

螺环哌啶类似物作为 DOR 激动剂的特征结构研究^{*}

高未敏¹⁾ 李 燕^{1)**} 张述伟¹⁾ 杨 凌²⁾

(¹⁾ 大连理工大学化工学院, 大连 116024; (²⁾ 中国科学院大连化学物理研究所药物资源开发研究组, 大连 116023)

摘要 阿片受体激动剂与特定阿片受体亚型结合, 常用来治疗与外伤、癌症或心脏病相关的严重疼痛, 是十分有吸引力的药用物质。阿片受体有 3 种经典亚型(δ , κ , μ), 均有与其对应的激动剂。 δ 阿片受体(DOR)激动剂因其还有明显的抗焦虑、抗抑郁和器官保护作用, 是非常有前景的药物。本文研究了一批共 102 个 N-取代螺环哌啶类似物作为 δ 阿片受体激动剂的分子, 采用比较分子力场(CoMFA)和比较分子相似性指数(CoMSIA)两种分析方法对所有分子进行了三维定量构效关系(3D-QSAR)研究, 其中基于疏水场和氢键供体场参数建立的 CoMSIA 模型最佳, 其模型结果为: $Q^2=0.501$, $R^2_{\text{cv}}=0.787$, $R^2_{\text{pr}}=0.780$, 证明模型自我吻合良好, 同时有较强的内部及外部预测能力。而模型的等势线图分析表明, 在 R_1 处引入疏水性的取代基及在 R_2 处引入亲水性的取代基或氢键供体基团对提高激动剂活性有利。这些结论有助于更好地理解 N-取代螺环哌啶类似物作为 DOR 激动剂的机理, 为新型的 δ 阿片受体激动剂的设计和 optimization 提供一定的指导。

关键词 N-取代螺环哌啶类似物, δ 阿片受体(DOR)激动剂, 3D-QSAR, 比较分子力场(CoMFA), 比较分子相似性指数(CoMSIA)

学科分类号 Q5, Q6

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00537

阿片受体是主要治疗疼痛的阿片类药物的有效靶标。阿片受体属于 G 蛋白偶联受体家族(G-protein coupled receptors, GPCRs), 具有 GPCRs 的基本结构(1 个细胞外氨基端区域, 7 个跨膜区域, 3 个胞外区, 3 个胞内区以及 1 个细胞内羧基端尾区, 另外有 2 个分别位于第一胞外环、第二胞外环上的保守的半胱氨酸残基), 在人体内分布广泛, 主要存在于中枢和外周神经系统^[1]。目前研究发现, 阿片受体有 9 种亚型(κ 、 δ 、 μ 、ORL1、 ξ 、 σ 、 λ 、 ι 和 ζ), 其中较为经典的为 3 种传统的阿片受体: κ (κ opioid receptor, KOR)、 δ (δ opioid receptor, DOR)、 μ (μ opioid receptor, MOR), 研究较多。每种阿片受体均有与其对应的内源性阿片肽(endogenous opioid peptide, EOP)配体^[2], 内源性阿片肽与阿片受体结合, 主要参与痛觉信息的调制和免疫功能的调节, 同时在摄食、饮水、胃肠道、心血管、呼吸和体温等生理活动中发挥重要作用^[3-4]。外源性补充阿片肽也可以与阿片受体结合,

在应激反应时还表现为抑制心肌收缩力、减慢心率、扩张血管、利尿、降血压和舒张肺动脉等, 产生与内源性阿片肽相似的生物学效应^[5]。

与阿片受体对应的配体包括激动剂和抑制剂, 阿片受体激动剂因其强劲的镇痛作用而备受关注。而 δ 阿片受体激动剂(DOR agonist), 除了具有与其他两类传统受体激动剂相同的镇痛作用外, 还具有明确的心脏保护作用, 及明显的抗焦虑、抗抑郁和器官保护作用等^[5-6], 因此具有很好的研究和开发前景。 δ 阿片受体激动剂主要分为肽类和非肽类, 目前用于药理研究的包括肽类物质 DADPE、DSLET (Tyr-D-Ser-Gly-Phe-Leu-Thr)、

^{*} 国家自然科学基金资助项目(11201049)。

^{**} 通讯联系人。

Tel: 0411-84986062, Fax: 0411-84986063, E-mail: yanli@dlut.edu.cn

收稿日期: 2012-10-31, 接受日期: 2012-12-18

DADLE ([D-Ala²-D-Leu⁵]-enkephalin acetate salt) 和非肽类物质 SIOM、SNC80 及其衍生物 (BM373U86、RWJ394674)、N-去甲基氯氮平 (DMCLZ) 和 cmpd 系列化合物等^[7-9]。其中代表性的物质 DADLE, 是美国 Sigma 公司人工合成的一种选择性 δ 阿片受体激动剂, 对 H₂O₂ 损伤的心肌细胞^[10]及谷氨酸损害的神经元^[11]有保护作用, 同时可诱导冬眠^[12], 在不影响动脉血压的情况下, 能使整体代谢率降低 30%~40%, 从而延长外周器官及心肌的存活, 防止不可逆性损伤^[13]。大规模研究结果提示, DADLE 在心肌梗死、休克和体外循环等缺血再灌注等模型中, 对心脏及脑、肺、肝和肾等有明显的保护作用^[10], 在治疗失血性休克和移植器官保护方面取得了良好的效果。虽然上述化合物中的 DADLE、SIOM 系列及 SNC80 系列目前研究得较多, 也有药物已进入临床研究阶段, 但至今市场上还未出现成药, 且 δ 阿片受体激动剂的具体作用机制仍需进一步研究^[14]。因此我们仍需继续探索, 以期找出更为理想的高效且不良反应少的 δ 阿片受体激动剂。

众所周知, 利用传统实验方法研制新药物研发周期很长, 同时人力、物力等方面的投入也异常庞大。因此, 为了更高效、经济地指导新药研发, 可采用计算机辅助药物设计方法模拟药物与受体间契合情况, 研究药物分子的药效构象、诱导契合和与受体间契合情况, 设计出合理的药物分子。目前, 国内外关于 δ 阿片受体激动剂的三维定量构效关系 (three-dimensional quantitative structure-activity relationship, 3D-QSAR) 筛选的研究很少^[15], 而迄今为止, 螺环哌啶骨架类的分子还没有人研究。本文首次对 102 个 N-取代螺环哌啶类似物作为 δ 阿片受体激动剂, 采用比较分子力场分析方法 (comparative molecular field analysis, CoMFA) 和比较分子相似性指数分析法 (comparative similarity indices analysis, CoMSIA) 来进行 3D-QSAR 研究, 意在揭示螺环哌啶衍生物作为 δ 阿片受体激动剂的结构特征, 为新型的 δ 阿片受体激动剂的设计与合成提供参考信息。

1 数据与方法

1.1 数据集

本文所研究的 102 个 N-取代螺环哌啶类似物的结构和活性数据均来自于 Cardwell 实验室^[16-17],

选取的 20 个代表性分子的公共骨架、具体结构和活性如表 1 所示。按照训练集和验证集分子大约 3:1 的比例, 本文随机选取了 74 个化合物用于建立三维构效关系模型, 其余的 28 个分子作为验证集以检验模型是否有效。建模过程中将体外生物活性 pK_i 值作为构效关系研究中的因变量。

1.2 化合物构象的确定

本文分子建模及分析采用的是 Tripos 公司的 SYBYL 6.9 设计软件包, 用于建模的分子结构由 SYBYL 分子碎片库搭建, 采用全几何优化和 Tripos 力场, 能量梯度收敛标准值设为 0.05 kcal/mol·Å, 并给每个分子加载 Gasteiger-Hückel 电荷^[18]。所有的分子结构和活性在补充信息的表 S1 (见网络版附录 http://www.pibb.ac.cn/cn/ch/common/view_abstract.aspx?file_no=20120537&flag=1) 中列出。

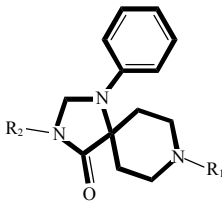
1.3 数据库叠合

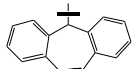
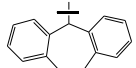
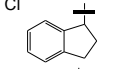
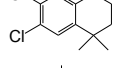
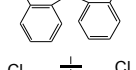
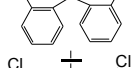
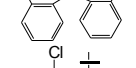
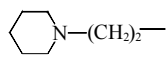
由于本文中所研究的这批分子的结构都是刚性的, 所以采取基于公共子骨架 (common substructure) 的 RMS (root mean square) 叠合。叠合过程以位于最高活性梯队的化合物 74 号分子为模板, 对数据库中所有化合物分子进行叠合。所采取的公共子结构如图 1a 所示 (图中是 74 号分子, 黑色加粗部分是叠合所选子骨架), 叠合效果图如图 1b 所示。叠合后的数据库可作为基于配体的定量构效关系研究的基础。

1.4 CoMFA 和 CoMSIA 分析

本文采用 CoMFA 和 CoMSIA 两种分析方法来研究激动剂分子的三维定量构效关系。对于一组以非共价键作用结合在同一靶点的同一活性位点的配体来说, CoMFA 和 CoMSIA 假设它们的活性与其结构 (分子的形状、表面性质) 相关^[19], 并在此假设的基础上引入偏最小二乘 (partial least-square, PLS) 的回归方法。CoMFA 自从 Cramer 等^[20]在 1988 年提出以来, 即成为药物研究中一个不可或缺的强大工具, 已广泛应用于分子计算化学领域^[21-23]。CoMFA 假定在分子水平上, 影响生物活性的相互作用通常是非共价力, 因此认为立体场和静电场两个分子力学力场可以较好地解释分子的活性。其在分析过程中充分考虑了分子的三维结构和药物与受体的结合模式, 力场的能量函数采用 Coulomb 和 Lennard-Jones 函数形式。CoMSIA^[19, 24-25]的机理和 CoMFA 相似, 不同的是 CoMSIA 采用更加平滑的、与距离相关的高斯 (Gaussian) 函数, 改进了对

Table 1 The structures and activity of typical molecules in the dataset



Compound	R ₁	R ₂	pK _i (M)
5	3-ThienylCH ₂ -	H	5.05
9*		H	5.16
15		H	5.01
16*		H	4.94
19		H	5.22
20*		H	4.61
27		H	5.73
28*		H	5.45
39*		H	4.93
48*		Propargyl	4.36
49		Allyl	4.34
63*		(i-Pr) ₂ N(CH ₂) ₂ -	5.32
64		BuNH(CH ₂) ₂ -	5.99
69			5.50
71		EtNH(CH ₂) ₂ -	5.78
73*		c-PrCH ₂ NH(CH ₂) ₂ -	6.35
84		EtNH(CH ₂) ₂ -	5.69
95		BuNH(CH ₂) ₂ -	5.40
98*		BnNH(CH ₂) ₂ -	5.89
99		BuNH(CH ₂) ₂ -	5.97

*Test set.

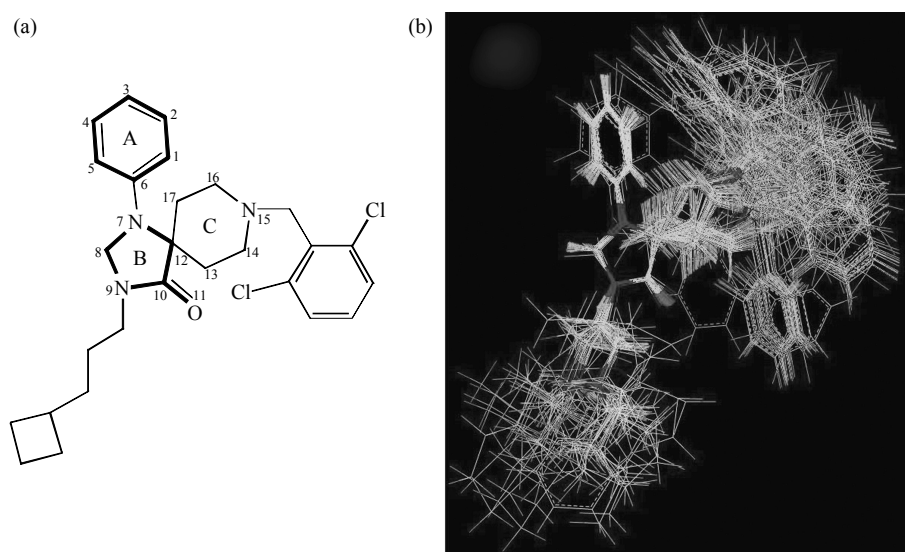


Fig. 1 Molecular alignment of the dataset

(a) Common substructure of the molecules is shown in bold based on compound 74 which was used as a template for alignment. (b) Alignment of all the compounds is shown in panel.

分子叠合方法和空间取向的敏感性^[25], 同时将力场细分为 5 个场, 可避免分子表面附近格点上势能的显著变化以及原子位置异常的情况. CoMFA 和 CoMSIA 均将叠合后数据库中的所有分子放入一个一定步长的三维网格中, 用 sp^3 杂化碳原子探针, 分别对每个网格点上的各个场大小和分布进行探测, 场作用计算采用 Tripos 标准力场, 能量阈值设置为 $30.0 \text{ kcal/mol} \cdot \text{\AA}$. 区别是 CoMFA 计算立体场以及静电场, 交叉常规网格步长为 0.2 nm , CoMSIA 分析立体场、静电场、疏水场、氢键供体场和受体场, 网格步长取 0.5 nm .

1.5 PLS 分析

在本文中, 采用 PLS 法来分析 CoMFA 和 CoMSIA 的各个力场对分子作用与其生物活性值之间的相关性, 采用抽一法 (leave-one-out) 来计算 QSAR 模型中的预测值. 交叉验证相关系数 Q^2 (cross-validated correlation coefficient) 和最佳组分数 ONC (the optimum number of components) 通过 PLS 分析结合交叉验证法来确定, 并用来获得最终的 QSAR 模型. 接着利用所有训练集的分子结合 ONC 通过非交叉验证分析计算出非交叉验证相关系数 R^2_{ncv} (non-cross-validated correlation coefficient). 而用来检验模型预测能力的预测值相关系数可通过

以下公式计算:

$$R^2_{pre} = (S2 - S1) / S2 \quad (1)$$

式中 $S1$ 表示验证集中化合物活性预测值与实验值残差平方和, $S2$ 表示验证集中化合物活性预测值与训练集中化合物活性平均值的残差平方和^[26].

2 结果与讨论

2.1 3D-QSAR 模型

基于叠合数据库进行分析, 我们分别得到了 CoMFA 和 CoMSIA 模型. 3D-QSAR 模型是否可靠, 是通过一些重要参数来评价的. 其中包括用来检验所建模型是否有效的 3 个参数 (交叉验证相关系数 Q^2 、最佳组分数 ONC 、非交叉验证系数 R^2_{ncv}) 和用来检验模型的预测能力的验证集预测值相关系数 R^2_{pre} . 此外, 还包括一些其他的统计参数, 如模型标准误差, 即实验值与预测值的平均方差 SEE (standard error of estimate), 统计方差比 F 值 (F -statistic values), 验证集的最小预测偏差 SEP (the smallest standard predicted error), 以及各个力场对模型的贡献率. 表 2 列出了 CoMFA 和 CoMSIA 最优模型的上述所有参数. 为找到真正的最优模型, 建模时分别尝试了 CoMFA 和 CoMSIA 各自场的所有组合.

Table 2 Statistical results of the optimal ligand-based 3D-QSAR models

PLS statistics	CoMFA	CoMSIA
Q^2	0.126	0.501
R^2_{ncv}	0.521	0.787
SEE	0.485	0.328
F	25.378	50.281
R^2_{pre}	0.507	0.780
SEP	0.655	0.502
ONC	3	5
Field contribution (%)		
Steric	0.598	
Electrostatic	0.402	
Hydrophobic		0.723
H-bond donor		0.277

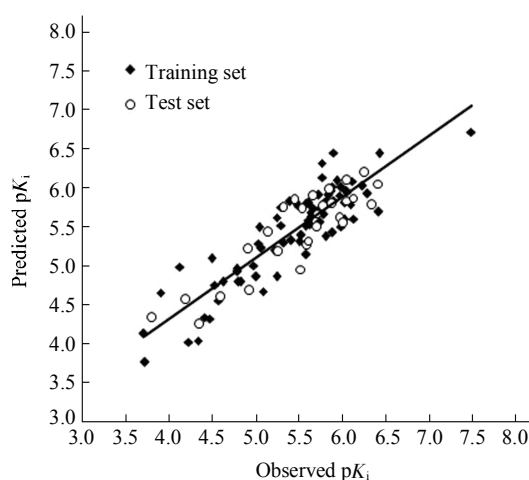
Q^2 : Cross-validated correlation coefficient after the leave-one-out procedure; R^2_{ncv} : Non-cross-validated correlation coefficient; SEE : Standard error of estimate; F : Ratio of R^2_{ncv} explained to unexplained = $R^2_{\text{ncv}} / (1 - R^2_{\text{ncv}})$; R^2_{pre} : Predicted correlation coefficient for the test set of compounds; SEP : Standard error of prediction; ONC : Optimal number of principal components; H-bond: Hydrogen-bond.

CoMFA 最优模型结果是由组合位阻场(S: steric)和静电场(E: electrostatic)产生的, 其 $Q^2 = 0.126$ 、 $R^2_{\text{ncv}} = 0.521$ 、 $F = 25.378$ 、 $SEE = 0.485$, 最佳组分数 $ONC = 3$, 当用验证集检验模型时, $R^2_{\text{pre}} = 0.507$ 、 $SEP = 0.655$. 在统计学中: $Q^2 > 1$, 表明该模型具有显著预测能力; $1 > Q^2 > 0.4$, 表明该模型有十分可靠的预测能力; 而 $Q^2 < 0.4$, 表明该模型的预测能力低于均值预测能力^[27]. 显然, CoMFA 模型 $Q^2 = 0.126 < 0.4$, 模型结果并不理想.

CoMSIA 最优模型是基于疏水场(H: hydrophobic)和氢键供体场(D: hydrogen-bond donor, H-bond donor)两个力场描述符产生的, 其模型结果交叉验证相关系数 $Q^2 = 0.501$, 最佳组分数 $ONC = 5$, 表明模型内部预测能力良好. 非交叉验证系数 $R^2_{\text{ncv}} = 0.787$, $SEE = 0.328$, $F = 50.281$, 表明模型自我吻合良好. 验证集检验模型的结果为 $R^2_{\text{pre}} = 0.780$, $SEP = 0.502$, 证明模型有很好的预测能力. 疏水场对模型的贡献较大, 高达 72.3%, 氢键供体场对模

型的贡献为 27.7%.

最优 CoMSIA 模型分子实验值和预测值的散点图如图 2 所示. 图 2 中菱形的点表示训练集分子, 圆圈表示验证集分子. 由图 2 可见, 所有训练集及验证集分子都紧密且均匀地分布在回归线两侧, 且预测值和实验值较为接近, 模型中没有任何异常值(outlier), 再次表明模型有很强且稳定的预测能力.

**Fig. 2 The predicted versus the actual pK_i values correlation plot of the optimal ligand-based CoMSIA model**

The diamond and circle corresponds to the training and test sets respectively. The solid line represents the uniform distribution regression.

CoMFA 及 CoMSIA 模型对所有训练集和验证集分子活性的预测值及与观察值的残差列在表 S2 (见网络版附录 http://www.pibb.ac.cn/cn/ch/common/view_abstract.aspx?file_no=20120537&flag=1) 中. 对本文中的 102 个分子而言, 总体来说 CoMSIA 模型比 CoMFA 模型的预测能力好, 这可能是由于 CoMSIA 模型中疏水场和氢键供体场对模型的贡献. 为进一步解释建模过程的关键所在, 对由 31 种 CoMSIA 场组合选出的 4 个较优模型进行了比较分析, 结果如表 3 所示.

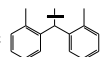
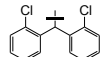
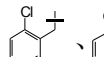
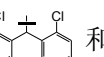
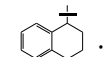
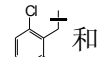
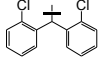
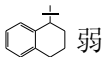
Table 3 Comparison of CoMSIA results

Field descriptor combination	Variable			Field contribution			
	Q^2	R^2_{ncv}	R^2_{pre}	Steric	Hydrophobic	H-bond donor	H-bond acceptor
HD	0.501	0.787	0.780		0.723	0.277	
SHD	0.479	0.783	0.760	0.285	0.460	0.255	
HDA	0.433	0.818	0.789		0.574	0.241	0.185
SHDA	0.437	0.826	0.759	0.253	0.395	0.213	0.138

$Q^2 > 0.4$ 是证明 3D-QSAR 预测模型有效的一个证据^[27], 结合一些其他的判断标准, 如 R^2_{ncv} 和 R^2_{pre} 值最大且两者差值最好不要超过 0.1, 我们选取了以疏水场和氢键供体场组合产生的模型作为最终模型. 显而易见, 4 个较优 CoMSIA 模型中疏水场都起了重要作用, 这也许可以进一步解释为什么 CoMSIA 模型比 CoMFA 模型成功.

2.2 3D-QSAR 等势线图

为进一步直观地展现配体小分子周围各个场作用对分子活性的影响, 我们将 74 号分子作为模板, 分析最优 CoMSIA 模型的疏水场和氢键供体场的立体等势线图, 如图 3 和图 4 所示. STEDV*COEFF 场类型是按照默认设置有利比例 80%, 不利比例 20% 的标准偏差系数.

图 3 是最优 CoMSIA 模型的疏水场的等势线图, 黄色区表示疏水基团对提高分子活性有利, 白色区域则表示亲水基团对提高分子活性有利. 由图 3 可见, C 环 15 位上哌啶氮的取代基 2,5-二氯苯甲烷, 被大块的黄色云团围绕, 说明此处疏水性的取代基能够提高 N-取代螺环哌啶类似物作为阿片 δ 受体激动剂的药物活性. 同样可见该取代基附近有一小块白色云团, 说明并非取代基疏水作用越强越好, 该区域对疏水基团取代比较敏感, 中度疏水的取代基能最大限度地提高激动剂的活性. 例如 2 个十分相似的分子 A043 和 A050, 前者 R_1 取代基  比后者的取代基  疏水性强, A043 活性值(4.23)也明显高于 A050(3.72). 再如 A079、A067、A094 3 个分子, 其他结构部分完全相同, 只有在 C 环 15 位上哌啶氮处的取代基不同, 分别为 、 和 .  和 , 皆因 2 个 Cl 原子的存在, 导致前两者疏水性虽比  弱, 但整体疏水性适中, 因此 A079、A067 活性也比 A094 高. 化合物 A077、A067 也能得到相似的结论.

此外, 由图 3 所示 B 环咪唑烷-4-酮环上 9 位氨基氮的取代基附近有一明显的白色云团及一较小的黄色区域, 说明从大的趋势上来讲, 此处疏水性取代基对提高药物分子活性不利, 但有一定的敏感性. 如 A053 和 A054 分子, 2 分子其他结构部分完全相同, 唯一差别在于其环咪唑烷-4-酮上 9 位氨基氮的取代基分别为 $\text{HO}(\text{CH}_2)_2-$ 和 $\text{MeO}(\text{CH}_2)_2-$, 使 A054 疏水性更强, 从而导致其活性较低, 这与

本文的结论完全一致.

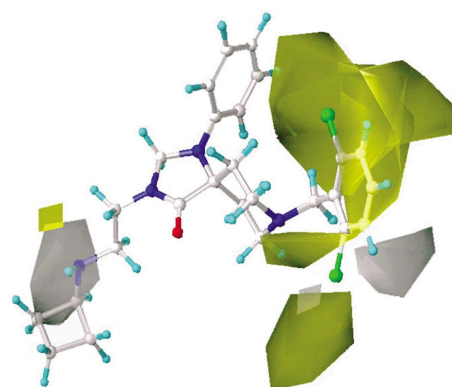


Fig. 3 Contour maps of the hydrophobic field for the optimal CoMSIA model

Yellow contours indicate regions where hydrophobic groups increase the activity; white contours indicate regions where hydrophobic groups decrease the activity.

图 4 是最优 CoMSIA 模型的氢键供体场的等势线图, 其青色区域表示氢键供体基团的存在有利于分子活性的提高, 紫色区域则相反. 由图 4 可见, B 环咪唑烷-4-酮上 9 位氨基氮的取代基附近有一较大的青色区域, 临近处也有一紫色小云团. 说明该区域有氢键供体作用的取代基对提高分子活性有利, A055 号分子在此处有一较强的氢键供体基团($-\text{NH}_2$)取代基, 其激动剂活性远远高于其他 N-取代螺环哌啶类似物分子, 即是一很好的佐证. 总的来说此处氢键供体取代对提高激动剂活性有利.

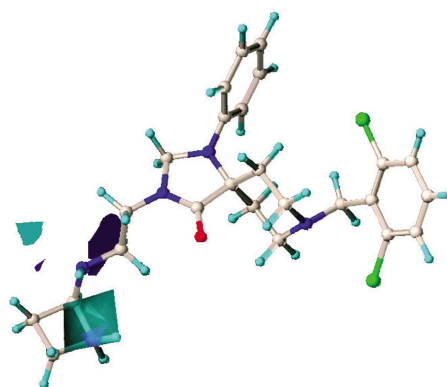


Fig. 4 Contour maps of the hydrogen-donor field for the optimal CoMSIA model

Cyan contours indicate regions where hydrogen-donor substituent is beneficial to the activity; purple contours indicate regions where hydrogen-donor substituent is detrimental to the activity.

3 结 论

δ 阿片受体激动剂虽是研究热点, 但目前国内外关于 δ 阿片受体激动剂的计算机辅助药物筛选的研究很少, 检索发现, 研究 δ 阿片受体激动剂分子构效关系的只有 Peng 和他的合作者^[15], 他们于 2005 年发表了关于 SNC80 及其 49 个类似物构效关系的文章, 得出以下结论: a. R_1 处取代基位阻较大或电正性基团对提高激动剂活性有利; b. R_2 处则是位阻较大的取代基对提高激动剂活性不利;

c. R_3 处取代基位阻较大或电负性基团对提高激动剂活性不利. SNC80 分子结构和位阻场及静电场对 SNC80 及其类似物的具体影响展示在图 5 中. 此外, 由于目前技术手段的限制, δ 阿片受体晶体结构还未解析出来, Berezowska 等则用同源建模的方法得到了 δ 阿片受体三维结构, 通过将一些药物小分子与 δ 阿片受体对接, 发现了一些潜在的结合位点^[28-32]. 图 6 展示了对接研究中的一些典型分子.

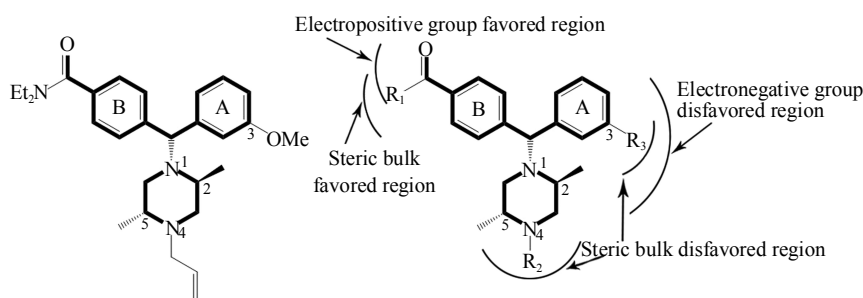


Fig. 5 The structure of SNC80 and interaction features of its analogues at each substituent^[15]

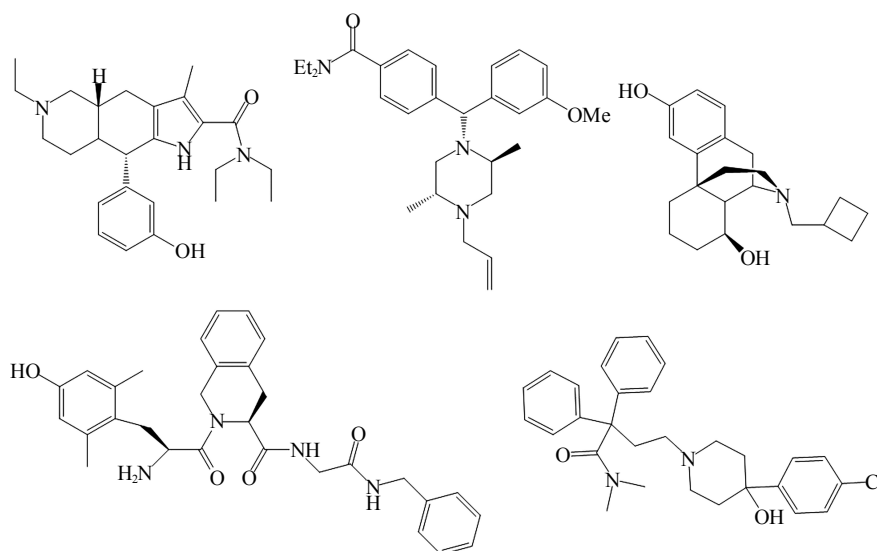


Fig. 6 The typical compounds in the docking study^[28-32]

迄今为止, 螺环哌啶类骨架的分子作为 δ 阿片受体激动剂还没有被研究过, 本文首次用 3D-QSAR 的 CoMFA 和 CoMSIA 两种方法研究了一系列共 102 个 N-取代螺环哌啶类似物作为 δ 阿片受体激动剂的药物活性, 所建 CoMSIA 模型比较成功, 模型结果为: $Q^2=0.501$, $R^2_{ncv}=0.787$,

$R^2_{pre}=0.780$, 有较好的可靠性和预测能力. 此外根据力场等势线图的分析, 确定了 N-取代螺环哌啶类似物, 作为 δ 阿片受体激动剂取代基的疏水及氢键供体性质对药物分子活性的影响: a. R_1 取代基是疏水基团有利于提高激动剂活性; b. R_2 取代基亲水基团对提高激动剂活性有利; c. R_2 取代基有

氢键供体基团对提高激动剂活性有利. 以 74 号分子为例, 各取代基处的力场作用特征示意图如图 7 所示.

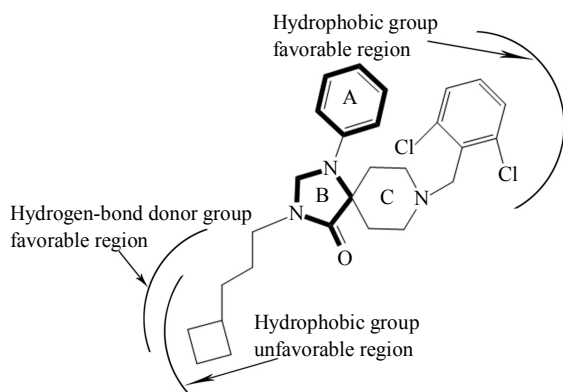


Fig. 7 The interaction features of compound at each substituent

这些结论有助于指导 δ 阿片受体激动剂的设计和合成. 例如, 以 74 号分子为模板, 我们分别通过修饰其 R_2 取代基和 R_1 取代基各设计了 1 个新的 N-取代螺环哌啶类衍生物作为 δ 阿片受体激动剂. 这 2 个分子可作为 δ 阿片受体激动剂的参考, 分子结构如图 8 所示, CoMSIA 模型预测这两个分子的活性分别为 7.221 和 6.483, pK_i 值均高于模板分子(6.43), 关于其具体的药物活性数据还需通过实验进一步验证.

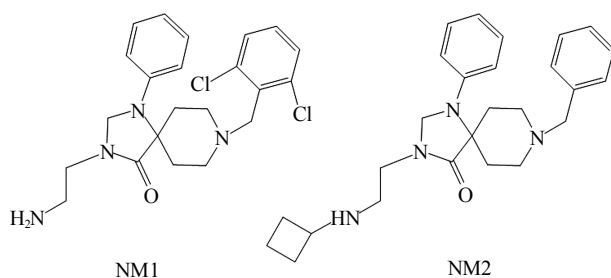


Fig. 8 Two suggestive compounds as DOP agonist

参 考 文 献

[1] Khelashvili G, Albornoz P B, Johner N, *et al.* Why GPCRs behave differently in cubic and lamellar lipidic mesophases. *J Am Chem Soc*, 2012, **134**(38): 15858–15868

[2] Zaki P A, Bilsky E J, Vanderah T W, *et al.* Opioid receptor types and subtypes: the delta receptor as a model. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1996, **36**: 379–401

[3] Peake S L, Bailey M, Bellomo R, *et al.* Australasian resuscitation of sepsis evaluation (ARISE): A multi-centre, prospective, inception cohort study. *Resuscitation*, 2009, **80**(7): 811–818

[4] Ben G, Iain D A. Sepsis, SIRS and MODS. *Surgery (Oxford)*, 2009, **27**(10): 446–449

[5] Toklu H Z, Akbay T T, Ogunc A V, *et al.* Silymarin, the antioxidant component of silybum marianum, prevents sepsis-induced acute lung and brain injury. *J Surg Res*, 2008, **145**(2): 214–222

[6] Lopes J A, Jorge S, Resina C, *et al.* Acute kidney injury in patients with sepsis: a contemporary analysis. *Int J Infect Dis*, 2009, **13**(2): 176–181

[7] Naqase H, Nemoto T, Matsubara A, *et al.* Design and synthesis of KNT-127, a δ -opioid receptor agonist effective by systemic administration. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, **20**(21): 6302–6305

[8] Cahill C M, Holdridge S V, Morinville A. Trafficking of delta-opioid receptors and other G-protein-coupled receptors: implications for pain and analgesia. *Trends Pharmacol Sci*, 2007, **28**(1): 23–31

[9] Benbouzid M, Gavériaux-Ruff C, Yalcin I, *et al.* Delta-opioid receptors are critical for tricyclic antidepressant treatment of neuropathic allodynia. *Biol Psychiatry*, 2008, **63**(6): 633–636

[10] Su T P. Delta opioid peptide [D-Ala (2), D-Leu (5)]enkephalin promotes cell survival. *T Biomed Sci*, 2000, **7**(3): 195–199

[11] Zhang J H, Haddad G G, Xia Y. Delta-, but not mu- and kappa-, opioid receptor activation protects neocortical neurons from glutamate-induced excitotoxic injury. *Brain Res*, 2000, **885** (2): 143–153

[12] Brolongan C V, Wang Y, Su T P. Delta opioid peptide (D-Ala 2, D-Leu 5) enkephalin: linking hibernation and neuroprotection. *Front Biosci*, 2004, **9**(Suppl 1): 3392–3398

[13] 王大鹏, 王洪新, 唐 博, 等. 血清饥饿条件下 δ 阿片受体激活对心肌细胞存活的影响. *中国应用生理学杂志*, 2008, **24**(3): 274–278

Wang D P, Wang H X, Tang B, *et al.* *Chin J Appl Physiol*, 2008, **24**(3): 274–278

[14] 杨 乾, 李 松, 鞠爱华, 等. δ 阿片受体激动剂的研究进展. *中国新药杂志*, 2009, **18**(4): 312–317

Yang Q, Li S, Ju A H, *et al.* *Chinese J New Drugs*, 2009, **18**(4): 312–317

[15] Peng Y Y, Keenan S M, Zhang Q, *et al.* 3D-QSAR comparative molecular field analysis on delta opioid receptor agonist SNC80 and its analogs. *J Mol Graph Model*, 2005, **24**(1): 25–33

[16] Caldwell J P, Matasi J J, Zhang H T, *et al.* Synthesis and structure-activity relationships of N-substituted spirocyclic piperidines as nociceptin receptor ligands. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, **17**(8): 2281–2284

[17] Caldwell J P, Matasi J J, Fernandez X, *et al.* Synthesis and structure-activity relationships of N-substituted spirocyclic piperidines as nociceptin receptor ligands: part 2. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, **19** (4): 1164–1167

- [18] Gasteiger J, Marlisi M. Iterative partial equalization of orbital electronegativity—a rapid access to atomic charges. *Tetrahedron*, 1980, **36**(22): 3219–3228
- [19] Klebe G, Abraham U. Comparative molecular similarity index analysis (CoMSIA) to study hydrogen-bonding properties and to score combinatorial libraries. *J Comput Aided Mol Des*, 1999, **13**(1): 1–10
- [20] Cramer R D, Patterson D E, Bunce J D. Comparative molecular field analysis (CoMFA). I. Effects of shape on binding of steroids to carrier proteins. *J Am Chem Soc*, 1988, **110**(18): 5959–5967
- [21] Liu J L, Wang F F, Ma Z, *et al.* Structural determination of three different series of compounds as hsp90 inhibitors using 3D-QSAR modeling, molecular docking and molecular dynamics methods. *Int J Mol Sci*, 2011, **12**(2): 946–970
- [22] Liu J L, Zhang H, Xiao Z T, *et al.* Combined 3D-QSAR, molecular docking and molecular dynamics study on derivatives of peptide epoxyketone and tyropeptin-boronic acid as inhibitors against the $\beta 5$ subunit of human 20S proteasome. *Int J Mol Sci*, 2011, **12**(3): 1807–1835
- [23] Xu X, Li R B, Ma M, *et al.* Multidrug resistance protein P-glycoprotein does not recognize nanoparticle C60: experiment and modeling. *Soft Matter*, 2012, **8**: 2915–2923
- [24] Klebe G, Abraham U, Mietzner T. Molecular similarity indexes in a comparative analysis (CoMSIA) of drug molecules to correlate and predict their biological activity. *J Med Chem*, 1994, **37**(24): 4130–4146
- [25] Böhm M, Strzebecher J, Klebe G. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship analyses using comparative molecular field analysis and comparative molecular similarity indices analysis to elucidate selectivity differences of inhibitors binding to trypsin, thrombin, and factor Xa. *J Med Chem*, 1999, **42**(3): 458–477
- [26] Wang X, Yang W, Xu X, *et al.* Studies of benzothiadiazine derivatives as hepatitis C virus NS5B polymerase inhibitors using 3D-QSAR, molecular docking and molecular dynamics. *Curr Med Chem*, 2010, **17**(25): 2788–2803
- [27] Dixit A, Kashaw S K, Gaur S, *et al.* Development of comfa, advance comfa and comsia models in pyrroloquinazolines as thrombin receptor antagonist. *Bioorg Med Chem*, 2004, **12**(13): 3591–3598
- [28] Antonio M D B, Paolo G, Maria V D, *et al.* Binding site of loperamide: automated docking of loperamide in human μ - and δ -opioid receptors. *Chem Biol Drug Des*, 2008, **71**(4): 328–335
- [29] Ballet S, Feytens D, Wachter R D, *et al.* Conformationally constrained opioid ligands: the dmt-aba and dmt-aia versus dmt-tic scaffold. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, **19**(2): 433–437
- [30] Micovic V, Ivanovic M D, Dosen-Micovic L. Docking studies suggest ligand-specific delta-opioid receptor conformations. *J Mol Model*, 2009, **15**(3): 267–280
- [31] Bissantz C, Bernard P, Hibert M, *et al.* II. Are homology models of G-protein coupled receptors suitable targets?. *Proteins*, 2003, **50**(1): 5–25
- [32] Bera I, Laskar A, Ghoshal N. Exploring the structure of opioid receptors with homology modeling based on single and multiple templates and subsequent docking: a comparative study. *J Mol Model*, 2011, **17**(5): 1207–1221

Structural Feature Studies on Spiropiperidine Analogues as Agonists of Delta Opioid Receptors*

GAO Wei-Min¹⁾, LI Yan^{1)**}, ZHANG Shu-Wei¹⁾, YANG Ling²⁾

¹⁾ School of Chemical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China;

²⁾ Laboratory of Pharmaceutical Resources Discovery, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China)

Abstract Opioid receptor (OPR) agonists which interact with specific subtypes of opioid receptors, are attractive pharmaceutical chemicals, and are extensively used in the treatment of severe pain associated with traumatic injuries, cancer or heart attacks. There are three typical subtypes of OPRs, *i.e.*, δ , κ , and μ , which all have their respective agonists. Among them, δ -OPR (DOR) agonists are especially promising pharmaceutical chemicals for their additional anti-depressant and anti-anxiety as well as organ-protective abilities. To investigate the mechanism of δ -OPRs agonists and the receptor, in the present work 102 derivatives of N-substituted spiropiperidines were studied through three-dimensional quantitative structure-activity relationships (3D-QSAR) analysis. In conclusion, PLS analysis ($Q^2=0.501$, $R^2_{\text{ncv}}=0.787$, $R^2_{\text{pre}}=0.780$) of the optimal CoMSIA model (yielded by hydrophobic and hydrogen-bond donor fields) manifesting good inter predictive capacity, excellent inter-consistency, and outstanding predictive ability, implies the rationality of the model. At the same time, the 3D-QSAR contour map analysis results indicate that the hydrophobic group substitution of R_1 is beneficial to the activity of delta opioid agonists, and the hydrophilic or hydrogen-donor substitution of R_2 is also favorable. These conclusions are helpful for understanding the mechanism of DOR agonists, as well as the guiding of design and improvement of new δ -OPR agonists in the future.

Key words N-substituted spiropiperidine analogues, DOR agonist, 3D-QSAR, CoMFA, CoMSIA

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00537

*This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (11201049).

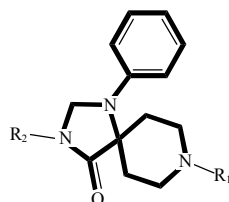
**Corresponding author.

Tel: 86-411-84986062, Fax: 86-411-84986063, E-mail: yanli@dlut.edu.cn

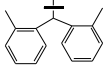
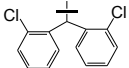
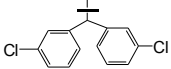
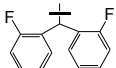
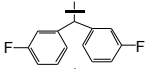
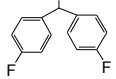
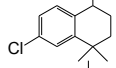
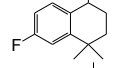
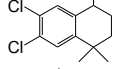
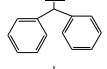
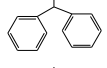
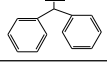
Received: October 31, 2012 Accepted: December 18, 2012

附录

Table S1 Structure-activity relationship data related to the series of N-substituted spiropiperidine analogues described in this study



No.	R ₁	R ₂	pK _i (M)
1	Bn-	H	5.53
2	c-HexylCH ₂ -	H	4.13
3	2-PyridylCH ₂ -	H	4.50
4	3-PyridylCH ₂ -	H	5.42
5	3-ThienylCH ₂ -	H	5.05
6	2-Cl-PhCH ₂ -	H	6.14
7	2, 6-Cl ₂ -PhCH ₂ -	H	5.79
8		H	5.99
9*		H	5.16
10		H	5.47
11		H	5.85
12*		H	6.13
13		H	5.33
14		H	4.42
15		H	5.01
16*		H	4.94
17		H	4.80
18		H	4.83
19		H	5.22
20*		H	4.61

Continued			
No.	R ₁	R ₂	pK _i (M)
21		H	5.07
22 [*]		H	3.82
23		H	4.58
24		H	4.79
25		H	4.98
26		H	5.25
27		H	5.73
28 [*]		H	5.45
29 [*]		H	5.72
30		H	5.75
31		H	5.91
32		H	5.58
33		H	5.62
34 [*]		H	5.86
35 [*]		H	5.60
36		H	5.64
37		H	5.89
38 [*]		H	5.61
39 [*]		H	4.93
40		Me	4.48
41		Et	4.63
42		Pr	4.81

Continued			
No.	R ₁	R ₂	pK _i (M)
43		Bu	4.23
44		i-Pr	5.04
45 ^a		c-PrCH ₂ -	5.27
46		c-BuCH ₂ -	5.09
47		c-HexylCH ₂ -	3.73
48 ^a		Propargyl	4.36
49		Allyl	4.34
50		Bu	3.72
51		i-Amyl	4.21
52		CH ₃ C(O)CH ₂ -	3.91
53		OH(CH ₂) ₂ -	5.25
54		MeO(CH ₂) ₂ -	4.54
55		NH ₂ (CH ₂) ₂ -	7.49
56		CH ₃ NH(CH ₂) ₂ -	6.24
57 ^a		EtNH(CH ₂) ₂ -	6.06
58 ^a		i-PrNH(CH ₂) ₂ -	6.02
59		c-PentylNH(CH ₂) ₂ -	5.82
60		c-HexylNH(CH ₂) ₂ -	6.12
61		(CH ₃) ₂ N(CH ₂) ₂ -	6.03
62		c-PrNH(CH ₂) ₂ -	5.94
63		(i-Pr) ₂ N(CH ₂) ₂ -	5.32
64		BuNH(CH ₂) ₂ -	5.99

Continued			
No.	R ₁	R ₂	pK _i (M)
65 [*]		i-BuNH(CH ₂) ₂ -	6.06
66		c-HexylCH ₂ NH(CH ₂) ₂ -	5.81
67			6.04
68			5.62
69			5.50
70		CH ₃ NH(CH ₂) ₂ -	5.64
71		EtNH(CH ₂) ₂ -	5.78
72 [*]		i-PrNH(CH ₂) ₂ -	5.97
73 [*]		c-PrCH ₂ NH(CH ₂) ₂ -	6.35
74		c-BuNH(CH ₂) ₂ -	6.43
75		PrNH(CH ₂) ₂ -	6.29
76 [*]		i-BuNH(CH ₂) ₂ -	6.42
77		BuNH(CH ₂) ₂ -	6.06
78		Et ₂ N(CH ₂) ₂ -	6.42
79 [*]			6.27
80		Pr	5.51
81		CH ₃ C(O)CH ₂ -	6.10
82		OH(CH ₂) ₂ -	5.58
83		CH ₃ NH(CH ₂) ₂ -	5.89
84		EtNH(CH ₂) ₂ -	5.69
85		i-PrNH(CH ₂) ₂ -	5.30
86 [*]		c-PentylNH(CH ₂) ₂ -	5.79

Continued			
No.	R ₁	R ₂	pK _i (M)
87 [*]		c-HexylNH(CH ₂) ₂ -	5.71
88		PrNH(CH ₂) ₂ -	5.63
89		CH ₂ =CHCH ₂ NH(CH ₂) ₂ -	5.64
90 [*]		c-BuNH(CH ₂) ₂ -	5.68
91 [*]		c-PrCH ₂ NH(CH ₂) ₂ -	5.54
92		i-BuNH(CH ₂) ₂ -	5.74
93 [*]		(i-Pr) ₂ NH(CH ₂) ₂ -	5.53
94			5.91
95		BuNH(CH ₂) ₂ -	5.40
96		i-AmylNH(CH ₂) ₂ -	5.59
97		c-HexylCH ₂ NH(CH ₂) ₂ -	5.77
98 [*]		BnNH(CH ₂) ₂ -	5.89
99		BuNH(CH ₂) ₂ -	5.97
100		BuNH(CH ₂) ₂ -	5.88
101		BuNH(CH ₂) ₂ -	6.05
102		BuNH(CH ₂) ₂ -	5.30

^{*}Test set.

Table S2 Observed and predicted delta-opioid receptor agonist activity (pK_i value)

No.	Observed activity	CoMFA		CoMSIA	
		Predicted	Residue	Predicted	Residue
1	5.53	5.424	-0.106	5.392	-0.138
2	4.13	5.267	1.137	4.984	0.854
3	4.50	4.912	0.412	5.092	0.592
4	5.42	4.848	-0.572	5.325	-0.095
5	5.05	4.815	-0.235	5.493	0.443
6	6.14	5.509	-0.631	5.600	-0.540
7	5.79	5.780	-0.010	5.660	-0.130
8	5.99	5.542	-0.448	5.499	-0.491
9	5.16	5.286	0.126	5.422	0.262
10	5.47	5.715	0.245	5.811	0.341
11	5.85	5.753	-0.097	5.903	0.053
12	6.13	5.741	-0.389	5.863	-0.267
13	5.33	5.476	0.146	5.288	-0.042
14	4.42	4.659	0.239	4.329	-0.091
15	5.01	5.072	0.062	4.858	-0.152
16	4.94	4.699	-0.241	4.670	-0.270
17	4.80	5.247	0.447	4.926	0.126
18	4.83	5.234	0.404	4.787	-0.043
19	5.22	5.334	0.114	5.193	-0.027
20	4.61	5.165	0.555	4.589	-0.021
21	5.07	5.321	0.251	5.223	0.153
22	3.82	4.648	0.828	4.326	0.506
23	4.58	5.163	0.583	4.548	-0.032
24	4.79	5.259	0.469	4.958	0.168
25	4.98	5.273	0.293	4.999	0.019
26	5.25	5.162	-0.088	4.860	-0.390
27	5.73	5.736	0.006	5.908	0.178
28	5.45	5.635	0.185	5.836	0.386
29	5.72	5.327	-0.393	5.486	-0.234
30	5.75	5.326	-0.424	5.553	-0.197
31	5.91	5.720	-0.190	5.825	-0.085
32	5.58	5.642	0.062	5.506	-0.074
33	5.62	5.804	0.184	5.583	-0.037
34	5.86	5.786	-0.074	5.972	0.112
35	5.60	5.748	0.148	5.260	-0.340
36	5.64	5.815	0.175	5.669	0.029
37	5.89	5.490	-0.400	5.423	-0.467
38	5.61	5.296	-0.314	5.317	-0.293
39	4.93	5.384	0.454	5.209	0.279
40	4.48	4.468	-0.012	4.314	-0.166
41	4.63	4.580	-0.050	4.794	0.164
42	4.81	5.594	0.784	4.785	-0.025
43	4.23	4.639	0.409	4.013	-0.217
44	5.04	4.942	-0.098	5.280	0.240
45	5.27	4.838	-0.432	5.175	-0.095

Continued

No.	Observed activity	CoMFA		CoMSIA	
		Predicted	Residue	Predicted	Residue
46	5.09	5.339	0.249	4.667	-0.423
47	3.73	4.358	0.628	3.758	0.028
48	4.36	4.612	0.252	4.237	-0.123
49	4.34	4.440	0.100	4.034	-0.306
50	3.72	4.765	1.045	4.127	0.407
51	4.21	4.728	0.518	4.558	0.348
52	3.91	3.946	0.036	4.646	0.736
53	5.25	5.033	-0.217	5.614	0.364
54	4.54	5.206	0.666	4.746	0.206
55	7.49	5.135	-2.355	6.712	-0.778
56	6.24	5.788	-0.452	6.024	-0.216
57	6.06	5.395	-0.665	5.831	-0.229
58	6.02	5.156	-0.864	5.545	-0.475
59	5.82	5.705	-0.115	5.832	0.012
60	6.12	5.781	-0.339	6.082	-0.038
61	6.03	5.385	-0.645	5.589	-0.441
62	5.94	5.365	-0.575	6.088	0.148
63	5.32	6.333	1.013	5.737	0.417
64	5.99	5.492	-0.498	6.007	0.017
65	6.06	6.091	0.031	6.094	0.034
66	5.81	5.527	-0.283	5.378	-0.432
67	6.04	5.668	-0.372	5.808	-0.232
68	5.62	5.396	-0.224	5.808	0.188
69	5.50	5.797	0.297	5.767	0.267
70	5.64	5.586	-0.054	5.752	0.112
71	5.78	5.893	0.113	6.133	0.353
72	5.97	5.930	-0.040	5.611	-0.359
73	6.35	5.431	-0.919	5.778	-0.572
74	6.43	6.635	0.205	6.439	0.009
75	6.29	5.919	-0.371	5.924	-0.366
76	6.42	5.886	-0.534	6.046	-0.374
77	6.06	5.972	-0.088	5.949	-0.111
78	6.42	6.017	-0.403	5.693	-0.727
79	6.27	6.035	-0.235	6.188	-0.082
80	5.51	5.301	-0.209	5.301	-0.209
81	6.10	6.078	-0.022	5.779	-0.321
82	5.58	5.518	-0.062	5.792	0.212
83	5.89	5.282	-0.608	6.012	0.122
84	5.69	5.428	-0.262	5.710	0.020
85	5.30	5.407	0.107	5.512	0.212
86	5.79	5.565	-0.225	5.756	-0.034
87	5.71	5.534	-0.176	5.662	-0.048
88	5.63	5.373	-0.257	5.527	-0.103
89	5.64	5.310	-0.330	5.623	-0.017
90	5.68	5.629	-0.051	5.894	0.214

Continued					
No.	Observed activity	CoMFA		CoMSIA	
		Predicted	Residue	Predicted	Residue
91	5.54	5.612	0.072	5.722	0.182
92	5.74	5.537	-0.203	5.727	-0.013
93	5.53	5.536	0.006	4.950	-0.580
94	5.91	6.29	0.38	6.447	0.537
95	5.40	5.452	0.052	5.818	0.418
96	5.59	5.608	0.018	5.136	-0.454
97	5.77	6.433	0.663	6.313	0.543
98	5.89	5.654	-0.236	5.793	-0.097
99	5.97	6.26	0.29	5.897	-0.073
100	5.88	6.148	0.268	5.955	0.075
101	6.05	6.191	0.141	5.955	-0.095
102	5.30	5.934	0.634	5.749	0.449