靶向Nur77的抗炎候选药物筛选与分子动力学研究

李健镖[a]，郭尚捷[b]，法宪恩[c*]（郑州大学第二附属医院，a.重症医学科，b.药学部，c.心血管外科，河南 郑州 450014）

摘要：目的 本研究旨在使用计算方法识别针对Nur77-LBD（配体结合结构域）位点C的新型配体，该位点是炎症的关键调节结合位点。**方法** 基于Nur77配体结合结构域（PDB ID：4JGV）的结构，使用分子对接筛选9 371种DrugBank化合物。使用Schrödinger Desmond模块对得分最高的命中化合物进行500 ns分子动力学（MD）模拟。通过均方根偏差（RMSD）、均方根波动（RMSF）和蛋白质-配体相互作用分析以及MM-GBSA（分子力学/广义Born表面积法）计算评估结合稳定性。**结果** 识别出5个候选化合物具有潜在结合Nur77-LBD的能力。其中，化合物1、2和3表现出稳定的结合，RMSD波动较低，蛋白质-配体相互作用持续且可相比参考配体13和29。**结论** 化合物1作为最有希望的候选化合物，表现出全面的结合稳定性和相互作用强度，为进一步优化Nur77调节剂提供了新的化学骨架。

关键词：Nur77（NR4A1）；孤儿核受体；虚拟筛选；分子动力学模拟

中图分类号：R914.2　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1674-229X（2026）05-0348-07

Doi：10.12048/j.issn.1674-229X.2026.05.005

Screening of Anti-inflammatory Drug Candidates Targeting Nur77 and Molecular Dynamics Study

LI Jianbiao[a], GUO Shangjie[b], FA Xian'en[c*] (*a. Department of Critical Care Medicine, b. Department of Pharmacy, c. Department of Cardiovascular Surgery, The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan* 450014, *China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE This study aimed to identify novel ligands targeting Site C of Nur77-LBD (ligand binding domain), a critical regulatory binding site of inflammation, using computational approaches. **METHODS** A structure-based virtual screening of 9 371 DrugBank compounds was conducted against the Nur77 ligand-binding domain (PDB ID: 4JGV) using molecular docking. Top-scoring hits were subjected to 500-ns molecular dynamics (MD) simulations using Schrödinger Desmond module. Binding stability was assessed by root mean square deviation (RMSD), root mean square fluctuation (RMSF), Protein-ligand interaction analysis, and MM-GBSA calculations. **RESULTS** Five candidate compounds were identified to potentially bind to Nur77-LBD. Among them, compounds 1, 2, and 3 demonstrated stable binding, with low RMSD fluctuations and persistent protein – ligand interactions comparable to reference ligands 13 and 29. **CONCLUSION** These findings highlight compound 1 as the most promising candidate, showing comprehensive binding stability and interaction strength, and provide new chemical scaffolds for further optimization of Nur77 modulators.

KEYWORDS: Nur77 (NR4A1); orphan nuclear receptors; virtual screening; molecular dynamics simulations

Nur77，也称为TR3、NGFI-B和其他别名，属于核受体（NRs）超家族的孤儿核受体。具体来说，它被分类在NR4A1亚家族下。它在众多细胞过程中发挥关键作用，包括细胞存活、细胞分化[1]、凋亡调节、免疫和炎症反应[2-8]。调节Nur77的活性对癌症和炎症性疾病治疗具有前景。许多研究表明，Nur77参与体外和体内对蛋白炎症刺激的免疫反应。虽然Nur77具有NR家族共有的结构特征：从N端到C端包括A/B域[包含激活功能1（AF-1）]、DNA结合结构域（DBD）、配体结合结构域（LBD）和配体依赖性转录激活域（AF-2），见附图1。但Nur77不具有经典配体结合口袋（LBP）区域中发现的典型配体结合腔[9,10]。目前为止，尚未有Nur77内源性配体被鉴定。

在过去十几年间，研究者持续报道了可结合Nur77配体结合结构域（LBD）的配体[11]。根据化合物结构可分类为不同的类别，胞囊素-B（Csn-B）[12-15]及其衍生物，包括TMPA（ethyl2-[2,3,4-trimethoxy-6

基金项目：河南省医学科技攻关计划项目（LHGJ20200400）；河南省科技厅科技攻关项目（242102310472；212102310315）

作者简介：李健镖，主治医师，研究方向：重症医学和计算机虚拟筛选研究　　***通信作者：**法宪恩，主任医师，研究方向：心血管疾病研究和计算机虚拟筛选研究，E-mail：xianenfazzu2023@163.com

(1-octanoyl)phenyl] acetate)、THPN (1-(3,4,5-trihydroxyphenyl)nonan-1-one)、PDNPA (n-pentyl-2-[3,5-dihydroxy-2-(1-nonanoyl)phenyl]acetate)与DPDO (1-(3,5-dimethoxyphenyl)decan-1-one),PDB代码依次为3V3Q、4JGV、4RZG、4KZI[16-18],已被证明直接结合到Nur77-LBD配体结合结构域(LBD)表面的不同位置,并解析了Nur77-LBD和小分子的共晶结构。除了Csn-B衍生物外,多种不饱和脂肪酸也被证明直接与寡聚Nur77-LBD相互作用[19]。此外,前列腺素A2[20]被表征为Nur77的配体,通过前列腺素A2的C9与位于Nur77-LBD中PDNPA结合位点附近的半胱氨酸C566之间形成共价加合物。同样,天然化合物雷公藤红素也被证明与Nur77-LBD中半胱氨酸C551[21]存在共价反应。此外,几类化合物已被鉴定为Nur77配体或调节剂,包括:亚甲基取代的二吲哚甲烷(C-DIMs)[22-24]及其衍生物、雷公藤红素类似物[25]、山柰酚和槲皮素[26],NB1(PDB代码8Y7L)[27]、衍生自CD437的化合物B7[28]、1*H*-吲哚-2-羧酰胺化合物8b及其衍生物[29]、羰基-肼-1-羧酰胺衍生物[30]等。此外,脂肪酸代谢物(fatty acid metabolisms)也被探索作为NR4A调节剂包括NR4A1(Nur77)[31]。到目前为止,Nur77的功能多样性[32]使得识别能够有效调节其生物功能的配体变得至关重要。因此,Nur77配体的发现仍然是研究的突出领域。

Nur77-LBD和小分子的共晶结构,为采用虚拟配体筛选(VLS)方法来寻找针对Nur77-LBD的新型调节剂提供了机会。2021~2022年,通过VLS方法和片段搜索适配方法的整合,也鉴定出新型Nur77-LBD结合化合物[33,34]。这些发现为使用药物库数据库筛选以识别Nur77的潜在新化合物提供了新的思路,而DrugBank药物库中包含的化合物具有良好类药性质。基于前文所提及的Nur77与小分子结合的共晶结构,考虑到化合物TMPA、PDNPA和DPDO在Nur77-LBD上的区域重叠,经整理本文将该位点被标记为位点A(Site A)。其他TMPA的结合区域标记为位点B(Site B),随后为THPN的结合位点标记为位点C(Site C),见附图2。

本研究中运用了分子对接、分子动力学模拟及自由能计算等方法,基于Nur77-LBD-小分子复合物的晶体结构对DrugBank数据库进行了虚拟筛选,以识别潜在的Nur77-LBD结合剂。5种化合物有潜力成为Nur77-LBD新的结合配体,其中,化合物1总体上表现出最有利的结合行为,优于化合物2、3、4、5,并表现出与参考配体13和29相当的结合性质。重要的是,化合物1代表了一种与先前报道的Nur77配体不同的新骨架,这些化合物的进一步结构优化可能为开发有效的Nur77靶向调节剂提供有前景的起点。

1 方法

1.1 受体和数据库准备

基于先前报道的结果,证明THPN结合的位点在其他位点中是[33,34] 最合理的结合位点,这是一个形成"T"形状的半暴露口袋。从蛋白质数据库(PDB代码:4JGV)中下载获取Nur77-LBD-THPN复合物的X射线衍射晶体结构。使用Schrödinger套件(Schrödinger LLC,New York,NY,2019)的蛋白质准备向导工作流程预处理该复合物晶体结构。设置将复合物中的结晶水分子和甘油分子删除,然后利用蛋白处理程序(Protein Preparation)补充复合物结构缺失的氢原子以及缺失的loops(using prime)。随后,使用Maestro软件的Glide模块中的受体格点生成程序(Receptor Grid Generation)生成对接格点文件,格点参数设置为默认值,在可视化操作界面中选中原晶体结构中的配体分子,设置为以该分子为格点中心,格点大小设置为默认值,然后运行程序生成对接格点文件。

数据库使用来自DrugBank数据库(https://go.drugbank.com/releases/latest,版本5.1.8)的9 371个结构(SDF格式的完整3D药物结构)。

1.2 分子对接

分子对接采用Glide模块中的配体对接程序(Ligand Docking)进行,在Ligand Docking的设置界面:选中"1.1"项所得对接格点(grid)文件;Ligands选择来自文件,选中已准备好的DrugBank数据库;对接精度选择标准精度(SP,standard precision)模式,配体采样(Ligand sampling选择柔性,采样密度保持设置为5 000(5 000 poses每个配体)。

Glide打分函数,即glide gscore包含以下能量项。E_{vdw}:库仑-范德华相互作用能;E_{HBond}:氢键相互作用项;E_{Lipo}:疏水/脂溶性相互作用项;E_{BuryP}:溶剂化相关项(埋藏极性惩罚项);E_{RotB}:可旋转键惩罚项(构象熵惩罚);E_{Site}:位点特异性修正项。其函数形式为一个加权求和的经验评分函数:$GScore=aE_{vdW}+bE_{Coul}+E_{HBond}+E_{Lipo}+E_{BuryP}+E_{RotB}+E_{Site}$(a≈0.065,b≈0.130)。

筛选流程总览如附图3所示,来自Drug Bank的9 371个结构经历准精度(SP,standard precision)模

式对接后，从位点C选择排名前1 000的小分子，使用canvas 3.9的分层聚类分为48个簇。48个簇中的化合物基于分子量（200~500）和glide对接gscore的评分（优于-6）进一步过滤后；又一步考虑结构是否符合类药5规则和结构中不含超过2个手性中心；最后分析化合物与蛋白靶点的结合姿势，评估结合的合理性。最终从48个簇组（共1 000个结构）中选择了5种化合物。

1.3 分子动力学模拟

对总共7个复合物进行全原子分子动力学（molecular dynamics，MD）模拟。5个选定的化合物和2个参考化合物被重新对接至Nur77-LBD，形成7个复合物系统。随后将7个复合物结构分别保存。使用Schrödinger软件分别对7个复合物进行了500 ns时长的MD模拟。首先，依次使用Desmond[35]模块分别处理准备7个复合物系统：设置使用SPC作为溶剂模型；水箱盒子设置为正交周期性边界条件模拟盒，盒子大小的计算方法使用Buffer，距离长度设置为a：10.0 Å、b：10.0 Å、c：10.0 Å；力场参数使用OPLS4；抗衡离子根据体系计算的总电荷添加（负电荷添加Na^+离子，正电荷添加Cl^-离子）；运行程序后各自分别保存为7个含溶剂模型的复合物系统。随后，对构建所得的7个体系依次采用Desmond最小化程序进行能量最小化处理，模拟时间设置为100 ps，高级选项设置为默认值。最后在如下条件下进行分子动力学模拟：模拟时间设置为500 ns，轨迹记录时间间隔设定为20 ps，采用等粒子数-等压-等温（NPT）系综（恒压器方法：Martyna-Tobias-Klein，弛豫时间2.0 ps，耦合方式为各向同性），体系温度设置维持在300 K（恒温器方法：Nose-Hoover chain，弛豫时间1.0 ps），压力为1.013 25 bar；高级选项中的其他参数均保持默认值（使用的时间步长设置为2 fs，成键/近程力2 fs，远程力6 fs，短程非键相互作用截断半径设置为9.0 Å），不设置其余约束条件。相互作用分析设置为模拟完成后自动运行。使用Schrödinger的模拟相互作用图程序分析模拟完成的7个复合物的500 ns轨迹。计算模拟期间的均方根偏差（RMSD）、均方根波动（RMSF）、蛋白质-配体相互作用分析和氢键（H-bond）变化。模拟结果的可视化分析使用PyMOL（开源来源）软件。

1.4 结合自由能分析

应用Schrödinger的广义Born和表面积（MM/GBSA）溶剂化的分子力学方法来计算7种化合物与Nur77-LBD的结合自由能，溶剂模型使用VSGB，力场参数使用OPLS4，采样方法设置为Minimize。为估算结合自由能，从MD模拟后期稳定阶段的轨迹中选取400、450、500 ns的3个离散构象（n=3）作为输入，采用MM/GBSA方法进行能量计算并取平均值，评估结合强度和能量贡献。构象熵贡献（-TΔS）在本研究中未显式计算，所得结合自由能主要用于比较不同配体之间的相对结合趋势。

2 结果

2.1 分子对接结果分析

将表现出结构多样性和形状合理性的5个分子（附图4）重新对接至Nur77的位点C。重新对接过程的结果（表1）用于进一步的分子动力学模拟研究，与此同时，选择已报道与Nur77-LBD位点C结合的化合物13和29作为参考化合物。化合物13[34]通过荧光猝灭测定显示结合亲和力为4.03±0.85 μmol·L^{-1}，而化合物29通过等温滴定量热法（ITC）测量的解离常数（K_d）为2.1 μmol·L^{-1}[33]。

表1 所选化合物和参考化合物的对接信息详情对比

化合物ID	DrugBank ID	Glide gscore对接评分（SP精度）	氢键数量	π-阳离子相互作用	形成氢键相互作用的氨基酸残基
1	DB14995	-7.900	2	1（与R515形成）	T513/R515
2	DB12082	-6.339	1	1（与R563形成）	L555
3	DB00598	-8.291	3	/	E445/R563
4	DB04583	-8.077	4	/	E445/T513/N528/L509
5	DB14849	-7.102	2	/	E445/T513
13（参考化合物）	/	-7.752	/	/	/
29（参考化合物）	/	-8.406	1	/	L506

注："/"代表不存在此相互作用。

2.2 *分子动力学模拟分析*

均方根偏差(RMSD)是一种常用的统计技术，用于测量特定帧中原子选择相对于参考帧的位移的平均变化，针对轨迹中的所有帧计算。模拟体系蛋白质的RMSD(Protein RMSD)绘制在附图5A~G的左*Y*轴上，配体的RMSD(Ligand RMSD)绘制在右*Y*轴上。配体-蛋白构象拟合度("Lig fit Prot")显示配体相对于蛋白质主链的RMSD。配体自身构象拟合度("Lig fit Lig")显示配体对齐自身参考构象的RMSD，这个RMSD值测量配体原子的内部波动。为了评估Nur77复合物的动态稳定性，分析了蛋白质和配体在500 ns分子动力学模拟中的Cα原子RMSD(附图5)。

如附图5所示，大多数系统在最初50~100 ns内达到平衡，表明在初始松弛之后体系构象趋于稳定。Nur77-LBD-化合物2、Nur77-LBD-化合物3和Nur77-LBD-化合物13的复合物体系显示出相对稳定的Cα RMSD(约2.1~2.7 Å)，表明主链波动小，复合物整体稳定性较高。Nur77-LBD-化合物2复合物、Nur77-LBD-化合物3复合物表现出较一致的轨迹，表明化合物2和化合物3结合Nur77-LBD后有效稳定了蛋白质构象。相比之下，Nur77-LBD-化合物4和Nur77-化合物5复合物在模拟过程中显示出明显的波动，尽管都低于3.0 Å。尤其是Nur77-LBD－化合物4复合物体系中，观察到配体相对于蛋白主链发生反复的位置迁移，所以导致该复合物在500 ns模拟中仍无法达到良好的平衡状态，这种行为提示了蛋白与化合物4结合亲和力可能有限。有趣的是，化合物3尽管总体收敛，但仍显示出有RMSD瞬时尖峰，其中在约100 ns和410 ns附近出现了2个明显的构象转移事件，这种局部不稳定性可能反映了配体诱导的构象调整过程，该体系最终在模拟的最后80 ns内收敛至稳定构象。化合物29在Cα RMSD中显示出最大的偏差，在稳定性方面明显弱于另一参考化合物13。

在所有复合物中，"Lig fit Lig"图一致显示非常低的RMSD(<1 Å)，确认配体在模拟过程中保持其内在构象完整性。因此，"Lig fit Prot"中观察到的波动主要反映结合姿势稳定性而不是配体灵活性。因此，综合来看，这7种化合物从RMSD结果的结合稳定性是：化合物13≈化合物1、2和3>化合物5≈化合物29>化合物4。

RMSF是表征沿蛋白质链的局部变化的重要指标，模拟体系的RMSF结果如附图6所示。所有Nur77-配体复合物的核心结构区域的α螺旋H1~H8均保持稳定，证明配体结合域的基本结构框架在所有模拟中保持完整，显著的波动位于H9和H10之间以及H12区域的Loop区(附图6)。与其他化合物相比，化合物29明显稳定H9与H10之间的Loop区域，但在H12上诱导明显的波动。同样，化合物3、化合物13和化合物29结合Nur77-LBD后的H12区域都显示了类似的影响，使其更加灵活。化合物1、化合物2和化合物4结合Nur77-LBD后明显增加H9/H10环的波动，而化合物3、化合物5、化合物13和化合物29稳定环。值得注意的是，化合物13独特地稳定了H1螺旋，其稳定效应明显强于其他化合物。上述差异性行为可归因于不同化合物结构与结合位点内分布的关键残基之间的相互作用差异。

附图7相互作用统计直方图总结了Nur77-LBD与每个配体在整个分子动力学模拟过程中相互作用频率和类型，包括氢键、疏水相互作用、离子相互作用和水桥相互作用。其中，条形图显示每个残基-配体接触在轨迹期间的持续频率，而2D图突出显示介导相互作用的主要残基(百分数为该相互作用在模拟过程中出现的频率)。在所有复合物中，Nur77-LBD-化合物3复合物表现出最多数量的氢键和水桥相互作用，以此共同形成稳健的相互作用网络。相比之下，Nur77-LBD-化合物1(附图7A)和Nur77-LBD-化合物29复合物(附图7G)之间的接触几乎由疏水相互作用主导，而Nur77-LBD与化合物2、化合物3复合物的相互作用表现出持续性和频繁性，以疏水相互作用为主并辅以稳定氢键的支持。Nur77-LBD-化合物13也表现出较为有利的相互作用频率(附图7F)，尽管不如化合物3明显，以疏水相互作用为主，它得到频繁和稳定的水桥键支持，与附图5中所表现的RMSD稳定性一致。Nur77-LBD-化合物4和化合物5复合物中直接氢键的数量较少，疏水相互作用更为显著，化合物4和Nur77-LBD之间的氢键网络更可能依赖于水桥介导的相互作用。化合物29与Nur77-LBD之间的相互作用以间歇性的疏水相互作用为主，伴随少量且持续性较低的氢键相互作用。

为深入显示模拟后期化合物与蛋白质受体之间发生相互作用后的变化情况，使用PyMOL软件进行分子动力学模拟结果的可视化。笔者从7个

Nur77复合物的MD轨迹中提取了第400 ns、第450 ns和第500 ns的瞬时快照结构（附图8~9）。

Nur77-LBD-配体复合物的不同时间瞬时构象叠加分析（附图8）揭示了7个化合物在构象稳定性方面的显著差异，该结果与RMSD及相互作用概况分析所得到的结论高度一致。在模拟过程中，化合物1表现出一定程度的位置波动，并经历了显著的结合模式重排。其中，其呋喃环从初始取向逐渐转向螺旋H5附近，并进一步定位于由螺旋H8、H9和H10形成的表面区域。然而，其4-CF_3-苯基取代基始终保持嵌入结合口袋内的疏水通道中，并且在最后50 ns，化合物1的结合姿势都保持稳定，姿势与参考化合物13类似一致。该结果也解释了附图7所示化合物1与化合物13与Nur77-LBD相互作用分布类似的原因，二者与Nur77-LB的疏水相互作用都主要集中于疏水通道中的亮氨酸Leu506、Leu509与缬氨酸Val510，螺旋H9上的丙氨酸Ala532、亮氨酸535附近，螺旋H10亮氨酸Leu555至559附近等3簇（附图7A与7F）。相比于化合物13的3-甲基苯甲酰基，化合物1深入疏水通道中的4-CF_3-苯基疏水性更优，避免了在疏水空间内与溶剂水分子形成水桥相互作用而引起熵惩罚。而进一步结合附图9C和9G，得益于结构中的吲唑环，可见化合物1在疏水空腔外的结构部分与结合口袋的接触面较大于化合物13。

对于化合物2，通过对比初始构象、400 ns、450 ns以及最终帧的构象可观察到，配体在模拟早期经历了结合姿势的调整后逐渐收敛至稳定的平衡构象，表明体系找到了更具能量优势的结合姿势。化合物3在整个模拟轨迹中表现出高度稳定的结合行为，这与其较小的RMSD波动范围相一致，符合其与Nur77-LBD之间存在的稳定的氢键和疏水相互作用结果。化合物13的结合姿势同样保持相对稳定，其构象快速收敛，并与其平稳的RMSD变化趋势及较为保守的相互作用模式一致；在整个模拟过程中，其最终结合构象与初始构象几乎重合。较为出乎意料的是，构象提取结果显示化合物29的结合姿势整体漂移较小，并在模拟结束时实现了良好的构象收敛。相比之下，化合物4和化合物5均表现出明显的结合姿势变化，并在模拟最后50 ns内分别收敛至与初始构象不同的替代结合模式。

为了进一步更清楚地说明导致附图9所示的结果，直观展示配体与蛋白之间的空间互补性，Nur77-LBD以分子表面（molecular surface）特征显示。化合物2（附图9A）和化合物3（附图9B）在MD模拟后采用相似的结合模式，在结合位点表面延伸，但通过H-键的帮助稳定锚定（附图7B~C）。化合物1、4、5、13和29采用另一种结合模式（附图9C~G），结构中的一半部分锚定在位点C的疏水空腔中，另一部分暴露于溶剂中，存在极性相互作用，这些结果突出显示了这5个化合物在Nur77-LBD位点C疏水空腔内的形状互补结合特征，进一步解释了为何化合物1、13和29尽管主要依赖空腔内的疏水相互作用却仍可保持稳定结合。此外，也说明了化合物4和5较大的RMSD波动可能归因于它们较小的分子体积，以及其关键相互作用基团主要分布于结合口袋疏水通道之外。

本文以MM/GBSA分析评估7个化合物配体与蛋白受体之间的结合自由能，7个模拟体系的MM/GBSA能量分解结果如附图10所示。结合自由能变化（dG_bind）的计算基于分子动力学模拟最后100 ns轨迹，选取第400 ns、第450 ns和第500 ns 3个时间点进行评估。在化合物1~5，与Nur77-LBD结合的体系中，复合物的平均结合自由能分别为−60.84、−45.57、−43.83、−56.12和−53.06 kcal·mol^{-1}，而参考化合物13和29的结合自由能分别为−65.71和−59.28 kcal·mol^{-1}（见附图10和表2）。MM/GBSA计算表明化合物1、化合物4和化合物5的结合自由能与参考化合物13和29相对接近（分别为−60.84、−56.12和−53.06 kcal·mol^{-1}，对照组为−65.71和−59.28 kcal·mol^{-1}），提示其具有较好的结合能力的潜力。能量分解分析进一步显示，范德华相互作用和亲脂（疏水）接触是所有化合物结合亲和力的主要贡献因素，其中化合物1的结合自由能较弱于化合物13的主要原因是由结构总体脂溶性较低所导致。相比之下，化合物2和化合物3表现出相对较弱的结合自由能（分别为−45.57和−43.83 kcal·mol^{-1}），这主要归因于该2个化合物与Nur77-LBD之间的范德华相互作用和亲脂接触的减少，可能源于其结构未能与结合位点的几何特征形成最优互补。

此外，氢键贡献在所有复合物中总体较小，这一结果与前述相互作用分析中观察到的多数相互作用通过水桥介导且具有瞬态特征的现象一致。这表明，尽管氢键有助于提高结合特异性，但总体结合亲和力主要由疏水相互作用和形状互补性所驱动。

表2　Nur77-LBD与7种化合物的结合自由能（kcal·mol^{-1}）

化合物ID	平均dG-bind/kcal·mol^{-1}	平均dG-bind Hbond /kcal·mol^{-1}	平均dG-bind vdW /kcal·mol^{-1}	平均dG-Solv-GB /kcal·mol^{-1}	平均dG-bind Lipo /kcal·mol^{-1}
1	−60.84	0.00	−49.82	−14.98	−23.98
2	−45.57	−0.52	−39.01	−24.21	−14.81
3	−43.83	−1.79	−29.35	−18.61	−13.56
4	−56.12	−0.51	−43.30	−18.79	−26.01
5	−53.06	−0.52	−40.58	−11.60	−19.95
13	−65.71	0.00	−54.37	−16.16	−27.35
29	−59.28	0.00	−47.1	−13.29	−24.99

4　讨论

孤儿核受体Nur77（NR4A1/TR3）作为即刻早期反应基因家族成员，在免疫调控、肿瘤发生发展及炎症相关疾病中展现出重要的生物学功能和治疗潜力。作为转录因子，Nur77通过调控促炎信号通路、细胞代谢及细胞命运决定过程维持免疫稳态。在肿瘤相关研究中，Nur77不仅参与T细胞选择与成熟过程，还在调节抗肿瘤免疫反应中发挥关键作用，其活性调控被认为是增强肿瘤免疫治疗效果的潜在策略。因此，开发针对Nur77的特异性配体，对于推动其临床转化具有重要意义。

基于Nur77的重要生物学功能，本研究采用结构基础的虚拟筛选策略，从DrugBank数据库中筛选潜在的Nur77-LBD配体。经过分子对接筛选和聚类分析后，选取5种候选化合物，并以已报道的配体13和29作为参考分子进行分子动力学模拟评估。综合构象稳定性分析显示，化合物1在模拟过程中表现出更加稳定的结合姿势、较低且平稳的RMSD波动、持续的关键氢键相互作用、稳健的疏水包埋效应以及有利的MM/GBSA结合自由能，其整体结合优势优于化合物2~5，并与参考配体13和29相当，提示其在结构层面具有良好的配体潜力。化合物1（DrugBank ID：DB14995）近年来主要研究集中于肿瘤细胞迁移和细胞骨架重塑调控。然而，Nur77在肿瘤生物学中发挥的作用则更加上游和多层级。已有研究表明，Nur77可参与Bcl-2介导的线粒体凋亡通路调控，影响AKT/MAPK信号轴活性，并调节与上皮间质转化（EMT）相关的转录程序，从而影响肿瘤细胞存活、增殖及转移潜能。因此，若化合物1能够通过稳定Nur77构象或调节其转录活性发挥作用，其下游效应可能涉及凋亡增强、增殖信号重塑以及EMT相关基因表达变化，从而在肿瘤进展过程中产生系统性影响。

相较于直接干预细胞骨架结构以抑制迁移行为的策略，靶向Nur77可能作用于肿瘤调控网络的转录层面，从上游调节多条与肿瘤发生和转移相关的信号通路，理论上具有更广泛的调控潜力。尽管上述生物学效应仍需进一步体内外实验验证，本研究从结构与动力学角度为化合物1作为Nur77潜在调节剂提供了计算层面的支持，也为后续Nur77靶向小分子的理性优化和功能验证奠定了理论基础。

此外值得强调的是，这些化合物来源于已经过成药性验证的DrugBank数据库，在药物安全性、成药性和结构稳定性上有一定的保证。这使得后续的实验验证具有更强的临床转化潜力。这些新鉴定的骨架扩展了Nur77调节剂的化学空间，提供基于这些骨架的基于SMART的相似性搜索策略也可以进一步用于从其他化合物库中识别和评估类似物，从而扩展Nur77靶向配体发现的化学空间。这些工作不仅验证了虚拟筛选方法在Nur77配体发现中的有效性，更为将Nur77的生物学研究转化为实际的临床治疗手段提供了重要的化合物基础。然而，这些结果仍需要在实验中得到验证，并进行更深入的实验研究。

附图1~10见本文知网页面。

参考文献

[1] Cui C B, Wang X R, Zheng Y, *et al*. Nur77 as a novel regulator of Paneth cell differentiation and function [J]. Mucosal Immunol, 2024, 17(4): 752-767.

[2] Lith S C, van Os B W, Seijkens T T P, *et al*. 'Nur' turing tumor T cell tolerance and exhaustion: Novel function for Nuclear Receptor Nur77 in immunity[J]. Eur J Immunol, 2020, 50(11): 1643-1652.

[3] Lith S C, Evers T M J, Freire B M, *et al*. Nuclear receptor Nur77 regulates immunomechanics of macrophages [J]. Eur J Cell Biol, 2024, 103(2): 151419.

[4] Evans P C. Nur77: Orphaned at birth but adopted by the nuclear factor kappaB signaling pathway[J]. Circ Res, 2009, 104(6): 707-709.

[5] Hamers A A J, Hanna R N, Nowyhed H, *et al*. NR4A nuclear recep-

tors in immunity and atherosclerosis[J].Curr Opin Lipidol,2013,24(5):381-385.
[6] McMorrow J P,Murphy E P. Inflammation: a role for NR4A orphan nuclear receptors [J].Biochem Soc Trans,2011,39(2):688-693.
[7] Lith S C,de Vries C J M. Nuclear receptor Nur77:its role in chronic inflammatory diseases[J].Essays Biochem,2021,65(6):927-939.
[8] Zhu F R,Ma J,Li W T,*et al*.The orphan receptor Nur77 binds cytoplasmic LPS to activate the non-canonical NLRP3 inflammasome [J].Immunity,2023,56(4):753-767.e8.
[9] Wang Z L,Benoit G,Liu J S,*et al*.Structure and function of Nurr1 identifies a class of ligand-independent nuclear receptors[J]. Nature,2003,423(6939):555-560.
[10] Flaig R,Greschik H,Peluso-Iltis C,*et al*.Structural basis for the cell-specific activities of the NGFI-B and the Nurr1 ligand-binding domain[J].J Biol Chem,2005,280(19):19250-19258.
[11] Reddy A T,Lakshmi S P,Nyunoya T,*et al*.Comprehensive characterization of a novel small-molecule activator for the nuclear receptor Nur77: chemical, molecular, and biological insights[J]. Eur J Pharmacol,2024,982:176945.
[12] Zhan Y Y,Du X P,Chen H Z,*et al*.Cytosporone B is an agonist for nuclear orphan receptor Nur77[J]. Nat Chem Biol, 2008, 4(9): 548-556.
[13] Collins C A,Waller C,Batourina E,*et al*.Nur77 protects the bladder urothelium from intracellular bacterial infection[J].Nat Commun, 2024,15(1):8308.
[14] Ismaiel M,Murphy B,Aldhafiri S,*et al*.The NR4A agonist, Cytosporone B,attenuates pro-inflammatory mediators in human colorectal cancer tissue *ex vivo*[J].Biochem Biophys Res Commun, 2021,554:179-185.
[15] Yang P B,Hou P P,Liu F Y,*et al*.Blocking PPARγ interaction facilitates Nur77 interdiction of fatty acid uptake and suppresses breast cancer progression[J].Proc Natl Acad Sci USA,2020,117(44):27412-27422.
[16] Zhan Y Y,Chen Y,Zhang Q,*et al*.The orphan nuclear receptor Nur77 regulates LKB1 localization and activates AMPK[J]. Nat Chem Biol,2012,8(11):897-904.
[17] Wang W J,Wang Y,Chen H Z,*et al*.Orphan nuclear receptor TR3 acts in autophagic cell death *via* mitochondrial signaling pathway [J].Nat Chem Biol,2014,10(2):133-140.
[18] Li L,Liu Y,Chen H Z,*et al*.Impeding the interaction between Nur77 and p38 reduces LPS-induced inflammation[J].Nat Chem Biol,2015,11(5):339-346.
[19] Vinayavekhin N,Saghatelian A. Discovery of a protein-metabolite interaction between unsaturated fatty acids and the nuclear receptor Nur77 using a metabolomics approach[J].J Am Chem Soc,2011, 133(43):17168-17171.
[20] Lakshmi S P,Reddy A T,Banno A,*et al*.Molecular,chemical,and structural characterization of prostaglandin A2 as a novel agonist for Nur77[J].Biochem J,2019,476(19):2757-2767.
[21] Zhang D,Chen Z W,Hu C C,*et al*.Celastrol binds to its target protein *via* specific noncovalent interactions and reversible covalent bonds[J].Chem Commun,2018,54(91):12871-12874.
[22] Chintharlapalli S,Burghardt R,Papineni S,*et al*. Activation of Nur77 by selected 1,1-Bis(3′-indolyl)-1-(p-substituted phenyl) methanes induces apoptosis through nuclear pathways[J]. J Biol Chem,2005,280(26):24903-24914.
[23] Hedrick E,Li X,Cheng Y T,*et al*.Potent inhibition of breast cancer by bis-indole-derived nuclear receptor 4A1 (NR4A1) antagonists [J].Breast Cancer Res Treat,2019,177(1):29-40.
[24] Chen X H,Tu X H,Zhang X D,*et al*.SAR study of oxidative DIMs analogs targeting the Nur77-mediated apoptotic pathway of cancer cells[J].Bioorg Chem,2022,129:106156.
[25] Chen Z W,Zhang D,Yan S W,*et al*.SAR study of celastrol analogs targeting Nur77-mediated inflammatory pathway[J]. Eur J Med Chem,2019,177:171-187.
[26] Shrestha R,Mohankumar K,Martin G,*et al*.Flavonoids kaempferol and quercetin are nuclear receptor 4A1 (NR4A1,Nur77) ligands and inhibit rhabdomyosarcoma cell and tumor growth[J]. J Exp Clin Cancer Res,2021,40(1):392.
[27] Chen J,Zhao T G,Hong W B,*et al*.Discovery of a novel exceptionally potent and orally active Nur77 ligand NB1 with a distinct binding mode for cancer therapy[J]. Acta Pharm Sin B,2024,14(12): 5493-5504.
[28] Ao M T,Zhang J Y,Qian Y Q,*et al*. Design and synthesis of adamantyl-substituted flavonoid derivatives as anti-inflammatory Nur77 modulators: compound B7 targets Nur77 and improves LPS-induced inflammation *in vitro* and *in vivo*[J].Bioorg Chem,2022, 120:105645.
[29] Qin J B,Chen X H,Liu W H,*et al*.Discovery of 5-((4-(pyridin-3-yl)pyrimidin-2-yl)amino)-1H-indole-2-carboxamide derivatives as novel anti-cancer agents targeting Nur77[J].Eur J Med Chem, 2022,244:114849.
[30] Hu H Y,Lin G,He F M,*et al*. Design,synthesis,and biological evaluation of carbonyl-hydrazine-1-carboxamide derivatives as anti-hepatic fibrosis agents targeting Nur77[J]. Bioorg Chem, 2023, 140:106795.
[31] Stiller T,Merk D. Exploring fatty acid mimetics as NR4A ligands [J].J Med Chem,2023,66(22):15362-15369.
[32] Wang Y T,Li N,Guan W W,*et al*.Controversy and multiple roles of the solitary nucleus receptor Nur77 in disease and physiology [J].FASEB J,2025,39(6):e70468.
[33] Arifi S,Zaienne D,Heering J,*et al*.Fragment-based discovery of orphan nuclear receptor Nur77/NGFI-B ligands[J].Bioorg Chem, 2022,129:106164.
[34] Ding X Y,Zhao Z J,Wu Y,*et al*.Identification of novel anti-inflammatory Nur77 modulators by virtual screening[J]. Bioorg Chem, 2021,112:104912.
[35] Proceedings of the 2006 ACM/IEEE conference on supercomputing [M]. Tampa,Florida: Association for Computing Machinery, 2006.

(收稿日期:2026-02-01;在线出版日期:2026-04-10)