

基于受体结构的 AHAS 抑制剂的 设计、合成及生物活性

肖勇军, 王建国, 刘幸海, 李永红, 李正名

(南开大学元素有机化学研究所, 元素有机化学国家重点实验室, 天津 300071)

摘要 在 AHAS 与磺酰脲类除草剂复合物的晶体结构基础上, 利用分子对接程序 DOCK 4.0, 通过 MDL/ACD 三维数据库虚拟筛选, 得到了 296 个与 AHAS 结合能较低的小分子化合物结构信息, 从中选取了部分小分子进行化学合成, 并且测试了其生物活性. 部分化合物的体内和体外活性表现出一定的一致性.

关键词 乙酰乳酸合成酶(AHAS); 分子对接; 有机合成; 生物活性

中图分类号 O626

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2007)07-1280-03

乙酰乳酸合成酶(AHAS, EC2.2.2.6)是催化支链氨基酸生物合成的关键酶, 通过抑制酶的活性中断支链氨基酸的生物合成而使植物死亡, 达到除草目的^[1]. 人畜等温血动物自身不能合成支链氨基酸, 因此设计和研制结构新颖的 AHAS 抑制剂具有一定的理论和现实意义. 生物合成药物分子设计直接从作用对象出发, 研究靶酶的活性位点, 探索药物分子与靶酶之间的相互作用关系, 高效率地进行新药设计. Duggleby 等^[2~4]首次报道了来自酵母 AHAS 纯酶的晶体结构及其与氯嘧磺隆复合物以及拟南芥 AHAS 与氯嘧磺隆复合物的晶体结构, 为基于受体结构的除草剂分子设计提供了新的机遇. 在已报道的 AHAS 与磺酰脲类除草剂复合物的晶体结构基础上, 利用分子对接程序 DOCK 4.0^[5,6], 对 MDL/ACD-3D 有机化合物数据库进行虚拟筛选, 得到 296 个与 AHAS 结合能较低的小分子结构信息. 本文从中选取部分化合物(图 1)进行合成, 用生物等排等原则合成了部分类似物, 测试了其除草活性(*in vivo*)以及抑制酶的离体活性(*in vitro*), 以期从中找到活性较好的先导结构化合物.

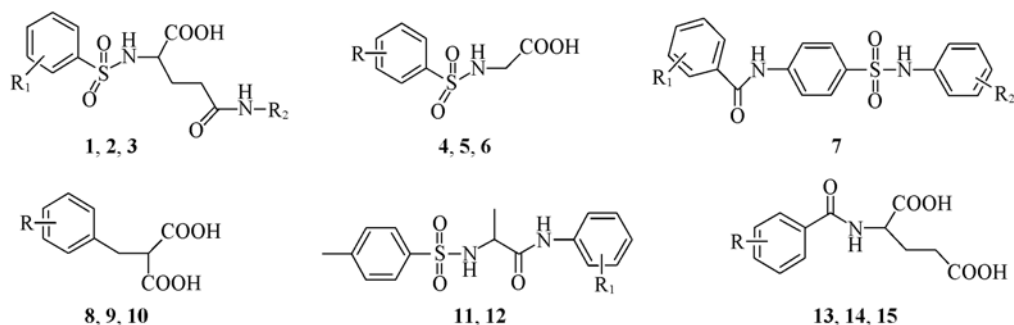


Fig. 1 Structures of the designed and synthesized compounds

1. R_1 : *p*-CH₃, R_2 : C₂H₅; 2. R_1 : H, R_2 : CH₃; 3. R_1 : *o*-NO₂, R_2 : CH(CH₃)₂; 4. R : *p*-CH₃; 5. R : H; 6. R : *m*-NO₂; 7. R_1 : *p*-NO₂, R_2 : *p*-CH₃; 8. R : *m*-Cl; 9. R : H; 10. R : *p*-CH₃; 11. R_1 : *m*-Cl; 12. R_1 : *p*-CH₃; 13. R : H; 14. R : 2,4-di-Cl; 15. R : *o*-CH₃.

1 实验部分

1.1 仪器、试剂及目标化合物合成

Bruker AV-300 MHz 核磁共振仪, Varian 400 MHz, TMS 为内标; Carlo Erba 1106 型元素分析仪; 北

收稿日期: 2006-08-03.

基金项目: 国家“九七三”计划项目(批准号: 2003CB114406)和国家自然科学基金(批准号: 20432010, 20602021)资助.

联系人简介: 李正名(1931年出生), 男, 教授, 博士生导师, 中国工程院院士, 主要从事农药化学与有机化学研究.

E-mail: nkzml@vip.163.com

京泰克 X-4 数字显示显微熔点仪. 所用试剂和原料均为分析纯或化学纯, 经常规方法处理.

目标化合物按照文献[7~15]方法合成, 部分新化合物的物化性质及核磁共振数据见表 1 和表 2.

1.2 化合物离体和活体活性的测定

用油菜平皿法和稗草小杯法^[16]测定了所设计化合物的除草活性, 按照 Singh 等^[17]方法测定了化合物抑制拟南芥 AHAS 酶的离体抑制活性.

2 结果与讨论

2.1 合成及波谱数据

在化合物 **1** 的 ¹H NMR(表 2)中, 1.87~1.74 和 1.67~1.57 两处的多重峰是与手性碳相连的亚甲基上 2 个 H 的吸收峰, 受手性碳上 H 原子影响, 它们的化学位移不同, 裂分成多重峰. 我们用 L-谷氨酸二乙酯与取代苯甲酰氯的方法合成化合物 **13**~**15**, 该反应在无水条件下进行, 避免了酰氯的水解.

Table 1 Physical data of the compounds synthesized

Compd.	m. p./°C (Ref.)	Yield (%)	Appearance	Compd.	m. p./°C (Ref.)	Yield (%)	Appearance
1	162—163 (160—162) ^[8]	71.3	White crystal	9	118—119 (120) ^[12]	69.8	White crystal
2	165—167 (161—163) ^[8]	87.3	White crystal	10	121—123 (162.5—163.5) ^[13]	58.6	White crystal
3	158—160	47.9	White crystal	11	144—146	76.5	White crystal
4	135—137 (149—150) ^[9]	56.3	White crystal	12	224—226 (174—175) ^[14]	72.9	White crystal
5	167—169 (167—169) ^[9]	70.6	White crystal	13	138—140 (130—132) ^[15]	74.6	White crystal
6	136—138 (147—148) ^[10]	42.2	White crystal	14	134—135	67.8	White crystal
7	271—273	47.3	White crystal	15	107—109	46.7	White crystal
8	102—103 (98—99) ^[11]	49.9	White crystal				

Table 2 ¹H NMR data of compounds **3**, **11**, **15** (DMSO-d₆)

Compd.	¹ H NMR, δ
3	8.04—7.81 (m, 4H, ArH), 3.90 (m, 1H, NHCHCH ₂), 3.84—3.74 [m, 1H, NHCH(CH ₃) ₂], 2.12 (m, 2H, CH ₂ CH ₂ CO), 2.04—1.91 (m, 1H, NHCHCH ₂), 1.85—1.70 (m, 1H, NHCHCH ₂), 1.01 [d, 6H, J=6.0 Hz, CH(CH ₃) ₂]
11	8.26 (br, 1H, CONH), 7.76 (d, 2H, J=8.1 Hz, ArHCH ₃), 7.58 (s, 1H, ArHCl), 7.35 (d, 2H, J=8.1 Hz, ArHCH ₃), 7.31—7.10 (m, 3H, ArHCl), 5.46 (s, 1H, SO ₂ NH), 3.92—3.88 (m, 1H, CHCH ₃), 2.39 (s, 3H, ArCH ₃), 1.30 (d, 3H, J=7.1 Hz, CHCH ₃)
15	7.70 (d, 1H, J=8.8 Hz, CONH), 7.42—7.17 (m, 4H, ArHCO), 4.53—4.48 (m, 1H, NHCHCH ₂), 2.49 (t, 2H, J=7.3 Hz, CH ₂ CO ₂ H), 2.26 (s, 3H, CH ₃ Ar), 2.20—2.15 (m, 1H, NHCHCH ₂), 2.04—1.96 (m, 1H, NHCHCH ₂)

2.2 生物活性

生物活性结果(表 3)表明, 部分化合物的活体和离体活性一致. 如化合物 **6** 在 100 和 10 μg/mL 浓度下, 对稗草地上部分的抑制率分别为 79.6% 和 70.4%; 在 100 μg/mL 浓度下, 对 AHAS 抑制率为 57.8%. 化合物 **11** 在 100 和 10 μg/mL 浓度下, 对油菜胚根生长抑制率分别为 82.6% 和 63.2%; 在 100 μg/mL 浓度下, 对 AHAS 抑制率为 51.3%. 部分化合物具有较好的除草活性, 同时对 AHAS 也有一定的抑制作用. 如化合物 **14** 在 100 和 10 μg/mL 浓度下, 对稗草地上部分的抑制率分别为 99.0% 和

Table 3 Bioactivities of compounds *in vivo* and *in vitro*

Compd.	<i>Echinochloa crusgalli</i> cup test		<i>Brassica campestris</i> root test		AHAS	Compd.	<i>Echinochloa crusgalli</i> cup test		<i>Brassica campestris</i> root test		AHAS
	10 μg/mL	100 μg/mL	10 μg/mL	100 μg/mL			100 μg/mL	10 μg/mL	100 μg/mL	100 μg/mL	
1	0	0	0	0	0	9	15.0	0	15.1	0	25.0
2	31.2	7.4	15.9	5.0	0	10	29.1	0	59.6	3.4	0
3	0	0	3.0	0	30.3	11	0	0	82.6	63.2	51.3
4	18.8	0	0	0	0	12	22.0	15.1	41.0	11.6	0
5	16.6	0	7.1	0	38.6	13	0	0	38.4	0	28.1
6	79.6	70.4	32.0	0	57.8	14	0	0	99.0	43.3	26.5
7	40.2	21.5	1.5	0	74.1	15	32.8	18.8	83.4	18.1	0
8	28.1	0	63.3	0	10.3						

43.3%；在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下，对 AHAS 抑制率为 24.5%。化合物 **8** 在 100 和 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下，对稗草地上部分的抑制率分别为 77.0% 和 74.5%；在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下，对 AHAS 抑制率为 33%。个别化合物对 AHAS 具有较好的抑制作用，但除草活性一般。如化合物 **7** 在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下，对 AHAS 抑制率为 74.1%；在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下，对稗草地上部分的抑制率为 40.2%，在 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下，活性更差。个别化合物具有较好的除草活性，对 AHAS 无抑制作用。如在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下，化合物 **15** 对油菜胚根生长抑制率为 83.4%，对 AHAS 的抑制率却为零。

通过化合物活体和离体活性的比较，可以发现基于受体结构的分子设计具有一定的合理性。在此基础上完善分子对接模型，提高分子设计的成功率；还要考虑小分子从植物表皮到作用靶酶的传输、代谢等相关因素，化合物离体和活体活性表现出更好的一致性。

参 考 文 献

- [1] Hofgen R., Laber B., Schuttke I., *et al.*. Plant Physiol. [J], 1995, **107**: 469—477
- [2] Pang S. S., Duggelby R. G., Guddat L. W. J.. Mol. Biol. [J], 2002, **317**: 249—262
- [3] Pang S. S., Guddat L. W., Duggelby R. G.. J. Biol. Chem. [J], 2003, **278**(9): 7639—7644
- [4] McCourt J. A., Pang S. S., Scott J. K., *et al.*. PNAS[J], 2006, **103**(3): 569—573
- [5] Ewing T. J. A., Kuntz I. D.. J. Comput. Chem. [J], 1997, **18**(9): 1175—1189
- [6] Wang J. G., Xiao Y. J., Li Y. H., *et al.*. Bioorg. Med. Chem. [J], 2007, **15**(1): 374—380
- [7] Srikanth K., Kumar C. A., Ghosh B., *et al.*. Bioorg. Med. Chem. [J], 2002, **10**(7): 2119—2131
- [8] De A. U., Pandey J., Majumdar A.. Indian J. Chem. [J], 1982, **21B**: 481—483
- [9] Mahajan P. K., Patial V. P., Sharma P.. Indian J. Chem. [J], 2002, **41B**: 2635—2641
- [10] Gosh N. N., Majumder M. N.. J. Indian. Chem. Soc. [J], 1967, **44**: 115—117
- [11] Kenner J., Witham G.. J. Chem. Soc. [J], 1921, **119**: 1452—1461
- [12] Fexier F., Marchand E., Carrie R.. Tetrahedron [J], 1974, **30**: 3185—3192
- [13] Westfahl J. C., Gresham T. L.. J. Am. Chem. Soc. [J], 1954, **76**: 1076—1080
- [14] El-Naggar A. M., Ismail I. M., Gomoa A. M.. Egypt J. Chem. [J], 1980, **21**(4): 309—313
- [15] Fischer E.. Chem. Ber. [J], 1899, **32**: 2451
- [16] Wang B. L., Duggelby R. G., Li Z. M., *et al.*. Pest. Manag. Sci. [J], 2005, **61**: 407—412
- [17] Singh B. K., Stidham M. A., Shaner D. L.. Anal. Biochem. [J], 1988, **171**: 173—179

Molecular Design, Synthesis and Biological Activity Evaluation of Novel AHAS Inhibitors Based on Receptor Structure

XIAO Yong-Jun, WANG Jian-Guo, LIU Xing-Hai, LI Yong-Hong, LI Zheng-Ming*

(Elemento-Organic Chemistry Institute, State-Key Laboratory of Elemento-Organic Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract Based on the crystal structure of AHAS/sulfonylurea complex, 296 molecules were obtained with low binding energy towards AHAS from MDL/ACD 3D database *via* virtual screening with program Dock 4.0, from which some compounds were synthesized. The biological activities of the synthesized compounds were measured *in vitro* and *in vivo*. The preliminary bioassay indicates some compounds displayed a good herbicidal activity on rape and barnyardgrass and had AHAS inhibition to some extent. These studies indicate the rationality of molecular design based on the crystal structure of AHAS complex.

Keywords Acetohydroxyacid synthase(AHAS); Molecular docking; Organic synthesis; Biological activity
(Ed.: H, J, Z)