

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.09.001

· 基础研究 ·

M1 胆碱受体选择性别构激动剂的虚拟筛选和体外活性研究 *

熊彩虹¹ 陆绍永² 赵娜¹ 徐见容¹ 赵兰雪^{1Δ} 邱瑜¹

(1 上海交通大学医学院药理学与化学生物学系 上海 200025; 2 上海交通大学医学院病理生理学系 上海 200025)

摘要 目的: M1 毒蕈碱型乙酰胆碱受体(M1 受体)在改善学习和记忆等高级认知功能障碍中起重要作用,本文利用计算机辅助药物设计和高表达各 M 受体亚型的 CHO 细胞(Chinese hamster ovary cell, 中国仓鼠卵巢细胞),以期筛选获得新型 M1 受体选择性别构激动剂。方法:通过计算机辅助药物设计方法,对已知具有 M1 受体选择性作用别构激动剂与 M1 受体的晶体结构进行对接,确定活性对接口袋,据此进行化合物库虚拟筛选;利用高表达各 M 受体亚型的 CHO 细胞,对化合物进行体外活性检测。结果:虚拟筛选得到 184 个化合物,其中,体外实验显示化合物 AJ-292 和 AG-205-6 对 M1 受体有明显的激动效果,而对 M3、M5 受体则无影响。结论:综合利用虚拟筛选、结构分析以及特异性活性分析,筛选出具有 M1 受体高选择性激动作用的化合物 AJ-292 和 AG-205-6,为设计开发新型的 M1 选择性别构激动剂奠定了基础。

关键词: M1 受体;虚拟筛选;别构激动剂;CHO 细胞;体外活性

中图分类号: R-33; Q78; R965.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2018)09-1601-06

Virtual Screening and in Vitro Activity Study on M1 Muscarinic Acetylcholine Receptor Selective Allosteric Agonists*

XIONG Cai-hong¹, LU Shao-yong², ZHAO Na¹, XU Jian-rong¹, ZHAO Lan-xue^{1Δ}, QIU Yu¹

(1 Department of Pharmacology, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai, 200025, China;

2 Department of Pathophysiology, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai, 200025, China)

ABSTRACT Objective: M1 muscarinic acetylcholine receptors (M1R) play important roles in learning and memory. Based on the active pocket obtained from the docking of M1R allosteric agonists and M1R, we screened out the selective allosteric M1R agonists. **Methods:** Virtual screening was established via computer-aided drug design based on the allosteric site in M1R crystal structure. The selective interaction modes between the compounds and M1R were comprehensively analyzed and used for virtual screening of the compound candidates from several compound libraries. The in vitro activity of compounds was studied using human recombinant muscarinic acetylcholine receptor cell lines. **Results:** AJ-292 and AG-205-6 showed significant agonizing effects on CHO-M1 cells, but they showed no influence on CHO-M3 and CHO-M5 cells among the 184 compounds obtained by virtual screening. **Conclusions:** Based on the combination of virtual screening, structural analysis and specific activity analysis, two compounds were screened out, which show high selective activities on CHO-M1 cells. This work lays the foundation for the design and development of novel M1R allosteric agonists.

Key words: M1 receptor; Virtual screening; Allosteric agonist; CHO cells; In Vitro Activity

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q78; R965.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)09-1601-06

前言

毒蕈碱型乙酰胆碱受体 (Muscarinic receptors, M 受体)属于 G 蛋白偶联受体,在学习和记忆等高级认知活动中起着重要作用^[1]。至今,已有多种 M1 受体激动剂进入临床研究,然而,由于这些药物对受体亚型选择性差,在作用于 M1 受体的同时,可通过影响其它亚型的 M 受体而引起胆碱能不良反应^[2]。因此,提高亚型选择性是该类药物研发的主要方向。而 M 型胆

碱受体正构位点序列同源性很高,难以真正获得对某一亚型的高选择性配基;与之相反,多样性的别构位点由于所涉及氨基酸序列保守性较低,可以通过 M1 受体别构调控剂(Positive allosteric modulator, PAM)实现胆碱受体 M1 亚型高选择性^[3],因此,M1 受体别构调节位点被认为是干预学习和记忆等高级认知功能障碍的最有前景的药物新靶点之一^[4,5]。本研究基于 M1 受体的晶体结构与已确定的 M1 受体别构调控激动剂,通过分子对接,确定 M1 胆碱受体别构位点的位置和筛选参数,在此

* 基金项目:第 60 批中国博士后面上资助项目(2016M601619);国家自然科学基金面上项目(81473217);

国家自然科学基金青年基金项目(81503174)

作者简介:熊彩虹(1992-),女,硕士研究生,主要研究方向:药理学,电话:18800204883, E-mail: xiongcaihongxc@126.com

Δ 通讯作者:赵兰雪,女,博士,讲师,主要研究方向:阿尔茨海默症的受体药理学和分子药理学, E-mail: annzoor@sjtu.edu.cn

(收稿日期:2017-12-10 接受日期:2017-12-31)

基础上进行计算机虚拟筛选获得候选化合物,并进一步利用高表达各 M 受体亚型的 CHO 细胞,对这些化合物进行活性筛选,发现两个候选化合物具有 M1 受体相对高选择性,有望进一步开发成为靶向 M1 受体的先导化合物。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 软件及数据库 Glide 虚拟筛选软件 (Schrodinger 公司),分子三维结构显示软件 PyMol。M1 受体的晶体结构来自 PDB 数据库 (Protein DataBank)^[6]; 化合物来自 SPECS (<http://www.specs.net>) 和 Chemdiv (<http://www.chemdiv.com>) 数据库。

1.1.2 试剂与仪器 表达各 M 受体亚型的 CHO-M1、CHO-M3、CHO-M4 和 CHO-M5 细胞购买自南京金斯瑞生物科技有限公司;184 个化合物中,SPECS 数据库筛选得到的 66 个化合物购买自 SPECS 生物特殊化合物服务有限公司;Chemdiv 数据库筛选得到的 118 个化合物购买自上海陶素生物科技有限公司;MEM 培养基 Ham's F12、和胎牛血清 (Gibco);青/链霉素 (双抗)、谷氨酰胺 (L-glutamine) 和 0.25% 胰蛋白酶-EDTA (Invitrogen 公司);Zeocin (Thermo Fisher);Hygromycin B (Roche);G418 (Sigma);钙流检测试剂盒 FLIPR Calcium 4 Assay Explorer Kit (Molecular Devices 公司);二氧化碳培养箱 (Steri-Cycle, Thermo, 美国);低温高速离心机 (Centrifuge 5810R, Eppendorf, 德国);多功能酶标仪 (Flexstation III, MD, 美国)。

CHO-M1 细胞培养基:Ham's F12,10% FBS,200 $\mu\text{g/mL}$ Zeocin;CHO-M3 细胞培养基:Ham's F12,10% FBS,200 $\mu\text{g/mL}$ Zeocin,100 $\mu\text{g/mL}$ Hygromycin B;CHO-M4 细胞培养基:Ham's F12,10% FBS,400 $\mu\text{g/mL}$ G418;CHO-M5 细胞培养基:Ham's F12,10% FBS,200 $\mu\text{g/mL}$ Zeocin。

1.2 方法

1.2.1 蛋白活性口袋文件准备 使用已有的 M1 晶体结构准备活性口袋文件。从 PDB 数据库下载 M1 的结构文件之后,运用 Maestro 软件中的 "蛋白准备" (Protein preparation wizard) 模块,先对 M1 结构进行处理,然后通过 M1 晶体结构与已确定的 M1 别构调控激动剂 Brucine、TBPB-36t、VU0364572 和 VU0448350 等化合物进行分子对接,确定 M1 胆碱受体别构位点的位置和筛选参数。在此基础上利用这些别构位点作为活性对接口袋,运用 Maestro 软件中的 "Receptor Grid Generation" 程序生成口袋格点文件。

1.2.2 配体准备 从 SPECS 和 Chemdiv 商业化合物数据库中下载 150 万个化合物的 2D 结构,再运用 Maestro 软件中的 "配体准备" (LigPrep) 模块使之均生成 3D 结构。

1.2.3 M1 胆碱受体别构位点调控剂的虚拟筛选 利用 Maestro 软件中的 "Glide" 模块进行分子对接,并通过 Gscore 对化合物进行打分,产生排名前 10000 的小分子。然后,选用 XP (Extra, Precision) 模式对这 10000 个小分子进行第二次高精度对接,通过 GScore 对其重新进行打分和排序^[7],产生排名前 184 的小分子。

1.2.4 CHO 细胞的培养与铺板 用 T75 瓶培养细胞,1:3 传代,48h 长满。弃去培养基后加入 5 mL PBS 缓冲液洗涤细胞,弃去 PBS,加入 1 mL 胰酶。约消化 1 min 后,可见细胞层破碎,

加入 5 mL 新鲜培养液。吹匀后传代,每瓶传 1 mL 细胞悬液,加入 9 mL 新鲜培养液,吹匀即可。从 CO₂ 培养箱中取出细胞,在显微镜下观察,细胞透亮,贴壁均匀,密度合适 (80% 汇合度) 时适合铺板。弃去培养瓶中的培养基,加入 5 mL PBS 缓冲液洗涤细胞,保证每个地方都接触到 PBS 缓冲液,弃去缓冲液。加入 2 mL 0.05% Trypsin-EDTA。放置约 1 min,显微镜下观察细胞,大部分变圆后,加入 6 mL MEM 全培养液,吹打至单个细胞。利用细胞计数器进行细胞计数,加入适量 MEM 全培养液,将细胞密度调制 8×10^5 cell/mL。将上述密度的细胞铺在黑色 96 孔细胞培养板中,100 μL / 孔,转移至 CO₂ 培养箱 12~24 h。

1.2.5 配体的配制 从 4 $^{\circ}\text{C}$ 取出 184 个化合物,用 DMSO 溶解,使其储存浓度为 10-100 mM。在需要进行检测之前,用 HBSS 稀释至 1 μM 和 10 μM ,用移液枪将配体溶液分配到配体板上,配体板的布局需要与细胞板保持一致,放置在 4 $^{\circ}\text{C}$ 备用。

1.2.6 细胞功能检测 按 50 μL / 孔的量计算出需要的钙离子染料体积,用 HBSS 缓冲液将 Calcium4 染料溶解,加入丙磺舒储备液 (500 mM, 1N NaOH 溶液配制) 使其浓度为 5 mM。调整 96 孔板中细胞培养基体积,50 μL / 孔。将配制好的钙离子染料按 50 μL / 孔加入 96 孔板的细胞中。将板子转移至 CO₂ 培养箱,孵育 30 min,然后再室温孵育 15 min,利用 Flexstation III 多功能酶标仪将不同浓度的配体溶液加入到 96 孔板中进行细胞内钙流检测,检测时激发波长为 485 nm,检测波长为 525 nm,连续测定 2~3 min,每 1.52 s 可以获得一组数据。

2 结果

2.1 M1 受体选择性别构激动剂的虚拟筛选

通过 Brucine、TBPB-36t、VU0364572 和 VU0448350 等化合物^[8-11]与 M1 晶体结构进行分子对接 (见图 1),确定可能的 M1 胆碱受体别构结合位点:Y404、Y85、Y82、W400 和 S184 等。根据以上结合位点信息,依次选用 SP 和 XP 精度分子对接方法,对化合物库进行虚拟筛选,根据 GScore 对接打分排序,选取并购买前 184 个化合物进行体外活性的研究。从 SPECS 数据库筛选得到的 66 个化合物的基本信息见表 1,从 Chemdiv 数据库筛选得到的 118 个化合物的基本信息见表 2。

2.2 M1 受体别构激动剂的体外活性研究

使用 DMSO 溶解 184 个化合物,分别在 1 μM 和 10 μM 的浓度下,测定其对 CHO-M1、CHO-M3、CHO-M4 和 CHO-M5 细胞内钙流的影响。为保证检测的可靠性和稳定性,选取乙酰胆碱 (Ach) 作为对照化合物。由于 Ach 对 M1 和 M3 受体的敏感性较强,在浓度为 33.3 nM 时,即可激动 M1,而对 M4 和 M5 受体敏感性较弱,在浓度为 1 μM 时,可激动 M4 和 M5 受体,所以选用 33.3 nM 和 1 μM 的 Ach 分别作为 M1、M3 受体和 M4、M5 受体的阳性对照进行实验。184 个化合物中,AJ-292 浓度为 10 μM 时,能显著性激动 M1 受体,增强 CHO-M1 细胞内钙流,而对 CHO-M3、CHO-M4 和 CHO-M5 细胞影响不明显。在 1 μM 低浓度作用时,对 4 种 M 型受体无激动效果 (见图 2)。另外,化合物 AG-205-6 与 AJ-292 相似,作用浓度为 10 μM 时,能显著性激动 M1 受体,增强 CHO-M1 细胞内钙流,而对 CHO-M3、CHO-M4 和 CHO-M5 细胞影响不明显 (见图 3)。而其他化合物对 CHO-M1、CHO-M3、CHO-M4 和 CHO-M5 细胞内

钙流均不产生影响。

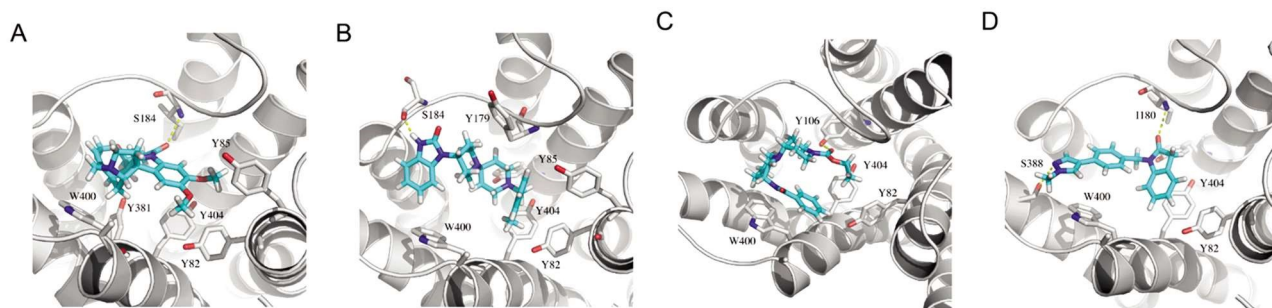


图 1 别构激动剂与 M1 受体对接分子模式图

Fig.1 The molecular docking of M1 receptor selective allosteric modulators with M1 receptor

Note: A is the molecular docking of Brucine with M1 receptor; B is the molecular docking of TBPB-36t with M1 receptor; C is the molecular docking of VU0364572 with M1 receptor; D is the molecular docking of VU0448350 with M1 receptor.

表 1 SPECS 数据库 66 个化合物基本信息

Table 1 Information of 66 compounds from SPECS data bank

Compound	Catalogue ID	Compound	Catalogue ID	Compound	Catalogue ID
1	AJ-292/40763253	23	AF-399/15601055	45	AQ-360/41714907
2	AF-399/33326060	24	AG-690/40097480	46	AK-968/12974601
3	AK-778/43465041	25	AK-778/40789066	47	AK-968/41925665
4	AG-205/06704019	26	AK-968/40386780	48	AI-204/31693057
5	AG-205/37081129	27	AK-968/41025974	49	AG-205/37066033
6	AG-205/33676060	28	AK-968/41025927	50	AI-204/42879125
7	AG-690/09706059	29	AK-968/41025945	51	AO-840/42717800
8	AK-968/40307025	30	AK-968/41025937	52	AO-365/42033361
9	AK-968/40335341	31	AN-329/43041398	53	AO-365/15162225
10	AK-968/12097034	32	AK-968/41025942	54	AN-465/43384159
11	AG-205/37223052	33	AK-968/41026032	55	AK-778/40958945
12	AM-879/14774006	34	AI-204/43372073	56	AQ-390/42869093
13	AF-399/37285008	35	AO-476/43380220	57	AN-465/43421669
14	AG-205/05218021	36	AP-685/41280827	58	AT-051/43422505
15	AK-918/11940297	37	AK-968/13030082	59	AP-853/11651327
16	AK-918/11909092	38	AH-487/40937041	60	AG-343/00734036
17	AK-968/15252341	39	AP-845/41115565	61	AE-641/00604005
18	AE-641/30153032	40	AO-081/41227472	62	AE-641/30108023
19	AE-848/12530546	41	AJ-292/41695010	63	AE-562/12222305
20	AK-918/12221472	42	AN-465/43013400	64	AE-562/12222308
21	AH-487/15020164	43	AP-124/43383757	65	AJ-333/36117059
22	AK-968/13035148	44	AE-848/06135020	66	AT-051/33504052

Note: Catalogue ID is from SPECS data bank which can be checked online at <http://www.specs.net>.

AJ-292/40763253 is named AJ-292 and AG-205/33676060 is named AG-205-6 in this article.

2.3 活性化合物的结合模式分析

化合物 AJ-292 和 AG-205-6 的化学结构如图 4A 和 4B, 通过 M1 晶体结构与 AJ-292、AG-205-6 进行分子对接, 得到化合物 AJ-292、AG-205-6 与 M1 受体对接结合构象 (见图 4C 和 4D)。由图可知, 两个活性化合物与 Y106、N382 形成氢键作用,

同时结合口袋中、Y404、Y408、Y381 和 W378 等芳香性氨基酸, 说明疏水作用也参与其中。在经典 M1 选择性别构激动剂的结合位点关键残基中, AJ-292 和 AG-205-6 能与 Y404、Y381 和 Y106 紧密结合, 提示了可能的生物活性结构基础。

表 2 Chemdiv 数据库 118 个化合物基本信息

Table 2 Information of 118 compounds from Chemdiv data bank

Compound	Catalogue ID	Compound	Catalogue ID	Compound	Catalogue ID
1	0091-0213	41	C547-0814	81	G366-0281
2	0177-0101	42	C547-0817	82	G366-1173
3	0987-0077	43	C547-0932	83	G585-1555
4	2556-0878	44	C612-0469	84	G585-1585
5	3343-2994	45	C700-0305	85	G585-1671
6	3807-0597	46	C700-0307	86	G819-0088
7	3894-0021	47	C700-0325	87	G819-0220
8	6262-0153	48	C700-0448	88	G819-0237
9	8010-3026	49	C700-0973	89	G819-0249
10	8012-7258	50	C741-0419	90	G819-0254
11	8012-9270	51	C741-0461	91	H025-0024
12	8018-5306	52	C741-0557	92	K279-0707
13	A0070475	53	C800-0671	93	K284-2945
14	A0070541	54	D216-0701	94	K781-1425
15	A0070582	55	D305-1699	95	K783-4437
16	A0070605	56	D330-2427	96	K786-0419
17	A0070619	57	D330-2428	97	K786-0730
18	A0070622	58	D330-2460	98	K788-9318
19	A0070957	59	D427-0096	99	K788-9617
20	A0070962	60	E008-0109	100	K844-1393
21	C137-0234	61	E155-0001	101	K935-0026
22	C259-1044	62	E155-0100	102	K935-0042
23	C259-1186	63	E155-0286	103	L057-0652
24	C259-1242	64	E155-0717	104	L220-0645
25	C260-1306	65	E155-0729	105	L423-1342
26	C260-1307	66	E230-1222	106	L575-0283
27	C260-1438	67	E475-1176	107	L575-0311
28	C260-1585	68	E542-1376	108	L575-0330
29	C276-0948	69	E542-2508	109	L575-0420
30	C300-0212	70	E647-0303	110	L575-0583
31	C466-0024	71	E690-0493	111	L575-0598
32	C466-0152	72	E867-1117	112	L702-0183
33	C466-0288	73	F234-0288	113	M286-1909
34	C466-0300	74	F234-0437	114	M506-0343
35	C466-0316	75	F646-0624	115	M743-0205
36	C466-0327	76	F680-0513	116	V004-2136
37	C466-0382	77	F725-0045	117	V006-3741
38	C493-0651	78	F725-0666	118	V029-4816
39	C547-0585	79	F779-0854		
40	C547-0813	80	F926-0992		

Note: Catalogue ID is from Chemdiv data bank which can be checked online at <http://www.chemdiv.com>.

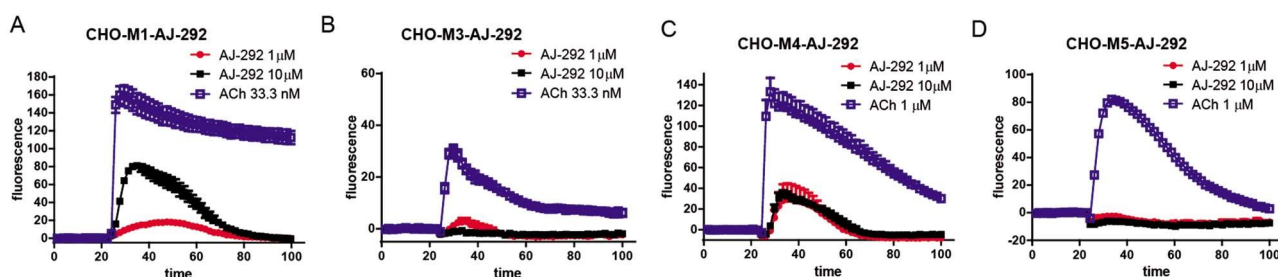


图2 AJ-292 诱导 CHO 细胞内钙流变化的检测

Fig.2 AJ-292-induced Ca^{2+} responses in different muscarinic receptor CHO cells

Note: A represents AJ-292-induced Ca^{2+} responses in CHO-M1 cells; B represents AJ-292-induced Ca^{2+} responses in CHO-M3 cells; C represents AJ-292-induced Ca^{2+} responses in CHO-M4 cells; D represents AJ-292-induced Ca^{2+} responses in CHO-M5 cells.

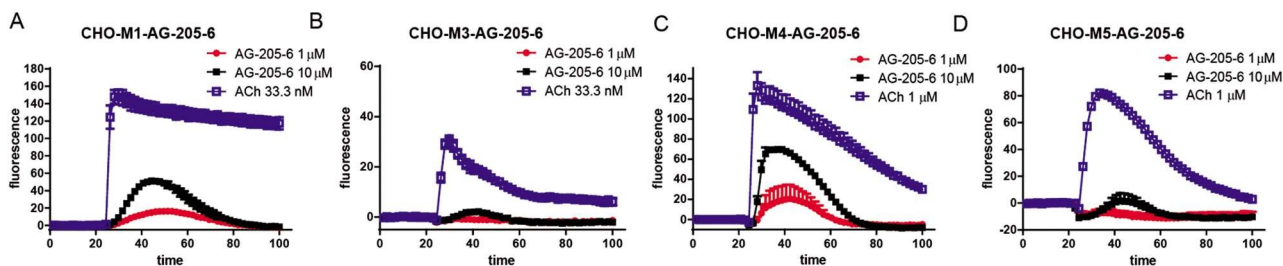


图3 AG-205-6 诱导不同 M 受体亚型 CHO 细胞内钙流变化

Fig.3 AG-205-6-induced Ca^{2+} responses in different muscarinic receptor CHO cells

Note: A represents AG-205-6-induced Ca^{2+} responses in CHO-M1 cells; B represents AG-205-6-induced Ca^{2+} responses in CHO-M3 cells; C represents AG-205-6-induced Ca^{2+} responses in CHO-M4 cells; D represents AG-205-6-induced Ca^{2+} responses in CHO-M5 cells.

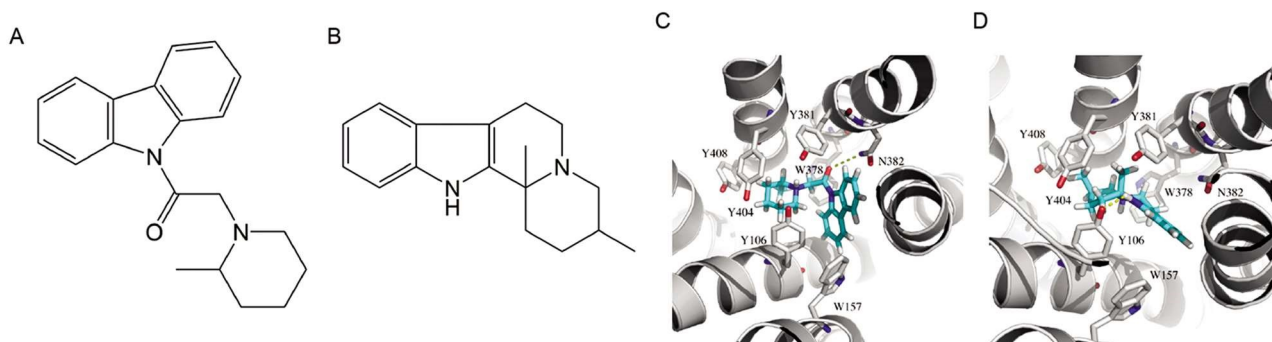


图4 AJ-292 和 AG-205-6 结构式以及对 M1 受体的别构激动模式图

Fig.4 The molecular docking of two compounds with M1 receptor

Note: A is the structure of compound AJ-292; B is the structure of compound AG-205-6; C is the molecular docking of AJ-292 with M1 receptor; D is the molecular docking of AG-205-6 with M1 receptor.

3 讨论

M1 受体与阿尔茨海默病等多种重大疾病密切相关^[12], M1 受体作为 M 受体 5 种亚型中的一种, 在前额和海马内分布量最大, 尤其在海马组织中约占 M 受体总密度的 50%, 参与多种高级认知活动^[13-15]。研究表明 M1 受体与学习记忆存在密切关系: M1 受体基因敲除可导致或加重学习记忆功能障碍; 还可对抗 AD 模型小鼠的认知功能障碍; 另外, 临床研究发现特异性激动 M1 受体能有效改善阿尔茨海默病和精神分裂症的认知障碍^[16-22]。至今, 已有多种 M1 受体激动剂进入临床研究, 如占诺美林 (Xanomeline)、沙考美林 (Sabcomeline) 和西维美林 (Cevimeline) 等。然而, 由于这些药物主要针对正构位点发挥作用, 对受体亚型选择性差, 在作用于 M1 受体的同时, 可通过影响

其他亚型的 M 受体而引起胆碱能不良反应^[2]。因此, 提高亚型选择性是该类药物研发的主要方向。相对正构位点而言, M 受体各亚型间别构位点的氨基酸序列保守程度低, 更易于实现受体亚型的选择, 通过别构位点增加选择性进行相关药物的研发在配体门控离子通道方面已经非常成功^[23]。比如苯二氮卓类药物就是一类经典的 γ -氨基丁酸受体 A 亚型的选择性正向别构调控配基, 在对抗焦虑及失眠等症状的长期临床应用中体现出高效安全性和有效性^[24]。M1 受体表面也存在别构结合位点, 通过对别构结合位点的筛选有望获得具有高亚型选择性的调控配基, 这也成为相关药物研发的突破口^[25,26]。

本研究通过 M1 晶体结构与已确定的 M1 别构调控激动剂 Brucine、TBPB-36t、VU0364572 和 VU0448350 等化合物进行分子对接, 确定了可能的 M1 胆碱受体别构结合位点: Y404、

Y85、Y82、W400 和 S184 等。根据以上结合位点信息,对化合物库进行虚拟筛选,最终获得 184 个化合物,并进行体外活性研究,筛选出具有相对高选择性的化合物 AJ-292 和 AG-205-6。当两种化合物的浓度为 10 μ M 时,可以明显激动 M1 受体,虽然由于 CHO-M2 细胞的缺失未进行检测,但对 CHO-M3、CHO-M4 和 CHO-M5 细胞的检测表明这两个化合物对 M3、M4 和 M5 受体的作用较小或没有,而这两个化合物与 M1 受体的分子对接也表明它们与 M1 受体的别构位点有相互作用,在前述识别的别构位点组成的对接口袋接合良好。因此可对 AJ-292 和 AG-205-6 的化学骨架进一步分析和改造,有望获得具有 M1 受体高选择性别构激动作用的候选化合物。

综上所述,本研究筛选出了 2 个潜在的具有 M1 选择性的化合物结构,其在 10 μ M 的浓度下对 M1 表现出较好的激动效果,而对其他亚型作用较小。基于此,我们将进一步对这两个化合物进行化学结构的优化和改造,以获得具有更高 M1 受体相对选择性的化合物。

参考文献(References)

- [1] Bubser M, Byun N, Wood MB, et al. Muscarinic Receptor Pharmacology and Circuitry for the Modulation of Cognition [M]. In: Fryer A, Christopoulos A, Nathanson N (Eds) Muscarinic Receptors. Handbook of Experimental Pharmacology. Springer, Berlin, Heidelberg, 2012, (208): P.121-166
- [2] McArthur RA1, Gray J, Schreiber R. Cognitive effects of muscarinic M1 functional agonists in non-human primates and clinical trials[J]. Curr Opin Investig Drugs, 2010, 11(7): 740-760
- [3] Bock A, Schrage R, Mohr K. Allosteric modulators targeting CNS muscarinic receptors[J]. Neuropharmacology, 2017, S0028-3908(17) 30441-0
- [4] Kruse AC, Kobilka BK, Gautam D, et al. Muscarinic acetylcholine receptors: novel opportunities for drug development [J]. Nat Rev Drug Discov, 2014, 13(7): 549-560
- [5] Conn PJ, Lindsley CW, Meiler J, et al. Opportunities and challenges in the discovery of allosteric modulators of GPCRs for treating CNS disorders[J]. Nat Rev Drug Discov, 2014, 13(9): 692-708
- [6] Berman HM, Westbrook J, Feng z, et al. The protein data bank[J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28(1): 235-242
- [7] Friesner RA, Banks JL, Murphy RB, et al. Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy[J]. J Med Chem, 2004, 47(7): 1739-1749
- [8] Birdsall NJ, Farries T, Gharagozloo P, et al. Subtype-selective positive cooperative interactions between brucine analogs and acetylcholine at muscarinic receptors: functional studies[J]. Mol Pharmacol, 1999, 55 (4):778-786
- [9] Keov P, López L, Devine SM, et al. Molecular mechanisms of bitopic ligand engagement with the M1 muscarinic acetylcholine receptor[J]. J Biol Chem, 2014, 289(34): 23817-23837
- [10] Digby GJ, Utley TJ, Lamsal A, et al. Chemical modification of the M (1) agonist VU0364572 reveals molecular switches in pharmacology and a bitopic binding mode [J]. ACS Chem Neurosci, 2012, 3(12): 1025-1036
- [11] Panarese JD, Cho HP, Adams JJ, et al. Further optimization of the M1 PAM VU0453595: Discovery of novel heterobicyclic core motifs with improved CNS penetration[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2016, 26 (15): 3822-3825
- [12] Jiang S, Li Y, Zhang C, et al. M1 muscarinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease[J]. Neurosci Bull, 2014, 30(2): 295-307
- [13] Butcher AJ, Bradley SJ, Prihandoko R, et al. An antibody biosensor establishes the activation of the M1 muscarinic acetylcholine receptor during learning and memory [J]. J Biol Chem, 2016, 291 (17): 8862-8875
- [14] Carruthers SP, Gurvich CT, Rossell SL. The muscarinic system, cognition and schizophrenia [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2015, 55: 393-402
- [15] Langmead CJ, Watson J, Reavill C. Muscarinic acetylcholine receptors as CNS drug targets[J]. Pharmacol Ther, 2008, 117(2): 232-243
- [16] Tsang SW, Lai MK, Kirvell S, Francis PT, et al. Impaired coupling of muscarinic M1 receptors to G-proteins in the neocortex is associated with severity of dementia in Alzheimer's disease[J]. Neurobiol Aging, 2006, 27(9): 1216-1223
- [17] Potter PE, Rauschkolb PK, Pandya Y, et al. Pre- and post-synaptic cortical cholinergic deficits are proportional to amyloid plaque presence and density at preclinical stages of Alzheimer's disease [J]. Acta Neuropathol, 2011, 122(1): 49-60
- [18] Budzik B, Garzya V, Shi D, et al. Novel N-Substituted Benzimidazolones as Potent, Selective, CNS-Penetrant, and Orally Active M1 mAChR Agonists[J]. ACS Med Chem Lett, 2010, 1(6): 244-248
- [19] Watt ML, Schober DA, Hitchcock S, et al. Pharmacological characterization of LY593093, an M1 muscarinic acetylcholine receptor-selective partial orthosteric agonist[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2011, 338 (2):622-632
- [20] Nathan PJ, Watson J, Lund J, et al. The potent M1 receptor allosteric agonist GSK1034702 improves episodic memory in humans in the nicotine abstinence model of cognitive dysfunction [J]. Int J Neuropsychopharmacol, 2013, 16(4): 721-731
- [21] Scarr E. Muscarinic M1 receptor agonists: can they improve cognitive performance [J]. Int J Neuropsychopharmacol, 2013, 16 (4): 717-720
- [22] Ridler K1, Cunningham V, Huiban M, et al. An evaluation of the brain distribution of [11C]GSK1034702, a muscarinic-1 (M1) positive allosteric modulator in the living human brain using positron emission tomography[J]. EJNMMI Res, 2014, 4(1): 66
- [23] Conn PJ, Christopoulos A, Lindsley CW. Allosteric modulators of GPCRs: a novel approach for the treatment of CNS disorders [J]. Nature Reviews Drugs Discovery, 2009, 8(1): 41-54
- [24] Möhler H, Fritschy JM, Rudolph U. A new benzodiazepine pharmacology[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2002, 300(1): 2-8
- [25] Yang K, Jackson MF, MacDonald JF. Recent progress in understanding subtype specific regulation of NMDA receptors by G Protein Coupled Receptors (GPCRs) [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(2): 3003-3024
- [26] Stevens RC, Cherezov V, Katritch V, et al. The GPCR Network: a large-scale collaboration to determine human GPCR structure and function[J]. Nat Rev Drug Discov, 2013, 12(1): 25-34