

苯甲酰脲类抗肿瘤 β 微管蛋白抑制剂药效团模型的构建与应用

高丽梅, 张胜华, 易 红, 蒋建东, 宋丹青*

(中国医学科学院、北京协和医学院医药生物技术研究所, 北京 100050)

摘要: 采用 Catalyst 软件包, 选择抗急性淋巴白血病细胞系活性相差较大的 2 种结构类型的 17 个苯甲酰脲类 β 微管蛋白抑制剂化合物作为训练集, 经构象分析, 构建出最佳药效团模型, 该模型含有 2 个疏水中心 (HP) 和 2 个氢键受体 (HBA), 具有良好的活性预测能力 (RMS = 0.43, Correl = 0.98, Weight = 2.06, Config = 15.97), 有利于设计和改造具有新型结构的 β 微管蛋白抑制剂。

关键词: 计算机辅助药物设计; β 微管蛋白抑制剂; 药效团模型

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 04-0462-05

Construction and application of pharmacophore model of benzoylurea derivatives as β -tubulin inhibitors

GAO Li-mei, ZHANG Sheng-hua, YI Hong, JIANG Jian-dong, SONG Dan-qing*

(Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences & Beijing Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Ten pharmacophore models of β -tubulin inhibitors were established from the training set of seventeen β -tubulin inhibitors (two categories) with conformer analysis by using the Catalyst software. The optimal pharmacophore model with two hydrophobic units and two hydrogen bond acceptor units were confirmed (RMS = 0.43, Correl = 0.98, Weight = 2.06, Config = 15.97). This pharmacophore model is able to predict the activity of known β -tubulin inhibitors and can be further used to identify structurally diverse compounds with higher activity.

Key words: CADD; β -tubulin inhibitor; pharmacophore model

微管蛋白 (tubulin) 是细胞骨架的重要组成部分, 主要由 α 和 β 两种微管蛋白亚单位组成, 在细胞生长、维持形态、信号传导及有丝分裂等过程中, 均起着重要的作用。以紫杉醇、长春新碱为代表的抗微管抗肿瘤药物, 已经成为当前抗肿瘤药物的研究热点^[1, 2]。然而, 此类药物存在着难以克服的天然缺陷: ① 均为从植物中分离得到的天然产物, 结构复杂, 难以从头合成, 来源受限; ② 易产生耐药性; ③ 神经毒性大、治疗指数低。为此, 研制新型小分子抗微管化合物备受关注^[3, 4]。

苯甲酰脲类化合物是作者发现的一类结构新颖、小分子 β -微管蛋白抑制剂^[5-7], 此类化合物具有易于合成、不易产生耐药性等特点, 显示出潜在应用前景。但其溶解性差, 生物利用度低, 难以制成临床适宜的制剂。本文在前期工作基础上, 借助计算机模拟手段, 对苯甲酰脲类化合物的抗肿瘤活性进行分析, 建立了三维药效团模型, 并对其进行了线性回归分析, 总结此类化合物与 β -微管蛋白大分子共同的药效作用模式, 确定对活性至关重要的药效团特征及其最佳空间排列形式, 以期进一步指导新型 β -微管蛋白抑制剂的设计与优化。

1 方法和计算过程^[8, 9]

所谓药效团一般指在生物活性分子中对活性起重要作用的特定基团的空间排列结构, 这些特定基团可以认为是底物和受体发生作用时的活性部位。在

收稿日期: 2009-09-25.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30371673); “重大新药创制”科技重大专项资助项目 (2009ZX09301-003).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-63165268,

E-mail: songdanqingsdq@sina.com

药效团分析中, 首先对生物活性分子进行构象分析, 同时提取出分子中的特定化学信息, 如疏水团、氢键给体、氢键受体等, 然后通过这些特定化学信息的空间叠合找到最佳的共同结构模式。在本文中, 作者采用了 Accelrys 公司的 Catalyst 4.10 软件进行研究。

1.1 活性化合物的选择 作者选取了 2 种不同结构类型、抗急性淋巴白血病细胞系 (CEM) 细胞活性 (IC_{50}) 数值相差较大的 17 个化合物 (表 1) 作为训练集。所选择的化合物均满足 $IC_{50} \leq 15 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 且活性值相差 3 个数量级以上。

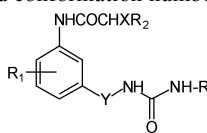
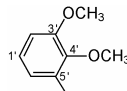
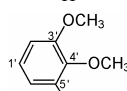
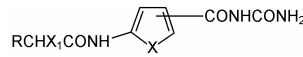
在 Catalyst 中的 ViewCompound 模块里建立化合物的结构, 并对其二维和三维空间结构进行优化, 利用 3D Minimize 求出具有最低能量的三维空间构象。

1.2 化合物的构象分析 药物分子在与靶分子发生

相互作用时, 为了能和受体靶点产生好的几何匹配和能量匹配, 会采用特定的构象形式, 即活性构象 (active conformer)。然而, 药物和受体发生相互作用是一个动态诱导的契合过程, 因此, 药物分子的活性构象不一定是最低能量构象, 但通常是能量较低的构象^[10]。所以, 在产生药效团模型之前对分子集合中的化合物进行构象分析是必要的。

在体内环境下, 当药物分子和受体相互作用时, 其活性构象和能量最低构象之间的能量差在一定的范围内变化是允许的, 这些变化所消耗的能量可以通过药物与受体结合时产生的效应而得到补偿。因此, 在 Catalyst 软件包中, 给出了一个构象分析的能量截断缺省值: $84 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。也就是说, 为适合受体结构的变化, $84 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 内的低能分子构象都有可能与受体

Table 1 The structures and conformation numbers of the selected compounds

							
Compd.	Y	R ₁	R ₂	X	R ₃	$IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Number of conformation
1		H	H	Br	H	0.725	62
2		H	H	I	H	< 0.01	71
3		6-F	H	Br	H	< 0.01	62
4		6-F	CH ₃	Br	H	0.52	67
5		6-F	H	I	H	< 0.01	76
6		6-Br	CH ₃	Br	H	7.63	79
7		H	H	Br		0.33	86
8		H	CH ₃	Br		12.08	58
9	-CH=CH-CO-	H	H	Br	H	1.38	78
10		H	CH ₃	Br		3.99	111
11		H	CH ₃	Br	-COH	10.20	72
12		H	CH ₃	Br	-COCH ₃	10.56	65
13		H	H	Br	COCH ₂ Br	0.56	95
14		H	H	Br	CH ₂ CH ₂ Cl	0.77	111
							
Compd.	X	R	X ₁	-CONHCONH ₂	$IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Number of conformation	
15	O	H	Br	2-CONHCONH ₂	4.05	40	
16	S	H	Br	3-CONHCONH ₂	1.13	35	
17	S	CH ₃	Br	3-CONHCONH ₂	3.94	36	

结合。采用 Best Quality 模式, 将最大构象数目设定为 255 个, 对所构建的化合物分子进行处理, 生成了一系列的低能构象, 表 1 中列出了经构象分析后得出的化合物的构象数。

1.3 药效团模型的构建 利用 View Hypothesis Workbench 对所选的化合物搜寻药效团元素。通过搜寻, 确定该组化合物分子集合中具有氢键受体 (hydrogen-bonding acceptor, HBA)、氢键给体 (hydrogen-bonding donor, HBD)、疏水中心 (hydrophobic center, HP)、环芳香性 (ring aromatic, RA) 等药效团元素。

根据药效团元素分析结果, 选择氢键受体 (HBA)、氢键供体 (HBD)、疏水中心 (HP)、环芳香性 (RA) 4 个药效团模型参数。设定生成的药效团模型包含的药效元素 (n) 范围为 $1 \leq n \leq 10$ 。在产生药效团模型的过程中采用了 Catalyst 中参数的缺省设置。将所有的参数设定完后, 通过 Catalyst 中的 CatHypo 命令识别并确定药效团。

利用 Generate Hypothesis 模块, 计算结果给出了 10 个得分最高的药效团模型及相应的统计评价得分。

2 结果与讨论

利用层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis) 方法, 按照药效团相似性评价, 将 10 个药效团模型分为 2 类: 药效团模型 1, 3, 8, 9, 5, 10, 2 为第一类, 药效团模型 4, 7, 6 为第二类。从模型的统计评价来看, 第一类中的药效团模型比第二类中的药效团模型具有更好的预测能力。其中, 药效团模型 1 具有较好的相关系数和权重度 ($RMS = 0.43$, $Correl = 0.98$,

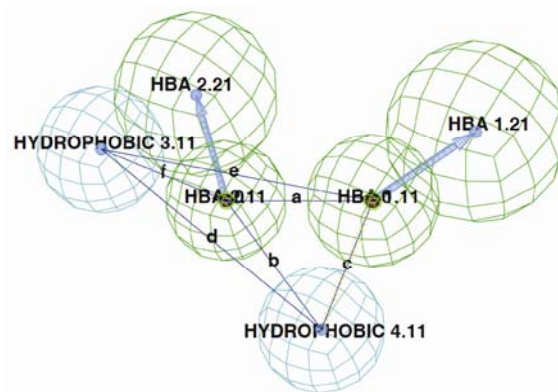


Figure 1 The optimal pharmacophore model

Weight = 2.06, Config = 15.97), 是最佳的药效团模型 (图 1)。

最佳药效团模型包含两个疏水基团和两个氢键受体, 表明此类化合物群与 β 微管蛋白生物大分子的结合作用为: 两个疏水性基团、两个氢键受体, 即分子中这 4 个结构片段是活性必需基团, 而且, 各基团之间均满足一定的空间约束 (即各药效团之间的距离 a: 4.429~6.229 nm; b: 3.518~5.518 nm; c: 2.898~4.898 nm; d: 6.148~8.148 nm; e: 6.075~8.075 nm; f: 2.822~4.822 nm)。

2.1 药效团模型的可靠性检验 根据化合物集数据建立的结构活性关系, Catalyst 通过所选化合物的活性构象和药效团模型的叠合程度 (Fit 值), 可以对每个化合物进行活性预测。化合物活性构象的能量值, 与最佳药效团模型的匹配性以及活性预测值等具体数据见表 2。

Table 2 The matching of compounds with pharmacophore

Compd.	Actual activity/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Activity uncertain	Estimated activity/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Error	$E_{\text{conform}}/\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	Fit	Mapping
1	0.73	3.0	0.6	-1.2	37	7.88	+ [19 27 26 1]
2	0.01	3.0	0.021	2.1	29	9.33	+ [19 27 26 1]
3	0.01	3.0	0.015	1.5	9	9.50	+ [19 27 26 1]
4	0.52	3.0	0.49	-1.1	11	7.97	+ [19 30 23 1]
5	0.01	3.0	0.012	1.2	6	9.59	+ [19 27 26 1]
6	7.63	3.0	5.2	-1.5	18	6.94	+ [19 30 * 3]
7	0.33	3.0	0.51	1.5	32	7.96	- [41 49 48 1]
8	12.08	3.0	6.1	-2.0	12	6.88	+ [32 43 * 1]
9	1.38	3.0	3.2	2.3	56	7.16	- [* 31 30 4]
10	3.99	3.0	2.1	-1.9	90	7.35	- [39 50 46 4]
11	10.20	3.0	6.3	-1.6	28	6.86	+ [* 23 24 4]
12	10.56	3.0	7.5	-1.4	47	6.79	+ [* 26 27 4]
13	0.56	3.0	0.53	-1.1	43	7.94	- [22 26 30 4]
14	0.77	3.0	0.67	-1.2	91	7.84	+ [31 14 23 4]
15	4.05	3.0	2.4	-1.7	7	7.28	+ [24 15 14 1]
16	1.13	3.0	1.5	1.3	27	7.49	+ [24 14 15 1]
17	3.94	3.0	7.4	1.9	25	6.8	+ [27 18 11 1]

将该组化合物的预测活性与实际活性作线性回归分析, 回归系数 $R = 0.98$ (图 2), 表明该模型具有较高的可靠性。

将化合物 **5** 与药效团模型进行叠合 (图 3 左), 结果非常匹配 (Fit = 9.59, 预测值: $IC_{50} = 0.012 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 实测值: $IC_{50} = 0.01 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 此时, 化合物 **5** 的活性构象处于能量较低构象 ($E_{\text{conform}} = 6 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)。

2.2 药效团模型对训练集外的化合物活性预测能力
 为了进一步考察所建立的 β 微管蛋白抑制剂的药效团模型的适用性, 本文选择了化合物训练集以外的 13 个 β 微管蛋白抑制剂与最佳药效团模型进行了叠

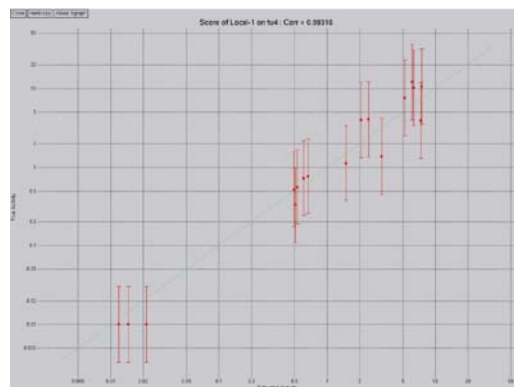


Figure 2 Correlation line of estimated activity vs actual activity for training compounds

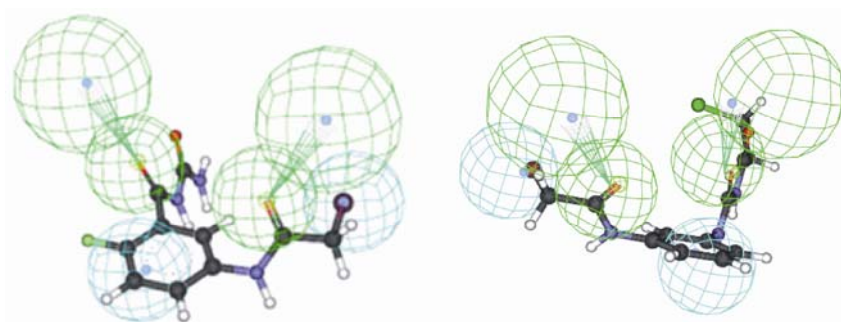


Figure 3 Mapping of the compounds **5** (left) and **26** (right) onto the optimal pharmacophore model

Table 3 The matching of other compounds with pharmacophore

Compd.	Y	R ₁	R ₂	X	R ₃	Actual activity/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Estimated activity/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Error
18	-CH=CH-CO-	H	CH ₃	Br	H	4.82	7.2	1.5
19		H	CH ₃	Br	-COCH ₂ CH ₂ Cl	2.05	4.3	2.1
20		H	H	Br	H	1.7	2.2	1.3
21		H	CH ₃	Br		1.33	3.1	2.3
22		H	CH ₃	Br		6.23	3.4	-1.8
23		H	H	Br		0.86	0.54	-1.6
24		H	H	Br		1.0	2.4	2.4
25		H	H	Br	-COCH ₃	3.2	0.97	-3.3
26		H	H	Br	-COCH ₂ CH ₂ Cl	1.9	1.7	-1.1
27		5-COCH ₂ CH ₃	CH ₃	Br	H	2.7	5.1	1.9
28		5-COCH ₂ CH ₃	H	Br	H	1.3	2.4	1.8
29		5-COCH ₂ CH ₃	H	I	H	1.91	4	2.1
30						9.44	6.8	-1.4

合, 并对其活性进行了预测, 结果见表 3。其中化合物 **26** 与药效团模型叠合得比较理想 (图 3 右), 而且根据药效团模型预测的活性值与实验值也比较接近 ($\text{Fit} = 7.42$, 预测值: $\text{IC}_{50} = 1.9 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 实测值: $\text{IC}_{50} = 1.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 此时化合物 **26** 也处于能量较低构象 ($E_{\text{conform}} = 11.55 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)。

表 3 中的结果显示: 所得的 β 微管蛋白抑制剂的药效团模型与化合物训练集外的 13 个 β 微管蛋白抑制剂 (化合物 **18**~**30**) 均能较好的匹配, 并且能较准确的预测其活性, 说明该药效团模型具有较强的预测能力和适用性。

2.3 讨论

本研究通过计算, 建立了苯甲酰胺类化合物抗 CEM 细胞的最佳药效团模型, 此药效团模型包含两个疏水中心和两个氢键受体, 表明该类化合物在与 β 微管蛋白识别过程中, 主要存在两类较强的相互作用, 即氢键和疏水作用。研究结果与李耀武等^[11]采用对接的方法建立的秋水仙碱位点抑制剂与微管蛋白的结合模式、构建的结构模型相吻合。

作者以此模型进行了新化合物的设计与活性预测, 部分新化合物的合成研究工作正在进行中。药效团模型的有效性需要通过实验的验证, 以便进一步修正药效团模型, 为新的活性的化合物的合理设计提供理论依据。

References

- [1] Jordan MA, Wilson L. Microtubules and actin filaments: dynamic targets for cancer chemotherapy [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1998, 10: 123–130.
- [2] Jackson JR, Patrick DR, Dar MM, et al. Targeted anti-mitotic therapies: can we improve on tubulin agents? [J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7: 107–117.
- [3] Jordan MA, Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs [J]. *Nature Rev*, 2004, 4: 253–265.
- [4] Islam MN, Iskander MN. Microtubulin binding sites as target for developing anticancer agents [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2004, 4: 1077–1104.
- [5] Song DQ, Wang Y, Wu LZ, et al. Benzoylurea derivatives as a novel class of antimitotic agents: synthesis, anticancer activity and structure-activity relationships [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 3094–3103.
- [6] Song DQ, Wang YM, Du NN, et al. Synthesis and activity evaluation of benzoylurea derivatives as potential antiproliferative agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 755–758.
- [7] Song DQ, Du NN, Wang YM, et al. Synthesis and activity evaluation of phenylurea derivatives as potent antitumor agents [J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17: 3873–3878.
- [8] Zhu Y, Tong XY, Zhao Y, et al. Construction of the pharmacophore model of acetylcholinesterase inhibitor [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 267–276.
- [9] Cheng GY, Ni GH, Jiang FC. Pharmacophore model of integrin $\alpha_v\beta_3$ antagonists [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2009, 44: 379–385.
- [10] Chen X, Liu XX, Huang H, et al. Construction of pharmacophore model of EGFR TK inhibitor [J]. *Acta Phys-Chim Sin (物理化学学报)*, 2008, 24: 281–288.
- [11] Li YW, Zhou YJ, Zhu J, et al. Study on the binding modes of the colchicine-site inhibitors and construction of their structural model [J]. *Acta Chim Sin (化学学报)*, 2008, 66: 1735–1739.