# 吡唑并[1,5-*a*]嘧啶作为优势骨架在别构调节剂中的应用进展

蒲 凡[1#]，陶阿晓[1#]，宁澄清[1,2*]，徐 晶[1*]
（1. 南方科技大学化学系，广东深圳 518055；2. 南方科技大学前沿与交叉科学研究院，广东深圳 518055）

**摘要**：针对靶蛋白别构位点开发的别构调节剂具有较高的选择性和较低的脱靶效应，一定程度上可克服正构药物导致的耐药问题，是目前小分子创新药物研发的重要策略之一。吡唑并[1,5-*a*]嘧啶作为嘌呤的生物电子等排体，是药物研发中一类重要的杂环优势骨架，广泛应用于抗肿瘤、抗感染、抗炎以及治疗中枢神经系统疾病等药物的研发中。该文综述了吡唑并[1,5-*a*]嘧啶作为优势骨架在别构调节剂中的应用及其构效关系研究，旨在为别构调节剂的筛选和优化提供参考。

**关键词**：吡唑并[1,5-*a*]嘧啶；优势骨架；别构调节剂
**中图分类号**：R914 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2023)06-0825-10
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.06.002

# Advances in Application of Pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine as Privileged Scaffold in Allosteric Modulators

PU Fan[1#], TAO Axiao[1#], NING Chengqing[1,2*], XU Jing[1*]
(*1. Dept. of Chemistry, Southern University of Science and Technology, Shenzhen 518055;*
*2. SUSTech Academy for Advanced Interdisciplinary Studies, Southern University of Science and Technology, Shenzhen 518055*)

**ABSTRACT**: Modulating protein function via targeting the allosteric binding sites is an essential strategy for small-molecule drug development. Allosteric modulators show higher selectivity and lower off-target toxicity than orthosteric modulators, and thus have the potential to combat drug-resistant mutations at the orthosteric sites. Pyrazolo[1,5-*a*]-pyrimidine, a bioisostere of purine, is an important heterocyclic privileged scaffold in drug development. In recent years, pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine has been widely explored as a core skeleton in developing antitumor, anti-infective, anti-inflammatory, and central nervous system agents. This review summarizes the latest application of pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine as a privileged scaffold in allosteric modulators and its structure-activity relationship, aiming to provide a reference and basis for screening and optimization of allosteric modulators.

**Key Words**: pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine; privileged scaffold; allosteric modulator

别构调节剂（allosteric modulator）是指通过与靶蛋白上不同于底物结合位点或常规活性位点等正构（orthosteric）位点的别构位点结合，诱导蛋白构象改变而调控蛋白生物学功能的效应分子[1]。与正构调节剂相比，别构调节剂的优势主要体现在以下几个方面：1）与正构位点相比，别构位点的同源性和氨基酸残基保守性较低，其调节剂是开发高选择性靶蛋白调节剂的重要策略；2）别构调节剂的高选择性，可降低脱靶效应导致的不良反应，安全性更高；3）别构位点往往与正构位点相离较远，正构位点上的氨基酸残基突变对别构调节剂影响较小，可克服正构药物的耐药性[2]。2021 年，靶向 Abelson 家族非受体酪氨酸蛋白激酶 1（Abelson family of nonreceptor protein tyrosine kinases 1，ABL1）的别

#对文章贡献等同。
**收稿日期**：2022-08-29
**作者简介**：蒲 凡(1996—)，男，博士研究生，专业方向：小分子抗肿瘤新药。
陶阿晓(1996—)，女，硕士研究生，专业方向：小分子抗肿瘤新药。
**通信作者**：宁澄清(1986—)，男，副研究员，从事小分子新药研发和基于活性天然产物的成药性开发。
E-mail：ningcq@sustech.edu.cn
徐 晶(1979—)，男，教授，从事活性天然产物的全合成研究和小分子新药研究。
E-mail：xuj@sustech.edu.cn

构抑制剂 asciminib 的加速获批上市引起了学术界和企业界对别构调节剂的广泛关注，推动了激酶别构调节剂的研发热潮。然而，与传统正构药物相比，别构调节剂的开发因其结合位点难以发现也更具挑战。

吡唑并［1,5-*a*］嘧啶作为嘌呤的生物电子等排体，可通过有机合成高效引入多个取代基（侧链）以快速探索靶标的化学空间，获得构效关系，是药物研发中一类重要的杂环优势骨架，广泛应用于抗肿瘤、抗感染、抗炎以及治疗中枢神经系统疾病等药物的研发中[3]。图 1 列出了部分代表性的含有吡唑并［1,5-*a*］嘧啶的上市药物或处于临床试验阶段的候选药物，如镇静催眠药扎来普隆（zaleplon）、抗肿瘤药拉罗替尼（larotrectinib）和 selitrectinib 等。吡唑并［1,5-*a*］嘧啶核心骨架的合成进展及其在正构调节剂中的应用已有不少综述[4—8]，此处不再赘述。本研究主要综述该核心骨架在别构调节剂中的应用及其构效关系，以期为别构调节剂的研发提供参考。

## 1　黏膜相关淋巴组织淋巴瘤易位蛋白 -1（mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma translocation protein 1，MALT-1）别构抑制剂

MALT-1 是一类半胱氨酸酶，可作为 NF-κB 上游调控分子参与淋巴细胞的活化、生长与分化的调控[9—10]。研究[11]显示在 T 细胞中抑制 MALT-1 蛋白酶活性，可阻碍 NF-κB 通路的激活并下调白细胞介素 -2（interleukin-2，IL-2）的表达，说明 MALT-1 具有作为淋巴瘤治疗靶点的潜力。

PISSOT SOLDERMANN 等[12]运用高通量筛选技术，从 1 百万个化合物中筛选出消旋体色烷脲类化合物 **1**（图 2），对 MALT-1 有中等抑制活性，半数抑制浓度（$IC_{50}$）为 0.245 μmol/L。手性拆分后经活性分析结果显示，仅 *R* 构型才有抑制活性。构效关系与分子模拟研究结果说明，脲中 NH

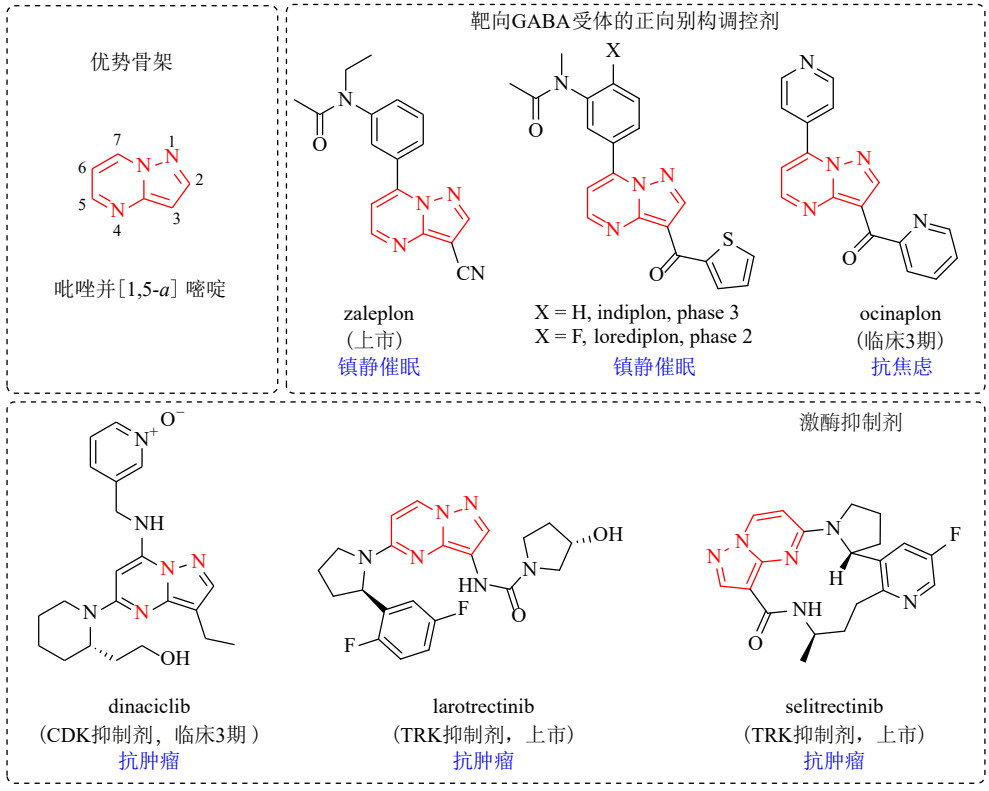



**图 1　具有吡唑并［1,5-*a*］嘧啶骨架的上市或处于临床研究阶段的候选药物分子结构**

Fig.1　Chemical Structures of Drugs Bearing Pyrazolo［1,5-*a*］pyrimidine Scaffold that are Approved or in Clinical Trials

与 Glu397 之间的双齿氢键作用对抑制 MALT-1 活性至关重要，在脲中 N 上引入甲基则活性完全消失；色烷 6 位引入取代基有利于活性增强。运用骨架跃迁策略将色烷替换为同样具备氢键受体的喹啉基团，既可保留 6- 位取代基，也更便于在喹啉的 4- 位引入取代基以研究结构对活性的影响。通过这一策略筛选到的 MLT-827（**2**，图 2）抑制 MALT-1 的活性和在细胞水平抑制 BCL-10 裂解的活性均达到纳摩尔级别（$IC_{50}$ 分别为 0.005 和 0.037 μmol/L）。然而，**2** 的水溶性差（pH 6.8 时溶解度 <0.004 mmol/L），而在吡啶环上引入亲水性基团以增加水溶性会显著影响其活性。**2** 的单晶结构分析结果显示，由于水分子介导的分子间氢键以及非经典的氰基 - 芳香基氢键，造成 **2** 的平面喹啉脲结构发生紧密堆积，晶格能较高，导致溶解度低。因此，通过骨架跃迁策略将喹啉基团替换为吡唑并［1,5-*a*］嘧啶，得到的 **3**（图 2）对活性影响较小，且显著改善了化合物的溶解度。最终优化产物 MLT-231（**4**，图 2）的 MALT-1 抑制活性与 **2** 相当（抑制 MALT-1 的 $IC_{50}$=0.009 μmol/L，抑制 BCL-10 裂解的 $IC_{50}$=0.16 μmol/L），而溶解度显著提高（0.266 mmol/L）。同时，**4** 还表现出不错的药代动力学（pharmacokinetics，PK）性质，值得进一步深入研究。

**2 人类免疫缺陷病毒**（human immunodeficiency virus，HIV）**-1 整合酶别构抑制剂**

HIV-1 整合酶在生物体内与宿主转录因子晶状体上皮源性生长因子（LEDGF）/p75 结合、锚定到宿主染色体附近，并将逆转录产生的病毒 DNA 插入宿主基因组，是 HIV 复制和繁殖的关键蛋白[13]。与拉替拉韦和埃替拉韦等直接与整合酶活性位点结合的抑制剂不同，HIV-1 整合酶别构抑制剂作用于 HIV-1 整合酶二聚体的 LEDGF/p75 识别位点，抑制

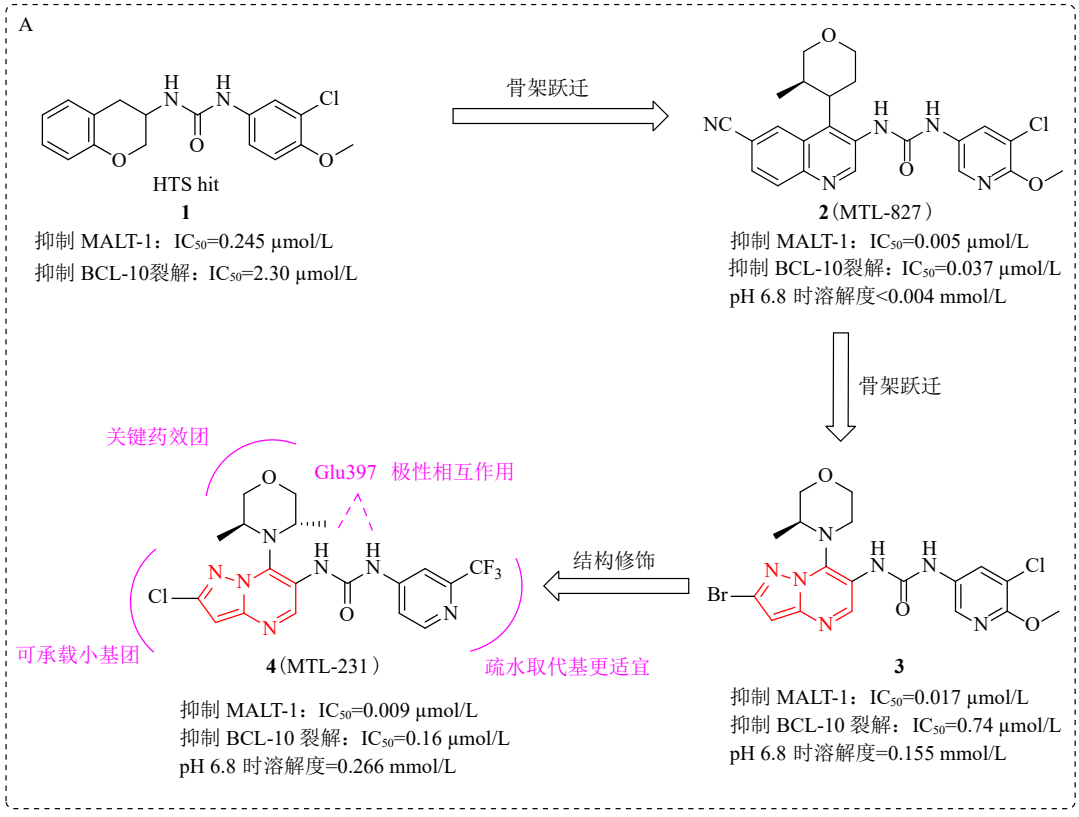



**图 2 MALT-1 别构抑制剂的设计策略和构效关系**

Fig.2 Design Strategy and Structure-activity Relationship of MALT-1 Allosteric Inhibitors

HIV-1 整合酶活性的同时，促进了整合酶异常的多聚化，产生无感染力的病毒[14]。

FADER 等[15]通过高通量筛选得到了以**5**（图 3A）为代表的一系列化合物，等温滴定量热（isothermal titration calorimetry，ITC）法和平衡透析法分析结果表明，这类化合物可与逆转录酶核心催化域（CCD）二聚体结合，并通过 X 射线衍射首次确认了结合位点为 CCD 二聚体的疏水口袋。LI 等[14]以此为基础，运用骨架跃迁策略，将喹啉母核替换为吡唑并［1,5-*a*］嘧啶，得到 **6a**（图 3A），其抑制常数（$K_i$）为 2 μmol/L，半数有效浓度（$EC_{50}$）为 4.5 μmol/L[15]。吡唑并［1,5-*a*］嘧啶杂环的引入一方面降低了喹啉母核的芳香性，另一方面则保留了 **5** 的结合模式。在 C2 位引入苯环取代可增加化合物的活性，如 **6b** 的活性（$K_i$=700 nmol/L，$EC_{50}$=620 nmol/L）比 **6a** 高，且其半数细胞毒浓度（$CC_{50}$）为 77 μmol/L，细胞毒性较低。随后的构效关系研究表明，C7 位使用色烷替代苯环的 **7** 与疏水口袋结合更强（$K_i$=40 nmol/L），但细胞活性无明显增强（$EC_{50}$=490 nmol/L）。通过对色烷的修饰可以拆分出（*S*,*S* & *R*,*R*）**8**（$K_i$=170 nmol/L，$EC_{50}$=210 nmol/L），而其轴手性异构体（*S*,*R* & *R*,*S*）活性大幅下降（$K_i$=3.4 μmol/L，$EC_{50}$>40 μmol/L）。其活性存在差异的原因可能是 C7 色烷取代基的轴手性会影响吡唑并［1,5-*a*］嘧啶环与 C2 位苯环之间的平面性，进而影响 C2 苯环与疏水口袋的结合。

由 **8** 与 CDD 二聚体结合的共晶结构分析（图 3B）可知，羧基与 Glu170 和 His171 主链酰胺骨架形成双齿氢键的同时，与 Thr174 的侧链羟基形成氢键；叔丁基占据了由 Thr125、Gln95、Tyr99 和 Thr174 所形成的疏水口袋；而 C7 位的色烷则与 Leu102、Ala129、Thr174、Met178、Trp132 和 Ala169 形成的疏水口袋结合。对比 LEDGF 整合酶结合区与 CDD 二聚体结合模式，羧基和色烷分别很好地模拟了 LEDGF 的 Asp366 和 Ile365 的疏水侧链。但是，**8** 并无类似 LEDGF 中 Val408 和 Phe406 残基与 CDD 之间的疏水作用。为此，进一步对化合物 **8** 的 C2 位苯环进行了修饰，通过在苯环的不同位置引入芳香基以增强化合物与 CDD 之间的亲和力，最终得到的 **9**（$EC_{50}$=3 nmol/L，$CC_{50}$=19.08 μmol/L）治疗指数（TI=6 360）较高，且具有良好的透膜性和代谢稳定性，为后续工作奠定了坚实的基础。

## 3　谷氨酸代谢型受体亚型 2（metabotropic glutamate receptor subtype 2，mGluR2）负向别构调节剂

mGluR2 是一种Ⅱ类谷氨酸代谢型受体，属于 C 家族 G 蛋白偶联受体（G protein-coupled receptors，GPCRs）成员，广泛表达于中枢神经系统。mGluR2 通过偶联下游的 $G_{i/o}$ 蛋白抑制腺苷酸环化酶（adenylyl cyclase，AC），下调胞内第二信使环磷腺苷（cyclic adenosine monophosphate，cAMP）进而介导各种生物学效应。mGluR2 是焦虑[16]、抑郁[17—18]、精神分裂症[19]、疼痛[20]、成瘾[21]、阿尔茨海默病[22]和帕金森病[23]等多种中枢神经系统疾病的潜在治疗靶点[24]。然而，由于 mGluR2 和 mGluR3 结构高度相似，使靶向 mGluR2 的选择性正向调节剂研发受阻，而靶向 mGluR2 的别构调节剂为选择性调控 mGluR2 提供了可行的策略。目前已有多个靶向 mGluR2 的别构调节剂进入临床试验，包括 mGluR2 正向别构调节剂 JNJ-40411813（ADX71149）和 AZD8529，以及核心骨架为吡唑并［1,5-*a*］嘧啶的 mGluR2/3 负向别构调节剂（negative allosteric modulator，NAM）decoglurant（RO4995819，图 4A）。Decoglurant 是目前唯一进入临床试验阶段的靶向 mGluR2/3 的 NAM，用于抑郁症的治疗，但因缺乏有效性，罗氏公司已宣布停止该化合物的进一步开发[25]。

BOLLINGER 等[26]报道了可穿透血脑屏障的高选择性 mGluR2 NAM VU6001966（**10**，大鼠脑 - 血浆分配系数 $K_p$=1.9，图 4B）。遗憾的是，**10** 的血浆清除率太高［$CL_p$=118 mL·(min·kg)$^{-1}$］，无法作为工具化合物用于体内研究。为了改善 **10** 的血浆清除率，CHILDRESS 等[27]采用骨架跃迁策略，将 **10** 的吡啶母核用吡唑并［1,5-*a*］嘧啶替换，设计合成了一系列吡唑并［1,5-*a*］嘧啶衍生物并进行活性研究。结果表明，相比于先导化合物 **10**，尽管化合物 **11a**（图

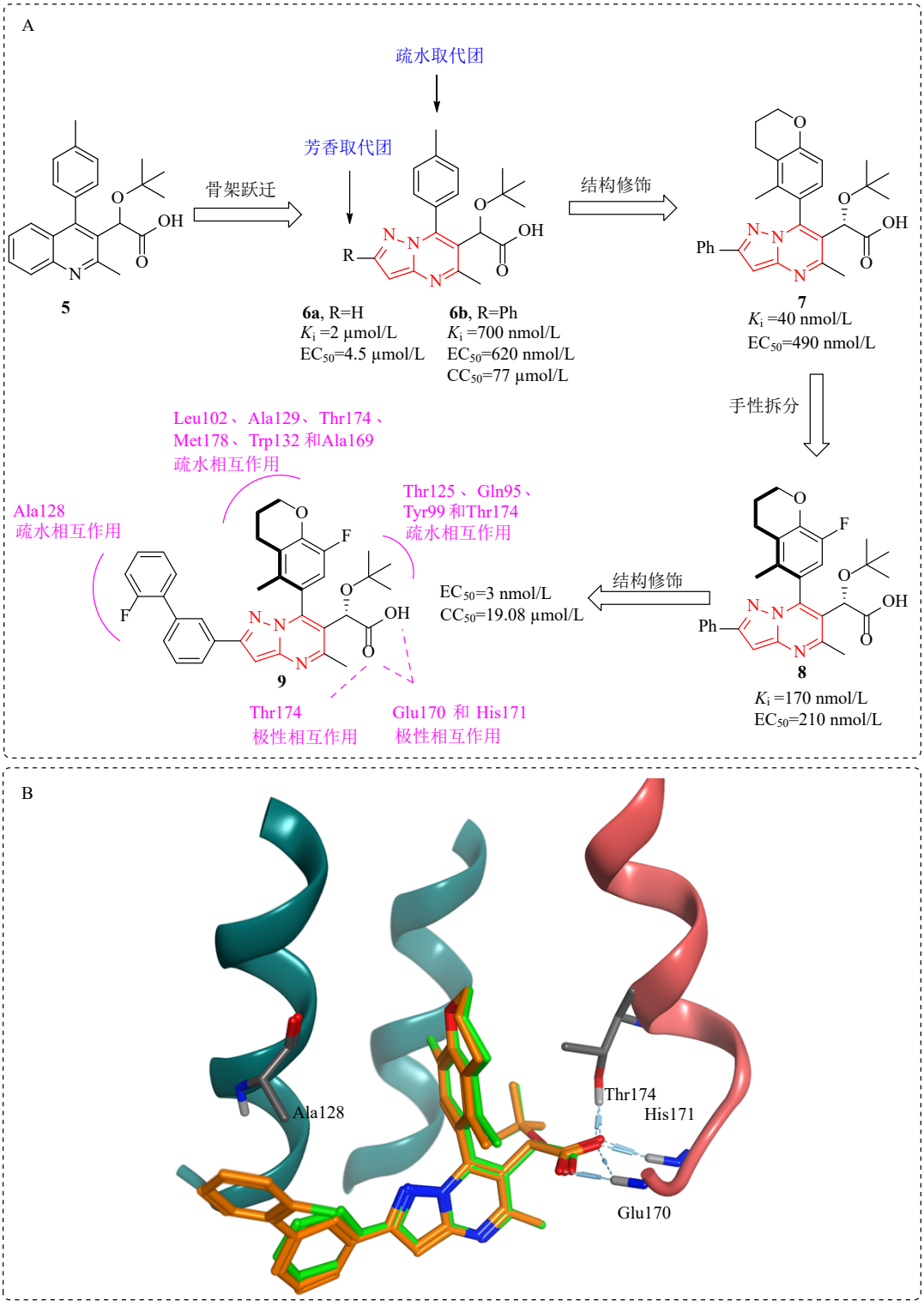



**图 3　HIV-1 整合酶别构抑制剂的设计策略和构效关系（A）以及 8（绿色）和 9（橙色）与 HIV 整合酶别构位点的预测结合模式（B，PDB: 6UM8）**

Fig.3　Design Strategy and Structure-activity Relationship of HIV-1 Integrase Allosteric Inhibitors (A) and Predicted Binding Mode of **8** (Green) and **9** (Orange) with HIV-1 Integrase (B, PDB: 6UM8)

4B）对 mGluR2 的抑制活性降低了 90%，但显著改善了血浆清除率［$CL_p$ 降低至 10 mL·(min·kg)$^{-1}$］，并表现出优异的亚型选择性、药动学性质以及血脑屏障穿透性，可作为工具化合物用于体内研究 mGluR2 的生物学功能。值得注意的是，这也是首次得到血浆清除率较低且可穿透血脑的 mGluR2 NAM。将 **11a** 的氧醚链替换为全碳链得到 **11b**（图 4B），其对 mGluR2 的抑制活性与 **10** 相当，但仅表现出中等的体外肝微粒稳定性。虽然目标化合物与受体蛋白的结合方式目前暂不清楚，但为获得兼顾活性、血脑屏障穿透性以及药动学性质的 mGluR2 NAM，基于 5/6 杂环体系进行构效关系研究，结果显示，吡唑并［1,5-*a*］嘧啶核心骨架连接的芳香取代基，以及连接核心骨架与芳香取代基的连接子对抑制 mGLuR2 活性的影响较大。

## 4　G 蛋白偶联受体 109A（G protein-coupled receptor 109A，GPR109A）的别构调节剂

GPR109A 是一个与脂类代谢相关的 GPCR，属于 A 类 GPCR 家族蛋白，主要表达于脂肪细胞和髓系免疫细胞 [28]。GPR109A 与配体结合后构象发生改变并与 $G_i$ 蛋白结合，抑制 AC 活性进而降低脂肪细胞内 cAMP 含量，抑制三酰基甘油水解为自由脂肪酸，以抑制脂肪细胞脂解。因此，GPR109A 是治疗血脂代谢紊乱和心血管疾病的重要靶点，与血管炎症、帕金森病、多发性硬化、结肠癌和中性粒细胞凋亡密切相关 [29]。目前，针对该受体开发的药物以正构激动药为主，但均表现出高尿酸血症和皮肤潮红等不良反应，如烟酸（nicotinic acid，NA）[30—34]。研究 [35—36] 显示，别构调节剂和正构激动药可同时与 GPR109A 结合，并影响正构激动药的活性。因此，学术界和工业界都致力于研发 GPR109A 正向别构调节剂，希望增强 NA 等正构激动药的作用，减少药物用量和不良反应。

2008 年，MERK 公司的 SHEN 等 [37] 首次报道了以吡唑并［1,5-*a*］嘧啶作为核心骨架的 GPR109A 正向别构调节剂（图 5），分别通过 $^3$H-NA 竞争结合试验和［$^{35}$S］GTPγS 结合试验来评价化合物与 GPR109A 的结合能力以及作为正向别构调节剂的激动作用。构效关系研究结果（表 1）表明：1）吡唑并［1,5-*a*］嘧啶与苯环之间的连接子对活性至关重要，如将 **12a**（$IC_{50}$=1.0 μmol/L，$EC_{50}$=6.0 μmol/L）中的氧醚链替换为全碳链得到的 **12b** 活性丧失；2）苯环上引入 $R_2$ 取代基可在一定程度上降低化合物的 $EC_{50}$，如 **12c**、**12d**；3）连接子上甲基的构型对

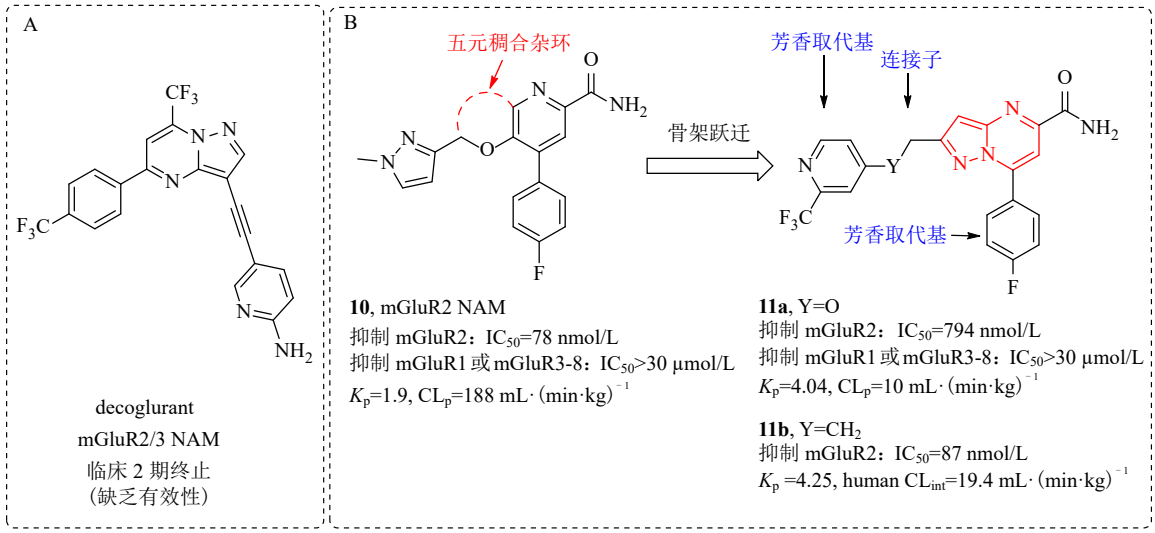



**图 4　Decoglurant 的分子结构（A）和 mGluR2 NAM 的设计策略和构效关系（B）**

Fig.4　Molecular Structure of Decoglurant (A) and Design Strategy and Structure-activity Relationship of mGluR2 NAM (B)

活性也有较大影响，在 $^{3}$H-NA 竞争结合试验中，(*R*)-构型对映体 **12f** 的活性（$IC_{50}$=0.17 μmol/L）高于(*S*)-构型对映体 **12g**（$IC_{50}$=3.3 μmol/L），且 **12f** 与[$^{35}$S]GTPγS 的结合活性（$EC_{50}$=0.12 μmol/L）也高于 **12g**（$EC_{50}$=3 μmol/L）。此外，**12f** 还可增强 $^{3}$H-NA 与 GPR109A 的结合，且呈剂量依赖性。同时，**12f** 可增强 NA 对 AC 激活药 forskolin 在 GPR109A 高表达的中国仓鼠卵巢细胞（CHO-hGPR109A 细胞）中诱导 cAMP 累积的抑制作用，且呈剂量依赖性。以上结果表明，**12f** 是 GPR109A 的正向别构调节剂。

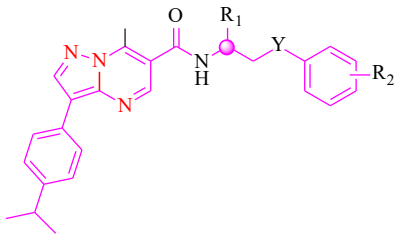



**图 5 GPR109A 正向别构调节剂的化学结构通式**

Fig.5 Chemical Formula of GPR109A Positive Allosteric Modulators

2012 年，BLAD 等[38]在上述研究基础上进一步展开构效关系研究，结果如图 6 和表 2 所示。1）在吡唑并[1,5-*a*]嘧啶环的 C7 位引入取代基对增强活性有利，无取代基时 GPR109A 的激动活性显著降低，如 **12a** 和 **13a** ～ **13c**，其中 R2 为 $CH_3$（**12a**）时活性较强，在 10 μmol/L 浓度下可显著降低 NA 的 $EC_{50}$。2）吡唑并[1,5-*a*]嘧啶环的 C3 位苯环上的取代基位置对活性影响较大，有利顺序为对位＞间位＞邻位，如 **13d**、**13e** 和 **13f** 分别使 NA 的 $EC_{50}$ 降低了 87%、75%和 42%。3）连接子中，*n*=1、Y=O 时活性较强，如 **12a**、**13g** 和 **12b** 分别使 NA 的 $EC_{50}$ 降低了 96%、85%和 64%。4）当连接子为全碳链（**12b** 和 **13h** ～ **13j**）时，碳数为 1（**13i**）的活性更优，可使 NA 的 $EC_{50}$ 降低 68%。可预见的是，GPR109A 正向别构调节剂的研发有望增强 NA 的激动效果，降低 NA 的 $EC_{50}$，进而避免因 NA 用量过多而导致的皮肤潮红等不良反应。

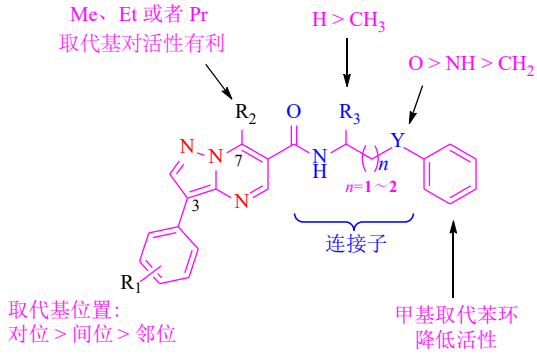



**图 6 GPR109A 正向别构调节剂的化学结构通式**

Fig.6 Chemical Formula of GPR109A Positive Allosteric Modulators

## 5 结论与展望

吡唑并[1,5-*a*]嘧啶作为优势骨架广泛用于正构和别构调节剂设计中，已有多个含有该核心骨架的小分子化合物获批上市或处于临床试阶段。吡唑并[1,5-*a*]嘧啶可作为喹啉、噁唑等杂环体系的生

**表 1 GPR109A 正向别构调节剂的活性数据**

Tab.1 Activity Data of GPR109A Positive Allosteric Modulators

| 化合物 | Y | $R_1$ | $R_2$ | $^{3}$H-NA竞争结合试验 | [$^{35}$S]GTPγS结合试验 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | $IC_{50}$/(μmol·L$^{-1}$) | $EC_{50}$/(μmol·L$^{-1}$) | $E_{max}$[1)] |
| **12a** | O | —H | —H | 1.0 | 6.0 | 76 |
| **12b** | —$CH_2$— | —H | —H | — | — | 0 |
| **12c** | O | —H | *m*-OMe | — | 0.93 | 55 |
| **12d** | O | —H | *p*-F | — | 0.46 | 24 |
| **12e** | O | —$CH_3$ | —H | 1.3 | 0.7 | 74 |
| **12f** | O | —$CH_3$(*R*) | —H | 0.17 | 0.12 | 75 |
| **12g** | O | —$CH_3$(*S*) | —H | 3.3 | 3.0 | 42 |
| NA | — | — | — | 0.15 | 1.0 | 100 |

注：[1)]100 μmol/L 化合物的最大激动效应。

**表 2　GPR109A 正向别构调节剂的构效关系**

Tab.2　Structure-activity Relationship of GPR109A Positive Allosteric Modulators

| 化合物 | *n* | Y | $R_1$ | $R_2$ | $R_3$ | [$^{35}$S]GTPγS | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | $E_{max}$[1)]/% | $E_{max(+NA)}$[2)]/% | $EC_{50}$变化系数[3)] |
| NA | — | — | — | — | — | 100 | 100 | 1 |
| **12a** | 1 | O | 4-*i*Pr | —Me | —H | 71±17 | 109±6 | 0.04 |
| **13a** | 1 | O | 4-*i*Pr | —H | —H | 10±3 | 106±7 | 0.62 |
| **13b** | 1 | O | 4-*i*Pr | —Et | —H | 69±7 | 151±6 | 0.08 |
| **13c** | 1 | O | 4-*i*Pr | —Pr | —H | 58±20 | 151±9 | 0.17 |
| **13d** | 1 | O | 4-Me | —Me | —H | 52±4 | 113±7 | 0.13 |
| **13e** | 1 | O | 3-Me | —Me | —H | 17±2 | 119±5 | 0.25 |
| **13f** | 1 | O | 2-Me | —Me | —H | 3±1 | 91±6 | 0.58 |
| **13g** | 1 | —NH— | 4-*i*Pr | —Me | —H | 41±6 | 139±10 | 0.15 |
| **12b** | 1 | —$CH_2$— | 4-*i*Pr | —Me | —H | 22±8 | 134±7 | 0.36 |
| **13h** | 0 | — | 4-*i*Pr | —Me | —H | 3±1 | 129±9 | 0.60 |
| **13i** | 1 | — | 4-*i*Pr | —Me | —H | 23±1 | 135±5 | 0.32 |
| **13j** | 2 | —$CH_2$— | 4-*i*Pr | —Me | —H | 1±2 | 128±4 | 1.07 |
| **12f** | 1 | O | 4-*i*Pr | —Me | —$CH_3$ | 5±2 | 115±9 | 0.53 |

注：[1)]10 μmol/L 目标化合物的 $E_{max}$ 与 100 μmol/L NA 的 $E_{max}$ 的比值；[2)]10 μmol/L 目标化合物 +100 μmol/L NA 的 $E_{max}$ 与 100 μmol/L NA 的 $E_{max}$ 的比值；[3)]NA 在添加 10 μmol/L 目标化合物时对 GPR109A 的 $EC_{50}$ 与不添加目标化合物时的 $EC_{50}$ 的比值。

物电子等排体，通过骨架跃迁策略替换活性分子中的母核骨架。一方面，这种优势骨架的替换策略不仅赋予活性分子相同的三维构象，使药效团保持在合适的位置，同时还可调整活性分子的理化性质和药动学性质，获得具有成药潜力的候选化合物。

本研究综述了近期吡唑并［1,5-*a*］嘧啶在别构调控中的应用及其构效关系研究，为基于该优势骨架的小分子别构调节剂研发提供了参考。随着有机化学的发展，在吡唑并［1,5-*a*］嘧啶环系的 2、3、5、6 和 7 位引入取代基也越来越简单、高效[3—8]。由于每个位点上的取代基代表了不同的矢量，这也意味着药物化学家可在计算机辅助药物设计的合理指导下，通过在不同位点引入合理的取代基来探索靶蛋白的结合口袋空间，以快速获得先导化合物。简单、高效的吡唑并［1,5-*a*］嘧啶骨架化学合成方法也将进一步推动该优势骨架在小分子别构调节剂研发中的应用。

**致谢：**深圳市面上项目“致癌蛋白 KRAS 降解剂的研发”（JCYJ20190809140611364）给予支持。

**参考文献：**

［1］ CHRISTOPOULOS A. Allosteric binding sites on cell-surface receptors: novel targets for drug discovery［J］. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, **1**(3): 198-210.

［2］ LU S, ZHANG J. Allosteric modulators［M］// CHACKALAMANNIL S, ROTELLA D, WARD S E. Comprehensive medicinal chemistry Ⅲ. Amsterdam: Elsevier, 2017: 276-296.

［3］ ISMAIL N S M, ALI G M E, IBRAHIM D A, *et al*. Medicinal attributes of pyrazolo［1,5-*a*］pyrimidine based scaffold derivatives targeting kinases as anticancer agents［J］. *Future J Pharm Sci*, 2016, **2**(2): 60-70.

［4］ AL-AZMI A. Pyrazolo［1,5-*a*］pyrimidines: a close look into their synthesis and applications［J］. *Curr Org Chem*, 2019, **23**(6): 721-743.

［5］ SALEM M A, HELAL M H, GOUDA M A, *et al*. Recent synthetic methodologies for pyrazolo［1,5-*a*］pyrimidine［J］. *Synth Commun*, 2019, **49**(14): 1750-1776.

［6］ CHERUKUPALLI S, KARPOORMATH R, CHANDRASEKARAN B, *et al*. An insight on synthetic and medicinal aspects of pyrazolo［1,5-*a*］pyrimidine scaffold［J］. *Eur J Med Chem*, 2017, **126**: 298-352.

［7］ HAMMOUDA M M, GAFFER H E, ELATTAR K M. Insights into the medicinal chemistry of heterocycles integrated with a pyrazolo［1,5-*a*］pyrimidine scaffold［J］. *RSC Med Chem*, 2022, **13**(10): 1150-1196.

［8］ ARIAS-GOMEZ A, GODOY A, PORTILLA J. Functional pyrazolo［1,5-*a*］pyrimidines: current approaches in synthetic transformations and uses as an antitumor scaffold［J］.

*Molecules*, 2021, **26**(9): 2708-2742.

[9] HAILFINGER S, REBEAUD F, THOME M. Adapter and enzymatic functions of proteases in T-cell activation [J]. *Immunol Rev*, 2009, **232**(1): 334-347.

[10] THOME M. Multifunctional roles for MALT1 in T-cell activation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, **8**(7): 495-500.

[11] DÜWEL M, WELTEKE V, OECKINGHAUS A, *et al*. A20 negatively regulates T cell receptor signaling to NF-kappaB by cleaving MALT1 ubiquitin chains [J]. *J Immunol*, 2009, **182**(12): 7718-7728.

[12] PISSOT SOLDERMANN C, SIMIC O, RENATUS M, *et al*. Discovery of potent, highly selective, and *in vivo* efficacious, allosteric MALT1 inhibitors by iterative scaffold morphing [J]. *J Med Chem*, 2020, **63**(23): 14576-14593.

[13] POESCHLA E M. Integrase, LEDGF/p75 and HIV replication [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, **65**(9): 1403-1424.

[14] LI G, MEANWELL N A, KRYSTAL M R, *et al*. Discovery and optimization of novel pyrazolopyrimidines as potent and orally bioavailable allosteric HIV-1 integrase inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2020, **63**(5): 2620-2637.

[15] FADER L D, MALENFANT E, PARISIEN M, *et al*. Discovery of BI 224436, a noncatalytic site integrase inhibitor (NCINI) of HIV-1 [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2014, **5**(4): 422-427.

[16] FERRAGUTI F. Metabotropic glutamate receptors as targets for novel anxiolytics [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2018, **38**: 37-42.

[17] GOELDNER C, BALLARD T M, KNOFLACH F, *et al*. Cognitive impairment in major depression and the mGlu2 receptor as a therapeutic target [J]. *Neuropharmacology*, 2013, **64**: 337-346.

[18] CHAKI S, FUKUMOTO K. mGlu receptors as potential targets for novel antidepressants [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2018, **38**: 24-30.

[19] CONN P J, LINDSLEY C W, JONES C K. Activation of metabotropic glutamate receptors as a novel approach for the treatment of schizophrenia [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2009, **30**(1): 25-31.

[20] CHIECHIO S, NICOLETTI F. Metabotropic glutamate receptors and the control of chronic pain [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2012, **12**(1): 28-34.

[21] KALIVAS P W, VOLKOW N D. New medications for drug addiction hiding in glutamatergic neuroplasticity [J]. *Mol Psychiatry*, 2011, **16**(10): 974-986.

[22] CARACI F, NICOLETTI F, COPANI A. Metabotropic glutamate receptors: the potential for therapeutic applications in Alzheimer's disease [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2018, **38**: 1-7.

[23] SLOBODNICK A, SHAH B, PILLINGER M H, *et al*. Colchicine: old and new [J]. *Am J Med*, 2015, **128**(5): 461-470.

[24] NICOLETTI F, BATTAGLIA G, BRUNO V. Editorial overview: neurosciences: metabotropic glutamate receptors: still promising drug targets for CNS disorders [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2018, **38**: Ⅴ-Ⅷ.

[25] QUNIES A M, EMMITTE K A. Negative allosteric modulators of group Ⅱ metabotropic glutamate receptors: a patent review (2015 — present) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2021, **31**(8): 687-708.

[26] BOLLINGER K A, FELTS A S, BRASSARD C J, *et al*. Design and synthesis of mGlu2 NAMs with improved potency and CNS penetration based on a truncated picolinamide core [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2017, **8**(9): 919-924.

[27] CHILDRESS E S, WIETING J M, FELTS A S, *et al*. Discovery of novel central nervous system penetrant metabotropic glutamate receptor subtype 2 (mGlu2) negative allosteric modulators (NAMs) based on functionalized pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine-5-carboxamide and thieno[3,2-*b*]pyridine-5-carboxamide cores [J]. *J Med Chem*, 2019, **62**(1): 378-384.

[28] OFFERMANNS S, COLLETTI S L, LOVENBERG T W, *et al*. International union of basic and clinical pharmacology. LXXXII: nomenclature and classification of hydroxy-carboxylic acid receptors (GPR81, GPR109A, and GPR109B) [J]. *Pharmacol Rev*, 2011, **63**(2): 269-290.

[29] LUKASOVA M, HANSON J, TUNARU S, *et al*. Nicotinic acid (niacin): new lipid-independent mechanisms of action and therapeutic potentials [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2011, **32**(12): 700-707.

[30] BENYÓ Z, GILLE A, KERO J, *et al*. GPR109A (PUMA-G/HM74A) mediates nicotinic acid-induced flushing [J]. *J Clin Invest*, 2005, **115**(12): 3634-3640.

[31] HANSON J, GILLE A, OFFERMANNS S. Role of $HCA_2$ (GPR109A) in nicotinic acid and fumaric acid ester-induced

effects on the skin [J]. *Pharmacol Ther*, 2012, **136**(1): 1-7.

[32] HANSON J, GILLE A, ZWYKIEL S, *et al*. Nicotinic acid- and monomethyl fumarate-induced flushing involves GPR109A expressed by keratinocytes and COX-2-dependent prostanoid formation in mice [J]. *J Clin Invest*, 2010, **120**(8): 2910-2919.

[33] MACIEJEWSKI-LENOIR D, RICHMAN J G, HAKAK Y, *et al*. Langerhans cells release prostaglandin D2 in response to nicotinic acid [J]. *J Invest Dermatol*, 2006, **126**(12): 2637-2646.

[34] WALTERS R W, SHUKLA A K, KOVACS J J, *et al*. β-Arrestin1 mediates nicotinic acid-induced flushing, but not its antilipolytic effect, in mice [J]. *J Clin Invest*, 2009, **119**(5): 1312-1321.

[35] MARINO M J, CONN P J. Glutamate-based therapeutic approaches: allosteric modulators of metabotropic glutamate receptors [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2006, **6**(1): 98-102.

[36] GAO Z G, JACOBSON K A. Keynote review: allosterism in membrane receptors [J]. *Drug Discov Today*, 2006, **11**(5/6): 191-202.

[37] SHEN H C, TAGGART A K P, WILSIE L C, *et al*. Discovery of pyrazolopyrimidines as the first class of allosteric agonists for the high affinity nicotinic acid receptor GPR109A [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, **18**(18): 4948-4951.

[38] BLAD C C, VAN VELDHOVEN J P D, KLOPMAN C, *et al*. Novel 3,6,7-substituted pyrazolopyrimidines as positive allosteric modulators for the hydroxycarboxylic acid receptor 2 (GPR109A) [J]. *J Med Chem*, 2012, **55**(7): 3563-3567.

