

用于改善认知障碍的靶向 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体正向变构调节剂的研发现状

王佳杰¹, 王新童², 李远恒¹, 焦文宣¹, 肖浩然¹, 孙崎^{1*}, 王克威^{2,3**}

(1. 北京大学药学院 天然药物与仿生药物国家重点实验室, 北京 100191; 2. 北京大学药学院分子细胞与药理学系, 北京 100191; 3. 青岛大学药学院药理学系, 山东 青岛 266021)

[摘要] 随着全球人口老龄化加剧, 阿尔茨海默病已成为威胁人类健康的重大疾病之一。目前尚无明显改善该病患者认知功能的药物, 是未被满足的医疗需求和极具挑战的研发方向。研究表明, 增强 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体 (nAChR) 功能可改善认知障碍和神经免疫功能。与激动剂的作用方式不同, $\alpha 7$ 正向变构调节剂 ($\alpha 7$ PAMs) 仅增强内源性乙酰胆碱递质激活 nAChR 的功能, 具有不易产生脱敏和潜在毒副作用较小的特点, 是潜在治疗阿尔茨海默病的新策略。结合文献和笔者所在课题组的近期研究工作, 重点介绍 $\alpha 7$ nAChR 及其正向变构调节剂 ($\alpha 7$ nAChR PAMs) 的结构与生物学评价, 以期推动能改善认知功能障碍的 $\alpha 7$ nAChR PAMs 的研发进程。

[关键词] $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体; 正向变构调节剂; 认知障碍

[中图分类号] R914.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2020) 08-0573-15

Current Landscape for Research and Development of $\alpha 7$ -Nicotine Acetylcholine Receptor Targeting Positive Allosteric Modulators for Improvement of Cognitive Impairment

WANG Jiajie¹, WANG Xintong², LI Yuanheng¹, JIAO Wenxuan¹, XIAO Haoran¹, SUN Qi¹, WANG Kewei^{2,3}

(1. State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China; 2. Department of Molecular and Cellular Pharmacology, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China; 3. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Qingdao University, Qingdao 266021, China)

[Abstract] With the aggravation of global problem of aging, Alzheimer's disease has become one of the major threats of human health. At present, there are no effective drugs that can significantly improve cognitive function of patients with Alzheimer's disease, which presents an unmet medical need and an extreme challenge. Studies have shown that enhancing $\alpha 7$ -nicotine acetylcholine receptor (nAChR) function can improve cognitive impairment and neuroimmunity. Distinct from agonists, $\alpha 7$ positive allosteric modulators ($\alpha 7$ PAMs) enhance the function of nAChR only in the presence of endogenous transmitter acetylcholine, and are also characterized by less desensitization and potential toxic and side effects. Therefore, targeting $\alpha 7$ by PAMs emerges as a new strategy for potential treatment of Alzheimer's disease. This review focuses on recent literature and our research progress on the discovery of $\alpha 7$ nAChR PAMs and their biological evaluation, which is expected to promote the research and development of novel $\alpha 7$ nAChR PAMs for improvement of cognitive impairment common to neuropsychiatric disorders.

[Key words] $\alpha 7$ nicotine acetylcholine receptor; positive allosteric modulator; cognitive impairment

接受日期: 2020-01-03

项目资助: 国家自然科学基金资助项目 (No. 21572011, No. 81973169, No. 81573410); 科技部重大新药创制课题 (No. 2013CB531302)

*** 通讯作者:** 孙崎, 教授;

研究方向: 离子通道药物研究;

Tel: 010-82805549; **E-mail:** sunqi@bjmu.edu.cn

**** 通讯作者:** 王克威, 教授;

研究方向: 1) 离子通道靶标确认与功能评价, 2) 基于离子通道靶标的新药研发;

Tel: 0532-82991070; **E-mail:** wangkw@qdu.edu.cn

1 阿尔茨海默病的临床表现及治疗困境

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD), 即老年痴呆症, 是一种进行性发展的神经退行性疾病。其主要临床表现为认知和记忆功能不断恶化, 日常生活能力进行性减退, 并伴有各种神经精神症状和行为障碍。随着人口老龄化加剧, 中国 AD 致死人数由 2005 年的第 8 位上升到 2017 年第 5 位, 达到 45 万人左右。2005—2017 年的 13 年间, 从死因死亡数变化看, AD 致死率增长了 62.4%^[1]。2018

年9月,国际AD协会在官网上发布了2018年年度报告^[2],2018年的主题为“3秒钟”,旨在提醒人们每3秒将新增1名痴呆患者。到2030年,预计罹患AD的全球人数将超过7000万人,治疗花费将高达2万亿美元并成为首位的医疗负担。目前,临床一线使用药物为旨在增加内源性乙酰胆碱神经递质的乙酰胆碱酯酶抑制剂,如他克林、多奈哌齐、加兰他敏等,以及N-甲基-D-天门冬氨酸受体阻滞剂美金刚。遗憾的是这两类药物只能缓解轻微AD患者的病情,同时还会导致较为严重的副作用,如患者容易产生幻觉、意识混沌、头晕、头痛以及疲倦等不良反应;加兰他敏甚至可以导致Stevens-Johnson综合征、急性全身发疹性脓疱病和其他较严重的皮肤反应(如多形性红斑)。此外,脑细胞代谢激活剂、脑血液循环促进剂等也仅用于其临床的辅助治疗。

2003—2014年的12年间,几乎所有的新药研发都是靶向剪切 β -淀粉样前体蛋白(β -amyloid precursor protein, APP)而产生 $A\beta_{1-42}$ 短肽的 β -和 γ -分泌酶^[3-4]。许多在早期研发阶段表现出极具潜力的候选药物在III期临床均惨遭失败,其中包括辉瑞/强生和礼来各自投资超过10亿美元的单抗药物bapineuzumab和solanezumab以及罗氏研发的单抗gantenerumab。这些实验性药物虽然可以延缓或阻止 β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, $A\beta$)的聚集,但对患者的认知或者记忆并无益处。有关AD的 $A\beta$ 假说也因此受到质疑^[5]。一项发表于2016年的研究提示从源头上减少 $A\beta$ 似乎并不能有效地治疗AD,该研究发现, $A\beta$ 是大脑感染后的免疫应激反应; $A\beta$ 在大脑细胞组织中扮演有益的角色,而非破坏者; $A\beta$ 将入侵大脑的病毒、细菌和真菌等包裹起来,并将有害的病原体聚集成块儿,防止它们感染伤害大脑^[6]。

2 阿尔茨海默病的治疗新学说及临床药物研究进展

近5年来,出现了AD的多种致病学说或治疗策略,给处于“严冬”中的AD治疗药物研发带来了机遇和一线希望。这些学说包括:1) tau蛋白磷酸化^[7]。研究提示,tau蛋白磷酸化起初对神经元具

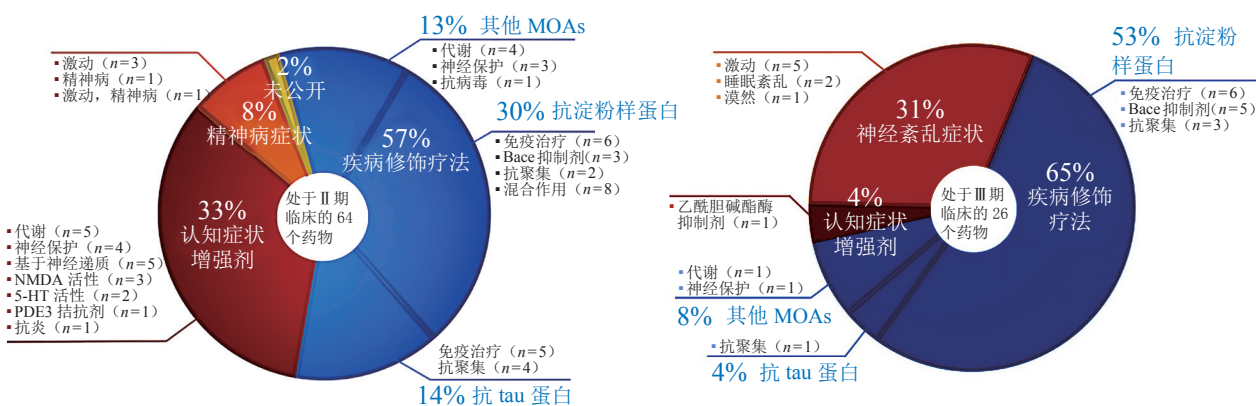
有保护作用,而 $A\beta$ 攻击tau蛋白的保护功能直到其功能逐渐丧失。研究人员发现,激酶p38 γ 的蛋白协助tau蛋白发生保护性的磷酸化修饰和干扰 $A\beta$ 产生的毒性。2) 基因突变学说。在TREM2^[8]和CD33^[9]基因突变的基础上,科学家还发现早发型AD与21号染色体上的基因有关,特别是APP基因和位于1号、14号上的PS1和PS2(早老素)基因^[10]。3) 脑膜淋巴管功能障碍^[11]。AD小鼠中发现了脑膜淋巴管障碍,因此,脑膜淋巴管有望成为预防和治疗AD的理想靶标之一。4) 病毒感染学说^[12]。Dudley教授团队在AD患者大脑样本中发现,人类疱疹病毒(HHV)6A和7的水平明显上升,且与AD呈正相关。5) 细菌感染学说^[13]。加州大学旧金山分校的Stephen Dominy博士领导的团队发现,引起牙周炎的牙龈卟啉菌同样会导致AD。在该研究中,研究者先是在AD患者的大脑中检测到了牙龈卟啉菌的存在,又通过小鼠实验证实牙龈卟啉菌进入大脑后释放牙龈蛋白酶。牙龈蛋白酶具有帮助细菌定植、压制宿主免疫系统以及破坏组织等多种作用,并对很多细胞具有毒性。6) 运动学说^[14-15]。科学家们通过研究鉴别出了一种运动相关的激素——鸢尾素(irisin)。研究者表示,鸢尾素是一种因运动/锻炼而产生的机体激素,其在大脑功能上扮演着关键角色,AD患者机体中携带的鸢尾素水平较低,该激素或能帮助有效减缓AD的进展。7) $A\beta$ 堵塞细胞间隙诱发AD^[16]。科学家通过磁示踪成像技术研究发现, $A\beta$ 的聚集可导致脑部神经元周围微环境阻塞,诱发其细胞间隙内的类淋巴液流动困难,致使代谢废物、激素、营养物质等无法顺利在细胞周围进行交换,失去应有的功能,从而造成深层海马神经元死亡,空间记忆缺失。同时研究还证实,应用纳米红光粉碎在脑中由 $A\beta$ 沉积而成的老年斑,可再次疏通细胞外间隙,恢复细胞间液的流动,从而挽救受损的记忆。8) 肠道菌群紊乱导致的老年痴呆^[17]。研究人员发现,AD模型小鼠的肠道细菌组成明显不同于健康小鼠,调节肠道菌群极有可能成为预防和延缓AD的新方法。9) 小胶质细胞参与引起免疫系统失衡而导致的慢性神经炎症^[18]。小胶质细胞是胚胎造血起源的中枢神经系统常驻髓细

胞。与大多数组织巨噬细胞一样,小胶质细胞会寻找大脑中的病原体,并支持中枢神经系统的稳态和可塑性。截至目前,有证据表明小胶质细胞在AD发病机制中既可发挥有益作用也会带来有害作用。在AD早期,它们可以监控并清除死细胞及具有毒性的 β -样淀粉斑和tau结,但到了AD后期,慢性发炎的小胶质细胞可能在清除碎屑方面变得失去效力,反而喷出有害的细胞因子来破坏附近的神经元,这无疑会加重AD的症状^[19]。

相对于其他新的学说,调节肠道菌群治疗AD的药物研发取得了突破性的进展。2018年7月,由中国海洋大学管华诗院士团队、中国科学院上海药物研究所耿美玉教授团队和上海绿谷制药联合研发的甘露寡糖二酸(GV-971)在中国完成了III期

临床试验,其可以通过调节肠道菌群失衡、重塑机体免疫稳态,进而降低脑内神经炎症,阻止AD病程进展^[20]。2019年下半年,GV-971虽在中国获批上市,但其疗效仍需进行长时间临床观察和统计。此外,目前处于美国II、III期临床的多个小分子药物,如色甘酸-布洛芬的组合(ALZT-OP1)、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)、米诺环素(minocycline)、VX-745(neflamapimod)、吡格列酮(pioglitazone)、沙利度胺(thalidomide)等,其抗AD活性均与抑制神经炎症的作用机制相关。

目前,从II、III期临床试验阶段的药物的作用机制看,提高认知症状是AD治疗药物研发的活跃领域(见图1紫色部分)。



MOAs: mechanisms of action (作用机制); 5-HT: 5-hydroxytryptamine (5-羟色胺); NMDA: *N*-methyl-*D*-aspartic acid (*N*-甲基-*D*-天门冬氨酸); PDE3: phosphodiesterases 3 (磷酸二酯酶 3); Bace: β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme (β 位淀粉样前体蛋白裂解酶)

图 1 目前 II、III 期临床试验阶段治疗阿尔茨海默病药物的作用机制^[21]

Figure 1 Mechanisms of action of agents for treatment of Alzheimer's disease in phases II and III clinical trials^[21]

3 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体变构调节剂及其改善认知障碍作用

3.1 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体特点及调节剂的类型

$\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体 ($\alpha 7$ nAChR) 是同源五聚体跨膜蛋白组成的配体门控离子通道超家族的成员,该超家族类似的受体还包括 5-羟色胺 (5-HT₃) 受体和 GABA_A 等受体^[22]。 $\alpha 7$ 受体具有高钙离子通透性 (PCa : PNa 约为 10), 调节钙的活化和乙酰胆碱递质的释放, 直接影响认知和记忆功能。 $\alpha 7$ nAChR 分布在海马和相关皮层, 敲除 $\alpha 7$ nAChR 会导致小鼠注意力不集中和学习能力下降等现象^[23]。

基于 AD 致病机制的胆碱能缺陷假说, 提高胆

碱能神经系统的功能仍是目前抗 AD 药物研发的主要策略, 体现在增强胆碱能神经系统的功能靶向 $\alpha 7$ nAChR 的新型激动剂和正向变构调节剂的研发。

EVP-6124 是选择性部分激动 $\alpha 7$ nAChR 的最具代表性化合物^[24], 其在大鼠模型中能很好地透过血脑屏障, 在其治疗精神分裂症的 II 期临床试验中显示了明显改善认知功能和阴性症状 (如感情淡漠、思维混乱等) 的功效^[25]。但 III 期临床试验结果表明, EVP-6124 在提高试验对象的认知水平方面并未表现出比安慰剂更好的效果。2015 年 9 月 FDA 在其治疗 AD 的 III 期临床试验中报告了胃肠道副作用^[26], 2016 年 3 月 24 日, FORUM Pharmaceuticals 公司正

式宣布其 III 期临床试验失败, 研发终止^[27]。

研究人员于 1965 年初次提出了变构调节的概念, 用来解释抑制剂不是底物空间类似物时特定酶在代谢途径活性的反馈抑制^[28-30]。1965 年, 科学家们发现可以将 Monod-Wyman-Changeux (MWC) 模型 (见图 2^[31]) 应用于神经递质受体^[32]。从药理学角度来看, 受体可被认为具有 3 个关键的结合位点 (见图 2^[31]): 1) 内源或合成激动剂、竞争性拮抗剂结合的正构位点 (orthosteric sites); 2) 生物活性位点; 3) 变构位点 (allosteric sites)。

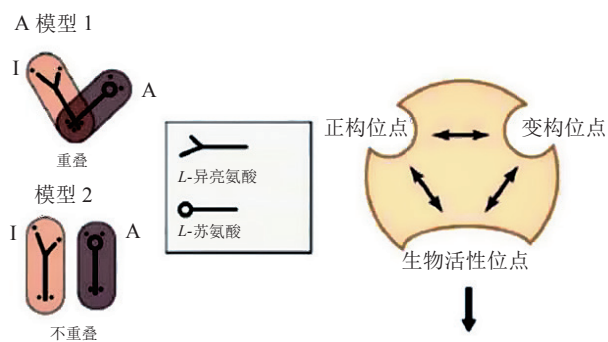


图 2 Monod-Wyman-Changeux 模型^[31]

Figure 2 Monod-Wyman-Changeux model^[31]

对于 $\alpha 7$ nAChR, 正构位点区别于变构位点, 激动剂或部分激动剂必须与受体结合且使受体产生离子传导的构象; 与变构位点结合的配体则不能单独激活受体, 而是通过改变与功能构象相关的能量屏障来调节激动剂诱发的反应^[33]。即变构调节剂与受体结合后不会使通道开放, 而在激动剂存在的情况下会调节受体的开放程度, 表现在电生理上即对激动剂引发的电流大小产生影响。根据影响的方

向可将变构调节剂分为正向变构调节剂 (positive allosteric modulator, PAM)、负向变构调节剂 (negative allosteric modulator, NAM, 即非竞争性抑制剂) 和沉默变构调节剂 (silence allosteric modulator, SAM)^[34]。SAM 本身对激动剂的电流没有调节作用, 但是由于和 PAM、NAM 等竞争变构调节位点, 因此可以减弱或屏蔽 PAM、NAM 的变构调节作用。此处只介绍 $\alpha 7$ nAChR 正向变构调节剂 ($\alpha 7$ nAChR PAMs)。

不同于激动剂, $\alpha 7$ nAChR PAMs 通过内源性递质提高受体的功能表达。由于其不直接作用于受体, 不易产生脱敏现象, 潜在的毒副作用也会大大下降^[33, 35]。根据文献, $\alpha 7$ nAChR PAMs 具有增加学习记忆的作用^[36]。实验表明: 缺乏 $\alpha 7$ nAChR 亚基的小鼠与含有该亚基小鼠的对照组相比, 在水迷宫实验中学习记忆能力降低。

根据目前的文献报道, $\alpha 7$ nAChR PAMs 可分为 I 型和 II 型两类。I 型 PAM 只会增大 $\alpha 7$ 电流的峰值, 并不会影响通道的脱敏速度; 而 II 型 PAM 不仅会增大 $\alpha 7$ 电流峰值, 还会减缓 $\alpha 7$ nAChR 脱敏速度, 延长通道的开放时间 (见图 3^[37])。II 型 PAM 呈现缓慢的反应衰减动力学特征, 甚至能够激动已被高浓度激动剂作用脱敏的受体。目前能进入临床研究阶段的基本都是 I 型 PAM, II 型 PAM 由于导致 $\alpha 7$ nAChR 过度开放而产生神经细胞毒性, 因而很难进入临床研究阶段。另外, 随着不断的探索, 目前还确定了作用效果介于二者之间的 PAM^[38-39]。

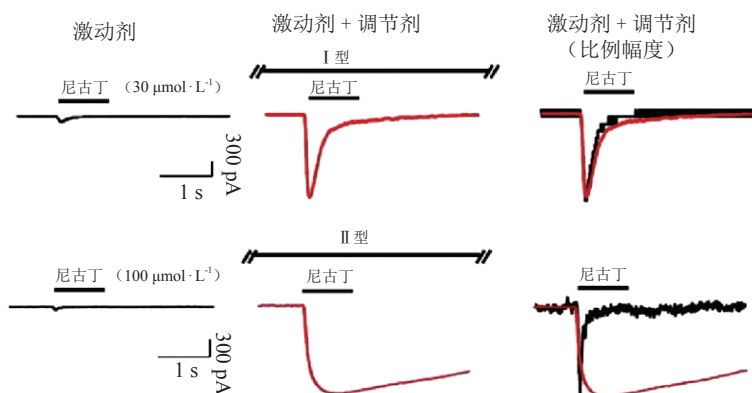


图 3 I 型和 II 型正向变构调节剂对 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体电流失活动力学影响的差异

Figure 3 Comparison between types I and II positive allosteric modulators on desensitization kinetics of $\alpha 7$ nAChR currents

目前对于PAM的变构调节机制有很多种解释, 其中一种解释是, PAM降低了 $\alpha 7$ nAChR 关闭态和开放态之间的能垒, 因此通道更容易从关闭态进入开放态, 即 $\alpha 7$ nAChR 对 ACh 更敏感, 图 4 中实线和虚线分别代表无 PAM 和有 PAM 作用下 $\alpha 7$ nAChR 的关闭态和开放态之间的能垒。大圆点代表激动剂, 小圆点表示通道通透的阳离子。另一种解释是, 如图 5 所示, PAM 可以使 $\alpha 7$ nAChR 的脱敏态时的构象变得不稳定, 因此通道更倾向于处于开放态的构象^[36-37, 40]。

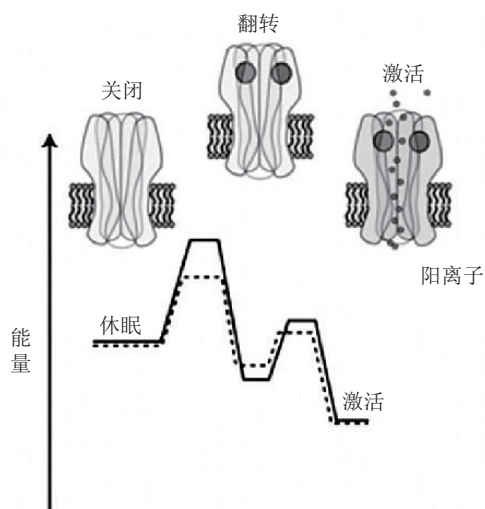


图 4 正向变构调节剂对于 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体关闭态和开放态之间能垒的影响^[37]

Figure 4 Effects of positive allosteric modulator on the energy barrier between closed and open states of $\alpha 7$ nAChR^[37]

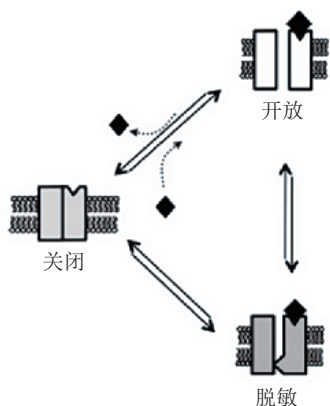


图 5 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体的关闭态、开放态和脱敏态之间的相互转换^[37]

Figure 5 Interchange between closed, open and desensitized states of $\alpha 7$ nAChR^[37]

3.2 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体参与的神经抗炎机制研究

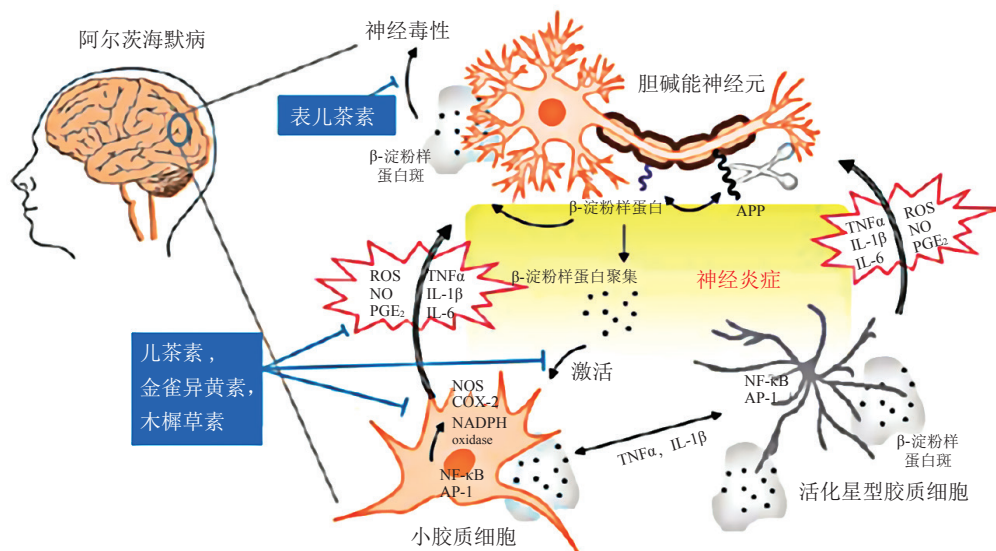
$\alpha 7$ nAChR 也分布于中枢神经的免疫细胞中, 其中包括小胶质细胞。小胶质细胞是中枢神经系统中主要的免疫效应细胞和数量最多的“巨噬细胞”, 具有内源性免疫防御功能, 约占脑内所有胶质细胞的 5%~20% (见图 6^[41])。小胶质细胞具有分泌炎症因子、细胞因子和神经营养因子等作用, 参与脑内的先天性免疫应答, 是中枢神经系统抵御外界刺激的第一道防线^[42-43]。活化的小神经胶质细胞可以通过释放自由基、细胞因子和毒性因子引起神经元直接或间接损伤, 从而加重了炎症反应的强度^[44]。Tracey^[45] 最早系统阐明了关于 $\alpha 7$ nAChR 在炎症中的作用, 提出了胆碱能抗炎途径是免疫系统和神经系统之间的潜在联系 (见图 7^[46])。激动 $\alpha 7$ nAChR 的活性可以抑制神经炎症, 靶向神经炎症中的免疫机制通路可能成为未来治疗或预防 AD 的策略^[47]。

3.3 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体正向变构调节剂的结构及活性

近年来, 科研工作者们致力于探寻活性高且毒性低的 $\alpha 7$ nAChR PAMs, 最初发现的 I 型 $\alpha 7$ nAChR PAM 多来源于现有的、具有其他活性和机制的化合物 (**1a**~**1d**, 见图 8), 抗寄生虫药 **1a** (伊维菌素, IVM) 是首个被定义为 $\alpha 7$ nAChR PAM 的化合物, 其可增强 ACh 的最大电流并稍稍减少脱敏时长^[48]。随后乙酰胆碱酯酶抑制剂 **1b** (加兰他敏) 被报道可以增强 ACh 对 $\alpha 7$ nAChR 的效应电流^[49]。

“第 1 代” $\alpha 7$ nAChR PAM 普遍缺少理想的效能、作用强度及选择性。例如, IVM 无受体亚型选择性^[50]; 加兰他敏仅有较弱的 PAM 作用且无选择性^[51], 并且通过抑制乙酰胆碱酯酶发挥的双重机制发挥改善认知的作用; 化合物 **1c** (5-羟色胺) PAM 作用较弱且需要较高的浓度 ($1\sim 20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 来增强激动剂电流, 并同时调节 5-HT₃ 受体; 黄酮类酪氨酸激酶抑制剂 **1d** (金雀异黄素) 的选择性与活性也并不理想^[52]。

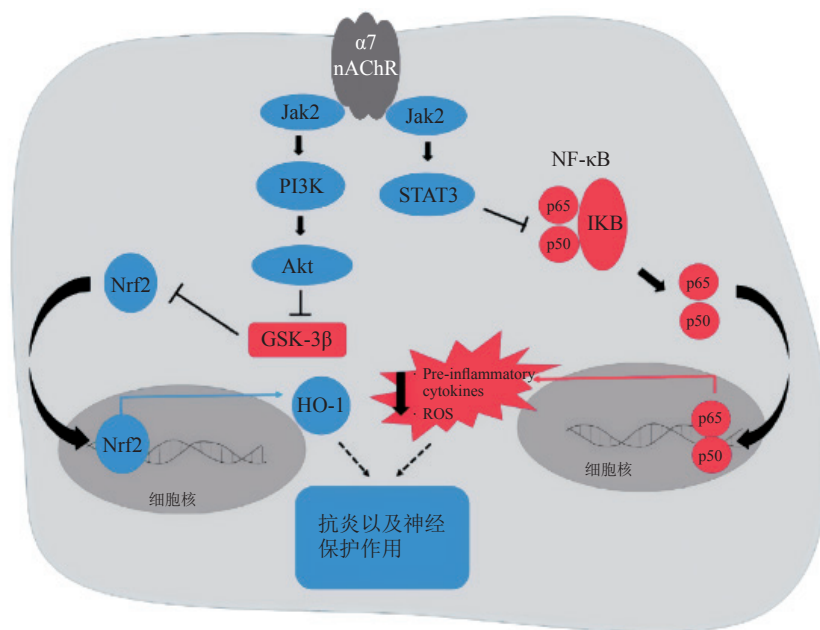
为改善“第 1 代”PAM 的不足, 越来越多的具有不同作用强度和选择性的小分子被相继报道 (**2aa**~**2ak**, 见表 1)。



ROS: reactive oxygen species (活性氧簇); NO: nitric oxide (一氧化氮); PGE₂: prostaglandin E₂ (前列腺素 E₂); IL-6: interleukin-6 (白介素-6); IL-1β: interleukin-1β (白介素-1β); TNFα: tumor necrosis factor α (肿瘤坏死因子 α); APP: amyloid precursor protein (淀粉样前体蛋白); NF-κB: nuclear factor kappa B (核因子 κB); AP-1: activator protein 1 (激活子蛋白-1); COX-2: cyclooxygenase-2 (环氧化酶-2); NADPH oxidase: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶); iNOS: inducible nitric oxide synthase (诱导型一氧化氮合酶)

图 6 神经炎症和阿尔茨海默病的关系

Figure 6 The relationship between neuroinflammation and Alzheimer's disease



Jak2: Janus kinase 2 (Janus 蛋白酪氨酸激酶 2); STAT3: signal transducer and activator of transcription (信号转导子和转录激活子 3); NF-κB: nuclear factor kappa B (核因子 κB: 一个转录因子蛋白家族, p65 和 p50 为其的 2 个亚单位); IKB: inhibitor of NF-κB (NF-κB 抑制剂); PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase (磷脂酰肌醇 3-激酶); Akt: serine-threonine kinase (丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶); GSK-3β: glycogen synthase kinase-3β (糖原合成酶激酶-3β); Nrf2: nuclear factor erythroid-2 related factor 2 (核因子 E2 相关因子 2); HO-1: heme oxygenase-1 (血红素加氧酶-1); pre-inflammatory cytokines-ROS: pre-inflammatory cytokines-reactive oxygen species (促炎性细胞因子-活性氧簇)

图 7 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体激活的抗炎级联反应

Figure 7 Anti-inflammatory cascade activated by $\alpha 7$ nAChR

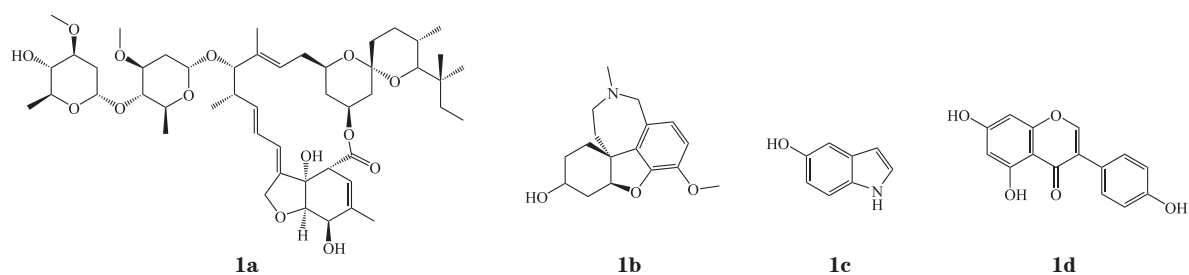


图 8 典型的 I 型 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体正向变构调节剂

Figure 8 Typical type I $\alpha 7$ nAChR positive allosteric modulators

表 1 文献报道的重要 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体正向变构调节剂的结构与活性

Table 1 Structure and activity of important $\alpha 7$ nAChR positive allosteric modulators reported in literature

化合物序号	结构式	PAM 类别	E_{max}	$EC_{50}/\mu mol \cdot L^{-1}$
2aa (PNU-120596) ^a		II 型	625% \pm 165%	
2ab (NS-1738) ^a		I 型	322%	3.4
2ac (LY-2087101)		I 型		
2ad (TQS) ^a		II 型	418% \pm 25%	5.5 \pm 0.2 ^c
2ae (4BP-TQS) ^a		II 型	4 500% \pm 800%	17 \pm 31.9
2af (CCMI, AVL3288) ^a		I 型	900%	0.7
2ag (SB-206553)		I 型		
2ah (JNJ-1930942) ^b		II 型	2 100% \pm 500%	1.9
2ai ^{[53]a}		I 型	770%	1.2
2aj ^{[54]a}		II 型	1 550% \pm 120%	6.9 \pm 0.9
2ak (A-867744) ^{[55]a}			5 200% \pm 200%	1.0 \pm 0.6

a: 测试方法为双电极电压钳; b: 测试方法为全细胞电极电压钳; c: pEC_{50} 的值

化合物 **2aa** (PNU-120596) 是目前研究较充分的首个选择性豚类 II 型 $\alpha 7$ nAChR PAM, 由辉瑞公

司开发, E_{max} 为 625% \pm 165%^[56]。体内研究显示, 该化合物可以改善由苯丙胺诱发的大鼠感觉门控障

碍, 改善在啮齿类短期认知记忆模型中的表现, 并且增加 cAMP 反应元件结合蛋白的磷酸化 (cAMP response element-binding protein, CREB), 这一生化过程被公认为与学习和记忆有关^[57]。然而, 通过实验结果可以看出尽管 PNU-120596 增强了乙酰胆碱酯酶抑制剂在啮齿类动物和非人类灵长类动物中的认知作用, 但由于钙离子流入过多而导致其具有潜在的毒性作用, 因此无法进入临床试验。

Timmermann 等^[58] 针对是否具有 $\alpha 7$ nAChR 的变构调节活性, 对几千个化合物进行筛选, 得到化合物 **2ab** (NS-1738), 其 EC_{50} 为 $3.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; E_{max} 为 322%, 是一个典型的双芳基脒类衍生物, 对 $\alpha 7$ nAChR 表现为 I 型 PAM。化合物 **2aa** 与 **2ab** 同为脒类衍生物, 但与化合物 **2aa** 不同的是, 化合物 **2ab** 对 $\alpha 7$ nAChR 的脱敏动力学仅展现出边缘的影响, 表明这些分子可能有不同的作用机制或位点, 同时化合物 **2ab** 在缓解东莨菪碱引起的认知功能障碍时可增强激动剂效力。2-氨基-5 酮噻唑类衍生物 **2ac** (LY-2087101) 为 I 型 PAM^[59]; 四氢喹啉类衍生物 **2ad** (TQS) 与化合物 **2aa** 同为 II 型 PAM, 其 pEC_{50} 为 5.5, E_{max} 为 $418\% \pm 25\%$ ^[52]。但是将化合物 **2ad** 中的萘基转变为 4-溴-苯基后得到的化合物 **2ae** (4BP-TQS), 其 EC_{50} 为 $17 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, E_{max} 为 $4500\% \pm 800\%$ ^[60], 说明取代基的体积大小对于 PAM 活性具有一定的影响, 体积小的取代基对于 $\alpha 7$ nAChR 的亲合力更强, 活性更强, 这为今后的结构修饰提供了思路。

来自加利福尼亚大学欧文分校的研究人员从一个 GABA_A 受体 PAM 类似物的小型化合物库中筛选出了具有高度选择性的 I 型 PAM——化合物 **2af** (CCMI 或 AVL3288), 通过双电极电压钳测得其 EC_{50} 为 $0.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, E_{max} 为 900%^[61], 并且在啮齿类动物模型中, 该化合物可以在存在或不存在激动剂的情况下使用, 不仅能纠正感觉缺陷而且还能改善认知能力。2017 年, 化合物 **2af** 进入针对精神分裂症的 I 期临床试验, 这表明 I 型 PAM 可以安全地应用于人类, 并且对神经认知产生潜在的积极作用。文献报道的其他 PAM 还包括: 1) 化合物 **2ag** (SB-206553), 其最初作为 5-HT_{2B} 和 5-HT_{2C} 的拮抗剂被研究, 后来发现其能通过 I 型 PAM 的机制逆转由地卓西平 (dizocilpine,

MK-801) 诱导的前脉冲抑制 (PPI) 听觉门控缺陷^[38]; 2) 化合物 **2ah** (JNJ-1930942, II 型 PAM), 其 EC_{50} 为 $1.9 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; E_{max} 为 $2100\% \pm 500\%$ ^[39]。

化合物 **2aa** (II 型 PAM) 与化合物 **2ab** (I 型 PAM) 同属于脒类 $\alpha 7$ nAChR PAM, 但作用类型不同, 这种现象也体现在 2-芳氨基噻唑类化合物 **2ac** (I 型 PAM) 和 **2ah** (II 型 PAM) 上。说明 I 型和 II 型 PAM 的作用位点结构非常类似, 保持相同母核而改变不同取代基, 可以开发不同类型的变构调节剂, 作用类型可通过电生理信号或单通道膜片钳记录来确定。此外, 表 1 中化合物 **2ak** (A-867744) 于 2009 年被发现, 起初研究人员只是单纯地认为其是 II 型 PAM, 但随着近年不断地深入研究, 发现其在长时间使用时表现为 II 型 PAM, 但同时其也能像 I 型 PAM 那样, 以毫秒级的精确度跟踪短暂的激动剂释放脉冲。从治疗角度看, 化合物 **2ak** 的特殊性似乎很有利, 因为其具有一定 I 型 PAM 的性质使其在安全性方面比起常规的 II 型 PAM 要高, 但是科研工作者随后证明了在激动剂浓度的生理时空模式下 II 型 PAM 的作用可能存在很大差异, 也就是说, 当利用 $\alpha 7$ nAChR 的 PAM 作为前瞻性药物进行开发时, 有必要对作用机制进行更详细的研究^[62]。

尽管这些“第 2 代”PAM 在大体上提供了一定的效用和疗效, 但是一些 PAMs 依然缺少 $\alpha 7$ 受体选择性。例如, 化合物 **2af** 来自 GABA 化合物库, **2ag** 是 5-HT_{2B} 或 5-HT_{2C} 受体拮抗剂, **2ac** 同时也是 $\alpha 4\beta 2$ nAChR 和 $\alpha 4\beta 4$ nAChR 的 PAM; 此外, 化合物 **2ab**、**2ad**、**2ak** 展现出对 $\alpha 4\beta 2$ nAChR 和 $\alpha 3\beta 4$ nAChR 的抑制作用。增加 PAM 对 $\alpha 7$ nAChR 的选择性也将成为未来研究的主要方向之一。

4 笔者课题组在 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体正向变构调节剂研发方面的进展

笔者利用课题组发展的 10 余个新颖的多组分反应^[63-65]和金属催化偶联反应^[66-72], 合成了结构新颖的噻唑并杂环类化合物等。对噻唑环及环上 2-位的烷硫基简单修饰之后, 构建了一定种类和数量的化合物库。随后经离子通道靶点平台筛选, 发现结构新颖的苗头化合物 **3aa** (LD486), 并在其具有

$\alpha 7$ nAChR PAM 活性的基础上, 以噻唑 [4,5-*d*] 嘧啶-7(6*H*)-酮为母核进行了结构优化, 合成了多个系列近百个衍生物 (见图 9)。利用双电极电压钳的实验手段, 将人源 $\alpha 7$ nAChR 表达于非洲爪蟾卵母细胞中, 以 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乙酰胆碱 (ACh) 溶液激活 $\alpha 7$ 受体, 统计给予 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 待筛选化合物溶液前后, $\alpha 7$ 受体尖端电流 (即 $\alpha 7$ 电流最大信号) 的变化百分比, 由此评估待筛选化合物的 $\alpha 7$ nAChR 的 PAM 活性强弱。其中化合物 **3ea** (JWX-A1223) 在 ACh 浓度为 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的最大电流信号增加 $1633\% \pm 87\%$ ($n=5$, 见图 10A), 该化合物的 EC_{50} 为 $(1.26 \pm 0.18) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($n=5$), Hill 系数 (n_H) 为 1.85 ± 0.24 ($n=5$, 见表 2)。

靶点选择性研究发现, 化合物 **3ea** 对其他亚型 $\alpha 3\beta 4$ nAChR、 $\alpha 4\beta 2$ nAChR 和 5-HT_{3A} 无结合 (见图 10B), 具有专一性强的优点。另外, 初步毒性研究发现, 该化合物无明显的心脏 hERG (human Ether-a-go-go-Related-Gene, 一种表达于心肌细胞的、具有快速激活延迟整流特性的钾离子通道, 在心肌动作电位复极过程中发挥重要作用) 通道抑制作用。药动学和血脑屏障透过实验发现, 其脑组织分布浓度是血浆中的 2 倍以上。精神分裂症模型小鼠的 PPI 实验表明, 化合物 **3ea** 可以浓度依赖性地 (剂

量为 $0.1 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 恢复 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ MK-801 所造成的听觉门控失调 (见图 11)。化合物 **3ea** 作为 $\alpha 7$ nAChR 的 PAM, 活性好、专一性好、作用部位集中, 无明显针对 hERG 的心脏安全性风险, 且在动物实验中也展现了针对小鼠精神分裂症模型较好的恢复作用, 这对于后续该母核的进一步结构改造以及靶向 $\alpha 7$ nAChR 的正向变构调节剂类药物的研究都有着重要的意义。目前该研究结果已发表在权威药物化学杂志 *Journal of Medicinal Chemistry* 上, 并在其 2019 年第 1 期专刊——“变构调节剂”上发表^[73]。此外, 笔者课题组还对候选药物 **3ea** 进行了成药性评价, 申请了中国专利和国际 PCT 专利并获美国专利授权。

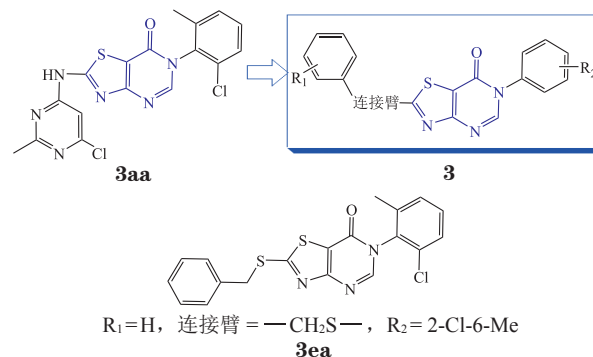
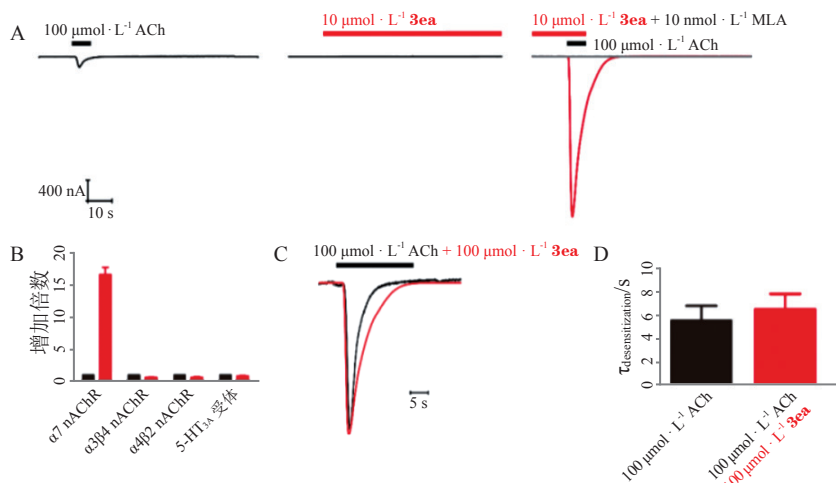


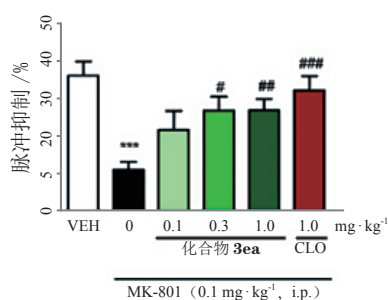
图 9 以噻唑 [4,5-*d*] 嘧啶-7(6*H*)-酮为母核的结构优化^[73]
Figure 9 Structural optimization of thiazolo [4,5-*d*] pyrimidin-7 (6*H*)-ones^[73]



ACh: 乙酰胆碱 ($\alpha 7$ nAChR 激动剂); MLA: 甲基牛偏亭 ($\alpha 7$ nAChR 拮抗剂); A: 单独给予 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ACh 引发的 $\alpha 7$ 电流 (左) 以及同时存在化合物 **3ea** 的 $\alpha 7$ 电流 (右), 最大尖端电流的倍数变化为 $1633\% \pm 87\%$; B: 孵育 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 化合物 **3ea** 后 $\alpha 7$ nAChR ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ACh 激活, $n=5$), $\alpha 3\beta 4$ nAChR ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ACh 激活, $n=5$), $\alpha 4\beta 2$ nAChR ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ACh 激活, $n=5$) 和 5-HT_{3A} 受体 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-HT 激活, $n=5$) 的倍数变化; C: $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ACh 激活的、有 (红) 无 (黑) 化合物 **3ea** 作用下同一标尺重叠后的 $\alpha 7$ 电流; D: 有无化合物 **3ea** 作用下 $\alpha 7$ 电流脱敏时间常数 ($\tau_{\text{desensitization}}$) 的比较 ($n=5$)

图 10 化合物 **3ea** 对爪蟾卵母细胞中表达的人源 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体功能的选择性增强作用^[73]

Figure 10 Selective enhancement of human $\alpha 7$ nAChR expressed in *Xenopus oocytes* by compound **3ea**^[73]

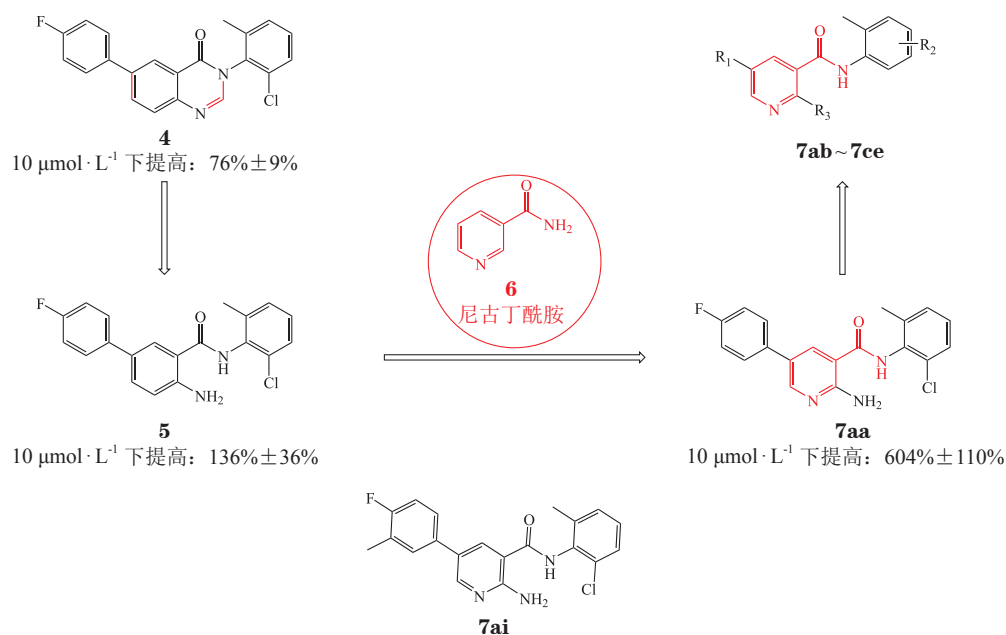


***: 与溶剂组对照, $P < 0.001$; #: 与只给予 MK-801 组对照, $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$, $^{\#\#\#}P < 0.001$; VEH: vehicle, 指未给 MK-801 和化合物 **3ea**, 只含有溶剂的对照组; CLO: clozapine (氯氮平), 治疗精神分裂的药物, 在实验中作为阳性药

图 11 化合物 **3ea** 对于前脉冲抑制损伤的小鼠的逆转效果^[73]

Figure 11 Reversion of compound **3ea** on the prepulse inhibition impairment in mice^[73]

此外, 笔者课题组最初对苗头化合物 **4** 进行修饰, 发现将母核换为吡啶环时化合物 **5** 的 PAM 活性显著提高, 而这种结构又是烟酰胺类似物 **6** (维生素 B3 酰胺化后的形式), 通过对其结构修饰,



注: 利用双电极电压钳的方法, 以 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乙酰胆碱激活 $\alpha 7$ nAChR, 图中展示了化合物 **4**、**5**、**7aa** 的 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 下变化倍数

图 12 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体正向变构调节剂的结构优化及代表化合物 **7ai**^[74]

Figure 12 Structural optimization of $\alpha 7$ nAChR positive allosteric modulators and the representative compound **7ai**^[74]

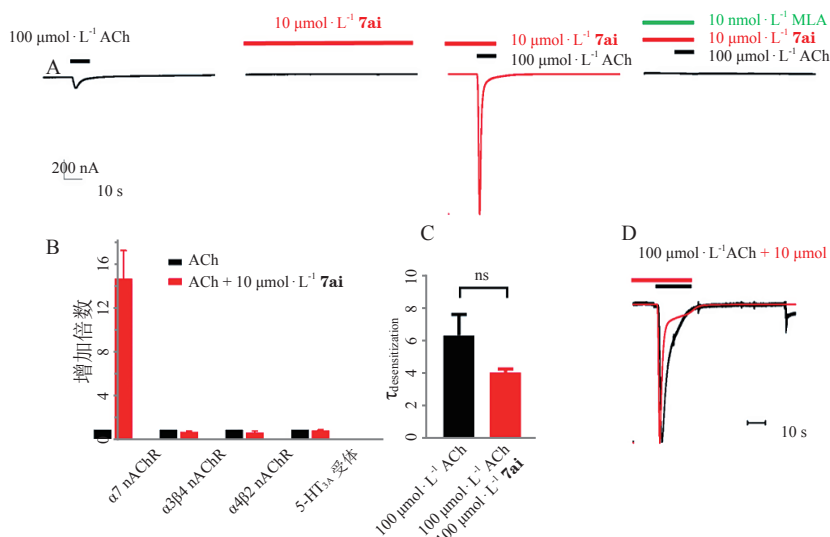
5 结语与展望

老年痴呆病的发病学说和新药研发是当前研究热点并充满挑战。近年来, 靶向于 $\alpha 7$ nAChR 提高学习认知能力、改善老年痴呆病症状, 已逐渐成为新的研发共识。

开发了一系列新的化合物 **7**; 利用相同的双电极电压钳手段评价后发现, 该系列化合物为 $\alpha 7$ nAChR 的 I 型 PAM (见图 12)。其中化合物 **7ai** 活性较强 [$\text{EC}_{50} = (3.34 \pm 1.13) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$], 在 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ach 作用下, $\alpha 7$ 电流的最大电流信号为 $1474\% \pm 246\%$ (见图 13 及表 2); 相对于其他 nAChR 和 5-HT_{3A} 受体亚型, 其对 $\alpha 7$ nAChR 具有高度特异性 (见图 13B)。综上所述, 通过对不同的苗头化合物进行深入的分析 and 母核改造, 笔者课题组得到了以化合物 **3ea** 和 **7ai** 为代表的两类不同母核的 $\alpha 7$ nAChR 的 I 型 PAM。除化合物 **3ea** 系列的噻唑 [4,5-*d*] 嘧啶-7(6*H*)-酮母核外, 活性好、作用受体单一的化合物 **7ai** 也为笔者课题组后续对于靶向于 $\alpha 7$ nAChR 的吡啶并嘧啶酮类母核的研发提供了新的思路。目前该研究结果已发表在 *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 上^[74]。

治疗老年痴呆的一种有效策略或方案; 2) 完成 1~2 个新型噻唑 [4, 5-*d*] 嘧啶-7(6*H*)-酮类小分子候选化

合物的临床前研究, 并推动进入临床试验用于改善老年痴呆症的认知障碍功能。



ACh: 乙酰胆碱 ($\alpha 7$ nAChR 激动剂); MLA: 甲基牛偏亭 ($\alpha 7$ nAChR 拮抗剂); A: 单独给予 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ACh 引发的 $\alpha 7$ 电流 (左) 以及同时存在化合物 **7ai** 的 $\alpha 7$ 电流 (右), 最大尖端电流的倍数变化为 1.474 ± 0.246 ; B: 孵育 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 化合物 **7ai** 后 $\alpha 7$ nAChR ($100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ACh 激活, $n=5$), $\alpha 3\beta 4$ nAChR ($100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ACh 激活, $n=5$), $\alpha 4\beta 2$ nAChR ($100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ACh 激活, $n=5$) 和 5-HT_{3A} 受体 ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5-HT 激活, $n=5$) 的倍数变化; C: $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ACh 激活的、有 (红) 无 (黑) 化合物 **7ai** 作用下同一标尺重叠后的 $\alpha 7$ 电流; D: 有无化合物 **7ai** 作用下 $\alpha 7$ 电流脱敏时间常数 ($\tau_{\text{desensitization}}$) 的比较 ($n=5$)

图 13 化合物 **7ai** 对爪蟾卵母细胞中表达的人源 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体功能的选择性增强作用^[74]

Figure 13 Selective enhancement of human $\alpha 7$ nAChR expressed in *Xenopus oocytes* by compound **7ai**^[74]

表 2 代表化合物 **3ea** 和 **7ai** 作用于 $\alpha 7$ 型尼古丁乙酰胆碱受体的正向变构调节活性参数

Table 2 The $\alpha 7$ nAChR positive allosteric modulation parameters of representative compounds **3ea** and **7ai**

化合物序号	结构式	母核	最大作用倍数	$EC_{50}/$ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Hill 系数 (n_H)	脱敏时间常数 ($\tau_{\text{desensitization}}$)/s
3ea ^[73]		噻唑 [4, 5- <i>d</i>] 嘧啶-7(6 <i>H</i>)-酮类	1.633 ± 0.87	1.26 ± 0.18	1.85 ± 0.24	6.54 ± 1.31
7ai ^[74]		吡啶酰胺类	1.474 ± 0.246	3.34 ± 1.13	1.67 ± 0.67	3.49 ± 0.50

【参考文献】

- [1] 殷鹏, 齐金蕾, 刘韞宁, 等. 2005—2017 年中国疾病负担研究报告 [J]. 中国循环杂志, 2019, 34(12): 1145-1154.
- [2] Anon. World Alzheimer Report 2018[R/OL]. [2020-01-03]. <https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2018.pdf>.
- [3] DeMattos R B, Bales K R, Cummins D J, et al. Peripheral antiA β antibody alters CNS and plasma A β clearance and decreases brain A β burden in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(15): 8850-8855.
- [4] Hardy J, Selkoe D J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics[J]. *Science*, 2002, 297(5580): 353-356.
- [5] Karran E, Hardy J. Antiamyloid therapy for Alzheimer's disease—are we on the right road?[J/OL]. *N Engl J Med*, 2014, 370: 377-378[2020-01-03]. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMe1313943>. DOI: 10.1056/NEJMe1313943.
- [6] Kumar D K V, Choi S H, Washicosky K J, et al. Amyloid- β peptide protects against microbial infection in mouse and worm models of Alzheimer's disease[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2016,

- 8(340): 340ra72[2020-01-03]. <https://stm.sciencemag.org/content/8/340/340ra72>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaf1059.
- [7] Ittner A, Chua S W, Bertz J, *et al.* Site-specific phosphorylation of tau inhibits amyloid- β toxicity in Alzheimer's mice[J]. *Science*, 2016, 354(6314): 904-908.
- [8] Guerreiro R, Wojtas A, Bras J, *et al.* TREM2 variants in Alzheimer's disease[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(2): 117-127.
- [9] Griciuc A, Serrano-Pozo A, Parrado A R, *et al.* Alzheimer's disease risk gene CD33 inhibits microglial uptake of amyloid beta[J]. *Neuron*, 2013, 78(4): 631-643.
- [10] Lee M H, Siddoway B, Kaeser G E, *et al.* Somatic APP gene recombination in Alzheimer's disease and normal neurons[J/OL]. *Nature*, 2018, 563: 639-661[2020-01-03]. <https://www.nature.com/articles/s41586-018-0718-6>. DOI: 10.1038/s41586-018-0718-6.
- [11] Mesquita S D, Louveau A, Vaccari A, *et al.* Functional aspects of meningeal lymphatics in ageing and Alzheimer's disease[J/OL]. *Nature*, 2018, 560: 185-216[2020-01-03]. <https://www.nature.com/articles/s41586-018-0368-8>. DOI: 10.1038/s41586-018-0368-8.
- [12] Readhead B, Haure-Mirande J V, Funk C C, *et al.* Multiscale analysis of independent Alzheimer's cohorts finds disruption of molecular, genetic, and clinical networks by human herpesvirus[J]. *Neuron*, 2018, 99(1): 64-82.
- [13] Dominy S S, Lynch C, Ermini F, *et al.* Porphyromonas gingivalis in Alzheimer's disease brains: evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors[J/OL]. *Sci Adv*, 2019, 5: eaau3333[2020-01-03]. <https://advances.sciencemag.org/content/5/1/eaau3333>. DOI: 10.1126/sciadv.aau3333.
- [14] Lourenco M V, Frozza R L, De Freitas G B, *et al.* Exercise-linked FNDC5/irisin rescues synaptic plasticity and memory defects in Alzheimer's models[J]. *Nat Med*, 2019, 25(1): 165-175.
- [15] Panza G A, Taylor B A, MacDonald H V, *et al.* Can exercise improve cognitive symptoms of Alzheimer's disease?[J/OL]. *J Am Geriatr Soc*, 2018, 66: 487-495[2020-01-03]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jgs.15241>.
- [16] Yue X, Mei Y, Zhang Y, *et al.* New insight into Alzheimer's disease: light reverses A β -obstructed interstitial fluid flow and ameliorates memory decline in APP/PS1 mice[J/OL]. *Alzheimers Dement (N Y)*, 2019, 5: 671-684[2020-01-03]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352873719300678>. DOI: 10.1016/j.trci.2019.09.007.
- [17] Harach T, Marungruang N, Duthilleul N, *et al.* Reduction of Abeta amyloid pathology in APPS1 transgenic mice in the absence of gut microbiota[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7: 41802[2020-01-03]. <https://www.nature.com/articles/srep41802>. DOI: 10.1038/srep41802.
- [18] F. L. Heppner, R. M. Ransohoff, B. Becher, Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease[J/OL]. *Nature Rev Neurosci*, 2015, 16: 358-372[2020-01-03]. <https://www.nature.com/articles/nrn3880>. DOI: 10.1038/nrn3880.
- [19] Mullard A. Microglia-targeted candidates push the Alzheimer drug envelope[J/OL]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17: 303-305[2020-01-03]. <https://www.nature.com/articles/nrd.2018.65>. DOI: 10.1038/nrd.2018.65.
- [20] Shanghai Greenvalley Pharmaceutical Co., Ltd. An efficacy and safety study of sodium oligo-mannurate (GV-971) capsule for the treatment of Alzheimer's disease[EB/OL].(2018-10-10)[2020-01-03]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02293915>.
- [21] Cummings J, Lee G, Ritter A, *et al.* Alzheimer's disease drug development pipeline: 2018[J/OL]. *Alzheimers Dement (N Y)*, 2018, 4: 195-214[2020-01-03]. <https://alz-journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/j.trci.2018.03.009>.
- [22] Gotti C, Zoli M, Clementi F. Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2006, 27(9): 482-491.
- [23] Young J W, Crawford N, Kelly J S, *et al.* Impaired attention is central to the cognitive deficits observed in alpha 7 deficient mice[J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2007, 17(2): 145-155.
- [24] Prickaerts J, van Goethem N P, Chesworth R, *et al.* EVP-6124, a novel and selective $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor partial agonist, improves memory performance by potentiating the acetylcholine response of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors[J]. *Neuropharmacology*, 2012, 62(2): 1099-1110.
- [25] Keefe R S E, Meltzer H A, Dgetluck N, *et al.* Randomized, double-blind, placebo-controlled study of Encenicline, an alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor agonist, as a treatment for cognitive

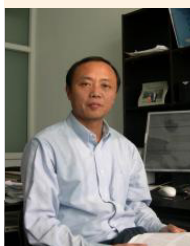
- impairment in schizophrenia[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2015, 40(13): 3053-3060.
- [26] Rare but severe side effects sideline some phase 3 encenicline trials[EB/OL]. (2015-09-16)[2020-01-03]. <http://www.alzforum.org/news/research-news/rare-severe-side-effects-sideline-some-phase-3-encenicline-trials>.
- [27] Encenicline missed the co-primary endpoints in both trials[EB/OL]. (2016-3-24)[2020-01-03]. <http://forumpharma.com/?reqp=1&reqr=nzcdYz55oKAvMJu6YzWyqN==>.
- [28] Changeux J P. The feedback control mechanism of biosynthetic L-threonine deaminase by L-isoleucine[J/OL]. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 1961, 26: 313-318[2020-01-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13878122>. DOI: 10.1101/sqb.1961.026.01.037.
- [29] Changeux J P. Allosterity and the Monod-Wyman-Changeux model after 50 years[J/OL]. *Annu Rev Biophys*, 2012, 41: 103-133[2020-01-03]. <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-biophys-050511-102222>.
- [30] Koshland D E, Nemethy G, Filmer D. Comparison of experimental binding data and theoretical models in proteins containing subunits[J]. *Biochemistry*, 1966, 5(1): 365-385.
- [31] Changeux J P, Christopoulos A. Allosteric modulation as a unifying mechanism for receptor function and regulation[J]. *Cell*, 2016, 166(5): 1084-1102.
- [32] Changeux J P. On the nature of allosteric transitions: a plausible model[J]. *J Mol Biol*, 1965, 12(1): 88-118.
- [33] Williams D K, Wang J, Papke R L. Positive allosteric modulators as an approach to nicotinic acetylcholine receptor-targeted therapeutics: advantages and limitations[J]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 82(8): 915-930.
- [34] Chatzidaki A, Millar N S. Allosteric modulation of nicotinic acetylcholine receptors[J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 97(4): 408-417.
- [35] Lightfoot A P, Kew J N C, Skidmore J. 3 $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonists and positive allosteric modulators[J/OL]. *Prog Med Chem*, 2008, 46: 131-171[2020-01-03]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079646807000033>. DOI: 10.1016/S0079-6468(07)00003-3.
- [36] Eskildsen J, Redrobe J P, Sams A G, *et al.* Discovery and optimization of Lu AF58801, a novel, selective and brain penetrant positive allosteric modulator of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors: attenuation of subchronic phencyclidine (PCP)-induced cognitive deficits in rats following oral administration[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(1): 288-293.
- [37] Hurst R, Rollema H, Bertrand D. Nicotinic acetylcholine receptors: from basic science to therapeutics[J]. *Pharmacol Ther*, 2013, 137 (1): 22-54.
- [38] Dunlop J, Lock T, Jow B, *et al.* Old and new pharmacology: positive allosteric modulation of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor by the 5-hydroxytryptamine(2B/C) receptor antagonist SB-206553 (3,5-dihydro-5-methyl-N-3-pyridinylbenzo[1,2-b:4,5-b']dipyrrole-1(2H)-carboxamide) [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009, 328(3): 766-776.
- [39] Dinklo T, Shaban H, Thuring J W, *et al.* Characterization of 2-[[4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-amino]-4-(4-pyridinyl)-5-thiazolemethanol (JNJ-1930942), a novel positive allosteric modulator of the $\{\alpha 7\}$ nicotinic acetylcholine receptor[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, 336(2): 560-574.
- [40] Wallace T L, Porter R H. Targeting the nicotinic $\alpha 7$ acetylcholine receptor to enhance cognition in disease[J]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 82(8): 891-903.
- [41] Pan M H, Lai C S, Ho C T. Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids[J]. *Food Funct*, 2010, 1(1): 15-31.
- [42] Yang I, Han S J, Kaur G, *et al.* The role of microglia in central nervous system immunity and glioma immunology[J]. *J Clin Neurosci*, 2010, 17(1): 6-10.
- [43] Pan R Y, Ma J, Kong X X, *et al.* Sodium rutin ameliorates Alzheimer's disease-like pathology by enhancing microglial amyloid- β clearance[J/OL]. *Sci Adv*, 2019, 5(2): eaau6328[2020-01-03]. <https://advances.sciencemag.org/content/5/2/eaau6328/tab-pdf>. DOI: 10.1126/sciadv.aau6328.
- [44] Teeling J L, Perry V H. Systemic infection and inflammation in acute CNS injury and chronic neurodegeneration: underlying mechanisms[J]. *Neurosci*, 2008, 158(3): 1062-1073.
- [45] Tracey K J. Physiology and immunology of the cholinergic

- antiinflammatory pathway[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(2): 289-296.
- [46] Egea J, Buendia I, Parada E, *et al.* Anti-inflammatory role of microglial $\alpha 7$ nAChRs and its role in neuroprotection[J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 97(4): 463-472.
- [47] Heneka M T, Carson M J, Khoury J E, *et al.* Neuroinflammation in Alzheimer's disease[J]. *Lancet Neurol*, 2015, 14(4): 388-405.
- [48] Krause R M, Buisson B, Bertrand S, *et al.* Ivermectin: a positive allosteric effector of the $\alpha 7$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor[J]. *Mol Pharmacol*, 1998, 53(2): 283-294.
- [49] Lopes C, Pereira E F, Schwarcz R, *et al.* Competitive antagonism between the nicotinic allosteric potentiating ligand galantamine and kynurenic acid at $\alpha 7$ nicotinic receptors[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 322(1): 48-58.
- [50] Sigel E, Baur R. Effect of avermectin B1a on chick neuronal gamma-aminobutyrate receptor channels expressed in *Xenopus* oocytes[J]. *Mol Pharmacol*, 1987, 32(6): 749-752.
- [51] Moriguchi S, Marszalec W, Zhao X, *et al.* Mechanism of action of galantamine on *N*-methyl-*D*-aspartate receptors in rat cortical neurons[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, 310(3): 933-942.
- [52] Grønlien J H, Hakerud M, Ween H. Distinct profiles of $\alpha 7$ nAChR positive allosteric modulation revealed by structurally diverse chemotypes[J]. *Mol Pharmacol*, 2007, 72(3): 715-724.
- [53] Hogenkamp D J, Ford-Hutchinson T A, Li W Y, *et al.* Design, synthesis, and activity of a series of arylpyrid-3-ylmethanones as type I positive allosteric modulators of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors[J]. *J Med Chem*, 2013, 56(21): 8352-8365.
- [54] Criado M, Balsera B, Mulet J, *et al.* 1,3-diphenylpropan-1-ones as allosteric modulators of $\alpha 7$ nACh receptors with analgesic and antioxidant properties[J]. *Future Med Chem*, 2016, 8(7): 731-749.
- [55] Faghih R, Gopalakrishnan S M, Grønlien J H, *et al.* Discovery of 4-(5-(4-chlorophenyl)-2-methyl-3-propionyl-1*H*-pyrrol-1-yl) benzenesulfonamide (A-867744) as a novel positive allosteric modulator of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor[J]. *J Med Chem*, 2009, 52(10): 3377-3384.
- [56] Hurst R S, Hajós M, Raggenbass M, *et al.* A novel positive allosteric modulator of the $\alpha 7$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor: *in vitro* and *in vivo* characterization[J]. *J Neurosci*, 2005, 25(17): 4396-4405.
- [57] Kohlhaas K L, Bitner R S, Robb H, *et al.* Improved preattention and short-term memory via positive allosteric modulation of the $\alpha 7$ neuronal nicotinic receptor[J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2006, 9(Suppl 1): S202.
- [58] Timmermann D B, Grønlien J H, Kohlhaas K L, *et al.* An allosteric modulator of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor possessing cognition enhancing properties *in vivo*[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 323(1): 294-307.
- [59] Broad L M, Zwart R, Pearson K H, *et al.* Identification and pharmacological profile of a new class of selective nicotinic acetylcholine receptor potentiators[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 318(3): 1108-1117.
- [60] Gill J K, Savolainen M, Young G T, *et al.* Agonist activation of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors via an allosteric transmembrane site[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(14): 5867-5872.
- [61] Ng H J, Whittemore E R, Tran M B, *et al.* Nootropic $\alpha 7$ nicotinic receptor allosteric modulator derived from GABAA receptor modulators[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(19): 8059-8064.
- [62] Pesti K, Lukacs P, Mike A. Type I-like behavior of the type II $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor positive allosteric modulator A-867744[J/OL]. *Peer J*, 2019, 7(10): e7542[2020-01-03]. <https://www.researchgate.net/publication/335566703>. DOI: 10.7717/peerj.7542.
- [63] Luo L, Meng L, Sun Q, *et al.* NBS-mediated sequential one-pot synthesis of multifunctionalized thiazoles and thiophenes from 1,3-dicarbonyl compounds and mercaptonitrile salts[J]. *Tetrahedron Lett*, 2014, 55(1): 259-263.
- [64] Luo L, Meng L, Sun Q, *et al.* Novel synthesis of thiazolo/thienoazepine-5,8-diones from dihalo cyclic 1,3-diketones and mercaptonitrile salts[J]. *RSC Adv*, 2014, 4(13): 6845-6849.
- [65] Luo L, Meng L, Peng Y, *et al.* $ZnCl_2$ -promoted one-pot three-component synthesis of multisubstituted thiazolo[4,5-*b*]pyridines and thieno[2,3-*b*:4,5-*b'*]dipyridines[J/OL]. *Eur J Org Chem*, 2015, 3: 631-637[2020-01-03]. <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ejoc.201403156>.

- [66] Sun Q, Suzenet F, Guillaumet G. Desulfurative cross-coupling of protecting group-free 2-thiouracil derivatives with organostannanes[J]. *J Org Chem*, 2010, 75(10): 3473-3476.
- [67] Wu Y, Xing Y, Wang J, *et al.* Palladium-catalyzed desulfurative Sonogashira cross-coupling reaction of 3-cyano assisted thioamide-type quinolone derivatives with alkynes[J]. *RSC Adv*, 2015, 5(60): 48558-48562.
- [68] Zou W, Huang Z, Jiang K, *et al.* Chelation-assisted C-S activation/cascade heteroannulation of pyridine-2-thione derivatives in Pd-catalyzed cross-coupling reaction with alkynes[J]. *Tetrahedron*, 2017, 73(37): 5485-5492.
- [69] Xiao D, Han L, Sun Q, *et al.* Copper-mediated synthesis of N-fused heterocycles via Csp-S coupling reaction and 5-endo-dig cyclization sequence[J]. *RSC Adv*, 2012, 2(12): 5054-5057.
- [70] Zheng Y, Zou W, Luo L, *et al.* Ligand-free Cu-catalyzed O-arylation of aliphatic diols[J]. *RSC Adv*, 2015, 5(81): 66104-66108.
- [71] Sun Q, Suzenet F, Guillaumet G. Optimized Liebeskind-Srogl coupling reaction between dihydropyrimidines and tributyltin compounds[J]. *Tetrahedron Lett*, 2012, 53(22): 2694-2698.
- [72] Peng Y, Luo L, Gong J, *et al.* New synthetic approach for the preparation of 2-aryl-thiazolo[4,5-b]pyridines via Liebeskind-Srögl reaction[J]. *Chin Chem Lett*, 2015, 26(8): 1016-1018.
- [73] Li Y, Sun L, Yang T, *et al.* The design and synthesis of novel positive allosteric modulators of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors with the ability to rescue auditory gating deficit in mice[J]. *J Med Chem*, 2019, 62(1): 159-173.
- [74] Li X, Wang K W, Sun Q, *et al.* Chemical conversion of nicotinamide into type I positive allosteric modulator of $\alpha 7$ nAChRs[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, 29(15): 159-173.



【专家介绍】孙崎: 教授、博士生导师。1998 年获北京医科大学药学院理学学士学位, 2005 年在北京大学药学院获得理学博士学位。在北京大学药学院化学生物学系先后任职讲师、副教授、教授。2008—2010 年, 国家公派在法国奥尔良大学 ICOA 做博士后研究工作。研究方向包括: 金属催化的交叉偶联反应; $\alpha 7$ nAChR、Nav1.2、TRPV 1 等离子通道靶点调节剂的设计与合成。学术奖励包括: 2010—2014 年连续 5 年获北京大学医学部“优秀青年学者奖”; 获 2014 年“北京大学绿叶生物医药杰出青年学者奖”。主持或参加了国家自然科学基金、科技部重大新药创制课题子课题、国自然青年基金等课题 6 项。在 *J Med Chem*、*Eur J Med Chem*、*J Org Chem* 等国际期刊发表论文 40 余篇, 一项 PCT 专利申请, 新药发明美国和中国授权专利各一项。



【专家介绍】王克威: 长江学者, 教育部创新团队带头人, 现任青岛大学首席教授、药学院院长, 原北京大学药学院药理系主任、国家重大新药创制新药靶标发现平台负责人。1988—2005 年在剑桥大学、耶鲁大学和美国惠氏(现辉瑞)制药公司学习工作。长期从事药物靶标的确证和基于离子通道靶标的新药研发。在 *Nature* 等著名国际期刊发表论文 110 余篇, 授权新药发明专利 7 项。近 5 年作为负责人承担国家自然科学基金委重点课题, 科技部 863、973 等重大、重点项目 8 项。自 2008 年担任国际 *Frontiers in Neuroscience* 杂志编委, 自 2011 年担任《药学报》和《神经药理学报》杂志编委、德国 *Handbook of Experimental Pharmacology* 杂志编委、中国药理学学会理事、山东药理学学会理事、北京药学会应用药理专业委员会副组委。获教育部自然科学奖、国务院侨办第二届百名华侨华人专业人士“杰出创业奖”等奖励。