

B-Raf (V600E) 激酶 IIB 型抑制剂的三维定量构效关系

张聪聪¹, 张雯², 龙映庭¹, 谢惠定¹, 邱开雄^{1*}¹昆明医科大学药学院, 昆明 650500; ²甘肃省第三人民医院, 兰州 730000

摘要:为实现 B-Raf (V600E) 激酶 IIB 型抑制剂的虚拟筛选和研发结构新颖的抗癌药物提供重要研究基础, 采用比较分子相似性指数分析法 (CoMSIA) 对一系列 B-Raf (V600E) 激酶 IIB 型抑制剂进行了三维定量构效关系的研究, 并对所得 CoMSIA 模型三维等势图进行分析。实验结果显示, CoMSIA 模型的交叉验证系数 $q^2 = 0.406$, 非交叉验证系数 $r_{ncv}^2 = 0.996$ 。本研究表明, 增大嘧啶环处基团的体积, 降低苯环上基团的电负性, 有利于活性的提高; 分子中的氨基 (-NH₂) 和亚氨基 (-NH) 为氢键供体基团, 羰基 (>C=O) 和磺酰基 (-SO₂-) 为氢键受体基团, 是活性关键基团; 吡啶环中的氮原子会降低化合物的活性。

关键词: B-Raf (V600E) 激酶 IIB 型抑制剂; 比较分子相似性指数分析法; 结构改造; 药效团模型

中图分类号: R914.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2020) Suppl-0086-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.S.013

Three dimensional quantitative structure activity relationship of B-Raf (V600E) kinase II B inhibitor

ZHANG Cong-cong¹, ZHANG Wen², LONG Ying-ting¹, XIE Hui-ding¹, QIU Kai-xiong^{1*}¹School of Pharmacy, Kunming Medical University, Kunming 650500, China;²The Third People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730000, China

Abstract: To realize the virtual filtering of B-Raf (V600E) kinase IIB-type inhibitors and provide an important research basis for the development of novel anticancer drugs. We use comparative molecular similarity index analysis (CoMSIA) to study a series of B-Raf (V600E) kinase IIB-type inhibitors in three-dimensional quantitative structure-activity relationship, and the three-dimensional equipotential diagram of the obtained CoMSIA model was analyzed. The experimental results show that the cross validation coefficient of CoMSIA model $q^2 = 0.406$, and the non cross validation coefficient of CoMSIA model $r_{ncv}^2 = 0.996$. The results suggested that increasing the volume of groups in pyrimidine ring and decreasing the electronegativity of groups in benzene ring are beneficial to the improvement of activity, amino (-NH₂) and imino (-NH) in the molecule are hydrogen bond donor groups, carbonyl (>C=O) and sulfonyl (-SO₂-) are hydrogen bond receptor groups, which are the key active groups, and nitrogen atom in pyridine ring will reduce the activity of the compound.

Key words: B-Raf (V600E) kinase IIB-type inhibitor; comparative molecular similarity index analysis; structural modification; pharmacophore model

近期研究表明, 约有 8% 的人类恶性肿瘤是由于 B-Raf 激酶的突变型激酶引起的, 且突变型 B-Raf (V600E) 激酶比野生型 B-Raf 激酶的催化活性高 500 倍^[1]。因此, B-Raf 激酶是一个更具有吸引力的抗癌药物靶点, 同时, B-Raf (V600E) 激酶 IIB 型抑制剂具备低毒性和特异性抑制的优点, 因而科研人

员正在竭力研发 B-Raf (V600E) 激酶抑制剂, 以研发更多有效的抗癌药物。目前, 三维定量构效关系 (3D-QSAR) 是一种有效预测生物活性的方法^[2-4]。B-Raf (V600E) 激酶与 IIB 型抑制剂形成的复合物的晶体结构 (4EHG) 已被成功解析^[5]。但是, 迄今尚未有人对 IIB 型 B-Raf (V600E) 激酶抑制剂进行过构效关系研究。因此, 本文采用比较分子相似性指数分析法 (CoMSIA) 对 IIB 型 B-Raf (V600E) 激酶抑制剂进行了 3D-QSAR 研究, 获得了可靠性较高的模型, 并得到了提高活性的结构改造方法, 为设计和

收稿日期: 2020-05-19 接受日期: 2020-07-23

基金项目: 云南省科技厅-昆明医科大学联合专项 (2017FE468-023)

* 通信作者 E-mail: chenneyao16@hotmail.com

优化改造 B-Raf (V600E) 激酶 IIB 型抑制剂结构提供了理论指导和依据。

1 实验和方法

本实验中所有化合物结构的构建、3D-QSAR 模型及药效团模型的建立均采用 Tripos 公司的 Sybyl 7.3 软件包, 该软件包安装在 Red Hat Linux 工作站上^[6]。

1.1 实验数据的选取


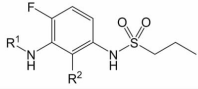
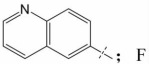
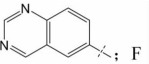
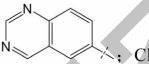


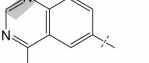
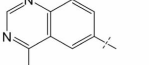
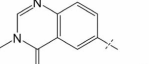
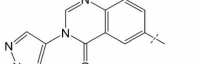
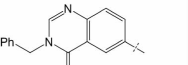
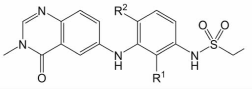
选取文献报道的 67 个^[5,7-9]最新合成的 B-Raf

(V600E) 激酶 IIB 型抑制剂的分子结构及生物活性数据作为本实验的研究数据(详见表 1)。实验模型建立时, 生物活性数据采用 pIC_{50} 值(即为半数抑制浓度的负对数, $-\log IC_{50}$)。用于模型建立的 67 个化合物被分为两个集(训练集测试集), 其中 50 个化合物为训练集, 17 个化合物为测试集。训练集用于建立模型, 测试集用于验证所建的模型

表 1 B-Raf (V600E) 激酶 IIB 型抑制剂的分子结构、生物活性及 CoMSIA 模型的预测值
Table 1 Molecular structure, bioactivity and CoMSIA prediction of B-Raf (V600E) kinase IIB inhibitors

编号 No.	基本骨架 Basic skeleton	取代基 Substituent group	pIC_{50}	CoMSIA 型 预测值 (pIC_{50}) CoMSIA type predicted value
1			6.469	6.427
2			5.443	5.416
3			6.618	6.784
4			7.143	7.108
5 ^a			7.149	7.062
6 ^b			7.886	7.869
7			6.260	6.254
8 ^a			6.854	6.791
9		H	8.000	8.013
10		Me	8.046	7.831
11 ^b			8.523	8.559

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	基本骨架 Basic skeleton	取代基 Substituent group	pIC ₅₀	CoMSIA 型 预测值 (pIC ₅₀) CoMSIA type predicted value
12 ^a		CH ₂ CH ₂ OH	8.222	8.996
13		CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	8.155	7.219
14			7.824	7.816
15 ^a		Ph	9.301	8.825
16 ^b		3-Pyridyl	9.301	9.444
17		1-Methyl-pyrazole-4-yl	9.398	9.443
18		 ; F	6.503	6.6
19 ^a		 ; F	7.481	8.817
20		 ; Cl	8.398	8.485
21		 ; Cl	7.602	7.601
22		 ; Cl	7.796	7.768
23		 ; Cl	7.959	7.93
24		 ; Cl	7.000	6.998
25 ^b		 ; Cl	8.699	8.679
26 ^a		 ; Cl	8.699	7.12
27		 ; Cl	7.770	7.721
28 ^a		F;F	7.721	8.41
29		F;Cl	7.921	7.867
30 ^b		CN;Cl	9.699	9.775

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	基本骨架 Basic skeleton	取代基 Substituent group	pIC ₅₀	CoMSIA 型 预测值 (pIC ₅₀) CoMSIA type predicted value
31 ^a		CN; H	9.523	8.274
32		H; Me	6.070	6.109
33		F; F; Me	7.959	7.863
34		F; Cl; Me	8.523	8.452
35 ^a		Cl; F; Me	8.097	8.177
36		F; F; Et	7.585	7.595
37		Cl; F; Et	7.523	7.557
38 ^b		Cl	9.699	9.681
39 ^a		F	9.699	9.379
40		H	9.523	9.475
41		H; H	5.409	5.433
42 ^a		NH ₂ ; H	6.306	6.402
43		NH ₂ ; Br	6.959	7.004
44		N	7.215	7.188
45		CH	7.420	7.514
46 ^b		C-Br	8.469	8.404
47 ^a		H; F	7.770	7.348
48		Br; F	6.398	6.355
49		Me; F	7.921	7.815
50		NMe ₂ ; F	8.086	8.148
51		OMe; F	8.319	8.311
52 ^a		H; Cl	8.201	7.563
53 ^b		OMe; Cl	8.770	8.761
54		NH ₂	6.848	6.886
55 ^a		NHMe	7.444	8.739
56		NHCH ₂ CH ₂ OH	7.194	7.223
57			7.081	6.989

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	基本骨架 Basic skeleton	取代基 Substituent group	pIC ₅₀	CoMSIA 型 预测值 (pIC ₅₀) CoMSIA type predicted value
58 ^a		H	8.252	8.367
59 ^b		OMe	8.796	8.807
60		F;F;H	8.699	8.605
61		Cl;F;H	9.229	9.38
62 ^a		F;Cl;H	9.268	8.684
63 ^b		Cl;F;F	9.959	9.885
64		F;F;H	8.495	8.636
65		Cl;F;H	9.046	9.005
66 ^a		F;Cl;H	8.956	8.234
67 ^b		Cl;F;F	9.745	9.664

注: ^a 测试集化合物, ^b 构建药效团模型的化合物

Note: ^aTest set compounds; ^bCompounds for constructing pharmacophore model.

1.2 药效团模型的假设

采用 Sybyl 软件中的 GALAHAD 模块完成药效团模型的假设^[10]。本实验选取 11 个化合物用于药效团模型的构建,即表 1 中右上角标有字母‘b’的化合物。

1.3 分子的对接与叠合

由于本实验中已知 B-Raf (V600E) 激酶的受体结构和活性中心,因此我们对 67 个 B-Raf (V600E) 激酶 IIB 型抑制剂采用基于药效团叠合的方式进行 3D-QSAR 研究。实验中使用 Sybyl 软件中的 GALAHAD 模块完成药效团叠合、Surflex-Dock 模块完成分子对接叠合。

1.4 CoMSIA 模型的建立

本实验利用 Sybyl 软件中的 QSAR 模块完成 CoMSIA 模型的建立。在 CoMSIA 分析中,采用与距离相关的 Gaussian 函数来计算,设置参数为默认值^[11]。建立模型时,采用 PLS(偏最小二乘法);在 PLS 分析中,采用抽一法进行交叉验证;再用交叉验证系数(q^2)确定最佳主成分数(NOC);最后用模型的非交叉验证系数(r_{ncv}^2)来验证模型的拟合能力。

2 结果与讨论

2.1 CoMSIA 模型的结果

经 PLS 分析,采用抽一法进行交叉验证;获得

CoMSIA 模型的交叉验证系数(q^2)为 0.406, NOC 为 10。在 NOC 为 10 的条件下,获得非交叉验证系数 $r_{ncv}^2 = 0.996$, 标准差 $s = 0.082$, 数据组之间的平均平方误差与数据组内部的平均平方误差的比值 $F = 894.841$ 。这表明,本实验获得了具有较好预测能力和拟合能力的 CoMSIA 模型。该模型中的静电场、疏水场及氢键受体场的贡献较大,分别为 0.257、0.279 及 0.230, 立体场和氢键供体场的贡献值较小,分别为 0.091 和 0.144。这表明,在生物活性的贡献方面,B-Raf (V600E) 激酶 IIB 型抑制剂分子的静电场、疏水场及氢键受体场起主导作用。

2.2 CoMSIA 模型的验证

评价模型的预测能力常采用预测相关系数(r_{pred}^2)。本实验获得的 CoMSIA 模型的 r_{pred}^2 为 0.408, 这表示模型均具有一定的预测能力。表 1 中列出了 67 个化合物基于药效团叠合得到的 CoMSIA 模型所产生的 pIC₅₀ 预测值。

2.3 CoMSIA 模型的三维等势图

图 1 显示了 CoMSIA 模型 S、E、H、D 及 A 的三维等势图。

其中,图 1(a)为 CoMSIA 模型的立体场三维等势图,其参照分子是化合物 9。三维等势图中的绿色区域表示,该区域的基团体积增大时,有利于提高

化合物的活性;而黄色区域则相反。图中可看出,一个大的绿色区域出现在化合物 **9** (结构式参见表 1) 嘧啶环上 R 位附近,这表明当该位置有大基团时将会提高化合物的活性。例如,化合物 **10~13** 及化合物 **15~17** 在嘧啶环 R 位都有较大体积的取代基,因而它们均具有较高的活性(活性数据见表 1)。

图 1(b) 为 CoMSIA 模型的静电场三维等势图,化合物 **54** 为其参照分子。三维等势图中红色区域表示当该区域引入电负性大的基团时,化合物活性升高;而蓝色区域则相反。图中可看出,两个大的蓝色区域出现在苯环的 2-和 6-取代附近。这表明,在苯环的 2-和 6-有电负性大的取代基会降低化合物的活性。例如,化合物 **54~56** 在这两处区域都存在氟原子,因此它们的生物活性较低。

图 1(c) 为 CoMSIA 模型的疏水场三维等势图,其参照分子是化合物 **63**。三维等势图中的黄色区域表示,该区域的基团疏水性增加时,有利于提高化合物的活性;而白色区域则相反。图中可看出,一个大的黄色区域出现在化合物 **63** 的 R_1 基团附近,这表明当该区域有疏水基团出现时,化合物的活性将

会提高。例如,化合物 **60~63** 具有相对较高的活性是因为在该位置都存在 -Ph。

图 1(d) 为 CoMSIA 模型的氢键供体场三维等势图,化合物 **63** 为其参照分子。三维等势图中的青色区域表示,当该区域的基团是氢键供体时,有利于提高化合物的活性;而紫色区域则相反。图中可看出,一个大的青色区域出现在化合物 **63** 嘧啶环附近,这说明该区域有氢键供体基团时,化合物的活性将会提高。例如,化合物 **60~63** 具有相对较高的活性是因为它们嘧啶环上的 $-NH_2$ 在青色区域。

图 1(e) 为 CoMSIA 模型的氢键受体场三维等势图,化合物 **1** 为其参照分子。三维等势图中的紫红色区域表示,当该区域的基团是氢键受体时,有利于提高化合物的活性;而红色区域则相反。图中可看出,化合物 **1** 吡啶环的氮原子附近出现一个大的红色区域,这说明该区域有氢键受体基团时将会降低化合物的活性。例如,化合物 **2~6** 在该位置有吡啶氮原子,属于氢键受体,所以它们的生物活性均较低。

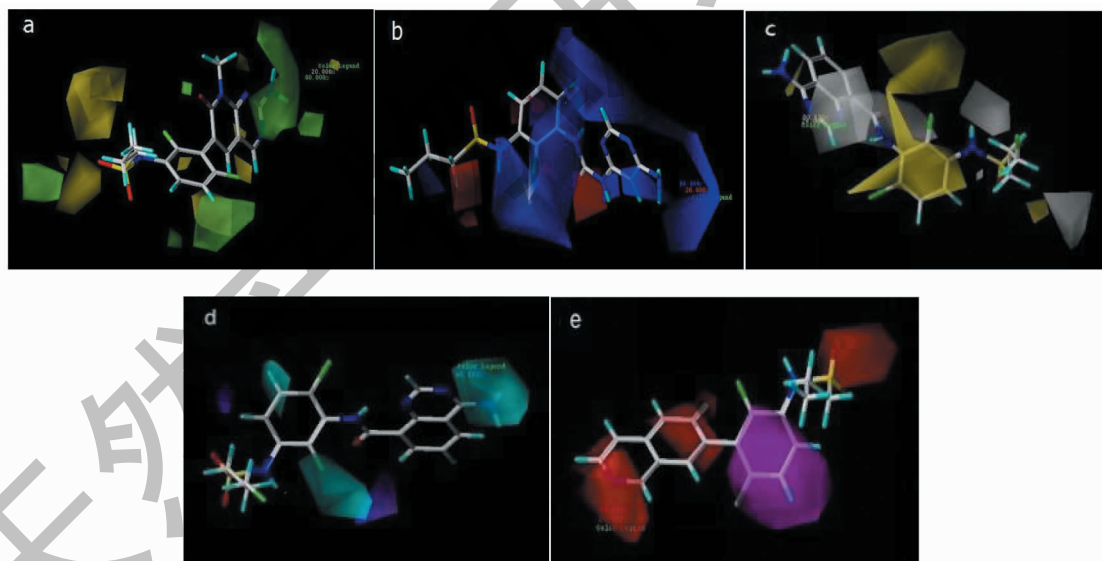


图 1 CoMSIA 三维等势图

Fig. 1 CoMSIA three dimensional equipotential diagram

注:(a)立体场等势图;(b)静电场等势;(c)疏水场等势图;(d)氢键供体场等势图;(e)氢键受体场等势图。Note:(a) Isopotential diagram of solid field;(b) Electrostatic field equipotential;(c) Isopotential diagram of hydrophobic field;(d) Equipotential diagram of hydrogen bond donor field;(e) Hydrogen bond receptor field equipotential diagram.

2.4 生物活性的预测

本实验建立了 CoMSIA 模型,并用其预测了化合物的活性值,同时也分析了三维等势图。预测值

与分析结果一致,这验证了所建模型的可靠性。例如,化合物 **11、12** 和 **16** 在嘧啶环 R 位基团较大,根据模型的立体场分析,其活性应该较高。其预测值

分别为 8.559、8.996 和 9.444, 预测结果与立立场分析结果是一致的。由模型的静电场分析, 化合物 **54** 的苯环的 2-和 6-位取代基的电负性下降会导致活性提高; 化合物 **60** (C-6 位是-F) 的活性预测值为 8.605, 而化合物 **61** (C-6 位是-Cl) 的活性预测值为 9.38, 这与静电场分析相符的。由模型的疏水场分析, 以化合物 **63** 为例, R_1 基团附近有疏水基团, 将会提高化合物的活性。化合物 **60** ~ **63** 在此位置都存在基团 -Ph, 其预测值分别为 8.605、9.38、8.684 和 9.885, 这与疏水场分析相符。由模型的氢键受体场分析, 吡啶环氮原子附近存在氢键受体基团时化合物活性将会降低。化合物 **1** 和 **2** 的活性预测值分别为 6.427 和 5.416, 这与氢键受体场分析相符。

3 结论

本文对 IIB 型 B-Raf (V600E) 激酶抑制剂进行了构效关系研究, 通过实验对 67 个 B-Raf (V600E) 激酶 IIB 型抑制剂进行了基于药效团叠合的 3D-QSAR 研究, 为该抑制剂的结构改造和开发提供了理论指导, 得到了如下结论:

3.1 CoMSIA 模型的交叉验证相关系数为 $q^2 (r_{cv}^2) = 0.406$, 非交叉验证系数 $r_{ncv}^2 = 0.996$, 预测相关系数 $r_{pred}^2 = 0.408$, 该数据表明所得的 CoMSIA 模型具有较强的拟合能力和较好的预测能力。

3.2 通过分析 CoMSIA 模型的三维等势图可得, 增大吡啶环处基团的体积, 降低苯环上基团的电负性, 有利于活性的提高; 分子中的氨基 (-NH₂) 和亚氨基 (-NH) 为氢键供体基团, 羰基 (C=O) 和磺酰基 (-SO₂-) 为氢键受体基团, 是活性关键基团; 吡啶环中的氮原子会降低化合物的活性, 在抑制剂的结构改造中应该注意避免。

参考文献

1 Paul TW, Mathew JG, Roe SM, et al. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF [J]. Cell, 2004, 116: 855-867.

2 Lu P, Wei X, Zhang RS. CoMFA and CoMSIA 3D-QSAR studies on quionolone caroxylic acid derivatives inhibitors of HIV-1 integrase [J]. Eur J Med Chem, 2010, 45: 3413-3419.

3 Sharma H, Patil S, Sanchez TW, et al. Synthesis, biological evaluation and 3D-QSAR studies of 3-keto salicylic acid chalcones and related amides as novel HIV-1 integrase inhibitors [J]. Bioorgan Med Chem, 2011, 19: 2030-2045.

4 Hu RJ, Barbaul TF, Delamar M, et al. Receptor- and ligand-based 3D-QSAR study for a series of non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors [J]. Bioorgan Med Chem, 2009, 17: 2400-2409.

5 Simon M, Stefan NG, Li R, et al. Potent and selective aminopyrimidine-based B-Raf (V600E) inhibitors with favorable physicochemical and pharmacokinetic properties [J]. J Med Chem, 2012, 55: 2869-2881.

6 Ghasemi JB, Shiri F. Molecular docking and 3D-QSAR studies of falcipain inhibitors using CoMFA, CoMSIA, and Open3DQSA [J]. Med Chem Res, 2012, 21: 2788-2806.

7 Li R, Ahrendt KA, Jonas G, et al. The discovery of potent and selective pyridopyrimidin-7-one based inhibitors of B-Raf (V600E) V600E kinase [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2012, 22: 3387-3391.

8 Steve W, Li R, Jonas G, et al. Highly potent and selective 3-N-methylquinazoline-4 (3H)-one based inhibitors of B-Raf (V600E) kinase. [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2014, 24: 1923-1927.

9 Steve W, Li R, Ahrendt KA, et al. Pyrazolopyridine inhibitors of B-Raf (V600E) V600E. Part 1: the development of selective, orally bioavailable, and efficacious inhibitors [J]. ACS Med Chem Lett, 2011, 2: 342-347.

10 Richmond NJ, Abrams CA, Wolohan PRN, et al. GALAHAD: 1. Pharmacophore identification by hypermolecular alignment of ligands in 3D [J]. J Comput Aid Mol Des, 2006, 20: 567-587.

11 Klebe G, Abraham U, Mietzner T. Molecular similarity indices in a comparative analysis (CoMSIA) of drug molecules to correlate and predict their biological activity [J]. J Med Chem, 1994, 37: 4130-4146.