

靶向表皮生长因子受体的全新小分子配体筛选*

邓宏伟^{1)**} 郭妍^{1)**} 孙烨¹⁾ 徐宇虹^{2)***}

(¹⁾上海交通大学生命科学技术学院, 上海 200030; ²⁾上海交通大学药学院, 上海 200030)

摘要 肿瘤靶向分子的筛选一直是肿瘤治疗和早期诊断的研究热点. 表皮生长因子受体 (EGFR) 在很多肿瘤细胞表面过量表达, 是一个理想的药物输送靶点. 选择了 EGFR 表面不同于表皮生长因子 (EGF) 结合位点的一个凹陷部位作为计算机模拟筛选的结合位点, 然后使用 DOCK 软件包对 DTP-Plated 有机小分子数据库进行了两遍筛选, 最后选择了 7 个有机小分子作为可能的靶向分子. BIAcore 体外结合实验对所选择的小分子样品进行了进一步的验证, 结果表明, 小分子 NSC51186 能特异地与 EGFR 结合. 小分子 NSC51186 和 EGFR 之间的动力学常数也得到进一步的测定. 新的靶向分子和药物、纳米粒子或者基因载体相连, 将有可能用于靶向于 EGFR 的肿瘤治疗和诊断.

关键词 计算机辅助药物设计, 筛选, 靶向, 表皮生长因子受体 (EGFR), BIAcore

学科分类号 R914.2

发现新的靶向于肿瘤组织或者细胞的分子, 在肿瘤治疗和早期诊断上有非常重要的意义. 在肿瘤治疗上, 靶向分子可以作为化学药物或者基因药物的“弹头”, 将药物定向输送到某些肿瘤, 提高药效, 减少副作用^[1,2]. 靶向分子也可以作为癌症早期诊断的成像试剂, 通过对肿瘤组织“聚焦”, 提高诊断的准确性和灵敏度^[3].

表皮生长因子受体 (EGFR) 在许多肿瘤细胞 (特别是在上皮起源的肿瘤中) 中过量表达^[4], 和肿瘤细胞的增殖、分化和转移等活动关系密切^[5]. 许多证据表明 EGFR 是抗肿瘤治疗的理想靶点^[6,7], 筛选靶向于 EGFR 的分子有着重要的意义, 也一直是一个研究的热点.

筛选靶向分子的体外实验方法都费时、费力、费钱. 近年来, 计算机模拟筛选和设计靶向分子的技术, 为缩小筛选范围和设计新的靶向分子提供了有力的帮助^[8,9]. 计算机模拟筛选主要分为两类: 基于配体药效基团模型的有机小分子三维结构数据库搜索技术, 和基于受体结构的分子对接技术^[10]. 虽然分子对接技术计算量相对较大, 但是随着计算机技术的发展和打分函数的改进, 已经能够用来进行大型有机小分子数据库的筛选, 其优势在于只需要知道受体的三维晶体结构而且结果相对比较可靠.

计算机模拟筛选的结果还需要通过实验来进一步筛选和证实. 表面等离子共振技术 (SPR) 通过受体和配体之间的相互作用而产生的光学参数变化来判断分子之间是否相互作用, 并可以进一步求得相互作用的生物分子之间的结合常数^[11]. SPR 技术简单、快速、可以实时地检测反应的动态过程, 目前

已广泛地应用于药物与蛋白质、药物与 DNA (RNA)、多肽与蛋白质的相互作用研究上.

我们结合分子对接技术和表面等离子共振技术, 筛选出新的靶向于 EGFR 的分子, 并进一步计算了靶向分子和 EGFR 之间的相互作用常数.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 非表皮生长因子(EGF)结合区结合位点的选择. EGFR 和 EGF 复合体的晶体结构 (ID:1NQL) 来自网上的 PDB 蛋白数据库 (<http://www.rcsb.org/pdb/>), EGF 和水分子等被使用文本编辑器手工去除, 只保留 EGFR 的结构信息, 结构中残缺的一些侧链原子使用 SPDBV 3.7 (<http://www.expasy.org/spdbv/>) 软件包进行重建, 然后使用 GROMACS (<http://www.gromacs.org/>) 软件包对处理后的结构进行了 2 ps 的能量优化. 由于我们的目的是寻找靶向 EGFR 的配体而非 EGF 的竞争剂, 所以没有选择 EGFR 已知的 EGF 活性位点作为我们计算机模拟筛选的结合位点, 这样可以避免和 EGF 的竞争. 为了寻找新的合适靶点, 使用 Wang 提供的 PSCAN 2.2.2 (<http://home.pchome.com.tw/team/gentamicin/mol/mol.htm>) 软件扫描 EGFR 表面可能的结合位点, 然后手

*上海市科委生物医药专项基金项目资助(024319120).

** 对本文有相同的贡献, 共为第一作者.

*** 通讯联系人.

Tel: 021-62933466, Fax: 021-62933466

E-mail: yhxu@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2004-09-08, 接受日期: 2004-11-30

工挑选了一个大小、位置和疏水性都比较合理的凹陷部位作为后面计算机模拟筛选的结合位点。

1.1.2 DTP-Plated 小分子数据库的准备. DTP-Plated 小分子数据库有大约 14 万个合成和天然化合物的结构信息, 考虑到耗时的合理性和后期实验的要求, 采用了“过滤”-“粗筛”-“细筛”的策略对小分子数据库进行计算机模拟筛选. 基于对配体分子“合适性”的考虑, 我们针对化合物分子的水溶性和安全性进行了初步“过滤”, 过滤过程使用 Wang 提供的 DBFILTER 2.2.6 软件完成, 保留了原数据库中 $\lg P \leq 6$ 和只包含 H、C、N、O、F、S、P、Br、I、Cl 这些原子类型的小分子. 按设定的规则“过滤”以后, DTP-Plated 数据库还剩下 69 678 个小分子供后面的筛选使用。

1.2 方法

1.2.1 基于分子对接技术的计算机模拟筛选.

在计算机模拟筛选中, Kuntz 实验室提供的 DOCK 4.0.2^[12] (<http://dock.compbio.ucsf.edu/>) 版本软件包和 DOCK 5.1.1 版本的参数被选为主要工具. 在准备过程中, 首先将前面选定的 EGFR 结合位点附近 0.5 nm 内的残基分离出来用于构建分子对接的格点, 这些残基构成的口袋足够容纳结合位点的所有残基. 然后参照 DOCK 手册完成产生小球集合的生成和力场格点的计算. 在分子对接中, 受体蛋白加上了 kollman 全原子电荷, DTP-Plated 小分子数据库则加上 Gasteiger 电荷。

使用 DOCK4.0.2 软件包的“粗筛”过程中, 配体会在受体的靶点内寻找可能的取向和合理的位置, 我们同时也考虑了配体的柔性, 然后进行基于格点的能量优化来寻找配体的局部能量最低点. 每一个对接分子的位置和构象都使用 DOCK 4.0.2 的单锚点搜索和转矩最小化方法来优化. 在锚点优先的算法中, 一个循环过程由每个配体的 30 个构象构成, 锚点的取向尝试次数最多有 50 次. 最后, 所有对接的构象都进行一次 100 步的能量优化. 提取出“粗筛”结果中能量打分最低的前 5 000 个小分子进行进一步的“细筛”。

“细筛”的过程是将锚点取向的尝试次数增加到 100 次, 同时将最大允许柔性键的个数从 15 个增加到 20 个, 以期发现更合理的配体位置、构象和取向. 接下来, 最终结果中能量打分最低的前 100 个小分子被挑选出来, 使用可视化分子对接结果分析软件 Chimera^[13] (<http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>) 进行进一步的分析, 包括能量打分、

形状互补、与 EGFR 形成氢键的能力和能否作为靶向分子等方面的考察. 最后选定 7 个药品向美国 DTP (Developmental Therapeutics Program) 组织各申请了 3 mg 样品。

1.2.2 亲合筛选和动力学常数测定——BIAcore 技术.

对计算机模拟筛选出来的小分子进行进一步的体外亲合筛选试验. 亲合筛选是在使用表面等离子共振技术的生物传感器上实现的 (BIAcore 3000, BIAcore, Uppsala, Sweden). 并用该技术进一步表征筛选出来的靶向分子和 EGFR 之间的相互作用。

试验方法是在传感芯片表面的羧甲基葡聚糖上, 通过碳二酰亚胺反应, 将配体与羧甲基葡聚糖上的伯胺基共价连接, 然后用盐酸化的氨基乙醇将活化而未与配体反应的位点封闭. 不同浓度的受体以一定的流速流经传感片表面, 检测光的响应值. 每一次结合在传感片上的受体用还原液还原成初始的传感片表面。

具体地说, EGFR 通过氨基反应 (芯片上的水凝胶用 NHS/EDC 活化) 连接到生物传感芯片 (CM5 芯片) 表面. 4.25 mg/L 的 EGFR 用 10 mmol/L 醋酸钠 pH 4.8) 稀释, 以流速 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ 流经芯片表面. 之后 1 mol/L 盐酸化的氨基乙醇 (pH 8.5) 流过芯片表面, 未反应的 EGFR 被洗去, 芯片上未反应的活性位点也和盐酸化的氨基乙醇反应, 进行封闭. 反应完毕, 相应光响应信号提高了 230 RU。

为了实时监测小分子药物和 EGFR 之间的相互作用, 不同浓度的小分子药物溶液流经 EGFR 表面, 形成不同的光响应值. 传感器表面和样品池保持在 25℃. 具体地说, 小分子药物溶解在 BIAcore 提供的 HBS-EP 缓冲液中, 配成不同的浓度. 80 μL 不同浓度的样品以 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速连续经过芯片表面, 历时 5 min. 样品的解离过程用 BIAcore 缓冲液同样以 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速冲洗 5 min. 芯片表面用 70 μL 的 10 mmol/L 氨基乙酸 (pH 2.5) 进行再生, 将键合上去的配体洗脱. 再生过程不会使连接在芯片表面的 EGFR 变性, 这一点由再生后重复流过相同的分析物光响应值相同而得到验证. 用表面连接有牛血清白蛋白 (BSA) 的参比通道扣除本体折射参数的变化和背景的非特异性作用. 因为 BSA 的分子质量和 EGFR 相近, 但是和小分子药物没有特异性的相互作用. 所报道的数据是扣除了连接有 BSA 的参比通道背景之后的。

动力学速率常数 (k_a , k_d) 和平衡结合常数 (K_A , K_D) 由 BIAevaluation 3.1 软件计算得出。

2 结 果

2.1 非 EGF 结合区结合位点的选择

使用 PSCAN 软件默认的参数扫描 EGFR 表面

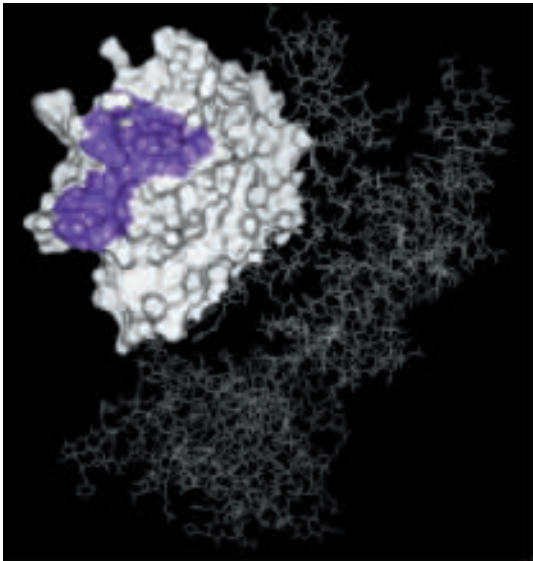


Fig.1 Potential binding site on EGFR surface
The area colored in purple is our selected binding site.

得到很多可能的结合位点，我们在靠近 N 端的位置选择了一个比较合理的凹陷部位作为结合位点(图 1)，凹陷的底部是一些疏水的残基，外侧则是一圈亲水的残基，是一个很理想的计算机模拟筛选的结合位点.

2.2 DTP-Plated 数据库的计算模拟筛选

使用 DOCK4.0.2 软件包和上面选择的结合位点对 DTP-Plated 数据库进行了两次筛选和可视化分析评估后，向 DTP 申请了选定的 7 个药品的样品各 3 mg，这些样品都有很低的能量打分并且水溶性都比较好. 它们的 NSC 编号依次是 625 855、622 975、625 849、171 130、51 186、365 428 和 625 515，具体参数和结构见表 1.

2.3 体外结合实验

用 BIAcore 技术对计算机筛选出来的样品进行结合实验. 实验结果除了小分子 NSC51186 在扣除了参比之后有较强的光响应值以外，其他的小分子都没有明确的响应(结果没有显示). 不同浓度的小分子 NSC51186(250, 350, 400, 450, 475, 500 nmol/L)

Table 1 The energy score, DOCK rank, XlogP value and structure of seven small molecules which were selected from virtual screen results

NSC ID	Energy score	DOCK rank	XlogP	Structure
51 186	-51.48	14	5.23	
625 855	-61.14	1	5.19	
625515	-51.05	16	0.67	
622 975	-50.53	19	1.37	
625 849	-50.41	20	3.00	
171 130	-50.68	17	4.11	
365 428	-51.73	13	1.22	

和 EGFR 之间的相互作用结果显示于图 2. 图 2 中从上到下的曲线依次是浓度由高到低的小分子 NSC51186 在 EGFR 表面流过的响应值(扣除了 BSA 参比). 用 BIAevaluation 3.1 软件对图 2 的曲线进行拟合, 使用 1:1 的反应模型, 拟合出来的动力学常数 (k_a , k_d) 和平衡常数 (K_A , K_D) 结果列于表 2.

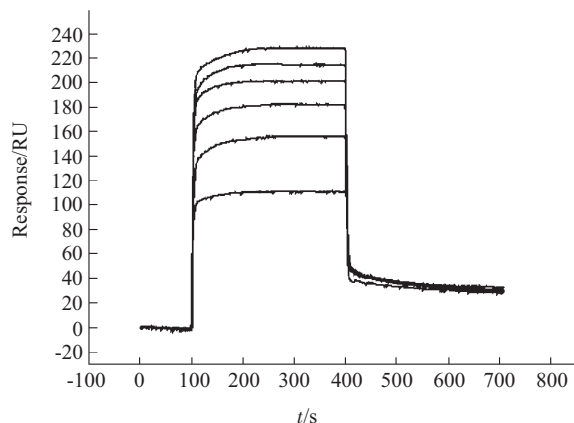


Fig.2 BIAcore analysis of the interactions between NSC51186 and EGFR (EGFR was immobilized on the chip)

51 186 (250, 350, 400, 450, 475, 500 nmol/L) was passed over immobilized EGFR (230RU immobilized).

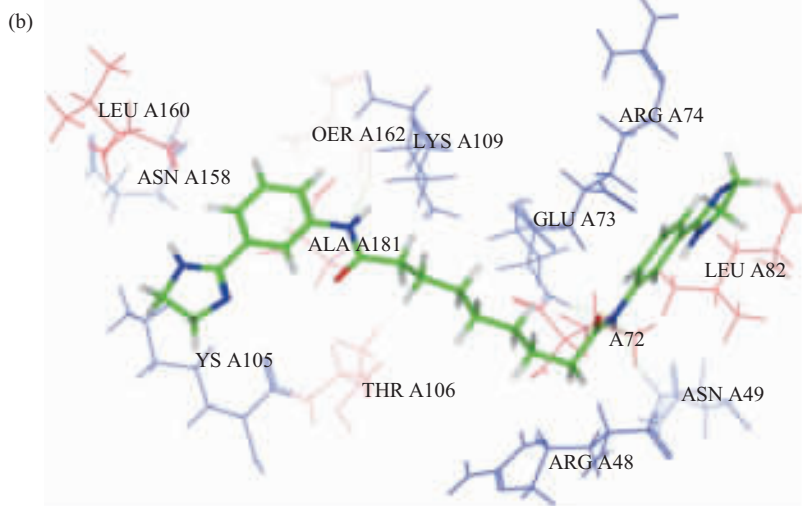
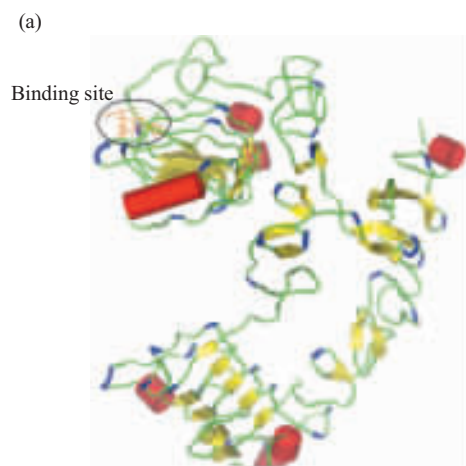


Fig.3 Interactions between NSC51186 and EGFR

(a) Mapping binding site onto NSC51186 and EGFR. Binding site in the interface is outlined. (b) The close view of interactions between NSC51186 and neighbor residues of EGFR. Hydrogen bonds are represented in green dashed line.

3 讨 论

肿瘤靶向分子给肿瘤治疗和肿瘤早期诊断的优化带来新的希望. 针对肿瘤组织的靶向给药系统被誉为“神奇的子弹”, 能大大提高药物到达目的组

Table 2 Kinetic analysis of the binding of NSC51186 with immobilized EGFR

k_a /(mol ⁻¹ ·L·s ⁻¹)	k_d /s ⁻¹	R_{max} /RU	K_A /(mol ⁻¹ ·L)	K_D / (mol·L ⁻¹)	Chi2
148	1.45e-3	44.2	1.02e5	9.8e-6	6.09

The data were fitted by kinetics simultaneous k_a/k_d 1:1 using BIAevaluation 3.1 software.

2.4 相互作用模型分析

图 3 显示的是计算机模拟的小分子 NSC51186 和 EGFR 的具体结合模式和与关键残基的相互作用, 是基于 DOCK 计算的结果生成的. 从图 3a 我们可以看出小分子很好地进入了我们选择的结合位点, 而图 3b 显示 NSC51186 和 EGFR 之间形成 3 个氢键, 这些氢键相互作用在两者的结合中可能起着很重要的作用.

织的比例, 减少药物进入其他组织的可能性, 从而可以减少有效用药的最小剂量和相应的毒副作用. 而实现靶向作用的关键在于选择合适的靶向分子, 单克隆抗体分子具有较好的结合力和作用特异性, 但分子质量大、制备昂贵, 而且还存在复杂的人源

化问题^[14]. 天然配体如 EGF 本身, 还有常用的小分子配体叶酸 (folate) 等, 都可以通过连接药物或者复合载体而将它们靶向输送到相应受体高表达的肿瘤细胞, 达到诊断或治疗的目的^[15]. 但是, 由于天然配体分子本身具有较强的生物活性, 作为靶向分子应用在安全性方面有一定的局限. 所以我们这个研究的目的是通过结合计算机模拟筛选和体外结合验证实验的方法找到全新的小分子配体, 发展更安全更简便的治疗和诊断试剂. 其中基于分子对接技术的计算机模拟筛选方法能大大提高配体的发现命中率.

EGFR 作为肿瘤治疗的特异性分子靶点已有很多成功的例子, 代表性的有靶向受体胞外配体结合区从而阻止配体结合的单克隆抗体(IMC-C225)^[16]和抑制 ATP 结合到受体酪氨酸激酶从而阻止酪氨酸激酶活性和自磷酸化的小分子酪氨酸激酶抑制剂(ZD1839)^[17,18]. 另外, 在研究中的还有同时靶向 EGFR 胞外配体结合位点和免疫 effector 细胞表面抗原决定簇的双特异性抗体 (MDX-447)、抗体和细胞毒素的融合蛋白, 以及抑制 EGFR 合成的反义核苷酸等^[19,20]. 虽然发现了一些较成功的抗体分子, 但价格昂贵、制备复杂、而且需要具体的 effector 机制的支持, 所以相对而言, 小分子配体还是具有相当优势的.

根据 Ogiso 和 Ferguson 等^[21,22]分别测定的 EGFR 胞外区与 EGF 复合体在激活状态和非激活状态的结构, EGFR 胞外区的 I、II 和 III 区域排成一个 C 字形, EGF 就处在这个 C 字形口袋中. 但在本研究中, 我们特别选用了—个远离 EGF 结合区的结构位点作为我们计算机模拟筛选的结合位点, 这样既可以避免与 EGF 的竞争, 同时避免和功能位点的作用而触发下游信号转导, 还能使配体能够最大限度地作用于不同 EGFR 的突变体. 我们希望通过这一研究, 探讨在药物靶向配体研究中, 设计全新结合位点的可能性.

目前基于结构的药物设计方法大部分都是用来设计拮抗剂和激动剂的, 我们通过新的结合位点的选择, 探讨了计算机虚拟筛选特异性配体的可能性. 分子对接技术是一种常用的虚拟筛选方法, 血管紧张素转换酶 (ACE) 抑制剂 captopril 的研究是最早成功的例子之一. Kuntz 实验室开发的以受体形状为主要搜索标准的 DOCK 系列程序由于其结果相对可靠和耗时比较合理被广泛采用, 并且已有一些比较成功的例子^[23], 所以也选择了用 DOCK

作为我们计算机模拟筛选的主要工具. 在化合物数据库方面, 我们首先选择了 DTP-Plated 数据库进行尝试, 并申请获得了一系列样品进行体外结合试验的验证.

当然, 到目前为止, 分子对接理论的发展和实际计算的可能性, 还不可能非常准确可靠地预测配体和受体的结合模式和结合的亲和力. 因此计算机模拟筛选只是作为缩小实验筛选范围、提高实验筛选命中率的一种手段. 我们通过筛选获得的 7 个候选分子中, 也只有第 14 号 NSC51186 在体外结合试验中有明确的作用, 说明计算机模拟还是具有一定的预测作用, 虽然其预测还远远不能说是准确的.

同样地, 我们通过 BIAcore 体外结合试验, 在 7 个候选分子中确认了 NSC51186 的结合作用, 试验结果用受体和配体 1:1 反应的模型进行拟合, 得到很好的拟合效果, 基本上可以确认小分子 NSC51186 和 EGFR 之间的相互作用是 1:1, 即一个小分子只结合在特定的一个受体上, 而且具有较高的亲和能力, 与我们的设想及模型分析是一致的. 当然, BIAcore 技术也有其本身的局限性, 受化学连接反应的影响, 所以在 BIAcore 试验中没有确定结合的分子, 并不一定与 EGFR 没有作用. 反过来, 更需要指出的是, 在 BIAcore 试验中确定结合并具有较高亲和能力的 NSC51186, 其在细胞模型甚至动物模型中的结合能力如何, 都还需要大量的实验数据来说明, 我们也正在进行相关的实验研究.

总的来说, 通过本文的研究, 我们根据新的结构位点的设计, 筛选获得了并通过体外结合试验确认了一个能够以较高效率靶向于 EGFR 的全新的配体分子, 我们期望能够在今后的研究中, 应用这一新的配体分子, 或者通过进一步的结构改造和优化, 连接药物、诊断试剂、以及蛋白质基因和纳米粒子载药系统等, 在靶向性药物输送和肿瘤的早期诊断方面, 进行一些具有创新意义的工作.

致谢 感谢上海市科委生物医药基金 (No. 024319120) 的资助. 感谢加州大学旧金山分校 Kuntz 实验室提供 DOCK4.0.2 软件包. 感谢美国国家癌症研究所癌症治疗和诊断中心发展和治疗组的药物合成和化学小组 (Drug Synthesis and Chemistry Branch, Developmental Therapeutics Program, Division of Cancer Treatment and Diagnosis, National Cancer Institute) 提供小分子样品. 本项目计算工作

在上海交通大学高性能计算中心 (High Performance Computing Center of Shanghai Jiaotong University) 完成。

参 考 文 献

- 1 Yoshioka Y, Tsutsumi Y, Nakagawa S, *et al.* Recent progress on tumor missile therapy and tumor vascular targeting therapy as a new approach. *Curr Vasc Pharmacol*, 2004, **2** (3): 259~270
- 2 Nachmias B, Ashhab Y, Ben-Yehuda D. The inhibitor of apoptosis protein family (IAPs): an emerging therapeutic target in cancer. *Semin Cancer Biol*, 2004, **14** (4): 231~243
- 3 Goldenberg D M, DeLand F, Kim E, *et al.* Use of radiolabeled antibodies to carcinoembryonic antigen for the detection and localization of diverse cancers by external photoscanning. *N Engl J Med*, 1978, **298** (25): 1384~1386
- 4 Hirsch F R, Varella-Garcia M, Jr Bunn P A, *et al.* Epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung carcinomas: correlation between gene copy number and protein expression and impact on prognosis. *J Clin Oncol*, 2003, **21** (20): 3798~3807
- 5 Salomon D S, Brandt R, Ciardiello F, *et al.* Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol*, 1995, **19** (3): 183~232
- 6 Ciardiello F. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors as anticancer agents. *Drugs*, 2000, **60** (Suppl 1): 25~32
- 7 Ciardiello F, Tortora G. A novel approach in the treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor. *Clin Cancer Res*, 2001, **7** (10): 2958~2970
- 8 Liu H, Li Y, Song M, *et al.* Structure-based discovery of potassium channel blockers from natural products: virtual screening and electrophysiological assay testing. *Chem Biol*, 2003, **10** (11): 1103~1113
- 9 Sun F, Li P, Ding Y, *et al.* Design and structure-based study of new potential FKBP12 inhibitors. *Biophys J*, 2003, **85** (5): 3194~3201
- 10 宋云龙, 陆倍倍, 张万年. 基于结构的计算机辅助药物设计方法学与应用研究. *药学进展*, 2002, **26** (6): 359~364
Song Y L, Lu B B, Zhang W N. Progress in Pharmaceutical Sciences, 2002, **26** (6): 359~364
- 11 Nice E C, Catimel B. Instrumental biosensors: new perspectives for the analysis of biomolecular interactions. *Bioessays*, 1999, **21** (4): 339~352
- 12 Ewing T J A, Kuntz I D. Critical evaluation of search algorithms for automated molecular docking and database screening. *J Comput Chem*, 1997, **18** (9): 1175~1189
- 13 Pettersen E F, Goddard T D, Huang C C, *et al.* UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*, 2004, **25** (13): 1605~1612
- 14 Serafini A N. From monoclonal antibodies to peptides and molecular recognition units: an overview. *J Nucl Med*, 1993, **34** (3 Suppl): 533~536
- 15 Lu Y, Low P S. Folate-mediated delivery of macromolecular anticancer therapeutic agents. *Adv Drug Deliv Rev*, 2002, **54** (5): 675~693
- 16 Baselga J. Monoclonal antibodies directed at growth factor receptors. *Ann Oncol*, 2000, **11** (Suppl 3): 187~190
- 17 Wakeling A E, Guy S P, Woodburn J R, *et al.* ZD1839 (Iressa): an orally active inhibitor of epidermal growth factor signaling with potential for cancer therapy. *Cancer Res*, 2002, **62** (20): 5749~5754
- 18 Baselga J, Averbuch S D. ZD1839 (Iressa) as an anticancer agent. *Drugs*, 2000, **60** (Suppl 1): 33~40
- 19 Ciardiello F, Caputo R, Troiani T, *et al.* Antisense oligonucleotides targeting the epidermal growth factor receptor inhibit proliferation, induce apoptosis, and cooperate with cytotoxic drugs in human cancer cell lines. *Int J Cancer*, 2001, **93** (2): 172~178
- 20 Baselga J, Rischin D, Ranson M, *et al.* Phase I safety, pharmacokinetic, and pharmacodynamic trial of ZD1839, a selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with five selected solid tumor types. *J Clin Oncol*, 2002, **20** (21): 4292~4302
- 21 Ogiso H, Ishitani R, Nureki O, *et al.* Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. *Cell*, 2002, **110** (6): 775~787
- 22 Ferguson K M, Berger M B, Mendrola J M, *et al.* EGF activates its receptor by removing interactions that autoinhibit ectodomain dimerization. *Mol Cell*, 2003, **11** (2): 507~517
- 23 Hopkins S C, Vale R D, Kuntz I D. Inhibitors of kinesin activity from structure-based computer screening. *Biochemistry*, 2000, **39** (10): 2805~2814

A Novel Small Molecule Ligand for Epidermal Growth Factor Receptor Targeting*

DENG Hong-Wei^{1)**}, GUO Yan^{1)**}, SUN Ye¹⁾, XU Yu-Hong^{2)***}

¹⁾*School of Life Science and Technology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030, China*

²⁾*School of Pharmacy, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030, China*

Abstract For the development of new targeted drug delivery vectors and molecular imaging reagents, it is essential to find the appropriate ligand that is both safe and efficient. Ligands against EGFR are highly sought after since it is highly expressed on many kinds of tumor cells and considered as a good target in cancer therapy. A new binding site based on EGFR 3D structure was proposed and DTP-Plated small molecule database was screened using the DOCK program. The selected molecules were further evaluated for their *in vitro* binding capacity using the BIAcore technique. It was shown that the molecule NSC51186 may be a novel small molecule targeting ligand for EGFR. Further studies are warranted to investigate its potential in targeted drug delivery and gene delivery, as well as molecular diagnosis applications.

Key words computer-aided drug design, screen, targeting, EGFR, BIAcore

*This work was supported by a grant from The Shanghai Science and Technology Committee, Biomedicine Foundation to YXu (024319120).

**These authors contributed equally to this paper.

***Corresponding author . Tel: 86-21-62933466, Fax: 86-21-62933466, E-mail: yhxu@sjtu.edu.cn

Received: September 8, 2004 Accepted: November 30, 2004