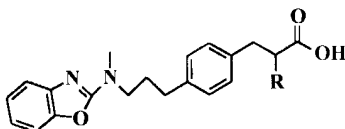


No	R	Actual/ calculated	Residual	No	R	Actual/ calculated	Residual
27		8.68/8.77	-0.09	32		9.03/8.98	0.05
28		8.77/8.86	-0.09	33	OMe	8.43/8.35	0.08
29		8.79/8.86	-0.07	34	OEt	8.52/8.48	0.04
30		8.79/8.70	0.09	35	OPr	8.62/8.59	0.03
31		8.74/9.02	-0.28	36	OiPr	9.01/9.14	-0.13

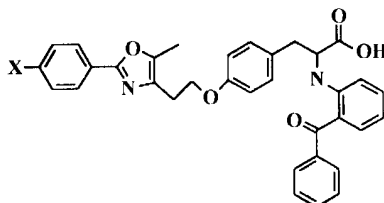
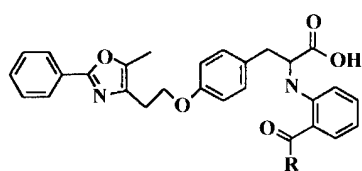


No	R	Actual/ calculated	Residual	No	R'	Actual/ calculated	Residual
37		5.81/5.89	-0.08	43		7.29/7.17	0.12
38		6.21/6.26	-0.05	44		8.19/8.07	0.12
39		6.82/6.91	-0.09	45		8.28/8.25	0.03
40		7.63/7.74	-0.11	46		8.85/8.78	0.07
41		8.67/8.33	0.34	47		8.94/8.95	-0.01
42		7.87/7.89	-0.02	48		8.83/8.70	0.13

Tab 2 The structures and activities of predicted compounds



No	R	Actual/ calculated	Residual	No	R	Actual/ calculated	Residual
49		7.78/7.68	0.10	52		7.93/8.95	-1.02
50		8.78/8.77	0.01	53		8.36/8.68	-0.32
51		8.49/8.67	-0.18	54		8.56/8.73	-0.17
55	NHMe	8.11/8.24	-0.13	57	F	8.80/8.99	-0.19
56	NMe ₂	6.90/8.47	-1.57	58	OCH ₃	8.96/9.14	-0.18



PPAR γ 与 芳 酮 酸 类 化 合 物 GI 262570 的 晶 体 结 构 已 被 解 析^[11], 其 结 合 腔 的 氨 基 酸 构 象 与 BRL 复 合 物 的 相 比 已 发 生 明 显 变 化, 证 实 了 本 文 的 研 究 结 论。

致 谢: 军 事 医 学 科 学 院 李 松 教 授 和 胡 远 东 博 士 为 本 工 作 提 供 了 资 料 和 建 议。

REFERENCES:

- [1] Nolte RT, Wisely GB, Westin S. Ligand binding and co-activator assembly of the peroxisome proliferator-activated receptor γ [J]. *Nature*, 1998, **395**:137 - 143.
- [2] Oberfield JL, Collins JL, Holmes CP. A peroxisome proliferator-activated receptor γ ligand inhibits adipocyte differentiation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 6102 - 6106.
- [3] Willson TM, Cobb JE, Cowan DJ. The Structure-activity relationship between peroxisome proliferator-activated receptor γ agonism and the antihyperglycemic activity of thiazolidinediones [J]. *J Med Chem*, 1996, **39**:665 - 668.
- [4] Willson TM, Brown PJ, Sternbach DD. The PPARs: from orphan receptors to drug discovery [J]. *J Med Chem*, 2000, **43**(4):527 - 549.
- [5] Raghavan K, Buolamwini JK, Fesen MR. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship (QSAR) of HIV integrase inhibitors: A comparative molecular field analysis (CoMFA) [J]. *J Med Chem*, 1995, **38**:890 - 897.
- [6] Kurogi Y. Three-dimensional quantitative structure-activity relationships (3D-QSAR) of antidiabetic thiazolidinediones [J]. *Drug Design Discov*, 1999, **16**: 109 - 118.
- [7] Henke BR, Blanchard SG, Brackeen MF. N-(2-benzoylphenyl)-L-tyrosine PPAR γ agonists. 1. Discovery of a novel series of potent antihyperglycemic and antihyperlipidemic agents [J]. *J Med Chem*, 1998, **41**(25):5020 - 5036.
- [8] Collins JL, Blanchard SG, Evan BG. N-(2-benzoylphenyl)-L-tyrosine PPAR γ agonists. 2. Structure-activity relationship and optimization of the phenyl alkyl ether moiety [J]. *J Med Chem*, 1998, **41**(25):5037 - 5054.
- [9] Cobb JE, Blanchard SG, Boswell EG. N-(2-benzoylphenyl)-L-tyrosine PPAR γ agonists. 3. Structure-activity relationship and optimization of the N-aryl substituent [J]. *J Med Chem*, 1998, **41**(25):5055

- 5069 .

[10] Marino A, Maurizio B, Federico C. Investigation on QSAR and binding mode of a new class of human rhinovirus-14 inhibitor by CoMFA and docking experiments [J]. *Bio Med Chem*, 1996, 4: 1715 - 1724 .

[11] Robert T, Gampe, Jr, Valerie G. Asymmetry in the PPAR γ /RXR α crystal structure reveals the molecular basis of heterodimerization among nuclear receptors [J]. *Mol Cell*, 2000, 5: 545 - 555 .

STUDY ON 3D QSAR OF PPAR γ AGONISTS WITH THIAZOLIDINEDIONE AND ARYLKETO ACID MOIETIES

YI Xiang, GUO Zong ru

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

ABSTRACT: AIM To build a model of two series of PPAR γ agonists — thiazolidinedione and arylketo acid derivatives using 3D-QSAR method, and to reveal the structural features affecting the binding activity to PPAR γ , which relates to antihyperglycemic and antihyperlipidemic activity and has a potential application to the treatment of type II diabetes. **METHODS and RESULTS** 48 agonists with selective activity for PPAR γ were analyzed using CoMFA. Based upon the active conformation of rosiglitazone (BRL) extracted from its complex with PPAR γ all agonists were aligned. The model from CoMFA showed a high ability to explain and predict the activity of PPAR γ agonists with cross-validation correlation coefficient $R^2 = 0.656$, that of non-cross-validation $R^2 = 0.982$, $F_{10,37} = 201.1$, and $SE = 0.115$. **CONCLUSION** The CoMFA contour map indicates that the steric fields mainly contribute to the binding effect, and especially a bulky group in the arylketo acid series favors in the increase of affinity for PPAR γ , as compared to the thiazolidinedione.

KEY WORDS: peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ); PPAR γ agonists; CoMFA; thiazolidinedione; arylketo acid