

5-HT₆ 受体拮抗剂三维定量构效关系研究

刘晶¹, 李燕^{*1}, 杨银凤¹, 张述伟¹, 杨凌², 闫玉莲¹

(1. 大连理工大学 化工学院, 辽宁 大连 116024;

2. 中国科学院大连化学物理研究所 药用资源开发研究组, 辽宁 大连 116023)

摘要: 为指导合成高效的 5-HT₆ 受体拮抗剂, 采用比较分子场分析 (CoMFA) 和比较相似性指数分析 (CoMSIA) 对 143 个 5-HT₆ 受体拮抗剂数据进行了三维定量构效关系 (3D-QSAR) 研究, 分别得到了具有良好可靠性和预测能力的 CoMFA ($Q^2=0.513, R_{ncv}^2=0.864, R_{pre}^2=0.731$) 和 CoMSIA 模型 ($Q^2=0.515, R_{ncv}^2=0.844, R_{pre}^2=0.777$). 由模型的等势线图分析, 可得如下结论: 大体积及/或电负性较大的 R₂ 取代基、疏水性 R₃ 和疏水性苯环 R₁ 位取代基、可作氢键受体的 R₂ 取代基、可作氢键供体的 R₃ 取代基有助于增大活性. 这些结论能够更好地帮助理解 5-HT₆ 受体拮抗剂的抑制机理, 并为今后的药物设计与合成提供新思路.

关键词: 三维定量构效关系; 5-HT₆; 拮抗剂; 比较分子场分析; 比较分子相似性指数分析

中图分类号: O626 **文献标志码:** A

0 引言

5-HT₆ 是最重要的 5-羟色胺之一, 于 1993 年第一次在大鼠纹状体 mRNA 中被提取出来之后, Kohen 等成功克隆出了人类 5-HT₆ 基因^[1]. 5-HT₆ 是 5-羟色胺 7 个亚族 (5-HT₁~5-HT₇) 中的一个, 属于 G 蛋白偶联受体^[2]. 5-HT₆ 在负责转运多巴胺药物的几个终端区域都有表达, 而这些表达量提高了该受体对由兴奋剂药物诱导产生的实验体行为进行调节的可能性^[3]. 以往研究已经发现 5-HT₆ 影响焦虑、抑郁等行为, 近几年来又发现 5-HT₆ 与人类认知和记忆等活动也存在重要关系^[4]. 认知和记忆障碍属于阿尔茨海默氏病, 是精神分裂症和抑郁症的核心症状. 因此, 对 5-HT₆ 的研究有利于发展改善学习和记忆障碍的药物和疗法^[5], 具有广阔的应用前景.

目前, 越来越多的研究者合成出新的 5-HT₆ 受体拮抗剂, 诸如 SB-271046、RO-4368554、SB-399885 和 SB-357134 等^[6~8]. 显然, 研究不同取代基对这些拮抗剂药效的影响有利于为该拮抗剂

的合成提供指导作用, 但到目前为止对 5-HT₆ 受体拮抗剂三维定量构效关系 (three dimensional quantitative structure-activity relationship, 3D-QSAR) 的研究还很少. 本文对一批新合成的 5-HT₆ 受体拮抗剂采用 3D-QSAR 进行研究. 这类化合物数据集较大 (143 个活性分子), 骨架结构和取代基也比较多样化. 选择比较分子场分析 (comparative molecular field analysis, CoMFA) 和比较分子相似性指数分析 (comparative molecular similarity indices analysis, CoMSIA) 建立该拮抗剂的三维构效模型, 同时对该系列分子的各种力场分布对其活性的影响进行探讨.

1 数据与方法

1.1 数据

本文分子建模及分析采用的是 Tripos 公司的 SYBYL 6.9 设计软件包. 文中所研究的化合物结构与活性数据均来自文献^[1], 去除 9 个活性值不确定分子, 共计 143 个 5-HT₆ 受体拮抗剂,

收稿日期: 2010-10-21; 修回日期: 2012-04-10.

基金项目: 大连理工大学青年教师培养基金资助项目 (1000893231).

作者简介: 刘晶 (1985-), 男, 博士; 李燕* (1976-), 女, 博士, 讲师, E-mail: yanli@dlut.edu.cn.

其骨架结构如图 1 所示,主要代表分子的活性如表 1 所示^[2].

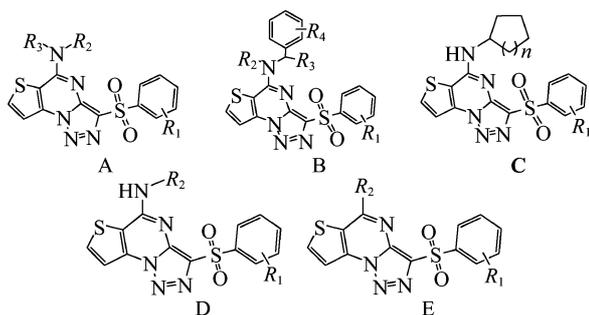


图 1 数据集分子的骨架类型

Fig. 1 Skeleton types of compounds in the dataset

表 1 数据集中代表性分子的结构及活性

Tab. 1 Structure and activity of representative compounds in the dataset

No.	骨架类型	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	n	pIC ₅₀
1 ^{1,2)}	A	H	PhCH ₂ CH(CH ₃)	H			5.97
2	A	4-Me	2-MeO-Et	H			5.83
3	A	3-Cl	Me ₂ NCH ₂ CH ₂	Me			6.11
4	B	4-Me	H	H	3,4-CH ₂ O ₂		5.90
5 ¹⁾	B	2,5-Me ₂	Et	H	H		5.96
6	C	4-Me				3	6.10
7 ¹⁾	C	3,4-Me ₂				2	6.09
8	D	4-Me	3-Et-C ₆ H ₄				5.86
9	D	4-i-Pr	3-MeO-C ₆ H ₄				6.05
10 ¹⁾	D	3,4-Me ₂	4-Cl-C ₆ H ₄				5.84

注:1)检验集;2)异常值

建模过程中以约 1 : 3 的比例随机选取 33 个分子作为验证集,其余作为训练集.挑选验证集时保证所有验证集分子活性均匀分布在数据集活性范围内.文中把半抑制浓度 IC₅₀ 的负对数 (pIC₅₀) 作为因变量.分子结构均由 SYBYL 分子碎片库搭建,采用 Powell 方法优化和搜索构象,能量收敛为默认值 0.21 kJ/mol,力场为 Tripos 力场,采用 Gasteiger-Hückel 给分子加载电荷^[9].

1.2 优化构象及叠合

活性构象的确定和叠合对 QSAR 分析过程十分重要^[10,11].为确定配体活性构象,本文使用两种方法对模板分子首先进行了系统构象分析.一种是在 Tripos 力场中单纯利用 Powell 方法进行能量最小化得到活性构象,另一种是先采用 Tripos 软件中的 Systematic search 得到能量最

低、次低及第三低构象后再利用 Powell 方法进行能量最小化得到活性构象. Systematic search 参数设置中可旋转键采用图 2 中 A 所示的 a~e 五个键,最大能量差为 4.2×10^4 kJ/mol,其余参数为默认值.选择活性最高的 86 号分子 (pIC₅₀ = 7.54) 为模板,如图 2 中 A 所示,公共骨架部分采用黑色加粗显示,最后用叠合数据库模块将其余分子与利用 Powell 方法能量最小化得到的活性构象模板分子,以及与 Systematic search 功能得到的能量最低、次低及第三低构象模板分子分别叠合,其结果分别如图 2 中 B、C、D、E 所示.

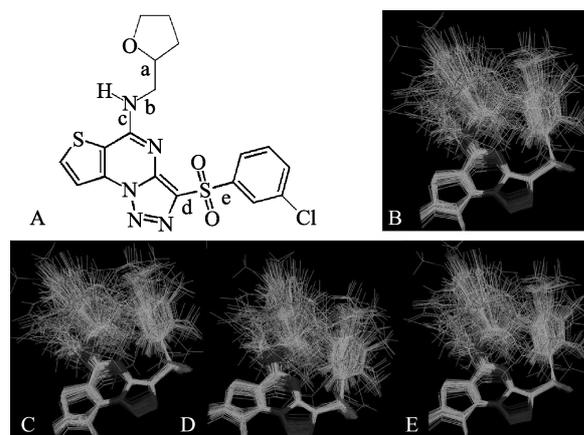


图 2 分子叠合图

Fig. 2 Molecular alignment of compounds

1.3 CoMFA 和 CoMSIA 分析

本文采用 CoMFA 和 CoMSIA 建模^[12,13]. CoMFA 计算立体场和静电场,场作用计算采用 Tripos 标准力场,交叉常规网格步长为 0.2 nm,探针用 sp³ 杂化碳原子,分别对叠合分子外网格点上的立体场以及静电场大小和分布进行探测,能量阈值设置为 126 kJ/mol. CoMSIA 是 CoMFA 的一种延伸,因此 CoMSIA 过程中采用和 CoMFA 同样的分子叠合模式.对 CoMSIA 场,网格步长为 0.5 nm. CoMSIA 的统计评价与 CoMFA 中所用方法相同.

1.4 PLS 分析

采用 PLS 分析建立和验证模型.首先采用抽一法 (leave one out) 对训练集进行交叉验证得到最佳主成分数,并记录交叉验证相关系数 Q²,然后再利用非交叉验证得到非交叉验证相关系数 R²_{ncv} 以及训练集标准误差 S_{ee}^[14].建立模型后再利用验证集来检验模型的预测能力.验证集的预测

值相关系数 R_{pre}^2 计算公式为

$$R_{\text{pre}}^2 = (S_2 - S_1) / S_2 \quad (1)$$

式中: S_1 表示验证集中化合物活性预测值与实验值残差平方和, S_2 表示验证集中化合物活性预测值与训练集中化合物活性平均值的残差平方和^[15].

2 结果和讨论

2.1 CoMFA 和 CoMSIA 模型结果

为确定最优活性构象, 本文对 4 种不同的活性构象叠合结果(图 2 中 B~E)分别建立模型, 其统计结果见表 2. 从表中可知, 以 Systematic search 功能得到的 3 个低能量构象所建立的 CoMFA 和 CoMSIA 模型(表 2 中 C~E)的 R_{pre}^2 和 Q^2 比单纯用 Powell 方法得到的模型值低(表 2 中 B). 因此得出单纯使用能量最小化得到的构象最优, 之后的模型分析均在该构象基础上进行.

以最优活性构象叠合结果(如图 2 中 B 所示)进行 CoMFA 建模分析, 发现以组合立体场和静电场的 CoMFA 模型为最优(表 2 粗体字), 其 $Q^2 = 0.513$, $R_{\text{ncv}}^2 = 0.864$, $S_{\text{ce}} = 0.183$, $F = 79.906$, 最佳组分数 $n_{\text{op}} = 8$. 当被验证集验证时, 其 $R_{\text{pre}}^2 = 0.731$, $S_{\text{ep}} = 0.190$, 说明该模型预测能力良好.

同样以最优活性构象叠合结果进行 CoMSIA 建模分析. 最终, 组合了立体场、静电场、疏水场和氢键受体场的模型最优, 拥有最高的 R_{pre}^2 (表 2 粗体字), 验证了其预测能力良好. CoMSIA 模型有 7 个最佳组分, $Q^2 = 0.515$, $R_{\text{ncv}}^2 = 0.844$, $S_{\text{ce}} = 0.195$. 当被验证集验证时, 所得模型 $R_{\text{pre}}^2 =$

0.777, $S_{\text{ep}} = 0.173$, 同样展示出良好的预测能力.

在 3D-QSAR 研究中通常把 Q^2 大于 0.4 的认为有统计学意义^[16]. 本文最佳的 QSAR 模型 $Q^2 > 0.5$, 证明了其可靠性. 但仅用交叉验证 Q^2 值评价模型的预测能力不足^[17]. 因此, 本文又用外部验证集对两个 SE 和 SEHA 模型预测能力进行了验证. 在验证前检查分子的活性和结构, 一些预测能力较差的分子被作为异常值删除, 如分子 26、35、6、58、97 和 124. 经分析发现导致异常值的原因有: (1) 35 和 97 号分子由于拥有共同骨架 A 和相近 R_1 - R_3 取代基, 与同骨架其他分子比较表现出异常高 pIC_{50} 值. (2) 6、58 和 124 号分子的实验值和预测值误差极大 (> 0.4), 该误差远大于 S_{ep} 值. (3) 26 号分子的 R_1 取代基是 Br, R_2 取代基是 H, 是 A 组骨架分子中仅有的, 故造成它的预测能力异常. 消除异常值后, 最优 CoMFA 和 CoMSIA 模型预测能力都良好 (R_{pre}^2 大于 0.73). 图 3 是训练集和验证集分子实验值与预测值的散点图. 由图可见所有点都较均匀地分布在回归线两侧, 且所有预测值和实验数据基本一致, 显示实验值和预测值相关性良好, 所建模型可靠.

2.2 3D-QSAR 等势线图结果和分析

所有等势线图均以活性最高的 86 号分子作为参考分子, 如图 4 所示. R_1 、 R_2 和 R_3 取代基是数据集中其他分子结构与 86 号分子差别所在.

(1) CoMFA 等势线图分析

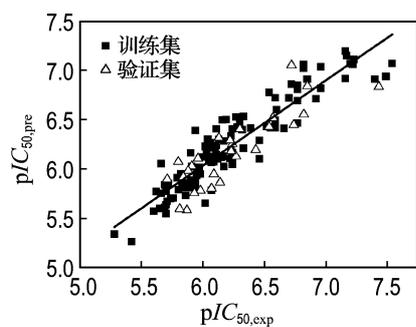
图 5 为 CoMFA 模型等势线图, 直观反映了分子周围各场对分子活性的影响^[18]. 其中, 图 5 (a) 为 CoMFA 模型立体场等势线图, 绿色区代表大取代基对提高抑制活性有利, 黄色区相反. 图中

表 2 不同构象叠合得到的 CoMFA 和 CoMSIA 模型统计结果

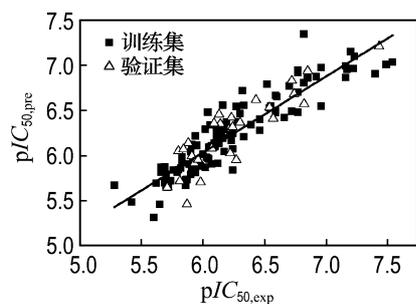
Tab. 2 Summary of CoMFA and CoMSIA results based on different conformation alignments

构象	方法	Q^2	R_{ncv}^2	S_{ce}	F	R_{pre}^2	S_{ep}	n_{op}	相对贡献率			
									S	E	H	A
B	CoMFA	0.513	0.864	0.183	79.906	0.731	0.190	8	0.825	0.175		
	CoMSIA	0.515	0.844	0.195	78.556	0.777	0.173	7	0.222	0.116	0.537	0.125
C	CoMFA	0.425	0.872	0.177	86.009	0.668	0.244	8	0.803	0.197		
	CoMSIA	0.423	0.832	0.202	72.286	0.707	0.250	7	0.202	0.123	0.531	0.144
D	CoMFA	0.392	0.828	0.205	60.594	0.545	0.299	8	0.800	0.200		
	CoMSIA	0.467	0.892	0.163	92.111	0.548	0.332	9	0.253	0.125	0.490	0.132
E	CoMFA	0.377	0.873	0.176	86.844	0.647	0.256	8	0.834	0.166		
	CoMSIA	0.440	0.884	0.169	84.607	0.559	0.344	9	0.277	0.126	0.484	0.163

注: S, 立体场; E, 静电场; H, 疏水场; A, 氢键受体场



(a) 最优 CoMFA-SE 模型



(b) 最优 CoMSIA-SEHA 模型

图 3 模型实验值和预测值散点图

Fig. 3 The correlation plots of the predicted values versus the actual values in models

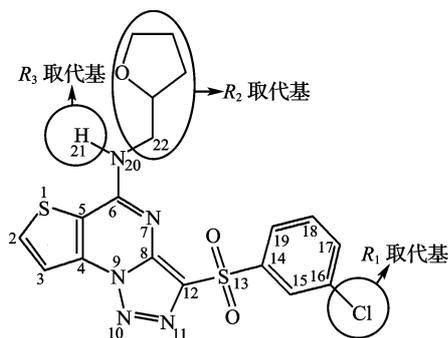


图 4 86 号分子结构图

Fig. 4 The structure of compound 86

R_2 取代基上方有一块很大的绿色区,说明该区域的取代基大有益于提高抑制活性,如在该位置有较大取代基的 78、79 和 86 号分子.而在苯环 17、18 号取代位上方的黄色区说明在该位置取代基大对增强抑制活性不利.如对于有同样 R_2 - R_4 取代基和基本骨架的分子, R_1 取代基是 H 的 39 和 42 号分子活性要大于 R_1 取代基是甲基的 47 和 51 号分子活性.

图 5(b)为 CoMFA 模型静电场等势线图,蓝色区代表增强取代基正电性对提高抑制活性有利,红色区相反.图中 R_2 取代基周围有大片红色

区域,此外还有小片红色区域在苯环 16 号位置上的 R_1 取代基旁,说明此处电负性取代基的存在对提高抑制活性有利.当苯环的 16 号位置的 R_1 取代基是电负性较强的卤族元素时分子的活性较高.当分子的 R_2 取代基较大且其构象刚好在蓝色区时表明正电性取代基对增大抑制活性有利.如在此处带有正电性甲基的 2、16 和 17 号分子活性较大.

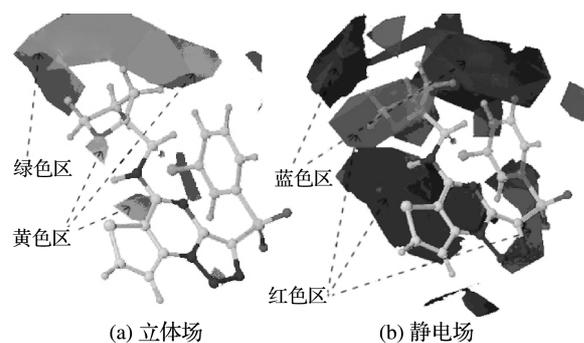


图 5 CoMFA 模型等势线图

Fig. 5 CoMFA contour maps

(2) CoMSIA 等势线图分析

图 6(a)、(b)是 CoMSIA 模型立体场和静电场等势线图.图中各颜色意义与 CoMFA 模型一致,且其立体场和静电场等势线图趋势与 CoMFA 模型也基本一致.与 CoMFA 模型相比,只有 CoMSIA 模型的静电场有一点要补充:噻吩环附近的蓝色区表明该区域取代基显正电性对提高抑制活性有利.图 6(c)为 CoMSIA 模型疏水场等势线图,黄色区代表疏水性取代基对提高抑制活性有利,白色区相反.从图中可见有一小片黄色区出现在 R_3 取代基上方和苯环上的 R_1 取代基后方,说明该区域疏水性取代基的存在有利于提高抑制活性,如取代基 -Ome、-Oet、-F、-Cl 和 -Br 等. R_2 取代基斜后方的白色区表明该区域有亲水性取代基,对提高抑制活性有利,如 -OH 和 -CN.图 6(d)为 CoMSIA 模型氢键受体场等势线图,紫色区表示氢键受体取代基对提高抑制活性有利,青色区相反.从图可见 R_2 取代基和苯环前方上各有一小块紫色区域,说明这两个区域若存在氢键受体取代基则会提高抑制活性,如在共同骨架 C 组分子中 R_2 取代基上若存在氧、氮或者氟原子则会导致较高抑制活性,其中 86 号分子是整个数据集中抑制活性最高的分子. R_3 取代基

和吡啶环上方的青色区说明氢键供体有利于提高抑制活性。

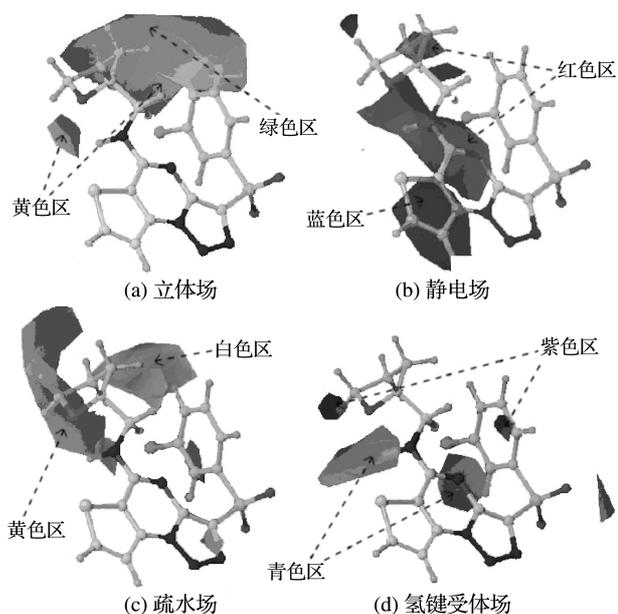


图6 CoMSIA模型等势线图

Fig. 6 CoMSIA contour maps

3 结语

本文对一系列 5-HT₆受体拮抗剂进行了 CoMFA 和 CoMSIA 两种 3D-QSAR 方法研究, 所建模型均具有较高的 Q^2 、 R_{ncv}^2 、 R_{pre}^2 值 (CoMFA: $Q^2=0.513$, $R_{ncv}^2=0.864$, $R_{pre}^2=0.731$; CoMSIA: $Q^2=0.515$, $R_{ncv}^2=0.844$, $R_{pre}^2=0.777$), 证明了其可靠性和良好预测能力。此外由力场等势线图的分析, 确定了 5-HT₆受体拮抗剂的关键结构改造位置 (R_2 、 R_3 和苯环 R_1) 和相应基团的尺寸、电负性、疏水性、氢键构成能力等对活性的影响。这些结果不但有助于帮助分析 5-HT₆受体拮抗剂抑制机理, 而且为今后的药物设计与合成提供了新思路。

参考文献:

- [1] DODDAREDDY M R, CHO Y S, KOH H Y, *et al.* CoMFA and CoMSIA 3D QSAR analysis on N₁-arylsulfonylindole compounds as 5-HT₆ antagonists [J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2004, **12**(15):3977-3985
- [2] IVACHTCHENKO A V, GOLOVINA E S, KADIEVA M G, *et al.* Synthesis and biological study of 3-(phenylsulfonyl) thieno[2, 3-e][1, 2, 3] triazolo[1, 5-a] pyrimidines as potent and selective serotonin 5-HT₆ receptor antagonists [J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2010, **18**(14):5282-5290
- [3] FRANTZ K J, HANSSON K J, STOUFFER D G, *et al.* 5-HT₆ receptor antagonism potentiates the behavioral and neurochemical effects of amphetamine but not cocaine [J]. **Neuropharmacology**, 2002, **42**(2):170-180
- [4] MITCHELL E S, NEUMAIER J F. 5-HT₆ receptors: A novel target for cognitive enhancement [J]. **Pharmacology & Therapeutics**, 2005, **108**(3): 320-333
- [5] KING M V, MARSDEN C A, FONE K C. A role for the 5-HT(1a), 5-HT₄ and 5-HT₆ receptors in learning and memory [J]. **Trends in Pharmacological Sciences**, 2008, **29**(9):482-492
- [6] MONTI J M, JANTOS H. Effects of the 5-HT(6) receptor antagonists SB-399885 and RO-4368554 and of the 5-HT(2A) receptor antagonist EMD 281014 on sleep and wakefulness in the rat during both phases of the light-dark cycle [J]. **Behavioural Brain Research**, 2010, **216**(1):381-388
- [7] FOLEY A G, HIRST W D, GALLAGHER H C, *et al.* The selective 5-HT₆ receptor antagonists SB-271046 and SB-399885 potentiate NCAM PSA immunolabeling of dentate granule cells, but not neurogenesis, in the hippocampal formation of mature wistar rats [J]. **Neuropharmacology**, 2008, **54**(8): 1166-1174
- [8] STEAN T O, HIRST W D, THOMAS D R, *et al.* Pharmacological profile of SB-357134: A potent, selective, brain penetrant, and orally active 5-HT₆ receptor antagonist [J]. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 2002, **71**(4):645-654
- [9] GASTEIGER J, MARSILI M. Iterative partial equalization of orbital electronegativity — a rapid access to atomic charges [J]. **Tetrahedron**, 1980, **36**(22):3219-3228
- [10] DE FREITAS G B, DA SILVA L L, ROMEIRO N C, *et al.* Development of CoMFA and CoMSIA models of affinity and selectivity for indole ligands of cannabinoid CB1 and CB2 receptors [J]. **European**

- Journal of Medicinal Chemistry**, 2009, **44**(6):2482-2496
- [11] DESSALEW N, PATEL D S, BHARATAM P V. 3D-QSAR and molecular docking studies on pyrazolopyrimidine derivatives as glycogen synthase kinase-3[β] inhibitors [J]. **Journal of Molecular Graphics & Modelling**, 2007, **25**(6):885-895
- [12] JACKSON P L, SCOTT K R, SOUTHERLAND W M, *et al.* Enaminones 8; CoMFA and CoMSIA studies on some anticonvulsant enaminones [J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2009, **17**(1):133-140
- [13] MURUGESAN V, PRABHAKAR Y S, KATTI S B. CoMFA and CoMSIA studies on thiazolidin-4-one as anti-HIV-1 agents [J]. **Journal of Molecular Graphics & Modelling**, 2009, **27**(6):735-743
- [14] KOVALISHYN V V, KHOLODOVYCH V, TETKO I V, *et al.* Volume learning algorithm significantly improved PLS model for predicting the estrogenic activity of xenoestrogens [J]. **Journal of Molecular Graphics & Modelling**, 2007, **26**(2):591-594
- [15] WANG X, YANG W, XU X, *et al.* Studies of benzothiadiazine derivatives as hepatitis C virus NS5B polymerase inhibitors using 3D-QSAR, molecular docking and molecular dynamics [J]. **Current Medicinal Chemistry**, 2010, **17**(25):2788-2803
- [16] DIXIT A, KASHAW S K, GAUR S, *et al.* Development of CoMFA, advance CoMFA and CoMSIA models in pyrroloquinazolines as thrombin receptor antagonist [J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2004, **12**(13):3591-3598
- [17] GOLBRAIKH A, TROPSHA A. Beware of q^2 ! [J]. **Journal of Molecular Graphics & Modelling**, 2002, **20**(4):269-276
- [18] LU P, WEI X, ZHANG R. CoMFA and CoMSIA studies on HIV-1 attachment inhibitors [J]. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2010, **45**(5):1792-1798

Study of 3D-QSAR of 5-HT₆ receptor antagonists

LIU Jing¹, LI Yan^{*1}, YANG Yin-feng¹, ZHANG Shu-wei¹, YANG Ling², YAN Yu-lian¹

(1. School of Chemical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China;

2. Laboratory of Pharmaceutical Resources Discovery, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China)

Abstract: Based on a data set of 143 5-HT₆ antagonists, comparative molecular field analysis (CoMFA) and comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA) were carried out to aid in the design of 5-HT₆ antagonists with potent activity to build 3-dimensional quantitative structure-activity relationship (3D-QSAR) models. The results show that both the optimal CoMFA ($Q^2 = 0.513$, $R_{ncv}^2 = 0.864$, $R_{pre}^2 = 0.731$) and CoMSIA ($Q^2 = 0.515$, $R_{ncv}^2 = 0.844$, $R_{pre}^2 = 0.777$) models have good reliabilities and predictive abilities. Additionally, from the analysis of the contour maps, it can be concluded that bulky R_2 substituent with/or without negatively charges, hydrophobic groups both in R_3 and R_1 substituent at the benzene ring, HB acceptor substituent in R_2 and HB donor substituent in R_3 will benefit the activity. All the conclusions can supply useful information for better understanding of the mechanism of 5-HT₆ antagonism and are also helpful in providing new clues for drug design and synthesis.

Key words: 3D-QSAR; 5-HT₆; antagonist; CoMFA; CoMSIA