

文章编号:1004-4736(2008)02-0018-06

## 三卦二环辛烷类及相关化合物的 CoMFA 研究

许凌风<sup>1</sup>, 郝艳丽<sup>2</sup>, 巨修练<sup>2\*</sup>

(1. 湖北省农药检定管理所, 湖北 武汉 430070;

2. 武汉工程大学化工与制药学院, 湖北省新型反应器与绿色化学工艺重点实验室, 湖北 武汉 430074)

**摘要:**为了更好地了解昆虫与哺乳动物 GABA 受体非竞争性拮抗剂印防己苦毒素位点的结构信息, 采用比较分子场分析方法(CoMFA)研究了 GABA 受体非竞争性拮抗剂三卦二环辛烷类及相关化合物的三维定量构效关系, 针对家蝇和大鼠 GABA 受体, 分别得到 CoMFA 模型的交叉验证相关系数  $q^2$  为 0.540 和 0.738, 非交叉验证相关系数  $r^2$  为 0.999 和 0.924。CoMFA 结果表明, 家蝇与小鼠 GABA 受体存在一定的异同点, 三卦二环辛烷 1 位取代基的体积和负电性增加不利于化合物对家蝇 GABA 受体活性的提高, 而三卦二环辛烷 4 位取代基体积和正电性的增加有利于化合物对小鼠 GABA 受体活性的提高。

**关键词:** GABA 受体; 拮抗剂; 三维定量构效关系研究; 比较分子场分析方法

中图分类号: O 641

文献标识码: A

### 0 引言

$\gamma$  氨基丁酸(GABA)是中枢神经系统(central nervous system, CNS)内重要的抑制性递质, 在脊椎动物和无脊椎动物 CNS 中抑制性传导主要通过 GABA 受体获得, 配体通过与 GABA 受体相应位点结合, 改变受体的构象, 最终调节  $\text{Cl}^-$  通道中的  $\text{Cl}^-$  流量, 增强或减弱 GABA 作用于受体的效能。哺乳动物 GABA 受体主要分为离子型( $\text{GABA}_A$  和  $\text{GABA}_C$ )和代谢型( $\text{GABA}_B$ ), 而在昆虫中目前还没有这样的分类, 但存在相似但药理学特性不同的 GABA 受体。由于该受体是一种横跨膜糖蛋白, 分离非常困难, 通过 cDNA 克隆、体外重组研究表明, 受体亚基的组成影响该受体的药理学及电生理学性质<sup>[1,2]</sup>。我们在研究双环硫化磷酸酯类化合物的过程中发现, 在该类化合物的 3 位引入一个适当的烷基, 可提高它的选择活性( $\text{LC}_{50}$  rat/ $\text{LC}_{50}$  housefly) 高达 50 倍以上, 但是,  $\text{GABA}_A$  受体非竞争性拮抗剂与受体结合的作用机制还不十分清楚。目前研究发现,  $\text{GABA}_A$  受体的作用位点除 GABA 位点外, 还包括安定类、巴比妥类、神经固醇类和印防己毒素(picrotoxinin, PIC)位点等。文中涉及到的三卦二环辛烷类(trioxabicyclooctanes)及其类似物就被认为作用于 PIC 位点<sup>[3]</sup>, 它是一类高效的  $\text{GABA}_A$  受体门控氯离子通道拮抗剂, 具有较高的杀虫活性。本文通过对作用于家蝇和小鼠 GABA 受体的配体小分子进行构效关系研究, 以期得到较好

的 CoMFA 模型, 并对受体结构进行推测, 分析结构与活性的关系, 进而指导新化合物的合成。同时分别针对昆虫(家蝇)和哺乳动物(小鼠)GABA 受体进行了比较研究, 发现了二者结构的差异性, 为开发高效、安全的杀虫剂提供理论依据。

### 1 材料与方法

本文对一系列三卦二环辛烷类及其类似物烷基取代的二噻类等化合物共 93 个分子进行了 CoMFA 研究。化合物对家蝇及小鼠 GABA 受体的离体(in vitro)活性实验数据主要来源于 John E Casida<sup>[2,6]</sup> 研究小组, 所有化合物的活性测定方法相同<sup>[7-12]</sup>, 具有可比性。虽然文献[2]已经指出 [ $^{35}\text{S}$ ]TBPS 能很好地作用于小鼠受体而与家蝇受体的作用较弱, 这也是为什么本文中作用于前者的化合物可以收集到 80 个, 而作用于后者的化合物只收集到 13 个。

所有计算工作都是在基于 Linux 平台的 sybyl 7.0 软件(Tripos Inc.)<sup>[13]</sup>上完成的, 计算中如未经特别指明, 各参数均选用默认值。先将文献中的活性数据单位(以 nM 为单位)转换为 M, 再取其负对数值, 即  $\text{pIC}_{50}$ 。

确定活性构象是进行 CoMFA 研究的关键, 在受体及复合物单晶结构未知的情况下, 通常采用分子的最低能量构象作为其活性构象<sup>[14]</sup>。作者首先采用 Random Search 方法对所有分子进行全局低能构象搜索, 在此基础上采用基于半经验量

收稿日期: 2007-09-17

作者简介: 许凌风(1968-), 湖北仙桃人, 农艺师, 研究方向: 植物保护。\* 通讯联系人

子化学的 MOPAC 模块中的 PM3 方法进行优化,并加载 MOPAC 电荷。

分子叠合同样对建立三维构效关系模型有着重要影响。通常根据一定规则(如基于公共骨架的叠合、基于能量场的叠合、基于惯性距的叠合、基于药效团的叠合及基于复合物结构的叠合<sup>[14]</sup>等)

进行分子叠合,使每个分子采取具有最大力场相似性的空间取向进行力场计算。本文以各组化合物中活性最高的分子为模板,使用 Fit atom 方法以分子最大的相似骨架进行叠合。在此基础上,我们对这些分子进行了 CoMFA 研究,CoMFA 计算的所有参数均使用默认值。

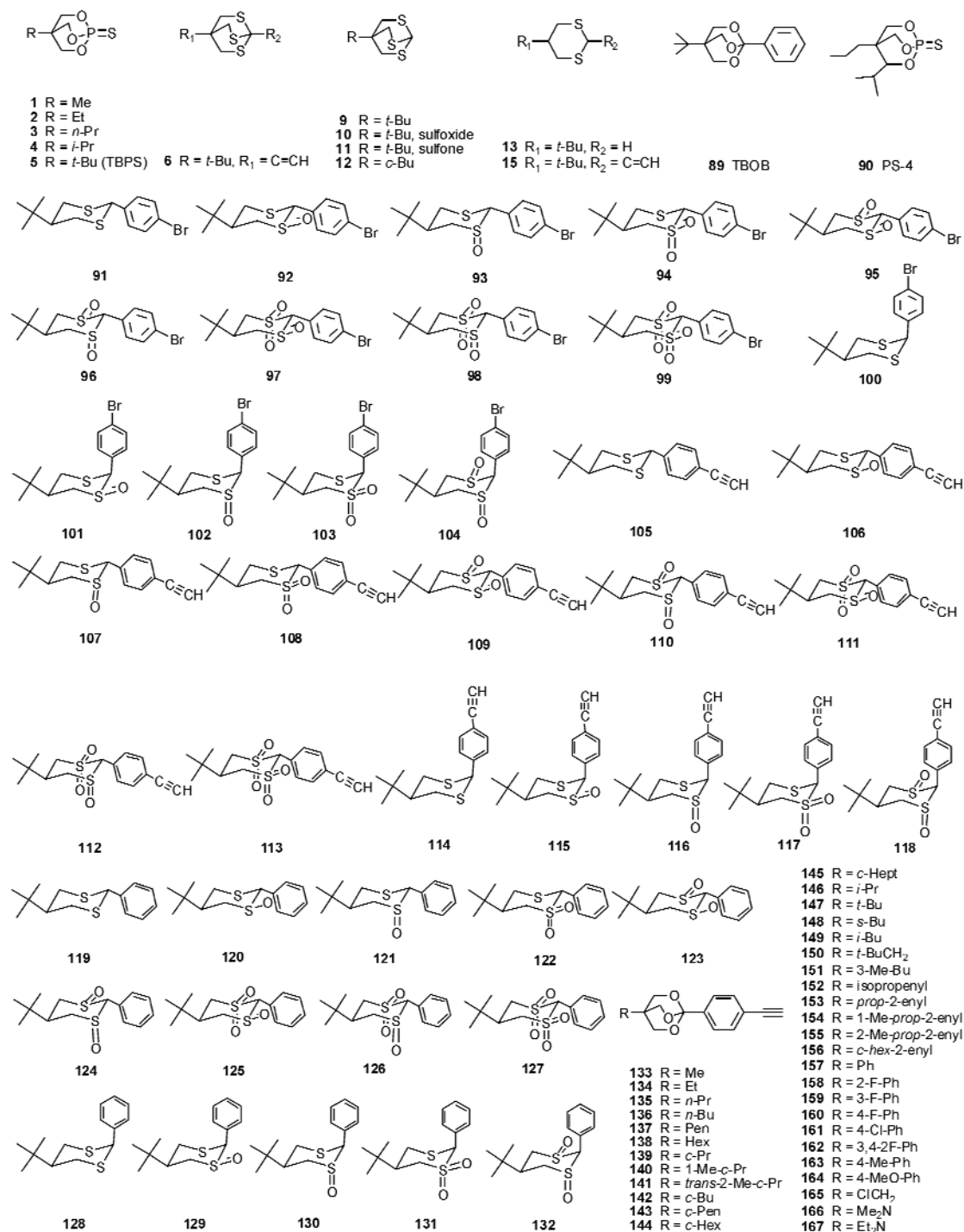


图 1 所选化合物结构

Fig. 1 Structures of selected compounds

## 2 结果与讨论

CoMFA 分析分别针对家蝇和大鼠两类 GABA

受体,为了讨论的方便,分别记作 CoMFA\_Fly 和 CoMFA\_Rat。计算中均设训练集和预测集两部分,分别以高活性化合物 20 和 142 为模板分子,

CoMFA\_Fly 共使用了 11 个分子(化合物 12 和 13 没有参与 CoMFA 分析),化合物数目有限,不设预测集;CoMFA\_Rat 共使用了 80 个分子,其中训练集 70 个,预测集 10 个. 虽然通常情况下,训练集分子数目是预测集分子数目的两倍左右,但由于本文所涉及的分子结构多样,所以预测集分子的选择依据是使分子的结构和活性值尽量分布广泛. 化合物的结构见图 1,生物活性数据如表 1 所示.

表 1 化合物对家蝇 GABA 受体的生物活性

Table 1 Biological activities of compounds for housefly GABA receptor

Comp.	Housefly	pIC 50	$\Delta$
	Act.	Pred.	
1	4.15	4.15	-0.00
2	5.02	5.11	0.01
3	5.42	5.42	0.00
4	6.28	6.27	0.01
5	6.70	6.72	-0.02
6	6.24	6.25	-0.01
8	5.40	5.40	0.00
9	6.63	6.61	0.02
10	5.43	5.47	-0.04
11	5.55	5.53	0.02
15	5.99	6.00	0.01

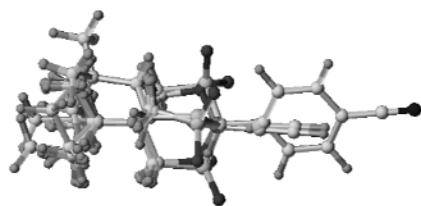


图 1 CoMFA\_Fly 训练集化合物的叠合

Fig. 1 Alignment of compounds in CoMFA\_Fly training set

## 2.1 CoMFA 计算结果

图 1 和图 2 分别是 CoMFA\_Fly 模型和 CoMFA\_Rat 模型训练集分子的叠合结果. 表 1 和 2 列出了这两个 CoMFA 模型的计算结果, CoMFA\_Fly 的  $q^2$  为 0.540 > 0.5 (一般情况下,  $q^2$  > 0.5 表明模型具有实用意义),  $r^2$  为 0.999,  $s$  为 0.030. CoMFA\_Rat 的  $q^2$  为 0.738,  $r^2$  为 0.924,  $s$  为 0.356. 以上数据表明两模型的拟合能力均较好,这一点也可以从图 3 和 4 中两模型训练集分子试验活性值和预报值的关系得出. 但是从表 2 预测集分子的偏差分析, CoMFA\_Rat 模型的预报结果不理想: 化合物 91、106、118、137、160 的试验值与预报值的偏差均较大. 另外, 两模型中立体场的贡献(分别是 0.735 和 0.544)大于静电场的贡献(分别是 0.265 和 0.456), 表明配体与受体间立体相互作用可能是更重要的作用方式.

表 2 化合物对大鼠 GABA 受体的生物活性

Table 2 Biological activities of compounds for rat GABA receptor

Com.	Rat	pIC 50	$\Delta$
	Act.	Pred.	
5	7.35	7.56	0.21
89	7.44	7.12	0.32
90	5.51	5.54	0.09
* 91	6.50	7.74	-1.24
92	7.47	7.44	0.03
93	6.90	7.31	-0.41
94	8.40	8.20	0.20
95	6.65	6.38	0.27
96	6.41	6.52	-0.11
97	7.74	7.55	0.19
98	6.92	7.35	-0.43
* 99	8.52	8.26	0.26
100	6.54	6.96	-0.42
101	6.88	6.49	0.39
102	7.82	7.93	-0.11
103	8.52	8.16	0.36
104	6.39	5.93	0.46
105	8.40	8.01	0.39
* 106	9.00	7.38	1.62
107	8.40	8.29	0.11
108	9.00	9.11	0.11
109	7.10	7.27	-0.17
110	7.17	7.19	-0.02
111	9.00	8.33	0.67
112	7.36	8.08	-0.72
113	8.70	8.98	0.28
114	8.10	7.90	0.20
115	7.92	7.72	0.20
116	9.00	8.71	0.29
117	9.00	8.94	0.06
* 118	7.54	6.41	1.13
119	6.55	6.75	-0.20
120	6.41	5.89	0.52
121	5.65	5.78	-0.13
122	6.78	6.59	0.19
123	4.32	4.78	-0.46
124	5.13	4.70	0.43
125	6.27	5.83	0.44
126	5.77	5.60	0.17
* 127	6.24	6.39	0.15
128	5.81	5.94	-0.13
129	5.61	5.94	-0.33
130	6.29	6.90	-0.61
* 131	6.88	7.35	-0.47
132	4.73	5.18	0.45
133	6.70	7.07	-0.37
134	7.49	7.80	-0.31
135	8.70	8.52	0.18
136	8.30	8.17	0.13
* 137	7.47	6.14	1.35
138	5.89	5.50	0.39
139	9.00	8.62	0.38
140	8.52	9.12	-0.60
141	8.70	8.75	-0.05
142	9.40	9.10	0.30
143	8.70	8.88	-0.18
144	9.00	8.59	0.41
145	8.10	8.30	-0.20

Com.	Rat	pIC <sub>50</sub>		$\Delta$
	Act.	Pred.		
146	9.00	8.88	0.12	
147	9.00	9.22	-0.22	
* 148	9.00	9.08	-0.08	
149	9.00	8.72	0.28	
150	9.00	8.90	0.10	
151	7.70	7.88	-0.18	
152	9.00	8.66	0.34	
153	8.00	7.97	0.03	
154	9.00	9.25	-0.25	
* 155	8.40	8.32	0.08	
156	8.70	8.42	0.28	
157	8.70	8.30	0.40	
158	8.10	8.33	-0.23	
159	8.52	8.32	0.20	
* 160	9.00	8.07	0.93	
161	7.82	7.62	0.20	
162	8.70	8.16	0.54	
163	6.89	7.46	0.57	
164	6.12	6.65	-0.53	
165	7.07	7.26	-0.19	
166	7.62	8.02	-0.40	
167	8.10	8.76	-0.66	

注:其中加\*的化合物为预测集分子,其余为训练集分子。

表3 两组 CoMFA 模型结果的统计学参数比较

Table 3 Statistic parameters of two CoMFA models

Model	N	$q^2$	n	$r^2$	s	F	S.	E.
CoMFA_Fly	11	0.540	6	0.999	0.030	1051.677	0.735	0.265
CoMFA_Rat	70	0.738	6	0.924	0.356	128.211	0.544	0.456

注:N 训练集分子总数; $q^2$  交叉验证相关系数; $n$ —最佳主成分数; $r^2$ —非交叉验证相关系数; $s$ —标准偏差; $F$ —统计检验值; $S.$ —立体场贡献; $E.$ —静电场贡献。

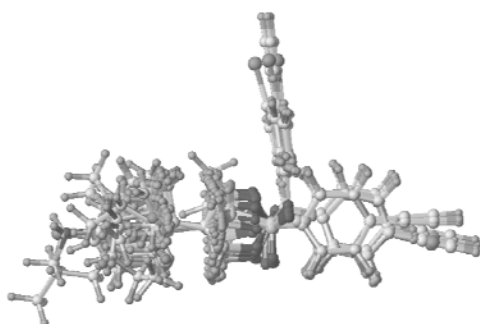


图2 CoMFA-Rat 训练集化合物的叠合

Fig. 2 Alignment of compounds in CoMFA-Rat training set

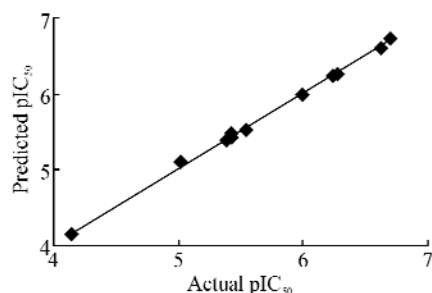


图3 CoMFA-Fly 实验值与预测值的对比

Fig. 3 Plot of predicted versus actual pIC<sub>50</sub> for CoMFA-Fly

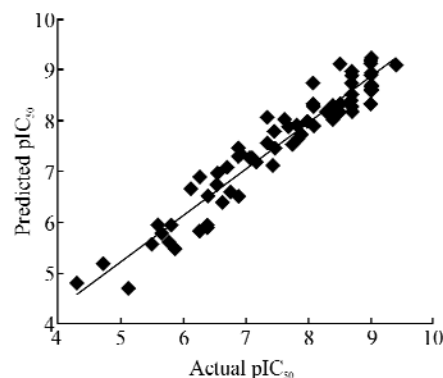


图4 CoMFA-Rat 实验值与预测值的对比

Fig. 4 Plot of predicted versus actual pIC<sub>50</sub> for CoMFA-Rat

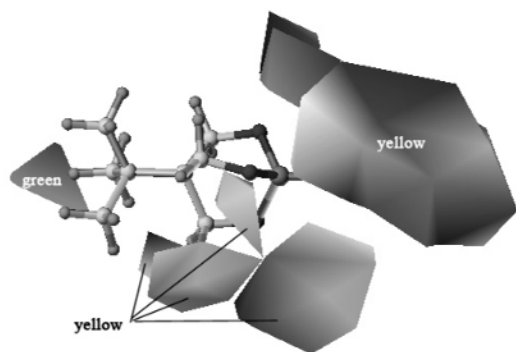
## 2.2 CoMFA 等势图

图5~6是两 CoMFA 模型立体场和静电场的等势图,为了使两等势图在空间取向上保持一致性,方便比较和分析分子场的信息,图中参考分子选取两组化合物中都有的化合物5。在图5(a)和6(a)中,绿色区域表示增加基团的体积有利于提高分子活性,黄色区域表示减小基团的体积有利于提高分子活性。从两图中不难看出 CoMFA-Fly 和 CoMFA-Rat 两模型提供了很多相同或相似的立体场信息。对两受体而言,双环负电性原子外围的黄色区域均表示此处减小取代基体积有利于提高化合物活性;图中绿色区域(对于含苯环的化合物来说,即苯环4位取代基附近)表示此处增加取代基体积有利于提高化合物活性,如:24>23>22>21、20>19>18、106>92>120、107>93>121等就支持这一结论。对家蝇受体而言,双环1位取代基处的黄色区域亦表示此处减小取代基体积有利于提高化合物活性;对大鼠受体而言,双环4位外围的黄色区域表示此处减小取代基体积有利于提高化合物活性,如:135>136>137>138、142>144>145等明显支持这一结论,另外值得注意的是,双环4位附近还存在一小块绿色区域,表明当双环(或嘧啶环)4位上的取代基较小或支链较短时,一定程度上增加取代基的体积或延长支链长度将有利于提高化合物的活性,如:135>134>133、167>166等就支持这一结论。在图5(b)和6(b)中,红色区域表示增加负电荷基团有利于提高化合物活性,蓝色区域表示增加正电荷基团有利于提高化合物活性。从两图中不难看出 CoMFA-Fly 和 CoMFA-Rat 两模型提供的静电场信息存在较大的差异。对家蝇受体而言,双环1位取代基处的蓝色区域表示此处增加正电荷基团有利于提高化合物活性,如:化合物1、2、3、4、5活性都不太高,另外蓝色区域延伸至双环下方,表明此处增加

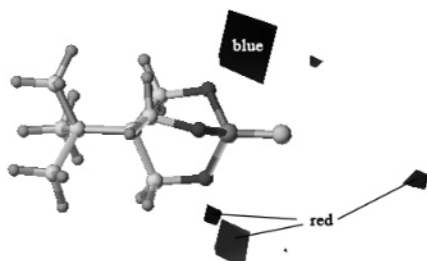


负电原子不利于活性的提高,如:11<9. 对大鼠受体而言,双环负电原子外围的红色区域表示此处增加取代基的电负性将有利于提高化合物的生物活性,如:92>91、99>98>96 等都支持这一结论. 图中右侧的蓝色区域(对于含苯环的化合物来说,即苯环 4 位取代基附近)表示苯环 4 位上亲正电性基团,如:105>91、106>92 等支持这一结论,双环负电原子外围的蓝色区域表明向后水平方向引入氧负原子不利于化合物活性的提高,如:95<92、118<116、132<130 等支持这一结论,双环 4 位附近的蓝色区域亦表示减小取代基的负电性将有利于提高化合物的活性,如:134>165、157>159 等均支持这一结论.

综上所述,双环上负电荷原子及苯环 4 位取代基的选取与化合物的活性高低密切相关,同时双环 1 位及 4 位取代基的变化与化合物的选择性密切相关. 所以,利用本文所得到的分子场信息,结合参考分子,可以推测减小双环 4 位和 1 位取代基的体积及减小 1 位取代基的负电性可以有效提高化合物作用于家蝇和大鼠 GABA 受体的选择性,如在双环 1 位上选取一个比叔丁基更小的取代基,将苯环这一取代基以负电性较弱的基团或正电性较强的基团取代,可能会提高化合物的选择性.

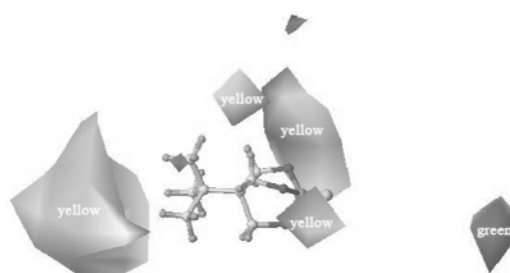


(a) CoMFA\_Fly 立体场等势图

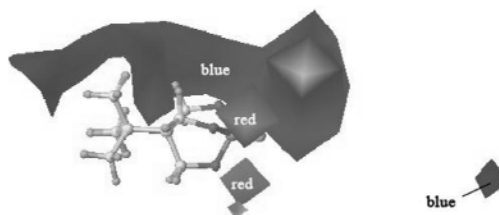


(b) CoMFA\_Fly 静电场等势图

图 5 CoMFA\_Fly 的立体场等势图与静电场等势图  
Fig. 5 The steric contour plot and the electrostatic contour plot of CoMFA\_Fly with compound 5



(a) CoMFA\_Rat 立体场等势图



(b) CoMFA\_Rat 静电场等势图

图 6 CoMFA\_Rat 立体场等势图与静电场等势图  
Fig. 6 The steric contour plot and the electrostatic contour plot of CoMFA\_Rat with compound 5

### 3 结 语

结合文献[1]中提出的非竞争性 GABA<sub>A</sub> 受体拮抗剂结合部位的模型及本文得出的 CoMFA 模型的立体场和静电场信息,可以直观地看出配体周围分子场的信息具有以下一些异同点:对两受体而言,双环 4 位取代基链增长或体积增加都有利于活性的提高;对于家蝇 GABA 受体,双环 1 位取代基体积和电负性的增加不利于化合物活性的提高,而对大鼠 GABA 受体,双环 4 位存在较大取代基,活性较高,这已被实验证实,如:4-叔丁基双环硫化磷酸酯对大鼠 GABA<sub>A</sub> 受体亲和性较高,而对家蝇较低. 以上结论,为设计高活性及高选择性的 GABA 受体抑制剂提供了依据.

#### 参考文献:

- [1] Mary C, Grham A R. GABA-activated ligand gated ion channels: medicinal chemistry and molecular biology [J]. J Med Chem, 2000, 43: 1427-1447.
- [2] Deng Y L, Palmer C J, Casida J E. House fly head GABA-gated chloride channel: four putative insecticide binding sites differentiated by [<sup>3</sup>H]EBOB and [<sup>35</sup>S]TBPS [J]. Pestic Biochem Physiol, 1993, 47: 98-112.
- [3] Smith I II, Budd T C, Sills J, et al. Insecticidal 1-(alkynylalkyl)-3-cyano-2,6,7-trioxabicyclo[2.2.2]octanes [J]. J Agric Food Chem, 1993, 41: 1114-1117.
- [4] Gant D B, Chalmers A E, Wolff M A, et al. Fipronil: action at the GABA receptor [J]. Review

- in Toxicology, 1998, 2: 147-156.
- [5] Wachter V J, Toia R F, Casida J E. 2-Aryl-5-butyl-1, 3-dithianes and their S-oxidation products: structure-activity relationships of potent insecticides acting at the GABA-gated chloride channel [J]. J Agric Food Chem, 1992, 40: 497-505.
- [6] Palmer C J, Cole L M, Larkin J P, et al. 1-(4-Ethynylphenyl)-4-substituted-2, 6, 7-trioxabicyclo [2. 2. 2]octanes; effect of 4-substituent on toxicity to houseflies and mice and potency at the GABA-gated chloride channel [J]. J Agric Food Chem, 1991, 39: 1329-1334.
- [7] Cohen E, Casida J E. Effect of insecticides and GABAergic agents on a house fly [<sup>35</sup>S] t-butylbicyclo phosphorothionate binding site [J]. Pestic Biochem Physiol, 1986, 25: 63-72.
- [8] Cohen E, Casida J E. Chlorocyclohexane insecticides and male medfly attractants: similar stereospecificity for neuroactivity and interactions with a housefly [<sup>35</sup>S] t-butylbicyclophosphorothionate binding site [J]. Life Sci, 1985, 36: 1837-1842.
- [9] Olsen R W, Szamraj O, Miller T. t- [<sup>35</sup>S] Butylbicyclophosphorothionate binding sites in invertebrate tissues [J]. J Neurochem, 1989, 52: 1311-1318.
- [10] Anthony N M, Benner E A, Rauh J J, et al. GABA receptors of insects susceptible and resistant to cyclodiene insecticides [J]. Pestic Sci, 1991, 33: 223-230.
- [11] Anthony N M, Benner E A, Rauh J J, et al. [<sup>35</sup>S] t-Butylbicyclophosphorothionate binding sites in susceptible and cyclodiene-resistant houseflies [J]. Neurochem Int, 1992, 21: 215.
- [12] Gant D B, Bloomquist J R, Ayad H M, et al. A comparison of mammalian and insect GABA receptor chloride channels [J]. Pestic Sci, 1990, 30: 335-340.
- [13] SYBYL v7. 0, Tripos Inc., 1699 South Hanley Road, St. Louis, MO 63144, USA.
- [14] Hou T J, Xu X J. Recent progress in comparative molecular field analysis [J]. Progress in Chem (化学进展), 2001, 13(6): 436-440.

## CoMFA study on trioxabicyclooctanes and its analogs

XU Ling-feng<sup>1</sup>, HAO Yan-li<sup>2</sup>, JU Xiu-lian<sup>2\*</sup>

(1. Hubei Institute of Pesticide Administration, Wuhan 430070, China;

2. Hubei Key Laboratory of Novel Reactor and Green Chemical Technology, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430074, China)

**Abstract:** For better understanding the noncompetitive GABA antagonist picrotoxinin binding site of rat and housefly. Comparative molecular field analysis (CoMFA) was performed on a set of trioxabicyclooctanes and related analogs, the cross-validated correlation coefficient  $q^2 = 0.540$  and  $0.738$ , the non cross validated correlation coefficient  $r^2 = 0.999$  and  $0.924$  were obtained from two CoMFA models for housefly and rat GABA receptors respectively. The results of CoMFA indicated that the similar and different information existed in the housefly and rat GABA receptors, bulky and negative groups are disfavored at the 1-position of trioxabicyclooctanes for housefly GABA receptor while bulky and positive groups are favored at the 4 position of trioxabicyclooctanes for rat GABA receptor.

**Key words:** GABA<sub>A</sub> receptor; antagonist; three-dimensional quantitative structure-activity relationships (3D-QSAR); comparative molecular field analysis (CoMFA)

本文编辑:陈晓革