

靶向金属酶的金属结合药效基团研究进展

李根, 宁香丽, 李国波*

(四川大学华西药学院药物化学系, 四川 成都 610041)

[摘要] 金属酶广泛存在于各种生物体, 与人类疾病发生发展密切相关, 是一大类重要的药物作用靶标。尽管已有若干靶向金属酶抑制剂批准用于临床, 但大多数金属酶还缺乏特异性药物分子或尚未开发, 靶向金属酶的创新药物研究仍然是目前重要研究领域之一。鉴于金属酶活性位点含金属离子的特殊性, 金属酶抑制剂通常包含与活性位点金属离子形成配位的金属结合药效基团 (MBP)。通过对挖掘的 MBP 数据进行归类总结, 列举部分经典与少见的 MBP 类型, 并分析羟肟酸类、巯基类、咪唑类、儿茶酚类和吡啶类 MBP 对金属酶的选择性和杂泛性, 期望能为靶向金属酶的创新药物研究提供线索和借鉴。

[关键词] 金属酶; 金属结合药效基团; 杂泛性; 金属酶选择性; 金属酶药物关联信息

[中图分类号] R914 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2020) 09-0667-14

Recent Advances in Metal Binding Pharmacophores Targeting Metalloenzymes

LI Gen, NING Xiangli, LI Guobo

(Department of Medicinal Chemistry, West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] Metalloenzymes are widely distributed in a variety of organisms, and closely related with human diseases, which are hence considered as a wide range of important drug targets. Although several inhibitors targeting metalloenzymes have been approved for clinical use, there are still a lack of drug candidates or high-quality inhibitors for most metalloenzymes, of which even many have not been exploited. Discovery of novel drugs targeting metalloenzymes is still one of the important fields. Due to the distinctiveness of metal ion-containing active sites of metalloenzymes, the metalloenzyme inhibitors often bear a specific chemical moiety that is positioned to coordinate with active site metal ions, which is termed metal-binding pharmacophore (MBP). This review summarizes the MBP data extracted from metalloenzyme-ligand interaction analyses, enumerates some classic MBPs, and analyzes the metalloenzyme selectivity of hydroxamic acid, thiol, imidazole, catechol and pyridine MBPs. The information will provide clues and reference for future innovative drug discovery targeting metalloenzymes.

[Key words] metalloenzyme; metal binding pharmacophore; promiscuity; metalloenzyme selectivity; metalloenzyme-ligand association

金属酶是指活性位点含有一个或多个功能必需的金属离子的酶, 自然界中约 1/3 的酶可被归类为金属酶^[1]。金属酶广泛存在于人体, 在包括信号转导、表观遗传调节、免疫调节、蛋白质分子合成降解等几乎所有生命过程中都发挥着重要作用, 其过量表达或活性异常往往会引起人类疾病的发生发展。也有部分金属酶存在于病毒、细菌等病原微生物中, 是引发感染性疾病的关键因素^[1]。随着人们对金属酶在疾病中角色的认识不断加深, 金属酶被作为一

大类有潜力的药物作用靶标, 成为了创新药物研发的重要领域之一。截至目前, 已有超过 60 种靶向金属酶的小分子抑制剂获得美国 FDA 的批准, 用于肿瘤、心血管、皮肤炎症、哮喘、病毒感染等疾病的治疗^[1-2]。目前还有大量针对新验证金属酶靶标的抑制剂正处于临床前和临床开发阶段^[3-4]。尽管靶向金属酶药物研发取得了一定研究进展, 但目前成功开发的金属酶靶标与实际具有药理活性的金属酶靶标的数量仍相差甚远, 这不仅说明了靶向金属酶的药物研发还有巨大空间, 也反映了特异性靶向金属酶的药物研究难度较大, 还可能存在一定的知识缺口。

由于金属酶的含金属离子活性位点的特殊性, 金属酶小分子抑制剂通常会涉及与活性位点金属离子的作用, 例如, 与金属离子配位结合, 剥离金属离子, 置换金属离子或破坏金属离子结合位

接受日期: 2020-07-10

项目资助: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81874291); 四川省国际合作项目 (No. 2018HH0100)

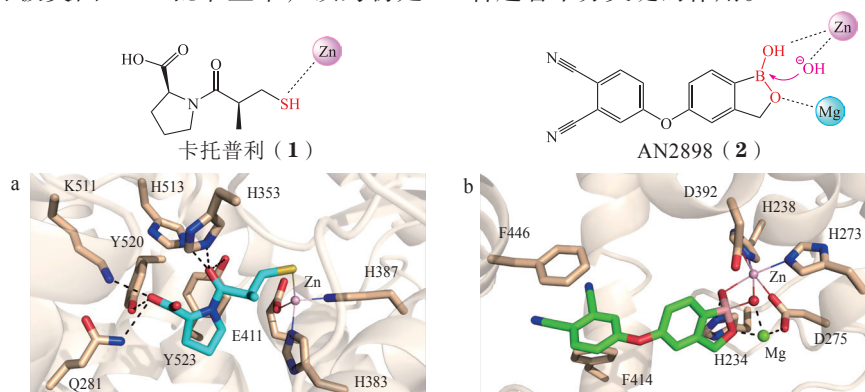
*** 通讯作者:** 李国波, 副教授, 博士生导师;

研究方向: 药物设计与药物发现;

Tel: +028-85503235; **E-mail:** liguobo@scu.edu.cn

点等^[5]。现有大多数靶向金属酶的药物分子都包含与活性位点金属离子形成配位结合的化学骨架或片段, 本文将其称为金属结合药效基团 (metal binding pharmacophore, MBP)。例如, 1981 年美国 FDA 批准上市的卡托普利 (1), 通过其巯基作为 MBP, 与血管紧张素转化酶 (ACE) 活性位点 Zn (II) 形成配位结合, 抑制其催化活性 (见图 1a)^[6]。又如, 抗皮疹含硼原子药物 crisaborole 于 2016 年 12 月被美国 FDA 批准上市, 该药物是

一个新型的非甾类磷酸二酯酶 4 (PDE-4) 抑制剂, 其环硼酸酯为关键 MBP, 其类似物为 AN2898 (2), 其与 PDE-4 的作用模式 (PDB ID: 3O0J) (见图 1b)。一方面环硼酸酯会与 PDE-4 活性位点 Zn (II) 和 Mg (II) 配位结合, 另一方面其硼原子也会受到 Zn (II) 激化的具有亲核能力的水分子进攻, 从而使硼原子由 sp² 杂化转变为 sp³ 杂化 (见图 1b)^[7]。由此可见, MBP 对金属酶抑制剂的结合起着十分关键的作用。



a: 卡托普利与 ACE 的作用模式 (PDB ID: 1UZF); b: crisaborole 类似物 AN2898 与 PDE-4 的作用模式 (PDB ID: 3O0J); 蓝色化合物表示卡托普利, 绿色化合物表示 crisaborole 类似物 AN2898, 黄色分子表示金属酶结构, 黑色虚线表示可能存在的氢键相互作用或金属配位作用

图 1 卡托普利与 ACE 的作用模式及 crisaborole 类似物 AN2898 与 PDE-4 的作用模式

Figure 1 Captopril and its binding mode with ACE and AN2898, an analogue of crisaborole, and its binding mode with PDE-4

MBP 作为靶向金属酶的关键药效团, 在药物分子设计时, 既要考虑其对目标作用靶标的结合能力, 又要考虑对其他金属酶的选择性, 因而对 MBP 的选择显得尤为重要。尽管已经有许多文章提及 MBP 的重要作用, 也总结了一些常见的 MBP, 例如羧基、巯基、硫醇等, 但鲜有关于 MBP 的较全面分析和总结。本文对本课题组挖掘的 MBP 数据进行了归类总结, 列举了部分经典与少见的 MBP, 分析了对金属酶的选择性和杂泛性, 期望能为靶向金属酶的药物研发提供线索和借鉴。

1 金属结合药效基团

为了较全面地总结金属结合药效基团, 我们筛选并分析了 PDB 数据库中 6 590 个金属酶-配体复合物结构 (截至 2020 年 1 月 1 日), 共涉及到 1 480 余种金属蛋白酶和 3 860 余种小分子配体。通过观察有 4 272 个复合物 (约 65%) 的小分子配

体与活性位点金属离子形成配位作用; 通过挖掘这些复合物结构中参与金属配位作用的功效基团片段, 即 MBP, 总结出 485 种不同结构的 MBP。这些 MBP 中参与金属配位的极性原子, 主要包括 O、N、S、C 和 F 原子等, 其中 O 和 N 最为常见, 分别占 58.03% 和 34.31% (见图 2a)。不同极性原子参与配位的金属离子种类也存在差异。O 和 N 原子可与绝大多数金属酶中的金属离子形成配位作用; 与 S 原子配位的金属离子种类也较多, 主要集中在 Zn (II)、Fe (II)、Co (II)、Ni (II) 等; 也有少数 MBP 通过 C、F 和 Se 原子参与金属离子配位, 但结合的金属离子种类很少 (见图 2b)。在所有 MBP 配位的金属离子的分布中, Zn (II) 和 Mn (II) 是最多的, 两者超过了总数的一半; 与 Fe (II) 和 Mg (II) 的配位也很常见, 分别占 14.47% 和 14.26%; 其他比较少见的金属离子, 如 Ca (II)、Co (II)、Ni (II)、Na (I)、Cu (II) 等, 约

占总数的 20% (见图 2c)。

根据与金属离子配位方式, 我们观察到大多数 MBP 是以单齿或双齿的方式与金属离子配位。其中单齿 MBP 有 274 个 (占 56.49%), 双齿 MBP 有 196 个 (占 40.41%), 而多齿 MBP 仅有 15 个 (3.09%)。图 3 列举了一些具有代表性的单齿和双齿 MBP。通过分析 MBP 与其作用金属酶关系, 发现有 206 个 MBP (42.47%) 可与 2 个以上金属酶靶点结合, 有 75 个 MBP 与 5 个以上的金属酶作用。这反映了

MBP 可作为连接不同金属酶之间的重要纽带, 也说明了不同金属酶抑制剂的 MBP 可以相互借鉴。另外, 我们还关注到, 有 36 种 MBP 可与 10 种以上的金属酶结合, 其中单磷酸、二磷酸和异羟肟酸这 3 种 MBP 可作用于百余种金属酶 (见图 2d)。MBP 与金属酶靶点之间的对应关系, 启示我们在金属酶的抑制剂设计过程中, 可参考已有的配位模式来选择合理的、有效的 MBP, 但同时也要警惕可作用于多靶点的 MBP 带来的杂泛性和干扰性。

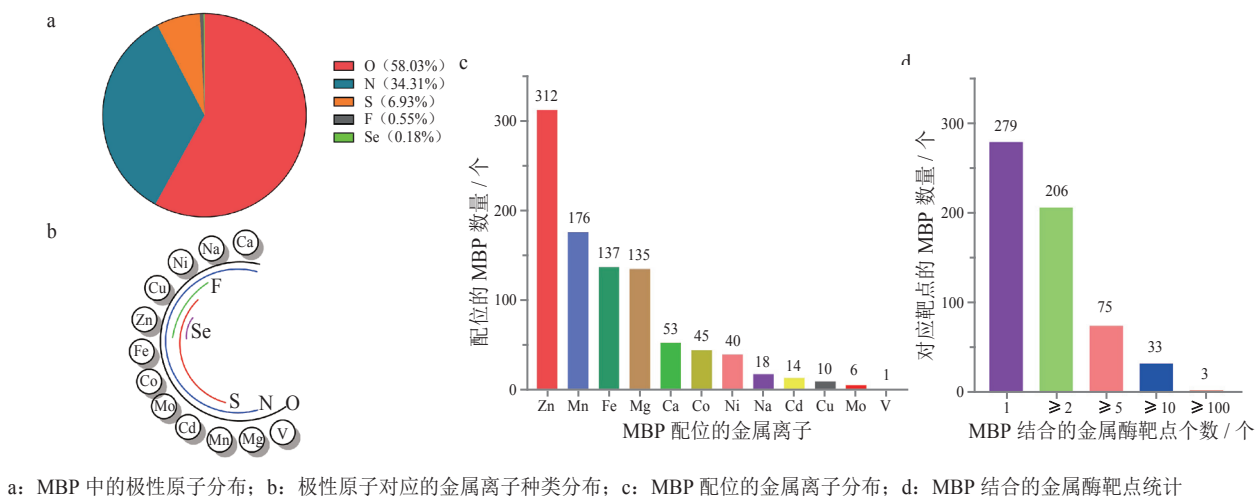


图 2 挖掘的 MBP 统计数据

Figure 2 Statistical data of summarized MBPs

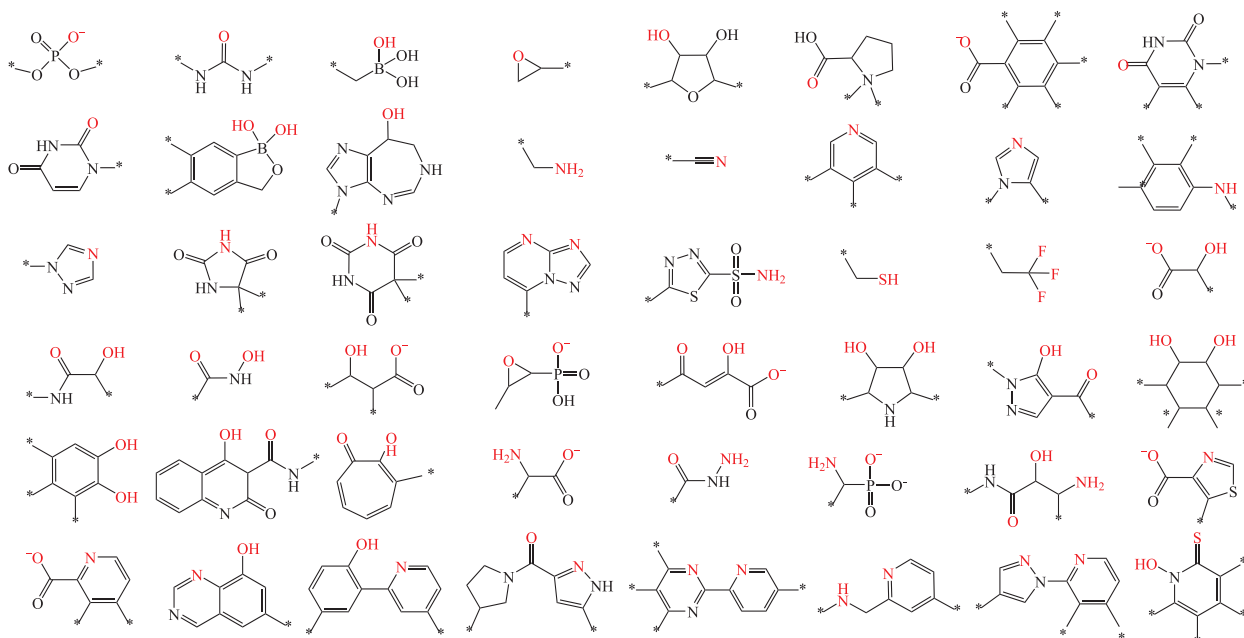


图 3 部分代表性的单齿和双齿 MBPs

Figure 3 Some representative monodentate and bidentate MBPs

此外,通过分析这些 MBP 与金属酶活性位点的作用模式,我们发现 MBP 与金属离子形成配位结合时也需要恰当的距离、方向和角度,类似于氢键特征。这些 MBP 作为靶向金属酶的一个关键的药效基团,在药物设计时,具有很好的参考价值。为了更好地分享这些信息,我们曾搭建了一个免费在线服务平台,称作 MeLAD (<https://melad.ddtmlab.org>),支持综合信息查询和可视化查看 MBP 及关联信息^[8]。该平台开放以来,受到了全球超过 30 个国家研究人员的使用和关注,并得到了积极的反馈。我们将持续更新数据,完善功能,使 MeLAD 更有助于靶向金属酶的药物发现。

2 金属结合药效基团的选择性与杂泛性

2.1 异羟肟酸类

异羟肟酸是金属酶抑制剂中最常见的 MBP 之一,通常由其羰基和肟基氧原子与活性位点金属离子,如 Zn (II)、Mg (II)、Ni (II)、Fe (II) 等,形成双齿配位作用。例如,已上市抗肿瘤药物 vorinostat (**3**)、belinostat (**4**) 和 panobinostat (**5**) 均为广谱组蛋白脱乙酰酶 (histone deacetylases, HDAC) 抑制剂,包含链状异羟肟酸,与 HDAC 狭长活性位点形状互补,且能与活性位点底部的 Zn (II) 配位。而 nexturastat A (**6**) 也以异羟肟酸为 MBP,是一种选择性 HDAC6 抑制剂^[9]。如图 4a 所示,广谱抑制剂通常以双齿配位活性位点的 Zn (II),羰基氧取代原本酶中与 Zn (II) 结合水分子。而化合物 **6** 的侧链较短,在空间上会阻碍异羟肟酸向 Zn (II) 靠近,未取代原本的水分子,仅通过羰基氧原子与 Zn (II) 形成单齿配位。此外,化合物 **6** 与 HDAC6 的 L1 loop 形成了更好的相互作用,从而揭示了其高选择性^[10]。

另一类有潜力的抗肿瘤金属酶靶标,基质金属蛋白酶家族 (matrix metalloproteinase, MMP),主要负责降解细胞外基质中的多种蛋白成分,破坏肿瘤细胞侵袭的组织学屏障,在肿瘤侵袭转移中起关键性作用。MMP 存在多种亚型,它们之间既有相似金属位点特征,也有不同 S1' 结合口袋 (见图 4b)^[11]。例如,化合物 **7** 和 **8** 包含较复杂的侧链,

可作用于拥有较大 S1' 活性口袋的 MMP13^[12-13];与化合物 **7** 相比,化合物 **8** 的侧链更小,对 S1' 活性口袋稍小的 MMP1 (含 Arg214) 也有较好的抑制活性。化合物 **9** 和 **10** 对 S1' 口袋较狭窄的 MMP9 和 MMP12 有较高的抑制活性 (见图 4b)^[14-15]。尽管这些抑制剂均含有异羟肟酸,但可根据 MMP 亚型 S1' 口袋特征,研发具有亚型选择性的抑制剂。

异羟肟酸也被广泛用于靶向单核 Zn (II) 依赖的细菌金属酶,包括肽脱甲酰基酶 (PDF)、乙酰聚胺酰胺水解酶 (APAH) 和葡糖脱乙酰基酶 (LpxC) 等,它们分别在细菌新生多肽中的脱甲酰基化、乙酰聚胺的去乙酰化和脂质生物合成途径中发挥着重要作用^[16-18]。尽管 PDF 抑制剂 **11** ($K_i = 13 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、APAH 抑制剂 **12** ($\text{IC}_{50} = 0.39 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 LpxC 抑制剂 **13** ($\text{IC}_{50} = 1.5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$),都是通过异羟肟酸与活性位点 Zn (II) 配位结合,但骨架结构的不同实现了与靶标的选择性结合。最近报道的炭疽杆菌致死因子酶 (LF) 也有异羟肟酸类抑制剂,如化合物 **14** ($\text{IC}_{50} = 1.7 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[19]。此外,异羟肟酸也可以靶向其他重要的单核金属酶靶标,例如抗骨性关节炎靶点解聚素 ADAMTS-5 抑制剂 **15** ($\text{IC}_{50} = 106 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$),抗类风湿性关节炎和银屑病靶点解聚素 ADAM17 抑制剂 **16** ($K_i = 0.2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$),抗 II 型糖尿病靶点胰岛素降解酶 (IDE) 抑制剂 **17** ($K_i = 1.7 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$),抗疟疾靶点 M1 氨肽酶抑制剂 **18** ($K_i = 0.81 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),肉毒杆菌合成的神经毒素 (BoNT) 抑制剂 **19** ($K_i = 6.3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[20-24] 等。异羟肟酸也可作用于双核 Zn (II) 的酶。例如,抗疟疾型靶点 M17 氨肽酶抑制剂 **20** ($K_i = 14 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 是通过异羟肟酸与其中一个 Zn (II) 形成双齿配位,而肟基氧原子与另一个 Zn (II) 形成单齿配位^[25]。

尽管异羟肟酸可融入不同骨架结构金属酶抑制剂,实现对目标金属酶的选择性,然而部分抑制剂也存在脱靶的风险。例如,化合物 **21** 既是一种 MMP 广谱纳摩尔级抑制剂,也对 ADAM 等其他 Zn (II) 依赖酶有抑制活性^[26-31];化合物 **22** 对 PDF、ePepN 和 TldD 等不同的金属酶靶点都具有抑制活性^[32-33]。因此,使用异羟肟酸作为 MBP 设计抑制剂,也应警惕潜在的脱靶效应。

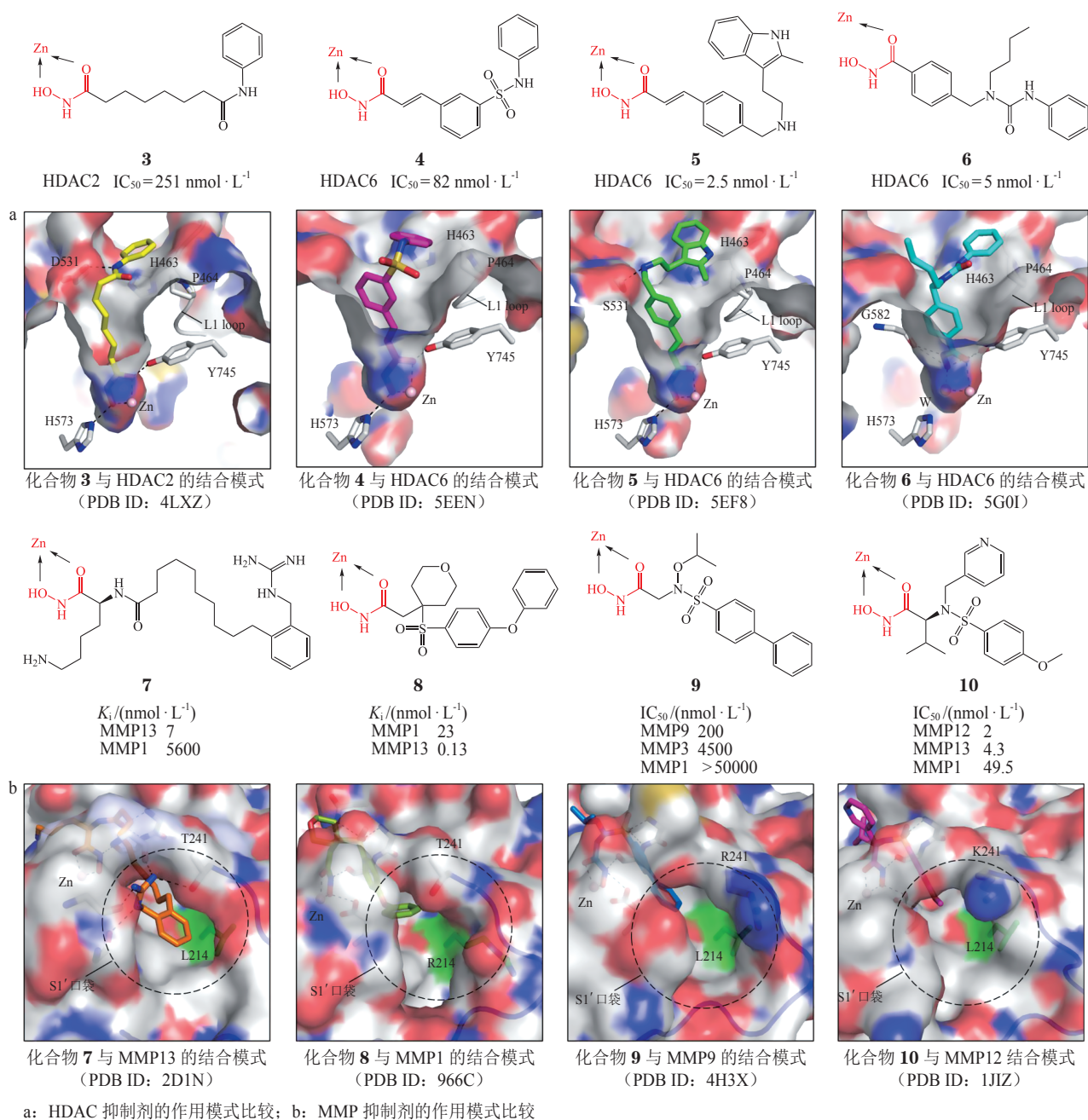


图4 HDAC与MMP的典型羟肟酸抑制剂的化学结构与结合特征

Figure 4 Chemical structures and binding features of typical hydroxamic acid inhibitors of HDAC and MMP

2.2 巯基类

巯基也是被广泛应用于靶向金属酶的MBP,与含Zn(II)和Fe(II)的金属酶结合的报道最多。如前所述,经典降血压药卡托普利(1)是以巯基为MBP,通过模拟ACE的底物作用,与活性位点Zn(II)离子配位结合,实现对ACE的底物竞争性抑制作用^[34]。卡托普利又被陆续重定位于其它Zn(II)

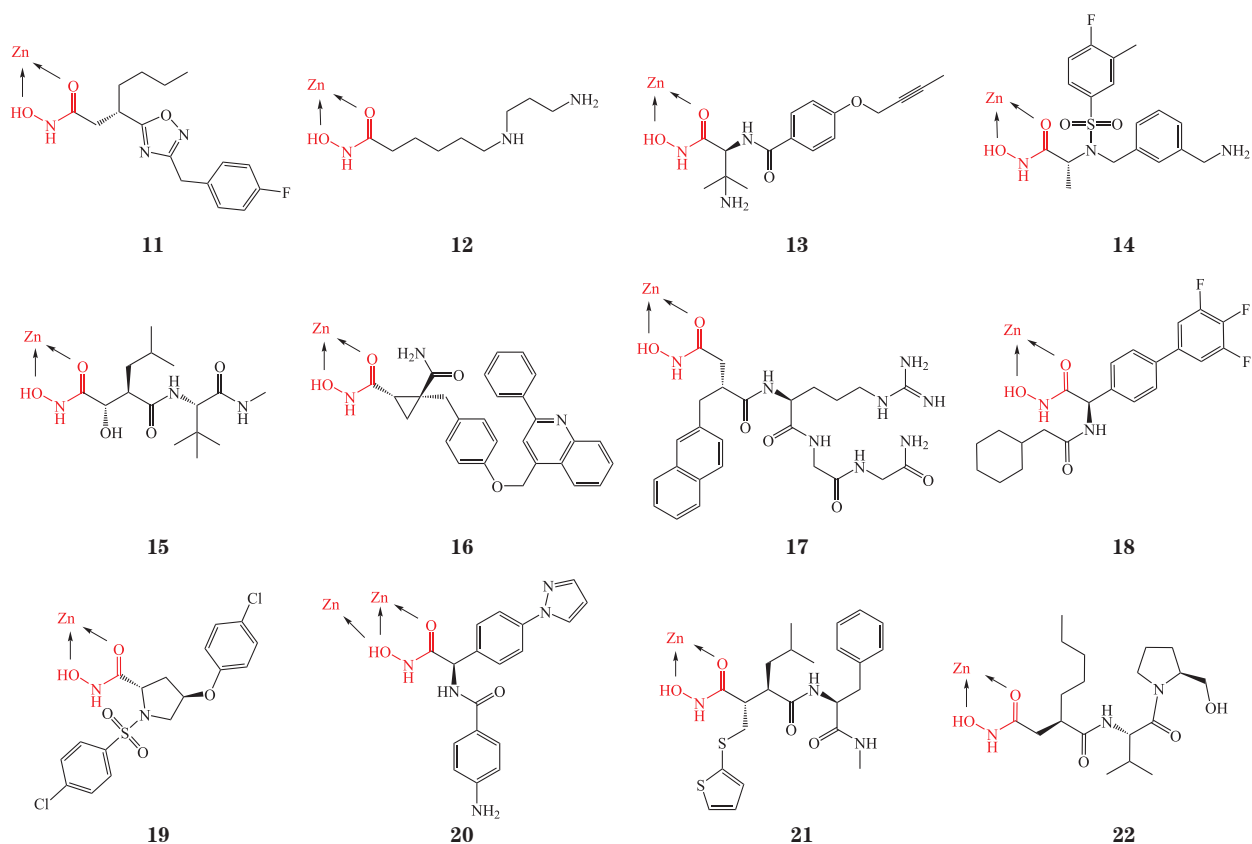
依赖的金属酶,例如白三烯A4水解酶(LTA4H, $K_i=6.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、脑膜炎双球菌N-琥珀酰-L,L-二氨基庚二酸脱羧酶(NmDapE, $K_i=2.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)以及引起 β 内酰胺类抗生素耐药的金属 β 内酰胺酶(metallo- β -lactamase, MBL)如VIMs(verona integron-encoded metallo- β -lactamases)、NDMs(new delhi metallo- β -lactamases)和IMPs(imipenemases)

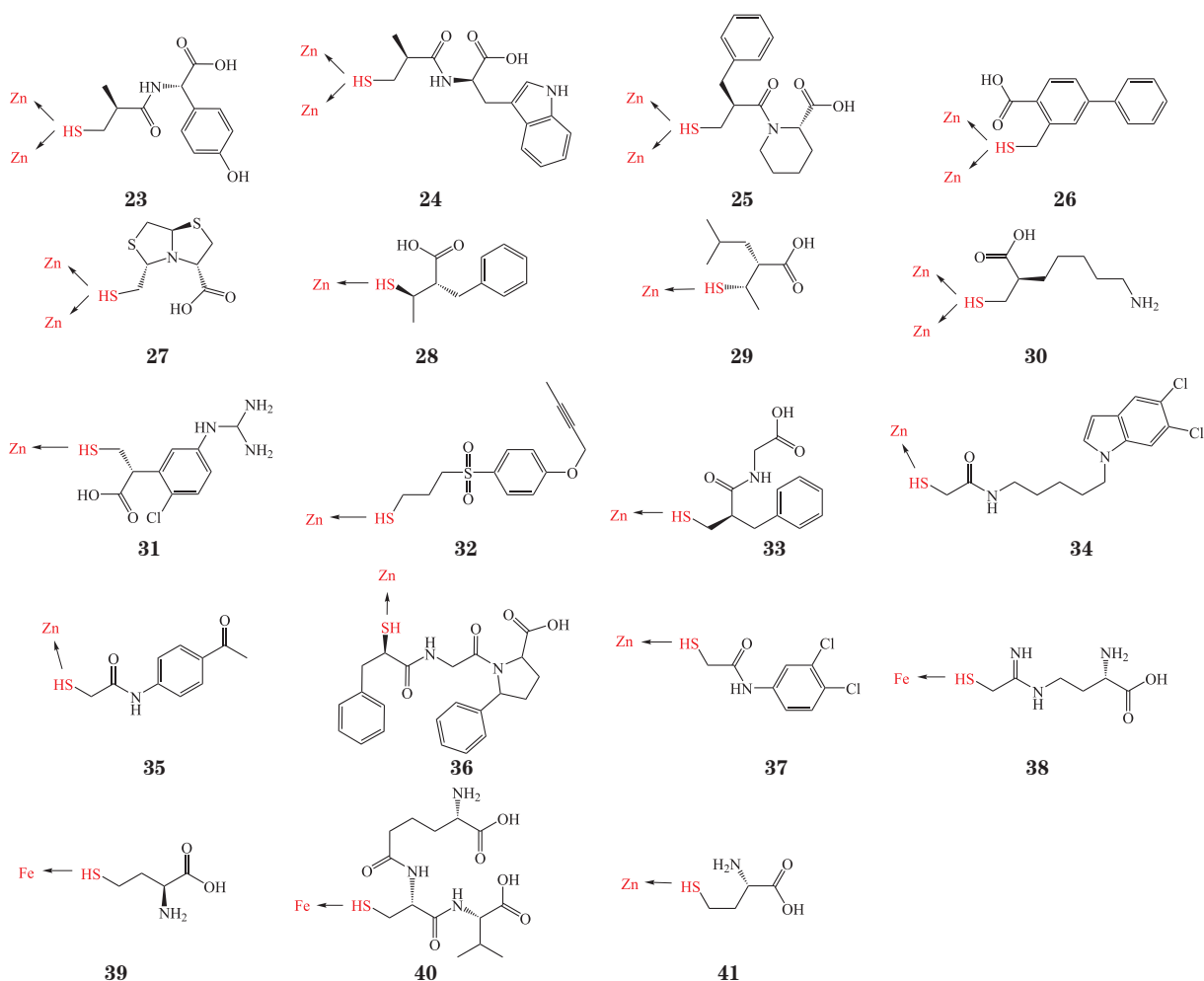
等^[35-38]。本课题组曾通过 MBP 骨架跃迁或药效团融合策略, 获得了多个卡托普利的类似物作为广谱的 MBL 和 / 或丝氨酸类 β 内酰胺酶 (SBL) 抑制剂, 如化合物 **23** 和 **24**^[39-41]。也有不少其他报道的广谱 MBL 抑制剂中含巯基, 如化合物 **25~27** 等^[42-44]。与 ACE 酶活性位点 Zn (II) 结合不同, MBL 抑制剂的巯基取代桥接 2 个 Zn (II) 的水分子, 并与 Zn (II) 发生配位作用。

近些年报道的许多其他 Zn (II) 依赖的金属酶抑制剂也包含巯基。例如, 与急性胰腺炎、糖尿病炎症、神经疾病和癌症等疾病相关的金属蛋白酶 M14 家族羧肽酶 CPA1 亚型抑制剂 **28** ($K_i=94 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 **29** ($K_i=56 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 及 CPB1 抑制剂 **30** ($\text{IC}_{50}=34 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 **31** ($K_i=7 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 均以巯基作为 MBP^[45-48]。还包括靶向类风湿性关节炎肿瘤坏死因子 α 转化酶 (TACE) 的化合物 **32** ($K_i=10 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 靶向心血管疾病及关节炎靶标中性肽链内切酶 (NEP) 的抑制剂 **33** ($\text{IC}_{50}=468 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), HDAC6 抑制剂 **34** ($\text{IC}_{50}=0.05 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 等^[49-51]。此外, 巯基也被用

于作用病原微生物 Zn (II) 依赖金属酶, 例如化合物 **35** ($\text{IC}_{50}=0.017 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 作用于梭状芽孢杆菌分泌的细菌胶原酶 (ColH)、化合物 **36** ($K_i=1.2 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 抑制嗜热菌蛋白酶 (TLN)、化合物 **37** ($\text{IC}_{50}=6.2 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 靶向铜绿假单胞菌胞外胶原酶弹性酶 (LasB) 等^[52-54]。对 TLN 抑制剂的研究有助于对其底物催化机制的阐释, 使 TLN 作为一种实验工具发挥其消化肽链的作用; ColH 和 LasB 则是典型的致病菌毒性因子, 对两者的抑制剂研究将为抗菌药物的研发提供新的思路。

巯基也可与 Fe (II) 依赖酶形成单齿配位结合。例如, 化合物 **38** ($K_i=0.42 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 作为一氧化氮合酶 (nNOS) 底物精氨酸的类似物, 通过巯基与 nNOS 辅因子亚铁血红素中的 Fe (II) 配位使酶失活^[55]。化合物 **39** ($\text{IC}_{50}=6.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 作用于非血红素铁酶半胱氨酸双加氧酶 (CDO), 通过巯基与 Fe (II) 配位结合^[56]。此外, 巯基被用作底物类似物来研究酶的作用机制, 如化合物 **40** 和 **41** 等^[57-58]。尽管巯基被广泛应用, 但也应警惕其脱靶风险。





2.3 咪唑类

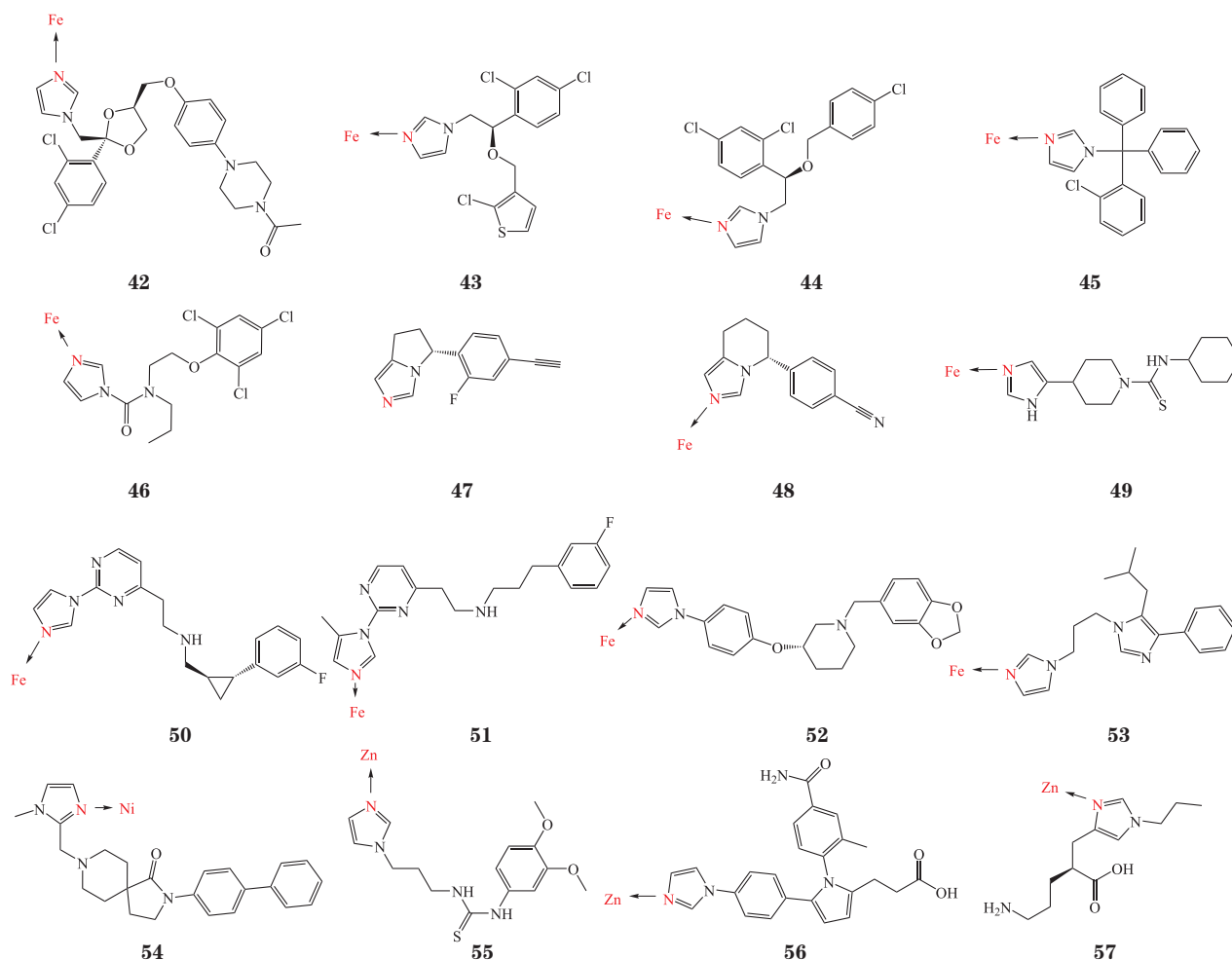
咪唑也被作为 MBP 广泛应用于金属酶抑制剂设计, 主要通过环上的氮原子与 $\text{Fe}(\text{II})$ 、 $\text{Zn}(\text{II})$ 、 $\text{Ni}(\text{II})$ 等金属离子形成单齿配位。咪唑在含亚铁血红素辅因子的金属酶 (例如 P450 酶家族、一氧化氮合酶等) 抑制剂中最为常见。细胞色素 P450 酶家族 (CYP450) 的表达或活性异常是引起肝硬化、胆汁淤积、肿瘤、甲状腺功能异常等疾病的关键因素, 使得 CYP450 成为了重要的药物靶标。目前已有多种上市的 CYP450 抑制剂, 例如广谱抗真菌药物 **42~45**, 广谱杀菌剂 **46**, 2020 年美国 FDA 刚批准的治疗库欣氏综合征的孤儿药 osilodrostat (**47**), 抗雌激素依赖性乳腺癌药物 fadrozole (**48**) 及调节体内组胺合成与释放的药物 thioperamide (**49**) 等, 它们几乎都是以咪唑为 MBP, 与辅因子亚铁血红素的 $\text{Fe}(\text{II})$ 形成配位作用^[59-65]。一氧化氮合酶 (NOS)

也是一种以亚铁血红素为辅因子, 催化精氨酸生成 NO 的二聚酶, 共有 nNOS、iNOS 和 eNOS 3 种亚型, 分别在神经退行性疾病、类风湿关节炎、高血压和动脉粥样硬化等心血管疾病的发展过程中起重要作用。多种报道的 NOS 抑制剂是以咪唑为 MBP 与 $\text{Fe}(\text{II})$ 配位。例如 nNOS 抑制剂 **50** ($K_i=0.359 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 eNOS 抑制剂 **51** ($K_i=15.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 两者的结合模式相似, 都是通过亚氨基与亚铁血红素形成氢键作用, 从而固定侧链结构疏水末端的方向, 使其结合于活性位点的疏水区域, 达到高活性和高选择性^[66]。而 iNOS 抑制剂 **52** ($\text{IC}_{50}=0.29 \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 其活性抑制机制则是破坏了活性位点结构中 7α 螺旋的折叠, 导致底物无法正常结合^[67]。在 MBP 配位 $\text{Fe}(\text{II})$ 的基础上, 根据活性位点特征和底物结合机制, 修饰侧链结构, 是有效提高 NOS 抑制剂选择性的策略。

以咪唑作为 MBP 的化合物也可作用于其他含

Fe(II) 的金属酶, 如抗肿瘤靶点血红素氧合酶-1 (HO-1) (**53**, $IC_{50}=0.94 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[68] 和抗贫血靶点脯氨酸羟化酶域蛋白 PHD2 (**54**, $pIC_{50}=7.8$)^[69]。咪唑也可以与其他金属配位结合, 如 Zn(II) 等。阿尔茨海默病相关的谷氨酰胺酰基环化酶 (QC)、支气管哮喘和肺炎相关的亚硝基化谷胱甘肽还原酶

(S-nitrosoglutathione reductase, GSNOR) 和血栓形成相关的水解酶 B (CPB) 均为 Zn(II) 依赖酶。它们对应的抑制剂 **55** ($K_i=101.3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), **56** ($IC_{50}=20 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 **57** ($K_i=10 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 均含有咪唑结构, 但三者侧链结构上截然不同, 从而适应于目标蛋白的结构特征^[70-72]。



2.4 儿茶酚类

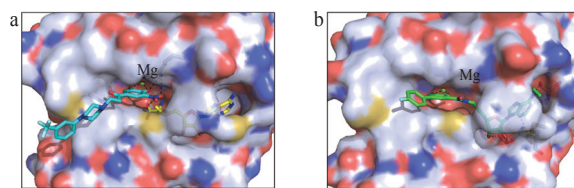
儿茶酚类结构广泛存在于天然产物中, 可作为 MBP 通过苯环上 2 个邻位羟基与金属形成双齿配位。例如, 儿茶酚氧位甲基转移酶 (COMT) 作为 Mg(II) 依赖酶, 通过催化 S-腺苷甲硫氨酸 (SAM) 的甲基向儿茶酚类化合物羟基上转移来促进儿茶酚胺类神经递质的代谢, 故其相关抑制剂可作为左旋多巴/多巴脱羧酶抑制剂的辅助治疗帕金森病的药物。目前已上市的抑制剂药物 tolcapone (**58**)、entacapone (**59**) 和 opicapone (**60**) 等均含有儿茶酚结构^[73], 与 Mg(II)

形成双齿配位。后来发展的高活性 COMT 抑制剂 **61** ($K_i=6.0 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[74] 主要占据儿茶酚底物结合位点 (见图 5a), 而 **62** ($K_i=5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[75] 则既占据儿茶酚位点又同时占据 SAM 结合位点 (见图 5b), 从而实现了双底物的竞争抑制作用; 两者均是通过儿茶酚与 Mg(II) 螯合, 说明了 MBP 在 COMT 抑制剂中的重要性。

儿茶酚作为 MBP 也可以与内二醇双加氧酶 (iCTDs) [以 Fe(III) 为辅因子] 和外二醇双加氧酶 (eCTDs) [以 Fe(II) 为辅因子] 进行配位结合。

通过分析不同的儿茶酚底物与酶活性位点 $\text{Fe}(\text{II})$ / $\text{Fe}(\text{III})$ 的结合特征, 来识别此类酶在识别不同底物时所涉及的特异性残基, 明确酶特异性作用的分子基础。例如, iCTDs 2 种亚型的抑制剂: 儿茶酚-1, 2-双加氧酶 (1, 2-CTD) 抑制剂 **63** ($K_i=0.02 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 与 4-氯儿茶酚-1, 2-双加氧酶 (4-CCD) 抑制剂 **64** ($K_i=86 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 均为底物竞争性抑制剂, 通过与底物竞争取代金属配位的酪氨酸, 与 $\text{Fe}(\text{III})$ 形成双齿配位达到酶活性抑制作用^[76-77]。许多人体内源性物质也包含儿茶酚结构, 例如, 类固醇代谢物儿茶酚雌激素 **65** ($\text{IC}_{50}=2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 作用于与肿瘤、心血管疾病相关的腺苷酸环化酶 (AC), 主要通过儿茶酚与活性位点 $\text{Mg}(\text{II})$ 的结合使酶活性位点构象改变而失去活性^[78]; 又如, 内源性活性物质儿茶酚胺类多巴胺 (**66**)、肾上腺素 (**67**) 和去甲肾上腺素 (**68**) 等, 在体内作用于人类非血红素 $\text{Fe}(\text{II})$ 酶苯丙氨酸羟化酶 (hPheOH), 通过与活性位点 $\text{Fe}(\text{II})$ 进行双齿配位, 达到与底物 *L*-苯丙氨酸的竞争性抑制作用^[79]。

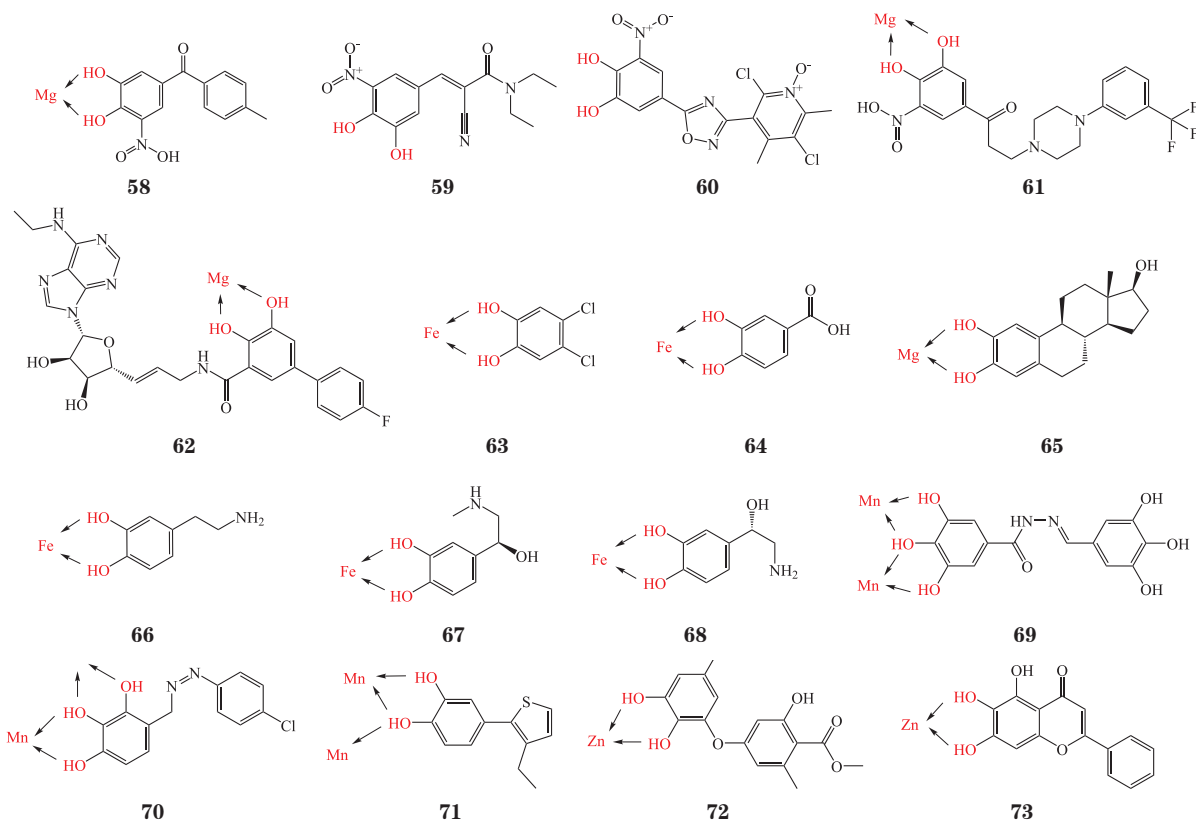
儿茶酚类及衍生物也可与 $\text{Mn}(\text{II})$ 依赖酶进行配位结合。如近年来报道的流感病毒聚合酶 PA 亚基具有核酸内切酶的功能, 其抑制剂 **69** ($\text{IC}_{50}=8.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 **70** ($\text{IC}_{50}=8.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 可用于抗病毒治疗^[80-81]; 新型抗生素开发靶点甲硫氨酸氨肽酶 (MetAP) 抑制剂 **71** ($\text{IC}_{50}=55.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[82]。儿茶酚类还可作用于 $\text{Zn}(\text{II})$ 依赖酶, 如治疗骨质疏松症靶点乙二醛酶 1 (GLO1) 的抑制剂 **72** ($K_i=0.23 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 **73** ($K_i=0.183 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[83-84]。



a: 单底物竞争性抑制剂 **61** 与底物 SAM 结合模式; b: 双底物竞争性抑制剂 **62** 与底物 SAM 的结合模式; 蓝色化合物为化合物 **61**; 绿色化合物为化合物 **62**

图 5 COMT 单底物和双底物竞争性抑制剂

Figure 5 Single- and double-substrate competitive COMT inhibitors



2.5 吡啶类

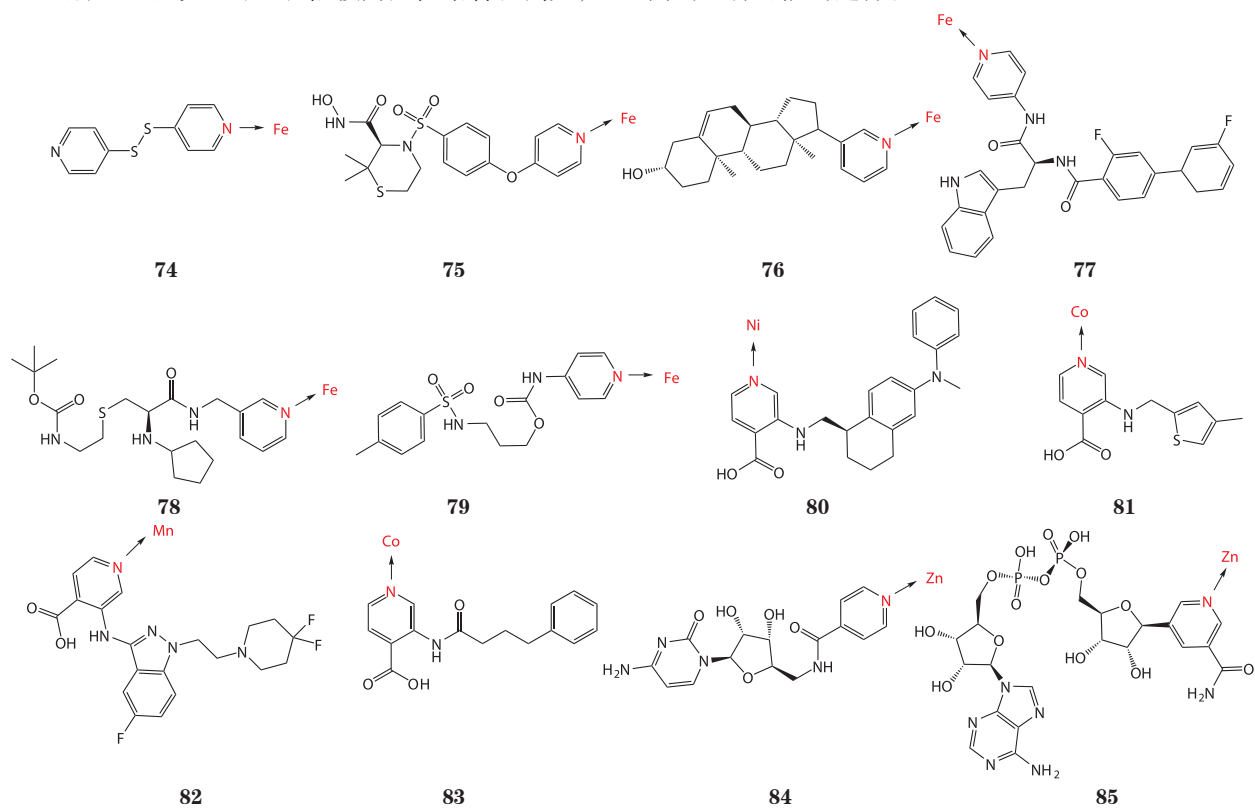
吡啶是一个被广泛使用的 MBP, 目前已有多种

报道的金属酶抑制剂包含该 MBP。吡啶通过其环上的氮原子与金属离子, 如 $\text{Fe}(\text{II})$ 、 $\text{Zn}(\text{II})$ 、 $\text{Mn}(\text{II})$

等形成配位作用, 其中与 Fe (II) 形成单齿配位最为常见。与咪唑类似, 吡啶为 MBP 的抑制剂与血红素 Fe (II) 配位结合抑制 CYP450 酶活性, 如化合物 **74**~**79**^[85-91]。作为阿尔茨海默病、脑缺血、白血病、前列腺癌等多种疾病的潜在药物作用靶标, 组蛋白去甲基化酶 (KDM) 家族蛋白, 以 Fe (II) 和 α -酮戊二酸为辅因子报道的抑制剂中也有以吡啶作为 MBP。例如, KDM4A 抑制剂 **80**、KDM4D 抑制剂 **81**、KDM5A 抑制剂 **82** 和 KDM6B 抑制剂 **83** 等^[92-94]。这些抑制剂除了与 Fe (II) 形成配位作用以外, 还会与活性位点的 2 个关键氨基酸: 赖氨酸/酪氨酸 (Lys/Tyr) 形成氢键相互作用, 主要模拟了 α -酮戊二酸的作用模式; 同时, 还可以通过侧链取代基实现亚型选择性。

吡啶也可与 Zn (II) 依赖酶配位结合。例如,

存在于恶性疟原虫和许多革兰阴性菌中的 2-C- 甲基-D- 赤藓糖醇-2,4-环焦磷酸合成酶 (IspF) 是一种广谱抗菌靶标, 其抑制剂 **84** (平衡解离常数 $K_D=180 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[95] 的吡啶环与 Zn (II) 离子形成单齿配位, 四氢咪喃上的 2 个取代基分别与 60 位甘氨酸 (Gly60) 和 58 位天冬氨酸 (Asp58) 形成氢键。又如, 抗消化系统恶性肿瘤靶标乙醇脱氢酶 (ADH) 的抑制剂 **85** ($K_i=4 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[96], 同样也是吡啶环配位结合 Zn (II), 其他基团与活性位点的多个关键氨基酸形成氢键, 从而达到高抑制活性。以上情况说明, 吡啶作为金属结合药效基团, 与氢键、电荷中心等其它药效基团有机结合, 充分与活性位点特征互补来体现靶标特异性, 实现亚型选择性, 也提示含吡啶的非金属酶抑制剂也可作为未来药物重定位金属酶的一种可能的选择。



3 结语与展望

作为靶向金属酶的关键药效基团, MBP 既涉及到目标作用靶标的结合能力, 也关系到金属酶选择性和成药性, 是靶向金属酶药物发现的重要着力点。部分经典的 MBP, 如异羟肟酸和咪唑等, 已被

当作药物发现和药理作用研究的优势骨架。而大量 MBP 尚未被充分应用于金属酶抑制剂, 但作为连接不同金属酶或金属离子的重要纽带, 具有某些共同特征, 或可为未来金属酶抑制剂的设计提供更多思路 and 灵感。值得注意的是, 有些化学结构可能包含

多个 MBP, 且非特异性地作用于多种金属酶; 这些化学结构应被甄别, 甚至标识为警戒结构, 以避免产生杂泛性化合物。虽然目前报道的 MBP 数目和多样性仍十分有限, 无法满足多样化金属酶抑制剂设计的需求, 但可利用药效特征比对、片段搜索等手段拓展 MBP 化学空间, 为靶向金属酶的药物发现提供更多样化的药效片段。此外, 也有许多金属

酶抑制剂并不涉及到直接金属配位作用, 而是与活性位点锚定残基和其他重要残基形成关键相互作用; 这样的非金属结合型抑制剂对同源金属酶或可表现出较高的选择性, 也是现在靶向金属酶抑制剂研究的一个重要方向。尽管 MBP 不是金属酶抑制剂设计的唯一策略, 但通过对 MBP 的总结和拓展, 将有利于靶向金属酶创新药物的高效研发。

【参考文献】

- [1] Chen A Y, Adamek R N, Dick B L, *et al.* Targeting metalloenzymes for therapeutic intervention[J]. *Chem Rev*, 2019, 119(2): 1323-1455.
- [2] Cohen S M. A bioinorganic approach to fragment-based drug discovery targeting metalloenzymes[J]. *Acc Chem Res*, 2017, 50(8): 2007-2016.
- [3] Bush K, Bradford P A. Interplay between β -lactamases and new β -lactamase inhibitors[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(5): 295-306.
- [4] Platten M, Nollen E A A, Röhrig U F, *et al.* Tryptophan metabolism as a common therapeutic target in cancer, neurodegeneration and beyond[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18(5): 379-401.
- [5] Yan Y H, Li G, Li G B. Principles and current strategies targeting metallo- β -lactamase mediated antibacterial resistance[J]. *Med Res Rev*, 2020, 40(5): 1558-1592.
- [6] Natesh R, Schwager S L U, Evans H R, *et al.* Structural details on the binding of antihypertensive drugs captopril and enalaprilat to human testicular angiotensin i-converting enzyme[J]. *Biochemistry*, 2004, 43(27): 8718-8724.
- [7] Freund Y R, Akama T, Alley M R K, *et al.* Boron-based phosphodiesterase inhibitors show novel binding of boron to PDE4 bimetal center[J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(19): 3410-3414.
- [8] Li G, Su Y, Yan Y H, *et al.* Melad: an integrated resource for metalloenzyme-ligand associations[J]. *Bioinformatics*, 2020, 36(3): 904-909.
- [9] Miyake Y, Keusch J J, Wang L L, *et al.* Structural insights into HDAC6 tubulin deacetylation and its selective inhibition[J]. *Nat Chem Biol*, 2016, 12(9): 748-754.
- [10] Hai Y, Christianson D W. Histone deacetylase 6 structure and molecular basis of catalysis and inhibition[J]. *Nat Chem Biol*, 2016, 12(9): 741-747.
- [11] Fabre B, Ramos A, de Pascual-Teresa B. Targeting matrix metalloproteinases: exploring the dynamics of the s1' pocket in the design of selective, small molecule inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2014, 57(24): 10205-10219.
- [12] Lovejoy B, Welch A R, Carr S, *et al.* Crystal structures of MMP-1 and -13 reveal the structural basis for selectivity of collagenase inhibitors[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 1999, 6(3): 217-221.
- [13] Kohno T, Hochigai H, Yamashita E, *et al.* Crystal structures of the catalytic domain of human stromelysin-1 (MMP-3) and collagenase-3 (MMP-13) with a hydroxamic acid inhibitor sm-25453[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 344(1): 315-322.
- [14] Nar H, Werle K, Bauer M M, *et al.* Crystal structure of human macrophage elastase (MMP-12) in complex with a hydroxamic acid inhibitor[J]. *J Mol Biol*, 2001, 312(4): 743-751.
- [15] Antoni C, Vera L, Devel L, *et al.* Crystallization of bi-functional ligand protein complexes[J]. *J Struct Biol*, 2013, 182(3): 246-254.
- [16] Decroos C, Christianson D W. Design, synthesis, and evaluation of polyamine deacetylase inhibitors, and high-resolution crystal structures of their complexes with acetylpolyamine amidohydrolase[J]. *Biochemistry*, 2015, 54(30): 4692-4703.
- [17] Fieulaine S, De Sousa R A, Maigre L, *et al.* A unique peptide deformylase platform to rationally design and challenge novel active compounds[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 35429[2020-07-10]. <https://www.nature.com/articles/srep35429>. Doi: 10.1038/srep35429.
- [18] Piizzi G, Parker D T, Peng Y S, *et al.* Design, synthesis, and properties of a potent inhibitor of pseudomonas aeruginosa deacetylase Ipxc[J]. *J Med Chem*, 2017, 60(12): 5002-5014.
- [19] Kurbanov E K, Chiu T L, Solberg J, *et al.* Probing the s2' subsite of the anthrax toxin lethal factor using novel N-alkylated hydroxamates[J]. *J Med Chem*, 2015, 58(21): 8723-8733.
- [20] Mazzola Jr R D, Zhu Z N, Sinning L, *et al.* Discovery of novel hydroxamates as highly potent tumor necrosis factor- α converting enzyme inhibitors. Part II : optimization of the s3' pocket[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(21): 5809-5814.
- [21] Tortorella M D, Tomasselli A G, Mathis K J, *et al.* Structural and inhibition analysis reveals the mechanism of selectivity of a series of aggrecanase inhibitors[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(36): 24185-24191.
- [22] Leissring M A, Malito E, Hedouin S, *et al.* Designed inhibitors of insulin-degrading enzyme regulate the catabolism and activity of insulin[J]. *PLoS One*, 2010, 5(5): e10504[2020-07-10]. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0010504>.

- [23] Thompson A A, Jiao G S, Kim S, *et al.* Structural characterization of three novel hydroxamate-based zinc chelating inhibitors of the clostridium botulinum serotype a neurotoxin light chain metalloprotease reveals a compact binding site resulting from 60/70 loop flexibility[J]. *Biochemistry*, 2011, 50(19): 4019-4028.
- [24] Vinh N B, Drinkwater N, Malcolm T R, *et al.* Hydroxamic acid inhibitors provide cross-species inhibition of plasmodium M1 and M17 aminopeptidases[J]. *J Med Chem*, 2019, 62(2): 622-640.
- [25] Mistry S N, Drinkwater N, Ruggeri C, *et al.* Two-pronged attack: dual inhibition of plasmodium falciparum M1 and M17 metalloaminopeptidases by a novel series of hydroxamic acid-based inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2014, 57(21): 9168-9183.
- [26] Grams F, Crimmin M, Hinnes L, *et al.* Structure determination and analysis of human neutrophil collagenase complexed with a hydroxamate inhibitor[J]. *Biochemistry*, 1995, 34(43): 14012-14020.
- [27] Lang R, Kocourek A, Braun M, *et al.* Substrate specificity determinants of human macrophage elastase (MMP-12) based on the 1.1 Å crystal structure[J]. *J Mol Biol*, 2001, 312(4): 731-742.
- [28] Lang R, Braun M, Soumni N E, *et al.* Crystal structure of the catalytic domain of MMP-16/MT3-MMP: characterization of MT-MMP specific features[J]. *J Mol Biol*, 2004, 336(1): 213-225.
- [29] Garcia-Castellanos R, Tallant C, Marrero A, *et al.* Substrate specificity of a metalloprotease of the pappalysin family revealed by an inhibitor and a product complex[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 457(1): 57-72.
- [30] Mosyak L, Georgiadis K, Shane T, *et al.* Crystal structures of the two major aggrecan degrading enzymes, ADAMTS4 and ADAMTS5[J]. *Protein Sci*, 2008, 17(1): 16-21.
- [31] Hall T, Shieh H S, Day J E, *et al.* Structure of human ADAM-8 catalytic domain complexed with batimastat[J]. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*, 2012, 68(Pt 6): 616-621.
- [32] Ganji R J, Reddi R, Gumpena R, *et al.* Structural basis for the inhibition of M1 family aminopeptidases by the natural product actinonin: crystal structure in complex with *E. Coli* aminopeptidase N[J]. *Protein Sci*, 2015, 24(5): 823-831.
- [33] Ghilarov D, Serebryakova M, Stevenson C E M, *et al.* The origins of specificity in the microcin-processing protease TLDD/E[J]. *Structure*, 2017, 25(10): 1549-1561.e5.
- [34] Kim H M, Shin D R, Yoo O J, *et al.* Crystal structure of drosophila angiotensin i-converting enzyme bound to captopril and lisinopril[J]. *FEBS Lett*, 2003, 538(1-3): 65-70.
- [35] Orning L, Krivi G, Bild G, *et al.* Inhibition of leukotriene A4 hydrolase/aminopeptidase by captopril[J]. *J Biol Chem*, 1991, 266(25): 16507-16511.
- [36] King D T, Worrall L J, Gruninger R, *et al.* New delhi metallo- β -lactamase: structural insights into β -lactam recognition and inhibition[J]. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(28): 11362-11365.
- [37] Starus A, Nocek B, Bennett B, *et al.* Inhibition of the dape-encoded *N*-succinyl-*L*, *L*-diaminopimelic acid desuccinylase from neisseria meningitidis by *L*-captopril[J]. *Biochemistry*, 2015, 54(31): 4834-4844.
- [38] Brem J, Van Berkel S S, Zollman D, *et al.* Structural basis of metallo- β -lactamase inhibition by captopril stereoisomers[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 60(1): 142-150.
- [39] Li G B, Brem J, Lesniak R, *et al.* Crystallographic analyses of isoquinoline complexes reveal a new mode of metallo- β -lactamase inhibition[J]. *Chem Commun (Camb)*, 2017, 53(43): 5806-5809.
- [40] Liu S, Jing L, Yu Z J, *et al.* ((*S*)-3-Mercapto-2-methylpropanamido) acetic acid derivatives as metallo- β -lactamase inhibitors: synthesis, kinetic and crystallographic studies[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 145: 649-660.[2020-07-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29353720/>. Doi: 10.1016/j.ejmech.2018.01.032.
- [41] Wang YL, Liu S, Yu Z J, *et al.* Structure-based development of (1-(3'-mercaptopropanamido)methyl)boronic acid derived broad-spectrum, dual-action inhibitors of metallo- and serine- β -lactamases[J]. *J Med Chem*, 2019, 62(15): 7160-7184.
- [42] Hinchliffe P, González M M, Mojica M F, *et al.* Cross-class metallo- β -lactamase inhibition by bisthiazolidines reveals multiple binding modes[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(26): E3745-3754.
- [43] Büttner D, Kramer J S, Klingler F-M, *et al.* Challenges in the development of a thiol-based broad-spectrum inhibitor for metallo- β -lactamases[J]. *ACS Infect Dis*, 2018, 4(3): 360-372.
- [44] Cain R, Brem J, Zollman D, *et al.* In silico fragment-based design identifies subfamily b1 metallo-beta-lactamase inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2018, 61(3): 1255-1260.
- [45] Adler M, Bryant J, Buckman B, *et al.* Crystal structures of potent thiol-based inhibitors bound to carboxypeptidase b[J]. *Biochemistry*, 2005, 44(26): 9339-9347.
- [46] Fernandez D, Testero S, Vendrell J, *et al.* The x-ray structure of carboxypeptidase a inhibited by a thiirane mechanism-based inhibitor[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2010, 75(1): 29-34.
- [47] Yoshimoto N, Itoh T, Inaba Y, *et al.* Structural basis for inhibition of carboxypeptidase b by selenium-containing inhibitor: selenium coordinates to zinc in enzyme[J]. *J Med Chem*, 2013, 56(19): 7527-7535.
- [48] Testero S A, Granados C, Fernández D, *et al.* Discovery of mechanism-based inactivators for human pancreatic carboxypeptidase a from a focused synthetic library[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2017, 8(10): 1122-1127.
- [49] Bandarage U K, Wang T, Come J H, *et al.* Novel thiol-based tace inhibitors. Part 2: Rational design, synthesis, and sar of thiol-containing aryl sulfones[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(1): 44-48.
- [50] Porter N J, Shen S, Barinka C, *et al.* Molecular basis for the

- selective inhibition of histone deacetylase 6 by a mercaptoacetamide inhibitor[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2018, 9(12): 1301-1305.
- [51] Labiuk S L, Sygusch J, Grochulski P. Structures of soluble rabbit neprilysin complexed with phosphoramidon or thiorphan[J]. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun*, 2019, 75(Pt 6): 405-411.
- [52] Gaucher J F, Selkti M, Tiraboschi G, et al. Crystal structures of α -mercaptoacyldipeptides in the thermolysin active site: structural parameters for a Zn monodentation or bidentation in metalloendopeptidases[J]. *Biochemistry*, 1999, 38(39): 12569-12576.
- [53] Schönauer E, Kany A M, Hauptenthal J, et al. Discovery of a potent inhibitor class with high selectivity toward clostridial collagenases[J]. *J Am Chem Soc*, 2017, 139(36): 12696-12703.
- [54] Kany A M, Sikandar A, Hauptenthal J, et al. Binding mode characterization and early *in vivo* evaluation of fragment-like thiols as inhibitors of the virulence factor lasb from *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *ACS Infect Dis*, 2018, 4(6): 988-997.
- [55] Tang W, Li H Y, Doud E H, et al. Mechanism of inactivation of neuronal nitric oxide synthase by (S)-2-amino-5-(2-(methylthio)acetimidamido)pentanoic acid[J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137(18): 5980-5989.
- [56] Driggers C M, Kean K M, Hirschberger L L, et al. Structure-based insights into the role of the cys-tyr crosslink and inhibitor recognition by mammalian cysteine dioxygenase[J]. *J Mol Biol*, 2016, 428(20): 3999-4012.
- [57] Roach P L, Clifton I J, Hensgens C M, et al. Structure of isopenicillin N synthase complexed with substrate and the mechanism of penicillin formation[J]. *Nature*, 1997, 387(6635): 827-830.
- [58] Ubhi D, Kago G, Monzingo A F, et al. Structural analysis of a fungal methionine synthase with substrates and inhibitors[J]. *J Mol Biol*, 2014, 426(8): 1839-1847.
- [59] Mast N, Charvet C, Pikuleva I A, et al. Structural basis of drug binding to CYP46A1, an enzyme that controls cholesterol turnover in the brain[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(41): 31783-31795.
- [60] Montemiglio L C, Gianni S, Vallone B, et al. Azole drugs trap cytochrome P450 ERYK in alternative conformational states[J]. *Biochemistry*, 2010, 49(43): 9199-9206.
- [61] Strushkevich N, Usanov S A, Park H W. Structural basis of human CYP51 inhibition by antifungal azoles[J]. *J Mol Biol*, 2010, 397(4): 1067-1078.
- [62] Agnew C R J, Warrilow A G S, Burton N M, et al. An enlarged, adaptable active site in CYP164 family P450 enzymes, the sole P450 in *Mycobacterium leprae*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(1): 391-402.
- [63] Tyndall J D A, Sabherwal M, Sagatova A A, et al. Structural and functional elucidation of yeast lanosterol 14 α -demethylase in complex with agrochemical antifungals[J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11(12): e0167485[2020-07-10]. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0167485>.
- [64] Strushkevich N, Gilep A A, Shen L M, et al. Structural insights into aldosterone synthase substrate specificity and targeted inhibition[J]. *Mol Endocrinol*, 2013, 27(2): 315-324.
- [65] Jeffreys L N, Poddar H, Golovanova M, et al. Novel insights into P450 BM3 interactions with FDA-approved antifungal azole drugs[J/OL]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 1577[2020-07-10]. <https://www.nature.com/articles/s41598-018-37330-y>. Doi: 10.1038/s41598-018-37330-y.
- [66] Mukherjee P, Li H Y, Sevrioukova I, et al. Novel 2,4-disubstituted pyrimidines as potent, selective, and cell-permeable inhibitors of neuronal nitric oxide synthase[J]. *J Med Chem*, 2015, 58(3): 1067-1088.
- [67] Davey D D, Adler M, Arnaiz D, et al. Design, synthesis, and activity of 2-imidazol-1-ylpyrimidine derived inducible nitric oxide synthase dimerization inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2007, 50(6): 1146-1157.
- [68] Mucha O, Podkalicka P, Mikulski M, et al. Development and characterization of a new inhibitor of heme oxygenase activity for cancer treatment[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2019, 671: 130-142[2020-07-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31276659/>. Doi: 10.1016/j.abb.2019.07.002.
- [69] Deng G H, Zhao B W, Ma Y L, et al. Novel complex crystal structure of prolyl hydroxylase domain-containing protein 2 (PHD2): 2,8-diazaspiro[4.5]decan-1-ones as potent, orally bioavailable PHD2 inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21(21): 6349-6358.
- [70] Bunnage M E, Blagg J, Steele J, et al. Discovery of potent & selective inhibitors of activated thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor for the treatment of thrombosis[J]. *J Med Chem*, 2007, 50(24): 6095-6103.
- [71] Sun X C, Wasley J W F, Qiu J, et al. Discovery of S-nitrosoglutathione reductase inhibitors: potential agents for the treatment of asthma and other inflammatory diseases[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2011, 2(5): 402-406.
- [72] Koch B, Kolenko P, Buchholz M, et al. Crystal structures of glutaminyl cyclases (qcs) from *Drosophila melanogaster* reveal active site conservation between insect and mammalian qcs[J]. *Biochemistry*, 2012, 51(37): 7383-7392.
- [73] De Santi C, Giulianotti P C, Pietrabissa A, et al. Catechol-O-methyltransferase: variation in enzyme activity and inhibition by entacapone and tolcapone[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 1998, 54(3): 215-219.
- [74] Bonifácio M J, Archer M, Rodrigues M L, et al. Kinetics and crystal structure of catechol-O-methyltransferase complex with co-substrate and a novel inhibitor with potential therapeutic application [J]. *Mol Pharmacol*, 2002, 62(4): 795-805.
- [75] Ellermann M, Jakob-Roetne R, Lerner C, et al. Molecular recognition at the active site of catechol-O-methyltransferase: Energetically

- favorable replacement of a water molecule imported by a bisubstrate inhibitor[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2009, 48(48): 9092-9096.
- [76] Matera I, Ferraroni M, Kolomytseva M, *et al.* Catechol 1,2-dioxygenase from the gram-positive rhodococcus opacus 1cp: quantitative structure/activity relationship and the crystal structures of native enzyme and catechols adducts[J]. *J Struct Biol*, 2010, 170(3): 548-564.
- [77] Ferraroni M, Kolomytseva M, Scozzafava A, *et al.* X-ray structures of 4-chlorocatechol 1,2-dioxygenase adducts with substituted catechols: new perspectives in the molecular basis of intradiol ring cleaving dioxygenases specificity[J]. *J Struct Biol*, 2013, 181(3): 274-282.
- [78] Steegborn C, Litvin T N, Hess K C, *et al.* A novel mechanism for adenylyl cyclase inhibition from the crystal structure of its complex with catechol estrogen[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(36): 31754-31759.
- [79] Erlandsen H, Flatmark T, Stevens R C, *et al.* Crystallographic analysis of the human phenylalanine hydroxylase catalytic domain with bound catechol inhibitors at 2.0 Å resolution[J]. *Biochemistry*, 1998, 37(45): 15638-15646.
- [80] Carcelli M, Rogolino D, Gatti A, *et al.* N-acylhydrazone inhibitors of influenza virus pa endonuclease with versatile metal binding modes[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 31500[2020-07-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27510745/>. Doi: 10.1038/srep31500.
- [81] Fudo S, Yamamoto N, Nukaga M, *et al.* Two distinctive binding modes of endonuclease inhibitors to the N-terminal region of influenza virus polymerase acidic subunit[J]. *Biochemistry*, 2016, 55(18): 2646-2660.
- [82] Wang W L, Chai S C, Huang M, *et al.* Discovery of inhibitors of Escherichia coli methionine aminopeptidase with the Fe(II)-form selectivity and antibacterial activity[J]. *J Med Chem*, 2008, 51(19): 6110-6120.
- [83] Kawatani M, Okumura H, Honda K, *et al.* The identification of an osteoclastogenesis inhibitor through the inhibition of glyoxalase I[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(33): 11691-11696.
- [84] Zhang H, Zhai J, Zhang L P, *et al.* In vitro inhibition of glyoxalase I by flavonoids: new insights from crystallographic analysis[J]. *Curr Top Med Chem*, 2016, 16(4): 460-466.
- [85] Yano J K, Denton T T, Cerny M A, *et al.* Synthetic inhibitors of cytochrome P-450 2A6: inhibitory activity, difference spectra, mechanism of inhibition, and protein cocrystallization[J]. *J Med Chem*, 2006, 49(24): 6987-7001.
- [86] Devore N M, Scott E E. Structures of cytochrome P450 17A1 with prostate cancer drugs abiraterone and TOK-001[J]. *Nature*, 2012, 482(7383): 116-119.
- [87] Wang A, Savas U, Hsu M H, *et al.* Crystal structure of human cytochrome P450 2D6 with prinomastat bound[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(14): 10834-10843.
- [88] Choi J Y, Calvet C M, Gunatilleke S S, *et al.* Rational development of 4-aminopyridyl-based inhibitors targeting trypanosoma cruzi CYP51 as anti-chagas agents[J]. *J Med Chem*, 2013, 56(19): 7651-7668.
- [89] Chen C K, Doyle P S, Yermalitskaya L V, *et al.* Trypanosoma cruzi CYP51 inhibitor derived from a mycobacterium tuberculosis screen hit[J/OL]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2009, 3(2): e372[2020-07-10]. <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0000372>.
- [90] Xu L H, Liu H T, Murray B P, *et al.* Cobicistat (gs-9350): a potent and selective inhibitor of human CYP3A as a novel pharmacoenhancer[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2010, 1(5): 209-213.
- [91] Samuels E R, Sevrioukova I. Inhibition of human CYP3A4 by rationally designed ritonavir-like compounds: impact and interplay of the side group functionalities[J]. *Mol Pharm*, 2018, 15(1): 279-288.
- [92] Horton J R, Liu X, Gale M, *et al.* Structural basis for KDM5A histone lysine demethylase inhibition by diverse compounds[J]. *Cell Chem Biol*, 2016, 23(7): 769-781.
- [93] Westaway S M, Preston A G, Barker M D, *et al.* Cell penetrant inhibitors of the KDM4 and KDM5 families of histone lysine demethylase 1, 3-amino-4-pyridine carboxylate derivatives[J]. *J Med Chem*, 2016, 59(4): 1357-1369.
- [94] Chen Y K, Bonaldi T, Cuomo A, *et al.* Design of KDM4 inhibitors with antiproliferative effects in cancer models[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2017, 8(8): 869-874.
- [95] Zhang Z, Jakkuraju S, Blain J, *et al.* Cytidine derivatives as IspF inhibitors of burkholderia pseudomallei[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23(24): 6860-6863.
- [96] Li H, Hallows W H, Punzi J S, *et al.* Crystallographic studies of isosteric NAD analogs bound to alcohol dehydrogenase: specificity and substrate binding in two ternary complexes[J]. *Biochemistry*, 1994, 33(39): 11734-11744.



【专家介绍】李国波：2014年博士毕业于四川大学药物化学专业，2014—2016年先后在四川大学和牛津大学从事博士后研究。2016年10月加入四川大学华西药学院工作，现任药物化学系副教授，硕士生导师、博士生导师，主要从事药物设计、药物化学及化学生物学等研究，在药物设计新方法、靶向金属酶的创新药物发现等方向取得了重要研究进展。主持了国家自然科学基金面上项目、青年项目、四川省国际合作项目等多项科研项目，以第一或通讯作者在 *J Med Chem*、*Chem Sci*、*Med Res Rev*、*Bioinformatics*、*J Chem Inf Model*、*Eur J Med Chem* 等期刊发表 SCI 论文 30 余篇，已获授权国家发明专利 3 项，获授权计算机软件著作权 5 项。曾获教育部自然科学一等奖、四川省科技进步奖一等奖等。