

## Molekulsko modelovanje i analiza 3D-strukture farmakofore selektivnih PI3K- $\alpha$ inhibitora kao antitumorskih agenasa

Milan Jovanović<sup>1</sup>, Katarina Nikolić<sup>1</sup>, Žarko Gagić<sup>2\*</sup>, Danica Agbaba<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku hemiju, Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija

<sup>2</sup> Univerzitet u Banjoj Luci – Medicinski fakultet, Katedra za farmaceutsku hemiju, Save Mrkalja 14, 78000 Banja Luka, Bosna i Hercegovina

\*autor za korespondenciju: Žarko Gagić

Tel: +387 51 340 106; e-mail: zarko.gagic@med.unibl.org

---

### Kratak sadržaj

Značaj aktivacije fosfatidilinozitol-3-kinaza (PI3K) u procesima nastanka i rasta ćelija karcinoma doveo je do velikog interesovanja za razvijanje novih antitumorskih lekova koji inhibiraju PI3K-Akt signalni put. Najnovija istraživanja pokazuju da je kod većine tipova karcinoma izmenjena aktivnost p110 $\alpha$  izoforme PI3K kinaze, te se danas poseban akcenat stavlja na razvijanje specifičnih PI3K- $\alpha$  inhibitora. Na seriji od 92 PI3K- $\alpha$  inhibitora, čiji su podaci o eksperimentalno određenoj inhibitornoj aktivnosti prikupljeni iz literature, sprovedene su 3D studije kvantitativnog odnosa između strukture i dejstva (3D-QSAR). Sve molekulske strukture su prethodno optimizovane upotrebom semiempirijske PM3 i *ab initio* Hartree-Fock/3-21G metode, a modelovanje je vršeno primenom PLS regresione analize najmanjih kvadrata. Izračunati parametri interne ( $R^2=0,84$ ;  $Q^2=0,67$ ) i eksterne ( $R^2_{pred}=0,681$ ;  $r^2_m=0,594$ ;  $\Delta r^2_m=0,00039$ ) validacije ukazuju na pouzdanost i dobru moć predviđanja formiranog 3D-QSAR modela. Analizom varijabli određena je struktura farmakofore koja podrazumeva: prisustvo donora i akceptora vodonične veze na rastojanju 18-18,4 Å ili 12-12,4 Å; hidrofobni region na rastojanju od 15,2-15,6 Å od donora vodonične veze kao i prisustvo sternog centra na optimalnom rastojanju od donora i akceptora vodonične veze. Ovi rezultati će imati značaj u odabiru vodećih jedinjenja na kojima će biti moguće vršiti ciljane strukturne modifikacije za dizajniranje novih selektivnih PI3K- $\alpha$  inhibitora kao potencijalnih antineoplastika.

**Ključne reči:** 3D-QSAR, farmakofora, PI3K- $\alpha$ , inhibitor, tumor

---

## Uvod

Fosfatidilinozitol-3-kinaze (PI3K) su familija lipidnih kinaza koje fosforilišu inozitolne fosfolipide na poziciji 3 inozitola, pre svega koristeći fosfatidilinozitol 4,5-bisfosfat kao supstrat, pri čemu se stvara fosfatidilinozitol 3,4,5-trisfosfat (PIP3). PIP3 se vezuje za plekstrinski homologni domen AKT serin/treonin kinaze (protein kinaza B ili PKB) i 3-fosfatidilinozitol zavisne protein kinaze-1 (PDK1), što dovodi do njihove translokacije u plazma membranu. AKT, kada je vezana za ćelijsku membranu, postaje aktivna i fosforiliše više ciljnih molekula uključenih u opstanak ćelije, njen ciklus, razvoj, motilitet i metabolizam [1, 2].

PI3K su grupisane u tri klase, I, II i III, na osnovu njihovih strukturnih karakteristika i specifičnosti za supstrate. Klasa I je dalje podeljena na klasu IA kinaza koje su aktivisane od strane receptora vezanih za tirozin kinaze, receptora vezanih za G-protein i onkoproteina, i na klasu IB kinaza koje su aktivisane samo od strane receptora vezanih za G-protein. Klasa IA PI3K je skup heterodimernih lipidnih kinaza koje se sastoje od p100 katalitičke subjedinice i regulatorne subjedinice koja reguliše vezivanje za receptor, aktivaciju i lokalizaciju PI3K enzima. Mutacije jednog od gena koji kodira prevashodno p110 $\alpha$  subjedinicu PI3K – PI3KCA se u visokoj meri mogu naći u mnogim tipovima humanog karcinoma, uključujući tumore mozga, dojki, kolona, jetre, želuca i jajnika [3-6].

Postoje ohrabrujući podaci o blokiranju rasta tumora inhibicijom PI3K enzima [7, 8]. Međutim, neki stariji inhibitori neselektivni za određenu PI3K izoformu, kao što su LY294002 i vortmanin, dovode do izraženih neželjenih efekata na insulinski signalni put i imuni odgovor. Ciljanom selektivnom inhibicijom određene PI3K izoforme, poput p110 $\alpha$  subjedinice PI3K (PI3K- $\alpha$ ), može se značajno povećati efikasnost antineoplastika i smanjiti neželjeni efekti [9].

Cilj ovog rada je definisanje strukture farmakofore selektivnih PI3K-p110 $\alpha$  (PI3K- $\alpha$ ) inhibitora studijom kvantitativnog odnosa između strukture i dejstva (Quantitative Structure-Activity Relationship, QSAR). Definisane molekulske determinante i formirani 3D-QSAR model se mogu dalje koristiti za dizajn novih potentnijih inhibitora i predviđanje njihove aktivnosti.

## Eksperimentalni deo

Za kreiranje 3D-QSAR modela korišten je dataset od 92 PI3K- $\alpha$  inhibitora zajedno sa njihovim eksperimentalno dobijenim pKi (pKi =  $-\log K_i$ ) vrednostima koji su preuzeti iz ChEMBL baze podataka (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>) [10-13]. Početni dataset podeljen je na dva dela: trening set (62 molekula) od kojeg je formiran model, i test set (30 molekula) koji je korišten za eksternu validaciju modela.

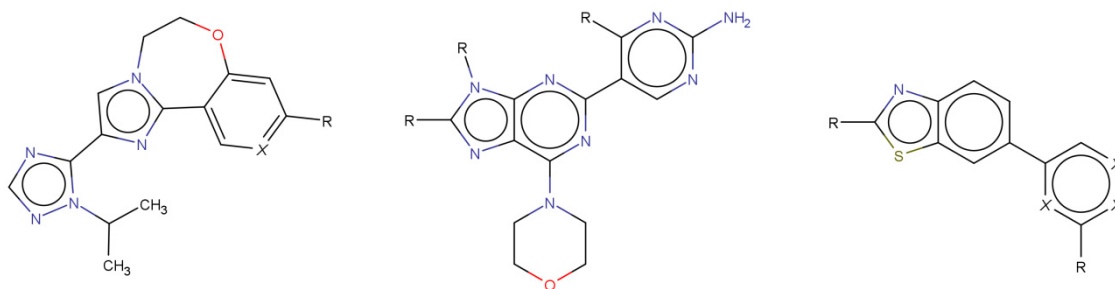
Za sve strukture su određeni dominantni oblici pri pH=7,4 primenom MarvinSketch programa [14]. Budući da je 3D-QSAR visoko zavisen od konformacije molekule, pre same QSAR studije izvršena je geometrijska optimizacija struktura kako bi se postigao energetski minimum. Dominantni oblici su optimizovani pomoću PM3 semi-empirijske metode (Parameterized Model revision 3), a potom i preciznije *ab initio* Hartree-Fock/3-21G kvantno hemijske metode, korištenjem Gaussian 98W [15] programa u Chem3D Ultra 7.0 [16] programskom paketu.

Za pravljenje samog 3D-QSAR modela korišten je Pentacle 1.07 [17] program koji koristi PLS (Partial Least Square) regresionu metodu. Model je formiran upotrebom GRIND deskriptora (GRid-INdependent descriptors), izvedenih iz polja molekularskih interakcija (Molecular Interaction Fields - MIFs) kao nezavisnih varijabli, i *in vitro* pKi aktivnosti kao zavisnih varijabli. Pri izračunavanju GRIND deskriptora program koristi 4 hemijske probe koje simuliraju interakciju liganda sa ciljnim mestom dejstva: DRY proba predstavlja hidrofobnu interakciju, O proba (karbonilni kiseonik) opisuje akceptora vodonične veze, N1 (amidni azot) predstavlja donora vodonične veze i TIP proba opisuje sternu interakciju. Najvažniji regioni koji predstavljaju povoljne interakcije između probe i liganda izdvojeni su na osnovu dva kriterijuma: intenziteta polja i udaljenosti između izabranih centara. Za izdvajanje najbitnijih polja interakcije korišten je ALMOND algoritam. Za kodiranje polja korištena je CLACC (Consistently Large Auto and Cross Correlation) metodologija koja izdvaja najkonzistentnije varijable unutar serije strukturno srodnih molekula koristeći korelaciju između istih i različitih centara. Primenom FFD (Fractional Factorial Design) algoritma sukcesivno su uklanjane manje važne varijable u PLS jednačini do formiranja modela sa najvišim vrednostima  $R^2$  i  $Q^2$  parametara [17].

Za dobar 3D-QSAR model  $Q^2$  vrednost treba da bude veća od 0,5 i vrednost  $R^2$  veća od 0,6 [18]. Radi procene sposobnosti modela da pouzdano predviđa aktivnost novih jedinjenja izvršena je eksterna validacija formiranog modela izračunavanjem  $R^2_{pred}$ , RMSEP (Root Mean Square Error of Prediction) i  $r^2_m$  parametara za test set. Za dobru moć predviđanja QSAR modela vrednosti  $R^2_{pred}$ ,  $r^2_m$ ,  $r^2_m$  i treba da budu veće od 0,5, a  $\Delta r^2_m$  manje od 0,2 [19].

## Rezultati i diskusija

Na osnovu PCA analize i strukturnih karakteristika jedinjenja, dataset je podeljen na trening set od 62 molekula i test set od 30 molekula. Ispitivana jedinjenja poseduju strukturni diverzitet (Slika 1) kao i dovoljno velik interval inhibitornih aktivnosti (pKi: 5,22-10,52) (Tabela I), što je omogućilo formiranje robusnog 3D-QSAR modela sa širokim domenom primene.



**Slika 1. Opšte strukture jedinjenja iz dataseta.**

**Figure 1. General structures of compounds from dataset.**

Upotrebom trening seta formiran je PLS regresioni model sa 2 latentne varijable i parametrima  $R^2=0,84$  i  $Q^2=0,67$  koji zadovoljavaju uslove interne validacije. Pravu predikcionu moć modela moguće je proceniti samo predviđanjem aktivnosti eksterne grupe jedinjenja koja nisu učestvovala u građenju modela, odnosno potrebno je izvršiti eksternu validaciju. U tu svrhu korišten je test set, a izračunate vrednosti parametara  $R^2_{pred}=0,681$  kao i  $r^2_m=0,594$  i  $\Delta r^2_m=0,00039$  koji predstavljaju najstrožije kriterijume eksterne validacije, ukazuju na dobru moć predviđanja 3D-QSAR modela. Eksperimentalne i predviđene pKi vrednosti jedinjenja iz dataseta kao i statistički parametri modela prikazani su u Tabeli I.

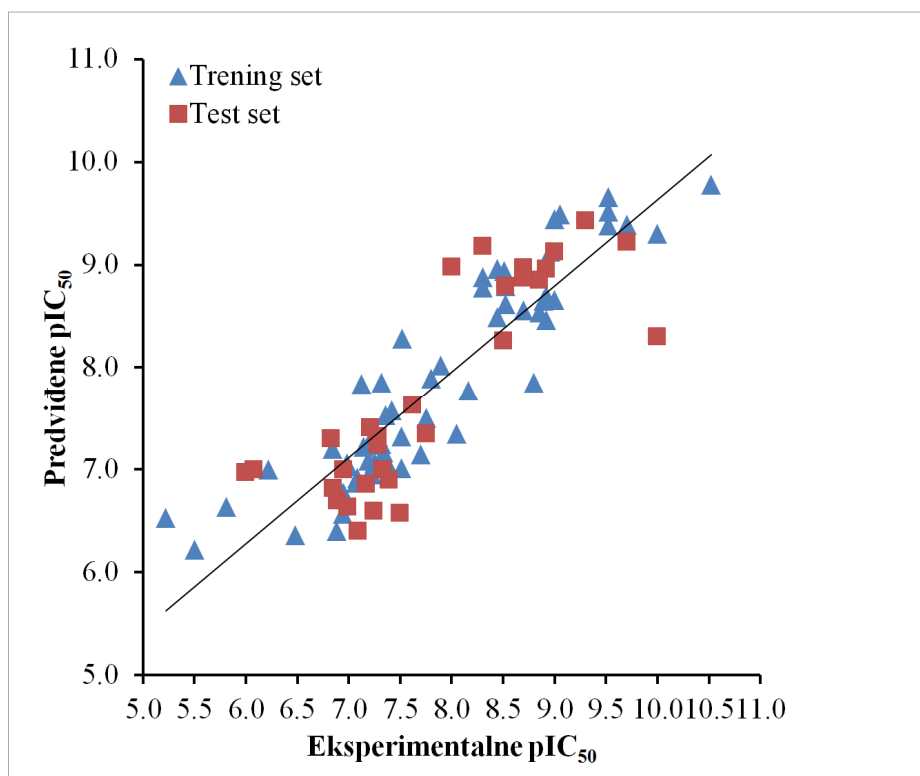
**Tabela I** Eksperimentalne i predvidene aktivnosti jedinjenja iz dataseta i statistički parametri 3D-QSAR modela.

**Table I** Experimental and predicted activities of compounds from dataset and statistical parameters of 3D-QSAR model.

Trening set							
ID	Chembl ID	pKi eksp.	pKi pred.	ID	Chembl ID	pKi eksp.	pKi pred.
PI3K-1	CHEMBL3770993	10,52	9,78	PI3K-46	CHEMBL1773592	7,51	7,32
PI3K-2	CHEMBL3770306	10	9,30	PI3K-48	CHEMBL1773582	7,42	7,58
PI3K-4	CHEMBL3770325	9,7	9,39	PI3K-53	CHEMBL1773584	7,33	7,02
PI3K-6	CHEMBL3770140	9,52	9,38	PI3K-55	CHEMBL1773601	7,32	7,85
PI3K-7	CHEMBL3770717	9,52	9,66	PI3K-56	CHEMBL1773598	7,32	7,25
PI3K-8	CHEMBL2387080	9,52	9,52	PI3K-58	CHEMBL1615188	7,28	7,24
PI3K-10	CHEMBL3769966	9,05	9,49	PI3K-60	CHEMBL1773595	7,28	7,32
PI3K-12	CHEMBL3770332	9	8,66	PI3K-61	CHEMBL3356894	7,25	7,07
PI3K-13	CHEMBL3770824	9	9,44	PI3K-63	CHEMBL1773564	7,24	7,04
PI3K-14	CHEMBL1773736	8,96	9,13	PI3K-64	CHEMBL1773596	7,23	7,33
PI3K-16	CHEMBL1615189	8,92	8,70	PI3K-65	CHEMBL1773560	7,22	6,95
PI3K-17	CHEMBL1773603	8,92	8,46	PI3K-67	CHEMBL1773578	7,19	7,09
PI3K-18	CHEMBL3770092	8,89	8,65	PI3K-69	CHEMBL3356896	7,14	7,22
PI3K-20	CHEMBL1773605	8,85	8,54	PI3K-70	CHEMBL1773575	7,12	7,84
PI3K-21	CHEMBL1773599	8,8	7,85	PI3K-72	CHEMBL1773579	7,08	6,92
PI3K-23	CHEMBL3814414	8,7	8,56	PI3K-73	CHEMBL1773588	7,07	6,87
PI3K-25	CHEMBL3813906	8,52	8,79	PI3K-75	CHEMBL3356898	6,98	7,03
PI3K-26	CHEMBL3814925	8,52	8,62	PI3K-76	CHEMBL1773586	6,98	7,06
PI3K-28	CHEMBL3769972	8,51	8,94	PI3K-78	CHEMBL1773567	6,95	6,77
PI3K-30	CHEMBL3770615	8,44	8,49	PI3K-79	CHEMBL1773566	6,94	6,57
PI3K-31	CHEMBL3770644	8,44	8,96	PI3K-80	CHEMBL1773574	6,93	6,78
PI3K-32	CHEMBL3814365	8,3	8,88	PI3K-82	CHEMBL3356900	6,88	6,40
PI3K-33	CHEMBL3815084	8,3	8,78	PI3K-84	CHEMBL1773597	6,84	7,20
PI3K-35	CHEMBL3356895	8,16	7,77	PI3K-86	CHEMBL1773571	6,48	6,36
PI3K-36	CHEMBL1773600	8,05	7,35	PI3K-87	CHEMBL1773589	6,22	7,00
PI3K-38	CHEMBL1773558	7,89	8,02	PI3K-90	CHEMBL1773570	5,81	6,64
PI3K-39	CHEMBL3356892	7,8	7,89	PI3K-91	CHEMBL1773573	5,5	6,22
PI3K-41	CHEMBL1773559	7,75	7,50	PI3K-92	CHEMBL1773587	5,22	6,53
PI3K-42	CHEMBL3356897	7,7	7,15	PI3K-49	CHEMBL1773583	7,4	7,01
PI3K-44	CHEMBL3769857	7,52	8,28	PI3K-51	CHEMBL1773593	7,36	7,53
PI3K-45	CHEMBL1773594	7,51	7,01	PI3K-52	CHEMBL1773591	7,34	7,17
<b>R<sup>2</sup> = 0,84</b>		<b>Q<sup>2</sup> = 0,67</b>		<b>RMSEE = 0,442</b>			

Test set							
Molekul	Chembl ID	pKi eksp.	pKi pred.	Molekul	Chembl ID	pKi eksp.	pKi pred.
PI3K-3	CHEMBL3770709	10	8,30	PI3K-50	CHEMBL1773577	7,39	6,90
PI3K-5	CHEMBL3771364	9,7	9,22	PI3K-54	CHEMBL1773561	7,33	7,00
PI3K-9	CHEMBL3769854	9,3	9,43	PI3K-57	CHEMBL3356893	7,28	7,32
PI3K-11	CHEMBL2178606	9	9,13	PI3K-59	CHEMBL1615188	7,28	7,24
PI3K-15	CHEMBL3770630	8,92	8,96	PI3K-62	CHEMBL1773563	7,24	6,60
PI3K-19	CHEMBL1773602	8,85	8,85	PI3K-66	CHEMBL1773576	7,21	7,41
PI3K-22	CHEMBL3813842	8,7	8,97	PI3K-68	CHEMBL3356901	7,17	6,86
PI3K-24	CHEMBL2178608	8,7	8,87	PI3K-71	CHEMBL1773581	7,09	6,40
PI3K-27	CHEMBL3814544	8,52	8,79	PI3K-74	CHEMBL3356899	6,99	6,64
PI3K-29	CHEMBL3769603	8,5	8,26	PI3K-77	CHEMBL1773565	6,95	7,00
PI3K-34	CHEMBL1922094	8,3	9,18	PI3K-81	CHEMBL1773562	6,89	6,70
PI3K-37	CHEMBL3814933	8	8,98	PI3K-83	CHEMBL1773569	6,85	6,82
PI3K-40	CHEMBL1773077	7,75	7,35	PI3K-85	CHEMBL1773580	6,83	7,30
PI3K-43	CHEMBL1773572	7,62	7,63	PI3K-88	CHEMBL1773590	6,08	7,00
PI3K-47	CHEMBL1773568	7,5	6,58	PI3K-89	CHEMBL3770709	6	6,97
<b><math>R^2_{\text{pred}} = 0,681</math></b>		<b>RMSEP = 0,567</b>			<b><math>r^2_m = 0,594</math></b>		
<b>= 0,594</b>		<b><math>\Delta r^2_m = 0,0004</math></b>					

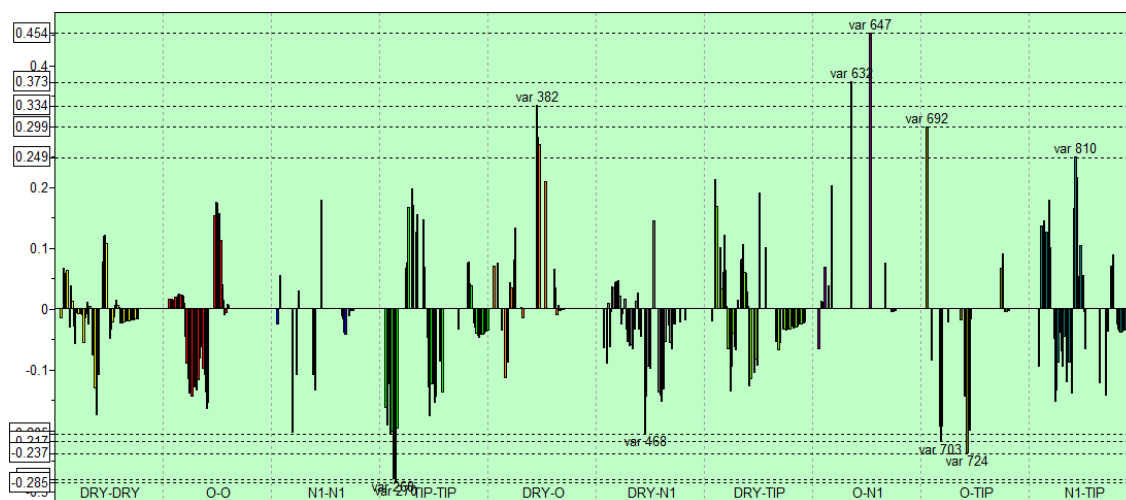
Sa grafika eksperimentalnih u odnosu na predviđene aktivnosti (Slika 2) može se videti da su pKi vrednosti ravnomerno raspoređene oko prave X=Y, potvrđujući kvalitet formiranog modela.



Slika 2. Grafik eksperimentalnih u odnosu na predviđene pKi vrednosti.

Figure 2. Plot of experimental *versus* predicted pKi values.

Kao rezultat 3D-QSAR studije dobijen je korelogram na kojem su u vidu pikova prikazane najznačajnije varijable sa pozitivnim i negativnim uticajem na aktivnost (Slika 3). Detaljan opis ovih varijabli dat je u Tabeli II.



**Slika 3. Grafik PLS koeficijenta GRIND varijabli.**

**Figure 3. PLS-coefficient plot of the most important GRIND variables.**

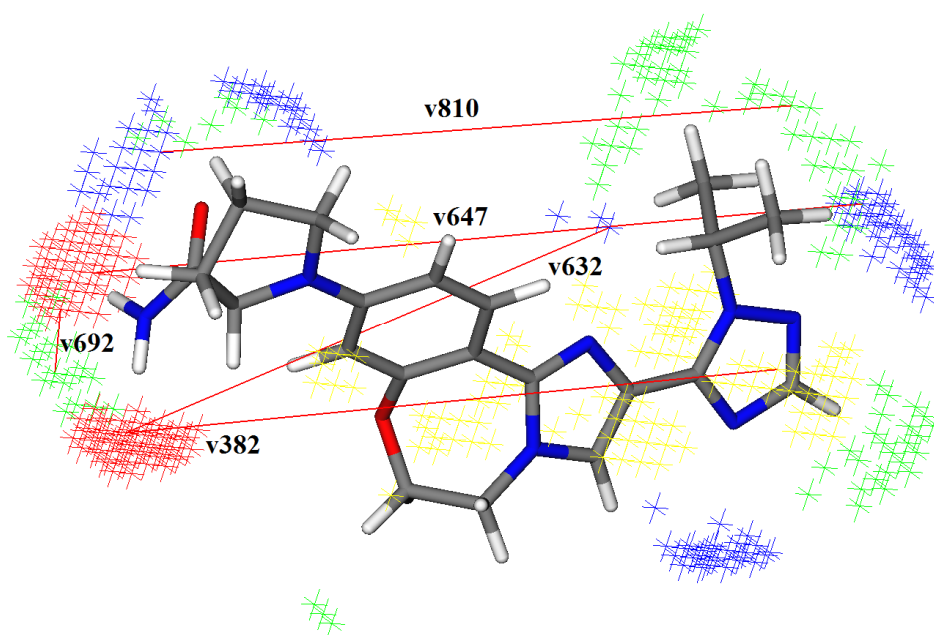
**Tabela II** Opis najznačajnijih GRIND varijabli sa pozitivnim i negativnim uticajem na aktivnost.

**Table II** Summary of the most important favorable and unfavorable GRIND variables.

Varijabla	Tip	Rastojanje [Å]	Uticaj	Opis
268	TIP-TIP	4-4,4	-	Prisustvo dve sterno nepovoljne grupe.
270	TIP-TIP	4,8-5,2	-	Prisustvo dve sterno nepovoljne grupe, ima najveći negativan uticaj na aktivnost.
382	DRY-O	15-15,2	+	Najčešće je formirana između azota amidne grupe (donor vodonične veze) i heterociklične strukture (hidrofobni centar), prisutna kod većine jedinjenja.
468	DRY-N1	15,2-15,6	-	Najčešće predstavlja rastojanje između kiseonika amidne grupe i nekog hidrofobnog heterociklusa.
632	O-N1	12-12,4	+	Rastojanje između donora i akceptora vodonične veze, javlja se kod svih jedinjenja u opsegu pKi od oko 9,5 do 10,52, i kod ostalih mestimično.
674	O-N1	18-18,4	+	Zastupljena je kod svih jedinjenja u okviru pKi opsega od oko 9 do 10,52, dok kod ostalih ređe i pretežno se javlja između azota iz amidne funkcionalne grupe kao donora H-veze i azota iz nekog heterociklusa kao akceptora H-veze, odnosno kiseonika iz amidne grupe kao akceptora i azota iz sulfonamidske funkcionalne grupe kao donora H-veze.
692	O-TIP	1,6-2	+	Kod najaktivnijih jedinjenja formirana između azota amidne funkcionalne grupe (donora vodonične veze) i vodonika vezanog za taj azot (sterni centar).
703	O-TIP	6-6,4	-	Donor vodonične veze i sterni centar na rastojanju većem od optimalnog, definisanog variblom 703.
724	O-TIP	14,4-14,8	-	Donor vodonične veze (najčešće azot amidne grupe) i sterni centar. Može se naći kod svih jedinjenja u pKi intervalu od 5,22 do oko 7,25, ali se javlja i kod nekih aktivnijih jedinjenja.
810	N1-TIP	14,4-14,8	+	Prisustvo akceptora vodonične veze i sternog centra.



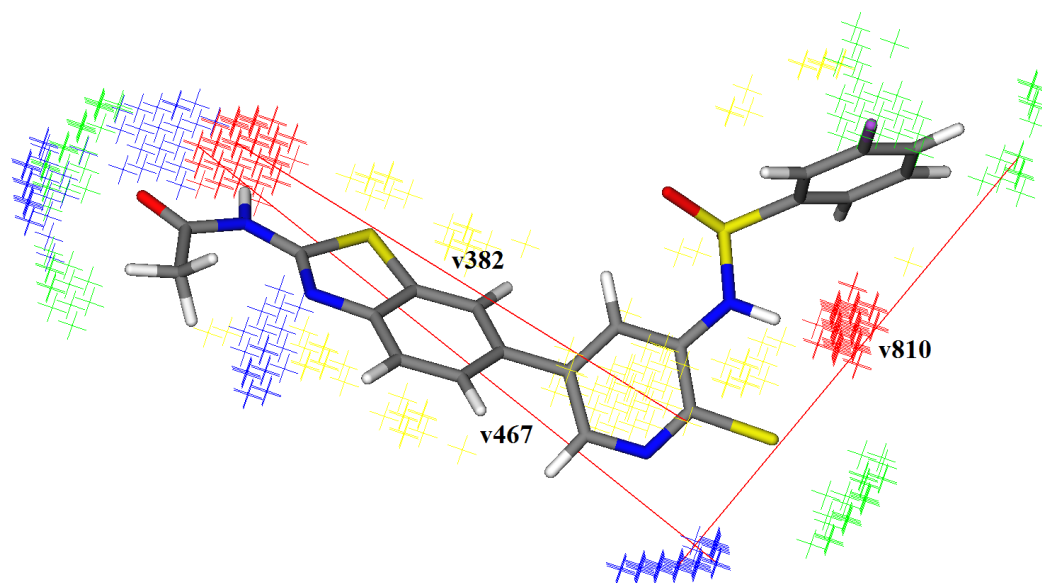
3D-farmakoforna slika PI3K- $\alpha$  inhibitora obuhvata prisustvo donora i akceptora vodonične veze na međusobnom rastojanju od 18-18,4 Å (v647: O-N1) ili 12-12,4 Å (v632: O-N1). Ove varijable imaju pozitivan uticaj na aktivnost i zastupljene su kod svih jedinjenja sa visokom aktivnošću (pKi: 9,0-10,5). Kod najaktivnijeg jedinjenja iz dataseta PI3K-1 (pKi=10,5) varijabla v647 je formirana između azota amidske grupe kao donora vodonične veze i azota triazola kao akceptora vodonične veze, dok je varijabla v632 formirana između azota amidske grupe i azota imidazola (Slika 4). Azot amidske funkcionalne grupe se kod ovog jedinjenja nalazi na povoljnom rastojanju od hidrofobnog triazolskog heterociklusa (v382: DRY-O), N-H veza ove grupe ima i povoljne sterne karakteristike (v692: O-TIP), dok je kiseonik amida kao akceptor vodonične veze na povoljnom rastojanju od izopropil grupe kao sternog centra (v810: N1-TIP). Budući da je amidska grupa sastavni deo svih pozitivnih varijabli koje se nalaze u strukturi najaktivnijeg jedinjenja PI3K-1, može se zaključiti da su njeno prisustvo i položaj u molekuli bitan uslov za dobru aktivnost PI3K- $\alpha$  inhibitora.



Slika 4. 3D-farmakoforna slika jedinjenja PI3K-1 (pKi=10,5) sa najvažnijim varijablama koje imaju pozitivan uticaj na aktivnost.

Figure 4. 3D-pharmacophoric feature of compound PI3K-1 (pKi=10.5) with the most important favorable variables.

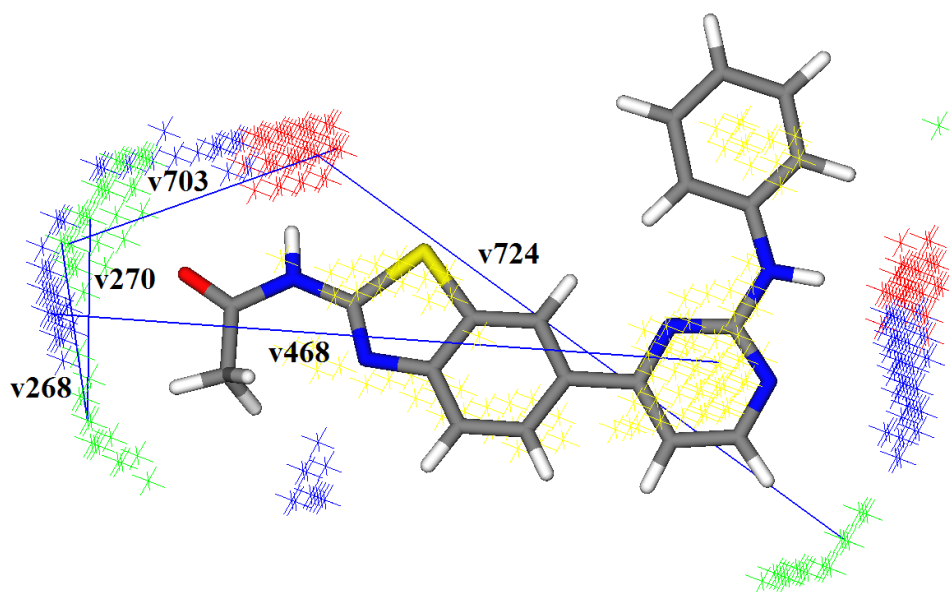
Kod jedinjenja PI3K-14 koje pripada različitoj strukturnoj grupi u odnosu na PI3K-1 i takođe poseduje dobru inhibitornu aktivnost ( $pK_i=8,96$ ) prisutne su 3 od 5 najznačajnijih pozitivnih varijabli (Slika 5). Kod ovog jedinjenja značajno je prisustvo amidne grupe i piridinskog prstena na optimalnoj udaljenosti budući da azot amida kao donor vodonične veze formira povoljne interakcije sa piridinom kao hidrofobnom strukturom (v382: DRY-O) i azotom piridina kao akceptorom vodonične veze (v647: O-N1). Prisustvo sternog centra kao što je benzenov prsten na optimalnoj udaljenosti od azota piridina ima pozitivan uticaj na aktivnost (v810: N1-TIP).



**Slika 5. 3D-farmakoforna slika jedinjenja PI3K-14 ( $pK_i=8,96$ ) sa najvažnijim varijablama koje imaju pozitivan uticaj na aktivnost.**

**Figure 5. 3D-pharmacophoric feature of compound PI3K-14 ( $pK_i=8.96$ ) with the most important favorable variables.**

Strukturne karakteristike koje imaju negativan uticaj na aktivnost prikazane su na primeru jedinjenja PI3K-92, kao najmanje aktivnog jedinjenja u datasetu ( $pK_i=5,22$ ). Metil grupa amida formira negativnu sternu interakciju sa kiseonikom amida što je opisano varijablama v268 i v270: TIP-TIP (Slika 6). Amidna grupa je kod ovog jedinjenja loše pozicionirana budući da azot amida kao donor vodonične veze obrazuje nepovoljne sterne interakcije sa pirimidinom (v724: O-TIP) i kiseonikom amida (v703: O-TIP). Kiseonik amida kao akceptor vodonične veze se takođe nalazi na nepovoljnom rastojanju od hidrofobnog pirimidina (v468: DRY-N1).



Slika 6. 3D-farmakoforna slika jedinjenja PI3K-92 ( $pK_i=5,22$ ) sa najvažnijim varijablama koje imaju negativan uticaj na aktivnost.

Figure 6. 3D-pharmacophoric feature of compound PI3K-92 ( $pK_i=5.22$ ) with the most important unfavorable variables.

## Zaključak

PI3K signalni put predstavlja veliku mogućnost, ali i izazov kao ciljno mesto u terapiji tumora. Danas se zna da je mutacija specifične izoforme p110- $\alpha$  klase IA PI3K enzima prisutna kod većine tumora, te se poseban trud ulaže u razvoj lekova koji će delovati isključivo na tu izoformu. U ovom radu sprovedena je 3D-QSAR studija PI3K- $\alpha$  inhibitora kako bi se definisale strukturne karakteristike koje su od naročitog značaja za aktivnost, odnosno odredila struktura farmakofore. Razvijen je 3D-QSAR model sa dobrim vrednostima statističkih parametara koji se može koristiti za predviđanje široke grupe strukturno različitih PI3K inhibitora. Analiza varijabli je ukazala na poseban značaj amidne grupe kao izvora donora vodonične veze (azot), akceptora vodonične veze (kiseonik) i povoljnih sternih interakcija koje mogu da se obrazuju sa p110- $\alpha$  subjedinicom PI3K enzima. Budući da je amidna veza sastavni deo i nekih varijabli sa negativnim uticajem na aktivnost, veoma je bitna njena pozicija unutar molekule, odnosno rastojanje od hidrofobnih struktura kao što su piridin ili triazol, kao i od sternih centara. Ove informacije omogućuju ciljane strukturne modifikacije kako bi se dizajnirala potencijalno aktivnija jedinjenja, što predstavlja veliku pomoć u prvoj fazi razvoja novih selektivnih PI3K- $\alpha$  inhibitora.

## Zahvalnica

Ovaj rad je financiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, Ugovor broj 172033.

## Literatura

1. Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science*. 2002;296(5573):1655-7.
2. Fruman DA, Meyers RE, Cantley LC. Phosphoinositide kinases. *Annu Rev Biochem*. 1998;67:481-507.
3. Huang CH, Mandelker D, Gabelli SB, Amzel LM. Insights into the oncogenic effects of PIK3CA mutations from the structure of p110alpha/p85alpha. *Cell Cycle*. 2008;7(9):1151-6.
4. Singh SS, Yap WN, Arfuso F, Kar S, Wang C, Cai W, et al. Targeting the PI3K/Akt signaling pathway in gastric carcinoma: A reality for personalized medicine? *World J Gastroenterol*. 2015;21(43):12261-73.
5. Deshpande V, Nduaguba A, Zimmerman SM, Kehoe SM, Macconail LE, Lauwers GY, et al. Mutational profiling reveals PIK3CA mutations in gallbladder carcinoma. *BMC Cancer*. 2011;11:60.
6. Li X, Wu C, Chen N, Gu H, Yen A, Cao L, et al. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and targeted therapy for glioblastoma. *Oncotarget*. 2016;7(22):33440-50.
7. Janku F, Yap TA, Meric-Bernstam F. Targeting the PI3K pathway in cancer: are we making headway? *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(5):273-91.
8. Janku F. Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) pathway inhibitors in solid tumors: From laboratory to patients. *Cancer Treat Rev*. 2017;59:93-101.
9. Jia S, Roberts TM, Zhao JJ. Should individual PI3 kinase isoforms be targeted in cancer? *Curr Opin Cell Biol*. 2009;21(2):199-208.
10. Heffron TP, Heald RA, Ndubaku C, Wei B, Augustin M, Do S, et al. The Rational Design of Selective Benzoxazepin Inhibitors of the alpha-Isoform of Phosphoinositide 3-Kinase Culminating in the Identification of (S)-2-((2-(1-Isopropyl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)-5,6-dihydrobenzo[f]imidazo[1,2-d][1,4]oxazepin-9-yl)oxy)propanamide (GDC-0326). *J Med Chem*. 2016;59(3):985-1002.
11. Heffron TP, Ndubaku CO, Salphati L, Alick B, Cheong J, Drobnick J, et al. Discovery of Clinical Development Candidate GDC-0084, a Brain Penetrant Inhibitor of PI3K and mTOR. *ACS Med Chem Lett*. 2016;7(4):351-6.
12. D'Angelo ND, Kim TS, Andrews K, Booker SK, Caenepeel S, Chen K, et al. Discovery and optimization of a series of benzothiazole phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/mammalian target of rapamycin (mTOR) dual inhibitors. *J Med Chem*. 2011;54(6):1789-811.

13. Collier PN, Martinez-Botella G, Cornebise M, Cottrell KM, Doran JD, Griffith JP, et al. Structural basis for isoform selectivity in a class of benzothiazole inhibitors of phosphoinositide 3-kinase gamma. *J Med Chem.* 2015;58(1):517-21.
14. ChemAxon Marvin 17.28.0 program, Budimpešta, Mađarska, 2017  
[www.chemaxon.com/products.html](http://www.chemaxon.com/products.html).
15. Gaussian 98 (Revision A.7) Frisch MJ et al. Gaussian, Inc, Pittsburgh PA, 1998.
16. Chem3D Ultra 7.0, Cambridge Soft Corporation, 100 Cambridge Park Dr, Cambridge, USA, 2001,  
<http://www.cambridgesoft.com/>.
17. Pentacle, Version 1.0.7, Molecular Discovery Ltd., Perugia, Italy; 2009.
18. Tropsha A. Best Practices for QSAR Model Development, Validation, and Exploitation. *Mol Inform.* 2010;29(6-7):476-88.
19. Roy K, Mitra I, Kar S, Ojha PK, Das RN, Kabir H. Comparative studies on some metrics for external validation of QSPR models. *J Chem Inf Model.* 2012;52(2):396-408.

# Molecular modeling and analysis of the 3D pharmacophore structure of the selective PI3K- $\alpha$ inhibitors as antitumor agents

Milan Jovanović<sup>1</sup>, Katarina Nikolic<sup>1</sup>, Zarko Gagic<sup>2\*</sup>, Danica Agbaba<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Vojvode Stepe 450, 11000 Belgrade, Serbia

<sup>2</sup> University of Banja Luka – Faculty of Medicine, Department of Pharmaceutical Chemistry, Save Mrkalja 14, 78000 Banja Luka, Bosnia and Herzegovina

\* Corresponding author: Zarko Gagic

Tel: +387 51 340 106; e-mail: zarko.gagic@med.unibl.org

---

## Summary

The importance of the activation of phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) in the processes of tumor cell formation and growth has brought great interest in the development of new antitumor drugs that inhibit the PI3K-Akt signaling pathway. Recent studies have shown that in most tumors the activity of p110 $\alpha$  isoform of PI3K kinase has been altered, and today special emphasis is placed on developing specific PI3K- $\alpha$  inhibitors. In a series of 92 PI3K- $\alpha$  inhibitors, whose data on experimentally determined inhibitory activity were collected from literature, 3D quantitative structure-activity relationship studies (3D-QSAR) were carried out. All molecular structures were previously optimized using semiempirical PM3 and *ab initio* Hartree-Fock / 3-21G methods, and modeling was performed using PLS regression analysis. Calculated parameters of internal ( $R^2=0.84$ ;  $Q^2=0.67$ ) and external ( $R^2_{\text{pred}}=0.681$ ;  $r^2_{\text{m}}=0.594$ ;  $\Delta r^2_{\text{m}}=0.00039$ ) validation indicate on good reliability and predictive power of created 3D-QSAR model. The analysis of the variables enabled pharmacophore structure determination, which implies: presence of hydrogen bond donor and hydrogen bond acceptor at a distance of 18-18.4Å or 12-12.4Å, presence of hydrophobic domain and hydrogen bond donor at a distance of 15.2-15.6Å, and presence of steric hotspot at optimal distance from hydrogen bond donor and acceptor. These results will have the relevance in selecting the lead compounds for targeted structural modifications in order to design new selective PI3K- $\alpha$  inhibitors as potential antitumor drugs.

**Keywords:** 3D-QSAR, pharmacophore, PI3K- $\alpha$ , inhibitor, tumor

---