

3D Pharmacophore Model Construction of DPP-IV Inhibitors*

Tianjiao Han¹, Yueqing Li^{1#}, Junfeng Gu², Zhi Cao¹, Weijie Zhao¹, Xicheng Wang²

¹School of Pharmaceutical Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian

²State Key Laboratory of Structure Analyses for Industrial Equipment, Dalian University of Technology, Dalian
Email: #yueqingli@dlut.edu.cn

Received: Jan. 4th, 2012; revised: Mar. 5th, 2012; accepted: Mar. 12th, 2012

Abstract: The 3D pharmacophore model of DPP-IV inhibitors was established using the Discovery Studio software with the training set of 20 DPP-IV inhibitors. The best pharmacophore hypothesis (Hypo 1) consists of one hydrogen-bond acceptor, one hydrophobic point, one positive ionizable group, one aromatic ring as well as five excluded volumes. Fischer's validation clearly shows that proposed Hypo 1 has highly predictive ability and can be efficiently used as a 3D query for virtual screening to retrieve potential inhibitors from ZINC databases. The hit compounds subsequently were docked into the DPP-IV active site and 21 compounds were obtained based on PLP2 scoring function. Therefore, this study could provide scientific basis for denovo design of DPP-IV inhibitors.

Keywords: Type II Diabetes; Dipeptidyl-Peptidase IV; Pharmacophore Model; Database Searching

DPP-IV抑制剂三维药效团模型构建*

韩天佼¹, 李悦青^{1#}, 谷俊峰², 曹志¹, 赵伟杰¹, 王希诚²

¹大连理工大学制药科学与技术学院, 大连

²大连理工大学工业装备结构分析国家重点实验室, 大连
Email: #yueqingli@dlut.edu.cn

收稿日期: 2012年1月4日; 修回日期: 2012年3月5日; 录用日期: 2012年3月12日

摘要: 以20个文献报道的二肽基肽酶IV(DPP-IV)抑制剂作为训练集, 利用Discovery Studio构建了DPP-IV抑制剂的三维药效团模型。所得最优药效团模型Hypo1具有一个氢键受体, 一个疏水基团, 一个可离子化正电中心, 一个芳香环和5个排除体积, Fischer交叉验证结果表明该模型具有较高的置信度。Hypo 1对测试集中20个DPP-IV抑制剂活性进行了预测, 结果显示有较好的预测能力。利用该模型进行ZINC数据库搜索, 得到预测活性小于10 nmol·L⁻¹的化合物1369个。将这些化合物对接到DPP-IV的活性位点并根据PLP2评分函数筛选出21个评分较高的化合物, 为设计和合成新型的DPP-IV抑制剂提供了理论参考。

关键词: II型糖尿病; 二肽基肽酶IV; 药效团模型; 数据库搜索

1. 引言

二肽基肽酶IV (dipeptidyl peptidase IV, DPP-IV) 是一类丝氨酸蛋白酶^[1], 能快速地降解胰高血糖素样肽1(GLP-1, glucagon-like peptide-1)。而GLP-1能够

促进胰岛素的合成和分泌, 降低餐后血糖^[2]。抑制DPP-IV能增强内源性GLP-1的作用, 从而提高血液中胰岛素的水平, 降低糖尿病人的血糖水平^[3]。因此DPP-IV抑制剂被认为是一种新型的抗糖尿病治疗药物^[4]。2006年默克公司的抗糖尿病治疗药物西他列汀(sitagliptin)作为首个DPP-IV抑制剂成功上市, 随后诺华公司的维格列汀(vildagliptin)在2007年也获得欧

*资助信息: 国家重点基础研究发展计划(973)项目, 批准号: 2009CB918501。

#通讯作者。

盟、美国等国的批准。目前大量文献报道了许多结构不同的 DPP-IV 抑制剂, 现有 DPP-IV 抑制剂类型大致分以下几类: 1) 氨基吡咯烷类^[5]; 2) 氨基哌啶类^[6]; 3) 嘧啶酮类^[7]; 4) 哌嗪并三唑^[8]; 5) 噻唑烷类^[9]。

以上各种 DPP-IV 抑制剂结构虽有较大的差异, 但已有文献报道了抑制剂应具有立体结构^[2], 即应有两个口袋区(S_1 、 S_2)和一个连接区(P_1), 其中 S_1 口袋区应空间体积比较狭小并且具有极性亲电取代的基团, S_2 区应引入体积比较大的基团以形成 π - π 共轭或范德华的方式与受体结合, P_1 区应包含一个氨基, 与 Glu205 和 Glu206 残基末端的羧基以盐桥的形式紧密结合。2008 年, Lu^[10] 等人利用 CATALYST 构建了 DPP-IV 抑制剂的药效团模型, 具有 1 个氢键供体、2 个氢键受体、一个疏水性基团和三个排除体积, 作者认为抑制剂中的氨基是作为氢键供体与 Glu205 和 Glu206 残基末端的羧基相互作用。参照 PDB 晶体复合物中抑制剂与受体相互作用模式图, 发现氨基会以季铵盐的形式与 Glu205 或 Glu206 作用, 我们分析认为两者之间的作用应是盐桥或较强的静电吸引作用。为了建立一个充分包含 DPP-IV 抑制剂与受体 Glu205 和 Glu206 残基相互作用信息的药效团模型, 本文利用 Discovery Studio(DS)从一组结构不同的抑制剂出发, 引入可离子化正电中心, 构建了一个含有可离子化正电中心的 DPP-IV 抑制剂药效团模型。希望提供一个有效的数据库搜索工具, 同时为探索 DPP-IV 抑制剂与受体的结合模式提供新的理论参考。

2. 材料与方法

药效团模型方法是一种利用已知化合物三维结构信息进行药物发现和设计的方法。采用 Accelry 公司的 Discovery Studio 2.5 软件包进行 DPP-IV 抑制剂药效团模型的构建。在 DS 中有两种产生药效团的方法: HipHop 和 Hypogen。HipHop 通过对一组具有活性的化合物进行结构共同特征的比对来自动生成药效团模型; Hypogen 则通过识别训练集中活性较好的化合物并根据其来产生药效团模型。由于利用 Hypogen 构建的药效团模型具有活性预测功能, 因此本文选择 Hypogen 来产生 DPP-IV 抑制剂的药效团模型。

2.1. 训练集化合物的选择

为了确保生成的药效团模型具有较高的可信度,

选择训练集时应遵循以下几点: 分子结构兼具多样性; 活性分子的活性值至少跨越 4 个数量级; 每个活性数量水平的化合物分子数量至少为 3 个, 总数在 18~25 个; 结构类似的化合物之间活性相差至少一个数量级, 活性相似的化合物之间结构不同。根据以上原则, 从已报道的各种文献中^[5-9,11-17]搜集到 20 种结构不同的 DPP-IV 抑制剂作为训练集(图 1), 包含已上市药物西他列汀(化合物 10)和维格列汀(化合物 2)。训练集 IC_{50} 值范围为 $0.92 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ~ $54,000 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 跨越了 5 个数量级, 且所挑选的活性较好的抑制剂对 DPP-IV 的作用强度远远大于对 DPP8、DPP9 等酶的作用, 具有较好的选择性。用 MDL ISIS Draw 2.5 画图软件构建 20 个抑制剂的 2D 结构, 分别将其导入 DS 中转化为 3D 结构, 加氢, 用 Dreiding 力场优化至局部最小能量, 完成训练集准备工作。

2.2. 药效团模型构建

选择氢键受体(hydrogen-bond acceptor, HBA)、氢键供体(hydrogen-bond donor, HBD)、疏水基团(hydrophobic point, HY)、正电离子化基团(positive ionizable, PI)、芳香环(ring aromatics, RA)、排除体积(excluded volumes, EV)6 个药效团特征元素来产生药效团模型。考虑到本文所采取的化合物分子来自不同作者的实验数据, 并且活性测试存在一定误差, 因此将所有抑制剂的活性数值不确定度(activity uncertainty) Uncert 值设为 2。由于所选抑制剂有结构较简单的分子, 将药效团各元素间最小距离 Minimum Interfeature Distance 设置为 0.5。利用 BEST Conformation Generation 产生构象, 最大构象数为 255, 能量阈值设为 4.0, 其它参数采用默认值。设置完参数后, 利用 DS 中的 Hypogen 即 3D QSAR Pharmacophore Model Generation 模块产生药效团模型。

2.3. 药效团模型评价

DS 利用费用函数(cost function)评价药效团模型。每个药效团模型均有一个 Total cost 值, 并计算了两个理想化模型的 cost 值: 一个是最好模型, 该模型 cost 值即 Fixed cost, 活性值相关曲线的斜率为 1; 另一个是最差模型, 模型的 cost 值即 Null cost 值, 活性值相关曲线的斜率为 0, 这两个模型的 cost 值相差越大,

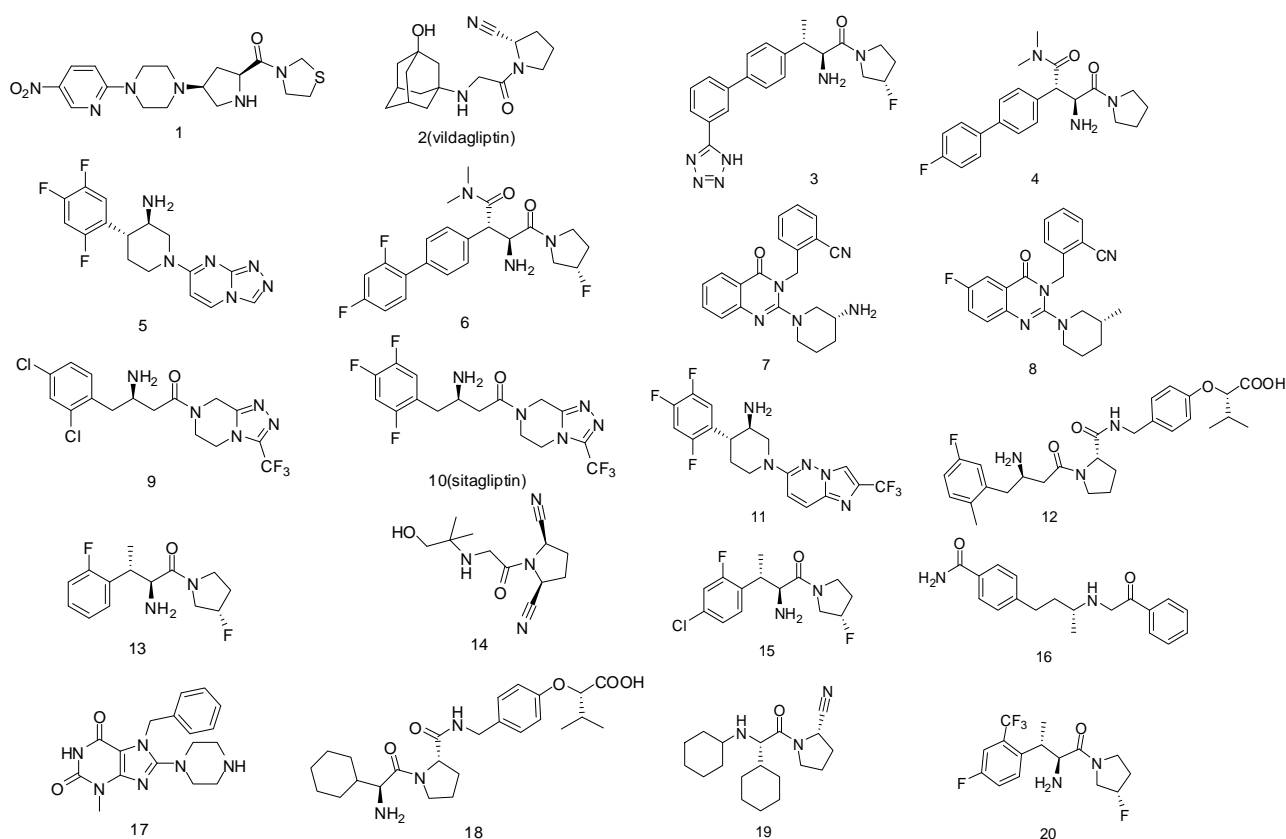


Figure 1. The chemical structures of DPP-IV inhibitors in the training set
图 1. 训练集化合物的结构

得到的较优模型的概率越高^[18,19]。较优药效团模型 Total cost 值最小, 且应与 Fixed cost 值最接近, 与 Null cost 值差距(Δ cost)最大^[18,19]。当 Δ cost > 60 时, 说明药效团模型在统计学意义上有大于 90%的可能反映了客观的情况, $40 < \Delta$ cost < 60 有 75%~90%的可能反映了客观的情况。Configuration cost 是另一个重要的参数, 由模型的空间复杂程度决定, 一般认为较好模型的 Configuration cost 值应不大于 17^[18,19]。为了达到 95%的置信水平, 进行 Fischer 交叉验证, 需要产生 19 个随机的药效团模型^[20]。根据 DS 中的这些量化指标来评价药效团模型的优劣。

3. 结果与讨论

3.1. 结果

根据 DS 计算结果, 得到了 10 个药效团模型, 列于表 1。所得 10 个药效团模型的 Total cost 值范围为 83.774~117.433, Fixed cost 值为 73.1225, Null cost 值为 256.397, Configuration cost 值为 13.9366。其中药

效团模型 Hypo 1 具有一个氢键受体(HBA), 一个疏水基团(HY), 一个可离子化正电中心(PI), 一个芳香环(RA)和 5 个排除体积(EV), 见图 2。其 RMS(root mean square deviation)值、Correlation 值(r)、 Δ cost 值、Config 值分别为 0.948、0.977、172.622、13.936。因此可说明模型 Hypo 1 是 DPP-IV 抑制剂的一个较优模型。

3.2. 药效团模型可靠性验证

Hypogen 通过对训练集中化合物的构象和药效团模型进行匹配并打分, 通过打分值 FitValue 的大小对训练集中各个化合物进行活性预测。Hypo 1 与训练集各化合物匹配情况列于表 2, 结果显示预测值和实测值之间有较好的相关性, 相关系数(r , correlation coefficient)为 0.97(图 3), Error 值 ≤ 5 , 说明该模型有较高的可信度。化合物 1 与 Hypo 1 叠合程度最好, 叠合结果见图 2, FitValue 值为 8.01, 其预测活性 $IC_{50} = 0.47 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 实验活性 $IC_{50} = 0.92 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

利用 Fischer Validation 在 95%置信度水平下对训

训练集化合物进行随机交叉验证, 产生 19 个药效团模型, 该 19 个药效团模型小于最优药效团模型的相关系数, 而 Costs 值大于最优药效团模型(表 3), 交叉验证结果表明所得到的药效团模型 Hypo 1 具有较高的置信度。

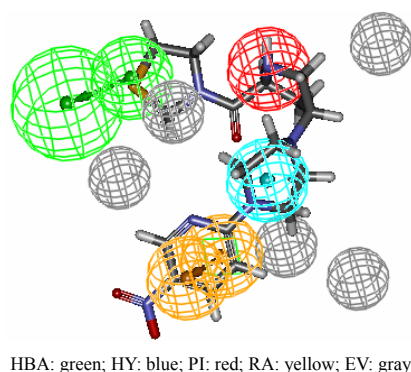
为了进一步验证所建立的 DPP-IV抑制剂药效团模型的适用性, 选择了训练集外 20 个文献^[21-23]报道的 DPP-IV抑制剂(化合物 21-40)组成测试集(见图 4)。测试集化合物采用与训练集同样的构象优化处理, 利用 DS 中的 Ligand Pharmacophore Mapping 模块与最佳药效团模型 Hypo1 进行了叠合, 并对其活性进行了预测, 计算^[24]预测值和实际值的相关系数为 0.97。化合物 23 的 Fitvalue 值最高为 7.4, 其实验活性为 4 nmol·L⁻¹, 预测活性为 1.94 nmol·L⁻¹, 可见 Hypo1 对训练集外的化合物也有较好的预测性。

Table 1. Results of the top 10 pharmacophore hypotheses
表 1. 10 个得分最高的药效团模型

Number	RMS ^a	r	ΔCost	Features ^b
Hypo1	0.948	0.977	172.623	HBA, HY, PI, RA, EV
Hypo2	1.010	0.973	172.539	HBA, HY, PI, RA, EV
Hypo3	1.396	0.949	162.599	HBA, HBD, RA, EV
Hypo4	1.827	0.912	145.932	HBA, HY, PI, RA, EV
Hypo5	1.886	0.906	145.161	HBA, HBD, RA, EV
Hypo6	1.924	0.902	143.5	HBA, HBD, RA, EV
Hypo7	1.986	0.895	141.802	HBA, HBD, RA, EV
Hypo8	1.961	0.898	140.378	HBA, HBD, RA, EV
Hypo9	2.072	0.885	139.956	HBA, HBD, RA, EV
Hypo10	1.972	0.897	138.964	HBA, HY, PI, RA, EV

a: RMS, root mean square deviation, the deviation of the log (estimated activities) from the log (experimental activities) normalized by the log (uncertainties)¹⁰; b: HBA: hydrogen-bond acceptor; HY: hydrophobic point; PI: positive ionizable; RA: ring aromatic; EV: excluded volumes; HBD: hydrogen-bond donor.

a: RMS, 均方根偏差, 为不确定度对数值归一化的实验活性对数值与预测活性对数值的偏差; b: HBA: 氢键受体; HY: 疏水基团; PI: 正电可离子化中心; RA: 芳香环; EV: 排除体积; HBD: 氢键供体。



HBA: green; HY: blue; PI: red; RA: yellow; EV: gray

Figure 2. The optimal pharmacophore model Hypo 1 and superposition with compound 1

图 2. 最佳药效团模型 Hypo 1 及其与化合物 1 的叠合

Table 2. The matching of training set compounds with Hypo 1
表 2. 训练集中化合物与模型 Hypo 1 的匹配程度

Name	Act	Est	Fitvalue	Act scale	Est scale	Error ^a	Refer.
1	0.92	0.47	8.01	+++	+++	-1.95	8
2	3.5	3.14	7.19	+++	+++	-1.11	11
3	6	9.13	6.73	+++	+++	+1.52	5
4	7.5	10.45	6.67	+++	+++	1.39	12
5	26	10.78	6.65	+++	+++	-2.41	6
6	13	13.14	6.57	+++	+++	+1.01	12
7	13	16.92	6.47	+++	+++	+1.30	7
8	4	17.44	6.44	+++	+++	+4.36	7
9	23	20.04	6.38	+++	+++	-1.15	4
10	18	30.77	6.19	+++	+++	+1.70	13
11	22	33.39	6.16	+++	+++	+1.52	6
12	33	49.21	5.99	+++	+++	+1.49	14
13	1100	440.9	5.04	++	++	-2.49	5
14	1110	467.6	5.02	++	++	-2.37	15
15	480	486.9	5.00	++	++	+1.01	5
16	280	698.7	4.84	++	++	+2.50	16
17	3900	981.9	4.69	++	++	-3.97	17
18	7200	8933	3.73	++	++	1.24	14
19	18600	16940	3.46	+	+	-1.10	11
20	54000	50955	2.98	+	+	-1.06	5

a: The Error column shows the ratio of estimated activity to measured activity (or the ratio of Active/Estimate, if that gives a number greater than 1, in which case the number is negative).

a: Error 值是实验活性和预测活性的比值。当实验活性比预测活性大时, 为实验活性/预测活性, 且为负值; 反之, 为预测活性/实验活性, 为正值。

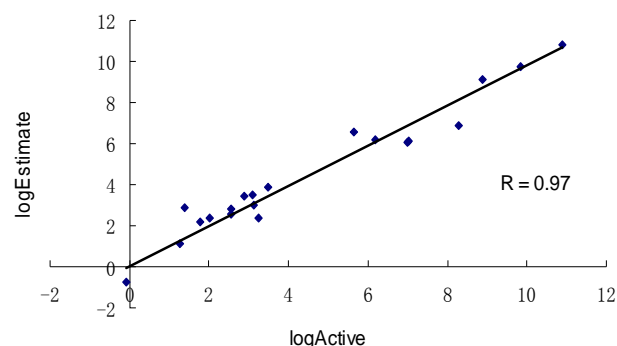


Figure 3. The correlation curve of the experimental activities and estimated activities in training set

图 3. 训练集中实测活性与预测活性的相关曲线

Table 3. Results from Fischer validation
表 3. Fischer 交叉验证结果

Trial No.	Total cost	r	Trial No.	Total cost	r
Unscrambled	83.774	0.977	-	-	-
1	134.147	0.857	11	138.48	0.841
2	109.908	0.943	12	102.778	0.959
3	138.202	0.837	13	149.002	0.832
4	148.47	0.805	14	111.153	0.914
5	130.47	0.855	15	150.166	0.789
6	111.709	0.896	16	139.607	0.845
7	108.463	0.944	17	120.153	0.887
8	157.041	0.819	18	170.508	0.743
9	121.551	0.873	19	107.181	0.929
10	205.767	0.578	-	-	-

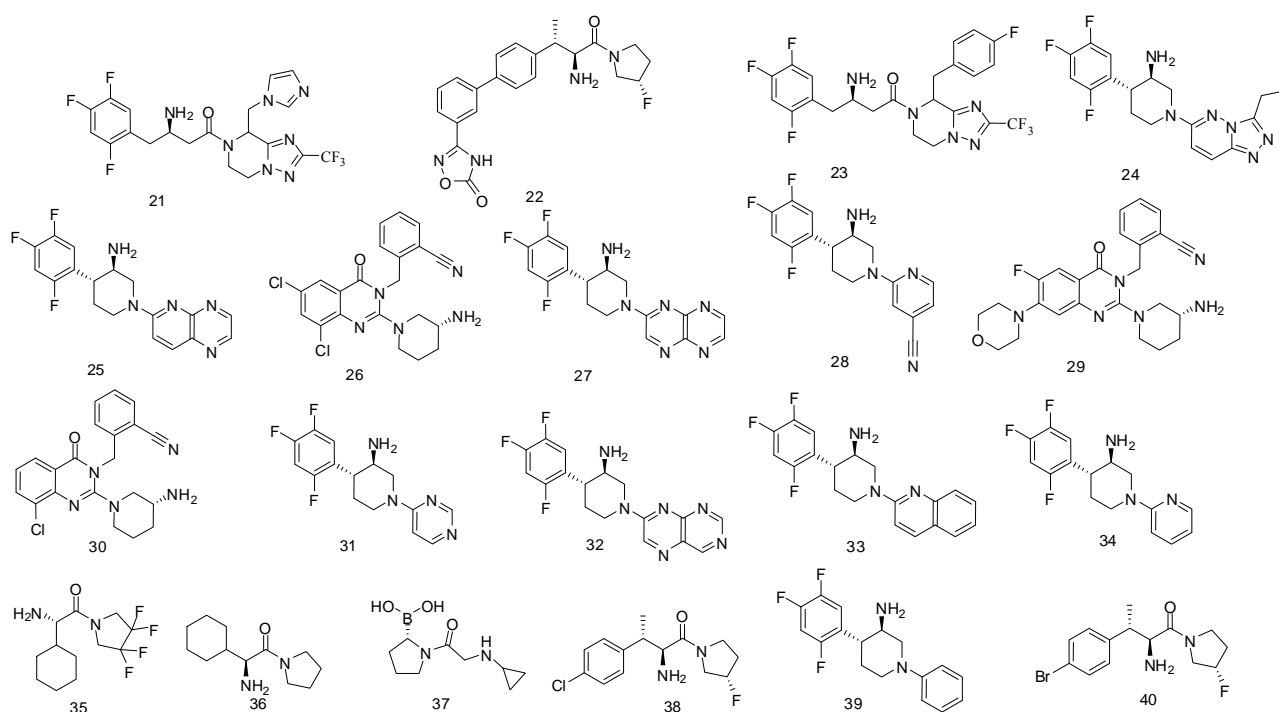


Figure 4. The chemical structures of the test set compounds
图 4. 测试集化合物结构式

3.3. 数据库筛选

ZINC^[25]是一个免费的虚拟筛选数据库, 包含 460 万个具有类药性的化合物。利用药效团模型 Hypo 1 对 ZINC 数据库中 87,337 个化合物通过 Ligand Pharmacophore Mapping 模块进行匹配, 设置 Maximum Omitted Feature 值为 0, 寻找可能具有 DPP-IV 抑制活性的化合物, 初步得到预测活性小于 $10 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的化合物 1369 个。

由于得到的活性化合物较多, 为了进一步分析这些化合物与 DPP-IV 活性位点相互作用, 将其利用 DS 中 LigandFit 模块对接到 DPP-IV 的活性位点。选取 PDB 数据库中的 DPP-IV 晶体复合物 (PDB ID: 2HHA)。利用 LigandFit 中提供的 Find Sites as Volume of Selected Ligand 定义活性位点。根据 -PLP2 评分函数筛选出分数 ≥ 90 的化合物 21 个 (表 4)。其中打分函数最高的化合物 ZINC52961142 与药效团匹配结果如图 5, 与 DPP-IV 活性位点对接结果如图 6, 预测活性为 $0.05 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。该化合物的抑制活性有待进一步研究。

利用药效团模型进行数据库搜索, 其计算速度要比半柔性分子对接快, 因此本文先利用得到的较优药

效团模型进行数据库搜索以得到有可能作用于 DPP-IV 活性位点的化合物, 接着再将这些化合物与活性位点进行分子对接, 大大缩短了计算时间, 提高了筛选效率。本文整个虚拟筛选的流程见图 7。

Table 4. The results of the top 21 compounds and their estimated activities given by Hypo 1
表 4. 虚拟筛选得到的 21 个化合物及其预测活性

Name	Estimate	Fitvalue	-PLP2
ZINC52961142	0.049915	8.98707	102.46
ZINC14988730	0.102882	8.67296	95.91
ZINC33334472	0.594758	7.91096	95.28
ZINC20859138	0.61609	7.89566	94.53
ZINC13769326	0.198493	8.38756	94.24
ZINC13787128	0.40912	8.07345	93.73
ZINC12024495	0.489004	7.99599	93.63
ZINC02645227	0.930201	7.71672	93.16
ZINC14538834	0.497576	7.98844	93.03
ZINC08630534	0.94546	7.70966	92.83
ZINC52961143	0.109409	8.64625	92.44
ZINC16523709	0.98261	7.69292	91.97
ZINC27549215	1.20592	7.60398	91.75
ZINC23983636	2.31882	7.32003	91.3
ZINC46129896	6.65433	6.8622	91.16
ZINC39659538	5.6556	6.93282	91.1
ZINC16523707	0.762057	7.80331	91.05
ZINC15100317	0.557344	7.93918	91.01
ZINC52961071	0.21232	8.35831	90.4
ZINC06549740	0.881553	7.74005	90.3
ZINC40105446	0.140271	8.53833	90.1

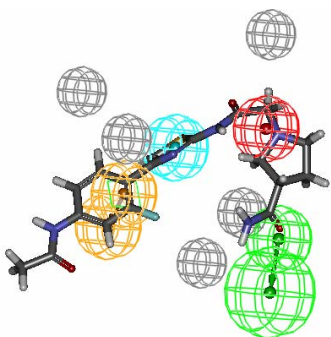
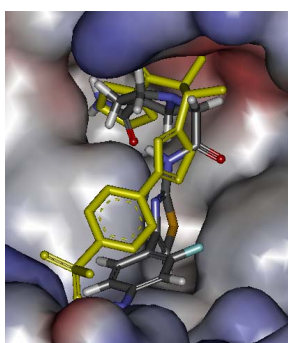


Figure 5. The superposition of compound ZINC52961142 with Hypo 1
图 5. 化合物 ZINC52961142 与模型 Hypo 1 的叠合情况



The overlay of compound ZINC52961142 (gray) and the inhibitor (yellow) in X-ray crystal structure (PDB code: 2HHA) shows the same orientation in the DPP-IV active site.

Figure 6. The orientation of compound ZINC52961142 in the active site of DPP-IV

图 6. 化合物 ZINC52961142 在 DPP-IV 活性位点的分布

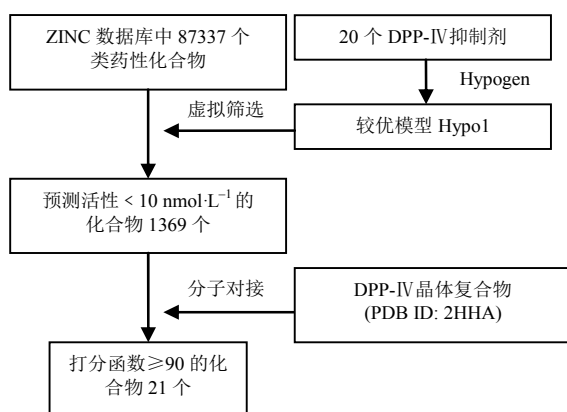


Figure 7. The flow chart showing sequential virtual screening methods used in this study

图 7. 本文虚拟筛选整体流程图

3.4. 抑制剂与 DPP-IV 活性部位相互作用

Yoshida^[9]等人对吡咯烷 γ 位取代的噻唑烷类化合物进行系统研究时, 得到了活性最好的化合物 1 (IC_{50} 为 $0.92 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 该类化合物在 S_2 口袋区引入

了一个芳基哌嗪基团, 增强了与 Tyr547, Phe357 和 Arg358 残基的疏水作用, 提高了活性。李祎亮^[2]等人在综述 DPP-IV 抑制剂时也曾提出了 S_2 口袋区空间体积相对比较宽松, 引入体积大的基团有利于化合物活性的提高。本文提出的药效团模型较 Lu^[10]等人的模型相比, 在 S_2 区多了一个芳香环 (AR) 的特征性元素, 与 Yoshida 等人研究结果相符, 更直观的强化了 S_2 口袋区的疏水作用在抑制 DPP-IV 活性时的重要性。Hypo1 与晶体复合物 2HHA 活性位点匹配情况见图 8, 图 8(a) 中疏水基团 HY 和芳香环 AR 分别指向 Phe357 和 Tyr547, 证明了模型的正确性。在 S_1 口袋区引入电负性较强的基团能与受体 Ser630, Tyr662 和 Asn710 等残基之间形成氢键。从图 8(a) 中可以看出, 氢键受体 HBA 恰恰处于 Ser630 和 Asn710 之间, 虽与 2HHA 中抑制剂的羰基有一定距离, 但仍能较好的匹配。连接 S_2 、 S_1 的 P_1 区应包含一个氨基与 Glu205 和 Glu206 等残基相互作用^[2], Lu^[10]等人的模型中也提出了氢键供体这一特征元素。我们通过参照晶体复合物中的相互作用, 发现抑制剂中氨基大多数是以铵盐的形式与 Glu205 和 Glu206 中羧基形成盐桥或较强的静电吸引作用。可离子化正电中心既可以是带有电荷的原子, 也可以是在生理 pH 下会发生电离的中性基团。本文引入可离子化正电中心这一特征性元素来占据受体中的 P_1 区。图 8(a) 显示, 可离子化正电中心 PI 占据抑制剂的氨基位置, 且处于 Glu205 和 Glu206 的中间。

另外, 在构建药效团模型时还加入了排除体积。配体和受体相互作用时, 在配体的某些取代位置上存在某些原子或基团可能会和受体产生不利的原子碰撞, 这些位置上的原子或基团占有的位置就构成排除体积。Hypo 1 共包含了 5 个排除体积, 由图 8(b) 可以看出, EV1 占据了残基 Tyr666 所在的位置, EV2 接近于 Phe357, EV3 接近于 Tyr547, EV4 和 EV5 分别处于 Ser630 和 Asn710 的周围。

由此可见, 本文提出的药效团模型与目前研究的 DPP-IV 抑制剂构效关系基本相符, 能够明确地描述抑制剂与受体的相互作用, 为发现新型的 DPP-IV 抑制剂提供了理论参考。

4. 结论

本文利用 Accelry 公司 Discovery Studio 2.5 软件包构建了一个新的具有高可信度的 DPP-IV 药效团模型

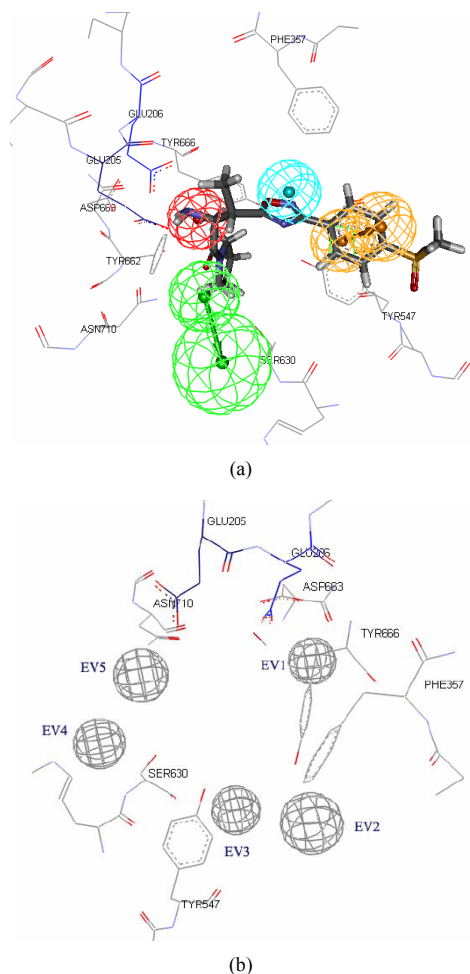


Figure 8. Alignment of Hypo 1 to DPP-IV active site and the ligand in crystal complex 2HHA

图 8. 最佳模型 Hypo 1 与 DPP-IV 活性位点匹配

Hypo 1。模型中的芳香环和疏水基团代表能与 Tyr547, Phe357 和 Arg358 等残基形成疏水作用, 对抑制活性非常重要。可离子化正电中心表示与受体中 Glu205 和 Glu206 残基中羧基形成盐桥, 亦可增强抑制活性。该模型与目前报道的 DPP-IV 抑制剂构效关系基本相符。训练集化合物活性实验值和预测值相关系数为 0.97, 显示了较好的预测能力, 基于 Fischer 交叉验证结果表明该模型具有较高的置信度。利用该模型进行 ZINC 数据库搜索, 得到预测活性小于 $10 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的化合物 1369 个。将这些化合物对接到 DPP-IV 的活性位点并根据 PLP2 评分函数筛选出 21 个评分较高的化合物, 其中打分最高的化合物 ZINC52961142 预测活性为 $0.05 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。该药效团模型的提出为进一步的设计 DPP-IV 抑制剂、结构优化和虚拟筛选提供了重要的理论参考。

5. 致谢

特别感谢国家重点基础研究发展计划(973)项目给予的基金支持(批准号: 2009CB918501)。

参考文献 (References)

- [1] H. Sakashita, F. Akahoshi, H. Kitajima, et al. [(S)- γ -(Arylamino)propyl]thiazolidine compounds as a novel series of potent and stable DPP-IV inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2006, 14(11): 3662-3671.
- [2] 李祎亮, 王菊仙, 吴香玫等. 二肽基肽酶 IV 抑制剂的研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2008, 17(20): 1739-1744.
- [3] T. Kondo, I. Sugimoto, T. Nekado, et al. Design and synthesis of long-acting inhibitors of dipeptidyl peptidase IV. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2007, 15(7): 2715-2735.
- [4] C. F. Deacon, J. J. Holst. Dipeptidyl peptidase IV inhibitors: A promising new therapeutic approach for the management of type 2 diabetes. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 2006, 38(5-6): 831-844.
- [5] J. Y. Xu, L. Wei, R. Mathvink, et al. Discovery of potent and selective phenylalanine based dipeptidyl peptidase IV inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2005, 15(10): 2533-2536.
- [6] J. M. Cox, B. Harper, A. Mastracchio, et al. Discovery of 3-aminopiperidines as potent, selective, and orally bioavailable dipeptidyl peptidase IV inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2007, 17(16): 4579-4583.
- [7] J. Feng, Z. Y. Zhang, M. B. Wallace, et al. Discovery of alogliptin: A potent, selective, bioavailable, and efficacious inhibitor of dipeptidyl peptidase IV. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2007, 50(10): 2297-2300.
- [8] D. Kim, J. E. Kowalchick, S. D. Edmondson, et al. Triazolopiperazine-amides as dipeptidyl peptidase IV inhibitors: Close analogs of JANUVIA™ (sitagliptin phosphate). *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2007, 17(12): 3373-3377.
- [9] T. Yoshida, H. Sakashita, F. Akahoshi, et al. [(S)- γ -(4-Aryl-1-piperazinyl)-L-prolyl]thiazolidines as a novel series of highly potent and long-lasting DPP-IV inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2007, 17(9): 2618-2621.
- [10] I. L. Lu, K. C. Tsai, Y. K. Chiang, et al. A three-dimensional pharmacophore model for dipeptidyl peptidase IV inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2008, 43(8): 1603-1611.
- [11] E. B. Villhauer, J. A. Brinkman, G. B. Naderi, et al. 1-[[[3-Hydroxy-1-adamantyl]amino] acetyl]-2-cyano-(S)-pyrrolidine: A potent, selective, and orally bioavailable dipeptidyl peptidase IV inhibitor with antihyperglycemic properties. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2003, 46(13): 2774-2789.
- [12] S. D. Edmondson, A. Mastracchio, J. L. Duffy, et al. Discovery of potent and selective orally bioavailable β -substituted phenylalanine derived dipeptidyl peptidase IV inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2005, 15(12): 3048-3052.
- [13] D. Kim, L. P. Wang, M. Beconi, et al. (2R)-4-Oxo-4-[3-(trifluoromethyl)-5,6-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-7(8H)-yl]-1-(2,4,5-trifluorophenyl)butan-2-amine: A potent, orally active dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2005, 48(1): 141-151.
- [14] S. D. Edmondson, A. Mastracchio, M. Beconi, et al. Potent and selective proline derived dipeptidyl peptidase IV inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2004, 14(20): 5151-5155.
- [15] S. W. Wright, M. J. Ammirati, K. M. Andrews, et al. Cis-2,5-dicyanopyrrolidine inhibitors of dipeptidyl peptidase IV: Syn-

- thesis and *in vitro*, *in vivo*, and X-ray crystallographic characterization. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2006, 49(11): 3068-3076.
- [16] S. M. Sheehan, H. J. Mest, B. M. Watson, et al. Discovery of non-covalent dipeptidyl peptidase IV inhibitors which induce a conformational change in the active site. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2007, 17(6): 1765-1768.
- [17] M. Eckhardt, E. Langkopf, M. Mark, et al. 8-(3-(R)-amino-piperidin-1-yl)-7-but-2-ynyl-3-methyl-1-(4-methyl-quinazolin-2-ylmethyl)-3,7-dihydropurine-2,6-dione (BI 1356), a highly potent, selective, long-acting, and orally bioavailable DPP-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2007, 50(26): 6450-6453.
- [18] 鲍红娟, 张燕玲, 乔延江. HMG-CoA 还原酶抑制剂三维药效团的构建[J]. *物理化学学报*, 2008, 24(2): 301-306.
- [19] F. G. Osman. Pharmacophore perception, development, and use in drug design. International University Line, 2000: 259-260.
- [20] S. Sakkiah, S. Thangapandian, S. John, et al. 3D QSAR pharmacophore based virtual screening and molecular docking for identification of potential HSP90 inhibitors. *European Journal of Medical Chemistry*, 2010, 45(6): 2132-2140.
- [21] J. E. Kowalchick, B. Leiting, K. D. Pryor, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of triazolopiperazine-based β -amino amides as potent, orally active dipeptidyl peptidase IV (DPP-4) inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2007, 17(21): 5934-5939.
- [22] D. Ferraris, Y. S. Ko, D. Calvin, et al. Ketopyrrolidines and ketoazetidines as potent dipeptidyl peptidase IV (DPP IV) inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2004, 14(22): 5579-5583.
- [23] Y. Hu, L. F. Ma, M. Wu, et al. Synthesis and structure-activity relationship of N-alkyl Gly-boro-Pro inhibitors of DPP4, FAP, and DPP7. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2005, 15(19): 4239-4242.
- [24] <http://www.changbioscience.com/stat/corr.html>
- [25] J. J. Irwin, B. K. Shoichet. ZINC—A free database of commercially available compounds for virtual screening. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2004, 45(1): 177-182.