

ω-피리딜 알켄산의 형태와 활성간의 상관관계

이종달[#] · 도성탁^{*}

영남대학교 약학대학 약학과, *대구보건전문대학 임상병리과

(Received February 26, 1997)

The Correlation Between Conformations and Activities of ω-Pyridylalkenoic Acids

Jong-Dal Rhee[#] and Seong-Tak Doh^{*}

Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Yeungnam University

^{*}Department of Clinical Pathology, Taegu Junior Health College

Abstract—Molecular mechanics and conformation search methods were carried out to investigate the relationship between conformations and thromboxane synthetase inhibitory activities of ω-pyridylalkenoic acids. The initial geometries of ω-pyridylalkenoic acids and heme part of cytochrome P-450 were obtained from MM+ geometry optimization. The bond lengths and angles were not varied by step during the conformation searching. Stable conformers of some ω-pyridylalkenoic acids were obtained by conformational search method. The distances were 8.5~10.8Å between N atom at 3-position of pyridine ring and C atom at carboxylic group of stable ω-pyridylalkenoic acids. The conformations of ω-pyridylalkenoic acids and heme part complex were determined by same method. In these structures, benzene ring and ethylene group in ω-pyridylalkenoic acids are making the structure more rigid and increase inhibitory activity. The electron donating groups in C atom which is connected to pyridine ring also increase activity.

Keywords □ ω-Pyridylalkenoic acid, Conformation, Thromboxane synthetase inhibitor

1977년 imidazole계열의 thromboxane synthetase inhibitor(TXSI)의 발견¹⁾ 이래 이들의 유도체들이 많이 합성되었다.²⁻⁸⁾ 효능이 있는 억제제를 Chart 1에 나타내었는데, 이들은 모두 imidazole 또는 pyridine부분을 가지고 있다. Thromboxane synthetase(TS)를 억제하기 위해서는 구조적으로 분자의 한쪽 끝에는 1-imidazolyl 또는 3-pyridyl부분을 가지고 있어야하며, 다른 끝에는 carboxylic acid기를 가지고 있어야 한다. 또한 효능이 있는 화합물에서 imidazole 또는 pyridine의 3번 위치에 있는 질소원자와 카르복시기 사이의 거리는 8.5~10.0Å이었다. 이 거리는 TS의 기질인 prostaglandin H₂(PGH₂)의 endoperoxide부분과 카르복시기사이의 거리와 비슷하다.⁹⁾

Ulrich와 Haurand¹⁰⁾는 인체혈소판의 cytochrome P-450이 TS활성을 가지며 TXSI와 리간드착물을 형성함을 보고하였다. 반응속도론적연구는 TXSI가 효소의 활성부위인 heme철과 상호작용하는 것을 보여주며, 이들의 친화도는 화학 양론적으로 관계되며 TS의 생물학적 활성을 저해한다. 또한 이들은 3-pyridyl 질소가

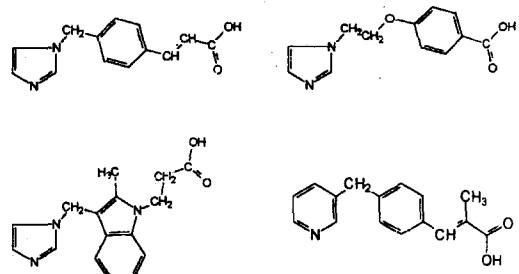


Chart 1

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 053-810-2826 (팩스) 053-811-3871

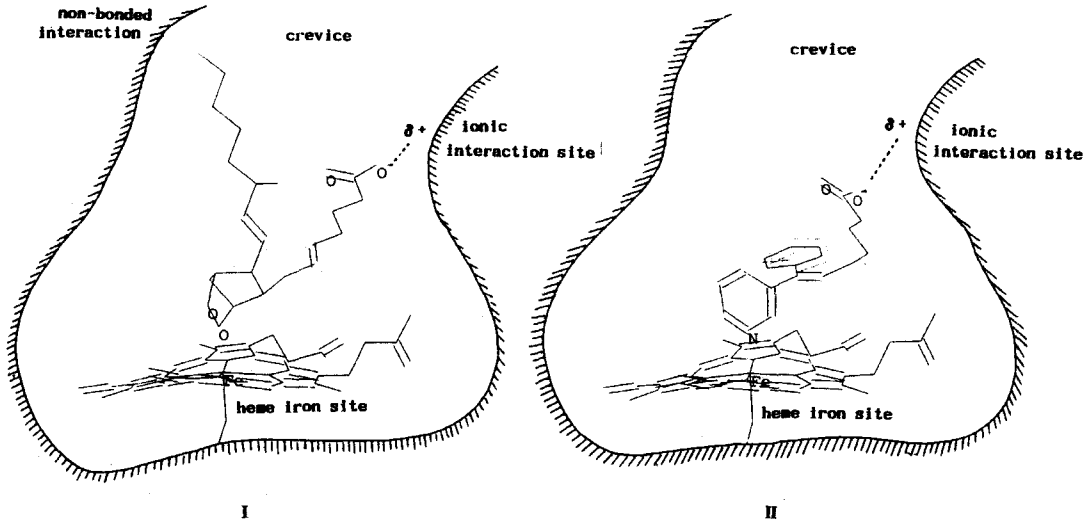


Fig. 1 — Conceptual models I and II for enzyme-substrate and enzyme-TXSI interactions.

heme철에 가까이 인접해 있다고 제안하고 있다. 이 사실을 바탕으로 모델을 만들면 Fig. 1과 같다.

이 모델은 cytochrome c¹¹⁾와 cytochrome P-450 효소의 참고자료^{9, 12)}를 기초로 하여 구성하였다. Heme철을 가지는 이들 효소는 PGH₂와 같은 기질분자를 받아들일 수 있는 공간이 있을 것으로 생각된다. 이 공간에 도달할 수 있는 TXSI의 최적 분자크기는 PGH₂와 거의 같거나 작을 것으로 추정된다. PGH₂가 TXSI와 동일활성자리에서 경쟁적으로 작용한다고 생각할때 이 공간의 생김새를 예상할 수 있다. 모델 I과 II는 TXSI의 구조와 활성간의 관계를 이해하는데 유용한 지침을 제공할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 TXSI인 ω-pyridylalkenoic acids의 분자형태와 활성과의 관계를 조사하기위해 분자궤도함수법, 분자역학방법을 이용한 형태조사(conformation search)를 하였다. 또한 이들 화합물이 cytochrome P-450과 반응한다는 사실을 기초로 이들이 결합한 형태에 대해서도 형태조사를 하여 새로운 TXSI활성을 갖는 ω-pyridylalkenoic acid의 설계에 정보를 제공하고자한다. 본 연구에 사용된 ω-pyridylalkenoic acid들의 구조를 Chart 2에 나타내었다.

계산방법

ω-pyridylalkenoic acid와 cytochrome P-450의 heme부분의 구조최적화는 Hyper Chem package

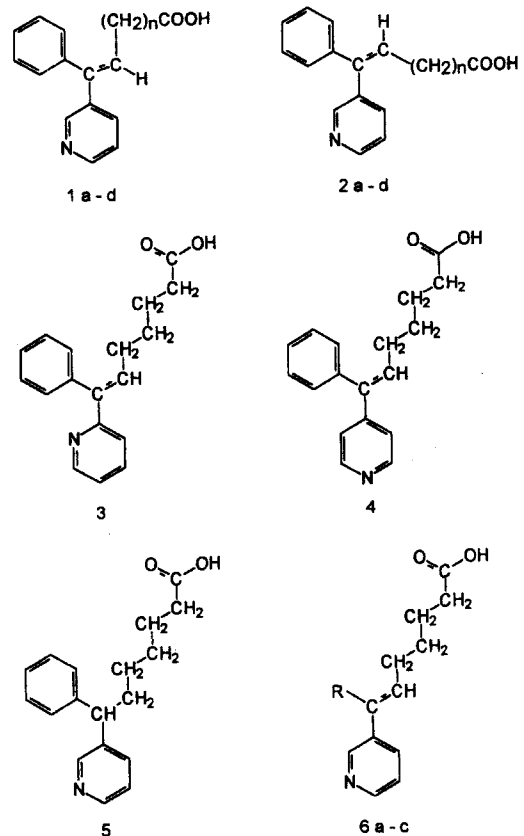


Chart 2

프로그램¹³⁾을 이용하였고 계산방법은 분자역학방법(molecular mechanics: MM+)¹⁴⁾을 사용하였으며

Algorithm은 Polak-Ribieri방법을 이용하였다.

최적화된구조에 대한 형태조사도 동일 프로그램을 이용하였으며 사용한 방법은 MM+이다. ω -pyridylalkenoic acid의 약리활성을 확인하기 위해 cytochrome P-450의 heme부분과의 결합모형을 설정하였는데 이는 heme중양의 Fe원자와 ω -pyridylalkenoic acid의 pyridine고리의 N원자가 결합한 형태이다. 이 형태에 대해서도 같은 방법으로 구조를 최적화하였으며, pyridine고리의 반응성조사는 ZINDO/S방법을 이용하였다.

결과 및 고찰

TS의 기질이 되기 위해서는 cytochrome P-450의 틸로 들어갈 수 있는 분자크기 또는 체적을 가져야 하는데 ω -pyridylalkenoic acid는 PGH₂보다 크기와 체적이 모두 작으므로, 틸로 들어가 cytochrome P-450의 기질이 되리라 생각된다.

ω -pyridylalkenoic acids가 TXSI로서 활성을 나타내려면 pyridine고리의 3번 위치에 있는 질소원자와 카르복시기에 있는 탄소원자사이의 거리가 8.5~10.0Å 범위에 있어야 하는 것으로 알려져 있다. 이를 확인하기 위해 ω -pyridylalkenoic acids의 구조를 MM+방법

으로 최적화하고 이 구조에 대해 다시 단일결합축들의 회전을 통한 형태조사를 행하였다.

여러 형태중 가장 안정한 형태를 취하여 구한 거리를 Table I에 나타내었다. 1a~1d, 2a~2d의 화합물에서는 거리가 8.5~10.8Å범위에 있는 1b, 1c, 1d, 2c, 2d가 적은 농도에서 활성을 나타내, 이 거리가 ω -pyridylalkenoic acids의 활성과 관련이 있음을 알 수 있다. 그러나 이외의 화합물에서는 거리와 활성사이에 상관성이 없음을 알 수 있으나 활성을 나타내는 화합물은 모두 거리가 8.5~10.8Å범위에 있음을 알 수 있다.

이를 이해하기 위하여 PGH₂가 heme과 결합한 구조를 만들고, PGH₂의 O원자와 heme의 Fe원자를 있는 결합축을 회전시키며 형태조사를 하였다. 이 중 가장 안정한 결합형태에 ω -pyridylalkenoic acids를 겹쳐지는 원자간 거리를 최소화하는 RMS overlay하여 Fig. 2에 나타내었다. 이는 ω -pyridylalkenoic acids의 카르복시기가 cytochrome P-450과 이온상호작용을 하는 것이 활성화의 첫단계라고 보았기 때문이다. Overlay는 PGH₂의 카르복시기의 탄소원자로 부터 시작하여 10개의 원자 즉 산소원자까지를 취하고 1c와 2a는 카르복시기의 C원자에서 시작하여 피리딘고리의 N원자까지 10개의 원자를 선택하여 겹쳤다.

Table 1에서 원자간 거리가 8.39Å 인 1c의 경우

Table I— The distances between the carbon atom at carboxyl group and the nitrogen atom at the 3-position of pyridine moiety in ω -pyridylalkenoic acids

Compound	n	R	Streochem	Distance(Å) Comfor.search	Inhibitory Activity IC ₅₀ , M × 10 ^{-8,9)}
1a	2	benzene	E	6.8749	11.0
1b	3	benzene	E	8.2201	3.0
1c	4	benzene	E	8.3892	2.6
1d	5	benzene	E	9.7203	2.9
2a	2	benzene	Z	5.9351	45
2b	3	benzene	Z	5.5761	28
2c	4	benzene	Z	8.1496	5.1
2d	5	benzene	Z	9.5758	6.5
3	4	benzene	E	9.6759	>10 ⁴
4	4	benzene	E	8.0515	>10 ⁴
5	4	benzene	-	9.1180	27
6a	4	-H	-	10.6845	25
6b	4	-CH ₃	E	10.5475	7.1
6c	4	-CH ₃	Z	8.5954	21

*IC=the molar concentration of test compound required to reduce the amount of thromboxane B₂(the stable metabolite of thromboxane A₂) formed by incubating PGH₂ with horse platelet microsomes by 50%.

PGH₂와 거의 겹쳐지고 피리딘고리의 N원자가 Fe원자와 인접해 있어 PGH₂와 길항적으로 작용함을 알 수 있다. 원자간 거리가 이와 비슷한 1b, 1d, 2c, 2d도 이와 유사한 형태를 보여주었다. 원자간 거리가 짧은 2a는 피리딘고리가 Fe원자와 멀리 떨어져 길항적으로 길항적으로 작용하기가 어렵다. 저해활성이 낮고 원자간 거리가 짧은 1a와 2b도 이와 동일함을 보여주었다. 이 결과는 이들 화합물의 극성 카르복시기가 먼저 효소의 극성부분과 상호작용을 하고 다음단계로 피리딘고리의 질소원자

가 효소의 활성위치에 결합한다는 가정을 뒷받침해 주고 있다 하겠다.

원자간 거리는 활성물질의 범위에 있으나 활성이 없는 3, 4 화합물은 pyridine고리의 N원자가 2, 4번 위치에 있는 것인데 이들의 구조와 활성과의 관계를 확인하기 위해, PGH₂와 heme의 복합체중 PGH₂에 3, 4를 상기와 같이 RMS overlay 하여 Fig. 3에 나타내었다.

Fig. 2와 Fig. 3에서 보는바와 같이 1c가 피리딘고리의 N원자와 PGH₂의 O원자간의 거리, 피리딘고리의

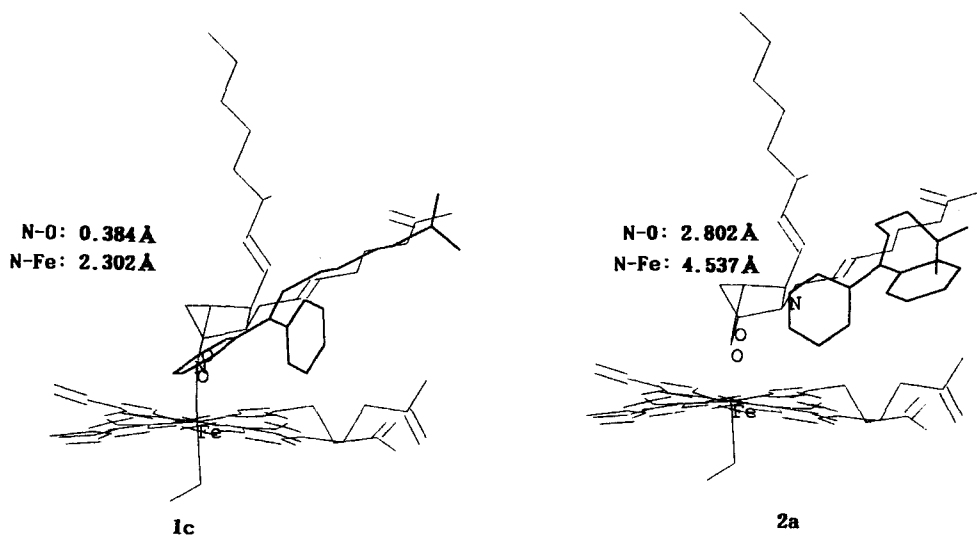


Fig. 2 — Overlapping structures of parts of prostaglandin H₂ and 1c and 2a compounds in the Table 1.

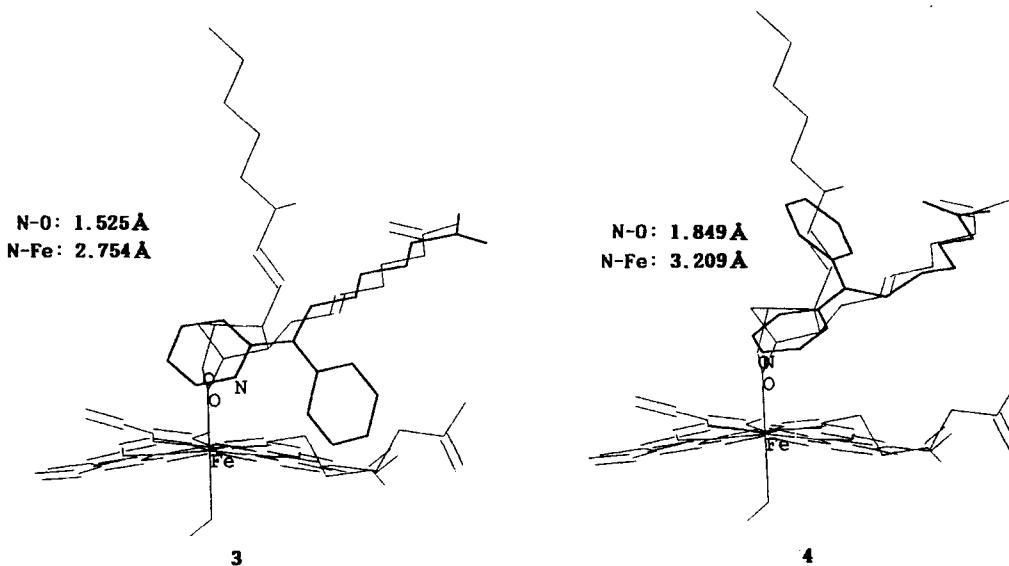


Fig. 3 — Overlapping structures of selected parts of prostaglandin H₂ and 3,4 compounds in the Fig. 1.

N원자와 Fe원자간의 거리 둘다 가장 가까워 가장쉽게 cytochrome과 상호작용을 하리라는 것을 알 수 있다. 3은 폐닐기가 heme의 피롤 고리와 인접해 입체적장애가 상당함을 알 수 있다. 4는 겹침은 좋게 나타나나, N-O, N-Fe거리가 모두 1c보다 멀어 cytochrome P-450과의 작용이 쉽지 않다는 것을 알 수 있다. Fitting이 잘 되어 보이는 4의 경우를 좀 더 조사해 보기위해 Fig. 2와 Fig. 3과는 반대로 저해제인 1c, 3, 4가 효소와 결합하였을 때의 입체적 형태 즉 이들 화합물의 N원자와 cytochrom P-450의 Fe원자와 결합한 모형에 대해 MM+ 방법으로 최적화한 후 Fe원자와 N원자의 결합축을 회전시키며 형태조사하여 안정한 구조를 취하고 여기에 PGH₂를 겹쳐 보았다. Fig. 4는 1c가 결합한 모형에 대한 형태조사를 한 것 중에서 가장 안정한 것이다. 그림에서 보는바와 같이 4, 6, 7, 8이 이루는 이면각은 -7.50°로 결합하지 않았을 때 -13.22°보다 폐닐기와 에틸렌기가 conjugation한 형태 즉 두면이 거의 평면을 이루고 있음을 알 수 있다. 벤젠고리와 에틸렌기가 1c의 구조를 단단하게 만들고 있다는 것을 알 수 있고, 이러한 형태가 에틸렌기의 이중결합이 단일결합으로 바뀌어 이를 축으로 하는 회전이 자유로운 5의 형태 보다 쉽게 cytochrome P-450과 결합 하리라 추측할 수 있다. Fig. 5는 1c, 3, 4가 cytochrome P-450과 결합한 최적형태에 대해 PGH₂를 상기한 바와 같은 방법으로 overlay한 것이다.

Fig. 5를 보면 포개어진 형태에서 1c가 가장 잘 겹쳐지고 있으며 3은 겹쳐짐도 약하고 PGH₂의 알킬체인도 heme평면을 향하고 있어 입체장애가 작용함을 알 수 있다. PGH₂의 구조는 4에서도 상당히 겹쳐지나 1c의

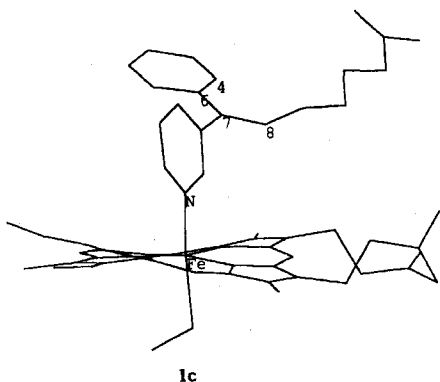


Fig. 4—Optimized structures of 1c complexes of enzyme. The torsion angle of C4-C6-C7-C8 is -7.50°.

경우와는 입체적 구조가 다름을 알 수 있다. 또한 Fig. 3의 형태보다는 겹쳐짐도 약함을 알 수 있다. 이는 cytochrome P-450의 틈의 3차구조를 고려하지 않은 채 heme부분만 취하여 계산한 결과이므로 틈의 3차구조를 이용하면 보다 정확한 해석이 가능하리라 본다.

다음은 6a, 6b, 6c의 구조와 PGH₂와의 구조유사성을 알아보기 위해 상술한 바와 같이 카르복시기의 C원자와 pyridine 고리의 N원자와 PGH₂의 카르복시기와 endoperoxide부분의 O원자를 겹친 형태를 Fig. 6에 나타내었다.

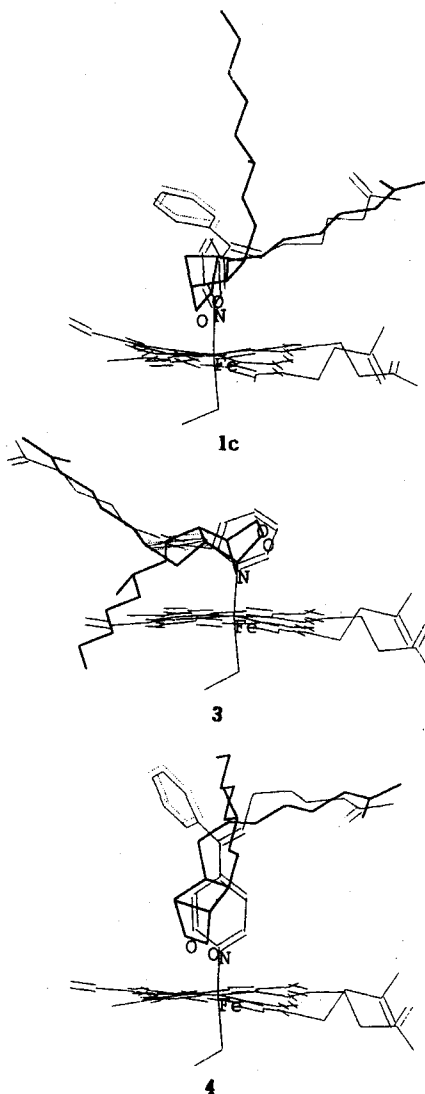


Fig. 5—Overlapping structures of selected parts of prostaglandin H₂ and 1c, 3, 4 compounds.

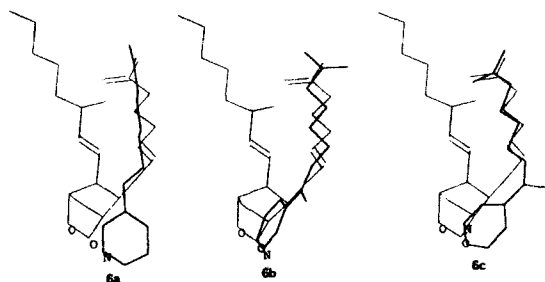


Fig. 6 — Overlapping structures of selected parts of prostaglandin H₂ and 6a, 6b and 6c compounds.

활성이 큰 6b가 6a, 6c보다 PGH₂와 보다 구조가 유사하고 가장 잘 겹쳐지는 것으로 나타나 구조가 기질과 유사할수록 약효가 큼을 알 수 있다.

다음으로 6의 구조에서 R이 -Ph, -H, -CH₃인 1c, 6a, 6b(E형태), 6c(Z형태)의 구조와 활성을 비교하였다. R이 -Ph인 1c는 Fig. 4에서 보는바 같이 벤젠고리와 에틸렌기가 conjugation한 형태 즉 두면 이 거의 평면을 이루고 있음을 알 수 있다. 벤젠고리와 에틸렌기가 1c의 구조를 단단하게 만들고 있다는 것을 알 수 있고 이것이 활성에 기여할 것으로 기대된다. 또한 치환체의 전자주게효과를 알아보기 위해 1c, 6b, 6c, 6a의 pyridine고리의 N원자의 전자밀도를 ZINDO/S방법으로 계산하였을 때 각각 -0.351, -0.348, -0.349, -0.346으로 나타났다. 이중 가장 음의 값을 나타내는 1c가 heme부분의 Fe원자와 가장 단단하게 결합하고 저해제로서 가장 큰 활성을 나타낸다고 볼 수 있다. N원자의 전자밀도가 활성과 관련성을 보여주고 있다 하겠다.

결 론

ω-pyridylalkenoic acid가 TXSI로서 활성을 가지기 위해서는 다음과 같은 인자를 필요로 함을 확인하였다.

1. pyridine고리의 3번 위치에 있는 N원자와 카르복시기에 있는 탄소원자사이의 거리가 8.5~10.8Å 범위에 있어야 한다.
2. PAA가 heme부분의 Fe와 결합하였을 때의 입체적 구조가 활성과 관련성이 있다. 즉 PAA의 카르복시기이 cytochrome P-450의 아미노산의 양전하를 띠는 부분과 이온상호작용을 하고 여기에서 8.5~10.8Å 떨어져 있는 pyridine고리의 N원자가 인접한 heme평면상의 Fe원자와 결합할 수 있는 형태가 되어야 한다.
3. ω-pyridylalkenoic acids의 구조를 단단하게 하

는 benzene고리와 에틸렌기가 필요하다.

감사의 말씀

이 논문은 1996년 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Needleman, P., Raz, A., Ferrendelli, J. A. and Minkes, M. : Application of imidazole as a selective inhibitor of thromboxane synthetase in human platelets. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **74**, 1716 (1977).
- 2) Heptinstall, S., Bevan, J., Cockbill, S. R., Hanley, S. P., Parry, M. J. : Effects of a selective inhibitors of thromboxane synthetase on human blood platelet behaviour. *Thromb. Res.* **20**, 219 (1980)
- 3) Iizuka, K., Akahane, K., Momose, D., Nakazawa, M., Tanouchi, T., Kawamura, M., Ohyama, I., Kajiwara, I., Iguchi, Y., Okada, T., Taniguchi, K., Miyamoto, T. and Hayashi, M. : Highly selective inhibition of thromboxane synthetase 1. Imidazole derivatives. *J. Med. Chem.* **24**, 1139 (1981).
- 4) Tanouchi, T., Kawamura, M., Ohyama, I., Kajiwara, I., Iguchi, Y., Okada, T., Iizuka, K. and Nakazawa, M. : Highly selective inhibitors of thromboxane synthetase 2. Pyridine Derivatives. *Ibid.* **24**, 1149 (1981).
- 5) Burke, S. E., DiCola, G. and Lefer, M. A. : Responsiveness of platelets and coronary arteries from different species to synthetic thromboxane and prostaglandin endoper-oxide analogs. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **5**, 842 (1983).
- 6) Corey, E. J., Pyne, S. G. and Schafer, A. I. : Synthesis of a new series of potent inhibitors of thromboxane A₂ biosynthesis. *Tetrahedron Lett.* **24**, 3291 (1983).
- 7) Cross, P. E., Dickinson, R. P. : Thromboxane Synthase inhibitors and antagoist. *Annu. Rep. Med. Chem.* **22**, 95 (1987)
- 8) Soyka, R., Heckel, A., Nickel, J., Eisert, W., M

- ller, T. H. and Weisenberger H. : 6,6-Disubstituted Hex-5-enoic Acid Derivatives as Combined Thromboxane A₂Receptor Antagonists and Synthetase Inhibitors. *J. Med. Chem.* **37**, 26 (1994).
- 9) Kato, K., Ohkawa, S., Terashita, Z. and Nishikawa, K. : Thromboxane synthetase inhibitor (TXSI) design, synthesis, and evaluation of a novel series of ω -pyridylalkenoic acid. *J. Med. Chem.* **28**, 287 (1985).
- 10) Ullrich, V. and Haurand, M. : Thromboxane synthase as a cytochrome P450 enzyme. *Adv. Prostaglandins, Thromboxane, Leukotriene Res.* **11**, 105 (1983).
- 11) Takano, T. and Dickerson, R. E. : Conformation Change of Cytochrome c II. Ferricytochrome c Refinement at 1.8 Å and Comparison with the Ferricytochrome Structure : *J. Mol. Biol.* **153**, 95 (1981)
- 12) Imai, Y. : Interaction of polycyclic hydrocarbons with cytochrome P-450 III. Effects of hydrocarbon binding on the interaction of some ligands with P-450 heme. *J. Biochem.* **92**, 77 (1982)
- 13) HyperChem Package, HyperCube Inc., Waterloo, Ontario, N2L 3X2, Canada, 1994
- 14) Burket, U. and Allinger, N. L. : Molecular Mechanics, ACS Monograph, 177, *Am. Chem. Soc.* : Washington D. C (1981).