

## 5,6-二芳基-2,3-二氢-1-吡咯里嗪酮类化合物 与环氧化酶的分子对接研究

赵丽琴<sup>1\*</sup>, 胡远东<sup>2</sup>, 袁越<sup>2</sup>, 张涛<sup>2</sup>, 张守芳<sup>1</sup>, 李松<sup>2</sup>

(1. 沈阳药科大学有机合成研究室, 辽宁 沈阳 110015; 2. 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

**摘要:** 目的 探讨 5,6-二芳基-2,3-二氢-1-吡咯里嗪酮类化合物的作用机制。方法 以化合物 ZZ-122 为例, 应用分子对接方法模拟化合物与环氧化酶-1(COX-1)和环氧化酶-2(COX-2)的作用。结果 从 ZZ-122 与 COX-1 和 COX-2 的结合模式, 形成复合物的分子间相互作用能及相应原子间形成氢键的能力表明, ZZ-122 易于与 COX-2 结合, 而不易与 COX-1 结合。结论 ZZ-122 可能是一个 COX-2 选择性抑制剂, 但尚需酶结合实验进一步验证。

**关键词:** 2,3-二氢-1-吡咯里嗪酮; 分子对接; 环氧化酶-1; 环氧化酶-2

中图分类号: R914.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2001)06-0415-04

随着环氧化酶(COX)二种不同亚型理论的提出, COX-2 选择性抑制剂已成为近年来非甾体抗炎药物(NSAIDs)研究的一个热点<sup>[1,2]</sup>。本室在长期从事 NSAIDs 研究基础上, 以抗炎镇痛活性化合物吡里酮为母体结构, 结合二芳基取代杂环类 COX-2 选择性抑制剂的结构特点和构效关系规律, 设计合成了一类新型吡里酮衍生物——5,6-二芳基取代吡里酮类化合物, 期望获得具 COX-2 特异作用的高效低毒新型抗炎镇痛剂。动物试验结果<sup>[3]</sup>表明, 该类化合物具有较好的抗炎镇痛活性。三维构效关系(3D-QSAR)研究<sup>[4]</sup>显示该类化合物的药效基团由吡里酮环 1 位羰基和 5,6 位取代苯环组成, 这一结果基本符合吡里酮自身作用特点及二芳基取代杂环类 COX-2 抑制剂活性结构需求, 提示该类化合物有 COX-2 特异作用的倾向。为证实上述假设, 本文基于已知 X-ray 晶体结构结果, 选取典型化合物 ZZ-122, 将该化合物与 COX 的两种不同亚型进行分子对接研究, 从对接后形成复合物的能量变化以及具体的结合模式来探讨化合物的作用机制。

### 实验方法

所有工作均在 SGI INDIGO XS24 图形工作站

收稿日期: 2000-08-14.

作者简介: 赵丽琴, 女, 博士后, 现址: 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850.

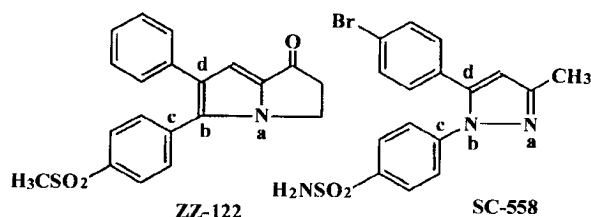
\* Tel: (010) 66931643, Fax: (010) 68212656,

E-mail: zhaolq-98@yahoo.com.cn

上应用分子模拟软件包 Insight II 2.3.0 (Biosym Inc., San Diego, CA) 完成。计算过程中除非特别指明, 所选用参数均为缺省值。

### 1 ZZ-122 与 COX-2 复合结构的构建

在 Insight II 工作平台用 Build 模块搭建 ZZ-122 的三维结构并进行能量优化。从 COX-2 与抑制剂 SC-558 复合晶体结构(PDB 编号: 6COX)<sup>[5]</sup>中抽提出 SC-558, 将优化后的 ZZ-122 与 SC-558 (下图) 按 a, b, c 和 d 4 个原子进行分子叠合, 以保证两者在 COX-2 结合腔中取向一致。去掉 SC-558, 得到 ZZ-122 与 COX-2 的初始复合结构。用 Discover 程序进行能量优化, 分两步进行: 固定 COX-2, 优化小分子 ZZ-122; 放开对以 ZZ-122 为中心 0.5 nm 内 COX-2 结构的约束, 使酶蛋白结构与小分子同时优化。优化方法为分子力学和分子动力学相结合, 即先用能量最陡下降法(steepest descends)在 CVFF 力场上进行 500 步的结构松弛计算, 再用共轭梯度法(conjugate gradient)进行 800 步的分子力学优化。为克服局域势垒, 对分子力学优化后的结构又进行 20 ps (1 ps = 10<sup>-12</sup> s) 的常温(300 K)分子动力学计算。所得结构再进行分子力学优化, 得 ZZ-122 与 COX-2 的稳定复合结构。



## 2 ZZ-122 与 COX1 复合结构的构建

从 COX-1 与抑制剂吲哚美辛复合晶体结构 (PDB 编号: 1PGG)<sup>[6]</sup> 中剥离出小分子配体吲哚美辛。将 COX-1 与 COX-2 (包括优化后的 ZZ-122) 进行序列联配, 确定其结构保守区。选择保守区对应一段残基, 按该段残基的 C<sub>α</sub> 原子叠合 COX-1 和 COX-2 (RMSD 值为 0.982)。去掉 COX-2 结构, 得到 ZZ-122 与 COX-1 的初始结构。该结构按上述同样方法进行能量优化, 得 ZZ-122 与 COX-1 的最后模拟结构。

## 结果与讨论

### 1 ZZ-122 与 COX1 和 COX2 的不同作用

COX 的两种异构形式 COX-1 和 COX-2 的同源性很高 (60%), 对花生四烯酸 (AA) 和 NSAIDs 也有相似的结合位点。但由于两种酶活性位点一些重要氨基酸残基结构的差异, 导致两者结合空穴的性质不同, 这是 COX-2 选择性抑制剂对 COX-2 产生特异性作用的结构基础<sup>[5]</sup>。

图 1, 2 为 ZZ-122 与 COX-2 和 COX-1 对接后小分子配体与酶的结合模式。由图 1, 2 可以看出, 在 COX-2 中, ZZ-122 是以“舒展”的方式结合于活性空穴中。COX-2 活性位点 Val523 残基周围存在两个腔, 分别容纳 ZZ-122 的 5 位甲磺酰基苯环和 6 位苯环, 整个分子以一个叉形的结构与 COX-2 结合。其中 5 位甲磺酰基苯环结合在由 Leu352, Val523, Tyr355, Phe518 和 Ser353 等残基的主肽链原子形成的疏水腔中, 甲磺酰基越过该疏水带, 伸展进入 COX-2 表面相对极性区, 与附近一些氨基酸残基发生作用, 如甲磺酰基的两个氧原子分别与 His90 和 Arg513 残基发生氢键作用; 6 位苯环则结合在由 Ala527, Gly526, Tyr385, Leu384 和 Trp387 等残基组成的空腔中, 彼此发生强的疏水性作用。上述作用对小分子配体 ZZ-122 与 COX-2 的稳定结合都是必需的。

在 COX-1 中, 由于 523 位 Ile 残基侧链较大的空间位阻, 造成 ZZ-122 与结合区域部分氨基酸残基的过近接触, 引起较大的排斥作用, 导致 ZZ-122 分子失去平面性而严重扭曲变形。这一结果表明小分子配体 ZZ-122 难以进入 COX-1 活性部位, 两者无稳定结合。

表 1 为 ZZ-122 对接 COX-2 和 COX-1 后小分子与酶之间的相互作用能, 包括范德华能和静电能。

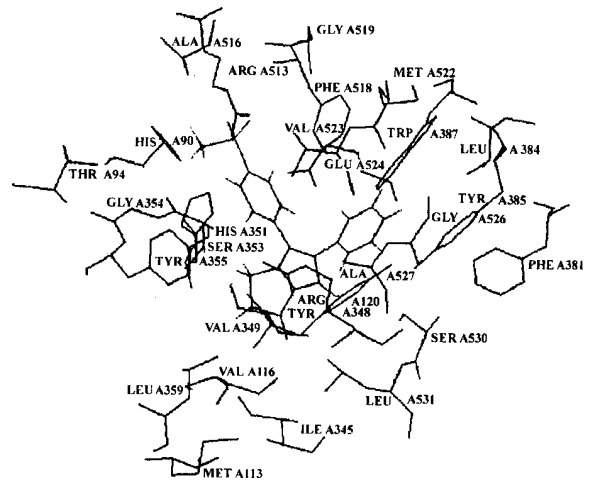


Fig 1 Docked ZZ-122 - COX-2 complex, only those amino acid residues in 0.5 nm sphere of ZZ-122 are shown

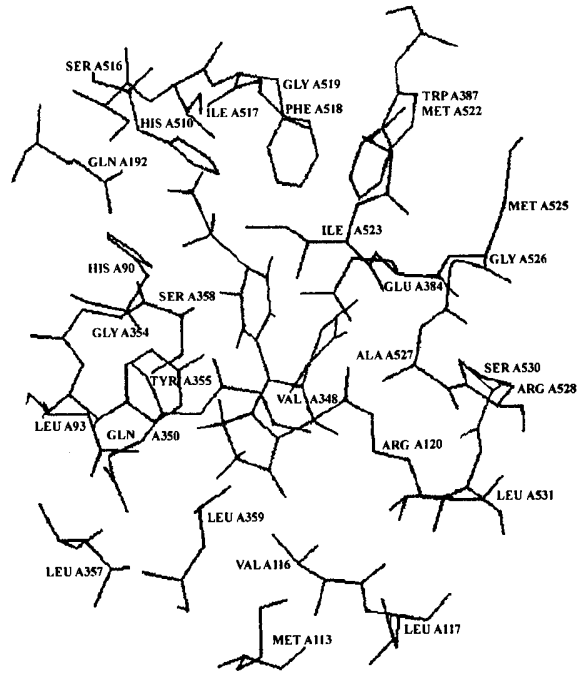


Fig 2 Docked ZZ-122 - COX-1 complex, only those amino acid residues in 0.5 nm sphere of ZZ-122 are shown

该能量反映了小分子配体与酶之间结合的难易程度, 相互作用能越小, 表明配体和酶越容易结合, 形成复合物越稳定。ZZ-122 对接 COX-2 后, 以稳定的低能状态存在, 小分子与酶之间呈现强的相互吸引作用。从 ZZ-122 结构中甲磺酰基的两个氧原子与附近氨基酸残基 His90 和 Arg513 形成氢键的原子间的距离  $d_1 = 0.30 \text{ nm}$ ,  $d_2 = 0.32 \text{ nm}$  也可看

出,小分子和酶之间可形成较强的氢键作用,从而加强了两者的优先结合。ZZ-122 对接 COX1 后,造成不合理的能量变化,小分子和酶之间存在大的张力,说明这种结合是不合理的。相应原子之间的距离  $d_1 = 0.456 \text{ nm}$ ,  $d_2 = 0.70 \text{ nm}$  也说明小分子 ZZ-122 与 COX1 酶间的相互吸引作用甚弱,不易结合。

Tab 1 Intermolecular energy and H bond distance of the docked complex

Enzyme	Intermolecular energy			Distance / nm	
	VDW <sup>a</sup>	Elect <sup>b</sup>	Total	$d_1$ (His90)	$d_2$ (Arg513)
COX1	300.21	1.50	301.70	0.46	0.70
COX2	-66.52	-1.89	-68.40	0.30	0.32

<sup>a</sup>VDW is Van der Waals energy, <sup>b</sup>Elect is electrostatic energy

由以上对接结果不难看出,化合物 ZZ-122 从结合模式、与酶间相互作用能量以及相应原子与酶表面极性氨基酸残基形成氢键能力的强弱等方面都倾向于与 COX2 酶的优先结合,而不易与 COX1 结合,从理论上证实了前言部分提出的假设,即该化合物可能是 COX2 选择性抑制剂,但该结论尚需酶结合实验进一步验证。

由于 COX1 和 COX2 活性位点个别氨基酸残基的结构差异造成了化合物 ZZ-122 对两种酶结合作用的不同,主要表现在个别氨基酸残基 523 位。在 COX2 中,523 位为 Val 残基,该残基在 Val434 及 Arg513 的辅助作用下,与周围其他氨基酸残基 Tyr355, Ser353, Leu352 和 Phe518 形成一个体积较大的疏水性空穴,当该空穴与适当体积配体(如 ZZ-122 结构中 5 位甲磺酰基取代苯环)相匹配时,通过配体与酶之间的空间及电性互补作用,实现配体对酶的特异性抑制作用。在 COX1 中,尽管也有相似的空穴,但由于 523 位 Ile 残基侧链较大的空间体积,使得该残基与周围其他氨基酸残基 Tyr355, Ser353, Leu352 及 Phe518 等形成的结合腔容积缩小,抑制剂分子不易进入,上述 ZZ-122 与 COX1 的对接结果便说明了这点。

## 2 ZZ-122 1 位羰基与 COX2 的作用

从前文<sup>[4]</sup>构效关系分析已知,在 5,6-二芳基取代吡里酮类化合物中,吡里酮环 1 位羰基是构成化合物抗炎活性的重要药效基团,本文就化合物 ZZ-122 结构中该基团与 COX2 的相互作用进行了考察。从 ZZ-122 与 COX2 对接结果可以看出,由于

该基团上氧原子较高的  $\pi$  电子密度,可能与附近氨基酸残基 Arg120 氮上氢原子形成氢键,距离为  $0.38 \text{ nm}$ ,而这一氢键作用可能增强了整个化合物分子与 COX2 的亲合作用(图 3),但该作用相对较弱。

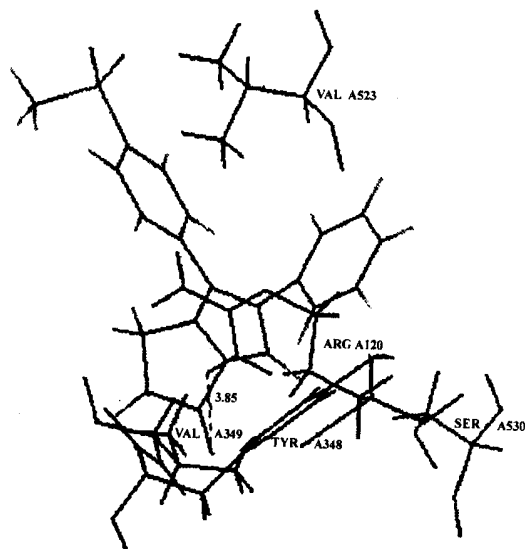


Fig 3 Interaction of the carbonyl group in ZZ-122 with a amino acid residue around it in COX2

由于吡里酮本身是一个具有较强抗炎镇痛活性的化合物,因此,不能排除该基团对标题化合物抗炎活性呈现显著贡献的其他作用方式,这可能与吡里酮自身的作用机制有关。

药物发挥生物活性必须与特定的受体或酶结合,这种结合要满足空间和电性的互补性及适配性。药物和受体相互作用的研究对于深刻理解化合物作用的本质,合理进行药物分子设计具有指导意义。分子对接研究是近几年发展起来的一门新兴学科,是通过计算机辅助手段,基于药物与受体复合物的能量计算,推测药物与受体最佳结合方式的一种计算方法,是基于结构进行合理性药物设计(structure-based rational drug design)的重要手段。本文在化合物作用机制未知的情况下,应用分子对接方法从理论上预测了化合物可能的作用机理,尽管所得结论尚需实验加以确证,但该研究丰富了吡里酮类化合物的研究内容,具有一定的理论指导和方法学意义。

致谢:军事医学科学院毒物药物研究所合成研究室提供了图形工作站及所需软件。

## REFERENCES:

- [1] Vane JR, Botting RM. New insights into the mode of action of anti-inflammatory agents [J]. *Inflamm Res*, 1995, **44**(1): 1 - 10.
- [2] Reitz DB, Li JJ, Norton MB, *et al.* Selective cyclooxygenase inhibitors: novel 1,2-diarylcyclopentenes are potent and orally active COX-2 inhibitors [J]. *J Med Chem*, 1994, **37**(23): 3878 - 3881.
- [3] Zhao LQ, Yang Z, Zhang SF. 5,6-Diaryl-2,3-dihydro-1-pyrrolizone derivatives synthesis and antiinflammatory and analgesic activities [J]. *Acta Pharm Sin* (in Chinese), 2001, **36**(4): 258 - 261.
- [4] Zhao LQ, Yuan Y, Hu YD, *et al.* 3D-QSAR of antiinflammatory activities of 5,6-diaryl-2,3-dihydro-1-pyrrolizone derivatives [J]. *Acta Pharm Sin* (in Chinese), 2001, **36**(5): 343 - 346.
- [5] Kurumbail RG, Stevens AM, Gierse JK, *et al.* Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents [J]. *Nature*, 1996, **384**(6610): 644 - 648.
- [6] Loll PJ, Picot D, Ekabo O, *et al.* Synthesis and use of iodinated nonsteroidal antiinflammatory drug analogs as crystallographic probes of the prostaglandin H<sub>2</sub> synthase cyclooxygenase active site [J]. *Biochemistry*, 1996, **35**(23): 7330 - 7340.

## STUDIED ON DOCKING OF 5,6-DIARYL-2,3-DIHYDRO-1-PYRROLIZINONE DERIVATIVES WITH CYCLOOXYGENASE

ZHAO Li-qin<sup>1</sup>, HU Yuan-dong<sup>2</sup>, YUAN Yue<sup>2</sup>, ZHANG Tao<sup>2</sup>, ZHANG Shou-fang<sup>1</sup>, LI Song<sup>2</sup>

(1. *Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110015, China*; 2. *Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China*)

**ABSTRACT:** **AIM** To theoretically explore the mechanism of action of 5,6-diaryl-2,3-dihydro-1-pyrrolizone derivatives. **METHODS** The interactions of the compound **ZZ-122** with cyclooxygenase-1 (COX-1) and cyclooxygenase-2 (COX-2) were modeled by docking method. **RESULTS** According to the binding pattern, intermolecular energy and capacity to form H-bond, it was easy for **ZZ-122** to bind to COX-2 and not easy to COX-1. **CONCLUSION** Compound **ZZ-122** may be a selective COX-2 inhibitor, which has to be confirmed by experiment.

**KEY WORDS:** 2,3-dihydro-1-pyrrolizone; docking; COX-1; COX-2