

2,4-噻唑烷二酮类醛糖还原酶抑制剂的三维定量结构-活性关系及分子对接研究

常美佳¹, 罗 盛¹, 杨旭曙¹, 张一鸣², 孙 成³, 王连生³

(1. 南京医科大学药学院, 江苏 南京 211166)

(2. 南京医科大学基础医学院, 江苏 南京 210029)

(3. 南京大学环境学院, 江苏 南京 210093)

[摘要] 醛糖还原酶抑制剂通过抑制多元醇通路中醛糖的还原而有希望成为治疗慢性糖尿病的新药, 这促进了新型醛糖还原酶(ALR2)抑制剂的研制. 本文采用两种3D-QSAR方法, 即比较分子力场分析(CoMFA)和比较相似性指数分析(CoMSIA)方法, 研究2,4-噻唑烷二酮类醛糖还原酶抑制剂结构与活性之间的关系. 采用原子契合(相同骨架结构)、场契合和基于分子对接3种分子叠合方式构建CoMFA和CoMSIA模型. 基于原子契合方式构建的模型为最佳预测模型(CoMFA $r^2=0.922$, $q^2_{\text{Loo}}=0.707$; CoMSIA $r^2=0.917$, $q^2_{\text{Loo}}=0.762$). 此模型进一步通过12个化合物组成的样本外测试集进行验证, 结果由CoMFA和CoMSIA模型得到的测试集外部验证系数(r^2_{pred})分别为0.824和0.883. CoMFA和CoMSIA的力场系数等高图的分析结果与分子对接的结果一致. CoMFA和CoMSIA方法结合分子对接研究有助于揭示抑制剂与醛糖还原酶之间的相互作用以及影响醛糖还原酶抑制剂活性的化合物的结构特征, 这些为新型醛糖还原酶抑制剂的理性设计提供了有益的信息.

[关键词] 噻唑烷二酮, 醛糖还原酶抑制剂, 3D-QSAR, 分子对接

[中图分类号] O641.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2015)03-0031-10

3D-QSAR Studies of 2,4-Thiazolidinediones as Aldose Reductase Inhibitors Using CoMFA, CoMSIA and Molecular Docking

Chang Meijia¹, Luo Sheng¹, Yang Xushu¹, Zhang Yiming², Sun Cheng³, Wang Liansheng³

(1. School of Pharmacy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China)

(2. School of Basic Medical Sciences, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

(3. State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210046, China)

Abstract: Aldose reductase (ALR2) inhibitors are promising agents for chronic diabetic complication therapy by preventing the reduction of glucose in the polyol pathway, which promotes to develop novel ALR2 inhibitors. Two kinds of techniques, comparative molecular field analysis (CoMFA) and comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA), were employed for studying a series of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones as aldose reductase inhibitors. With the strategies of common substructure-based alignment and field-fit alignment, the lowest energy conformations were used to develop the ligand-based models of three-dimensional quantitative structure-activity relationship (3D-QSAR). The bioactive conformation obtained by docking all 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones derivatives into the active site of aldose reductase (PDB ID: 1ah3) was applied for the development of receptor-based model. Statistically significant model of ligand-based 3D-QSAR from the common substructure-based alignment exhibited the best predictive power (CoMFA $r^2=0.922$, $q^2=0.707$; CoMSIA $r^2=0.917$, $q^2=0.762$). The model was further confirmed by analyzing 12 sets of compounds with diverse structure. The results showed high predictive r^2 values of 0.824 for CoMFA and 0.883 for CoMSIA respectively. The molecular docking analysis revealed that both CoMFA and CoMSIA contour maps for steric,

收稿日期: 2013-06-08.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(21277074)、国家自然科学基金青年科学基金项目(81302458)、江苏省高校自然科学基金项目(11KJB180006)、南京医科大学自然科学基金重点项目(09NJMUZ16).

通讯联系人: 杨旭曙, 博士, 副教授, 研究方向: 环境毒理学. E-mail: yangxushu@njmu.edu.cn

electrostatic, hydrophobic, and hydrogen-bonding interactions matched well. The combination of CoMFA and CoMSIA with molecular docking is helpful to understand the interaction and the structure-activity relationship between ALR2 and its inhibitor. The present results provide a valuable guidance for rationally designing ARL2 inhibitors.

Key words: 2,4-Thiazolidinediones; Aldose reductase inhibitors; 3D-QSAR; molecular docking

醛糖还原酶(ALR2, EC 1.1.1.21)是还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH),通过催化葡萄糖还原成山梨醇而调节葡萄糖在多元醇通路中的流量. 糖尿病动物模型表明长期高血糖会导致多元醇通路中代谢掉的葡萄糖增多,这是糖尿病并发症视网膜病、神经病变、肾病等的前兆^[1-6]. 临床前和临床早期的诊断都表明醛糖还原酶抑制剂能够抑制糖尿病并发症的发生^[6-8]. 许多具有活性的醛糖还原酶抑制剂如唑泊司他、泊那司他、索比尼尔等已经被设计和合成^[5,7,9-11],但是这些化合物被报道有毒副作用,因此没有临床价值^[5]. 而2,4-噻唑烷二酮类醛糖还原酶抑制剂由于其有效的抑制活性以及无副作用而受到人们的普遍关注^[9,11-15].

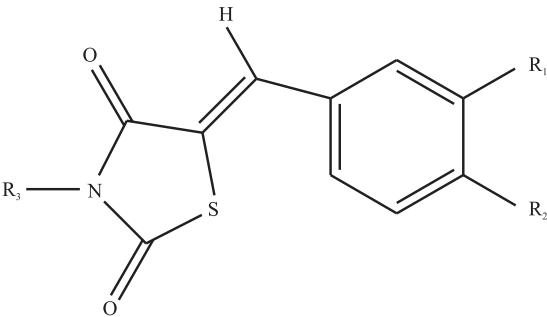
近年来,一些2,4-噻唑烷二酮类醛糖还原酶抑制剂已经被报道^[16-18]. Sambasivarao等采用了Hansch和Fujita-Ban方法对这些化合物构效关系进行了研究^[17-19]. 但是由于这些方法的局限性,本文采用比较分子力场方法(CoMFA)^[20]和比较分子相似性指数分析方法(CoMSIA)^[21]的3D-QSAR方法,并结合分子对接研究了2,4-噻唑烷二酮类醛糖还原酶抑制剂结构与活性之间的关系,得到的定量模型有利于揭示2,4-噻唑烷二酮类醛糖还原酶抑制剂与醛糖还原酶之间的相互作用以及影响2,4-噻唑烷二酮类醛糖还原酶抑制剂活性的分子结构特征.

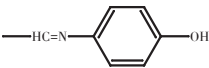
1 材料与方法

1.1 化合物与活性数据

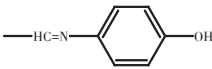
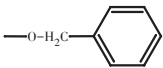
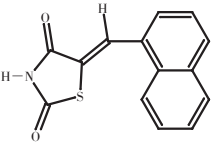
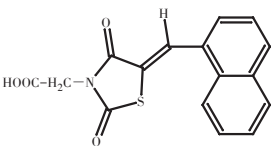
本文以45个2,4-噻唑烷二酮类系列化合物为研究对象. 化合物的活性和测试方法取自文献^[16-18]. 然后根据化合物结构的多样性及训练集和测试集活性数据范围的相似性随机将化合物分成训练集(33个化合物)和测试集(12个化合物)(见表1). 化合物半抑制浓度的负对数(-logIC₅₀, pIC₅₀)为活性指标.

表1 2,4-噻唑烷二酮类系列化合物结构
Table 1 Structures of 2,4-thiazolidinedione derivatives



化合物	R ₁	R ₂	R ₃	IC ₅₀ ^a
1	F	H	H	9.10
2	CH ₃	H	H	9.23
3	OCH ₃	H	H	13.28
4	CF ₃	H	H	12.81
5 ^b		H	H	1.86
6	OC ₆ H ₅	H	H	6.14
7 ^b	OH	H	H	10.70
8	NH ₂	H	H	20.20
9	H	F	H	8.21
10 ^b	H	CF ₃	H	31.49

续表1 Table 1 continued

化合物	R ₁	R ₂	R ₃	IC ₅₀ ^a
11	H	OCH ₃	H	40.83
12	H		H	22.93
13 ^b	H	OH	H	8.96
14	OCH ₃	OH	H	11.80
15 ^b	CH ₃	H	CH ₂ COOCH ₃	10.10
16	OCH ₃	H	CH ₂ COOCH ₃	8.87
17	CF ₃	H	CH ₂ COOCH ₃	28.67
18	OC ₆ H ₅	H	CH ₂ COOCH ₃	1.32
19	NH ₂	H	CH ₂ COOCH ₃	39.10
20	H	CF ₃	CH ₂ COOCH ₃	3.44
21	H	F	CH ₂ COOCH ₃	12.90
22 ^b	H	OH	CH ₂ COOCH ₃	6.18
23 ^b	F	H	CH ₂ COOH	0.74
24	CH ₃	H	CH ₂ COOH	0.65
25	OC ₆ H ₅	H	CH ₂ COOH	0.13
26 ^b	OCH ₃	H	CH ₂ COOH	0.48
27	CF ₃	H	CH ₂ COOH	0.47
28 ^b	OH	H	CH ₂ COOH	0.66
29	NO ₂	H	CH ₂ COOH	0.49
30 ^b	OCH ₂ COOH	H	CH ₂ COOH	0.23
31	H	F	CH ₂ COOH	1.14
32	H	CF ₃	CH ₂ COOH	0.46
33	H	OC ₆ H ₅	CH ₂ COOH	0.82
34	H		CH ₂ COOH	0.28
35 ^b	H	C ₆ H ₅	CH ₂ COOH	0.26
36	H	OH	CH ₂ COOH	0.15
37	H	NO ₂	CH ₂ COOH	1.19
38	H	OCH ₂ COOH	CH ₂ COOH	0.60
39	OCH ₃	OH	CH ₂ COOH	0.70
40 ^b	OH	OCH ₃	CH ₂ COOH	0.56
41	OCH ₃	OCH ₂ COOH	CH ₂ COOH	0.26
42	OCH ₂ COOH	OCH ₃	CH ₂ COOH	0.20
43	H	OH	CH ₂ CH=CHCOOH	4.17
44				10.70
45				0.17

a. 体外 50%抑制浓度, μM ; b. 为测试集, 其他为训练集.

1.2 分子模拟与分子叠合

化合物的活性构象和分子叠合是进行3D-QSAR研究的最为敏感的两个因素. 本文中, 化合物的三维结构通过SYBYL7.3软件^[22]构建, 采用Tripos力场^[23]进行能量最小化处理, 能量收敛标准为0.01 kcal/(mol·Å). 采用Gasteiger-Hückel方法^[24]计算化合物的电荷.

在基于配体的模型中, 分子叠合 I 是基于化合物共同骨架结构的分子叠合. 它是将所有化合物根据相同骨架(2,4-噻唑烷二酮)与模板分子相叠合, 相同骨架结构及分子叠合 I 见图1(A)和(B). 分子叠合 II 是通过SYBYL7.3QSAR刚性场契合模块得到的基于场契合的分子叠合. 场契合将化合物的立体场和静电场与模板分子对应的场进行匹配从而将化合物进行分子叠合. 以活性最大化合物25为模板分子. 分子叠合 II 见图1(C).

在基于受体的模型中, 采用SYBYL7.3中的Surflex-Dock模块将化合物与醛糖还原酶(PDB ID: 1ah3)活性位点进行对接得到分子叠合 III (见图6.1D). Surflex-Dock 基于经验得分函数将配体分子与受体的活性位点相对接^[25], 此对接过程中考虑到配体的柔性. 然后加上氢原子. 蛋白质受体与配体分别加上 AMBER^[26]和 Gasteiger-Hückel^[24]电荷. 然后再去除水分子. 以 CH₄、C=O、N-H 为分子探针, 确定受体结合腔. 阈值(Threshold)设为0.5, 膨胀系数(Blood)设为1. 分子对接后得到的托瑞司他三维构象与实验获得的三维构象之间的原子均方根偏差(RMSD)为0.397, 这表明对接非常成功. 每个配体可产生30个构象, 基于Surflex-Dock 得分函数得到最高得分的构象并一定产生稳健性模型. 因此, 通过选择最佳活性构象以得到较高的 q^2_{Loo} 值. 由分子对接得到的活性构象不需要再进行能量最小化, 直接用于 CoMFA 和 CoMSIA 分析.

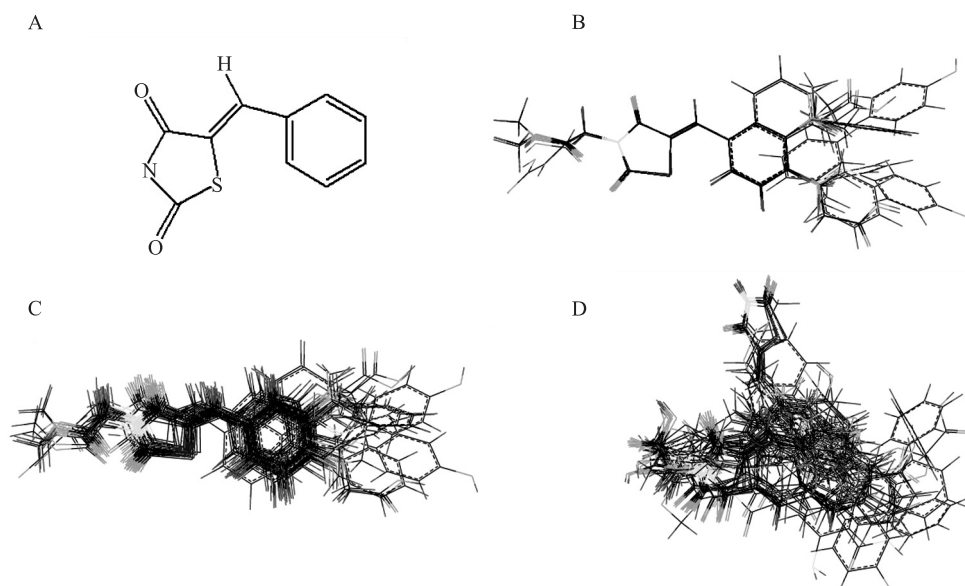


图1 (A)相同的骨架结构;(B)基于相同骨架结构的分子叠合(分子叠合 I);(C)基于场契合的分子叠合(分子叠合 II);(D)基于受体的分子叠合(分子叠合 III)

Fig.1 (A) Common substructure. Alignment of all 2,4-thiazolidinedione derivatives from the training set and the test set; (B) Common substructure-based alignment (Alignment I); (C) Field-fit alignment (Alignment II); (D) Receptor-based alignment (Alignment III)

1.3 CoMFA 和 CoMSIA 分析

CoMFA 分析中, 以 sp^3 碳原子为立体场探针、+1 价电荷为静电场探针, 网格点空间距离设为 2.0 Å 计算化合物周围的立体场和静电场. 截断值设为 30 kcal/mol. CoMSIA 分析中, 网格点空间距离设为 2.0 Å, 电荷设为 +1 价, 疏水性、氢键的供体场和受体场都设为 +1. 衰减因子 α 设为缺省值 0.3. 包括立体场、静电场、疏水场、氢键的供体场和受体场 5 个不同的相似场通过高斯类型的函数计算. 然后通过偏最小二乘回归法 (PLS) 构建 3D-QSAR 模型^[27-28]. 以非交叉验证相关系数 r^2 、标准估计误差 (SEE) 评价模型的相关性, 以逐一剔除交叉验证系数 (q^2_{Loo})、标准预测误差 (SDEP) 评价模型的稳健性. 为进一步评价所建模型的稳健性, 采用 bootstrapping 分析重复 100 次, 训练集随机分成 2 组和 5 组进行交叉验证. 采用测试集外部验证系数 r^2_{pred} 评价模型的预测能力.

2 结果与讨论

2.1 CoMFA 和 CoMSIA 分析

由表 2, 基于配体和基于受体所得到的 CoMFA 和 CoMSIA 模型都具有显著的相关性和稳健性及内部预测能力($q^2_{\text{Loo}} > 0.5, r^2 > 0.9$). 基于相同骨架结构的分子叠合(分子叠合 I)得到模型的统计参数为: CoMFA $r^2 = 0.922, q^2_{\text{Loo}} = 0.707$; CoMSIA $r^2 = 0.917, q^2_{\text{Loo}} = 0.762$; 基于场契合的分子叠合(分子叠合 II)得到的模型其统计参数为: CoMFA $r^2 = 0.951, q^2_{\text{Loo}} = 0.533$; CoMSIA $r^2 = 0.935, q^2_{\text{Loo}} = 0.719$; 基于受体的分子叠合(分子叠合 III)得到模型的统计参数为: CoMFA $r^2 = 0.946, q^2_{\text{Loo}} = 0.637$; CoMSIA $r^2 = 0.993, q^2_{\text{Loo}} = 0.735$. 由此可见, 基于相同骨架结构的分子叠合所构建的 CoMFA 和 CoMSIA 为最佳模型. 为进一步验证模型的稳健性, 对 CoMFA 和 CoMSIA 模型进行 bootstrapping 分析各重复 100 次得到相关系数的平均值(r^2_{boot})分别为 0.980 和 0.974, 标准偏差 SD 分别为 0.089 和 0.090(表 6.2). 然后随机分成 2 组和 5 组进行交叉验证, 重复 25 次. CoMFA 和 CoMSIA 模型随机分 2 组得到交叉验证系数 r^2_{LHO} 分别为 0.516 和 0.683, 标准预测误差分别为 0.591 和 0.469; 随机分 5 组得到的交叉验证系数 r^2_{Scv} 分别为 0.658 和 0.745, 标准预测误差分别为 0.502 和 0.424. 以上结果表明基于相同骨架结构进行分子叠合得到的 CoMFA 和 CoMSIA 模型具有良好的相关性和稳健性以及显著的内部预测能力.

表 2 CoMFA 和 CoMSIA 分析结果

Table 2 Summary of results from the CoMFA and CoMSIA analyses

	基于配体模型				基于受体模型	
	分子叠合 I		分子叠合 II		分子叠合 III	
	CoMFA	CoMSIA	CoMFA	CoMSIA	CoMFA	CoMSIA
r^2	0.922	0.917	0.951	0.935	0.946	0.993
SEE	0.238	0.241	0.192	0.218	0.195	0.073
F 值	82.502	107.221	104.564	99.967	168.604	538.556
q^2	0.707	0.762	0.533	0.719	0.637	0.735
SDEP	0.461	0.408	0.593	0.451	0.504	0.464
pred- r^2	0.824	0.883	0.793	0.911	0.678	0.816
PCs	4	3	5	4	3	7
力场贡献率(%)						
立立场	64.0	8.0	48.7	7.7	36.6	11.7
电子场	36.0	13.7	51.3	16.6	63.4	26.8
疏水场		17.4		18.1		20.0
氢键供体场		47.5		41.2		22.8
氢键受体场		13.5		16.4		18.6
$r^2_{\text{boot}}^a$	0.980	0.974				
SEE _{boot} ^b	0.125	0.137				
SD _{boot} ^c	0.089	0.090				
$r^2_{\text{LHO}}^d$	0.516	0.683				
SDEP _{LHO} ^e	0.591	0.469				
$r^2_{\text{Scv}}^f$	0.658	0.745				
SEP _{Scv} ^g	0.502	0.424				

^a使用 bootstrapped 分析 100 次取样所得到的相关系数的平均值; ^b使用 bootstrapped 分析 100 次取样所得到的标准估计误差的平均值; ^c使用 bootstrapped 分析 100 次取样所得到的评价相关系数偏差; ^d分 2 组重复 25 次得到的交叉验证系数的平均值; ^e分 2 组进行交叉验证重复 25 次得到的标准预测误差的平均值; ^f分 5 组重复 25 次得到的交叉验证系数的平均值; ^g分 5 组进行交叉验证重复 25 次得到的标准预测误差的平均值.

2.2 模型验证

12 种结构各异且活性跨度较大的化合物被选为外部测试集, 以验证模型的预测能力. 结果所得到的最佳 CoMFA 和 CoMSIA 模型对测试集的外部验证系数 r^2_{pred} 分别为 0.824 和 0.883(表 6.2), 化合物抑制活性(pIC_{50})的实验值与预测值残差的平均值分别为 0.22 和 0.17. 这表明所构建的 CoMFA 和 CoMSIA 模型对外

部样本数据集具有良好的预测能力,此方法可为新型醛糖还原酶抑制剂的设计提供理论指导. 训练集和测试集化合物活性的实验值和预测值的相关图见图2. 化合物活性的实验值和最佳 CoMFA 和 CoMSIA 模型的预测值及残差见表3.

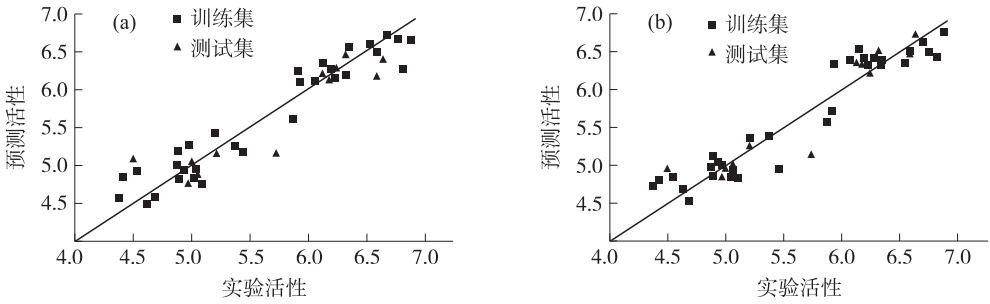


图2 (a)CoMFA 和(b)CoMSIA 模型化合物活性的实验值和预测值的相关图

Fig.2 Predicted versus experimental activities (pIC_{50} , μM) of compounds in the training set and the test set for the (a) CoMFA and (b) CoMSIA model based on Alignment I

表3 化合物活性的实验值和最佳 CoMFA 和 CoMSIA 模型的预测值及残差

Table 3 Experimental pIC_{50} and the corresponding predicted values with residual for the best CoMFA and CoMSIA models

化合物	pIC_{50}	CoMFA		CoMSIA	
		预测值	残差	预测值	残差
1	5.04	4.84	0.20	4.87	0.17
2	5.03	4.95	0.08	4.94	0.09
3	4.88	5.16	-0.28	4.95	-0.07
4	4.89	4.85	0.04	4.86	0.03
5 ^a	5.73	5.14	0.59	5.12	0.61
6	5.21	5.40	-0.19	5.33	-0.12
7 ^a	4.97	4.74	0.23	4.85	0.12
8	4.69	4.56	0.13	4.52	0.18
9	5.09	4.76	0.33	4.85	0.24
10 ^a	4.50	5.07	-0.57	4.93	-0.43
11	4.39	4.54	-0.15	4.73	-0.34
12	4.64	4.50	0.15	4.67	-0.03
13 ^a	5.05	4.86	0.19	4.99	0.06
14	4.93	4.94	-0.01	5.04	-0.11
15 ^a	5.00	5.03	-0.03	4.94	0.06
16	5.05	4.83	0.22	4.93	0.12
17	4.54	4.95	-0.41	4.86	-0.32
18	5.88	5.63	0.25	5.58	0.30
19	4.41	4.81	-0.40	4.77	-0.36
20	5.46	5.19	0.28	4.93	0.53
21	4.89	4.98	-0.09	5.10	-0.21
22 ^a	5.21	5.15	0.06	5.25	-0.04
23 ^a	6.13	6.19	-0.06	6.33	-0.20
24	6.19	6.29	-0.10	6.41	-0.22
25	6.89	6.68	0.21	6.78	0.11
26 ^a	6.32	6.45	-0.13	6.49	-0.17
27	6.33	6.18	0.15	6.33	0.00
28 ^a	6.18	6.10	0.08	6.31	-0.13
29	6.31	6.43	-0.12	6.38	-0.07
30 ^a	6.64	6.39	0.25	6.71	-0.07
31	5.94	6.12	-0.18	6.31	-0.37
32	6.34	6.51	-0.17	6.40	-0.06

续表3 Table 3 continued

化合物	pIC ₅₀	CoMFA		CoMSIA	
		预测值	残差	预测值	残差
33	6.09	6.14	-0.05	6.36	-0.27
34	6.55	6.57	-0.02	6.36	0.19
35 ^a	6.59	6.16	0.43	6.46	0.13
36	6.82	6.23	0.59	6.45	0.37
37	5.92	6.25	-0.33	5.69	0.23
38	6.22	6.22	0.00	6.33	-0.11
39	6.15	6.31	-0.16	6.50	-0.35
40 ^a	6.25	6.27	-0.02	6.21	0.04
41	6.59	6.52	0.07	6.48	0.11
42	6.70	6.69	0.01	6.64	0.06
43	5.38	5.25	0.13	5.38	0.00
44	4.97	5.24	-0.27	5.00	-0.03
45	6.77	6.67	0.10	6.47	0.30

^a为测试集,其他为训练集

2.3 CoMFA和CoMSIA等高图分析

CoMFA和CoMSIA模型能基于模型得到的力场系数等高图确定与活性相关的立体场、静电场、疏水场、氢键的供体场和受体场变化的重要区域,从而对影响化合物活性的分子结构特征及化合物活性的分子机理作出有效的解释. CoMFA和CoMSIA的立体场系数等高图见图3(A)和(B). 由图3(A),在N-3取代基位置的大块浅灰色区域表明在噻唑烷二酮类化合物的N-3位置体积大的取代基对化合物活性有利. 如乙酸类(化合物25和32)和甲酯类(化合物18和20)化合物在N-3位置分别含有较大的取代基-CH₂COOH和-CH₂COOCH₃,因此这些化合物表现为较强的抑制活性. 而N位置无取代基的化合物(如化合物6和10)则活性很弱. 值得注意的是在N-3位置对活性有利的大的取代基都含有极性原子(如-CH₂COOH取代基上的O原子和H原子以及-CH₂COOCH₃取代基上的O原子). CoMSIA的立体场在苯环的3号位点处出现小块深灰色区域,这表明此区域体积大的取代基对化合物的活性有利,如化合物5、25和30的活性分别比化合物12、33和38大. 在4号位点出现大的浅灰色区域,这表明此区域大的取代基对化合物的活性不利,如化合物12和33的活性都很低.

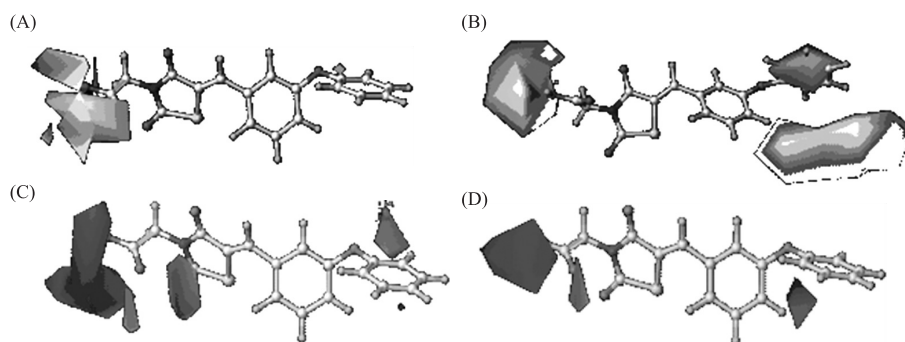


图3 (A)CoMFA和(B)CoMSIA的立体场系数等高图;(C)CoMFA和(D)CoMSIA的静电场系数等高图

Fig.3 CoMFA(A)and CoMSIA(B)stDev*Coeff contour plots based on Alignment I for steric fields. CoMFA(C) and CoMSIA(D)stDev*Coeff contour plots for electrostatic fields.

图3(C)和(D)分别为CoMFA和CoMSIA的静电场系数等高图. 由图3(C)和(D),在羰基O原子附近出现小块深灰色区域,这表明此区域负电性原子有利于化合物活性. 如化合物16、18和20都含有负电性的O原子,因此,这些化合物表现出的抑制活性都分别强于化合物3、6和10. 在-COOH基团的H周围出现大块黑色区域,这表明此位置正电性取代基对化合物活性有利. 这很好地解释了所有的乙酸类化合物因为既含有羰基O原子、同时又含有羧基H原子,因此表现为较高的抑制活性. 另一个出现在苯环3号位点的CoMFA小块深灰色等高图表明此位置的负电性取代基对化合物活性有利,如化合物6、18和30都表现有较高的活性. 在CoMSIA静电场等高图中,出现在苯环4号位点附近出现大块黑色区域,这表明此区域正

电性取代基有利于化合物活性,如化合物 36 的活性($IC_{50}=0.15 \mu M$)就强于化合物 31($IC_{50}=1.14 \mu M$)和 37($IC_{50}=1.19 \mu M$)。

图 4 为 CoMSIA 疏水场系数等高图,小块白色和大块浅灰色白色区域分别表示此区域疏水性和亲水性基团对化合物活性有利。苯环和 3- OC_6H_5 取代基附近的小块白色区域表明此区域疏水性基团有利于化合物活性。如 3 号位点含有疏水性取代基或稠芳香环取代 5-亚芳香环的化合物(化合物 5、18、25 和 45)表现有较强的抑制活性。在 N-3 位点和苯环 4 号位点的大块浅灰色区域表明此区域的极性基团对化合物活性有利,这与 CoMFA 和 CoMSIA 的静电场等高图的分析结果一致。

以活性最强的化合物 25 为参考分子,CoMSIA 模型的氢键供体场和受体场系数等高图见图 5。在 N-3 位置的羧基位置出现大块黑色区域,这表明此区域引入氢键的供体基团对化合物的活性有利。活性强的化合物(如乙酸类化合物)在 N-3 位置含有氢键的供体 H 原子,此结构特征对醛糖还原酶的抑制活性非常重要。N 位点无取代基的化合物(化合物 1-14)和酯类化合物(化合物 15-22)都不含氢键的供体氢原子,因此这些化合物的活性都不强。在 N-3 位置的小块深灰色区域表明此区域引入氢键的受体基团对化合物的活性有利,此结论由氢键的受体场系数等高图(图 5B)中在 N-3 位置的小块黑色区域得到进一步证实。如化合物 8 和 19 因为在 3 号取代基含有氢键的供体基团- NH_2 而表现为较低的活性。图 5B 出现的大块深灰色区域表明此区域引入氢键的供体基团对化合物的活性有利,这与氢键供体场系数等高图的分析结果一致。出现在 3 号位点附近的大块深灰色区域表明此区域引入氢键的受体基团对化合物活性不利。

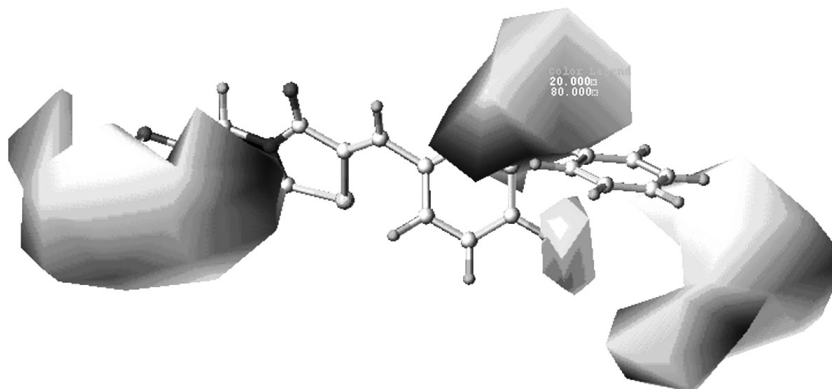


图 4 CoMSIA 疏水场等高图

Fig.4 CoMSIA stDev*Coeff contour plots for hydrophobic field.

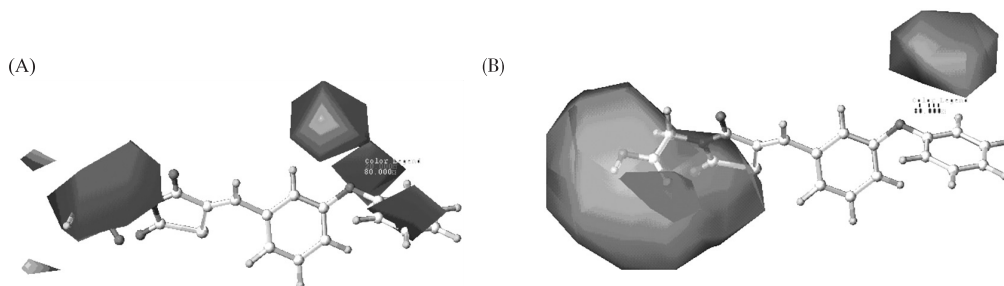


图 5 CoMSIA(A)氢键供体场(B)氢键受体场等高图

Fig.5 CoMSIA stdev*coeff hydrogen bond donor(A)and hydrogen bond acceptor(B)contour maps

2.4 ALR2抑制剂与受体的结合模式及与 3D-QSAR 的比较

由图 6A 和 6B 所示,N-3 位置的乙酸链与受体的活性位点处由残基 Tyr48、His110、Trp111 和 Nap318 组成的极性结合腔很好地匹配,这与由 CoMFA 模型立体场等高图中小块深灰色区域分析的结果相一致,即在 N-3 位置处体积适中的取代基对化合物活性有利。此位置体积更大的取代基可能会导致基团与结合腔中的残基 Tyr48、His110、Trp111 和 Nap318 发生空间上的冲突,从而导致化合物的活性降低,这与 CoMFA 模型立体场等高图中大块浅灰色区域的分析结果一致。N-3 取代基位置处丁烯酸链取代乙酸链后导致化合物活性降低了 28 倍,这进一步证实了上述结论。

与以前的研究一致^[6,9,11,17],化合物与醛糖还原酶的氢键相互作用对化合物的抑制活性至关重要。分子对接研究表明在化合物 25 与醛糖还原酶之间共有 5 个氢键。羧基的 H 原子与残基 Nap318 之间形成 1 个

氢键($\text{OH}-\text{O}=\text{C}$, 1.76 \AA , 172.99°),这表明羧基为氢键的供体基团,这与 CoMSIA 氢键供体场等高图的分析结果一致.这同时反映了 N-3 位置正电性取代基有利于化合物与醛糖还原酶之间的相互作用,这些都与 CoMFA 和 CoMSIA 模型的静电场等高图中 N-3 位置大块黑色区域的分析结果相吻合.由图 6,羧基中羟基 O 原子分别与残基 His110($\text{HO}-\text{HN}$, 2.736 \AA , 142.92°)和 Trp111($\text{HO}-\text{HN}$, 2.486 \AA , 137.28°)形成两个氢键.相似地,羧基上的羰基 O 原子与另两个残基 Tyr48 和 Trp111($\text{C}=\text{O}-\text{HO}$, 1.639 \AA , 161.92°)及 His110($\text{C}=\text{O}-\text{HN}$, 1.958 \AA , 148.21°)形成氢键.由此可见,羧基同时也作为氢键的受体基团,这与 CoMSIA 氢键受体场中羧基上的羰基 O 原子周围的小块黑色区域的分析结果一致.由残基 Tyr48, His110 和 Trp111 可形成正电性势场,这有利于与 N-3 位置负电性取代基形成静电相互作用.这与 CoMFA 和 CoMSIA 模型中 N-3 位置区域分析的结果一致.化合物与醛糖还原酶之间强的极性相互作用由 CoMSIA 疏水场中 N-3 位置附近的白色区域所证实.

分子对接研究揭示了 $3-\text{OC}_6\text{H}_5$ 基团位于由残基 Trp79、Trp111、Phe115 和 Leu300 形成的深的疏水性结合腔中.由图 6B,此疏水性结合腔可以容纳 $3-\text{OC}_6\text{H}_5$ 基团.因此可以得出 3 号位点体积大的疏水性取代基有利于化合物抑制活性的增强.这与 CoMSIA 立体场的大块浅灰色区域和疏水场的小块白色区域分析结果得到的结论一致.如化合物 5、18 和 25 在此位点含有疏水性基团,因此这些化合物表现为较强的抑制活性.5-亚芳香烃基与残基 Phe122 和 Trp219 形成疏水性相互作用,因此稠环取代 5-亚芳香烃基的苯环有利于化合物活性的增强,如化合物 44 和 45 的抑制活性都很强.

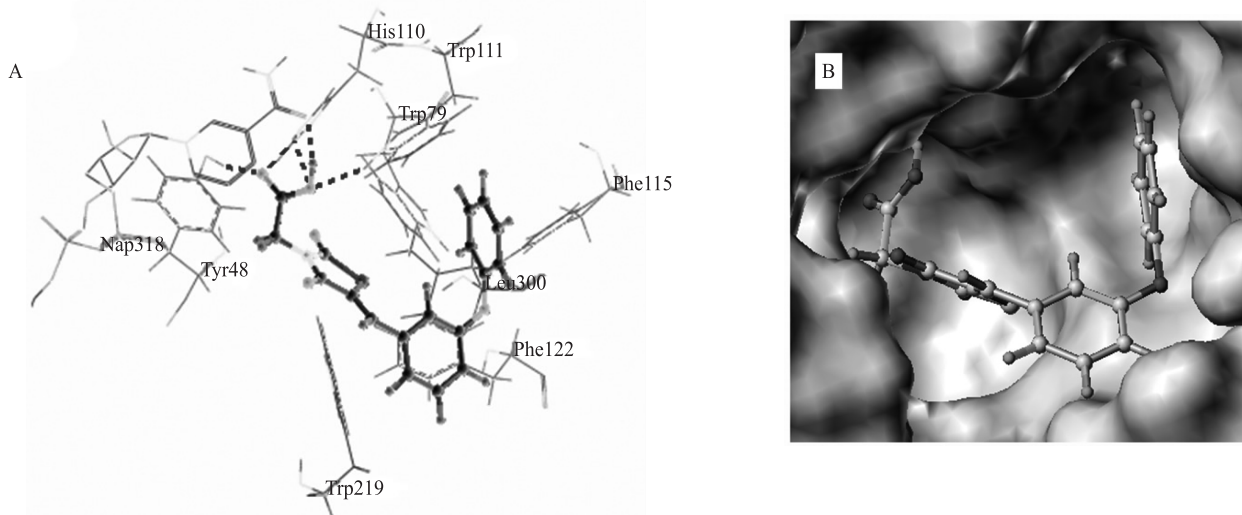


图 6 (A)化合物 25 与 ARL2 受体对接后在受体结合腔中的示意图;(B)ALR2 受体与化合物 25 结合位点的溶剂化表面

Fig.6 (A)Docked conformation derived for compound 25 with the binding site of ALR2;(B)Docked conformation of compound 25 within the binding pocket solvent accessible surface area

3 结论

本文基于三种叠合规则采用基于配体和受体的 CoMFA 和 CoMSIA 分析方法研究了 45 种 2,4-噻唑烷二酮类醛糖还原酶抑制剂结构与活性之间的关系,基于相同骨架结构分子叠合的 3D-QSAR 模型其模型质量优于其他模型. CoMFA 模型(只考虑立体场和静电场)表明:相对于静电场,立体场对化合物的活性贡献更大;而综合采用立体场、静电场、疏水场、氢键的供体场和受体场的 CoMSIA 模型的研究结果表明氢键的供体场对化合物抑制活性的贡献最大.分子对接研究表明 N-3 位点处乙酸链上的 $-\text{COOH}$ 基团与受体结合腔中的残基 Tyr48、His110、Trp111 和 Nap318 形成氢键相互作用. 3 号位点取代基位于深的且狭窄的疏水性结合腔中,与残基 Trp79、Trp111、Phe115 和 Leu300 形成疏水性相互作用. 3D-QSAR 模型结合分子对接研究有助于理解化合物抑制活性的分子机理及影响化合物抑制活性的分子结构特征:(1)在 N-3 位点中等体积具有极性的取代基可作为氢键的供体和受体,这对化合物的抑制活性至关重要;(2)在 3 号位点处体积大的疏水性取代基或稠环取代 5-亚芳香烃基的苯环都有利于提高化合物的抑制活性;(3)在 4 号位点处体积小且正电性的取代基对化合物的抑制活性有利.

[参考文献]

- [1] Pfeifer M A, Schumer M P. Clinical trials of diabetic neuropathy: past, present, and future[J]. Diabetes, 1995, 44: 1 355-1 361.
- [2] Williamson J R, Ostrow E, Eades D, et al. Glucose-induced microvascular functional changes in nondiabetic rats are stereo-specific and are prevented by an aldose reductase inhibitor[J]. J Clin Invest, 1990, 85: 1 167-1 172.
- [3] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications[J]. Nature, 2001, 414: 813-820.
- [4] Oyama T, Miyasita Y, Watanabe H, et al. The role of polyol pathway in high glucose-induced endothelial cell damages[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2006, 73: 227-234.
- [5] Costantino L, Rastelli G, Vianello P, et al. Diabetes complications and their potential prevention: aldose reductase inhibition and other approaches. Diabetes Complications and Potential Prevention[J]. Med Res Rev, 1999, 19: 3-22.
- [6] Kador P F. The role of aldose reductase in the development of diabetic complications[J]. Med Res Rev, 1988, 8: 325-352.
- [7] Kador P F, Kinoshita J H, Sharpless N J. Aldose reductase inhibitors: a potential new class of agents for the pharmacological control of certain diabetic complications[J]. J Med Chem, 1985, 28: 841-849.
- [8] Sarges R, Oates P J. Aldose reductase inhibitors: recent developments[J]. Prog Drug Res, 1993, 40: 99-161.
- [9] Costantino L, Rastelli G, Cignarella G, et al. New aldose reductase inhibitors as potential agents for the prevention of long-term diabetic complications[J]. Exp Opin Ther Patents, 1997, 7: 843-858.
- [10] Larson E R, Lipinski C A, Sarges R. Medicinal chemistry of aldose reductase inhibitors[J]. Med Res Rev, 1988, 8: 159-186.
- [11] Costantino L, Rastelli G, Gamberoni M C, et al. Pharmacological approaches to the treatment of diabetic complications[J]. Exp Opin Ther Patents, 2000, 10: 1 245-1 262.
- [12] Fresneau P, Cussac M, Morand J, et al. Synthesis, activity, and molecular modeling of new 2,4-dioxo-5-(naphthylmethylene)-3-thiazolidineacetic acids and 2-thioxo analogues as potent aldose reductase inhibitors[J]. J Med Chem, 1998, 41: 4 706-4 715.
- [13] Sohda T, Mizuno K, Imamiya E, et al. Studies on antidiabetic agents. II. Synthesis of 5-[4-(1-methylcyclohexyl-methoxy)benzyl]thiazolidine-2,4-dione(ADD-3878) and its derivatives[J]. Chem Pharm Bull, 1982, 30: 3 580-3 600.
- [14] Zask A, Jirkovsky I, Nowicki J W, et al. Synthesis and antihyperglycemic activity of novel 5-(naphthalenylsulfonyl)-2,4-thiazolidinediones[J]. J Med Chem, 1990, 33: 1 418-1 423.
- [15] Momose Y, Meguro K, Ikeda H, et al. Studies on antidiabetic agents. X. Synthesis and biological activities of pioglitazone and related compounds[J]. Chem Pharm Bull, 1991, 39: 1 440-1 445.
- [16] Bruno G, Costantino L, Curinga C, et al. Synthesis and aldose reductase inhibitory activity of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones[J]. Bioorg Med Chem, 2002, 10: 1 077-1 084.
- [17] Maccari R, Ottana R, Curinga C, et al. Structure-activity relationships and molecular modelling of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones active as aldose reductase inhibitors[J]. Bioorg Med Chem, 2005, 13: 2 809-2 823.
- [18] Maccari R, Ottana R, Ciurleo R, et al. Evaluation of in vitro aldose reductase inhibitory activity of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17: 3 886-3 893.
- [19] Sambasivarao S V, Soni L K, Gupta A K, et al. Quantitative structure-activity analysis of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones as aldose reductase inhibitors[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16: 512-520.
- [20] Cramer III R D, Patterson D E, Bunce J D. Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins[J]. J Am Chem Soc, 1988, 110: 5 959-5 967.
- [21] Klebe G, Abraham U, Mietzner T. Molecular similarity indices in a comparative analysis (CoMSIA) of drug molecules to correlate and predict their biological activity[J]. J Med Chem, 1994, 37: 4 130-4 146.
- [22] Tripos Associates. Sybyl Version 7.3[M]. St. Louis: Tripos Associates, 2006.
- [23] Clark M, Cramer III R D, Opdenbosch N V. Validation of the general-purpose TRIPOS 5.2 force field[J]. J Comput Chem, 1989, 10: 982-1 012.
- [24] Gasteiger J, Marsilli M. Iterative partial equalization of orbital electronegativity—a rapid access to atomic charges[J]. Tetrahedron, 1980, 36: 3 219-3 228.
- [25] Jain A N. Surflex: fully automatic flexible molecular docking using a molecular similarity-based search engine[J]. J Med Chem, 2003, 46: 499-511.
- [26] Weiner S J, Kollman P A, Case D A, et al. A new force field for molecular mechanical simulation of nucleic acids and proteins[J]. J Am Chem Soc, 1984, 106: 765-784.
- [27] Wold S, Ruhe A, Wold H, et al. The covariance problem in linear regression. The partial least squares (PLS) approach to generalized inverses[J]. SIAM J Sci Stat Comput, 1984, 5: 735-743.
- [28] Wold S. Cross validity estimation of the number of components in factor and principal components models[J]. Technometrics, 1978, 4: 397-405.

[责任编辑:顾晓天]