

文章编号 1006-8147(2015)01-0025-04

论 著

SHP-2 抑制剂药效团模型的构建与应用

魏会宇^{1,2}, 金媛媛², 王梅燕², 朱立勤^{2,3}

(1.天津医科大学眼科医院药剂科,天津医科大学眼视光学院,天津医科大学眼科研究所,天津 300384;2.天津医科大学药学院,天津 300070;3.天津市第一中心医院药学部,天津 300192)

摘要 目的:构建并应用蛋白酪氨酸磷酸酶 SHP-2 抑制剂药效团模型。方法:应用 Discovery Studio 3.5 软件包中的基于分子共同特征 HipHop 和基于配体-受体晶体复合物 CPB 两种算法构建出 SHP-2 抑制剂药效团模型,应用 Receiver-operating curve (ROC)分析方法对产生的药效团模型进行验证并对 ZINC 数据库进行筛选,最后应用 Schrodinger Suite 2009 中的 Qikprop 模块预测这些化合物的吸收、分布、代谢、排泄的性质,并与已报道的部分化合物作比较。结果:应用 HipHop 和 CPB 两种算法分别构建了识别活性与非活性分子能力最强的药效团模型,并且通过这两个模型筛选出了 35 个具有潜在 SHP-2 抑制活性的化合物,通过 ADME 预测得出设计出的化合物具有较好的 ADME 性质。结论:该两种药效团模型可以用于后续 SHP-2 小分子药物的筛选和优化,且采用两种药效团联合筛选的方法为计算机辅助药物设计提供了一个新的思路。

关键词 计算机辅助药物设计;药效团模型;SHP-2 抑制剂

中图分类号 R914.2

文献标志码 A

Construction and application of pharmacophore model of SHP-2 inhibitors

WEI Hui-yu^{1,2}, JIN Yuan-yuan², WANG Mei-yan², ZHU Li-qin^{2,3}

(1. Department of Pharmacy, Eye Hospital, Tianjin Medical University, School of Optometry and Ophthalmology, Tianjin Medical University, Eye Institute, Tianjin Medical University, Tianjin 300384, China; 2. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 3. Department of Pharmacy, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China)

Abstract **Objective:** To construct and apply pharmacophore model of SHP-2 inhibitors. **Methods:** Pharmacophore model of SHP-2 inhibitors was developed using 3D-QSAR pharmacophore program of HipHop and CPB in Discovery Studio 3.5, and the validation was performed using ROC. Then pharmacophore-based virtual screening for ZINC database was carried out. Finally, ADME was performed to predict properties including absorption, distribution, metabolism and excretion, which were compared with corresponding properties of reported compounds. **Results:** According to the programs of HipHop and CPB, the pharmacophore models with the highest recognition ability between the active and non-active molecules were selected as the optimal pharmacophore models, and 35 potential inhibitors of SHP-2 were obtained. Compared with the reported SHP-2 inhibitors, these compounds showed greater potentials as drugs during ADME prediction. **Conclusion:** These two pharmacophore models can contribute to the discovery and design of new SHP-2 inhibitors. Moreover, the screening of combination of the two pharmacophore models provides a new perspective for computer aided drug design.

Key words computer aided drug design; pharmacophore model; SHP-2 inhibitors

蛋白酪氨酸磷酸酶 SHP-2 (src homology 2 domain containing phosphotyrosine phosphatase 2) 是一种由蛋白酪氨酸磷酸酶 N11 (PTPN11) 基因编码的蛋白酪氨酸磷酸酶 (protein tyrosine phosphatase, PTPase), 其分子结构由两个 Src 同源区 (N-SH2 和 C-SH2)、一个具有蛋白酪氨酸磷酸酶催化活性功能域和一个包含多个酪氨酸磷酸化位点及一个富含脯氨酸 Motif 的 C 端尾巴组成^[1]。SHP-2 属于蛋白酪氨酸磷酸酶家族成员之一, 作为细胞因子、生长因子及其它胞外刺激因素的下游信号分子, 表达于机

体的各种组织和细胞中, 与许多重要的细胞生命活动 (如细胞增殖、分化、移动、死亡的调控) 密切相关^[2-3]。近年来的系列研究发现, 由 PTPN11 基因突变产生的 SHP-2 突变体与幼年型儿童粒单细胞白血病及其它类型白血病发病有关, SHP-2 异常活化参与成年人白血病细胞恶性增殖病理过程, 很可能是一个新的抗白血病药物靶分子^[4-5]。近年来, 大量新型 SHP-2 抑制剂被报道出来^[6-11], 这为进一步研究 SHP-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及设计、搜寻新型 SHP-2 抑制剂打下了基础。本研究采用 Discovery Studio 3.5 中的药效团模块构建 SHP-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。

基金项目 国家自然科学基金资助项目 (81273361)

作者简介 魏会宇 (1979-), 男, 硕士在读, 研究方向: 新药研究; 通信作者: 朱立勤, E-mail: zliq0713@aliyun.com。

1 材料与方法

1.1 药效团模型构建 计算工作所用软件为 Accelrys 公司的 Discovery Studio 3.5 商用软件包,所用参数设定除特别指明外均为默认值。所有计算均在 Linux 操作系统中完成。从文献^[6-7,12-13]报道中选择用于构建基于配体分子共同特征三维药效团模型的训练集分子(图 1)。定义活性最好分子的 Principal 值为 2, 其余均为 1, 而活性最好的分子的 Max Omit Feat 值定义为 0,其余均为 1。采用 feature mapping 模块选择以下化学特征进行药效团模型构建:氢键供体(HBD)、氢键受体(HBA)、疏水中心(HY)、芳环中心(RA)以及负电中心(NI)。

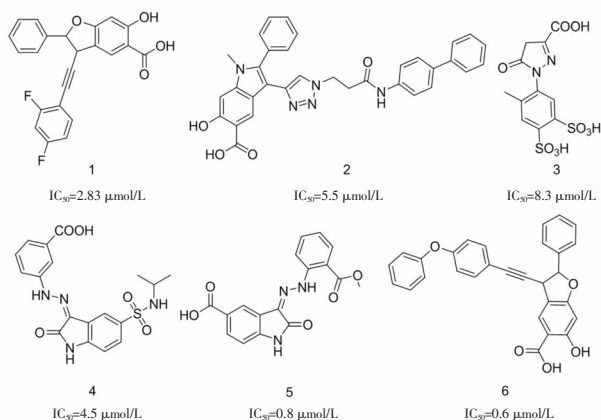


图 1 SHP-2 抑制剂训练集化合物分子结构及其抑制活性

Fig 1 The structures and activities of SHP-2 inhibitors for training set

用于构建基于受体-配体晶体复合物药效团模型的 SHP-2 复合物(PDB ID:3O5X)是从 Protein Data Bank(PDB)数据库中获取的。首先,对蛋白分子进行加氢去水等准备工作,然后利用 DS 的 Receptor-ligand pharmacophore generation 模块产生药效团,并用其自带的验证工具 Validation 验证模型的可靠性。

1.2 虚拟筛选 本次虚拟筛选选用公共免费库 ZINC 数据库(2013 年)。由于 ZINC 数据库中化合物的数量非常庞大,因此本实验只筛选了其中的一部分大约 1 600 万个分子。首先以 HipHop 算法产生的药效团模型为提问结构,对 ZINC 数据库进行搜索,对匹配药效团特征的化合物进行基于匹配值 fit value 的排序,保留其中得分最高的一部分小分子化合物,再以 CBP 算法产生的药效团模型为提问结构,对被保留下来的化合物进行匹配,最终得到同时符合两种药效团特征的优选化合物。

1.3 ADME 预测 Schrodinger Suite 2009 软件中的 QikProp 模块可以预测化合物的吸收、分布、代谢、排泄性质。在 QikProp 模块中,分子自动成中性状态。在正常模式下,此模块可以分析油水分配系数,

水溶性,毒性。本实验对 logPo/w、PSA、logS、PMDCK 进行预测。PSA 指极化表面积,与膜渗透相关的另一个参数;logPo/w 指油水分布系数,改变药物的油水分布系数达到提高其生物利用度的目的;logS 指水溶性,改变药物的水溶性提高药物在血液中转运速度;PMDCK 指狗肾细胞培养,与肠通透性有关的参数。

2 结果

2.1 基于配体分子共同特征的药效团模型结果

HipHop 算法的计算结果一共产生了 10 个药效团模型,这 10 个药效团模型的结果参数见表 1。

表 1 10 个基于分子共同特征的药效图的结果参数

Tab 1 The parameters of ten common features of pharmacophore

模型编号	特征元素	评分值	完全匹配	部分匹配	最高匹配度
1	HAAA	53.223	111110	000001	4
2	HAAA	52.358	111111	000000	4
3	RRAA	51.980	101111	010000	4
4	RRAA	51.882	101111	010000	4
5	RRAA	51.882	101111	010000	4
6	RRAA	51.882	101111	010000	4
7	RRAA	51.683	101111	010000	4
8	RRAA	51.542	101111	010000	4
9	HAAA	51.181	111111	000000	4
10	RHAA	48.647	101111	010000	4

R 表示芳环中心, H 表示疏水基团, A 表示 H 键受体

2.2 基于受体配体复合物结构的药效团模型结果

CBP 算法的计算结果一共产生了 6 个药效团模型,这 6 个药效团模型的结果参数见表 2。

表 2 基于受体配体复合物的药效团结果

Tab 2 The results of complex-based pharmacophore

模型编号	特征元素数量	特征元素	选择性打分
1	3	AHN	6.854 2
2	4	AAAH	5.818 2
3	3	AAH	4.303 4
4	3	AAH	4.303 4
5	3	AAH	4.303 4
6	3	AAA	4.303 4

N 表示负电中心, H 表示疏水中心, A 表示 H 键受体

2.3 药效团的验证 ROC 分析可用于检验一个药效团模型是否具有从一系列非活性分子中挑选出活性分子的能力。本实验选取了 47 个已报道的 SHP-2 的小分子抑制剂作为活性分子,并在 ZINC 数据库中随机选取了 987 个小分子化合物作为非活性分子,分别导入到 Pharmacophore Generation 模块 Validation 部分的 Active Ligands 和 Inactive Ligands 中,用于药效团模型的验证。两种方法产生的药效团模型的验证结果分别显示在表 3、4 中。

表 3 基于配体共同特征的 10 个药效团模型的 ROC 分析结果

Tab 3 The ROC results of 10 common features of pharmacophore

编号	化合物 命中数	非活性 化合物 命中数	真阳性	真阴性	假阳性	假阴性	敏感度	特异性
1	47	987	27	783	204	20	0.574 47	0.793 31
2	47	987	44	426	561	3	0.936 17	0.431 61
3	47	987	37	838	149	10	0.787 23	0.849 04
4	47	987	38	836	151	9	0.808 51	0.847 01
5	47	987	38	853	134	9	0.808 51	0.864 24
6	47	987	38	837	150	9	0.808 51	0.848 02
7	47	987	38	833	154	9	0.808 51	0.843 97
8	47	987	38	807	180	9	0.808 51	0.817 63
9	47	987	43	389	598	4	0.914 89	0.394 12
10	47	987	39	603	384	8	0.829 79	0.610 94

表 4 基于受体配体复合物结构的 6 个药效团模型的 ROC 分析结果

Tab 4 The ROC results of 6 complex-based pharmacophore

编号	化合物 命中数	非活性 化合物 命中数	真阳性	真阴性	假阳性	假阴性	敏感度	特异性
1	47	987	34	957	30	13	0.723 40	0.969 60
2	47	987	42	448	539	5	0.893 62	0.453 90
3	47	987	47	126	861	0	1.000 00	0.127 66
4	47	987	46	69	918	1	0.978 72	0.069 09
5	47	987	47	98	889	0	1.000 00	0.099 291
6	47	987	44	413	574	3	0.936 17	0.418 44

敏感度与特异性两数值分别表示模型对活性分子以及非活性分子的识别能力。两量化指标的具体定义如下:

敏感性 = $TP / (TP + FN)$ (True Positives / True Positives + False Negatives)

特异性 = $TN / (TN + FP)$ (True Negative / True Negative + False Positives)

两者得分越高,说明模型区分活性与非活性化合物能力越强。需要综合评估,具体可从 ROC 曲线判断,如图 2。曲线下面积值代表最后的统计结果,图中最上方描述的 Accuracy 即为曲线下面积,该值应大于 0.5,越大代表模型区分能力越强。综合分析后,我们选取模型 5 作为基于配体共同特征方法产生的最优药效团模型,其包括 4 个药效团元素:2 个氢键受体(HBA)和 2 个芳环中心(RA);选取模型 1 作为基于受体配体复合物结构方法产生的最优药效团模型,其包括 3 个药效团元素:1 个负电中心(NI)、1 个氢键受体(HBA)和 1 个疏水中心(HY)。

2.4 虚拟筛选结果 最终我们筛选得到 35 个小分子化合物(图 3),这些化合物和两个药效团模型都能很好地匹配,很有可能具有 SHP-2 抑制活性,是潜在的 SHP-2 小分子抑制剂。选取筛选得到的 35 个化合物之一 ZINC08683953 分别与两个药效团模

型匹配示范如图 4 所示。

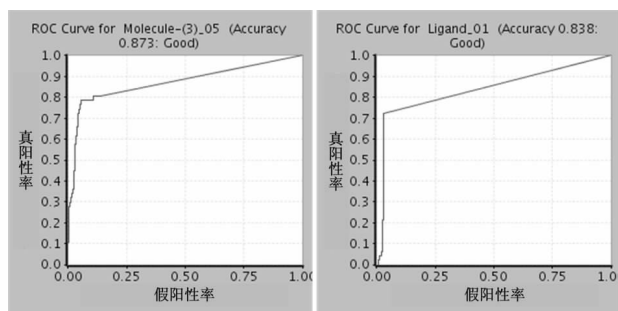


图 2 Pharmacophore_05 与 Pharmacophore_01 的 ROC 曲线图

Fig 2 The ROC curve of Pharmacophore_05 and Pharmacophore_01

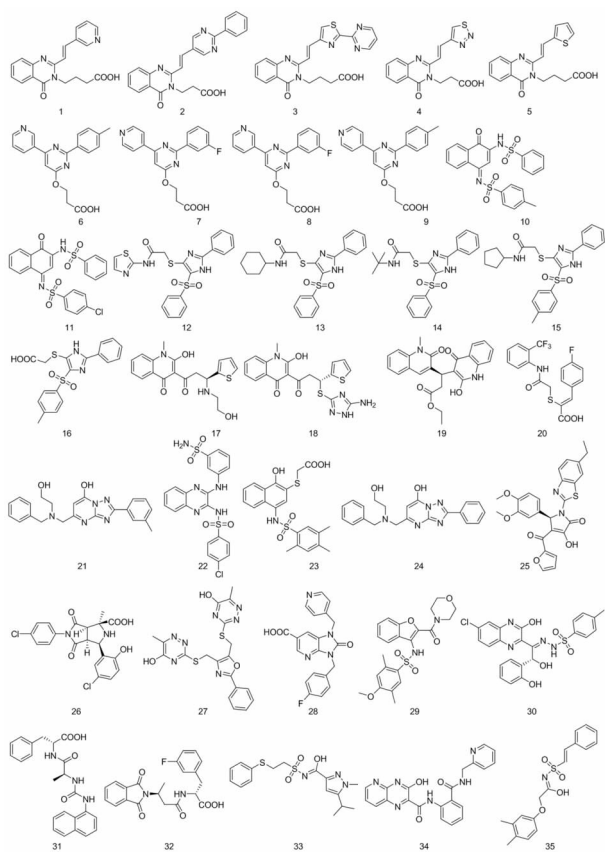
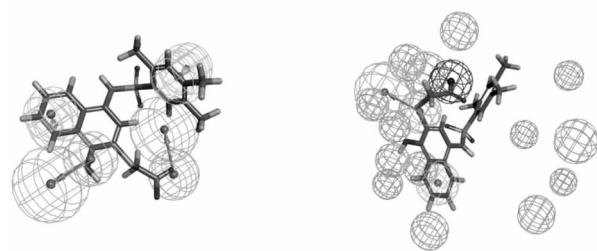


图 3 药效团虚拟筛选结果

Fig 3 The results of pharmacophore-based virtual screening



ZINC08683953_Pharmacophore_05 ZINC08683953_Pharmacophore_01

图 4 先导物与药效团的匹配举例

Fig 4 The examples of lead compounds matching the pharmacophores

2.5 ADME 预测结果 应用 Schrodinger2009 软件包中的 QikProp 模块对 35 个新设计及 6 个已报道的 SHP-2 抑制剂与药效相关的 5 个性质进行预测。结果如表 5 所示(新设计的化合物只选取了 10 个代表性的结构)。与 6 个已报道的 SHP-2 抑制剂分子相比,新设计的化合物的 PSA、logPo/w、logS、PMDCK 均在合理的范围内。

表 5 ADME 预测

Tab 5 Physiochemical descriptors calculated by QP

序号	ADME 参数			
	PSA ^a	logPo/w ^b	logS ^c	PMDCK ^d
12	104.97	3.19	-5.15	711.95
13	89.50	3.92	-5.99	675.37
14	87.45	3.10	-4.25	781.71
15	90.83	3.70	-5.19	601.74
19	113.43	3.58	-5.43	506.09
20	83.89	4.09	-4.51	488.74
25	105.23	4.42	-5.93	843.44
29	99.63	2.52	-3.47	535.42
30	140.20	3.18	-4.39	458.36
33	84.30	3.84	-5.03	528.27
1*	77.51	5.81	-7.11	149.89
2*	139.92	6.72	-9.76	8.73
3*	208.73	-1.13	-1.89	0.02
4*	164.57	1.16	-4.00	1.76
5*	160.47	1.35	-2.98	0.73
6*	85.58	7.09	-8.63	55.74

各参数的参考范围 a:7.0~200.0;b:-2.0~6.5;c:-6.5~-0.5;d:<25 差,>500 优。* 为文中列出的已报道的化合物

3 讨论

训练集分子选取的原则:输入分子的结构具有多样性,从而能够代表不同系列同系物的结构特征;化合物数目在 2~32 个,6 个左右比较理想;尽量选择活性最强的化合物;选择结构刚性大的分子效果比柔性分子好。ADME 预测结果显示,已报道的 6 个化合物 PMDCK 偏低,而 logS 偏高,而本文中新设计化合物的 PSA、logPo/w、logS、PMDCK 均在合理的范围内。该结果表明已报道的这 6 个化合物肠吸收差且水溶性偏高,可能是由于这 6 个化合物中存在过多的亲水性基团(羟基、羧基、磺酸基)引起的,而笔者设计的部分化合物却很好地改善了这方面的结构缺陷。

本文从配体小分子的共同特征和受体-配体晶

体复合物两方面出发,成功构建了药效团模型并进行了数据库搜索,得到同时符合两种药效团特征的化合物。本文的创新之处在于以文献报道的 SHP-2 小分子抑制剂和已知配体-受体复合物晶体结构为基础,筛选得到理论上更具研究价值的潜在先导化合物,既避免了传统的分子对接的随意性,又避免了单纯的基于配体的药效团模型筛选可能会产生的假阳性问题,为化合物的虚拟筛选研究提供了一种新的思路和方法。

参考文献:

- [1] Poole A W, Jones M L. A SHPing tale: Perspectives on the regulation of SHP-1 and SHP-2 tyrosine phosphatases by the C-terminal tail [J]. Cell Signal, 2005,17(11):1323
- [2] Qu C K. The SHP-2 tyrosine phosphatase: signaling mechanisms and biological functions[J]. Cell Res, 2000,10(4):279
- [3] Zheng H, Alter S, Qu C K. SHP-2 tyrosine phosphatase in human diseases[J]. Int J Clin Exp Med,2009,2(1):17
- [4] Chan G, Kalaitzidis D, Neel B G. The tyrosine phosphatase Shp2 (PTPN11) in cancer[J]. Cancer Metastasis Rev ,2008,27(2):179
- [5] Loh M L. Recent advances in the pathogenesis and treatment of juvenile myelomonocytic leukaemia[J]. Br J Haematol, 2011,152(6): 677
- [6] Stuibler M, Doody K M, Tremblay M L. PTP1B and TC-PTP: regulators of transformation and tumorigenesis[J]. Cancer Metastasis Rev , 2008,27(2):215
- [7] Lee J Y, Kim J K, Cho M C, et al. Cytotoxic flavonoids as agonists of peroxisome proliferator-activated receptor on human cervical and prostate cancer cells[J]. J Nat Prod ,2010,73(7):1261
- [8] Yu Z H, Chen L, Wu L, et al. Small molecule inhibitors of SHP2 tyrosine phosphatase discovered by virtual screening[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2011,21(14):4238
- [9] Liu W, Yu B, Xu G, et al. Identification of cryptotanshinone as an inhibitor of oncogenic protein tyrosine phosphatase SHP2 (PTPN11) [J]. J Med Chem, 2013,56(18):7212
- [10] Yu B, Liu W, Yu W M, et al.Targeting protein tyrosine phosphatase SHP2 for the treatment of PTPN11-Associated malignancies[J]. Mol Cancer Ther, 2013,12(9):1738
- [11] Duan Y Q, Ma Y, Wang X J, et al. Design potential selective inhibitors for treating cancer by targeting the Src homology 2 (SH2) domain-containing phosphatase 2 (Shp2) with core hopping approach[J]. Protein Pept Lett, 2014,21(6):556
- [12] Bhattarai B R, Shrestha S, Ham S W, et al. 2-O-Carboxymethylpyrogallol derivatives as PTP1B inhibitors with antihyperglycemic activity[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2007,17(19):5357
- [13] Shrestha S, Bhattarai B R, Chang K J, et al. Methylenedisalicylic acid derivatives: new PTP1B inhibitors that confer resistance to diet-induced obesity[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2007,17(10):2760

(2014-09-15 收稿)