

双吗啉类 PI3K α 抑制剂的自组织分子场分析

武 锋, 罗 浩, 周 孟, 张文娟, 侯雪艳, 李 锐*

(四川大学生物治疗国家重点实验室, 成都 610041)

摘 要 采用自组织分子场分析(SOMFA)构建了 39 个双吗啉类磷脂酰肌醇-3 激酶 α (PI3K α) 抑制剂的三维定量构效关系模型。交叉验证相关系数(q^2)、非交叉验证相关系数(r^2)、标准偏差(SEE)分别为 0.636、0.702 和 0.581, 立体场和静电场的贡献分别为 0.7 和 0.3, 并用测试集进行了验证。测试集非交叉验证相关系数(r^2_{pred})为 0.808。该模型具有显著的统计学意义, 为进一步开发新的双吗啉类 PI3K α 抑制剂奠定了基础。

关键词 PI3K α ; 三维定量构效关系; 自组织分子场分析

中图分类号 R914; O641 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2013)03-0223-05

Self-organizing molecular field analysis on PI3K α inhibitors: dimorpholino derivatives

WU Feng, LUO Hao, ZHOU Meng, ZHANG Wenjuan, HOU Xueyan, LI Rui*

State Key Laboratory of Biotherapy, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Abstract To study the three-dimensional quantitative-structure activity relationship (3D-QSAR) of 39 dimorpholino derivatives as phosphatidylinositol-3-kinases α (PI3K α) inhibitors, a self-organizing molecular field analysis (SOMFA) model has been established. The cross-validated correlation coefficient (q^2), non-cross-validated correlation coefficient (r^2) and standard error of estimate (SEE) reached 0.636, 0.702 and 0.581, respectively. The contribution coefficient of the shape and electrostatic potential reached 0.7 and 0.3, respectively. This model was validated by a group of compounds as test set. The predicted non-cross-validated correlation coefficient (r^2_{pred}) reached 0.808. With its obvious statistical significance, this model may provide a way to develop novel dimorpholino derivatives as PI3K α inhibitors.

Key words phosphatidylinositol-3-kinases α ; three-dimensional quantitative-structure activity relationship; self-organizing molecular field analysis

This study was supported by the New Teacher Fund for Doctor Station of Ministry of Education (No. 20090181120113)

磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)是磷脂酰肌醇激酶相关激酶(PIKK)家族成员之一,根据催化底物的不同,分为 I, II, III 3 个亚型,研究最多的 I 型 PI3K 又包括 $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ 4 个亚型。其中 PI3K α 由催化亚基 p110 和调节亚基 p85 组成,可以催化磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸(PIP2)磷酸化为磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸(PIP3),继而激活下游的 Akt 通路,从

而在细胞的增殖、黏附、存活、转移、分化过程中发挥重要作用^[1]。近些年来,PI3K α 作为抗肿瘤靶点成为研究的热点。一些新的 PI3K α 抑制剂相继被开发^[2-3]。一些双吗啉类化合物具有较强的 PI3K α 抑制活性,如 ZSTK474(图 1)已进入 I 期临床研究^[4-5]。因此,深入研究该类化合物的构效关系对于 PI3K α 抑制剂的进一步开发有着重要意义。

* 收稿日期 2012-12-11 * 通信作者 Tel:15982828657 E-mail:lrui@scu.edu.cn
基金项目 教育部博士点新教师基金资助项目(No. 20090181120113)

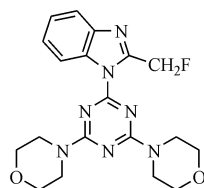


Figure 1 Structure of ZSTK474

本文采用自组织分子场分析 (self-organizing molecular field analysis, SOMFA), 系统研究了 39 个双吗啉类化合物的化学结构与 PI3K α 抑制活性的三维定量构效关系 (3D-QSAR), 为今后的研究提供了理论基础。

1 计算方法

1.1 SOMFA 因素选择

SOMFA 研究中有 3 个重要因素: 分子叠合的方式、配体电荷类型和格点间距。分子叠合方式是最重要的影响因素, 叠合的构象如果不合理, 会造成线性偏低, 预测不准的情况, 这也是限制 SOMFA 应用的最主要原因。针对上述问题, 本课题组先期研究对比了小分子能量优化后直接叠合、小分子能量优化后改变个别二面角使其与已知单晶结构吻合再叠合、对接构象直接叠合、对接后再进行母核叠合共 4 种方式, 结果表明对接构象直接叠合的效果最好^[6]。理论上越接近化合物实际的结合构象, 计算结果越准确。只要保证对接的准确性, 用对接结果来代表化合物的实际构象, 就能得到合理的结果。为了保证结果的准确性, 本文采用对接构象直接叠合的方式进行研究。对于配体电荷类型, 不同化合物适用的范围不一样, 因此本文针对 AM1, Gasteiger-Hucker, RESP 3 种类型电荷进行讨论。先前研究中, 已经证明格点间距对计算结果影响不大^[7]。为了节省时间, 可选用 0.5 Å。

1.2 化合物的选择

选取 Rewcastle 等^[8] 报道的 39 个双吗啉类化合物作为研究对象, 分为训练集 (training set, 32 个) 和测试集 (test set, 7 个)。它们的化学结构和生物活性见表 1。其中, 生物活性用 pIC₅₀ 表示, pIC₅₀ 是 PI3K α 酶的半数抑制浓度的负对数。pIC₅₀ 越大, 表示抑制作用越强。

Table 1 Structure parameters and bioassay data of dimorpholino derivatives

		1-25, 27-33, 35-39				26		34	
Compd.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	X	Y	pIC ₅₀		
1	CHF ₂	H	H	H	N	N	8.066		
2	H	H	H	H	N	N	6.577		
3	Me	H	H	H	N	N	6.845		
4	CH ₂ F	H	H	H	N	N	7.469		
5 ^a	CF ₃	H	H	H	N	N	6.695		
6	CH ₂ SMe	H	H	H	N	N	6.770		
7	CH ₂ SOMe	H	H	H	N	N	6.229		
8	CH ₂ SO ₂ Me	H	H	H	N	N	6.319		
9	SMe	H	H	H	N	N	5.538		
10 ^a	SO ₂ Me	H	H	H	N	N	6.693		
11	CHF ₂	OH	H	H	N	N	9.046		
12	CHF ₂	OMe	H	H	N	N	8.569		
13	CHF ₂	OE _t	H	H	N	N	8.569		
14	CHF ₂	OP _r	H	H	N	N	7.796		
15 ^a	CHF ₂	OB _u	H	H	N	N	7.553		
16	CHF ₂	OCHF ₂	H	H	N	N	7.585		
17	CHF ₂	OCHMe ₂	H	H	N	N	6.439		
18	CHF ₂	OSO ₂ Me	H	H	N	N	6.532		
19	CHF ₂	NH ₂	H	H	N	N	8.319		
20 ^a	CHF ₂	NHMe	H	H	N	N	6.678		
21	CHF ₂	NMe ₂	H	H	N	N	5.268		
22	CHF ₂	CH ₂ OH	H	H	N	N	7.569		
23	CHF ₂	CO ₂ Me	H	H	N	N	8.032		
24	CHF ₂	CONHMe	H	H	N	N	6.529		
25 ^a	CHF ₂	CN	H	H	N	N	7.215		
26	CHF ₂	—	—	—	N	N	6.260		
27	CHF ₂	OMe	OMe	H	N	N	6.475		
28	CHF ₂	OH	OMe	H	N	N	7.432		
29 ^a	CHF ₂	OMe	OH	H	N	N	7.495		
30	CHF ₂	OMe	H	OMe	N	N	7.237		
31	CHF ₂	OMe	H	NH ₂	N	N	9.658		
32	CHF ₂	OMe	H	NHMe	N	N	8.699		
33	CHF ₂	OMe	H	NHMe ₂	N	N	8.097		
34	CHF ₂	OMe	H	—	N	N	5.889		
35 ^a	CHF ₂	H	H	H	CH	N	7.523		
36	CHF ₂	OH	H	H	CH	N	8.824		
37	CHF ₂	OMe	H	H	CH	N	8.292		
38	CHF ₂	H	H	H	N	CH	7.056		
39	CHF ₂	OMe	H	H	N	CH	8.398		

^a Test set

1.3 同源建模

由于 PI3K α 没有配体与蛋白结合的复合单晶结构,为了对接更加准确,可以通过同源建模的方式得到受体。而 PI3K α 和 PI3K δ 的高度同源相似性(>30%),也为同源模型的准确性奠定了基础。本文选取了 PI3K δ 与 ZSTK474 复合单晶结构(RCSB 数据库中编号:2WXL, <http://www.rcsb.org/pdb/>)作为模板蛋白,通过 Discovery Studio 2.5 软件来构建同源模型。在得到的模型中选出概率密度函数能(probability density function energy, PDF)最低以及离散优化蛋白能(discrete optimized protein energy, DOPE)最高的一个,进行 Loop 区的优化,其中所有的参数都采取默认的。

1.4 配体准备

在 Discovery Studio 中,首先将所有的配体用分子力学(MM2)的方法进行能量最小化,再在 MOPAC2009 中,用 AM1 进行进一步的能量优化。接下来,分别用 Gamess 和 Gaussian 03 软件加 AM1, Gasteiger-Huckler 和 RESP 电荷。

1.5 分子对接

利用 Discovery Studio 中的 Gold 模块进行对接,选择默认参数,得到 100 个对接构象,选取能量最低的合理构象作为下一步研究的基础。

1.6 SOMFA 模型的构建、选择及验证

在 SOMFA 研究中,以(-20, -20, -20)为中心构建了 40 Å × 40 Å × 40 Å 的格点,格点间距设为 0.5 Å,针对不同的配体电荷类型,构建了 3 种 SOMFA 模型。综合分析立体场和静电场对模型的贡献比例以及线性高低,选出最合理的一个模型。并用测试集的化合物进行验证。

2 结果和讨论

本文以 32 个化合物作为训练集,采用自组织分子场分析法构建了一组双吗啉类 PI3K α 抑制剂的 SOMFA 模型,并通过 7 个化合物作为测试集对该模型进行了检验。为了保证结果的准确性,本研究采取了对接构象作为分子叠合的方式。PI3K α 蛋白通过同源建模得到(PDF 为 7 366.22, DOPE 为 -106 887.24)。该蛋白与 ZSTK474 的结合模式如图 2 所示。

39 个化合物的对接有两个(化合物 17, 21)未成功,具体原因将结合 3D-QSAR 结果进行分析。

在 SOMFA 模型构建过程中,3 种电荷对结果的影响是完全不同的,如表 2 所示。

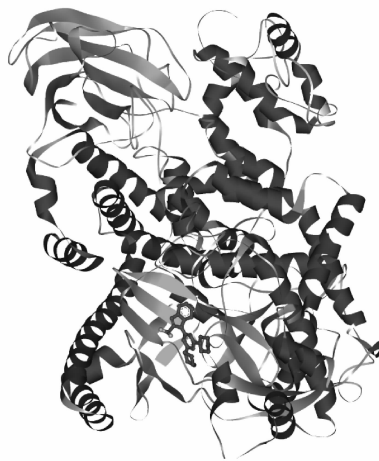


Figure 2 Complex of the phosphatidylinositol-3-kinases α (PI3K α) homology model and ZSTK474

Table 2 Comparison of different self-organizing molecular field analysis (SOMFA) models

Model	Charge	r^2	c_1	c_2
1	AM1	0.751	1.0	0.0
2	Gasteiger-Huckler	0.659	0.5	0.5
3	RESP	0.702	0.7	0.3

r^2 : Non-cross-validated correlation coefficient; c_1 : Shape potential contribution; c_2 : Electrostatic potential contribution

从表 2 可以看出,AM1 电荷虽然线性较高,但立体场贡献系数(c_1)达 1.0,而静电场贡献系数(c_2)为 0,这是不合理的。Gasteiger-Huckler 和 RESP 电荷的空间、电荷因素贡献比例比较合适,因此本研究选择线性较高的 RESP 电荷构建的模型为最佳模型。该模型配体分子叠合图见图 3。

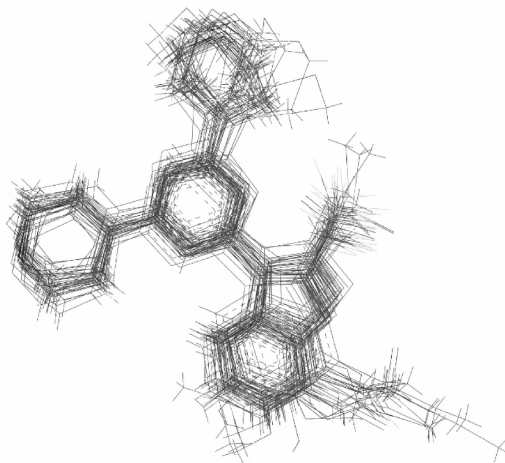


Figure 3 Superimposition of docked conformation of PI3K α

该模型的立体场贡献系数(c_1)为0.7,静电场贡献系数(c_2)为0.3,交叉验证相关系数(q^2)为0.636,非交叉验证相关系数(r^2)为0.702,标准偏差(SEE)为0.581。为了验证所得到的SOMFA模型的稳定性和预测能力,对测试集的化合物进行了预测,结果预测线性为 $r^2_{\text{pred}} = 0.808$ 。所有化合物

的实测值与预测值列于表3。计算结果表明该模型具有明显的统计学意义。

为了直观地分析这些双吗啉类化合物的构效关系,将活性最好的化合物**31**放入SOMFA的格点中,构建了立体场分布图和静电场分布图(图4)。

Table 3 Observed and predicted inhibition activities against PI3K α

Compd.	Observed	Predicted	Residual	Compd.	Observed	Predicted	Residual
1	8.066	7.325	-0.741	21 ^b	5.268	-	-
2	6.577	6.863	0.306	22	7.569	7.709	0.140
3	6.845	6.819	-0.026	23	8.032	7.881	-0.151
4	7.469	7.072	-0.397	24	6.529	7.359	0.830
5 ^a	6.695	7.047	0.352	25 ^a	7.215	7.425	0.210
6	6.770	7.161	0.391	26	6.260	7.133	0.873
7	6.229	6.100	-0.129	27	6.475	7.020	0.545
8	6.319	6.059	-0.260	28	7.432	6.992	-0.440
9	5.538	6.646	1.108	29 ^a	7.495	7.937	0.442
10 ^a	6.693	7.101	0.408	30	7.237	8.415	1.178
11	9.046	7.788	-1.258	31	9.658	8.873	-0.785
12	8.569	8.066	-0.503	32	8.699	8.709	0.010
13	8.569	8.526	-0.043	33	8.097	8.116	0.019
14	7.796	7.641	-0.155	34	5.889	6.562	0.673
15 ^a	7.553	8.058	0.505	35 ^a	7.523	7.507	-0.016
16	7.585	7.409	-0.176	36	8.824	8.213	-0.611
17 ^b	6.439	-	-	37	8.292	7.861	-0.431
18	6.532	6.921	0.388	38	7.056	7.097	0.041
19	8.319	7.613	-0.706	39	8.398	8.707	0.309
20 ^a	6.678	7.163	0.485				

^a Test set; ^b Fail to docking

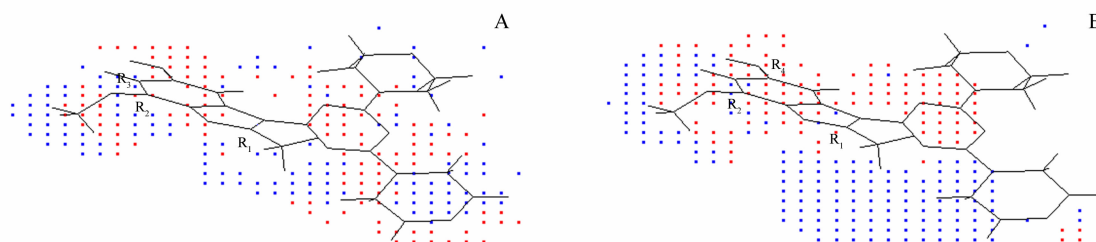


Figure 4 Master grid maps of PI3K α with compound **31**

A: Shape master grid map; B: Electrostatic potential master grid map

立体场分布图中,红色区域表示引入大体积基团对活性有利,蓝色区域表示引入大体积基团对活性不利。 R_1 周围为蓝色区域,化合物**8**因具有较大的取代基($R_1 = \text{CH}_2\text{SO}_2\text{Me}$),活性比化合物**1**($R_1 = \text{CHF}_2$)低得多。 R_2 周围的格点颜色分布比较复杂,呈现出内圈红色,外圈蓝色,说明在一定范围内,增大取代基的体积对活性有利或影响较小,比如化合物**12**($R_2 = \text{OMe}$)和**13**($R_2 = \text{OEt}$),活性

相同,但是,如果取代基体积达到一定的大小,再增加体积就会导致活性的急剧降低,比如化合物**21**($R_2 = \text{NMe}_2$)和**19**($R_2 = \text{NH}_2$),这也是化合物**21**对接失败的原因。 R_3 周围为蓝色区域,所以在这个位置引入取代基的尝试都会降低活性,如化合物**26**。

静电场分布图中,红色区域表示引入给电子基团对活性有利,蓝色区域表示引入吸电子基团对活

性有利。 R_1 周围为蓝色区域,化合物 **1** 为吸电子的 CHF_2 ,而化合物 **9** 为给电子的 SMe ,故化合物 **1** 活性比化合物 **9** 活性高得多。 R_2 周围呈现出远端蓝色,近端红色的情况。比如化合物 **16**,**17**,都拥有较大的取代基,化合物 **16** 远端为吸电子基 F,化合物 **17** 则为给电子基甲基,故前者活性较高。这也说明了化合物 **17** 对接失败的原因。再如化合物 **11** 和 **25**,都拥有较小的取代基,化合物 **11** 为给电子基羟基,而化合物 **25** 为吸电子基氰基,故前者活性较高。 R_4 周围为红色区域,因此引入吸电子基团不利,这就是化合物 **34** 活性将苯环换为吡啶环后大大降低的原因。

综上所述,本文建立的双吗啉类化合物的 SOMFA 模型有显著的统计学意义,它的立体场和静电场的贡献分别为 0.7 和 0.3,证明立体场的贡献较大。在 R_1 处引入小体积的吸电子基团, R_2 处引入近端为给电子基,远端为吸电子基的大小适中的取代基, R_4 处引入给电子基团,都对增强化合物的活性有利。本次研究为进一步开发双吗啉类 PI3K α 抑制剂提供了新的方向。

参 考 文 献

- [1] Toker A, Cantley LC. Signalling through the lipid products of phosphoinositide-3-OH kinase[J]. *Nature*, 1997, **387** (6 634): 673 – 676.
- [2] Palanki MS, Dneprovskaya E, Doukas J, et al. Discovery of 3,3'-(2,4-diaminopteridine-6,7-diyl) diphenol as an isozyme-selective inhibitor of PI3K for the treatment of ischemia reperfusion injury associated with myocardial infarction[J]. *J Med Chem*, 2007, **50** (18): 4 279 – 4 294.
- [3] Sutherlin DP, Bao L, Berry M, et al. Discovery of a potent, selective, and orally available class I phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/mammalian target of rapamycin (mTOR) kinase inhibitor (GDC-0980) for the treatment of cancer[J]. *J Med Chem*, 2011, **54** (21): 7 579 – 7 587.
- [4] Yaguchi S, Fukui Y, Koshimizu I, et al. Antitumor activity of ZSTK474, a new phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2006, **98** (8): 545 – 556.
- [5] Kong D, Yamori T. ZSTK474, a novel phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor identified using the JFCR39 drug discovery system[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, **31** (9): 1 189 – 1 197.
- [6] Li Z, Zhou M, Wu F, et al. Self-organizing molecular field analysis on human β -secretase nonpeptide inhibitors; 5,5-disubstituted aminohydantoins[J]. *Eur J Med Chem*, 2010, **46** (1): 58 – 64.
- [7] Li M, Du L, Wu B, et al. Self-organizing molecular field analysis on α (1 α)-adrenoceptor dihydropyridine antagonists [J]. *Bioorg Med Chem*, 2003, **11** (18): 3 945 – 3 951.
- [8] Rewcastle GW, Gamage SA, Flanagan JU, et al. Synthesis and biological evaluation of novel analogues of the pan class I phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) inhibitor 2-(difluoromethyl)-1-[4,6-di(4-morpholinyl)-1,3,5-triazin-2-yl]-1H-benzimidazole (ZSTK474) [J]. *J Med Chem*, 2011, **54** (20): 7 105 – 7 126.

· 新药信息 ·

2013 年 1 ~ 4 月 FDA 批准的新复方制剂

2013 年 1 月 25 日, FDA 批准了选择性二肽基肽酶-4 (DPP-4) 抑制剂阿格列汀 (alogliptin) 的 3 种制剂上市, 用于改善成人 2 型糖尿病的血糖水平。这 3 种制剂分别为阿格列汀片、阿格列汀与盐酸二甲双胍固定剂量复方片剂和阿格列汀与吡格列酮复方片剂 (商品名依次为 Nesina、Kazano 和 Oseni)。公告显示, 这 3 种药物不适用于 1 型糖尿病或糖尿病酮症酸中毒患者。

2013 年 4 月 19 日, FDA 批准了诺华旗下爱尔康公司用于治疗青光眼的复方制剂 (混悬剂) Simbrinza 上市。Simbrinza 适用于降低原发性开角型青光眼或高血压患者的高眼压, 已证实 Simbrinza 可以使眼内压降低 21% 至 35%。

Simbrinza 是碳酸酐酶抑制剂 (1.0% 布林佐胺) 与 α -2 肾上腺素受体激动剂 (0.2% 酒石酸溴莫尼定) 混合而成的一种复方制剂, 用法为每次 1 滴, 每日 3 次。

(本刊编辑部)