

两类促肾上腺皮质释放激素(CRH)拮抗剂的分子场分析

朱丽荔 侯廷军 徐筱杰*

(北京大学化学与分子工程学院 北京 100871)

摘要 采用比较分子相似性指数分析方法(CoMSIA)及比较分子场分析方法(CoMFA)研究了两组 CRH 拮抗剂结构与活性的关系。在两种方法中,都考虑了静电场、立体场以及氢键场对构效关系的影响,结果表明采用 CoMSIA 得到构效关系模型要明显优于采用 CoMFA 得到的构效关系模型。在 CoMSIA 计算中,当引入疏水场时,三维构效关系模型能得到明显的改善,通过这个三维构效关系模型,可以较为精确地预测化合物的活性。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的立体、静电以及疏水特征对化合物活性的影响。

关键词 促肾上腺皮质释放激素(CRH),拮抗剂,CoMFA,CoMSIA

Molecular Field Analysis of Two Sets of Non - Peptide Corticotropin - Releasing Hormone Antagonists

ZHU Li - Li HOU Ting - Jun XU Xiao - Jie*

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

Abstract The quantitative structural activity relationship of two sets of non - peptide corticotropin - releasing hormone antagonists were performed by using two kinds of 3D - QSAR approaches; comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA) and comparative molecular field analysis (CoMFA). Three kinds of molecular fields, including electrostatic field, steric field and H - bond fields, were considered in CoMSIA and CoMFA calculations. The computed results show that the 3D - QSAR models from CoMSIA are obviously superior to those from CoMFA. In CoMSIA calculations, the addition of the hydrophobic field could significantly improve the obtained 3D - QSAR model. From the analysis of the contour of the molecular field in the three dimensional space, the key features vital to ligand binding, including steric, electrostatic and hydrophobic properties, were identified, which were very important for us to trace these properties that really matter and take insight into the potential mechanisms of intermolecular interactions between antagonists and receptor.

Keywords corticotropin - releasing hormone (CRH), antagonist, CoMFA, CoMSIA

作为下丘脑 - 垂体 - 肾上腺皮质(HPA)的主要调节器,促肾上腺皮质释放激素(CRH)能对应激自主产生内分泌功能反应^[1]。大量研究表明^[2],CRH主要通过刺激脑内去甲肾上腺素释放而引起中枢神

经系统调控紊乱。在应激作用下,颞叶、海马、下丘脑等广泛脑区 CRH 大量合成,过量释放的 CRH 一方面经门静脉转运到垂体前叶,刺激嗜酸粒细胞大量释放 ACTH,进而引起高皮质醇血症;另一方面过量

* E - mail: xiaojie@chem.pku.edu.cn

收稿日期:2000 - 10 - 20,修回日期:2000 - 12 - 22,定稿日期:2001 - 02 - 24,国家自然科学基金(29873003)资助项目

(Received October 20, 2000. Revised December 22, 2000. Accepted February 24, 2001)

活化广泛脑区的 CRH 受体,引起交感神经异常兴奋,去肾上腺素大量释放和脑干功能紊乱,导致内分泌、心血管、胃肠、呼吸等系统调控紊乱,甚至多种器官功能衰竭.因此,寻找有效的 CRH 拮抗剂,对于治疗由抑郁、焦虑、沮丧等精神应激促成的 CRH 过度分泌及 HPA 功能失调而造成的多种神经系统紊乱和体内代谢失衡等具有非常重要的意义^[3-4].

文献[5]报道了有关非肽类 CRH 拮抗剂,如苯胺嘧啶类化合物(见表 1 中分子结构 1),吡咯并吡啶类化合物等(见表 1 中分子结构 2)对 CRH 有显著的抑制作用.由于 CRH 受体结构还未知,我们对于受体和底物之间的相互作用信息还缺乏足够的了

解,这也给设计工作带来了很大的困难.Hodge 以苯胺嘧啶分子为模板,合成了两类不同侧基取代的抑制剂.在 Hodge 的工作中,作者借助了构象分析的方法进行了抑制剂的设计和分析^[5].但从抑制剂的活性上看,设计结果并不是很理想.这种设计方法可能还需要进一步探讨与改进.到目前为止,对该类化合物还未有三维水平上定量构效关系的报道.为了对进一步设计合成新的 CRH 拮抗剂提供一些理论的依据与指导,本文利用比较分子相似性指数分析方法(CoMSIA)及比较分子场分析方法(CoMFA)对这两类 CRH 拮抗剂进行了对比研究,讨论了它们的三维立体空间结构与活性之间的关系.

表 1 两类促肾上腺皮质激素释放激素拮抗剂的结构式、实验及 CoMSIA(4)模型计算得到的活性数值

Table 1 Structures of two types of corticotropin-releasing hormone antagonists and experimental and calculated biological activities by CoMSIA(4) model

结构 1							
No.	R(1)	R(2)	R(3)	R(4)	$-\log K_i^a$ (expt.)	$-\log K_i$ (cal.)	Residue
1	Me	Me	CN	2-Br,4-isopropyl	-2.560	-2.568	0.008
2	Me	Me	H	2-Br,4-isopropyl	-1.672	-1.649	-0.023
3	Me	Ph	CN	2-Br,4-isopropyl	-1.531	-1.509	-0.022
4	Me	Ph	H	2-Br,4-isopropyl	-1.556	-1.579	0.023
5	Me	Me	CN	2-Br,4,6-(OMe) ₂	-1.462	-1.409	-0.054
6	Me	Me	H	2-Br,4,6-(OMe) ₂	-0.000	-0.057	0.057
7	Me	H	CN	2-Br,4-isopropyl	-3.106	-3.156	0.050
8	Me	H	H	2-Br,4-isopropyl	-2.346	-2.296	-0.050
9	Cl	Me	CN	2-Br,4-isopropyl	-2.649	-2.727	0.078
10	Cl	Me	H	2-Br,4-isopropyl	-1.898	-1.824	-0.074
11	Me	Cl	CN	2-Br,4-isopropyl	-2.859	-2.770	-0.089
12	Me	Cl	H	2-Br,4-isopropyl	-1.826	-1.914	0.088
13	Me	1-morpholino	CN	2-Br,4-isopropyl	-2.049	-2.078	0.029
14	Me	1-morpholino	H	2-Br,4-isopropyl	-1.447	-1.424	-0.023
15	Me	Me	H	4-isopropyl	-3.391	-3.394	0.003
结构 2							
No	R(5)	R(6)	R(7)	R(8)	$-\log K_i^a$ (expt.)	$-\log K_i$ (cal.)	Residue
16	Me	Me	Et	2-Br,4-isopropyl	-1.663	-1.675	0.012
17	Me	morpholino	Et	2-Br,4-isopropyl	-1.342	-1.335	-0.007
18	Me	Me	Me	2-Br,4-isopropyl	-1.982	-1.983	0.001
19	Me	Me	Me	2-1,4-isopropyl	-1.681	-1.698	0.017
20	Me	Me	Et	2-1,4-isopropyl	-1.580	-1.560	-0.020
21	Me	Me	Et	6-Br,2,4-dimethoxy	-0.699	-0.696	-0.003

$a-K_i$ 为酶和抑制剂间的解离常数

1 研究方法

1.1 CoMFA 和 CoMSIA 的原理

分子场分析方法(CoMFA)自1988年提出以来,已经成为一种应用最为广泛的3D-QSAR方法^[6].按照CoMFA的基本原理,如果一组相似化合物以同一种方式作用于一个受体,那么它们的生物活性就取决于每个化合物周围分子场的差别,这种分子场反映了药物分子和受体之间的非键相互作用的特性.传统的CoMFA计算可以简单地分为三个步骤:首先,搭建好的模型化合物按照一定的规则(一般为骨架叠合或场叠合)进行分子叠合;然后,在叠合好的分子周围产生格点,在每个格点上用一个探针离子来评价格点上的分子场特征(一般为静电场和立体场,有时也包括疏水场和氢键场);最后,通过偏最小二乘(PLS)方法建立化合物活性和分子场特征之间的关系.

最近,文献^[7]报道了一种新的分子场分析方法:比较分子相似性指数方法(CoMSIA).这种方法可以有效地避免在传统CoMFA方法中由静电场和立体场的函数形式所引起的缺陷.在CoMSIA中,分子场由于采用了与距离相关的高斯函数的形式,因此可以避免这些在分子表面附近格点上能量的显著

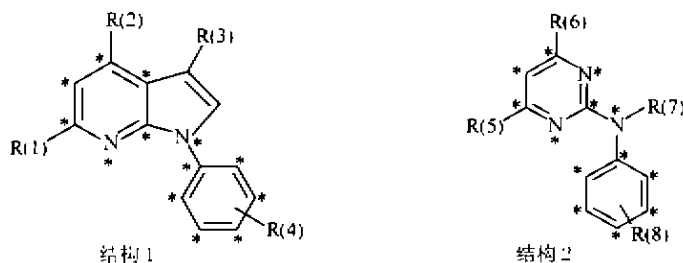
变化;而且在CoMSIA中,不需要定义能量的截断(cutoff)值.和CoMFA比较,采用CoMSIA计算得到的等势面图能够得到较大程度的改善,这对于我们了解分子周围分子场对分子活性的影响具有重要的意义.在CoMSIA中,定义了五种分子的特征,包括:立体场,静电场,疏水场,氢键场(包括氢键受体和氢键给体).这五种分子场用一个与距离有关的高斯函数计算得到:

$$A_{F,k^q}(j) = - \sum_{i=1}^n \omega_{\text{probe},k} \omega_{ik} e^{-\alpha r_{iq}^2}$$

上式中, i 表示分子 j 中的原子序号, ω_{ik} 表示探针离子的某种分子场特征(电荷为+1,原子半径为0.1 nm,疏水性为+1,氢键给体和受体强度为+1), α 为衰减因子(attenuation factor), r_{iq} 则表示探针离子在某格点上和分子中 i 原子之间的距离.

1.2 模型搭建

本文所研究化合物的结构和活性可参见文献^[5]报道,分子结构以及生物活性见表1.在计算中,我们选取21个分子来产生三维构效关系模型.所有的计算由Tripos公司SYBYL软件的相应模块支持^[8],在SGI Octane 2-CPU图形工作站上完成.搭建后的分子采用MMFF力场^[9],用分子力学方法优化,优化的收敛条件为能量的RMS值小于0.042 kJ·mol⁻¹·nm⁻¹.



图式1 两类促肾上腺皮质激素释放激素拮抗剂的骨架结构

Fig.1 The skeleton structures of two types of corticotropin-releasing hormone antagonists

1.3 CoMSIA 和 CoMFA 分析

在分子场分析中,最为重要的步骤就是活性构象的选取和分子的叠合,这两个步骤是否合理对最终的计算结果有着非常重要的影响.由于本文研究这类化合物为较为刚性的分子,因此可以认为上述优化后的构象即为化合物的活性构象.在分子叠合中,我们选取活性最高的化合物6作为叠合的模板,而图式1中星号标志的公共结构作为叠合原子.

将重叠后的分子置于一个三维网格中,分子与网格边界间的距离为0.4 nm,格点大小为0.02 nm.

用CoMSIA提供的缺省探针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).为了更好的考察分子的疏水特征和氢键特征对分子活性的影响,还引入了疏水场和氢键场.在计算中,衰减因子设置为0.3,部分电荷采用MMFF94电荷.得到分子在每个格点上的分子场后,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回归系数.一般认为交叉验证相的关系数大于0.4时,得到的模型具有可信预报能力.最后用不带交叉验证的PLS方法进行回归计算,建立CoMSIA模型.

作为比较,还进行了这类化合物的 CoMFA 分析,在计算中,分子与网格边界间的距离及格点大小均采用了和 CoMSIA 计算中相同的设置.以带一个单位正电荷的 sp^3 杂化 C 原子为探针,来计算分子在每个格点上的立体场和静电场.计算时,最大和最小能量的截断值分别取 $125.4 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 和 $-125.4 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.在 CoMFA 计算中,也考察了氢键场.

2 结果与讨论

2.1 CoMSIA 和 CoMFA 结果比较

表 2 CoMSIA 及 CoMFA 的计算结果

Table 2 The calculated results of CoMSIA and CoMFA

	CoMFA (1)	CoMFA (2)	CoMSIA (3)	CoMSIA (4)	CoMSIA (5)
q^2	0.587	0.401	0.548	0.640	0.527
r^2	0.992	0.968	0.856	0.997	0.997
Std error of estimate	0.085	0.161	0.320	0.077	0.073
F	234.986	90.318	33.640	154.764	162.132
n	7	5	3	13	14
Fraction					
Steric	0.500	0.304	0.216	0.138	0.120
Electrostatic	0.500	0.204	0.784	0.512	0.362
Hydrophobic				0.348	0.311
H-bond acceptor		0.492			0.207
H-bond donor		0.000			0.000

在 CoMFA 和 CoMSIA 计算中,除了考虑传统的立体场和静电场之外,还考虑了其它几种重要分子场的影响.在 CoMFA 计算中,考虑了氢键场;在 CoMSIA 计算中,则考虑了氢键场和疏水场.当然,各种分子场之间也未必是完全独立的,比如疏水场和立体场之间,静电场和氢键场之间在一些情况下就存在一定的相关.是否需要考虑静电场和疏水场需要根据不同的情况作出不同的选择.

氢键相互作用对于药物分子和受体的结合非常重要,对于某些体系,引入氢键场以后可以明显提高模型的预测能力.但有人也认为氢键相互作用实际上是静电效应的结果,它可以包含在静电效应中.在实际体系研究中,加入氢键场,有时也并不一定能够提高模型的统计学质量,是否在模型中加入氢键要根据实际的情况仔细选择.从表 2 显示的分子场占有的比例来看,对于本文所研究的分子,不存在氢键给体的影响,但氢键受体却有明显的影响(所占比例

表 2 显示了 CoMSIA 和 CoMFA 采用不同分子场时得到的构效关系模型的统计结果.表 2 中 q^2 为模型的交互验证回归系数, r^2 为模型的线性回归系数, F 为 F 统计检验值, n 为模型中的主成分数.从回归系数和交互验证回归系数来看,采用 CoMSIA 得到的构效关系模型要明显优于采用 CoMFA 得到的构效关系模型.在前面的工作中,我们已经证明了采用 CoMSIA 往往会比采用 CoMFA 得到更优的构效关系模型^[10-12],因为 CoMSIA 对一些计算参数(包括叠合分子的空间取向,格点大小以及衰减因子等)的敏感度要比 CoMFA 小得多.

为 0.492).但 CoMSIA 和 CoMFA 分析结果也表明,当考虑氢键场以后,模型的交互验证回归系数会明显的降低($q^2 = 0.401$).对本文的研究体系而言,虽然氢键受体在分子场中占有较大比例,但可能由于氢键场与静电场之间存在一定的相关,从而导致了模型的不稳定性,加入氢键场以后反而不能得到好的预测结果.因此,在分子场分析中,由于各种分子场之间的相关效应以及其它因素的影响,分子场所占的比例往往并不能正确反应这种分子场对构效关系的影响,判断一种分子场是否应该在构效关系模型中,应该看这种分子场的引入是否有利于改善计算得到的模型,而不仅仅是看这种分子场所占的比例.在受体和底物相互作用时,疏水效应对于底物的结合自由能往往有着非常重要的影响.但疏水相互作用主要来自于熵效应,而熵效应的计算和表达都存在一定的困难.因此在实际应用中,我们一般用一些简单的疏水参数和能量函数把疏水性相互作用作为

一种能量的场的形式来表达,在一些体系的研究中也取得了比较好的效果.表2显示,当在立体场和静电场的基础上再引入疏水场时,所得模型具有最好的统计结果($q^2 = 0.640$, $SD = 0.077$, $F = 154.764$),图1是化合物实验自由能和预测自由能之间的线性拟合图,而后面的分子场等值面图(图3)也说明了疏水场确实对生物活性有着非常重要的影响.

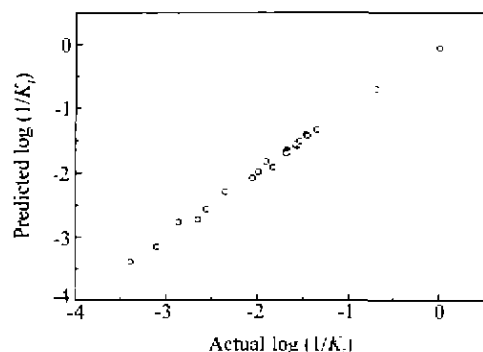


图1 化合物实际活性和预测活性之间的关系

Fig.1 Comparison of the experimental biological activities with the calculated biological activities

2.2 分子场的等值面图

从 CoMSIA 的计算结果中,可以很明确地看到各种分子场包括静电场、立体场及疏水场等对化合物活性的影响.CoMSIA 通过由 QSAR 方程中空间格

点上对生物活性影响较大的点连接,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2显示了叠合分子周围的立体场和静电场.图中绿色和黄色表示重要的立体特征,红色和蓝色表示重要的静电特征.从图2a中可以看出,当在黄色区域引入较小体积基团时有利于提高分子的生物活性,尤其是在吡咯并吡啶类化合物的R(4)位有体积较小的基团将对提高分子的生物活性非常有利,当在R(4)附近的采用较小的取代基时,底物和受体之间能够形成更好的几何匹配,从而提高化合物的活性.在R(1)[R(5)]位和R(3)位也有一些较小的黄色区域,在这些区域附近引入较小的取代基也将对增加化合物活性有利.在图2a中还有一小块较小的绿色区域(如图中的R(2)或R(6)区),在这个区域附近采用较大的基团可能有利于提高化合物的活性.

图2b静电的等势面显示,在R(2)(或R(6))和R(3)位置附近有两块相邻的蓝色和红色区域.在靠近吡咯并吡啶环的R(2)[或R(6)]和R(3)位置附近引入负电基团有利于活性的提高;而在远离R(2)[或R(6)]和R(3)位置时,则带正电的基团可能提高化合物的活性.在叠合分子的周围,还有两块较小的蓝色区域,这些区域类正电势的存在对活性的提高有利.

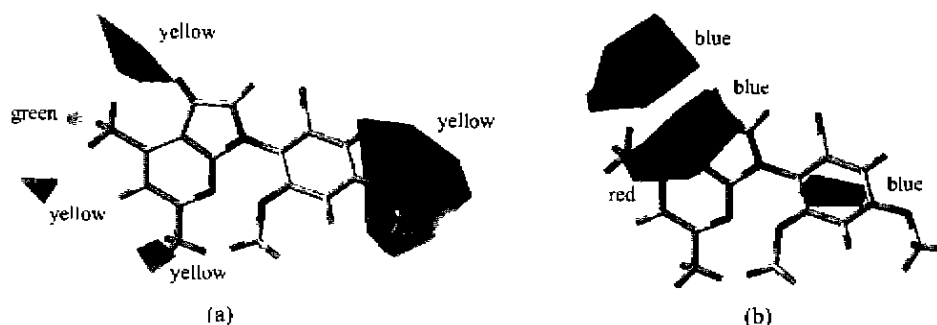


图2 化合物立体场和静电场的 CoMSIA 等值面图

图中参考分子为化合物6;a—立体场;b—静电场

Fig.2 The contour plot of the CoMSIA steric field (a) and electrostatic field (b)

Compound 6 is shown as the reference compound; a—Steric field; b—Electrostatic field

图3显示了化合物周围疏水场的等值面图,从这个图中我们可以直观地看到疏水性对分子生物活性的影响.图中黄色区域表示重要的疏水性特征,而灰色区域则表示重要的亲水性特征.在R(2)[或R(6)]和R(3)两个取代位附近有明显的灰色区域[主

要位于R(3)取代基附近],说明在这个区域引入亲水性较强的基团有利于提高分子的生物活性,亲水性基团或极性基团的引入可能有利于底物和受体之间氢键的形成.结合图2(a)和图3我们不难发现,在取代基R(3)上的基团能够和受体形成较强的静电

或氢键相互作用,而且较小的基团也有利于底物和受体之间的几何匹配.而取代基 R(4)[或 R(8)]所在苯环的 4 位取代位置也有一个明显的灰色区域,显然,在这个位置采用亲水性较强的基团也有利于提高分子的生物活性.在图 3 中,在取代基 R(4)[或 R(8)]所在苯环的 2 位取代位置有一个明显的疏水性特征,这个位置疏水基团的引入有利于活性的提高.与二维的构效模型比较,CoMSIA 模型直接提示了药物设计的三维信息,体现了其独到的重要作用及指导意义.

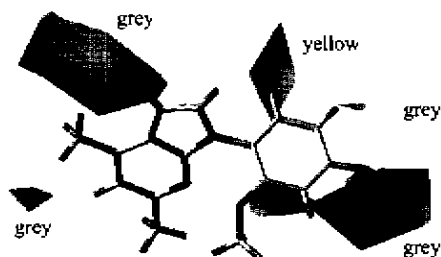


图 3 化合物疏水场的 CoMSIA 等值面图
图中参考分子为化合物 6

Fig.3 The contour plot of the CoMSIA hydrophobic field
compound 6 is shown as the reference compound

本文用比较分子相似性指数方法(CoMSIA)和比较分子场方法(CoMFA)在三维水平上比较研究了两组 CRH 拮抗剂结构与活性的关系.和 CoMFA 比较,CoMSIA 能得到统计更优的模型.在 CoMSIA 计算

中,疏水场的引入,可以明显地改善得到的构效关系模型.通过分析分子场等值面图在空间的分布,可以清楚地考察到叠合分子周围的立体、静电以及疏水特征对化合物活性的影响.

References

- Owens, M. J.; Nemeroff, C. B. *Pharmacol. Rev.*, **1991**, *43*, 425.
- Shimizu, N.; Nakane, H.; Hori, T.; Hayashi, Y. *Brain Res.*, **1994**, *654*, 145.
- DeBellis, M. D.; Gold, P. W.; Geraciotti, T. D.; Listwak, S. J.; Kling, M. A. *Am. J. Psychiatry*, **1993**, *150*, 656.
- Kling, M. A.; Geraciotti, T. D.; Licinio, J.; Michelson, D.; Oldfield, E. H.; Gold, P. W. *Psychopharmacol. Bull.*, **1994**, *30*, 489.
- Hodge, C. N.; Aldrich, P. E.; Wasserman, Z. R.; Fernandez, C. H.; Nemeth, G. A.; Arvanitis, A.; Cheeseman, R. S.; Chorvat, R. J.; Ciganek, E.; Christos, T. E.; Gilligan, P. G.; Krenitsky, P.; Scholfield, E.; Strucely, P. *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 819.
- Cramer, R. D.; Patterson, D. E.; Bunce, J. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 5959.
- Klebe, G.; Abraham, U.; Mietzner, T. *J. Med. Chem.*, **1994**, *37*, 4130.
- Tripos 6.5 User Guide*, Tripos Inc., St. Louis, USA, **1995**.
- Halgren, T. A. *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 490.
- Hou, T. - J.; Li, Y. - Y.; Xu, X. - J. *J. Mol. Model.*, **2000**, *6*, 438.
- Hou, T. - J.; Li, Z. - M.; Li, Z.; Liu, J.; Xu, X. - J. *J. Chem. Inf. Comp. Sci.*, **2000**, *40*, 1002.
- Hou, T. - J.; Xu, X. - J. *Chemometr. Intell. Lab.*, (in press).

(Ed. XIE Hui - Qin)

(DONG Hua - Zhen)