

# 先导化合物结构优化策略 (五) —— 降低药物 hERG 心脏毒性

周圣斌, 王 江, 柳 红\*

(中国科学院上海药物研究所、受体结构与功能重点实验室, 上海 201203)

**摘要:** 由人类果蝇相关基因 (hERG) 编码的钾离子通道在人类生理、病理过程中扮演着十分重要的角色。在心肌细胞中, hERG 钾通道影响心脏动作电位的复极过程。近年来, 一些药物因阻断该通道引起 QT 间期延长而被撤市。本文总结了降低与 hERG 相关心脏毒性的先导化合物结构优化策略, 包括: 降低脂溶性、降低碱性、引入羟基、引入酸性基团以及构象限制等。

**关键词:** 人类果蝇相关基因; 先导化合物结构优化; 脂溶性; 碱性; 构象限制; 心脏毒性

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2016) 10-1530-10

## Lead compound optimization strategy (5) – reducing the hERG cardiac toxicity in drug development

ZHOU Sheng-bin, WANG Jiang, LIU Hong\*

(Key Laboratory of Receptor Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

**Abstract:** The potassium channel encoded by the human ether-a-go-go related gene (hERG) plays a very important role in the physiological and pathological processes in human. hERG potassium channel determines the outward currents which facilitate the repolarization of the myocardial cells. Some drugs were withdrawn from the market for the serious side effect of long QT interval and arrhythmia due to blockade of hERG channel. The strategies for lead compound optimization are to reduce inhibitory activity of hERG potassium channel and decrease cardiac toxicity. These methods include reduction of lipophilicity and basicity of amines, introduction of hydroxyl and acidic groups, and restricting conformation.

**Key words:** hERG; lead compound optimization; lipophilicity; basicity; conformation restriction; cardiac toxicity

近年来, 众多药物由于心脏突发死亡事件而被撤出市场 (表 1)<sup>[1,2]</sup>。在药物临床前研究阶段, 24% 的药物由于心血管毒副作用终止开发, 45% 的药物由于引起心脏毒副作用而撤市<sup>[3,4]</sup>。药物引起心脏毒性的主要原因为: 阻断心脏的快速延迟整流电流 ( $I_{Kr}$ ), 造成心脏动作电位时程中 QT 间期延长, 进而诱发尖端扭转性室性心动过速 (TdP), 严重时可引起突然

死亡。 $I_{Kr}$  由 hERG 基因编码的 Kv11.1 钾离子通道传导, 在整个动作电位时程中起到至关重要的作用<sup>[5]</sup>, 各国的药物监管部门规定新化学实体必须按照国际协调会议 (ICH) 指南进行全面的 hERG 活性和 QT 间期评价。尽早有效地预测、评价、优化, 避免药物对 hERG 钾通道的抑制活性, 有助于降低药物开发的成本, 提高药物开发的成功率。

### 1 hERG 钾通道与心脏毒性

#### 1.1 hERG 钾通道的结构与功能

hERG 钾通道是由 KCNH2 基因编码的 4 个相同亚单位所构成的四聚体结构。每个亚单位由  $\alpha$ -亚基

收稿日期: 2016-03-10; 修回日期: 2016-04-08.

基金项目: 国家杰出青年科学基金资助项目 (81025017).

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-21-50807042, E-mail: hliu@simmm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2016-0200

**Table 1** Withdrawal of marketed drugs due to prolonging QT interval or leading torsades de pointes (TdP)

Drug	Therapeutic class	Year of withdrawal
Prenylamine	Anti-anginal	1988
Lidoflazine	Anti-anginal	1989
Terodiline	Anti-anginal/ urinary incontinence	1991
Terfenadine	Antihistamine	1998
Sertindole	Antipsychotic	1998
Astemizole	Antihistamine	1999
Grepafloxacin	Antibiotic	1999
Cisapride	Gastric prokinetic	2000
Droperidol	Tranquilizer/analgesic	2001
Levacetylmethadol	Methadone substitution	2001
Dofetilide	Atrial fibrillation	2004
Thioridazine	Antipsychotic	2005
Clobutinol	Antitussive	2007
Dextropropoxyphene	Opioid analgesic	2009

(6 个跨膜结构域 S1 ~ S6) 和  $\beta$ -亚基 (细胞膜内侧 N 端和 C 端) 构成。主要功能区  $\alpha$ -亚基上的 S1 ~ S4 结构域是 hERG 钾通道的电压传感器, S4 链带 6 个正电荷, 随膜电压的变化在膜内移动, 调节孔道的开放与关闭。S5 到 S6 结构域及中间的链接区 P 链上的氨基酸残基 (关键氨基酸残基 Phe656 和 Tyr652) 构成了 hERG 钾通道的中心疏水孔道, 形似漏斗结构。P 链和 S6 结构域上 3 个氨基酸残基 (Thr623、Ser624 和 Val625) 构成了 hERG 钾通道上方的选择性滤膜。hERG 钾通道属于电压门控型离子通道, 存在 3 种构象状态, 分别为: 关闭态 (closed)、开放态 (open) 和失活态 (inactive), 在动作电位的不同阶段 hERG 钾通道开放、关闭的速度和程度不同, 呈现动态的构象变化<sup>[6]</sup>。

## 1.2 药物诱导的 QT 间期延长的可能机制

药物引起 QT 间期延长的作用机制主要分为: ① 直接抑制 hERG 钾通道; ② 阻碍 hERG 钾通道蛋白转运。

绝大多数撤市药物均能直接作用于 hERG 钾通道, 降低  $I_{Kr}$ , 影响心肌动作电位复极化, 进而诱发 TdP, 严重时造成突然死亡。临床上主要表现为心电图 (ECG) 上 QT 间期延长<sup>[7]</sup>。大量同源建模和定点突变实验研究表明: 药物中的脂溶性片段或芳杂环能够与疏水性 hERG 钾通道中的氨基酸残基 Phe656 形成  $\pi$ - $\pi$  疏水作用; 药物分子中的碱性氮原子在生理条件质子化后, 与氨基酸残基 Tyr652 形成  $\pi$ -阳离子相互作用; 此外, 药物还可以与过滤膜区的氨基酸残基如 Thr623、Ser624 和 Val625 产生相互作用<sup>[8]</sup>。药

物在 hERG 通道开放状态进入孔道, 随后 hERG 钾通道立即进入失活状态, 离子孔道的空间变小, 与药物的结合变强。

此外, 近期研究表明一些药物还可以通过抑制内质网上 hERG 钾通道蛋白的转运<sup>[9]</sup>, 减少心肌细胞膜表面 hERG 钾通道的表达, 缓慢地降低  $I_{Kr}$ , 从而影响心脏的复极化, 造成 QT 间期延长。例如: 降血脂药物普罗布考<sup>[10]</sup>、抗抑郁药氟西汀<sup>[11]</sup>、抗真菌药酮康唑<sup>[12]</sup>等通过阻碍 hERG 钾通道蛋白转运, 降低  $I_{Kr}$ 。近来, Wang 等<sup>[13]</sup>研究表明: 微小 RNA (miR-17-5p) 在慢性氧化应激条件下, 通过靶向多个压力相关的分子伴侣 (Hsp70、Hsc70、CANX 和 Golga2), 阻碍 hERG 钾通道蛋白转运。

## 1.3 降低药物 hERG 心脏毒性策略

采用计算机辅助药物设计 (CADD) 预测药物潜在 hERG 毒性, 指导药物设计与改造, 方便、快捷且成本较低。研究人员开发了很多预测 hERG 毒性的模型和工具<sup>[14, 15]</sup>。预测药物 hERG 毒性模型的构建方法主要分为两类: 一类是基于配体的构建方法。如中国药科大学尤启冬等<sup>[16]</sup>开发了 3D-QSAR 药效团和 2D-QSAR 联合模型, 表明强效的 hERG 抑制剂具有类似高级脂肪胺的药效团模型。中国科学院上海药物研究所新药设计发现中心构建了 Bayesian 分类模型, 论述了药物抑制 hERG 钾通道的活性与化合物的相对分子质量、脂溶性、极性表面积和碱性等性质的相关性, 概括总结了一系列对 hERG 钾通道具有较强抑制活性的药效团片段<sup>[17]</sup>, hERG 抑制剂多为脂溶性高、碱性强、缺乏氢键受体、柔性较大的分子。另一类是基于受体的预测模型构建方法。由于 hERG 钾通道的晶体结构尚未被解析, 研究人员通过钾通道的同源建模和分子对接, 研究药物与 hERG 钾通道的相互作用, 并总结概括 hERG 钾通道为疏水型构象多变的离子孔道<sup>[18]</sup>; hERG 抑制剂与钾通道氨基酸残基可形成  $\pi$ - $\pi$  疏水、 $\pi$ -阳离子等相互作用。采用计算方法预测药物潜在 hERG 心脏毒性的优点在于快速、方便、节约合成及测试成本。但由于构建模型多样、建模数据库不统一 (样本数目、实际测试方法涉及配体结合、电生理膜片钳等)、内源 hERG 钾通道构象多变的特点, 同源建模和分子对接的精准度仍是目前钾离子通道研究的一大难点<sup>[19]</sup>。

目前, 通过先导化合物结构优化解决药物的 hERG 抑制问题, 仍是改善心脏毒性最为直接和有效的策略。Jamieson<sup>[20]</sup>、Kerns<sup>[21]</sup>和 You 等<sup>[22]</sup>分别于 2006、2008 和 2011 年对降低药物 hERG 抑制活性的

结构修饰策略进行了综述。

本文基于前人的工作, 重点综述了 2010 年之后降低 hERG 抑制作用的结构优化策略, 具体包括: 降低脂溶性、降低碱性、引入氢键受体或可生成负离子的基团以及构象限制等。本文通过对典型实例分析, 直观地反映了所采用的化学结构修饰对改造前后药物的理化性质、靶标活性、hERG 抑制活性 (off-target 效应) 以及药代性质等多方面的综合影响, 为新药开发中解决药物潜在的心脏毒性问题提供一些思路和参考。

## 2 化学修饰降低药物 hERG 心脏毒性的策略

### 2.1 降低脂溶性

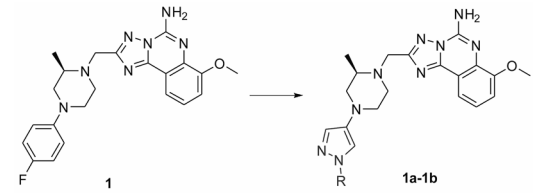
Levoine 等<sup>[23]</sup>通过 QSAR 分析指出分子的脂溶性 ( $\text{clog}P$ ,  $\text{clog}D$  或极性表面积 PSA) 和芳香性与 hERG 抑制活性关系密切。药物分子中的脂溶性芳香环, 与 hERG 钾通道产生  $\pi$ - $\pi$  疏水作用。降低分子的脂溶性, 如在药物分子的芳环上引入吸电子基团或者极性基团、或通过电子等排将苯环替换成杂环等, 可以有效地阻碍该疏水作用, 降低 hERG 抑制活性。

腺苷受体  $A_{2A}$  拮抗剂可用于治疗帕金森, 化合物 **1** 是默克公司报道的  $A_{2A}$  拮抗剂先导化合物 ( $IC_{50} = 5.5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 对腺苷受体  $A_1$  具有较好的选择性, 但具有较强的 hERG 抑制活性 ( $IC_{50} = 1.5 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )。采用降低脂溶性的策略<sup>[24]</sup>, 将末端苯环替换为吡唑得到化合物 **1a** 和 **1b**, 脂溶性  $\text{clog}P$  分别下降 1.9 和 0.7 个单位, hERG 抑制活性显著下降 ( $IC_{50} > 60 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 同时保持了化合物对  $A_{2A}$  的活性及对  $A_1$  的选择性 (表 2)。

化合物 **2** 是广谱的抗菌药物, 抑菌活性较好, 对拓扑异构酶 IV 具有较强的抑制作用, hERG 抑制活性  $IC_{50}$  为  $3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。将氮杂喹啉等排替换为极性更大的喹诺酮得到化合物 **2a** ~ **2c**<sup>[25]</sup>, 脂溶性  $\log D_{7.4}$  下降 0.6 ~ 1.6 个单位, hERG 抑制活性显著下降 ( $IC_{50} > 30 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) (表 3)。

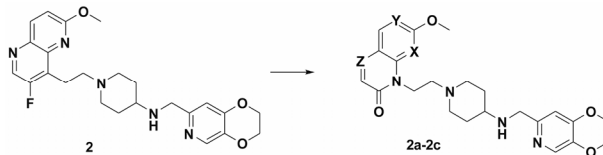
增加极性表面积 (PSA) 和降低  $\text{clog}P$ , 可以协同作用降低脂溶性, 用于改善 hERG 抑制作用。组胺

**Table 2** Reducing hERG inhibitory activity through attenuation of lipophilicity on adenosine  $A_{2A}$  receptor antagonists **1**



Compd.	R	Human $A_{2A}$ $IC_{50}/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	Human $A_1$ $IC_{50}/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	hERG $IC_{50}/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{clog}P$
<b>1</b>	—	5.5	14.5	1.5	4
<b>1a</b>	Me	24.6	15.9	> 60	2.1
<b>1b</b>	<i>t</i> -Bu	9.4	19.1	> 60	3.3

**Table 3** Reducing hERG inhibitory activity through attenuation of lipophilicity on antibiotics **2**

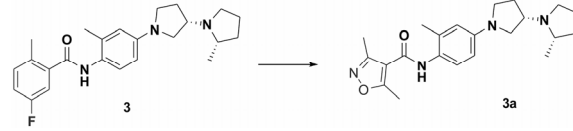


Compd.	X	Y	Z	MIC/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Topo IV $IC_{50}/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	hERG/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\log D_{7.4}$
<b>2</b>	—	—	—	0.01–4	1.3	3	1.46
<b>2a</b>	N	CH	N	0.02–4	1.5	31	0.83
<b>2b</b>	N	N	CH	0.13–8	13	206	0.20
<b>2c</b>	N	N	N	0.25–8	2.0	81	−0.14

$H_3$  受体拮抗剂 **3**,  $IC_{50}$  达到  $2.4 \sim 3.5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 但 hERG 抑制活性较强 ( $IC_{50} = 1.1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 将末端苯环替换成二甲基取代的噁唑环<sup>[26]</sup>,  $\text{clog}P$  和  $\text{clog}D$  下降 0.3 ~ 0.4 个单位, 同时噁唑环上二甲基取代使得 PSA 增加近一倍, 化合物 **3a** 的脂溶性下降, 其 hERG 钾通道的抑制活性显著降低 ( $IC_{50} = 37 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 同时对  $H_3$  受体拮抗活性有所提高 ( $IC_{50} = 0.1 \sim 0.8 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) (表 4)。

将苯环替换为含有氮或氧的脂肪杂环, 如哌啶、哌嗪、四氢吡喃等, 可以有效地降低药物分子的脂溶性 ( $\text{clog}P$ ), 阻碍药物分子与 hERG 钾通道的疏水相互作用。化合物 **4** 是阿斯利康公司研发的 CCR5 拮抗

**Table 4** Reducing hERG inhibitory activity through attenuation of lipophilicity on histamine  $H_3$  receptor antagonists **3**

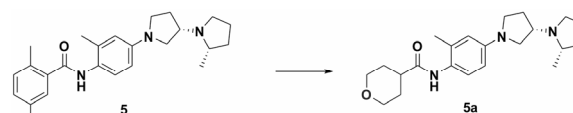


Compd.	h- $H_3$ R $K_i/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	rh- $H_3$ R $K_i/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	r- $H_3$ R $K_i/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	hERG $IC_{50}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{clog}P$	$\text{clog}D_{7.4}$	PSA/ $\text{\AA}^2$
<b>3</b>	3.4	2.5	3.0	1.1	3.2	0.7	36
<b>3a</b>	0.1	0.4	0.8	37	2.8	0.4	62

剂 ( $IC_{50} = 0.32 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), hERG 钾通道抑制活性为  $7.3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在口服给予  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量下, 化合物 **4** 在犬模型上引起 QT 间期延长。采用降低脂溶性的结构改造策略<sup>[27]</sup>, 将苯环替换成哌啶或哌嗪,  $\log D_{7.4}$  下降  $0.7 \sim 1.0$  个单位, hERG 抑制活性大大降低 ( $IC_{50} = 24 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 同时 CCR5 拮抗活性保持 (表 5)。

类似的策略也被成功应用于  $H_3$  受体拮抗剂 **5** 的结构优化中。化合物 **5** 对  $H_3$  受体的拮抗活性为  $1.2 \sim 16.5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , hERG 抑制活性较强 ( $IC_{50} = 0.48 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )。将苯环替换成四氢吡喃环<sup>[28]</sup>,  $\text{clog}P$  下降 2.3 个单位, hERG 抑制活性降为原来的  $1/39$  ( $IC_{50} = 18.9 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 同时化合物 **5a** 对  $H_3$  受体上的拮抗活性提高 ( $IC_{50}$  为  $0.8 \sim 1.0 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) (表 6)。

**Table 6** Reducing hERG inhibitory activity through attenuation of lipophilicity on histamine  $H_3$  receptor antagonists **5**



Compd.	h- $H_3$ R $K_i$ $/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	rh- $H_3$ R $K_i$ $/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	r- $H_3$ R $K_i$ $/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	hERG $IC_{50}$ $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{clog}P$
<b>5</b>	8.6	1.2	16.5	0.48	4.4
<b>5a</b>	1.0	0.8	1.0	18.9	2.1

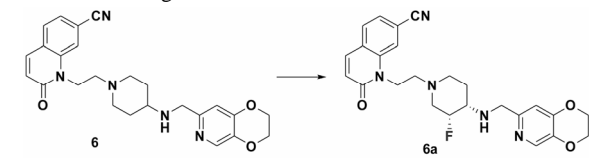
## 2.2 降低碱性

降低碱性是先导化合物结构优化降低 hERG 抑制活性的一个重要策略。一些药物分子碱性较强, 在生理条件下可质子化, 同源建模和定点突变实验研究表明可与 hERG 钾通道中的氨基酸残基 Tyr652 形成较强的  $\pi$ -阳离子相互作用。降低药物的碱性 ( $pK_a$ ), 可阻碍该  $\pi$ -阳离子相互作用, 使 hERG 抑制活性降低。降低碱性 ( $pK_a$ ) 包括: 引入吸电子基团 (如引入 F、磺酰基、杂原子、羰基、酰胺等); 或将氨基替换为酰胺、磺酰胺等。图 1 总结了这些策略对于降低氨基碱性 ( $pK_a$ ) 的作用<sup>[29]</sup>。通过引入极性片段 (如羰基和氧杂环等) 降低  $pK_a$  时, 也会导致脂溶性 ( $\log D$ )

的下降, 因此, 降低碱性和降低脂溶性相互联系相互影响。然而有时降低药物分子中氨基的碱性, 会对活性和理化性质造成影响, 因为有些氨基与靶标蛋白发生关键的氢键相互作用, 而另一些则作为成盐位点, 用于改善药物的溶解性, 此为该方法的一些局限性, 在实际应用中应加以注意。

广谱抗菌药物化合物 **6** 对拓扑异构酶 IV 具有较好的抑制活性 ( $IC_{50} = 3.2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), hERG 抑制活性  $IC_{50}$  为  $44 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 但在几内亚猪模型上会引起 QT 间期延长。在哌啶环上引入吸电性的氟原子<sup>[30]</sup>,  $pK_a$  降低 1.3 个单位, hERG 抑制活性降至  $1/5$  ( $IC_{50} = 233 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 同时抗菌活性保持不变 (表 7)。

**Table 7** Attenuation of  $pK_a$  to reduce hERG inhibitory activity on antibacterial agents **6**

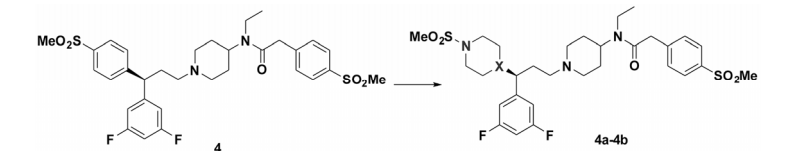


Compd.	MIC $/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Topo IV $IC_{50}/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	hERG $IC_{50}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$pK_a$	$\log D_{7.4}$
<b>6</b>	0.03→8	3.2	44	8.27/5.75	0.68
<b>6a</b>	0.06→8	48	233	7.03/4.47	0.96

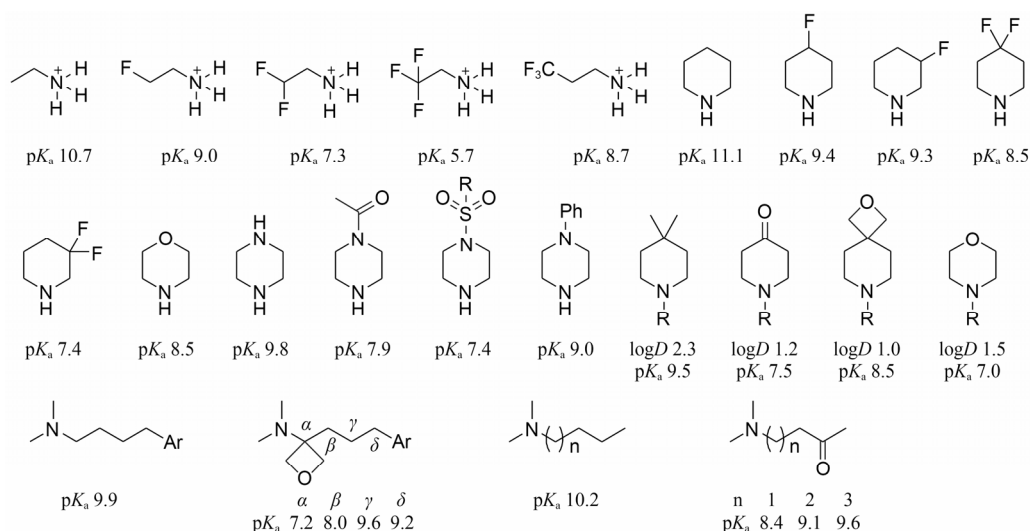
化合物 **7** 是环己基胺类 DDP-IV 抑制剂 ( $IC_{50}$  达到  $0.5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), hERG 抑制活性较强 ( $IC_{50} = 4.8 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 在犬模型上会导致 QT 间期延长。在环己基环上碱性氨基的  $\beta$  位引入氧原子<sup>[31]</sup>,  $pK_a$  从 8.6 降低为 7.3, hERG 抑制活性大大降低 ( $IC_{50} = 23 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 同时对 DPP-IV 抑制活性不受影响 (表 8)。

化合物 **8** 是 Merck 公司开发的 2-氟基嘧啶类组织蛋白酶 K (CatK) 抑制剂, hERG 抑制活性  $IC_{50}$  为  $0.16 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。将结构中哌啶替换成氨基酰胺片段<sup>[32]</sup>, 碱性 ( $pK_a$ ) 和脂溶性 ( $\text{clog}P$ ) 分别下降 1.8 和 2.2 个单位, hERG 抑制活性降为原来的  $1/30$  ( $IC_{50} = 3.16 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 大鼠给药化合物 **8a**  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  两周, 未见心脏不良反应 (表 9)。

**Table 5** Reducing hERG inhibitory activity through attenuation of lipophilicity on CCR5 antagonists **4**



Compd.	X	CCR5 $IC_{50}/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	hERG $IC_{50}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\log D_{7.4}$	F/%
<b>4</b>	—	0.32	7.3	2.2	38–86
<b>4a</b>	CH	0.26	24	1.5	41–51
<b>4b</b>	N	3.7	> 32	1.2	7.3–22

**Figure 1** Introduction of withdrawing group to reduce  $pK_a$ **Table 8** Attenuation of  $pK_a$  to reduce hERG inhibitory activity on DPP-IV inhibitors **7**

Compd.	R	DPP-IV $IC_{50}/nmol \cdot L^{-1}$	hERG $IC_{50}/\mu mol \cdot L^{-1}$	$pK_a$
<b>7</b>	—	0.5	4.8	8.6
<b>7a</b>	CF <sub>3</sub>	1.3	23	7.3
<b>7b</b>		0.66	> 30	7.3

**Table 9** Attenuation of  $pK_a$  to reduce hERG inhibitory activity on CatK inhibitors **8**

Compd.	CatK $IC_{50}/nmol \cdot L^{-1}$	hERG $IC_{50}/\mu mol \cdot L^{-1}$	clogP	$pK_a$
<b>8</b>	4	0.16	4	9.2
<b>8a</b>	3	3.16	1.8	7.4

将氨基替换成酰胺可以显著降低碱性, 改善对 hERG 钾通道的抑制活性。化合物 **9** 和 **10** 是 Shin 等<sup>[33]</sup>报道的一类三级胺类的 T-型钙通道阻滞剂, 是潜在的用于治疗心血管疾病的先导化合物, hERG 抑制活性较强, 分别为 0.18 和 1.38  $\mu mol \cdot L^{-1}$ 。将氨基替换成酰胺, 碱性和脂溶性均下降, hERG 抑制活性  $IC_{50}$  分别降为 12.5 和 16.8  $\mu mol \cdot L^{-1}$ , 但该方法导致钙通道阻滞活性略微下降 (表 10)。

### 2.3 引入羟基

羟基是一个强极性氢键供体基团, 引入羟基可

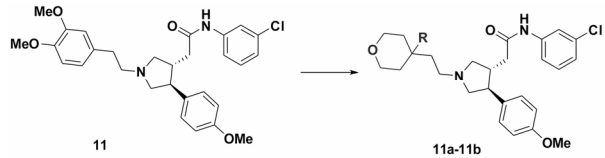
**Table 10** Attenuation of  $pK_a$  to reduce hERG inhibitory activity on T-type calcium channel blockers **9** and **10**

Compd.	T-type $IC_{50}/nmol \cdot L^{-1}$	hERG $IC_{50}/\mu mol \cdot L^{-1}$	clogP	F/%
<b>9</b>	8.17	0.178	5.84	—
<b>9a</b>	56	12.5	5.40	60.3
<b>10</b>	95	1.38	5.70	—
<b>10a</b>	654	16.8	4.77	9.2

以显著地改变分子的理化性质, 降低脂溶性和碱性, 阻碍药物分子与 hERG 钾通道的疏水作用和  $\pi$ -阳离子相互作用。近年来, 越来越多的研究实例证明引入羟基对于改善 hERG 抑制活性具有重要作用。

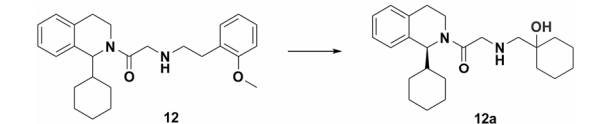
化合物 **11** 是黑色素聚集激素受体 (MCHR) 拮抗剂 ( $IC_{50}$  为 13  $nmol \cdot L^{-1}$ ), 但 hERG 抑制活性极强 ( $IC_{50}=0.002 \mu mol \cdot L^{-1}$ )。采用上述降低脂溶性的策略, 将苯环替换成四氢吡喃环, hERG 抑制活性下降至 **11** 的 1/60 ( $IC_{50}=0.12 \mu mol \cdot L^{-1}$ ), 抑制活性仍较强。在四氢吡喃环上引入羟基<sup>[34]</sup>, hERG 抑制活性进一步下降至 **11** 的 1/4 000 ( $IC_{50}=8.24 \mu mol \cdot L^{-1}$ ), 同时 MCHR 拮抗活性保持, 可见羟基在改善 hERG 抑制活性的重要作用 (表 11)。

N-型钙离子通道 (NVDCC) 是治疗神经疼痛的潜在靶点, 化合物 **12** 是由 Ogiyama 等<sup>[35]</sup>报道的有效 N-型钙离子通道阻滞剂 ( $IC_{50}=0.6 nmol \cdot L^{-1}$ ), hERG

**Table 11** Introducing hydroxy group to reduce hERG inhibition on MCHR antagonists **11**


Compd.	R	MCHR IC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup>	hERG IC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup>
<b>11</b>	—	0.013	0.002
<b>11a</b>	H	0.021	0.12
<b>11b</b>	OH	0.025	8.24

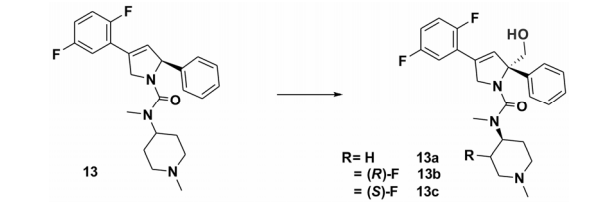
抑制活性较强 (IC<sub>50</sub>=8.3 μmol·L<sup>-1</sup>)。采用类似的结构优化策略, 将 2-甲氧基取代的苯环替换成羟基取代的环己基片段, hERG 活性下降至 98 μmol·L<sup>-1</sup> (表 12)。

**Table 12** Introducing hydroxy group to reduce hERG inhibition on N-type calcium channel blockers **12**


Compd.	NVDCC IC <sub>50</sub> /nmol·L <sup>-1</sup>	hERG IC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup>
<b>12</b>	0.6	8.3
<b>12a</b>	1.0	98

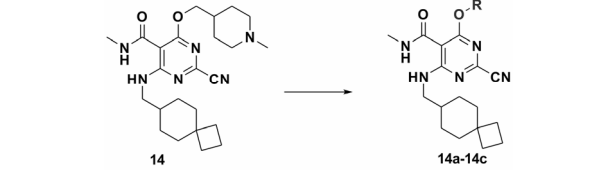
纺锤体蛋白 (KSP) 抑制剂可用于抗肿瘤。化合物 **13** 是 Merck 公司开发的 KSP 抑制剂 (IC<sub>50</sub>=4 nmol·L<sup>-1</sup>), hERG 抑制活性较强 (IC<sub>50</sub>=1.2 μmol·L<sup>-1</sup>)。在二氢吡咯 2-位引入羟甲基得到化合物 **13a**, log*P* 从 2.5 降到 1.7, hERG 抑制活性下降到原来的 1/12 (IC<sub>50</sub>=14.6 μmol·L<sup>-1</sup>), 但化合物 **13a** 多药耐药性比值 (MDR) 较高, 易被细胞外排, 通过调节侧链在氨基哌啶引入氟原子, p*K<sub>a</sub>* 下降 1.2~2.2 个单位, hERG 抑制活性进一步下降 (IC<sub>50</sub>>20.5 μmol·L<sup>-1</sup>), 同时 MDR 下降至 10 以下, 细胞活性提高 (表 13)<sup>[36]</sup>。

化合物 **14** 是一类选择性较高的组织蛋白酶 S (CatS) 抑制剂 (IC<sub>50</sub>=3 nmol·L<sup>-1</sup>, CatL/CatS=120)。CatS 是一类半胱氨酸蛋白酶, 主要在树突状细胞、B 细胞、巨噬细胞和脑小神经胶质细胞上表达, 负责水解蛋白和抗原呈递, 选择性抑制脊髓小胶质细胞的 CatS 可以逆转神经性疼痛。化合物 **14** 过血脑屏障的能力较好, 但 hERG 抑制活性较强 (IC<sub>50</sub>=0.71 μmol·L<sup>-1</sup>), 在氨基侧链上引入羟基, 对 hERG 抑制活性影响不大。通过采用上述的降低碱性的策略, hERG 抑制活性达到 IC<sub>50</sub> 大于 30 μmol·L<sup>-1</sup>, 但化合物 **14b** 过血脑屏障能力下降, 脑中的药物浓度小于 13 nmol·L<sup>-1</sup>。将氨基

**Table 13** Introducing hydroxy group to reduce hERG inhibition on kinesin spindle protein inhibitors **13**


Compd.	KSP IC <sub>50</sub> /nmol·L <sup>-1</sup>	Cell EC <sub>50</sub> /nmol·L <sup>-1</sup>	MDR ratio	hERG IC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup>	p <i>K<sub>a</sub></i>	log <i>P</i>
<b>13</b>	4	400	10	1.2	—	2.5
<b>13a</b>	6.2	125	21.2	14.6	8.8	1.7
<b>13b</b>	2.2	5.3	4.5	20.5	7.6	—
<b>13c</b>	11.5	16.5	2.4	36.9	6.6	—

侧链替换成羟乙基, hERG 抑制活性大于 30 μmol·L<sup>-1</sup>, 同时化合物 **14c** 在 Cat 上的活性、选择性以及过血脑屏障的能力均保持 (表 14)<sup>[37]</sup>。

**Table 14** Introducing hydroxy group to reduce hERG inhibition on cathepsin S inhibitor **13**. "Brain concentration profiles for several compounds **14**–**14c** in Sprague-Dawley rats (*po* 10 mg·kg<sup>-1</sup>, 3 h)


Compd.	R	IC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup>			Brain concentration <sup>a</sup> /nmol·L <sup>-1</sup>
		CatS	CatL	hERG	
<b>14</b>	—	3	360	0.71	718
<b>14a</b>	—	3	300	0.89	—
<b>14b</b>	—	10	2 500	>30	<13
<b>14c</b>	—	6	1 200	>30	849

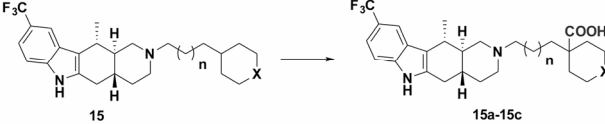
## 2.4 引入酸性基团

在药物分子中巧妙地引入酸性片段, 可以与碱性氨基形成内盐, 能够显著降低了分子的脂溶性, 降低分子的碱性, 降低其与疏水性较强的 hERG 钾通道相互作用; 同时降低化合物的透膜性, 使其难以通过 hERG 钾通道的滤膜区。酸性片段的引入是阻断小分子配体与 hERG 通道相互作用直接有效的结构修饰策略, 然而有时引入酸性基团, 对药物分子的理化性质影响较大, 对药物分子的药效学和药代动力学性质产生较大影响。

化合物 **15** 是美国安进公司开发的高效选择性黑色素聚集激素受体 MCHR1 拮抗剂 (*K<sub>i</sub>*=0.3 nmol·L<sup>-1</sup>, IC<sub>50</sub>=0.5 nmol·L<sup>-1</sup>), 用于肥胖治疗。化合物 **15** 对 hERG

钾通道具有较强的抑制作用 ( $IC_{50}=0.03 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。在四氢吡喃的 4-位引入羧基得到化合物 **15a**, 其 hERG 抑制活性下降至 1/10 ( $IC_{50}=0.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 但 MCHR1 拮抗活性显著下降, 缩短碳链后化合物 **15b** 和 **15c** 的 MCHR1 拮抗活性提高。将四氢吡喃替换成环己基得到化合物 **15c**, MCHR1 活性保持 ( $IC_{50}=0.6 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 而 hERG 抑制活性下降到化合物 **15** 的 1/166 之下 ( $IC_{50}>5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 在大鼠、犬、猴等模型上表现出良好的药代性质, 且未观察到 QT 间期延长的不良反应<sup>[38]</sup>, 此外, 化合物 **15c** 透过血脑屏障的能力较强, 在大鼠、犬、猴等动物模型上均有效<sup>[39]</sup> (表 15)。

**Table 15** Adding acidic group to reduce hERG inhibition on MCHR1 antagonists **15**. <sup>a</sup>Dose:  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (iv) and  $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (po)



Compd.	n	x	MCHR1 $IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	hERG $IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	F/% <sup>a</sup>		
					Rat	Dog	Cyno
<b>15</b>	1	O	0.000 5	0.03	81	33	70
<b>15a</b>	1	O	0.04	0.3	—	—	—
<b>15b</b>	0	O	0.00 9	> 5	—	—	—
<b>15c</b>	0	CH <sub>2</sub>	0.000 6	> 5	70	40	29

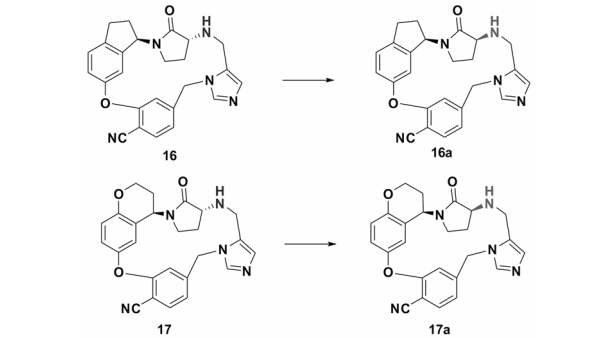
## 2.5 构象限制

对药物分子基本骨架进行细微的调整, 比如改变手性、引入甲基、并环扩环或者引入双键增加分子刚性, 限制药物分子构象或减少柔性构象数目, 可有效地阻碍药物分子与 hERG 钾通道 (off-target) 相互作用; 同时由于药效团不变, 该策略对药效影响不大。近年来, 通过构象限制改善 hERG 抑制活性的报道越来越多, 为改善药物 hERG 抑制活性提供新思路。

**2.5.1 改变手性** 上市药物中手性药物越来越普遍, 手性不同往往会导致药物药效学、药代动力学和毒理等性质各不相同。同样, 手性药物分子的不同异构体对于 hERG 钾通道的抑制作用不尽相同, 如化合物 (R, R)-**16** 和 (R, R)-**17** 是法尼基转移酶抑制剂, 体外具有良好的活性 ( $IC_{50}<1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), hERG 抑制活性分别为  $0.08$  和  $0.15 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 改变手性得到化合物 (R, S)-**16a** 和 (R, S)-**17a**, hERG 抑制活性分别下降为  $4.7$  和  $9.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[40]</sup>。因此通过改变药物的手性是 hERG 改造中的一个不容忽视的改造思路 (表 16)。

**2.5.2 甲基策略改变构象** 甲基策略在药化结构改

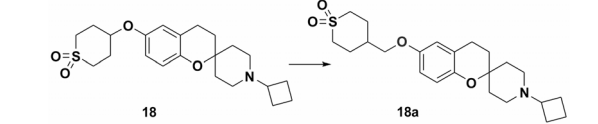
**Table 16** Changing the chiral center to reduce hERG inhibition of farnesyltransferase inhibitors (FTIs) **16** and **17**



Compd.	FTIs $IC_{50}/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	hERG $IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
<b>16</b>	0.15	0.08
<b>16a</b>	3.6	4.7
<b>17</b>	<1	0.15
<b>17a</b>	<1	9.1

造中作用广泛<sup>[41]</sup>, 在分子中引入一个碳原子可以改变分子的线型。化合物 **18** 是 H<sub>3</sub> 受体拮抗剂, 体外具有良好的活性 ( $K_i=7 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 但 hERG 抑制活性较强 ( $IC_{50}=7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 在分子中引入一个亚甲基, 使分子由折线型趋向线型, 化合物 **18a** 对 hERG 抑制活性大大降低 ( $IC_{50}>30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (表 17)<sup>[42]</sup>。

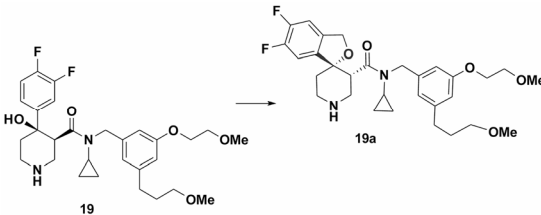
**Table 17** Reducing the hERG inhibitory activity on H<sub>3</sub> receptor (H<sub>3</sub>R) antagonist **18**



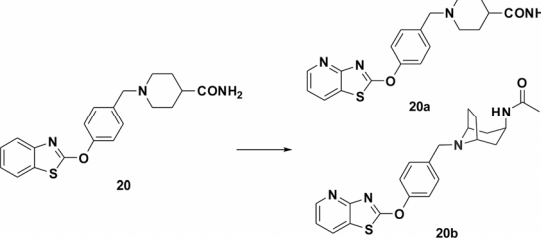
Compd.	H <sub>3</sub> R $K_i/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	hERG $IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
<b>18</b>	7	7
<b>18a</b>	4	>30

**2.5.3 增加分子刚性** 肾素抑制剂 **19** 可用于抗高血压, 但其 hERG 抑制活性较强 ( $IC_{50}=5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 通过并入螺环增加分子刚性<sup>[43]</sup>, 成功限制了芳环平面旋转, 化合物 **19a** hERG 抑制活性下降至 **19** 的 1/5 以下 ( $IC_{50}=24 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 同时肾素抑制活性显著提高。此策略巧妙地实现了骨架跃迁, 降低 hERG 抑制活性的同时得到结构新颖的候选化合物 (表 18)。

化合物 **20** 是白三烯 A<sub>4</sub> 水解酶 (LTA<sub>4</sub>H) 抑制剂, 具有较强的 hERG 抑制活性 ( $IC_{50}=1.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 采用上述的杂环替换策略, 脂溶性  $\text{clog}P$  降低, 化合物 **20a** 抑制 hERG 的活性下降至 **20** 的 1/6 ( $IC_{50}=8.9 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。基于此引入刚性托品烷结构<sup>[44]</sup>, 可以减少化合物 **20b** 分子柔性构象数目, hERG 抑制活性进一步降低 ( $IC_{50}>10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (表 19)。

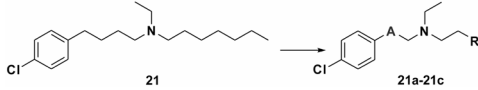
**Table 18** Intramolecular cyclization to reduce hERG inhibition on renin inhibitors **19**


Compd.	Renin potency $IC_{50}/nmol \cdot L^{-1}$	hERG $IC_{50}/\mu mol \cdot L^{-1}$
<b>19</b>	320	5
<b>19a</b>	5	24

**Table 19** Increasing the rigidity to reduce hERG inhibition on leukotriene A4 hydrolase (LTA4H) inhibitor **20**


Compd.	LTA4H $IC_{50}/nmol \cdot L^{-1}$	hERG $IC_{50}/\mu mol \cdot L^{-1}$
<b>20</b>	17	1.5
<b>20a</b>	6	8.9
<b>20b</b>	1	>10

化合物 **21** 的乙基季铵盐氯非胺具有抗心律失常作用, 但 hERG 抑制活性较强 ( $IC_{50} = 4.3 \text{ nmol} \cdot L^{-1}$ ), 结构中存在较强的碱性氮和两个较长的柔性疏水链。Louvel 等<sup>[45]</sup>研究表明碱性氮对抗心律失常活性重要, 因此考察分子骨架刚性和连接链对 hERG 抑制活性的影响。当引入双键得到的化合物 **21a**, 对构象改变无明显影响, 仍可以与关键的氨基酸残基 Tyr652 和 Phe656 发生相互作用, hERG 抑制活性较强; 而当引入炔基得到化合物 **21b** ~ **21c**, 分子刚性增强, hERG 抑制活性下降至 1/13 ~ 1/110 (表 20)。

**Table 20** Increasing the rigidity to reduce hERG inhibition on antiarrhythmic agent **21**


Compd.	A	R	$K_i/nmol \cdot L^{-1}$	hERG $IC_{50}/nmol \cdot L^{-1}$
<b>21</b>		n-pent	$8.3 \pm 0.58$	4.3
<b>21a</b>		n-pent	$9.5 \pm 5.0$	<5
<b>21b</b>		n-pent	$478 \pm 85$	58
<b>21c</b>		Et	$1\,921 \pm 329$	473

### 3 总结与展望

降低脂溶性、降低碱性、引入羟基、引入酸性片段和构象限制是降低药物对 hERG 钾通道抑制的 5 种常用的化学结构改造策略。由于脂溶性和 hERG 抑制之间关系紧密, 使其成为降低 hERG 抑制活性首选的结构优化策略, 应用也最为广泛。其次应用较多的是降低药物分子碱性  $pK_a$ , 值得注意的是降低碱性和降低脂溶性两种方法具有内在联系, 可以相互影响。合理地引入含氧原子的氢键供体 (羟基) 可以显著地降低 hERG 抑制活性。引入酸性片段, 可以显著地改变药物分子的理化性质, 导致 hERG 抑制活性显著降低, 但局限性在于可能会影响生物利用度和脑透膜性。构象限制是近年来逐渐发展和扩充的策略, 涉及到转变手性、引入甲基、骨架跃迁、增加刚性等新方法, 此类改造对理化性质改变较小, 通过改变构象或限制构象数目阻碍药物分子与 hERG 钾通道的相互作用, 为先导化合物结构改造提供新的研究思路。随着越来越多药物与 hERG 钾通道构效关系 (SAR) 的研究报道以及计算化学的发展, 预测模型精准度的提高, CADD 的研究策略将为化合物设计和优化、避免 hERG 毒性提高更精准的指导。未来减低药物 hERG 心脏毒性的先导化合物结构优化策略, 将与药效团模型预测、同源建模和分子对接等策略联合使用, 相互影响、相互辅助, 为新药开发中降低潜在心脏毒性提供更加理性和丰富的改造思路。

### References

- [1] Shah RR. Drug-induced QT interval prolongation: does ethnicity of the thorough QT study population matter? [J]. Br J Clin Pharmacol, 2012, 75: 347–358.
- [2] Bowes J, Brown AJ, Hamon J, et al. Reducing safety-related drug attrition: the use of *in vitro* pharmacological profiling [J]. Nat Rev Drug Discov, 2012, 11: 909–922.
- [3] Heijman J, Voigt N, Carlsson LG, et al. Cardiac safety assays [J]. Curr Opin Pharm, 2014, 15: 16–21.
- [4] Lavery HG, Benson C, Cartwright EJ, et al. How can we improve our understanding of cardiovascular safety liabilities to develop safer medicines? [J]. Br J Pharmacol, 2011, 163: 675–693.
- [5] Fermini B, Fossa AA. The impact of drug-induced QT interval prolongation on drug discovery and development [J]. Nat Rev Drug Discov, 2003, 2: 439–447.
- [6] Vandenberg JJ, Perry MD, Perrin MJ, et al. hERG  $K^+$  channels: structure, function, and clinical significance [J]. Physiol Rev, 2012, 92: 1393–1478.



- [7] Redfern W, Carlsson L, Davis A, et al. Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development [J]. *Cardiovasc Res*, 2003, 58: 32–45.
- [8] Beattie KA, Luscombe C, Williams G, et al. Evaluation of an in silico cardiac safety assay: using ion channel screening data to predict QT interval changes in the rabbit ventricular wedge [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2013, 68: 88–96.
- [9] Obers S, Staudacher I, Ficker E, et al. Multiple mechanisms of hERG liability: K<sup>+</sup> current inhibition, disruption of protein trafficking, and apoptosis induced by amoxapine [J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2010, 381: 385–400.
- [10] Guo J, Massaeli H, Li W, et al. Identification of I<sub>Kr</sub> and its trafficking disruption induced by probucol in cultured neonatal rat cardiomyocytes [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 321: 911–920.
- [11] Rajamani S, Eckhardt LL, Valdivia CR, et al. Drug-induced long QT syndrome: hERG K<sup>+</sup> channel block and disruption of protein trafficking by fluoxetine and norfluoxetine [J]. *Br J Pharmacol*, 2006, 149: 481–489.
- [12] Takemasa H, Nagatomo T, Abe H, et al. Coexistence of hERG current block and disruption of protein trafficking in ketoconazole-induced long QT syndrome [J]. *Br J Pharmacol*, 2008, 153: 439–447.
- [13] Wang Q, Hu W, Lei M, et al. MiR-17-5p impairs trafficking of H-ERG K<sup>+</sup> channel protein by targeting multiple ER stress-related chaperones during chronic oxidative stress [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e84984.
- [14] Hari Narayana Moorthy NS, Ramos MJ, Fernandes PA. Predictive QSAR models development and validation for human ether-a-go-go related gene (hERG) blockers using newer tools [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2014, 29: 317–324.
- [15] Jing Y, Easter A, Peters D, et al. In silico prediction of hERG inhibition [J]. *Future Med Chem*, 2015, 7: 571–586.
- [16] Tan Y, Chen Y, You Q, et al. Predicting the potency of hERG K<sup>+</sup> channel inhibition by combining 3D-QSAR pharmacophore and 2D-QSAR models [J]. *J Mol Model*, 2012, 18: 1023–1036.
- [17] Liu LL, Lu J, Lu Y, et al. Novel Bayesian classification models for predicting compounds blocking hERG potassium channels [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2014, 35: 1093–1102.
- [18] Fernandez D, Ghanta A, Kauffman GW, et al. Physicochemical features of the hERG channel drug binding site [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 10120–10127.
- [19] Wang S, Li Y, Xu L, et al. Recent developments in computational prediction of hERG blockage [J]. *Curr Top Med Chem*, 2013, 13: 1317–1326.
- [20] Jamieson C, Moir EM, Rankovic Z, et al. Medicinal chemistry of hERG optimizations: highlights and hang-ups [J]. *J Med Chem*, 2006, 49: 5029–5046.
- [21] Kerns EH, Di L. *Drug-Like Properties: Concepts, Structure Design and Methods: from ADME to Toxicity Optimization* [M]. Burlington: Elsevier Inc., 2008.
- [22] Sun L, Wang XJ, You QD. Process in the research on chemical modification of drugs with low hERG cardiac toxicity [J]. *Chin J Pharm (中国医药工业杂志)*, 2011, 42: 698–703.
- [23] Levoine N, Labeeuw O, Calmels T, et al. Novel and highly potent histamine H<sub>3</sub> receptor ligands. Part 1: withdrawing of hERG activity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 5378–5383.
- [24] Deng Q, Lim YH, Anand R, et al. Use of molecular modeling aided design to dial out hERG liability in adenosine A<sub>2A</sub> receptor antagonists [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25: 2958–2962.
- [25] Reck F, Alm R, Brassil P, et al. Novel N-linked amino-piperidine inhibitors of bacterial Topoisomerase type II: broad-spectrum antibacterial agents with reduced hERG activity [J]. *J Med Chem*, 2011, 54: 7834–7847.
- [26] Gao ZL, Hurst WJ, Czechtizky W, et al. Identification and profiling of 3,5-dimethyl-isoxazole-4-carboxylic acid [2-methyl-4-((2*S*,3'*S*)-2-methyl-[1,3'*b*]pyrrolidinyl-1'-yl)phenyl] amide as histamine H<sub>3</sub> receptor antagonist for the treatment of depression [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23: 6269–6273.
- [27] Cumming JG, Tucker H, Oldfield J, et al. Balancing hERG affinity and absorption in the discovery of AZD5672, an orally active CCR5 antagonist for the treatment of rheumatoid arthritis [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 1655–1659.
- [28] Gao Z, Hurst WJ, Czechtizky W, et al. Discovery of a potent, selective, and orally bioavailable histamine H<sub>3</sub> receptor antagonist SAR110068 for the treatment of sleep-wake disorders [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23: 6141–6145.
- [29] Wuitschik G, Carreira EM, Wagner B, et al. Oxetanes in drug discovery: structural and synthetic insights [J]. *J Med Chem*, 2010, 53: 3227–3246.
- [30] Reck F, Alm RA, Brassil P, et al. Novel N-linked amino-piperidine inhibitors of bacterial Topoisomerase type II with reduced pK<sub>a</sub>: antibacterial agents with an improved safety profile [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 6916–6933.
- [31] Biftu T, Qian XX, Chen P, et al. Novel tetrahydropyran analogs as dipeptidyl peptidase IV inhibitors: profile of clinical candidate (2*R*,3*S*,5*R*)-2-(2,5-difluorophenyl)-5-[2-(methylsulfonyl)-2,6-dihydropyrrolo[3,4-*c*]pyrazol-5(4*H*)-yl]tetrahydro-2*H*-pyran-

- 3-amine (23) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23: 5361–5366.
- [32] Rankovic Z, Cai J, Kerr J, et al. Optimisation of 2-cyanopyrimidine inhibitors of cathepsin K: improving selectivity over hERG [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20: 6237–6241.
- [33] Choi YJ, Seo JH, Shin KJ. Successful reduction of off-target hERG toxicity by structural modification of a T-type calcium channel blocker [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24: 880–883.
- [34] Fox BM, Natero R, Richard K, et al. Novel pyrrolidine melanin-concentrating hormone receptor 1 antagonists with reduced hERG inhibition [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 2460–2467.
- [35] Ogiyama T, Inoue M, Honda S, et al. Discovery of novel tetrahydroisoquinoline derivatives as orally active N-type calcium channel blockers with high selectivity for hERG potassium channels (vol 22, pg 6899, 2014) [J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23: 6079.
- [36] Cox CD, Coleman PJ, Breslin MJ, et al. Kinesin spindle protein (KSP) inhibitors. 9. Discovery of (2*S*)-4-(2,5-difluorophenyl)-*N*-[(3*R*,4*S*)-3-fluoro-1-methylpiperidin-4-yl]-2-(hydroxymethyl)-*N*-methyl-2-phenyl-2,5-dihydro-1*H*-pyrrole-1-carboxamide (MK-0731) for the treatment of taxane-refractory cancer [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 4239–4252.
- [37] Irie O, Kosaka T, Kishida M, et al. Overcoming hERG issues for brain-penetrating cathepsin S inhibitors: 2-cyanopyrimidines. Part 2 [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 5280–5284.
- [38] Mihalic JT, Chen XQ, Fan PC, et al. Discovery of a novel series of melanin-concentrating hormone receptor 1 antagonists for the treatment of obesity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 7001–7005.
- [39] Mihalic JT, Fan P, Chen X, et al. Discovery of a novel melanin concentrating hormone receptor 1 (MCHR1) antagonist with reduced hERG inhibition [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 3781–3785.
- [40] Bell IM, Gallicchio SN, Abrams M, et al. 3-Aminopyrrolidinone farnesyltransferase inhibitors: design of macrocyclic compounds with improved pharmacokinetics and excellent cell potency [J]. *J Med Chem*, 2002, 45: 2388–2409.
- [41] Lian J, Wang J, Sun HF, et al. Application of methyl in drug design [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2013, 48: 1195–1208.
- [42] Becknell NC, Dandu RR, Lyons JA, et al. Synthesis and evaluation of 4-alkoxy-[1'-cyclobutyl-spiro(3,4-dihydrobenzopyran-2,4'-piperidine)]analogues as histamine-3 receptor antagonists [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 186–189.
- [43] Chen A, Aspiotis R, Campeau LC, et al. Renin inhibitors for the treatment of hypertension: design and optimization of a novel series of spirocyclic piperidines [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 7399–7404.
- [44] Tanis VM, Bacani GM, Blevitt JM, et al. Azabenzthiazole inhibitors of leukotriene A<sub>4</sub> hydrolase [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 7504–7511.
- [45] Louvel J, Carvalho JFS, Yu ZY, et al. Removal of human ether-a-go-go related gene (hERG) K<sup>+</sup> channel affinity through rigidity: a case of clofilium analogues [J]. *J Med Chem*, 2013, 56: 9427–9440.