

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00759

## 血管内皮细胞生长因子受体 2 抑制剂三维药效团模型的构建

陈 军<sup>1,2△</sup>, 黄晶晶<sup>1△</sup>, 郑灿辉<sup>1</sup>, 吕加国<sup>1</sup>, 周有骏<sup>1</sup>, 朱 驹<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学药学院药物化学教研室, 上海 200433

2. 成都军区总医院药剂科, 成都 610083

**[摘要]** **目的** 构建血管内皮细胞生长因子受体 2(VEGFR-2)抑制剂的三维药效团模型,为设计新型抑制剂建立理论模型。**方法** 应用 Discovery Studio 2.5 中的 Catalyst 模块,选取已确证结合于 VEGFR-2 活性腔、结合模式一致、抑制活性跨度 5 个数量级、结构具有多样性的 30 个抑制剂,其中 21 个分子作为训练集,余 9 个分子作为测试集产生三维药效团模型。**结果** 最优药效团模型由 1 个氢键受体、2 个疏水中心、1 个芳环平面和 4 个排斥体积组成,预测相关性  $R$  为 0.89。**结论** 交叉验证结果表明药效团模型具有较好的预测能力,可用于数据库搜索筛选结构新颖的抑制 VEGFR-2 的先导化合物。

**[关键词]** 血管内皮生长因子受体 2;抑制剂;药效团模型;抗肿瘤

**[中图分类号]** R 916.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)07-0759-04

### Construction of 3D pharmacophore model of vascular endothelial growth factor receptor 2 inhibitors

CHEN Jun<sup>1,2△</sup>, HUANG Jing-jing<sup>1△</sup>, ZHENG Can-hui<sup>1</sup>, LÜ Jia-guo<sup>1</sup>, ZHOU You-jun<sup>1</sup>, ZHU Ju<sup>1\*</sup>

1. Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Pharmacy, General Hospital, PLA Chengdu Military Area Command, Chengdu 610083, Sichuan, China

**[Abstract]** **Objective** To construct the three dimensional pharmacophore models of inhibitors of vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR-2), so as to provide a theoretical model for designing novel VEGFR-2 inhibitors. **Methods** The model was derived from 30 reported VEGFR-2 inhibitors (21 molecules as training set and the rest as testing set) with structural variety and resembling binding mode, whose  $IC_{50}$  values spanned 5 magnitudes by using Catalyst Software in Discovery Studio 2.5 Package. **Results** The best model consists of one hydrogen bond receptor, two hydrophobic cores, one aromatic plane and 4 excluded volumes. The predictive relativity ( $R$ ) was 0.89. **Conclusion** Cross-validation results indicate that the constructed model has satisfactory predictivity and can be used to screen molecule databases for searching novel lead compounds which can inhibit VEGFR-2.

**[Key words]** vascular endothelial growth factor receptor-2; pharmacophore model; antineoplastic agents

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(7): 759-762]

血管内皮细胞生长因子受体 2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR-2)属于受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)超家族,是体内血管生成生物信号转导的关键酶,与多种疾病如肿瘤、类风湿性关节炎、糖尿病性视网膜病变等密切相关<sup>[1]</sup>。肿瘤的生长和转移依赖于血管生成,肿瘤的多药耐药性也与血管生成有关<sup>[2]</sup>。因此,抑制 VEGFR-2 的信号转导已成为抗肿瘤研究中最活跃的研究领域之一<sup>[3]</sup>。

近 10 年来,大量新型 VEGFR-2 抑制剂被报道

出来<sup>[4-5]</sup>,同时,已有十多个 VEGFR-2 的激酶域与抑制剂的复合物的晶体结构被解析出来,这为我们深入理解 VEGFR-2 与抑制剂的作用机制提供了丰富的信息。为进一步研究 VEGFR-2 抑制剂的结构特征,确定其结构中对活性起关键性作用的药效团,以便为下一步设计、搜寻新型 VEGFR-2 抑制剂打下基础,本研究采用 Discovery Studio 2.5 中的 Catalyst 药效团模块构建 VEGFR-2 抑制剂的三维药效团模型,用于指导下一步新型结构的先导物的搜寻。

**[收稿日期]** 2012-02-24 **[接受日期]** 2012-05-07

**[基金项目]** 上海市浦江人才计划(09PJ1400300). Supported by Shanghai Pujiang Talent Project(09PJ1400300).

**[作者简介]** 陈 军,博士. E-mail: vegfr2@163.com; 黄晶晶,硕士生. E-mail: cpuhuangjj@126.com

△共同第一作者(Co-first authors).

\* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81871238, E-mail: zhujj@smmu.edu.cn

### 1 材料和方法

计算工作所用软件为 Accelrys 公司的 Discovery Studio 2.5 商用软件包,所用参数设定除特别指明外均为默认值。

从文献<sup>[6-16]</sup>报道中选择用于导出 3D 药效团模型的训练集分子,选取原则:有复合物晶体结构报道的被确证结合于 VEGFR-2 的 ATP 结合腔,结合模式相一致的抑制剂分子,活性值跨度在 5 个数量级范围内,活性相近的分子结构差异显著,结构相似的分子其活性至少要相差一个数量级,同一活性数量级内的分子数至少 3 个。共选取了 21 个训练集分子,其结构见图 1。

每一类分子的构建采用同类抑制剂与受体的复合物的晶体结构中的构象为模板,然后用 CHARMM 力场,能量优化流程进行构象能量优化,得到的分子构象作为训练集分子的药效构象。

根据 VEGFR-2 抑制剂与受体的作用模式主要是疏水作用和氢键相互作用,因此选择以下化学特征进行药效团模型构建:氢键受体(HBA),氢键供体(HBD),疏水中心(H),芳环平面(RA),最大排斥体积(E)个数设为 5,因训练集分子的活性数据来自不同实验室,因此活性数据的不确定度值设定为 3。活性最强的分子的权重参数 Principal 值设为 2,即以其结构为模板来进行训练集分子叠合,活性最差的分子的 Principal 值设为 0,其余分子的 Principal 值设为 1。

### 2 结果

为了得到具有统计学意义、预测准确性高、能较全面反映 VEGFR-2 抑制剂构效关系的药效团模型,我们选择不同的训练集分子、设定不同的药效团特征组合进行了多次计算及优化,结果较理想的前 10 个药效团模型参数见表 1。其 fixed cost 值为 83.29, null cost 值为 131.47,  $\Delta cost$  为 48.18。 $\Delta cost$  值在 40~60 之间,说明药效团模型在统计学意义上有 75%~90% 的可能反映了客观情况,configuration cost 值为 11.52,一般要求该值小于 17<sup>[17]</sup>。排在第一位的药效团模型 Hypo1 的相关性为 0.89。由于具有最大的  $\Delta cost$  值和最高的相关性,因此认为是所得到的最好的药效团模型。该模型由 1 个氢键受体、2 个疏水中心、1 个芳环平面和 4 个排斥体积(图 2)。使用该药效团模型对训练集和测试集分子进行活性预测,结果表明该模型具有较好的活性预测能力(表 2)。

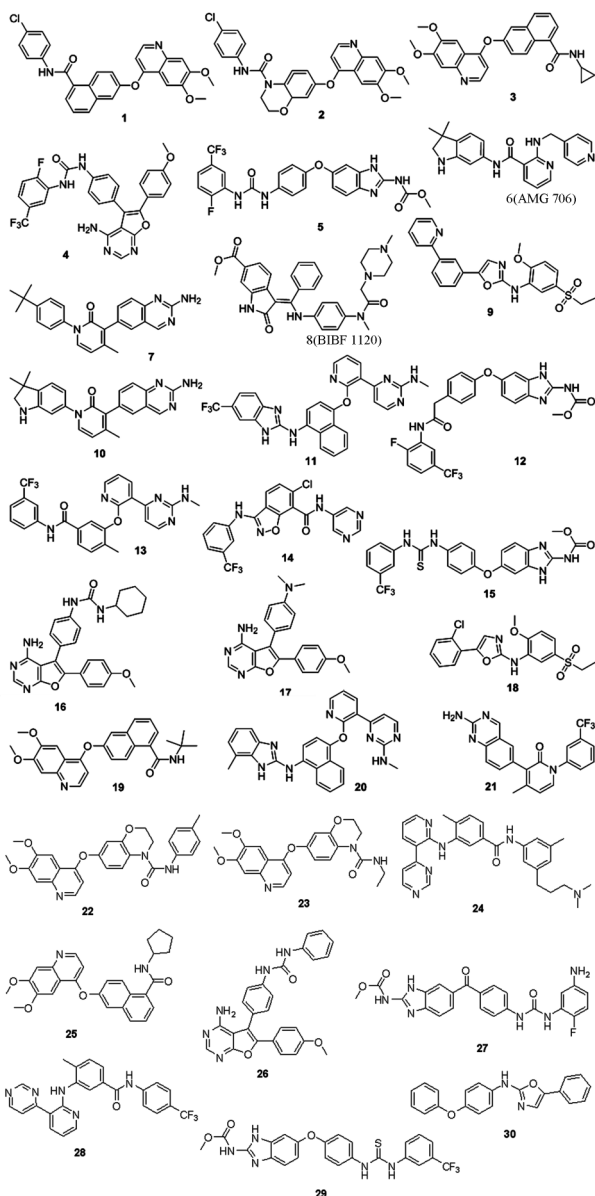


图 1 用于计算的 VEGFR-2 抑制剂的结构

Fig 1 Structures of the VEGFR-2 inhibitors

1-21 as training set molecule, 22-30 as testing set molecule

表 1 生成的 10 个药效团模型的参数

Tab 1 Results of top 10 pharmacophore hypotheses generated

Model	Features	Cost	RMS	R	Configuration cost
Hypo1	AHHRE <sub>1</sub>	98.94	1.13	0.89	11.52
Hypo2	AHRRE <sub>2</sub>	107.38	1.50	0.78	11.52
Hypo3	HHHR	112.41	1.66	0.73	11.52
Hypo4	HHRRE	112.58	1.66	0.73	11.52
Hypo5	AAHR	112.67	1.67	0.72	11.52
Hypo6	HHRRE	112.76	1.67	0.72	11.52
Hypo7	HHHR	113.39	1.69	0.71	11.52
Hypo8	AHHRE <sub>2</sub>	113.49	1.70	0.71	11.52
Hypo9	AHHRE <sub>2</sub>	114.50	1.72	0.70	11.52
Hypo10	HHRR	114.53	1.72	0.70	11.52

Fixed cost = 83.29, null cost = 131.47. RMS: Root mean square error; R: Relativity

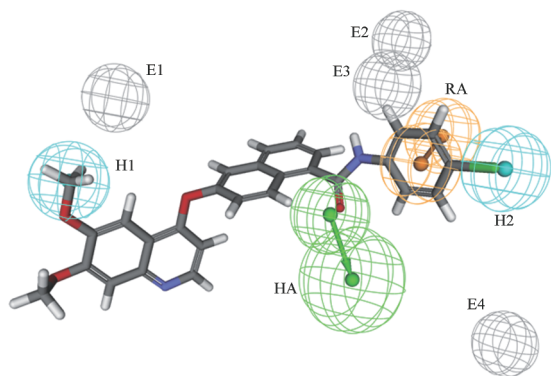


图 2 最佳药效团模型 Hypo1 与化合物 1 的叠合

Fig 2 The best pharmacophore model

Hypo1 mapping with compound 1

H1,H2: Hydrophobic core; HA: Hydrogen-bonding acceptor; RA: Aromatic plane; E1-E4: Exclusive volume

### 3 讨论

利用化合物的三维结构信息进行药物设计已经成为药物研发的重要手段。其中,Catalyst 是应用广泛的三维药效团模型方法,它通过已知的一组化合物的三维结构和生物活性数据生成药效团模型来描述化合物生物活性的共有特征。所建立的药效团模型可结合数据库搜索技术筛选可能具有该活性的化合物。

在构建药效团模型的过程中,训练集分子的选择直接影响所产生的药效团模型。虽然 Catalyst 是基于抑制剂分子的功效团建模方法,不需要受体分子的结构信息。然而,选择具有一致的结合模式的抑制剂分子对于最终的模型的可靠性仍是非常重要的。另外,不同药效团特征的选择和数目对于构建

表 2 药效团模型 Hypo1 对化合物活性值的预测

Tab 2 The activity prediction of compounds by pharmacophore model Hypo1

No.	IC <sub>50</sub> c <sub>B</sub> /(nmol · L <sup>-1</sup> )		Error	FitValue of Hypo1	Principal	FitValue of Model 2
	Actual	Estimate				
1	0.48	0.16	-2.94	8.75	2	2.52
2	0.5	0.97	1.94	7.97	2	2.26
3	0.6	6.48	10.80	7.15	2	1.56
4	3	13.58	4.53	6.83	2	3.46
5	3	3.48	1.16	7.42	2	2.37
6	3.5	19.26	5.50	6.68	2	3.33
7	11	8.78	-1.25	7.02	1	1.35
8	16	16.19	1.01	6.75	1	2.83
9	21	70.58	3.36	6.11	1	2.33
10	22	145.68	6.62	5.80	1	1.75
11	48	44.02	-1.09	6.32	1	1.36
12	59	114.43	1.94	5.90	1	2.24
13	69	28.86	-2.39	6.50	1	2.72
14	105	16.71	-6.28	6.74	1	2.92
15	186	135.89	-1.37	5.83	1	3.00
16	350	556.55	1.59	5.21	1	2.51
17	353	148.51	-2.38	5.79	1	2.20
18	360	202.48	-1.78	5.65	1	2.28
19	1 500	333.64	-4.50	5.44	0	1.90
20	1 570	536.55	-2.93	5.23	0	2.77
21	5 000	490.15	-10.20	5.27	0	0.98
22*	0.2	0.04	-4.88	9.35	-	2.01
23*	1	2.39	2.39	7.58	-	2.06
24*	2	2.81	1.40	7.51	-	2.52
25*	15	2.07	-7.25	6.60	-	1.78
26*	62	62.93	1.02	6.16	-	3.13
27*	105	468.96	4.47	5.29	-	2.22
28*	177	479.09	2.71	5.28	-	2.87
29*	9 500	495.77	-19.16	5.27	-	2.92
30*	10 000	1 601.91	-6.24	4.76	-	1.96

\* means testing set molecule

的模型也很重要。一般的方法往往尝试不同的药效团特征组合,根据结果选择一个最合适的组合。我们在选择时,根据这类抑制剂跟受体活性腔的结合模式,有针对性地选择了氢键供受体、疏水中心、芳环平面这4个药效团特征,再尝试加上不同数目的排斥体积进行计算。在我们的计算结果中,最优的效药团模型由1个氢键受体、2个疏水中心、1个芳环平面和4个排斥体积组成。这个结果跟我们以前对 VEGFR-2 活性腔的分析<sup>[18]</sup>工作进行比较可以发现,2个疏水中心药效团分别对应受体活性腔中2个疏水腔(由 Val846, Ala864, Val897, Val914, Phe916, Leu1033 组成的疏水腔 I 和由 Ile886, Leu887, Ile890, Val896, Val897, Leu1017, Ile1042 组成的疏水腔 II)。芳环平面可与疏水腔 I 中的 Phe916 的侧链形成  $\pi$ - $\pi$  相互作用,氢键受体药效团可与活性腔绞链区上的 Cys917 骨架上的 N-H 形成氢键相互作用。这说明了我们得到的药效团模型不仅在统计指标上符合要求,而且药效团特征的空间分布跟受体活性腔能很好地匹配,进一步说明所构建的药效团模型有较好的可靠性。

#### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] Olsson A K, Dimberg A, Kreuger J, Claesson-Welsh L. VEGF receptor signalling—in control of vascular function[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7: 359-371.
- [2] Folkman J. Angiogenesis[J]. *Annu Rev Med*, 2006, 57: 1-18.
- [3] Ferrara N. Vascular endothelial growth factor as a target for anticancer therapy[J]. *Oncologist*, 2004, 9(Suppl 1): 2-10.
- [4] Manley P W, Bold G, Bruggen J, Fendrich G, Furet P, Mestan J, et al. Advances in the structural biology, design and clinical development of VEGF-R kinase inhibitors for the treatment of angiogenesis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1697(1-2): 17-27.
- [5] Zhong H, Bowen J P. Molecular design and clinical development of VEGFR kinase inhibitors[J]. *Curr Top Med Chem*, 2007, 7: 1379-1393.
- [6] Miyazaki Y, Matsunaga S, Tang J, Maeda Y, Nakano M, Philippe R J, et al. Novel 4-amino-furo[2,3-d]pyrimidines as Tie-2 and VEGFR2 dual inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15: 2203-2207.
- [7] Harris P A, Cheung M, Hunter R R, Brown M L, Veal J M, Nolte R T, et al. Discovery and evaluation of 2-anilino-5-aryloxazoles as a novel class of VEGFR2 kinase inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2005, 48: 1610-1619.
- [8] Polverino A, Coxon A, Starnes C, Diaz Z, Demelfi T, Wang L, et al. AMG 706, an oral, multikinase inhibitor that selectively targets vascular endothelial growth factor, platelet-derived growth factor, and kit receptors, potently inhibits angiogenesis and induces regression in tumor xenografts[J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 8715-8721.
- [9] Hasegawa M, Nishigaki N, Washio Y, Kano K, Harris P A, Sato H, et al. Discovery of novel benzimidazoles as potent inhibitors of Tie-2 and VEGFR-2 tyrosine kinase receptors[J]. *J Med Chem*, 2007, 50: 4453-4470.
- [10] Hodous B L, Geuns-Meyer S D, Hughes P E, Albrecht B K, Bellon S, Bready J, et al. Evolution of a highly selective and potent 2-(pyridin-2-yl)-1,3,5-triazine Tie-2 kinase inhibitor[J]. *J Med Chem*, 2007, 50: 611-626.
- [11] Kunz R K, Rumpf S, Chen N, Zhang D, Tasker A S, Burli R, et al. Discovery of amido-benzisoxazoles as potent c-Kit inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 5115-5117.
- [12] Hilberg F, Roth G J, Krssak M, Kautschitsch S, Sommergruber W, Tontsch-Grunt U, et al. BIBF 1120: triple angiokinase inhibitor with sustained receptor blockade and good antitumor efficacy[J]. *Cancer Res*, 2008, 68: 4774-4782.
- [13] Hu E, Tasker A, White R D, Kunz R K, Human J, Chen N, et al. Discovery of aryl aminoquinazoline pyridones as potent, selective, and orally efficacious inhibitors of receptor tyrosine kinase c-Kit[J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 3065-3068.
- [14] La D S, Belzile J, Bready J V, Coxon A, DeMelfi T, Doerr N, et al. Novel 2,3-dihydro-1,4-benzoxazines as potent and orally bioavailable inhibitors of tumor-driven angiogenesis[J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 1695-1705.
- [15] Weiss M M, Harmange J C, Polverino A J, Bauer D, Berry L, Berry V, et al. Evaluation of a series of naphthamides as potent, orally active vascular endothelial growth factor receptor-2 tyrosine kinase inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 1668-1680.
- [16] Cee V J, Cheng A C, Romero K, Bellon S, Mohr C, Whittington D A, et al. Pyridyl-pyrimidine benzimidazole derivatives as potent, selective, and orally bioavailable inhibitors of Tie-2 kinase[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 424-427.
- [17] 鲍红娟, 张燕玲, 乔延江. 5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂药效团模型的构建[J]. *高等学校化学学报*, 2008, 29: 1125-1132.
- [18] 陈军, 盛春泉, 郑灿辉, 李耀武, 吕加国, 张万年, 等. VEGFR2活性腔性质以及与抑制剂的结合模式的研究[J]. *化学学报*, 2007, 65: 547-552.

[本文编辑] 尹茶