

研究简报 ·

表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂的药效团研究

彭 涛 裴剑锋 周家驹^{* *}

(中国科学院过程工程研究所 北京 100080)

摘要 根据一系列表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂的三维定量构效关系研究,得到了该类抑制剂的药效团,研究结果与 Novartis 的药效团模型相当类似.药效团包括一个氢键受体,一个氢键给体,一个疏水区和一个带有氯或溴原子的苯环.该药效团对于研究表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂结构与活性的关系具有重要的意义.通过三维数据库搜索可能会得到新的先导化合物.

关键词 药效团,表皮生长因子受体,酪氨酸激酶抑制剂,活性位点

Pharmacophore Analysis of Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors

PENG, Tao PEI, Jian-Feng ZHOU, Jia-Ju^{*}

(Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080)

Abstract A three-dimensional pharmacophore of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors was obtained based upon 3D-QSAR of a series of these inhibitors. The result was accordant with the pharmacophore model given by the scientists at Novartis. The pharmacophore included a hydrogen bond receptor, a hydrogen bond donor, a hydrophobic area and a phenyl ring with a chlorine or a bromine atom. This pharmacophore is very useful for clarifying the structure-activity relationships of EGFR tyrosine kinase inhibitors. Some lead compounds may be acquired through three-dimensional database searching.

Keywords pharmacophore, EGFR, tyrosine kinase inhibitor, active site

酪氨酸激酶在一系列细胞活动的信号传导途径中起着重要的作用.很多类型的肿瘤因为有功能紊乱的生长因子受体酪氨酸激酶,从而导致不正确的有丝分裂信号.因此在包括癌症和其他许多疾病的治疗研究中,酪氨酸激酶都是研究的目标和对象^[1].大约十年以前,很多药物公司刚刚开始研究信号传导的时候,表皮生长因子受体(EGFR)酪氨酸激酶是在文献中最早描述的一个酪氨酸激酶,因此也成为了药物发现的靶点.在为数众多、结构各异的酪氨酸激酶抑制剂中,有一类引起了人们特别的研究兴趣,那就是和 ATP 竞争与激酶催化区域结合的化合物,人们公认激酶的 ATP 作用位点是药物设计中引人注目的研究对象.数以百计的结构各异的化合物被证实为高效的、有选择性的 ATP 竞争性的酪氨酸激酶抑制剂^[2~5].尽管近几年已知 30 多种酪氨酸激酶与

ATP 或 ATP 竞争性抑制剂的复合物的晶体结构,但目前还没有获得任何一种 EGFR 酪氨酸激酶的晶体结构.因此通过进行 3D-QSAR 研究进而得到该类抑制剂的药效团具有重要的现实意义,在药效团的基础上结合数据库搜索,可能会得到新的先导化合物.

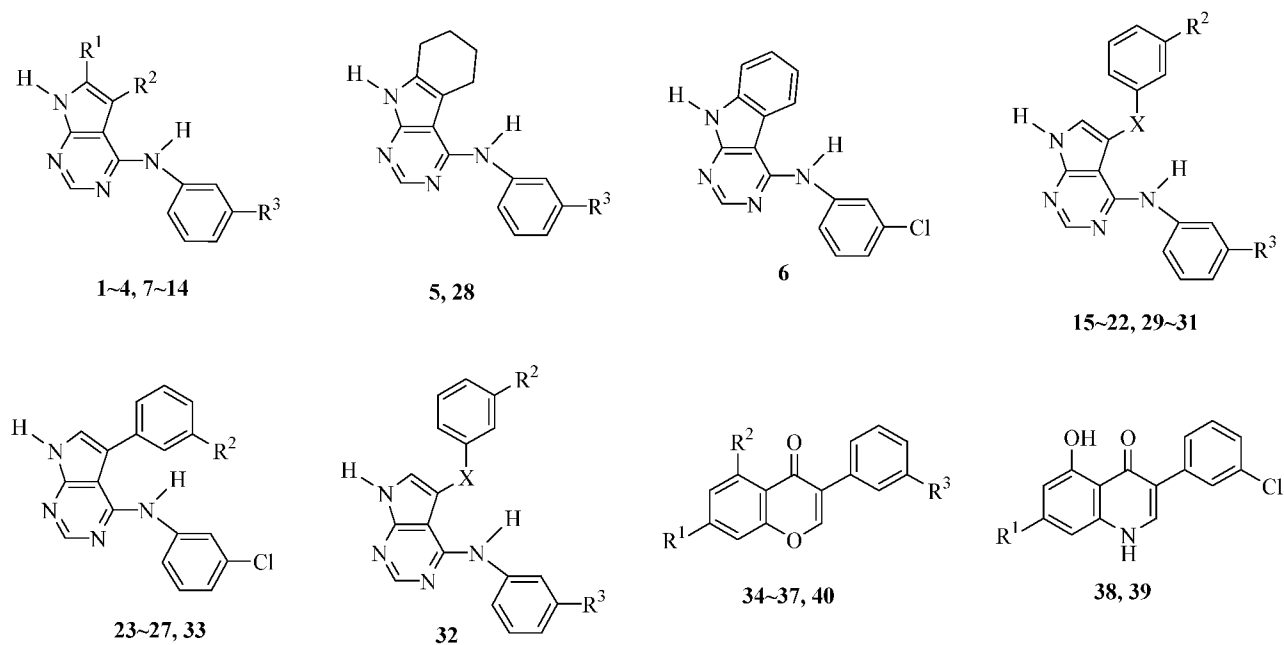
1 方法

进行 3D-QSAR 研究化合物的结构和活性均有文献报道^[6~9],分子结构见图式 1,生物活性见表 1.用柔性原子受体模型(flexible atom receptor model, FLARM)方法^[10]来进行 3D-QSAR 研究和活性位点的预测.

* E-mail: jjzhou@icp.ac.cn

Received July 9, 2002; revised October 14, 2002; accepted December 8, 2002.

国家基础研究发展规划基金(No. G1998051115)资助项目.



图式 1 酪氨酸激酶抑制剂的结构

Scheme 1 The structures of tyrosine kinase inhibitors

表 1 酪氨酸激酶抑制剂的实验活性与计算活性

Table 1 Experimental and calculated biological activity of tyrosine kinase inhibitors

No.	R ¹	R ²	R ³	X	pIC ₅₀ (Exp.)	pIC ₅₀ (FLARM)	Residue
1	CH ₃	CH ₃	Cl		7.57	7.60	- 0.03
2	C ₆ H ₅	CH ₃	Cl		7.82	7.75	0.07
3	CH ₃	C ₆ H ₅	Cl		6.64	6.89	- 0.25
4	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	Cl		7.02	7.17	- 0.15
5			Cl		7.54	7.44	0.10
6					8.22	8.09	0.13
7	CONHCH ₃	H	Cl		8.52	8.37	0.15
8	C ₅ NH ₄	H	Cl		8.15	8.21	- 0.06
9	C ₆ H ₅ OCH ₃	H	Cl		7.82	7.90	- 0.08
10	C ₆ H ₅ OH	H	Cl		8.52	8.49	0.03
11	<i>p</i> -C ₆ H ₅ NH ₂	H	Cl		8.52	8.66	- 0.14
12	<i>m</i> -C ₆ H ₅ NH ₂	H	Cl		8.40	8.53	- 0.13
13	C ₆ H ₅ COOH	H	Cl		9.00	9.04	- 0.04
14	CH ₃	CH ₃	Br		7.60	7.66	- 0.06
15		<i>m</i> -Cl	Cl	NH	7.48	7.36	0.12
16		<i>m</i> -OH	Cl	NH	9.00	8.86	0.14
17		<i>m</i> -OCH ₃	Cl	NH	8.10	8.42	- 0.32
18		<i>p</i> -NH ₂	Cl	NH	8.30	8.54	- 0.24
19		H	Cl	NHCH ₂	8.15	8.08	0.07
20		<i>m</i> -Cl	Cl	NHCH ₂	7.59	7.48	0.11
21		<i>m</i> -OCH ₃	Cl	NHCH ₂	8.10	7.77	0.33
22		<i>m</i> -NH ₂	Cl	NHCH ₂	8.52	8.17	0.35
23		<i>p</i> -OH			8.22	8.35	- 0.13
24		H			7.72	7.52	0.20
25		<i>p</i> -OCH ₃			7.02	7.23	- 0.21

续表

No.	R ¹	R ²	R ³	X	pIC ₅₀ (Exp.)	pIC ₅₀ (FLARM)	Residue
26		<i>m</i> -OH			7.59	7.63	- 0.04
27		<i>m</i> -NH ₂			8.30	8.22	0.08
28			Br		7.34	7.48	- 0.14
29		<i>m</i> -Cl	Cl	NH	6.89	6.74	0.15
30		<i>p</i> -OH	Cl	NH	8.10	8.33	- 0.23
31		<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	Cl	NH	7.54	7.66	- 0.12
32		<i>p</i> -OCH ₃	Cl	NH	8.15	8.11	0.04
33		<i>p</i> -NH ₂			8.70	8.50	0.20
34	OH	OH	<i>m</i> -Cl		7.02	6.33	0.69
35	OH	OCH ₃	<i>m</i> -C		5.90	5.85	0.05
36	OCH ₃	OCH ₃	<i>m</i> -C		3.30	3.39	- 0.09
37	H	OH	<i>m</i> -C		4.23	4.48	- 0.25
38	OH	OCH ₃			7.42	7.59	- 0.17
39	OH	OH			8.10	8.34	- 0.24
40	OH	OH	<i>p</i> -OH		6.00	5.99	0.01

FLARM 是一种采用遗传算法的虚拟受体模型方法^[6]. FLARM 计算需要用户先用其它方法选取分子构象, 计算分子的部分原子电荷以及用一套规则来叠加分子, 最后把它们存储为 mol2 文件格式. 分子叠加时以化合物 1 为模板. 把全部化合物的叠加结果作为 FLARM 方法计算的输入, 进行计算. 计算时配体分子和受体之间的间隔为 0.05 nm, 受体最大原子数目为 45 (由于有大量空原子, 实际为 20 左右), 遗传群体数为 120, 遗传终止条件为交叉验证的相关系数达到 0.88.

2 结果与讨论

2.1 药效团的初步定义

根据 Novartis 的药效团模型^[6], 酪氨酸激酶中的 ATP 作用位点可以分成 5 个区域: 腺嘌呤区域、糖口袋、疏水区、疏水区 和磷酸盐作用区, 其中后两个作用区域对于配体 - 受体相互作用的亲和力不是特别重要, 可以用来提高抑制剂的选择性, 腺嘌呤区域、糖口袋和疏水区 对于抑制剂来说则是相当重要的作用位点. 腺嘌呤区域是强烈的疏水区域, 在 EGFR 酪氨酸激酶中, ATP 腺嘌呤环的 N(1) 和 N(6) 这两个氮原子和关键区域的两个氨基酸残基 (Gln 767 和 Met 769) 形成了两个氢键作用. 在大多数酪氨酸激酶中, 糖口袋是疏水性的. 糖口袋的氨基酸残基 Cys 773 上的 S 原子和芳环之间存在相互作用. 这个 Cys 773 残基仅仅存在于 EGFR 家族的激酶中, 它同时造成了抑制剂的高效性和选择性. 疏水区的方向与腺嘌呤中 N(7) 原子上孤对电子的方向一致. 在大多数酪氨酸激酶中并没有使用疏水区, 因此为药物化学家设计新的抑制剂提供了诸多可能性. 在 EGFR 酪氨酸激酶中, 它的大小取决于两个主要的氨基酸残基, Thr 766 和 Thr 860, 因此在抑制剂的选择性上起着重要的作用. 综上所述, EGFR 酪氨酸激酶的 ATP 竞争性抑制剂的药效团可以归结

为两个氢键、一个芳香环氯 (或溴) 原子和一个疏水区, 这从酪氨酸激酶抑制剂的 3D-QSAR 研究结果中也可以体现出来. FLARM 方法对于化合物 1~40 的计算模型中包含两个氢键相互作用, 一个疏水区和疏原子与芳环之间的相互作用^[11], 这也说明它们对于配体 - 受体相互作用的重要性, 因此, 我们可以定义如图 1 所示的药效团, 其中 Hd 为氢键给体, Hr 为氢键受体, Hy 为疏水区, d_1 , d_2 , d_3 , d_4 , d_5 和 d_6 分别为这四个部分之间的距离.

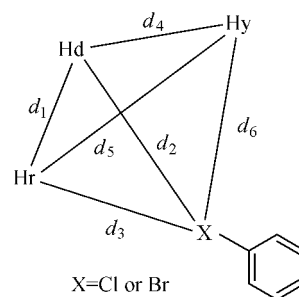


图 1 药效团的初步定义

Figure 1 The preliminary definition of pharmacophore

从 FLARM 方法计算出的虚拟受体模型中可以看出受体和配体之间可能的相互作用, 即活性位点. 其研究结果与 Novartis 的药效团模型是很类似的. Novartis 的药效团模型是基于蛋白质同源性得到的, 由于缺乏 EGFR 酪氨酸激酶的晶体结构, 因此这个药效团模型目前还只是一个假设. FLARM 方法属于虚拟受体模型方法, 它是由已知活性的配体分子结构来建立假想的受体作用位点, 属于受体结构未知情况下的 3D-QSAR 方法. 虚拟受体模型和 Novartis 药效团模型得到的方法是截然不同的, 但结果却很类似, 这一方面说明这二者之间彼此可以相互验证, 另一方面也说明在进行计算机辅助

药物设计时应该尽可能地利用各种方法来获取更有效和更可信的模型和结果.

2.2 药效团的精确定义

为了获取在药效团初步定义中距离限制的具体值,对化合物 1~40 中相应的距离进行了分析和统计. 化合物 1~40 中 d_1 , d_2 , d_3 的数值如表 2 所示,单位为 nm. 对全部化合物的 d_1 , d_2 , d_3 求平均值和其偏差,可以得出如下结果: $d_1 = (0.36 \pm 0.15)$ nm, $d_2 = (0.92 \pm 0.25)$ nm, $d_3 = (0.80 \pm 0.15)$ nm. 化合物 8~13, 16~18 的活性普遍都比较高,并且所有化合物中活性最高的两个化合物 13 和 16 也在其中,这可能与这些化合物相应取代基团的疏水性都比较强有关. 这些化合物中 d_4 , d_5 和 d_6 的数值如表 3 所示,对其求平均值和偏差,可以得出如下结果: $d_4 = (0.48 \pm 0.15)$ nm, $d_5 = (0.60 \pm 0.10)$ nm, $d_6 = (0.95 \pm 0.25)$ nm. 因此药效团的准确定义如图 3 所示,用该药效团在三维数据库中进行搜索,有可能得到结构全新的先导化合物.

表 2 化合物中 d_1 , d_2 , d_3 的数值

Table 2 The d_1 , d_2 , d_3 values in compounds

化合物	d_1 / nm	d_2 / nm	d_3 / nm
1	0.2455	0.9090	0.7477
2	0.2455	0.9125	0.7494
3	0.2455	0.9067	0.7388
4	0.2453	0.9054	0.7376
5	0.2456	0.9106	0.7492
6	0.2437	0.9459	0.9013
7	0.2453	0.9368	0.8443
8	0.2453	0.9373	0.8456
9	0.2453	0.7118	0.8023
10	0.2453	0.9374	0.8454
11	0.2453	0.9376	0.8458
12	0.2453	0.9378	0.8464
13	0.2453	0.9376	0.8457
14	0.2455	0.9165	0.7536
15	0.2449	0.7426	0.8177
16	0.2446	0.8861	0.8382
17	0.2448	0.9183	0.7669
18	0.2448	0.9161	0.7641
19	0.2456	0.9122	0.7466
20	0.2451	0.8967	0.7373
21	0.2456	0.9136	0.7475
22	0.2456	0.9133	0.7471
23	0.2449	0.8511	0.7267
24	0.2447	0.8043	0.7359
25	0.2447	0.9044	0.7359
26	0.2446	0.9085	0.7435
27	0.2450	0.7767	0.8197
28	0.2456	0.9184	0.7555
29	0.2449	0.7426	0.8177

续表

化合物	d_1 / nm	d_2 / nm	d_3 / nm
30	0.2448	0.9174	0.7663
31	0.2446	0.9217	0.7719
32	0.2456	0.9140	0.7483
33	0.2449	0.8498	0.7266
34	0.4850	1.1107	0.7392
39	0.4850	1.1300	0.8506

表 3 化合物中 d_4 , d_5 , d_6 的数值

Table 3 The d_4 , d_5 , d_6 values in compounds

化合物	d_4 / nm	d_5 / nm	d_6 / nm
8	0.3780	0.6216	1.1593
9	0.3857	0.6290	0.7473
10	0.3859	0.6293	1.1525
11	0.3856	0.5586	1.1526
12	0.3855	0.6289	1.1517
13	0.3861	0.6294	1.1544
16	0.5670	0.6164	0.7878
17	0.5621	0.6154	0.7762
18	0.5621	0.6150	0.7779

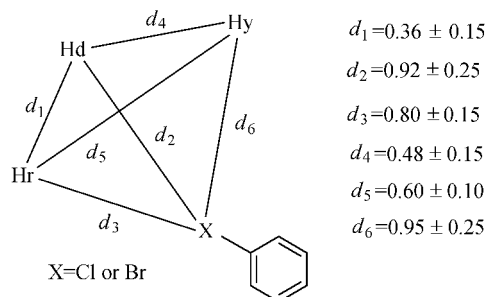


图 2 药效团的精确定义

Figure 2 The precise definition of pharmacophore

3 结论

根据对一系列 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂的三维定量构效关系研究,得到了该类抑制剂的药效团,研究结果与 Novartis 的药效团模型相当类似. 药效团包括一个氢键受体,一个氢键给体,一个疏水区和一个带有氯或溴原子的苯环. 该药效团对于研究表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂结构与活性的关系具有重要的意义. 采用三维柔性搜索软件如 3DFS^[12]等在数据库中进行搜索可能会得到新的先导化合物.

References

- 1 Bishop, J. M. *Science* **1987**, 235, 305.
- 2 Fry, D. W.; Kraker, A. J.; McMichael, A. *Science* **1994**,

- 265, 1093.
- 3 Sun, L.; Tran, N.; Tang, F.; App, H.; Hirth, P.; McMahon, G.; Tang, C. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 2588.
- 4 Hennequin, L.; Thomas, A.; Johnstone, C.; Stokes, E. S. E.; Ple, P. A.; Lohmann, J. M.; Ogilvie, D. J.; Dukes, M.; Wedge, S. R.; Curwen, J. O.; Kendrew, J. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 5369.
- 5 Palmer, B.; Trumpp-Kallmeyer, S.; Fry, D.; Nelson, J. M.; Showalter, H. D. H.; Denny, W. A. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1519.
- 6 Traxler, P.; Furet, P. *Pharmacol. Ther.* **1999**, *82*, 195.
- 7 Traxler, P.; Furet, P.; Mett, H.; Buchdunger, E.; Meyer, T.; Lydon, N. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2285.
- 8 Traxler, P.; Bold, G.; Frei, J.; Lang, M.; Lydon, N.; Mett, H.; Buchdunger, E.; Meyer, T.; Mueller, M.; Furet, P. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3601.
- 9 Traxler, P.; Green, J.; Mett, H.; Sequin, U.; Furet, P. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1018.
- 10 Pei, J.-F.; Zhou, J.-J. *Acta Chim. Sinica* **2002**, *60*, 973 (in Chinese).
(裴剑锋, 周家驹, 化学学报, **2002**, *60*, 973.)
- 11 Peng, T.; Pei, J.-F.; Zhou, J.-J. *Acta Chim. Sinica* **2003**, *61*, 29 (in Chinese).
(彭涛, 裴剑锋, 周家驹, 化学学报, **2003**, *61*, 29.)
- 12 Wang, T.; Zhou, J.-J. *J. Mol. Model.* **1999**, *5*, 231.

(A0207094 CHENG, B.)