

新型阿片受体部分激动剂——噻吩诺啡及其衍生物的构效关系研究

俞 纲, 柳用绍, 颜玲娣, 温 泉, 官泽辉*

(北京药理毒理研究所, 北京 100850)

摘要: 为了探讨新型阿片受体部分激动剂——噻吩诺啡药理作用的结构基础, 本研究在大鼠热辐射甩尾和小鼠热板致痛模型上, 评价了噻吩诺啡镇痛作用的强度与有效时间, 并通过其与一系列衍生物的相互比较, 分析该类化合物的构效关系。结果显示, 噻吩诺啡为强效、长效的阿片受体部分激动剂; N 位上的环丙甲基决定了噻吩诺啡部分激动剂的特性; 改变噻吩环与侧链的连接位点对镇痛活性没有显著影响; 侧链中含有噻吩环的衍生物有效时间均较长, 用吡啶环、苯环替换侧链中的噻吩环, 使化合物的有效时间明显缩短, 提示噻吩环可能与长效作用密切相关。本研究为新结构类型的长效阿片化合物的开发提供了一些线索。

关键词: 噻吩诺啡; 长效; 部分激动剂; 构效关系

中图分类号: R916.2

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 07-0726-05

Structure-activity relationships analysis of thienorphine and its derivatives

YU Gang, LIU Yong-shao, YAN Ling-di, WEN Quan, GONG Ze-hui*

(Beijing Institute of Pharmacology and Toxicology, Beijing 100850, China)

Abstract: Thienorphine is a chemically-new opioid developed in Beijing Institute of Pharmacology and Toxicology. To elucidate the chemical basis for the unique pharmacological effects of thienorphine, 15 derivatives were synthesized according to combinatorial chemistry and the structure-activity relationships of these compounds were studied. It is demonstrated that thienorphine is a potent long-acting partial agonist. *N*-Cyclopropylmethyl is responsible for the antagonist effect of thienorphine. More importantly, thiophene at the end of side chain is most likely the pharmacophore accounts for the long-lasting effect of thienorphine. Change of the connection of thiophene and the side chain does not result in changes in the antinociceptive activity.

Key words: thienorphine; long-acting; partial agonist; structure-activity relationship

噻吩诺啡 (图 1) 是北京药理毒理研究所设计合成的新型阿片受体部分激动剂^[1, 2], 其结构和药理学特点与经典的阿片受体部分激动剂丁丙诺啡有许多相似之处。然而与丁丙诺啡相比, 噻吩诺啡的镇痛效能更强, 口服吸收更好, 尤其是噻吩诺啡的有效时间特别长: 在小鼠热板实验中, 它的镇痛作用的有效时间为 8 h, 而它拮抗吗啡毒性的 $t_{1/2}$ 更是长达 14 d^[2], 这在阿片类化合物中极为罕见。更有意义的是, 连续

给予噻吩诺啡不引起小鼠行为敏化^[3]、位置偏爱, 不能使大鼠形成自身给药行为, 提示噻吩诺啡的依赖潜能较小。噻吩诺啡这些独特的药理学特点使其有望成为一个新型的镇痛戒毒新药。

药物的药理特性往往与其结构特点密切相关。噻吩诺啡的结构与丁丙诺啡较为相似。两者均有奥列帕文 (oripavines) 的母核, N 位取代基为环丙甲基, C3 为羟基。根据已有的构效关系研究, N 位上的环丙甲基可能决定了拮抗活性, 而 C3 位的羟基可能与激动活性有关。噻吩诺啡的化学结构最突出的特点是在侧链中引入了噻吩环。有文献^[4]报道, 含噻吩环的化合物与受体亲和力高, 结合后解离慢, 结果产生了长效

收稿日期: 2008-12-24.

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 资助项目 (2005AA233040).

*通讯作者 Tel: 86-10-66931620, E-mail: gongzeh@yahoo.com.cn

的作用。例如, 噻托溴铵是一种新型的 M 受体拮抗剂, 分子结构中含有两个噻吩环, 与受体有较强的亲和力, 解离 $t_{1/2}$ 为 34.7 h。由此作者推测, 噻吩诺啡的长效作用有可能与噻吩环有关。本研究按照组合化学的原理, 通过对噻吩诺啡化学结构的关键基团的取代、替换, 阐述各化学基团对其药效作用的影响, 并希望以构效关系为导向, 寻找新型、强效、长效、低成瘾性的阿片类药物。

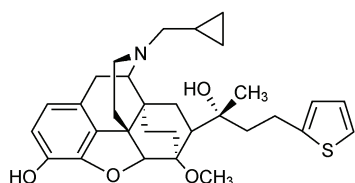


Figure 1 Chemical structure of thienorphine

材料与方法

动物 Wistar 大鼠 (雌雄各半, 220~260 g) 和昆明种小鼠 (雌性, 18~22 g) 均为 I 级动物[军事医学科学院实验动物中心, 动物合格证号: SCXK-(军) 2002-001], 自由摄食、饮水。日光灯照明, 每 12 h 黑白交替。

药品与试剂 盐酸噻吩诺啡及噻吩诺啡衍生物均由北京药理毒理研究所设计合成。以蒂巴因为原料, 先经双烯 Diels-Alder 反应, 得到环加成产物, 再经格式反应, 脱甲基、烷基化等反应得到目标化合物。所有化合物均通过熔点测定、元素分析、红外光谱、核磁共振、质谱等方法确定其结构。

仪器 热辐射测痛仪 (01489 型), 美国 Columbia Instruments 公司产品。热板测痛仪 (SOCREL, DS-37 型), 德国 Hugo Sachs 公司产品。

大鼠热辐射甩尾实验 用酒精棉球擦净大鼠尾部, 将大鼠尾尖端 1~2 cm 处内侧皮肤置于热辐射测痛仪的辐射点上, 从照射开始到出现甩尾反应的时间即为痛阈值。根据需要选择合适的热刺激强度 (测定量效曲线时选用热刺激强度 35; 测定时效曲线时选用热刺激强度 18), 测定给药前动物的基础痛阈, 给药后不同时间再次测试痛阈, 按下式计算给药后的最大可能作用百分率 (maximum possible effect, MPE%), MPE% 大于 30% 认为镇痛有效。为防止动物组织损伤, 根据辐照强度, 人为设定光辐照终止时间 (测定量效曲线时为 7 s, 测定时效曲线时为 16 s)。

$$\text{MPE}\% = \frac{\text{给药后痛阈值} - \text{给药前痛阈值}}{7\text{秒(或16秒)} - \text{给药前痛阈值}} \times 100\%$$

小鼠热板测痛法 将小鼠置于热板 (55 ± 0.1) °C 上, 同时开始计时, 直至出现疼痛反应 (跳跃、舔后足、踩后足等) 为止, 所得时间即为痛阈值。给药前测动物基础痛阈, 选择基础痛阈在 5~15 s 的小鼠用于实验。动物皮下注射一定剂量的药物后, 在不同时间点再次测定痛阈。比较给药前后小鼠痛阈值的改变, 按下式计算药物的最大可能作用百分率 (MPE%), MPE% 大于 30% 认为镇痛有效。为防止动物组织损伤, 60 s 不出现疼痛反应, 为镇痛 100%, 并终止实验。

$$\text{MPE}\% = \frac{\text{给药后痛阈值} - \text{给药前痛阈值}}{60\text{秒} - \text{给药前痛阈值}} \times 100\%$$

统计学分析 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 按 Bliss 法计算 ED_{50} 值。

结果

1 噻吩诺啡的镇痛作用

在大鼠热辐射甩尾 (热刺激强度 35) 实验中, 皮下注射噻吩诺啡 $0.5 \sim 8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 具有显著的镇痛作用, 最大镇痛作用为 85.32%, ED_{50} 为 $1.34 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (图 2, 表 1)。噻吩诺啡的量效曲线有封顶现象, 为典型的部分激动剂的特点。

为测定噻吩诺啡镇痛作用的时效曲线, 降低热辐射刺激强度, 使较弱的药物作用得以表现。结果显示, 在大鼠热辐射甩尾 (热刺激强度 18) 实验中, 皮下注射噻吩诺啡 ($1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 30 min 后即可产生显著的镇痛作用, 到 1 h 达到最大镇痛作用, 而后随时间变化仅有缓慢下降, 在给药后 7 h 其镇痛作用仍超过 80% (图 3)。

表 1 比较了噻吩诺啡在大鼠热辐射甩尾实验和小鼠热板测痛实验的镇痛作用。这些结果均提示, 噻吩诺啡是一个具有较强镇痛作用的长效阿片受体部分激动剂。

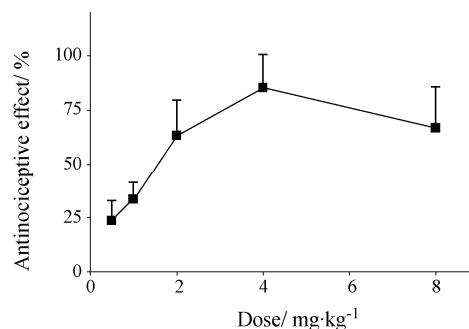


Figure 2 Dose-response curve of the antinociceptive effect produced by sc administration of thienorphine in the rat tail flick test. $n = 8$, $\bar{x} \pm s$. Rats were tested 30 min after drug administration

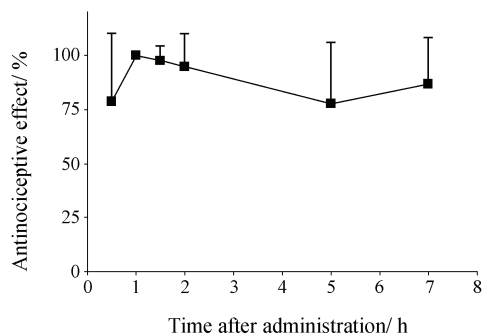


Figure 3 Time course of the antinociceptive effect produced by sc administration of thienorphine (1.5 mg·kg⁻¹) in the rat tail flick test. *n* = 9, $\bar{x} \pm s$

Table 1 Antinociceptive effects of thienorphine *in vivo*

Model	ED ₅₀ (95% confidence limits) /mg·kg ⁻¹	Efficacy /%	Effective time
Rat tail flick test	1.34 (1.14-1.56)	85.32 ± 15.35	>7 h
Mice hot plate test ^[2]	0.25 (0.09-0.41)	86.97 ± 24.35	8 h

2 噻吩诺啡的构效关系研究

2.1 N 位取代基改变对镇痛活性的影响 以一系列的取代基替换了噻吩诺啡 N 位 (R₁) 上的环丙甲基, 合成出一系列噻吩诺啡的衍生物, 并用小鼠热板测痛实验评价镇痛活性。这些化合物的镇痛活性与其结构的关系见表 2。N 位取代基可显著影响本类化合物的镇痛活性。当 N 位取代基为甲基时, 化合物 (TH-002) 的镇痛活性最强, 镇痛有效剂量在 μg·kg⁻¹ 水平。总体看来, N 位取代基越大, 化合物的镇痛活性越低。TH-001、TH-002 和 TH-004 的镇痛效能接近 100%, 初步判断为完全激动剂。丙烯基取代的 TH-003 的镇痛作用有“封顶”现象, 表现为部分激动剂。

2.2 噻吩环与侧链连接位点改变对镇痛活性的影响 噻吩环与侧链的连接位点 (R₂) 改变对镇痛活性的影响见表 3。噻吩诺啡与 TH-008 相比母核结构完全一致, N-位取代基均为环丙甲基, 两者的唯一不同在于噻吩环与侧链的连接位点从 2-位移到了 3-位。在小鼠热板测痛实验中, 噻吩诺啡与 TH-008 均表现为部分激动剂, 最大镇痛效能为 70%~80%, 镇痛有效剂量在 mg·kg⁻¹ 水平。同样, 母核结构完全一致的 TH-003 和 TH-009, TH-004 和 TH-010 在 R₂ 位引入改变后, 镇痛效能与强度没有显著改变。实验结果显示, 对于 N 位取代基 (R₁) 相同的两个化合物, 噻吩环与侧链的连接位点从其 2-位移到 3-位对镇痛活性没有显著影响。

Table 2 Antinociceptive effects of thienorphine derivatives in the mice hot plate test

Compound	R ₁ =	R ₂ =	R ₃ =	Dose /mg·kg ⁻¹	MPE/%
TH-001	-H		-OH	0.25	94.6 ± 10.4
TH-002	-CH ₃		-OH	0.001 0.004	47.4 ± 8.9 92.4 ± 6.0
Thienorphine			-OH	0.31 0.625 1.25 2.5	53.2 ± 35.0 70.1 ± 29.4 87.0 ± 24.4 74.7 ± 24.3
TH-003	-CH ₂ -CH=CH ₂		-OH	1.5 3.0 6.0 15.0	44.6 ± 32.9 75.9 ± 24.1 82.2 ± 28.9 74.4 ± 21.8
TH-004			-OH	10	92.9 ± 17.7
TH-005			-OH	80	76.9 ± 22.0
TH-006			-OH	5 12.5	18.3 ± 9.2 34.2 ± 36.1
TH-007			-OH	5 10	17.1 ± 11.7 17.8 ± 12.1

n = 10, $\bar{x} \pm s$. Mice were treated with various doses of thienorphine derivatives and tested 30 min after sc administration

Table 3 Antinociceptive effects of thienorphine derivatives in the mice hot plate test

Compound	R ₁ =	R ₂ =	R ₃ =	Dose /mg·kg ⁻¹	MPE/%
Thienorphine			-OH	0.31 0.625 1.25 2.5	53.2 ± 35.0 70.1 ± 29.4 87.0 ± 24.4 74.7 ± 24.3
TH-008			-OH	2.5 5.0 10.0	77.5 ± 32.9 73.5 ± 25.5 58.3 ± 23.6
TH-003	-CH ₂ -CH=CH ₂		-OH	1.5 3.0 6.0 15.0	44.6 ± 32.9 75.9 ± 24.1 82.2 ± 28.9 74.4 ± 21.8
TH-009	-CH ₂ -CH=CH ₂		-OH	1.25 5 10	47.2 ± 30.9 57.9 ± 41.7 59.5 ± 26.4
TH-004			-OH	10	92.9 ± 17.7
TH-010			-OH	10.0 20.0	75.3 ± 20.9 100 ± 0











n = 10, $\bar{x} \pm s$. Mice were treated with various doses of thienorphine derivatives and tested 30 min after sc administration

2.3 噻吩环替换为吡啶环或苯环对镇痛活性与有效时间的影响 表 4 是吡啶环或苯环取代与噻吩环取代衍生物 (R_2) 的镇痛活性比较。噻吩诺啡与 TH-011 相比, 母核结构完全一致, 两者唯一的不同在于 TH-011 将噻吩诺啡中的噻吩环替换为苯环, 实验结果显示, TH-011 的镇痛活性有所下降, 表现为镇痛作用的最大效能下降, 有效剂量升高。TH-012 和 TH-013 是类似物, TH-012 可产生 100% 的镇痛效能, 而 TH-013 仅能产生约 45% 的镇痛作用。将 TH-014 中的噻吩环替换为吡啶环, 使 TH-015 镇痛作用的有

效剂量明显下降。通过这些两两比较发现, 将噻吩环替换为吡啶环或苯环, 化合物的镇痛活性有所改变。

更值得注意的是, 噻吩诺啡、TH-012 及 TH-014 在小鼠热板测痛实验中的有效时间分别大于 8、16 和 24 h, 而 TH-011、TH-013 和 TH-015 的有效时间均小于 3 h。此结果表明, 含有噻吩环的化合物的有效时间均较长, 将噻吩环替换为吡啶环或苯环, 可使化合物的有效时间大为缩短 (图 4), 噻吩环很有可能与这类化合物的长效作用相关。

Table 4 Antinociceptive effects of thienorphine derivatives in the mice hot plate test

Compound	$R_1=$	$R_2=$	$R_3=$	Dose/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	MPE/%
Thienorphine			-OH	0.31	53.2 ± 35.0
				0.625	70.1 ± 29.4
				1.25	87.0 ± 24.4
				2.5	74.7 ± 24.3
TH-011			-OH	2.5	18.5 ± 25.3
				5	35.5 ± 20.7
				10	17.2 ± 12.8
TH-012			-OCH ₃	5	14.4 ± 16.6
				10	62.2 ± 32.2
				40	100 ± 0
TH-013			-OCH ₃	5	45.3 ± 35.0
				10	-3.8 ± 8.8
TH-014	-CH ₃		-OCH ₃	0.5	81.8 ± 21.5
				2.5	100 ± 0
TH-015	-CH ₃		-OCH ₃	0.005	5.5 ± 16.2
				0.02	84.3 ± 29.2
				0.05	100 ± 0

$n = 10$, $\bar{x} \pm s$. Mice were treated with various doses of thienorphine derivatives and tested 30 min after sc administration

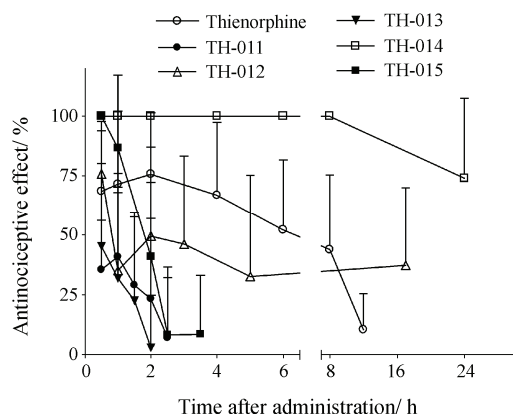


Figure 4 Time course of the antinociceptive effects produced by sc administration of thienorphine ($1.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), TH-011 ($5.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), TH-012 ($10.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), TH-013 ($5.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), TH-014 ($2.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and TH-015 ($0.05 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) in the mice hot plate test. $n = 10$, $\bar{x} \pm s$

讨论

阿片类药物的滥用与依赖一直是严重的医学和社会问题。近年来, 阿片受体部分激动剂在药物依赖的治疗中越来越受到重视。在动物模型和临床上, 阿片受体部分激动剂丁丙诺啡, 无论是单用还是与纳曲酮合用, 均可有效治疗阿片依赖^[5]。尽管如此, 丁丙诺啡的一些缺陷还是限制了它的临床效果。丁丙诺啡口服生物利用度低, 临床使用时一般需要制成舌下含服制剂^[6]。在一定条件下, 丁丙诺啡依然可以导致躯体和精神依赖^[7]。此外在药物依赖的治疗中, 具有长效作用的治疗方式往往可以取得更好的治疗效果^[8]。尽管丁丙诺啡的有效时间相对一般阿片类化合物较长, 但仍需每天或隔天用药^[9], 这种治疗方式增加了患者脱失的风险, 同时也加重了医务人员的负担。

为寻找新的长效化合物, 化学家们对现有的阿片类化合物进行了结构改造。Neilan 和 Husbands 等^[10,11]通过对丁丙诺啡的结构改造, 合成了一些丁丙诺啡的衍生物。他们的研究表明, 这些改造可以增强新化合物与阿片受体的亲和力, 从而减缓其与阿片受体的解离, 产生长效的作用。与此同时, 我国研究人员创造性地将噻吩环引入丁丙诺啡的分子结构, 设计合成了具有自主知识产权的新型阿片类化合物。

噻吩诺啡是全新结构的阿片受体部分激动剂, 它的药理作用与其化学结构密切相关。通过构效关系分析, 作者发现该类阿片化合物是激动剂还是拮抗剂主要取决于 N 位取代基: 当 N 位取代基为环丙甲基或丙烯基时, 可使化合物产生拮抗效应, 而当 N 位取代基为甲基时, 化合物是纯的激动剂。这些结果与经典的阿片类化合物构效关系基本一致^[12]。然而在这些衍生物中, 作者也意外地发现: 衍生物 TH-012 的 N 位取代基为环丙甲基, 却能达到最大的

镇痛作用。此外,一些化合物的 N 位取代较为特殊,如 TH-004 和 TH-010 是环丁甲基, TH-006 是环戊基, TH-007 是环己基,这些结构变化都鲜见有报道,对经典的阿片化合物的构效关系研究是新的补充。

噻吩环是噻吩诺啡化学结构的最大创新,含有噻吩环的衍生物镇痛作用的有效时间均较长,将噻吩环替换为吡啶环或苯环,镇痛作用的有效时间大为缩短。这些结果都提示噻吩环可能是噻吩诺啡长效作用的结构基础。至于噻吩环延长该类化合物镇痛作用有效时间的具体机制,目前还不清楚,有一种可能是噻吩环通过与阿片受体效应部位以外的结构结合,增加其与阿片受体结合的几率与牢固性。研究这类化合物的空间构象及其与受体模型间的相互作用可能会有助于解释这些结果。

构效关系研究对新型阿片受体激动剂和拮抗剂的开发具有重要意义。在这些噻吩诺啡的衍生物中,既有完全激动剂,又有部分激动剂,化合物镇痛作用的效能与强度也各异。这些构效关系的研究不仅有助于对噻吩诺啡镇痛作用结构基础的理解,丰富阿片类物质的构效关系研究;还能进一步根据不同的应用目的设计合成新的化合物,“微调”作用的效能与强度,开发系列化合物。这些新合成的噻吩诺啡衍生物中,一部分有特点的衍生物也值得进行进一步的研究。

References

- [1] Liu CH, Liu H, Han XY, et al. Synthesis and characterization of thienorphine and its glucuronide conjugate [J]. *Synth Commun*, 2005, 35: 701-710.
- [2] Yu G, Yue YJ, Cui MX, et al. Thienorphine is a potent long-acting partial opioid agonist: a comparative study with buprenorphine [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 318: 282-287.
- [3] Zhao WL, Gong ZH, Liang JH. A new buprenorphine analog, thienorphine, inhibits morphine-induced behavioral sensitization in mice [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25: 1413-1418.
- [4] Maesen FP, Smeets JJ, Sledsens TJ, et al. Tiotropium bromide, a new long-acting antimuscarinic bronchodilator: a pharmacodynamic study in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [J]. *Eur Respir J*, 1995, 8: 1506-1513.
- [5] Davids E, Gastpar M. Buprenorphine in the treatment of opioid dependence [J]. *Eur Neuropsychopharm*, 2004, 14: 209-216.
- [6] Schuh KJ, Johanson CE. Pharmacokinetic comparison of the buprenorphine sublingual liquid and tablet [J]. *Drug Alcohol Depend*, 1999, 56: 55-60.
- [7] Lopatko OV, White JM, Huber A, et al. Opioid effects and opioid withdrawal during a 24 h dosing interval in patients maintained on buprenorphine [J]. *Drug Alcohol Depend*, 2003, 69: 317-322.
- [8] Kreek MJ. Opiates, opioids and addiction [J]. *Mol Psychiatry*, 1996, 1: 232-254.
- [9] Fudala PJ, Jaffe JH, Dax EM, et al. Use of buprenorphine in the treatment of opioid addiction. II. Physiologic and behavioral effects of daily and alternate-day administration and abrupt withdrawal [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 1990, 47: 525-534.
- [10] Neilan CL, Husbands SM, Breeden S, et al. Characterization of the complex morphinan derivative BU72 as a high efficacy, long-lasting mu-opioid receptor agonist [J]. *Eur J Pharmacol*, 2004, 499: 107-116.
- [11] Husbands SM, Neilan CL, Broadbear J, et al. BU74, a complex oripavine derivative with potent kappa opioid receptor agonism and delayed opioid antagonism [J]. *Eur J Pharmacol*, 2005, 509: 117-125.
- [12] Feinberg AP, Creese I, Snyder SH. The opiate receptor: a model explaining structure-activity relationships of opiate agonists and antagonists [J]. *PNAS*, 1976, 73: 4215-4219.