

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2022.12.007

基于 FDA 批准药物数据的新 胆碱酯酶抑制剂发现

周游¹, 薛鑫², 王磊³, 孙昊鹏³

1. 西南大学 蚕桑纺织与生物质科学学院, 重庆 400715;
2. 南京中医药大学 药学院, 南京 210023; 3. 中国药科大学 药学院, 南京 211198

摘要: 以中枢胆碱能假说为基础设计的胆碱酯酶抑制剂仍然是阿尔茨海默症临床治疗的首选策略之一, 目前仅有 4 个胆碱酯酶抑制剂进入临床, 因此新型胆碱酯酶抑制剂的发现十分迫切. 首先以药效团模型与分子对接, 对美国食品药品监督管理局(FDA)批准药物库进行虚拟筛选, 4 个药物(米托蒽醌、帕比司他、赖诺普利、赖斯丹明)被识别作为潜在的胆碱酯酶抑制剂. 基于血脑屏障渗透性预测与可获得性, 3 个药物被购买进行体外活性验证. 结果显示: 抗肿瘤药物米托蒽醌具有有效的乙酰胆碱酯酶抑制活性($IC_{50} = 0.85 \mu\text{mol/L}$)以及丁酰胆碱酯酶抑制活性($IC_{50} = 6.45 \mu\text{mol/L}$). 考虑到上市药物具有适宜的理化性质及良好的安全性, 研究为接下来设计高活性、高成药性胆碱酯酶抑制剂提供了理想的研究起点.

关键词: 阿尔茨海默症; 胆碱酯酶; 虚拟筛选; 米托蒽醌

中图分类号: Q503; R914 **文献标志码:** A

文章编号: 1673-9868(2022)12-0060-10

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Discovery of New Cholinesterase Inhibitors Based on the Database of FDA-Approved Drugs

ZHOU You¹, XUE Xin², Wang Lei³, SUN Haopeng³

1. College of Sericulture, Textile and Biomass Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China;
2. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;
3. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract: Cholinesterase inhibitors represent one of the most effective therapeutic strategies for the treatment of Alzheimer's disease (AD). Considering only four cholinesterase inhibitors have been released to the market, it is an urgent task to identify novel cholinesterase inhibitors. In the study, pharmacophore-based virtual screening and molecular docking were performed using the FDA-approved drug library. Four drugs (mitoxantrone, panobinostat, lisinopril, lisdexamfetamine) were identified as potential cholinesterase inhibitors.

收稿日期: 2022-06-22

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81803367).

作者简介: 周游, 博士, 副教授, 主要从事基于桑树活性成分的药物化学研究.

Based on the predicted blood-brain barrier (BBB) permeability and availability, three of them were purchased for activity verification. Among them, mitoxantrone showed potent in vitro inhibitory activity against both acetylcholinesterase ($IC_{50} = 0.85 \mu\text{mol/L}$) and butylcholinesterase ($IC_{50} = 6.45 \mu\text{mol/L}$). Considering that approved drugs have satisfied physicochemical properties and safety, the present study provided us with a good starting point to further design highly potent cholinesterase inhibitors with novel scaffold and proper drug-like property.

Key words: Alzheimer's disease; cholinesterases; virtual screening; mitoxantrone

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是最常见的一种神经退行性疾病,其临床特征为患者出现认知功能,特别是记忆功能的损伤,并伴有各种神经症状和行为障碍^[1].目前,全球约有 3 300~3 850 万 AD 患者,其中我国患者超 980 万,因患者长期接受治疗及护理产生的巨额费用给社会造成沉重负担^[2-3],因此,AD 的诊断、预防和治疗一直是全球范围内关注度极高的研究领域.

AD 作为一种成因复杂的系统性疾病,人类至今仍未能明晰其确切的病理成因,以中枢胆碱能假说为基础设计的胆碱酯酶抑制剂目前仍是 AD 临床治疗的首选策略之一.该假说认为,AD 患者脑内,特别是皮质和海马、前脑 Meynert 基底核和隔区等部位的胆碱能神经元受损严重,这导致以乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)为代表的重要神经递质的水平与功能严重降低,进而导致认知功能障碍等一系列典型的 AD 病理特征.胆碱酯酶负责完成 ACh 的水解与代谢,是控制其含量水平的关键因素,包括乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)和丁酰胆碱酯酶(butyrylcholinesterase, BuChE)^[4].因此,胆碱酯酶抑制剂可通过抑制 AChE 或/与 BuChE 的活性,增加突触间隙处 ACh 浓度,增强中枢胆碱能神经传递能力,提高 ACh 的生物利用度,从而改善患者的认知与行为症状.目前仅有 4 个胆碱酯酶抑制剂(他克林、多奈哌齐、加兰他敏、利凡斯的明)经美国食品药品监督管理局(FDA)批准进入临床,其中他克林由于存在肝毒性已撤市,因此急需研究新型的胆碱酯酶抑制剂.

近年来,随着多个 AD 候选药物在临床阶段折戟沉沙,巨大的投入与产出间的失衡使得药物重定位策略越来越受到科学界与工业界的重视.药物重定位,又称老药新用,指对已上市药物或者未上市但结构明确、生物活性已知的药品,通过进一步研究发现其新的靶点,扩大其适应症范围^[5].与从头研发获得首创(first-in-class)新药相比,上市药物由于已经通过长期的临床实践,其毒性与不良反应均已明确,且生产工艺、质量标准、剂型等业已完备,因此在新药研发的时间和经济成本方面具有显著的优势.本研究采用“基于结构的虚拟筛选”策略以及“老药新用”策略,综合运用多种计算机辅助药物设计技术对 FDA 批准药物库进行虚拟筛选,以挖掘新型胆碱酯酶抑制剂分子,为抗 AD 药物的研究提供新的思路和研究基础(图 1).

1 材料与方法

1.1 数据及模拟软件

从 ZINC 数据库 (<https://zinc.docking.org/substances/subsets/fda/>) 下载经 FDA 批准的上市药物,从 RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/structure/5NN0>) 下载人源 AChE 与抑制剂的复合物晶体结构(PDB ID: 4EY7)以及人源 BuChE 与抑制剂

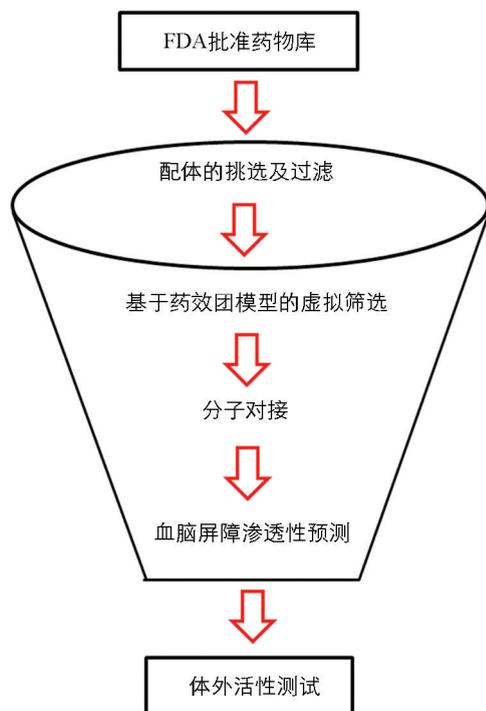


图 1 研究流程图

的复合物晶体结构(PDB ID: 5NN0)^[6-7]. 分子模拟软件采用 Schrödinger 2019-1(Schrödinger, LLC, New York, USA).

1.2 蛋白及配体库的准备

使用 Schrödinger 软件中的 Protein preparation wizard 对下载的复合物晶体结构进行准备, 包括加氢、加电荷、优化 loop 区、进行能量最小化等^[8]. 使用 LigPrep 对下载的 FDA 批准上市药物分子(配体库)进行准备以获得高质量的 3D 结构, 包括加氢、加电荷、生成同分异构体、手性异构体等^[9]. 使用 Ligand filtering 对 3D 结构进行过滤, 参数设置为 Charged_amines ≥ 1 .

1.3 药效团的构建及虚拟筛选

药效团的构建使用 Schrödinger 软件 Phase 模块中的 Develop pharmacophore model^[10-11]. 参数设置: Create pharmacophore modeling using 选择 Receptor-ligand complex, Method 选择 Manual, Choose ligand 选择 92H(627), Hypothesis settings 选择 Create receptor-based excluded volume shell. 获得初步药效团模型后, 对药效特征元素进行编辑, Usage in screening 选择 Required.

基于药效团的虚拟筛选采用 Phase 模块中的 Phase ligand screening 进行^[10-11]. 在 Screening settings 中对筛选过程中产生的构象数目进行定义: Generate conformers during search 为 200.

1.4 分子对接

采用 Schrödinger 软件中的 Glide 模块进行分子对接^[9], 采用模块中的 Receptor grid generation 对蛋白的对接位点进行定义, 参数设置: Define receptor 选择 Pick to identify the ligand, Size 选择 Dock ligands with length ≤ 20 Å. 采用模块中的 Ligand docking 进行级联分子对接, 参数设置: Precision 先后选择 SP (standard precision)和 XP(extra precision), 每个配体报告的最终构象数目定义为 Write out at most 10 poses per ligand.

1.5 血脑屏障(BBB)渗透性预测

采用 Schrödinger 软件中的 QikProp 程序进行 BBB 渗透性预测, 所有参数采用默认设置.

1.6 体外胆碱酯酶抑制活性评价^[12]

从 Topscience(www.tsbiochem.com)获得 3 个药物(米托蒽醌, 帕比司他, 赖诺普利), 纯度大于 95% (LC-MS). 采用优化后的 Ellman 法测定化合物的胆碱酯酶抑制活性. AChE(来自人红细胞, C0663), BuChE(来自马血清, C7512), 5, 5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB, D218200), 碘代硫代乙酰胆碱(ATC, A5751)以及碘化丁酰硫代胆碱(BTC, B3253)购自 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA). 测试过程中, 先将 10 μ L AChE 溶液(2.5 units/mL)或 BuChE 溶液(2.5 units/mL), 20 μ L DTNB 溶液, 10 μ L 测试化合物溶液加至 40 μ L 缓冲溶液(pH 值为 8.0)中, 加入 20 μ L ATC 或 BTC 溶液触发反应后开始计时并快速混匀测试溶液, 2 min 后于 412 nm 波长下使用赛默飞酶标仪(Multiskan FC, 51119080, USA)测量紫外吸收度. 空白对照组用 10 μ L 水代替酶溶液. 通过公式计算抑制率(I)

$$I = (A_c - A_i) / (A_c - A_b) \times 100\%$$

式中, A_i , A_c 和 A_b 分别代表测试组、阴性组与空白组对应的吸光值. 配制测试化合物的浓度梯度溶液($10^{-5} \sim 10^{-10}$ mol/L), 记录受试化合物在各个浓度的吸光值, 所得结果用 GraphPad Prism 6(GraphPad Software, San Diego, CA, USA)计算 IC_{50} 值. 所有测试重复 3 次, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示.

2 结果与讨论

2.1 配体库的准备与讨论

ZINC 数据库作为公开数据库, 收集了大量商业可得的化合物用于虚拟筛选研究^[13]. 从该数据库中获得了 1 615 个经 FDA 批准上市的药物分子的 3D 结构, 采用 Schrödinger 软件中的 LigPrep 对原始结构进行准备, 包括加氢、加电荷、产生同分异构体等. 研究已表明, 胆碱酯酶的活性位点峡谷具有相似的特点, 均由外周阴离子位点、乙酰结合口袋、胆碱结合口袋以及催化活性位点组成. 带负电荷的外周离子位点在吸引正电荷底物和抑制剂进入活性位点峡谷, 并到达距离入口处 20Å 的催化活性位点过程中扮演着重要作

用^[14-15]. 此外, 结构生物学研究也表明, 具有正电荷的配体能够同活性位点内的芳香氨基酸残基形成阳离子- π 相互作用. 因此, 多个已报道的活性 AChE, BuChE 抑制剂均具有含氮碱性基团以及形成正电荷中心的能力. 基于上述原因, 本研究在完成配体准备后, 使用 Ligand filtering 对带电荷的胺进行挑选以提高命中率, 共获得 664 个构象.

2.2 药效团的构建、基于药效团的虚拟筛选与结果分析

药效团是以药效特征元素为基础建立的模型, 基于药效团的虚拟筛选在药物及先导化合物发现中扮演着重要角色. 近年来, 多个人源胆碱酯酶蛋白与抑制剂的复合物晶体结构被报道, 为开展基于结构的虚拟筛选研究提供了物质基础^[16-20]. 2018 年, KOŠAK 等^[6]在前期研究的基础上开展基于结构的合理药物设计(图 2a), 获得了一个高活性高选择性 BuChE 抑制剂(化合物 2)及其与蛋白的复合物晶体结构(PDB ID: 5NN0, 分辨率为 2.1 Å). 相较于其鼠源 AChE(*m*AChE)抑制活性, 化合物 2 对人源 BuChE(*h*BuChE)的体外抑制活性达到了低微摩尔水平. 图 2b 中, 抑制剂的萘环能够同乙酰结合口袋中的 Trp231 以及 Phe329 产生 T 形 π - π 堆积作用. AChE 中的乙酰结合口袋体积更小, 因此该处具有较大空间位阻的萘环也许能够解释抑制剂具有高 BuChE 选择性的原因. 哌啶环上的氮形成了一个正电荷中心, 同邻近 Tyr332 的苯环产生了阳离子- π 相互作用. 同时, 还与外周位点处 Asp70 形成了盐桥. 此外, 抑制剂的二甲氨基乙基侧链伸向胆碱结合口袋, 与胆碱结合口袋内的 Trp82 形成阳离子- π 相互作用, 并同 Glu197 形成盐桥. 值得注意的是, 水分子(HOH805)通过桥联作用在抑制剂分子与组成催化位点的 His438, Ser198 间建立起了联系.

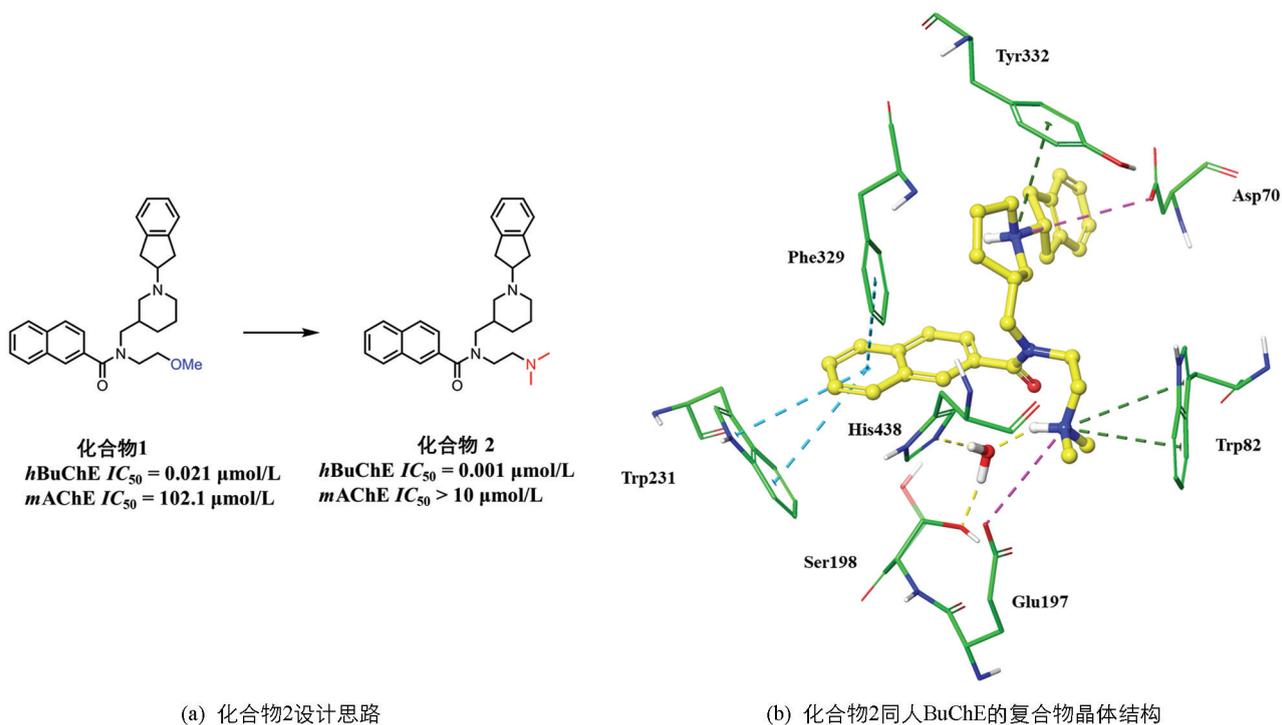
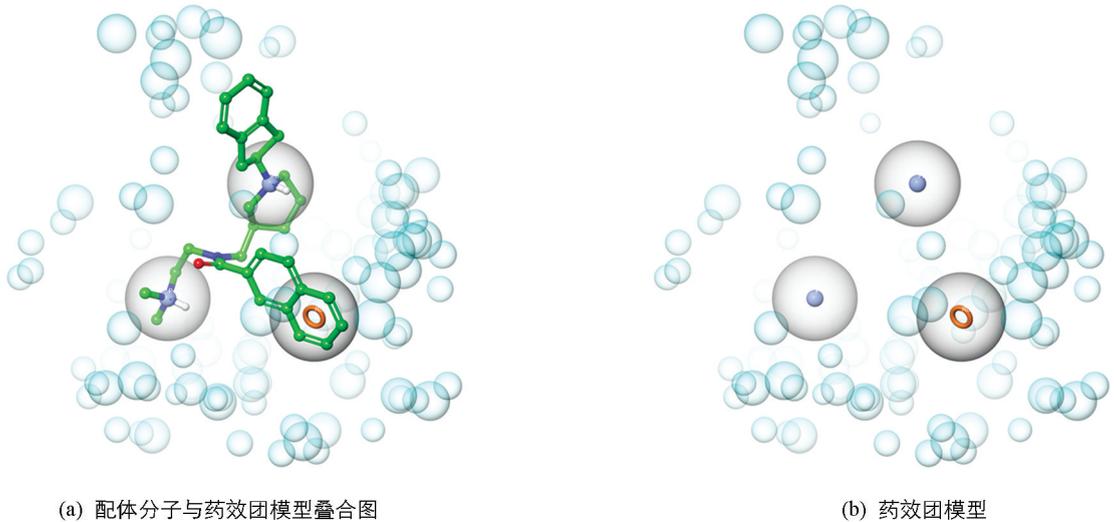


图 2 药效团模型构建的物质基础

基于上述结合模式分析结果, 采用 Schrödinger 软件 Phase 模块中的 Develop pharmacophore model, 手动构建用于虚拟筛选的药效团模型: ① 将萘环中的 1 个苯环定义为芳香环药效特征元素; ② 将哌啶环上的氮定义为正电荷药效特征元素; ③ 将侧链最末端的二甲氨基定义为正电荷药效特征元素. 同时, 基于受体结构中的原子产生排除体积, 获得了初步的药效团模型(图 3), 模型包含 3 个药效特征元素, 蓝色实心球代表正电荷药效特征元素, 橙色空心环代表芳香环药效特征元素, 以及基于受体原子产生的排除体积(淡蓝色空心球). 考虑到药效团模型中药效特征元素的数量仅为 3 个, 因此本研究对药效特征元素在筛选时的角色进行了约束, 要求配体必须同时满足所有药效特征元素才能被保留. 对挑选获得的 664 个构象进行基于药效团的虚拟筛选, 获得 48 个构象(Align score > 0.2).



(a) 配体分子与药效团模型叠合图

(b) 药效团模型

图 3 药效团模型的构建

2.3 分子对接及结果分析

分子对接是结构分子生物学以及计算机辅助药物设计中的关键工具. 通过分子对接研究人员可以对配体-蛋白结合模式以及配体对蛋白的理论亲和力等进行预测. 在本研究中, 采用 Schrödinger 软件中的 Glide 模块进行 grid 文件的准备以及分子对接研究. 通过分析结合模式以及调研文献, 删除了除水分子 724, 734, 805 以外的其余水分子, 随后通过重对接对 grid 文件以及对接软件(方法)进行考察. 重对接结果表明, 当代表性对接构象(Glide emodel = -108.324)同实验结构中的配体进行叠合(图 4), 二者的 RMSD 仅为 0.7 Å, 表明上述模型以及对接软件可用于接下来的分子对接研究.

随后选择 Glide 模块中的 SP, XP 开展级联分子对接, 基于对接精度以及打分函数以不断缩小筛选范围. 首先经普通精度的 SP 分子对接后, 选择表现较好的 64 个对接构象(Docking score < -25.08 kJ/mol)进行更高精度的 XP 对接研究. 对表现较好的 62 个对接构象(XP GScore < -41.8 kJ/mol)经 Canvas 去重处理后获得 4 个已上市药物分子结构(图 5): 拓扑异构酶 II 抑制剂米托蒽醌(XP GScore = -57.68 kJ/mol), 组蛋白脱乙酰酶抑制剂帕比司他(XP GScore = -51.00 kJ/mol), 中枢神经系统兴奋剂赖斯丹明(XP GScore = -44.73 kJ/mol), 血管紧张素转化酶抑制剂赖诺普利(XP GScore = -44.73 kJ/mol).

随后, 对 4 个药物分子在 BuChE 活性位点内的预测结合模式进行分析, 图 6a 显示米托蒽醌能够同活性位点峡谷中的关键氨基酸 Asp70, Trp82, Tyr332 产生相互作用, 同时通过水分子(HOH805)同催化氨基酸 Ser198, His438 产生相互作用. 图 6b 显示帕比司他同活性位点峡谷中的关键氨基酸 Trp82, Trp231, Tyr332 产生相互作用, 其 N-羟基丙酰胺侧链通过水分子(HOH805)同催化氨基酸 Ser198, His438 产生相互作用. 图 6c 显示赖斯丹明与蛋白关键氨基酸 Asp70, Trp82, Trp231 产生相互作用, 其结构中的伯氨基通过水分子(HOH805)同催化氨基酸 Ser198, His438 产生相互作用. 图 6d 显示赖诺普利与蛋白关键氨基酸 Asp70, Trp82, Trp231, Tyr332 产生相互作用, 但有别于上述 3 个药物分子, 赖诺普利同催化氨基酸 Ser198, His438 未产生相互作用.

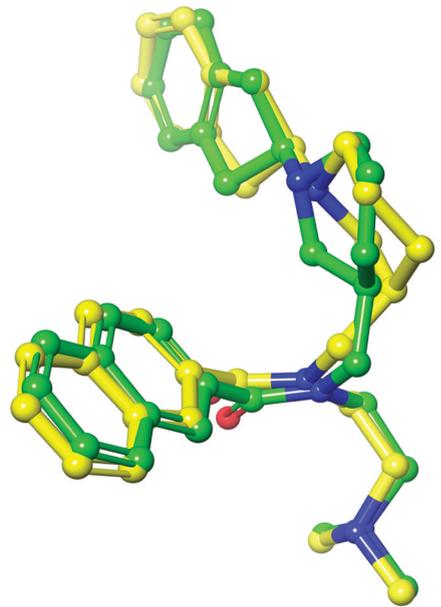


图 4 代表性对接构象(黄色)与实验结构(绿色)叠合图

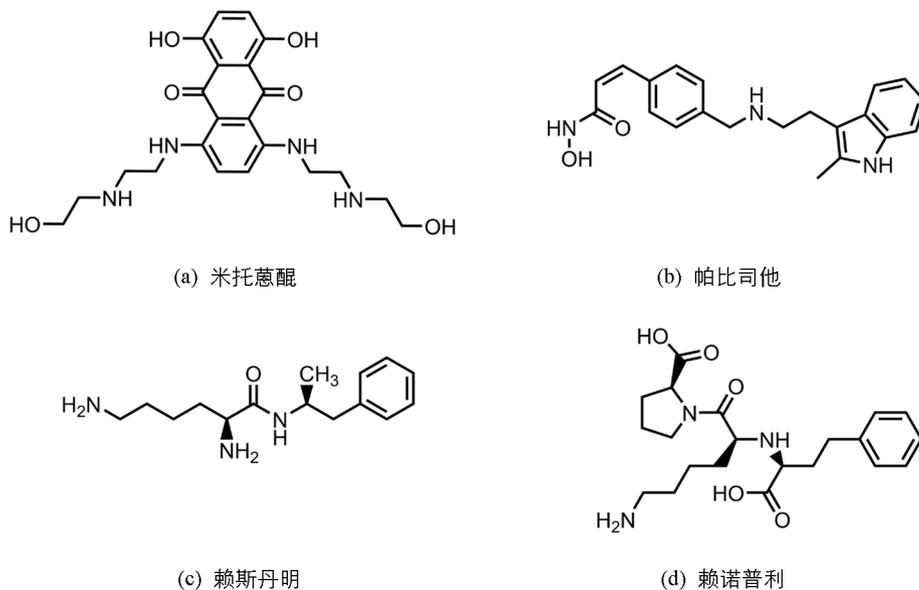


图 5 经虚拟筛选识别出的药物分子

我们对上述 4 个药物分子就 AChE 的结合能力进行了预测, 对人源 AChE 与其选择性抑制剂多奈哌齐的复合物晶体结构(PDB ID: 4EY7)进行准备后, 获得了一个不包含水分子的 grid 文件, 随后通过重对接对 grid 文件以及对接软件(方法)进行考察. 重对接结果表明, 当选择代表性对接构象(Glide emodel = -99.779)同实验结构中的配体进行叠合(图 7), 二者的 RMSD 仅为 0.2 \AA , 表明上述模型以及对接软件可用于接下来的分子对接研究.

结果显示 4 个药物分子均对 AChE 表现出较强的亲和力: 米托蒽醌(XP GScore = -66.88 kJ/mol), 帕比司他(XP GScore = -72.73 kJ/mol), 赖斯丹明(XP GScore = -53.92 kJ/mol), 赖诺普利(XP GScore = -51.83 kJ/mol). 对 4 个药物在 AChE 活性位点内的预测结合模式进行分析: 米托蒽醌与赖诺普利能够同活性位点峡谷中的关键氨基酸 Asp74, Trp86, Tyr337 等产生相互作用(图 8a, b); 帕比司他通过形成 U 型构象同关键氨基酸 Asp74, Trp337 产生相互作用(图 8c); 赖斯丹明与 AChE 间未发现关键分子间的相互作用(图 8d).

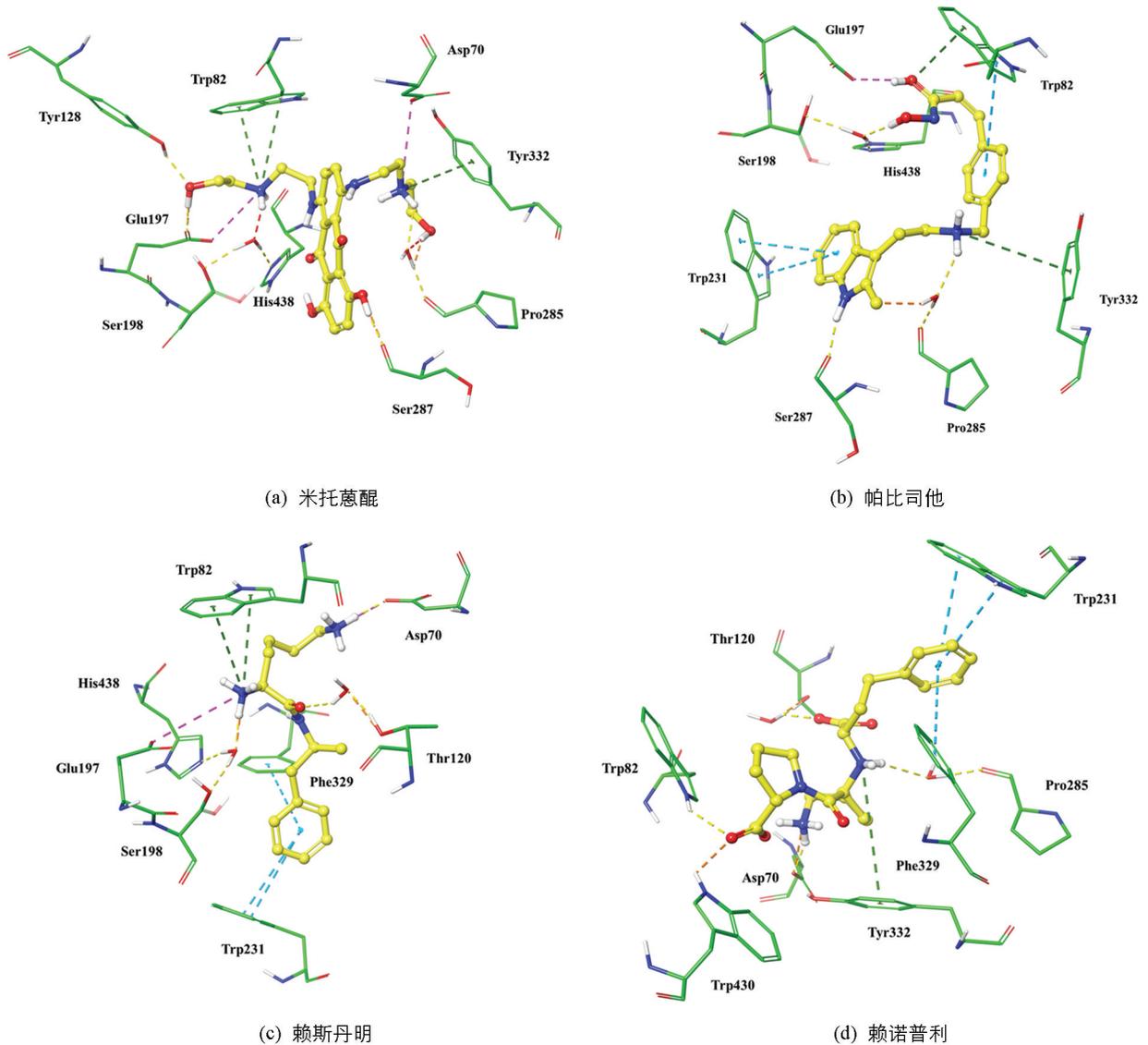
2.4 BBB 渗透性预测

中枢神经系统(CNS)药物的开发面临的众多挑战之一是药物分子能否顺利穿透血脑屏障(BBB). 同时, 为了提高药物研发的成功率, 医药界也越来越重视在研发早期即对先导化合物的理化性质开展研究. 在本研究中, 采用 Schrödinger 软件中的药动性质(吸收、分布、代谢、排泄)预测程序(QikProp)对 4 个药物的血脑屏障渗透性进行预测. 表 1 显示, 除帕比司他未获得预测结果外, 其余 3 个药物均显示具有潜在的 BBB 渗透性, 具备作为 CNS 药物开发的潜力. 米托蒽醌(QPlogBB = -2.283)的表现不如赖斯丹明(QPlogBB = -0.390)与赖诺普利(QPlogBB = -0.988), 我们认为这与其结构中含有多个极性官能团导致其亲水性更强有关.

表 1 血脑屏障(BBB)渗透性预测

药物	QPlogBB	范围 *
米托蒽醌	-2.283	
帕比司他	-	-3.0~1.2
赖斯丹明	-0.390	
赖诺普利	-0.988	

注: * 为基于 95% 的已知药物.



药物分子与作用氨基酸残基分别用球棍模型与细管模型表示；黄色虚线代表氢键，洋红色虚线代表离子键，蓝色虚线代表 π - π 堆积作用，绿色虚线代表阳离子- π 相互作用。

图 6 药物分子与人 BuChE 预测结合模式图

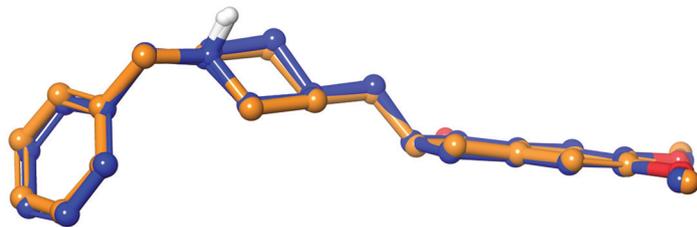
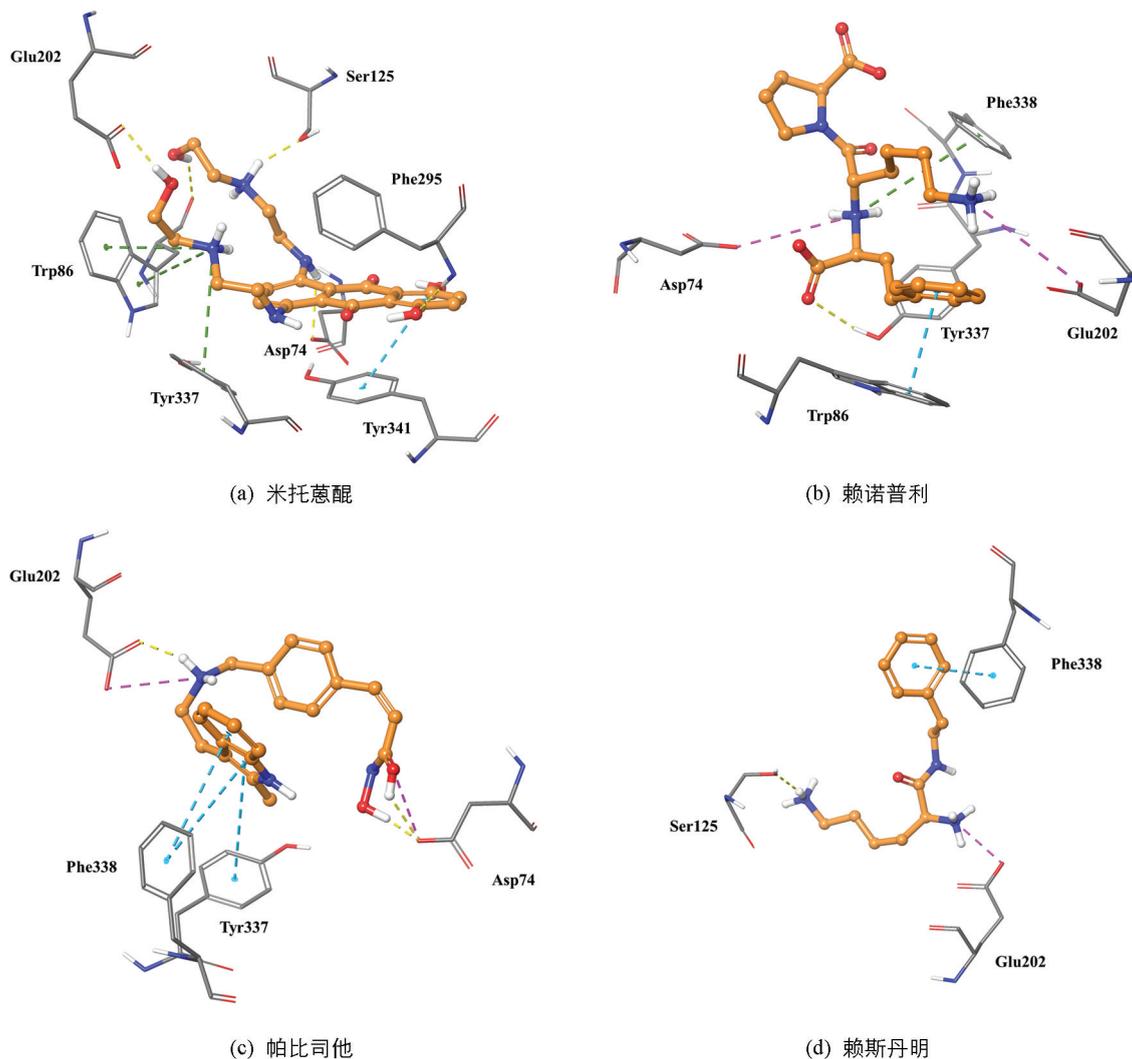


图 7 代表性对接构象(橙色)与实验结构(蓝色)叠合图

2.5 体外胆碱酯酶抑制活性结果及分析

采用优化后的 Ellman 法,对 3 个药物(米托蒽醌,帕比司他,赖诺普利)的胆碱酯酶体外抑制活性进行了实际验证,他克林作为阳性对照。在 $10 \mu\text{mol/L}$ 测试浓度下,米托蒽醌的抑制率最高(表 2)。米托蒽醌是一类抗肿瘤抗生素,临床用于治疗急性白血病、淋巴瘤以及前列腺癌与乳腺癌,也可用于治疗晚期多发性硬化症。对其进一步的半数抑制浓度(IC_{50})研究结果显示:米托蒽醌是一个有效的 AChE 抑制剂($IC_{50} = 0.85 \mu\text{mol/L}$)与 BuChE 抑制剂($IC_{50} = 6.45 \mu\text{mol/L}$),对 AChE 的抑制活性优于对 BuChE 的抑制活性。

将米托蒽醌在胆碱酯酶活性位点内的预测构象与共结晶配体的结合构象进行对比发现, 在 AChE 活性位点内, 同共结晶配体多奈哌齐 ($IC_{50} = 7.0 \mu\text{mol/L}$)^[21] 相比(图 9a), 米托蒽醌未与关键氨基酸 Trp86, Trp286 形成 π - π 堆积作用. 在 Phe338 附近由于缺乏电荷中心, 未能与其形成阳离子- π 相互作用(图 9b). 在 BuChE 活性位点内同共结晶配体化合物 2 ($IC_{50} = 0.001 \mu\text{mol/L}$, 图 9c) 相比, 米托蒽醌缺乏与关键氨基酸 Trp231 形成 T 型 π - π 堆积作用, 并且未能与结晶水(HOH805)形成分子间氢键从而与催化氨基酸 His438, Ser198 产生联系(图 9d). 上述分析为接下来的结构优化工作提供了思路.



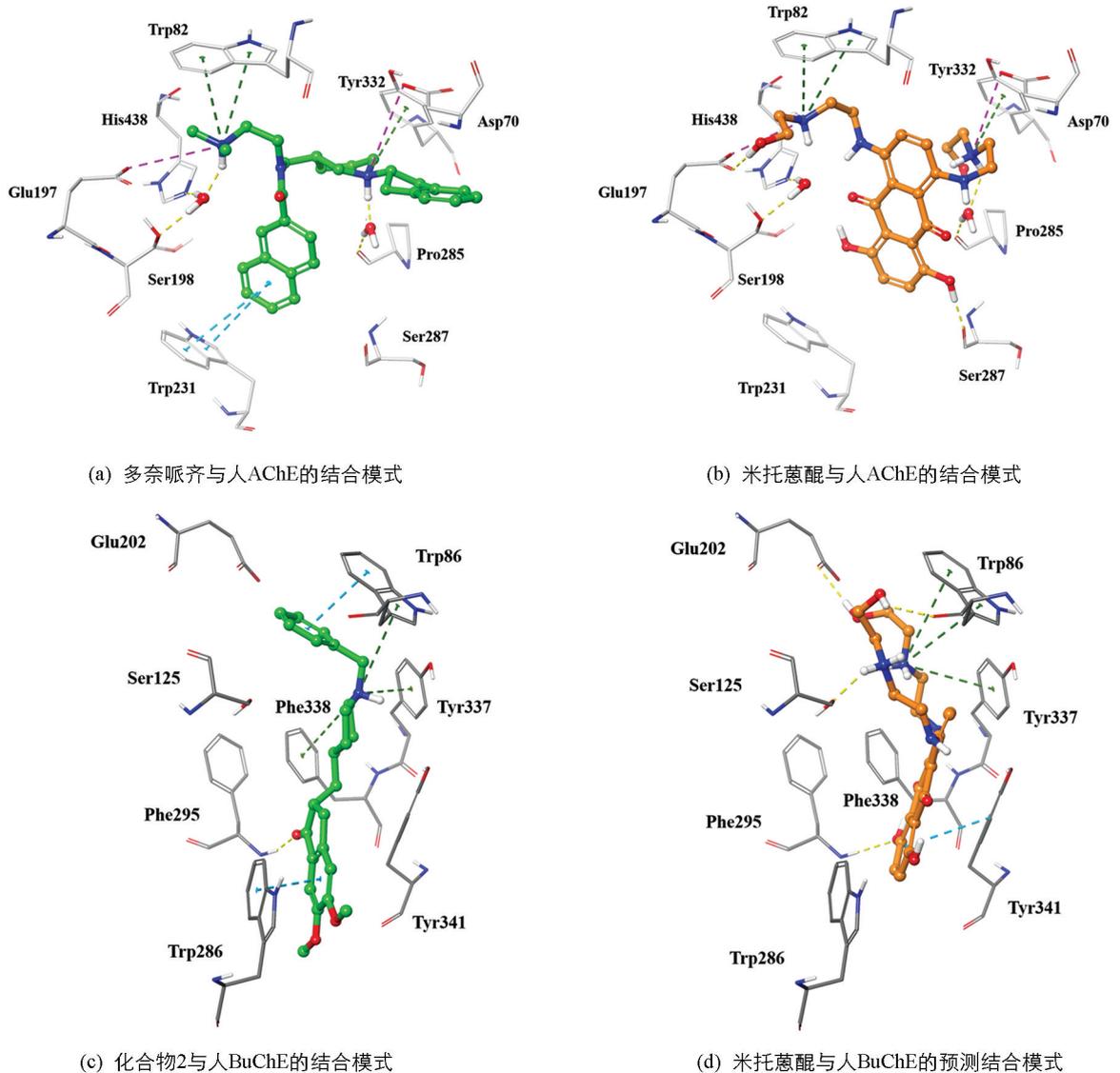
药物分子与作用氨基酸残基分别用球棍模型与细管模型表示; 黄色虚线代表氢键, 洋红色虚线代表离子键, 蓝色虚线代表 π - π 堆积作用, 绿色虚线代表阳离子- π 相互作用.

图 8 药物分子与人 AChE 预测结合模式图

表 2 3 个药物的体外胆碱酯酶抑制活性

化合物	乙酰胆碱酯酶		丁酰胆碱酯酶	
	抑制率 ^a	$IC_{50}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^b$	抑制率 ^a	$IC_{50}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^b$
米托蒽醌	48.38 ± 7.33	0.85 ± 0.41	49.69 ± 1.29	6.45 ± 4.39
赖诺普利	10.31 ± 2.66	nd	8.31 ± 3.36	nd
帕比司他	18.37 ± 8.74	nd	26.52 ± 3.19	nd
他克林	nd	0.004 ± 2.58	nd	0.003 ± 0.98

注: a 为单次实验, 3 个复孔平均值; b 为 3 次重复实验平均值; nd 表示未测试.



多奈哌齐, 米托萸醌, 化合物 2 以及结晶水分子用球棍模型表示; 作用氨基酸残基用细管模型表示. 黄色虚线代表氢键, 洋红色虚线代表离子键, 蓝色虚线代表 π - π 堆积作用, 绿色虚线代表阳离子- π 相互作用.

图 9 米托萸醌在人 AChE 和 BuChE 中的预测结合模式以及与共结晶配体的对比

3 结论

AChE 是经典的抗 AD 药物靶标, 而随着研究的深入, 靶向 BuChE 对治疗中晚期 AD 的重要性也越来越得到研究者的重视. 随着研发投入的不断加大以及开发 CNS 药物面临的高失败风险, 首创药物的创制面临着巨大的挑战. 本研究采用“老药新用”以及“基于结构的虚拟筛选”策略, 先根据胆碱酯酶抑制剂的典型结构特征对 FDA 批准上市药物数据库进行过滤, 随后基于药效团模型以及分子对接开展虚拟筛选. 对打分表现较好的药物同胆碱酯酶的预测结合模式进行分析, 并对其 BBB 渗透性进行预测以提高命中率以及合理性. 在体外活性测试中, 抗肿瘤药物米托萸醌被发现具有有效的胆碱酯酶抑制活性, 其对 AChE 的抑制活性优于 BuChE 抑制活性. 本研究为胆碱酯酶抑制剂提供了新的骨架结构, 同时考虑到上市药物的诸多优点, 也为接下来高活性、高成药性的胆碱酯酶抑制剂研究提供了理想的研究起点.

参考文献:

- [1] BACHURIN S O, BOVINA E V, USTYUGOV A A. Drugs in Clinical Trials for Alzheimer's Disease: The Major Trends [J]. Medicinal Research Reviews, 2017, 37(5): 1186-1225.

- [2] MASTERS C L, BATEMAN R, BLENNOW K, et al. Alzheimer's Disease [J]. *Nature Reviews Disease Primers*, 2015(1): 15056.
- [3] HOLTZMAN D M, MORRIS J C, GOATE A M. Alzheimer's Disease: The Challenge of the Second Century [J]. *Science Translational Medicine*, 2011, 3(77): 77sr1.
- [4] MASSON P, XIE W H, FROMENT M T, et al. Interaction between the Peripheral Site Residues of Human Butyrylcholinesterase, D70 and Y332, in Binding and Hydrolysis of Substrates [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1999, 1433(1/2): 281-293.
- [5] 张宝月, 庞晓丛, 贾皓, 等. 基于全球上市药物数据的抗阿尔茨海默病重定位新药发现 [J]. *药学报*, 2019, 54(7): 1214-1224.
- [6] KOŠAK U, BRUS B, KNEZ D, et al. The Magic of Crystal Structure-Based Inhibitor Optimization: Development of a Butyrylcholinesterase Inhibitor with Picomolar Affinity and in Vivo Activity [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, 61(1): 119-139.
- [7] CHEUNG J, RUDOLPH M J, BURSHTEYN F, et al. Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2012, 55(22): 10282-10286.
- [8] SASTRY G M, ADZHIGIREY M, DAY T, et al. Protein and Ligand Preparation: Parameters, Protocols, and Influence on Virtual Screening Enrichments [J]. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 2013, 27(3): 221-234.
- [9] FRIESNER R A, BANKS J L, MURPHY R B, et al. Glide: a New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 1. Method and Assessment of Docking Accuracy [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2004, 47(7): 1739-1749.
- [10] DIXON S L, SMONDYREV A M, KNOLL E H, et al. PHASE: a New Engine for Pharmacophore Perception, 3D QSAR Model Development, and 3D Database Screening: 1. Methodology and Preliminary Results [J]. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 2006, 20(10-11): 647-671.
- [11] DIXON S L, SMONDYREV A M, RAO S N. PHASE: a Novel Approach to Pharmacophore Modeling and 3D Database Searching [J]. *Chemical Biology & Drug Design*, 2006, 67(5): 370-372.
- [12] ZHOU Y, LU X, DU C X, et al. Novel BuChE-IDO1 Inhibitors from Sertaconazole: Virtual Screening, Chemical Optimization and Molecular Modeling Studies [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2021, 34: 127756.
- [13] STERLING T, IRWIN J J. ZINC 15-Ligand Discovery for Everyone [J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2015, 55(11): 2324-2337.
- [14] FELDER C E, BOTTI S A, LIFSON S, et al. External and Internal Electrostatic Potentials of Cholinesterase Models [J]. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 1997, 15(5): 318-327.
- [15] NOLTE H J, ROSENBERRY T L, NEUMANN E. Effective Charge on Acetylcholinesterase Active Sites Determined from the Ionic Strength Dependence of Association Rate Constants with Cationic Ligands [J]. *Biochemistry*, 1980, 19(16): 3705-3711.
- [16] BRUS B, KOŠAK U, TURK S, et al. Discovery, Biological Evaluation, and Crystal Structure of a Novel Nanomolar Selective Butyrylcholinesterase Inhibitor [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 57(19): 8167-8179.
- [17] KNEZ D, BRUS B, COQUELLE N, et al. Structure-Based Development of Nitroxoline Derivatives as Potential Multi-functional Anti-Alzheimer Agents [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2015, 23(15): 4442-4452.
- [18] KOŠAK U, BRUS B, KNEZ D, et al. Development of an In-Vivo Active Reversible Butyrylcholinesterase Inhibitor [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 39495.
- [19] MEDEN A, KNEZ D, JUKIĆ M, et al. Tryptophan-Derived Butyrylcholinesterase Inhibitors as Promising Leads Against Alzheimer's Disease [J]. *Chemical Communications (Cambridge, England)*, 2019, 55(26): 3765-3768.
- [20] ROSSI M, FRESCHI M, DE CAMARGO NASCENTE L, et al. Sustainable Drug Discovery of Multi-Target-Directed Ligands for Alzheimer's Disease [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 64(8): 4972-4990.
- [21] TOUBLET F X, LALUT J, HATAT B, et al. Pleiotropic Prodrugs: Design of a Dual Butyrylcholinesterase Inhibitor and 5-HT₆ Receptor Antagonist with Therapeutic Interest in Alzheimer's Disease [J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 210: 113059-113064.