

GPR35 受体香豆素类激动剂三维定量构效关系研究

任 聪¹, 于大永¹, 魏 来², 张秀莉², 冯宝民¹, 史丽颖^{1*}, 曹洪玉^{1*}¹大连大学生命科学与技术学院, 大连 116622; ²中国科学院大连物理化学研究所, 大连 116023

摘要: 本实验采用比较分子力场分析法 (CoMFA) 和比较分子相似性指数分析法 (CoMSIA) 建立 GPR35 受体香豆素类激动活性的三维定量构效关系 (3D-QSAR) 模型, 以确定该类激动剂的分子结构与其生物活性之间的定量关系。在预测半数有效浓度 (EC_{50}) 的 CoMFA 模型中, 训练集抽一法 (LOO) 交叉验证系数 $q^2 = 0.559$, 非交叉验证系数 $r^2 = 0.887$, 标准偏差 $SE = 0.382$; 在 CoMSIA 模型中, 训练集抽一法交叉验证系数 $q^2 = 0.627$, 非交叉验证系数 $r^2 = 0.915$, 标准偏差 $SE = 0.365$ 。在预测半数抑制浓度 (IC_{50}) 的 CoMFA 模型中, 训练集抽一法交叉验证系数 $q^2 = 0.600$, 非交叉验证系数 $r^2 = 0.903$, 标准偏差 $SE = 0.375$; 在 CoMSIA 模型中, 训练集抽一法交叉验证系数 $q^2 = 0.566$, 非交叉验证系数 $r^2 = 0.914$, 标准偏差 $SE = 0.378$ 。 EC_{50} 和 IC_{50} 的两个 3D-QSAR 模型预测结果同实验数据基本一致, 说明模型的预测能力较好。本实验根据模型预测结果, 对配体分子的结构进行分析, 为获得具有更高活性的配体分子提供理论依据。

关键词: GPR35 受体; 香豆素类化合物; 三维定量构效关系; 比较分子力场分析法; 比较分子相似性指数分析法

中图分类号: R914.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.6.024

Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship Studies on Coumarins as Agonists of G Protein-Coupled Receptor 35

REN Cong¹, YU Da-yong¹, WEI Lai², ZHANG Xiu-li², FENG Bao-min¹, SHI Li-ying^{1*}, CAO Hong-yu^{1*}¹College of Life Science and Technology, Dalian University, Dalian 116622, China;²Dalian Institute of Physical Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China

Abstract: In this study, a three-dimensional quantitative structure-activity relationship (3D-QSAR) model of GPR35 receptor agonists was established by comparative molecular field analysis (CoMFA) and comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA). The quantitative relationship between the structure of the agonists and its biological activities was determined. In the CoMFA model, which was employed to calculate the half effective concentration, the final LOO (Leave-one-out) cross-validation coefficient (q^2) is 0.559, the non-cross validation coefficient (r^2) is 0.887, standard deviation (SE) is 0.382, and in the CoMSIA model, the final decision coefficient (q^2) is 0.627, non-cross validation coefficient (r^2) is 0.915, and standard deviation (SE) is 0.365. In the CoMFA model, which was employed to calculate the half inhibitory concentration, the final LOO (Leave-one-out) cross-validation coefficient (q^2) is 0.600, non-cross validation coefficient (r^2) is 0.903, standard deviation (SE) is 0.375, and in the CoMSIA model, the final decision coefficient (q^2) is 0.566, non-cross validation coefficient (r^2) is 0.914, and standard deviation (SE) is 0.378. One satisfactory 3D-QSAR model possessing predictive capability was obtained, EC_{50} and IC_{50} values which predicted by 3D-QSAR model are almost same with experimental data. In this experiment, according to the predicted results, the structures of the ligand molecules were analyzed. The 3D-QSAR model can be applied to design new coumarin derivatives potent GPR35 agonists.

Key words: GPR35 receptor; coumarin compounds; three-dimensional quantitative structure-activity relationship; comparing the molecular force field analysis; comparative molecular similarity index analysis

收稿日期: 2017-09-22

接受日期: 2018-01-29

基金项目: 国家自然科学基金 (31270398); 辽宁省自然科学基金 (201602027); 国家自然科学基金青年 (21601025); 国家大学生创新计划 (201711258000012)

* 通信作者 Tel: 86-411-87402107; E-mail: shiliying@dlu.edu.cn; caohongyu@dlu.edu.cn

GPR35 受体是一种 G 蛋白偶联受体, O'Dowd 等人于 1998 年发现了人的 2 号染色体的 q37.3 区域编码 GPR35 基因^[1], 随后从人胃癌细胞的 cDNA 文库中发现了另一种 GPR35 基因^[2]。GPR35 受体在人体多种组织和细胞有不同水平的表达, 尤其是

在人的结肠、小肠、隐静脉血管内皮细胞和免疫细胞(单核细胞、中性粒细胞、T 细胞和树突状细胞)中表达量高,在肾、脾、前列腺和子宫有中等水平的表达。在小鼠的脾脏、小肠、结肠中有较高水平的表达,大鼠中的脾、结肠和背根神经节中的 GPR35 表达水平较高^[3,4]。

有实验显示,在被敲除了 GPR35 基因的小鼠模型中,小鼠的血压显著升高,表明 GPR35 受体参与血压的调节^[5]。疼痛动物模型实验表明,GPR35 受体激动剂的镇痛作用十分显著,提示 GPR35 可能在痛觉感受中发挥作用^[6,7]。GPR35 受体还参与免疫应答的调节,单核细胞的 GPR35 受体激活后能强化其对血管内皮细胞的粘附作用,这是炎症组织募集白细胞的起始阶段^[8]。此外,GPR35 受体还能影响人单核细胞和 I 型 NKT 细胞分泌细胞因子^[9,10]。GPR35 受体还参与胃癌^[2]、II 型糖尿病^[11]和心血管疾病^[12]的发病机制。GPR35 受体还可以通过偶联 G13 受体激活 RhoA/ROCK 信号通路,后者可参与人隐静脉血管平滑肌细胞的迁移和内皮细胞的增殖^[3]。

香豆素(coumarin)是一类具有苯骈 α -吡喃酮母核的天然化合物的总称,另外在其结构上,可看成是顺邻羟基桂皮酸因失水而产生的内酯。该类化合物是药用植物中主要的活性成分之一。最近的研究发现一些香豆素类化合物也是 GPR35 受体的激动剂^[13]。魏来等利用基于无标记细胞整合药理学技术的共振波导光栅动态质量重置分析方法^[15],以人结肠癌 HT-29 细胞内源表达的 GPR35 受体为靶点,测定了香豆素类化合物对 GPR35 受体的激动活性,另外检测了激动活性较强的化合物对完全激动剂敏喘宁的脱敏作用^[15],从而测得 EC_{50} 值与脱敏 IC_{50} 值^[13]。

三维定量构效关系把配基同受体的三维结构的特征作为基础,用来建立三维结构与生物活性的定量关系,以此来得到有明显效果的具有预测性能的构象模型与 3D-QSAR 等势图,进而可以对药物分子的活性进行预测。用来分析三维定量构效关系的方法有很多种^[14],如比较分子场分析法(Comparative Molecular Field Analysis,CoMFA)、比较分子相似性指数分析法(Comparative Molecular Similarity Indices Analysis,CoMSIA)、分子形状分析法(Molecular Shape Analysis,MSA)、距离几何法(Distance Geometry,DG)、假设活性网格法(Hypothetical Active Site

Lattice,HASL)等。本文将研究以 3-羧酸香豆素、3-氰基香豆素和 3-(1H-四氮唑-5-)香豆素为母核的化合物^[13],利用比较分子场分析法(CoMFA)和比较分子相似性指数分析法(CoMSIA),建立这三类 GPR35 受体激动剂的三维定量构效关系(3D-QSAR)的模型,进而对 28 个激动剂的分子结构与生物活性之间的定量关系进行分析,以此来预测此类配体分子作为 GPR35 受体激动剂的生物活性。

1 计算方法

从文献^[13]中共获得 28 个 GPR35 受体激动剂的配体分子,其是以 3-羧酸香豆素、3-氰基香豆素和 3-(1H-四氮唑-5-)香豆素为母核的化合物(除去没有活性与没有明确活性数据的化合物)(见表 1)。根据文献^[13]获得的化合物活性分别是 EC_{50} 和 IC_{50} ,为了获得 CoMFA 模型与 CoMSIA 模型,首先把这些值转变为 pEC_{50} 值($-\log EC_{50}$)和 pIC_{50} 值($-\log IC_{50}$),整个数据集随机分成有 22 个分子的训练集以及有 6 个分子的测试集。把化合物结构、 pEC_{50} 值和 pIC_{50} 值列入表 1。计算利用 SYBYL-X 2.0 软件包,构建分子以及结构优化和分析等过程的运算参数除标明外均为默认参数。根据文献^[13,16,17]构建分子的三维结构,在能量优化时,先利用最陡下降法(Steepest Descent Method)来寻找分子低能构象,设置其收敛 RMS 参数为 $0.05 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{\AA}^{-1}$,最大迭代步数(Max Iterations)为 6000;然后利用共轭梯度法(Conjugate Gradient)对分子进行进一步优化,设置其收敛参数为 $0.001 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{\AA}^{-1}$,最大迭代步数(Max Iterations)为 1000;得到的分子构象认为是药物分子能量最低构象,最后利用 Gasteiger-Hückel 法对分子电荷进行计算。叠合结果直接影响着实验所构建的模型是否有效,另外需要依据力场或者具有活性的药效基团的位置等方面来进行分子叠合,从而可以使得分子的叠合程度达到最高。由于 3D-QSAR 模型是假定每个配体分子都会通过同样的活性方式与受体的同一结合位点结合,因此选定活性最高的 27 号(pEC_{50} 值为 8.237, pIC_{50} 值为 8.066)配体分子作为叠合的模板,使用 Database Align 进行叠合,使 28 个化合物分子的公共部分全部叠合在同一个共同的刚性骨架上,并且叠合结果自动生成一个新的数据库。

CoMFA 计算的是立体场(steric,S)和静电场(electrostatic,E),其数值的大小可直接反映出化合

物与受体之间在三维结构上相互作用的关系。利用 CoMSIA 可计算出在香豆素类化合物配体分子周围发生作用的五种场,分别是立体场(S)、静电场(E)、疏水场(hydrophobic,H)、氢键受体(acceptor,A)和氢键给体场(donor,D)。

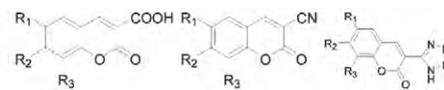


图1 分子结构母核

Fig. 1 Molecular structure of the mother nucleus

表1 GPR35受体香豆素类激动剂分子结构及其生物活性

Table 1 The molecular structures and biological activities of GPR35 agonists

药物分子编号 Drug molecule number	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	pEC ₅₀	pIC ₅₀
1	H	H	H	COOH	4.035	4.000
2 [@]	Cl	H	H	COOH	4.869	4.878
3	Br	H	H	COOH	4.968	4.947
4	Cl	H	Cl	COOH	5.695	5.638
5	Br	OH	H	COOH	5.363	5.425
6	Br	H	Br	COOH	5.757	5.967
7 [@]	Br	OH	Br	COOH	6.824	7.252
8	Br	OMe	Br	COOH	6.051	6.125
9	Br	H	NO ₂	COOH	5.370	5.426
10	Br	OH	NO ₂	COOH	7.292	7.509
11 [@]	Cl	H	H	CN	4.669	4.669
12	Cl	H	Cl	CN	5.065	5.065
13	Br	H	Br	CN	4.752	4.828
14	Br	OH	H	CN	5.033	5.030
15	Br	OH	Br	CN	5.633	5.539
16 [@]	Br	OMe	Br	CN	5.085	6.229
17	Br	H	NO ₂	CN	6.155	6.187
18	Br	OMe	NO ₂	CN	5.536	5.772
19	H	H	H	1H-tetrazol-5-yl	5.170	5.294
20 [@]	Br	H	Br	1H-tetrazol-5-yl	6.032	6.420
21	Br	OH	Br	1H-tetrazol-5-yl	7.167	7.638
22	Br	OMe	Br	1H-tetrazol-5-yl	5.851	6.337
23	Br	H	NO ₂	1H-tetrazol-5-yl	6.481	6.481
24	Br	OMe	NO ₂	1H-tetrazol-5-yl	5.575	5.550
25 [@]	Br	OMe	H	1H-tetrazol-5-yl	4.831	4.850
26	Br	OH	H	1H-tetrazol-5-yl	6.149	6.316
27	Br	OH	NO ₂	1H-tetrazol-5-yl	8.237	8.066
28	NO ₂	H	NO ₂	1H-tetrazol-5-yl	7.854	7.886

注: [@]代表测试集分子(6个分子)。

Note: [@] Represents the test set molecule (6 molecules).

随机选择22个配体分子组成训练集,其余6个分子作为测试集,根据配体分子的活性数据以及与其相对应的作用场的变化来进行PLS分析。使用留一交叉验证法(leave-one-out, LOO)对模型的预测能力进行验证。经过运算可以得到最佳组分数以及

交叉验证系数 q^2 ,其中:pEC₅₀值模型中,CoMFA柱滤值(column filtering value, σ)设置为1.0 kcal·mol⁻¹,CoMSIA柱滤值设置为0.5 kcal·mol⁻¹;pIC₅₀值模型中,CoMFA柱滤值(column filtering value, σ)设置为0.0 kcal·mol⁻¹,CoMSIA柱滤值设置为1.0

kcal · mol⁻¹。之后利用非交叉验证法 (non-validation) 进行生物活性数据预测。

表 2 训练集配体分子的 CoMFA 和 CoMSIA 模型数据参数

Table 2 The CoMFA and CoMSIA model data for training sets ligand molecules

		ONC	q ²	SE	r ²	作用贡献 Field attribution					Acc
						F	Ster	Eletr	Hydr	Don	
pEC ₅₀	CoMFA	4	0.559	0.382	0.887	33.236	0.821	0.179			
	CoMSIA	7	0.627	0.365	0.915	21.501	0.051	0.151	0.317	0.190	0.290
pIC ₅₀	CoMFA	5	0.600	0.375	0.903	29.855	0.677	0.323			
	CoMSIA	7	0.566	0.378	0.914	21.314	0.057	0.138	0.319	0.180	0.305

ONC: 最佳组分数。

ONC: optimal component number.

表 3 CoMFA 和 CoMSIA 模型测试集配体分子预测值和实验值比较

Table 3 Comparison of experimental and predicted value of the test sets ligand molecules for the CoMFA and CoMSIA models

	CoMFA			CoMSIA			CoMFA			CoMSIA	
	Actual pEC ₅₀	Predicted pEC ₅₀	Residual	Predicted pEC ₅₀	Residual	Actual pIC ₅₀	Predicted pIC ₅₀	Residual	Predicted pIC ₅₀	Residual	
2	4.869	4.797	0.072	4.749	0.120	4.878	4.746	0.132	4.769	0.109	
7	6.824	6.235	0.589	6.585	0.239	7.252	6.524	0.728	6.769	0.483	
11	4.669	4.276	0.393	4.179	0.490	4.669	4.056	0.613	4.128	0.541	
16	5.085	5.074	0.011	4.945	0.140	6.229	5.137	1.092	5.037	1.192	
20	6.032	6.262	-0.230	6.308	-0.276	6.420	6.614	-0.194	6.584	-0.164	
25	4.831	5.876	-1.045	5.189	-0.358	4.850	5.899	-1.049	5.425	-0.575	

2 结果与分析

2.1 分子叠合

使用 Database Align 这一自动叠合的方法,以活性最高的 27 号分子为叠合的模板,将 28 个配体分子的公共骨架叠加,叠合结果如图 2 所示。通过香豆素类配体分子的叠合结果可以看出,所有配体分子的公共部位均可叠合在一起,并且配体分子中的相似基团在进行叠合后的取向也大致相同。



图 2 配体分子叠合结果

Fig. 2 Ligand molecules superimposed results

2.2 CoMFA 模型

利用偏最小二乘法 (PLS) 进行分析,针对训练集中 22 个香豆素类化合物配体分子来建立 CoMFA 模型,结果如下:

(1) 根据 pEC₅₀ 值计算,组分数为 4 时,可以得到交叉验证系数为 q² = 0.559,非交叉验证系数为 r² = 0.887, F = 33.236,标准偏差 SE = 0.382 的模型,该结果表明本模型对配体分子的 pEC₅₀ 值的预测能力,基本上小于 1 个数量级,其中有个别的数据差别较大。可以看出,利用这些数据建立的 CoMFA 模型,其稳定性与预测能力较好(见表 2、表 3),实验值和预测值的线性关系如图 3 所示。

(2) 根据 pIC₅₀ 值计算,组分数为 5 时,可以得到交叉验证系数为 q² = 0.600,非交叉验证系数为 r² = 0.903, F = 29.855,标准偏差 SE = 0.375 的模型,该结果表明本模型对配体分子的 pIC₅₀ 值的预测能力,基本上小于 1 个数量级,其中有个别的数据差别较大。可以看出,利用这些数据建立的 CoMFA 模型,其稳定性与预测能力较好(见表 2、表 3),实验值和预测值的线性关系如图 4 所示。

2.3 CoMSIA 模型

使用 CoMSIA 这一分析方法对香豆素类化合物配体分子的训练集进行分析,可以得到具有显著统

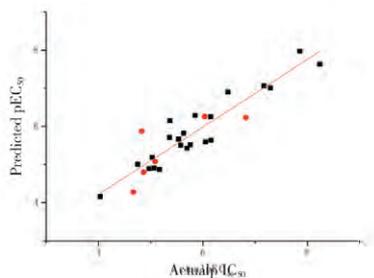


图3 CoMFA模型的 pEC_{50} 预测值和实验值的线性关系

Fig. 3 the CoMFA model linear relationship of the pEC_{50} predictive values and the experimental values

■训练集分子 ●测试集分子

■ Training set molecules ● Test set molecules

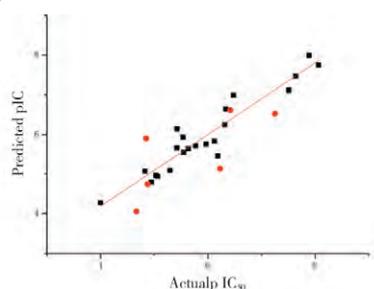


图4 CoMFA模型的 pIC_{50} 预测值和实验值的线性关系

Fig. 4 the CoMFA model linear relationship of the pIC_{50} predictive values and the experimental values

■训练集分子 ●测试集分子

■ Training set molecules ● Test set molecules

计学意义的模型, CoMSIA 的总体预测能力比 CoMFA 模型稍好。

根据 pEC_{50} 值计算, 组分数为 7 时, 可以得到交叉验证系数为 $q^2 = 0.627$, 非交叉验证系数为 $r^2 = 0.915$, $F = 21.501$, 标准偏差 $SE = 0.365$ 的模型, 说明 CoMSIA 的标准偏差比 CoMFA 的数值小, 而且预测能力更稳健。通过模型得到的香豆素类化合物配体分子 pEC_{50} 值的预测值同实验值间的残差值差异较小, 训练集预测值的残差值基本小于 1, 但是其中个别分子的预测残差值较大。实验值和预测值的线性关系如图 5 所示。

根据 pIC_{50} 值计算, 组分数为 7 时, 可以得到交叉验证系数为 $q^2 = 0.566$, 非交叉验证系数为 $r^2 = 0.914$, $F = 21.314$; 标准偏差 $SE = 0.378$ 的模型。通过模型得到的香豆素类化合物配体分子 pIC_{50} 值的预测值同实验值间的残差值差异比较小, 训练集预测值的残差值基本小于 1, 但其中个别分子的预测残差值比较大。实验值和预测值的线性关系如图 6

所示。

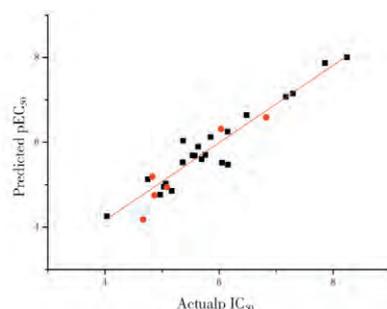


图5 CoMSIA模型的 pEC_{50} 预测值和实验值的线性关系

Fig. 5 the CoMSIA model linear relationship of the pEC_{50} predictive values and the experimental values

■表示训练集分子 ●表示测试集分子

■ Training set molecules ● Test set molecules

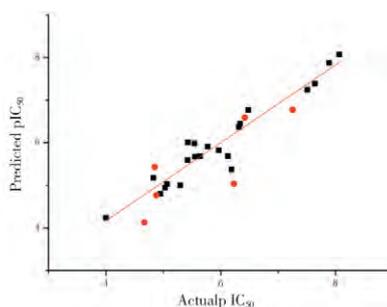


图6 CoMSIA模型的 pIC_{50} 预测值和实验值的线性关系

Fig. 6 the CoMSIA model linear relationship of the pIC_{50} predictive values and the experimental values

■表示训练集分子 ●表示测试集分子

■ Training set molecules ● Test set molecules

对数据进行整体分析, 可以看出通过运算而得到的 CoMSIA 模型具有较高的稳定性与优良的预测性能, 与此同时由于该模型可以为实验提供更多的相关场信息, 因此可把 CoMFA 模型与其相结合, 即两个模型共同来提供更有效、全面的有关于药物设计的信息。

2.4 3D-QSAR 模型图形解析

2.4.1 CoMFA 等势图

在本次实验中, 选取活性最高的 27 号配体分子作为参考分子分析 CoMFA 模型的立体场和静电场的等势图。

图 7 所示为 CoMFA 立体场和静电场等势图, 其中绿色的区域表示体积大的取代基有利于生物活性值提高, 黄色的区域表示取代基的体积大不利于活性值提高; 蓝色的区域表示正电荷增多有利, 红色的区域表示负电荷增多有利。针对半数有效浓度的目

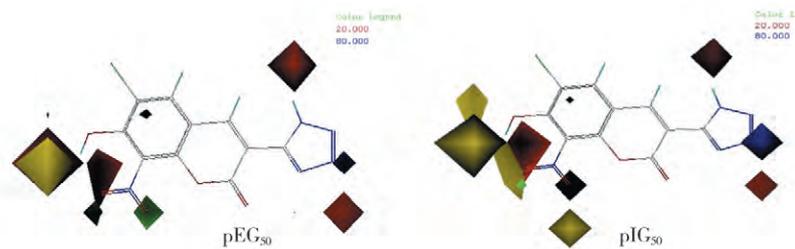


图 7 COMFA 立体场和静电场等势图

Fig. 7 COMFA steric field and electrostatic field graph

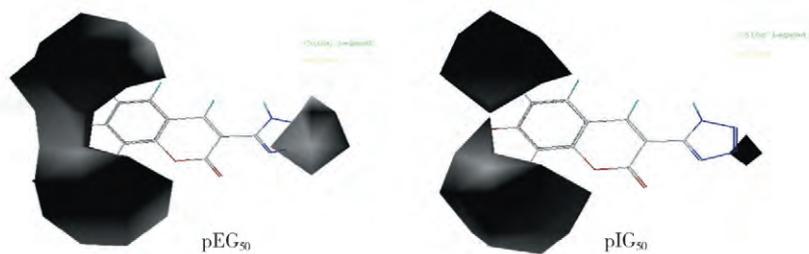


图 8 疏水场 (H) 等势图

Fig. 8 Hydrophobic field (H) graph



图 9 氢键供体 (A) 和氢键受体场 (D) 等势图

Fig. 9 Hydrogen bonding donor (A) and hydrogen bond acceptor field (D) graphics

标蛋白进行分析,可以在 R_2 位上引入体积较小的基团,如-F、-Cl、-Br等,以及在 R_3 位的左侧减小取代基的体积,也可以在右侧的末端增加支链来增大取代基的体积,比如用羧基来取代硝基,可以有效地提高配体分子的活性;另外可以在 R_2 和 R_3 的位置引入带负电荷的基团如-F、-Cl、-Br、-OH、-COOH等;在 R_4 四氮唑的3位引入带正电荷的基团,如加氢等方式,把双键氮变为单键氮,或者通过加成反应,在该位置引入 CH_3^+ 等带正电荷的基团,理论上可以提高配体分子的活性。针对半数抑制浓度的目标蛋白进行分析,可以在 R_2 和 R_3 左侧的位置上引入体积较小的基团,如-F、-Cl、-Br等,以及在 R_3 右侧的末端增加支链来增大取代基的体积,比如用羧基来取代硝基,可以有效地提高配体分子的活性;可以在 R_2 和 R_3 的位置带负电荷的基团如-F、-Cl、-Br、-OH、

COOH等;在 R_4 四氮唑的3位引入带正电荷的基团,如加氢等方式,把双键氮变为单键氮,或者在该位置通过加成反应,引入 CH_3^+ 等带正电荷的基团。

2.4.2 CoMSIA 等势图

同 CoMFA 模型来比较,CoMSIA 的结果展示更为全面,不仅有静电场(E)和立体场(S),而且有疏水场(H)、氢键受体(A)和氢键给体场(D)。

图8所示为疏水场(H)等势图,在疏水场中,黄色区域表示的是疏水作用对于活性来说更有利,白色区域则表示的是亲水作用对于活性来说更有利。针对半数有效浓度的目标蛋白进行分析,所有部位均是白色区域,这表明应该引入亲水的基团,如-OH、-COOH和-NH₂等基团。针对半数抑制浓度的目标蛋白进行分析,所有部位均是白色区域,这表明应该引入亲水的基团,如-OH、-COOH和-NH₂等基

团。

图9所示为氢键供体(A)和氢键受体场(D)等势图,在氢键受体和氢键供体场中,蓝绿色区域表示的是在配体分子中引入氢键供体的基团对于分子活性有利,紫色区域则表示的是在配体分子中引入氢键供体的基团对于分子活性不利;紫红色表示为增加氢键受体可以使配体分子的活性增强,红色则表示为过多的氢键受体会降低配体分子的活性。针对半数有效浓度的目标蛋白进行分析,R₁和R₄位可以适当的增多氢键受体,R₂和R₃位可以适当的引入氢键供体。针对半数抑制浓度的目标蛋白进行分析,R₄位可以适当的增多氢键供体,R₁、R₂和R₃位可以适当的引入氢键受体。

3 结论

综上所述,理论上可在以3-羧酸香豆素、3-氰基香豆素和3-(1H-四氮唑-5-)香豆素为母核的化合物的R₂和R₃位引入带负电荷的、体积较小的亲水基团如-Cl、-Br、-COOH、-OH等作为氢键供体,以及在R₁和R₄位引入带正电荷的、体积较大的基团如-NH₂、CH₃⁺等作为氢键受体可以得到生物活性较高的香豆素类化合物配体分子。香豆素类化合物目前被发现是潜在的GPR35受体的激动剂,本研究对优化作为GPR35受体激动剂的香豆素类化合物的分子结构提供理论参考,也为进一步设计结构新颖、高活性的GPR35受体激动剂提供理论指导。

参考文献

- O'Dowd BF, Nguyen T, Marchese A *et al.* Discovery of three novel G-protein-coupled receptor genes [J]. *Genomics*, 1998, 47: 310-313.
- Okumura S, Baba H, Kumada T *et al.* Cloning of a G-protein-coupled receptor that shows an activity to transform NIH3T3 cells and is expressed in gastric cancer cells [J]. *Cancer Sci* 2004, 95: 131-135.
- McCallum JE, Mackenzie AE, Divorcy N *et al.* G-Protein-Coupled Receptor 35 Mediates Human Saphenous Vein Vascular Smooth Muscle Cell Migration and Endothelial Cell Proliferation [J]. *J Vasc Res* 2016, 52: 383-395.
- MacKenzie AE, Lappin JE, Taylor DL *et al.* GPR35 as a novel therapeutic target [J]. *Front End (Lausanne)* 2011, 2: 68.
- Min KD, Asakura M, Liao Y *et al.* Identification of genes related to heart failure using global gene expression profiling of human failing myocardium [J]. *BBRC* 2010, 393: 55-60.
- Cosi C, Mannaioni G, Cozzi A *et al.* G-protein coupled receptor 35 (GPR35) activation and inflammatory pain: Studies on the antinociceptive effects of kynurenic acid and zaprinast [J]. *Neuropharmacology* 2011, 60: 1227-1231.
- Yoon MH, Choi JI, Bae HB *et al.* Lack of the nitric oxide-cyclic GMP-potassium channel pathway for the antinociceptive effect of intrathecal zaprinast in a rat formalin test [J]. *Neurosci Lett* 2005, 390: 114-117.
- Barth MC, Ahluwalia N, Anderson TJ *et al.* Kynurenic acid triggers firm arrest of leukocytes to vascular endothelium under flow conditions [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284: 19189-19195.
- Fallarini S, Magliulo L, Paoletti T *et al.* Expression of functional GPR35 in human iNKT cells [J]. *Biochem Bioph Res Co* 2010, 398: 420-425.
- Wang J, Simonavicius N, Wu X *et al.* Kynurenic acid as a ligand for orphan G protein-coupled receptor GPR35 [J]. *J Biol Chem* 2006, 281: 22021-22028.
- Vander Molen J, Frisse LM, Fullerton SM *et al.* Population genetics of CAPN10 and GPR35: implications for the evolution of type 2 diabetes variants [J]. *Am J Hum Genet* 2005, 76: 548-560.
- Sun YV, Bielak LF, Peyser PA *et al.* Application of machine learning algorithms to predict coronary artery calcification with a sibship-based design [J]. *Genet Epidemiol* 2008, 32: 350-360.
- Wei L, Wang J, Zhang X *et al.* Discovery of 2H-Chromen-2-one Derivatives as G Protein-Coupled Receptor-35 Agonists [J]. *Med Chem* 2017, 60: 362-372.
- Xu XJ (徐筱杰), Hou TJ (侯廷军). Computer-Aided Drug Design (计算机辅助药物分子设计) [M]. Beijing: Chemical Industry Press 2004. 1-537.
- Deng HY, Hu HB, Fang Y. Tyrphostin analogs are GPR35 agonists [J]. *FEBS Lett* 2011, 585: 1957-1962.
- Li X (李小奇), Cao HY (曹洪玉), Yu DY (于大永) *et al.* Study on the Structure-activity Relationship of 5 α -reductase Inhibited by Lignin in Plant [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)* 2016, 28: 643-649.
- Yu KN (于柯楠), Wu L (吴玲), Cao HY (曹洪玉). 3D-QSAR Studies on Benzoic Acid Agonists of GPR109B [J]. *GD Chem* 2016, 43 (05): 15-48.