

## 研究论文

## 噻吩并嘧啶类 FLT3 抑制剂结合模式预测与分析

康文渊 丁若凡 范倩 田菲菲\*

(西南交通大学生命科学与工程学院 成都 610031)

**摘要** FLT3(FMS 样酪氨酸酶 III)是酪氨酸激酶受体(RTKIII)成员之一,其异常超表达或突变与急性髓细胞白血病(AML)呈现非常大的相关性,成为治疗 AML 的重要靶位点。本文采用不同的方法对 FLT3 活性位点进行了预测,利用分子对接、分子动力学以及药效团分析研究了新型嘧啶类化合物与 FLT3 的相互作用与结合模式。分子对接得到的结合模式与分子动力学模拟得到的结果一致,结合药效团分析表明该嘧啶类化合物主要通过疏水相互作用和氢键与 FLT3 激活位点结合,从而起到抑制作用。本研究对以 FLT3 为靶点的嘧啶类抑制剂的开发提供了理论和实验依据。

**关键词** FLT3 活性位点预测 分子对接 分子动力学 药效团分析

## Prediction and Analysis of Thienopyrimidine-Based FLT3 Inhibitors Binding Mode

Kang Wenyan, Ding Ruofan, Fan Qian, Tian Feifei\*

(School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031)

**Abstract** As a member of the receptor tyrosine kinase III family (RTKIII), FLT3 (FMS-like receptor tyrosine kinase-3) plays a key role in hematopoiesis, and its abnormal over-expression or mutation is found to be closely related to acute myeloid leukemia (AML), thus becoming the main target for treating AML. In this study, the interaction modes between 10 thienopyrimidine-based FLT3 inhibitors and the protein were investigated by different methods including protein-ligand binding site predictions, molecular docking, molecular dynamics simulation and pharmacophore studies. By analysis, results from molecular docking are in consistency with that obtained by molecular dynamics simulation. Combined with the results of pharmacophore analysis, it shows that hydrophobic interaction as well as the hydrogen bonds is playing the driven role for pyrimidine-like compounds exerting inhibitory effects on the FLT3 protein. It was expected that this study could be helpful for the AML-targeting drug design and discovery in future.

**Keywords** FLT3, Predicting protein ligand binding site, Molecular docking, Molecular dynamics simulation, Pharmacophore studies

FLT3(FMS 样酪氨酸酶 III)属于受体 III 型酪氨酸家族,其家族成员还包括具有类似结构的 PDGFR, KIT 以及 FMS。有研究表明在急性髓细胞白血病(AML)中常常伴随着 FLT3 受体的超表达和突变<sup>[1]</sup>,这种增加的表达水平可能影响到 FLT3 的磷酸化激活。从而通过下游的酶激活途径诱导细胞异常生长和基因调控<sup>[2]</sup>。正因为这些原因,FLT3 成为治疗 AML 病人的重要靶标<sup>[3]</sup>。

1993 年 FLT3 受体蛋白被两个独立的组织克隆<sup>[4,5]</sup>,其可以分为三个部分:(1)包含 5 个免疫球蛋白样结构区的 N 端胞外结构域,(2)单一跨膜结构域,(3)包含有近膜结构域(JM)和激酶结构域(TK)的胞内部分。其中激酶结构域由 N-端片段(N-lobe)和 C-端片段(C-lobe)构成(如图 1)。

康文渊 男,24 岁,硕士生。从事生物信息研究。\*联系人,田菲菲,女,副教授, E-mail:tulwar@home.swjtu.edu.cn  
2015 年度中央高校基本科研业务费专项资金项目(2682015CX051)资助  
2015-04-28 收稿,2015-07-24 接受

C-端片段的激酶功能区中含有活化环(Activation loop), 当活化环上酪氨酸残基未磷酸化时, 近膜区域部分占据 N-端和 C-端片段之间的口袋, 阻止底物蛋白与 ATP 结合位点相连接。当活化环上酪氨酸残基被磷酸化, 活化环构象改变使得近膜区部分移出(如图 1b), 从而使 FLT3 激活介导一系列下游信号转导, 导致细胞的增殖和分化<sup>[6]</sup>。

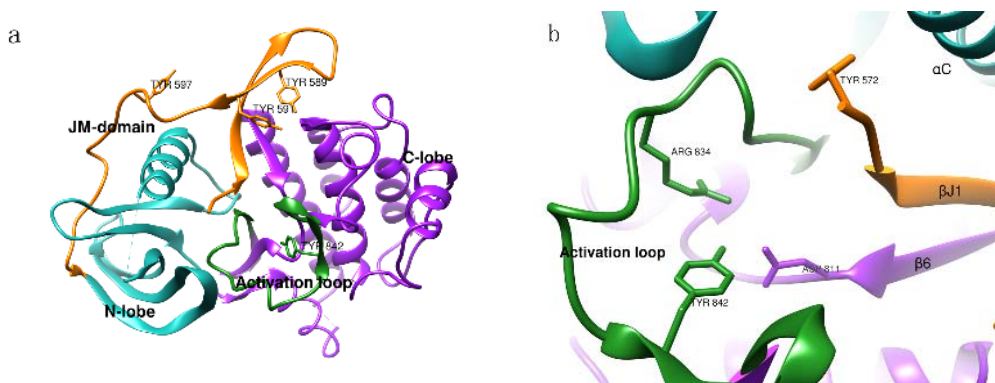
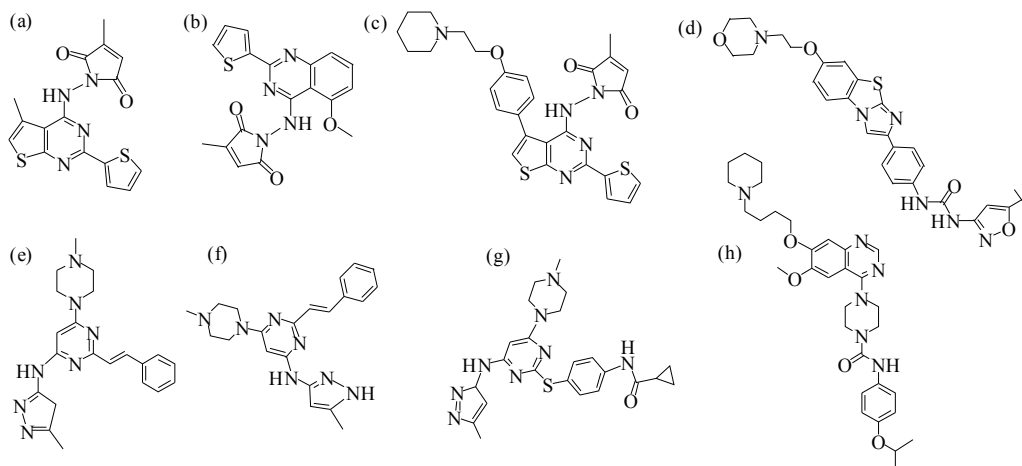


图 1 FLT3 膜内结构(除插入序列以外) (a) 和 FLT3 激活位点(b)

Fig.1 FLT3 cytoplasmic domain (minus the KID)(a), and active site of FLT3 (b)

(a) Cornflower blue: the N-terminal kinase domain, Purple: the C-terminal kinase domain, Green: the activation loop, Orange: the JM domain ; (b) Closeup view of the active site region of FLT3 showing the relationship of Tyr572 and Tyr842 hydrogen bonded to Glu661 and Asp811

Park 等<sup>[7]</sup>在对 NF- $\kappa$ B 信号通路关键蛋白 IKK $\beta$  经典抑制剂 SPC-839 结构优化中无意设计了对于 FLT3 具有高抑制性的噻吩并嘧啶类小分子(如图式 1)。他们首先进行了针对 NO 和 TNF- $\alpha$  抑制性的实验, 并从中选择了 10 个对于 NO 和 TNF- $\alpha$  具有优异抑制效果的化合物, 进行了 FLT3 激酶抑制测试与特异性检测(如附表 S1)。分析表明 10 个化合物均对 FLT3 具有良好的抑制性能( $IC_{50}=0.065\sim0.750$   $\mu$ mol/L)。其中 13i 与 17d 的  $IC_{50}$  比 FLT3 经典抑制剂有着更佳的抑制效果。值得一提的是, 抑制效果最佳的小分子 13i 被选择出来进行了野生型与突变型的 FLT3 抑制实验, 发现对于 FLT3 野生型只有 5% 存活, 而突变型(D835Y)仅有 2% 的存活。这是大多同类型抑制剂所没有的优势<sup>[8]</sup>, 所以对这一组抑制剂特别是 13i 进行生物信息学分析是非常有必要的。



图式 1 对于 FLT3 具有高抑制性的噻吩并嘧啶类小分子

Scheme 1 The molecules of thienopyrimidines with high inhibition for FLT3

(a) SPC-839; (b) 13i; (c) 17d; (d) AC220; (e) MLN518; (f) Enmd-2076; (g) Fostamatinib; (h) Tozasertib

## 1 实验部分

### 1.1 化合物的选择

受体晶体结构选择人 FLT3 受体膜内的晶体结构<sup>[6,9]</sup>(除插入序列外)(PDB ID: 1RJBJ)以及 Quizartinib-FLT3 复合物实验晶体结构(PDB: 4RT7), 小分子化合物选取图式 1 所示的结构上具有相同

骨架的 10 个嘧啶类 FLT3 抑制剂为研究对象。在药效团分析中增加 AC220<sup>[10]</sup>、MLN518<sup>[11]</sup>、Enmd-2076<sup>[12]</sup>、Fostamatinib<sup>[13]</sup>、Tozasertib<sup>[14]</sup> 5 种经典 FLT3 抑制剂, 以保证实验的准确度。

## 1.2 活性位点预测

本文选用 4 种以不同理论为依据的前沿预测活性位点方法进行预测以保证实验更加准确, 同时它们对已知受体配体晶体结构的复合物组成的测试集<sup>[15,16]</sup>进行分析时均有优异的表现。

3D LigandSite<sup>[15]</sup>是一个由 Wass 等设计的预测配体结合位点的在线服务, 其原理为将需要预测的蛋白结构在 MAMMOTH 结构库中搜寻携带有配体的相似蛋白结构, 将匹配到的相似蛋白结构的配体添加到需要预测的蛋白结构上。提交网址为: <http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/3dligandsite/>。

ConCavity<sup>[17]</sup>是由 Capra 等创建的基于进化序列保守性与结构耦合两种方式的预测方式, 通过测试集的评价发现其远优于 Q\_SiteFinder。提交网址为<http://compbio.cs.princeton.edu/concavity/>。

Ghecom<sup>[18]</sup>是 Kawabata 等设计的一种全新的预测活性位点的方法, 原理是利用不同大小的球型探头进行 3D 网格和数学形态学的理论计算口袋的深浅。其在线提交地址为: <http://strcomp.protein.osaka-u.ac.jp/ghecom/>。

MetaPocket<sup>[16,19]</sup>是 Huang 等设计的一种提高蛋白质活性位点预测的方法, 其是使用 PASS1(PAS)、LigsiteCS(LCS)、Q\_SiteFinder(QSF)、POCASA(PCS)、Fpocket(FPK)、SURFNET(SFN)多种方法集合预测的一种高效高质蛋白质活性位点预测方法(QSF 服务现已失效), 在线网址为: <http://projects.biotec.tu-dresden.de/metapocket/>。

## 1.3 分子对接

为了检测对接结果的准确性, 使用 AutoDock、LibDock、CDOCKER、Flexible Docking、LigandFit、LeDock 和 Dock 7 种方法进行对接, Renxiao Wang<sup>[20-23]</sup>等开发的 X-score 的评价方式统一评价, X-score 是独立的对接评分软件, Li 等<sup>[24]</sup>对 20 个打分软件进行评价时, X-score 具有最高的准确率。同时结合 FLT3 蛋白质的功能区域来选择最能反映 FLT3 与抑制剂相互作用真实性的软件。

LibDock<sup>[25]</sup>, CDOCKER<sup>[26]</sup>, Flexible Docking<sup>[27]</sup>和 LigandFit<sup>[28]</sup>采用 Accelrys 公司商业软件 Discovery Studio 2.0 套件中的相应模块。为了得到更优的结果, 半径设置为 1nm, 格点数为 1000, 产生构象的方法为 Best, 生成小分子构象数量最大值为 255, 其余参数值为默认值。

AutoDock 4.2<sup>[29]</sup>由 Scripps 研究所 Olson 实验室开发与维护的经典对接软件, 综合活性位点的预测以及 CDOCKER 生成的氢键分布图分析, 将柔性残基设为: TYR572、TYR842、ARG849、GLN575、ARG849, 格点设置为预测的活性位点处, 算法采用拉马克遗传算法, 其中 Number of GA Runs 设置为 100, Maximum Number of evals 设置为 2500000, 其余参数默认。

DOCK6.6<sup>[30]</sup>以及配套工具 UCSF Chimera<sup>[31]</sup>由美国 UCSF DOCK 的 Kuntz 小组开发与维护, 在 dock.in 参数中 num\_scored\_conformers 改为 50 以得到更优结果, 其余参数设为默认。

LeDock<sup>[32]</sup>是苏黎世大学 Zhao 等开发的一款跨平台(Win, Linux, Mac OS)分子对接软件, 通过 24 个晶体结构来评价对接软件的准确度发现 LeDock 约为 95%<sup>[33]</sup>, 准确率高于同类已知软件<sup>[24]</sup>, 盒子定义通过 PyMol<sup>[34]</sup>的 AutoDock 插件进行定义, 其余参数默认。

## 1.4 分子动力学

采用 Discovery Studio 2.0 的 CHARMM<sup>[35]</sup>模块和 Simulation Protocols 功能进行分子动力学模拟, 受体与配体采用 CDOCKER 评分的最优构象, 在使用 Standard Dynamics Cascade 模块时只在优化 I(Minimization)构象中 Constraints 选择配体固定, 其余留空, 为了增加观测时间, Steps 为 5000, 步长 Time Step 为 0.002, Type 为 NPT, 其余默认。

## 1.5 基于分子共同特征的药物团预测

采用 Discovery Studio 2.0 的 HipHop<sup>[36]</sup>中的 DS Catalysts Conformation 与 DS Catalyst Hypothesis 模

块, 对实验的 10 个化合物中的 13i 以及 FLT3 具有代表性的嘧啶类化合物抑制剂 AC220、MLN518、Enmd-2076、Fostamatinib、Tozasertib 进行药效基团的研究。勾选 Features 中的 HB\_ACCCEPTOR、HB\_DONOR、HYDROPHOBIC 分析化合物氢键与疏水性, Number of Leads That May Miss 设置为 3, Complete Misses 与 Feature Misses 设置为 2, 其余为默认。

## 2 结果与讨论

### 2.1 活性位点预测

在分子对接时对接软件只能计算配体与受体的部分区域的相互作用, 所以活性位点的预测是十分重要的, 为了预测更加精确, 采用 3DLigandSite、ConCavity、Ghecom 和 MetaPocket 4 种不同的活性位点预测方法进行预测, 结果以联系数(Contact)为纵坐标氨基酸残基为横坐标作图, 联系数<sup>[34]</sup>表示与 FLT3 氨基酸残基距离小于 0.8Å(包括它们的范德华力半径)的配体数目, 配体是从 FLT3 同源蛋白中获得的。

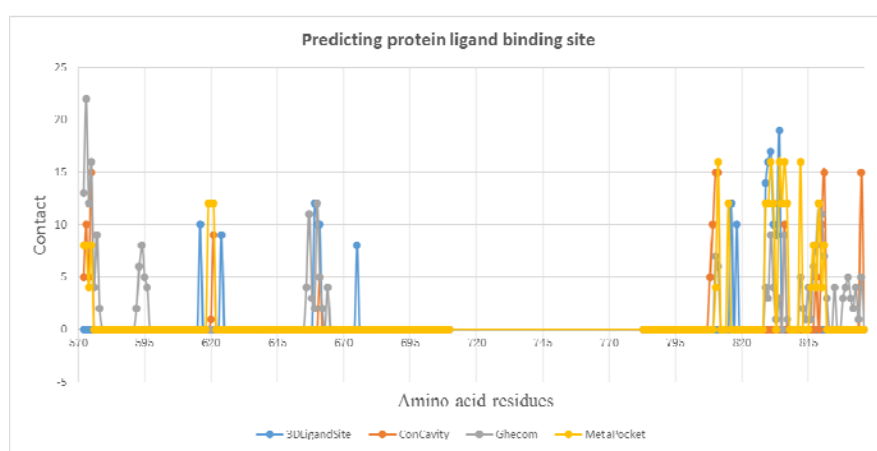


图 2 3DLigandSite, ConCavity, Ghecom, MetaPocket 以预测氨基酸残基联系数作图

Fig.2 3DLigandSite, ConCavity, Ghecom, MetaPocket to predict the number of amino acid residues in contact mapping

ConCavity, MetaPocket only predicted amino acid residues and the closeness of the active sites, so ConCavity and MetaPocket artificially set in accordance with the degree of intimacy and contact number for 15,10,5 16,12,8,4.

图 2 表明抑制剂可能与 FLT3 联系的位点主要集中在 TYR572、ALA620、ALA657、ARG810 和 ASP839 等残基周围; 而这些残基在三维构象中均位于 FLT3 激活位点, 表明 FLT3 激活位点为理想的配体结合区域, 其结果与 Furet 等<sup>[37]</sup>进行的 FLT3 与其芳香族抑制剂对接分析结果一致。同时 Smith 等<sup>[38]</sup>解析的 Quizartinib-FLT3 复合物实验晶体结构(如附图 S3)中 Quizartinib 与 FLT3 联系的残基 GLU661、PHE691、LYS802、ASP829、PHE830 均位于预测范围内, 说明预测结果是可靠的。

### 2.2 分子对接

在使用 AutoDock、LibDock、CDOKER、Flexible Docking、LigandFit、LeDock、Dock 7 种方法进行对接后, 首先采用 X-score 对不同软件对接结果进行评价以选择最能反映 FLT3 与抑制剂相互作用真实性的软件。X-score 打分显示, CDOKER 的评分最优(平均 6.32), 但是与其他对接软件获得的评分优势不明显(如图 3):

将各个对接结果分析, 发现对接命中的对接位点非常一致, 均位于 FLT3 的激活位点位置(如图 S1, 图 4), 但是在具体的对接方式中有一些差异, 部分软件结果中对接配体并未完整的嵌入 FLT3 激活位点中, 而是与 FLT3 蛋白较近(LeDock)或较远(LigandFit)或者只与 FLT3 激活位点一侧有联系(LibDock, DOCK, Flexible Docking)。分析表明, CDOKER 与 AutoDock 在计算 FLT3 与配体相互作用中具有更真实与可靠性(如图 4), 同时 CDOKER 的 X-score 评分更高, 故对其他小分子化合物分析时采用 CDOKER 对接。



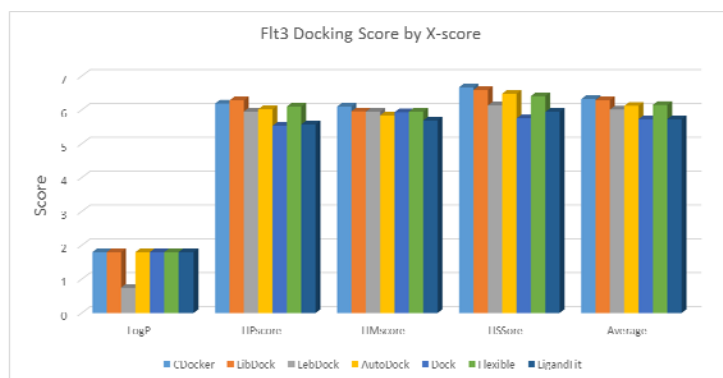


图 3 Flt3 分子对接 X-score 评分

Fig.3 Comprehensive analysis results of FLT3 docking score by X-score

(a) LogP: computing octanol-water partition coefficients;

(b) Three individual empirical scoring functions have been implemented in X-score, which are named as HPScore, HMScore, and HSScore, respectively

图 4 说明抑制剂与 FLT3 氨基酸残基的 TYR572, TYR842, ARG849(CDOCKER)或者 GLN575, ARG849(AutoDock)形成氢键,对 CDOCKER 的对接结果进行氢键图绘制(如附图 S2)发现整体的对接氢键形成主要集中于位于激活位点的 TYR572, GLU573, GLN575 以及 ARG849。这说明 AutoDock 与 CDOCKER 的两种构象在实际中均有可能,因为抑制剂可形成氢键的地方较多且抑制剂相对于活性位点较小,使得其在活性位点的位置较为灵活。

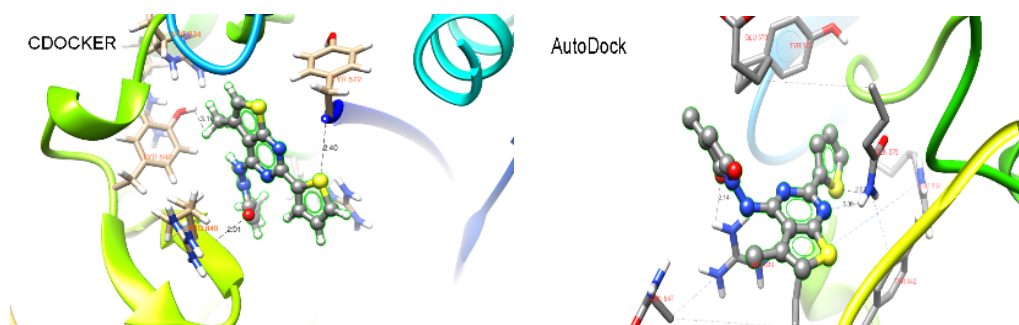


图 4 利用 CDOCKER 和 AutoDock 得到的 13i 与 FLT3 的作用模式

Fig.4 Binding mode predictions of 13i to FLT3 by CDOCKER and AutoDock

为了进一步检验 AutoDock 和 CDOCKER 对于 FLT3 的对接可靠性,我们用这两种对接方法将具有晶体结构解析的 Quizartinib 与 FLT3 分别进行了分子对接,并将这两种对接结果与 Quizartinib-FLT3 复合物实验晶体结构进行了比较(如附图 S3)。结果分析表明, CDOCKER 和 AutoDock 两种对接结果所对应的均方根偏差(RMSD)值分别为 1.4632Å 和 1.7863Å。RMSD 是指通过平动和转动将结果构象和目标构象叠合,然后计算每个原子与目标构象对应原子的差值的均方根。所以数值越小表示结果构象与目标构象越接近。根据目前文献<sup>[39-41]</sup>中评价标准的评判方法, RMSD<2Å 表示预测优秀。说明两款软件对于 FLT3 抑制剂类分子对接姿势预测优秀,但 CDOCKER 方法的结果更为可靠,故我们使用 CDOCKER 对接下来的进行进一步分析。

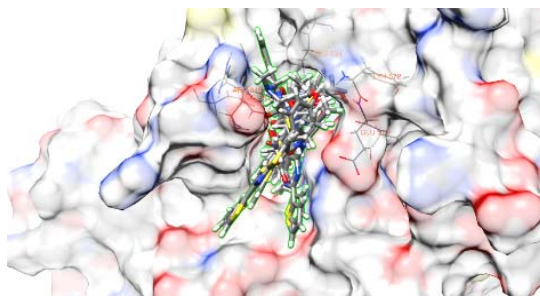


图 5 利用 CDOCKER 得到的抑制剂与 FLT3 激活位点结合图

Fig.5 Comparison of interaction between thienopyrimidine-based analogues against FLT3

对余下的 10 个小分子化合物进行 CDOCKER 对接分析, 结果进行 QM/MM 优化, 发现 10 个小分子化合物能够得到很好的 FLT3 抑制效果得益于它们很好的占据了 FLT3 的激活位点, 从而使得其不能够与 ATP 结合而具有活性(图 5)。

其对于 TYR572, ARG834, TYR842, ARG849 具有很强的契合性, 相较于芳香族抑制剂<sup>[37]</sup>主要和 PHE691 与 CYS828 形成氢键相比, 更佳的占据了激活位点。对另一个 IC<sub>50</sub> 较低的 17d 进行进一步分析得到图 6。

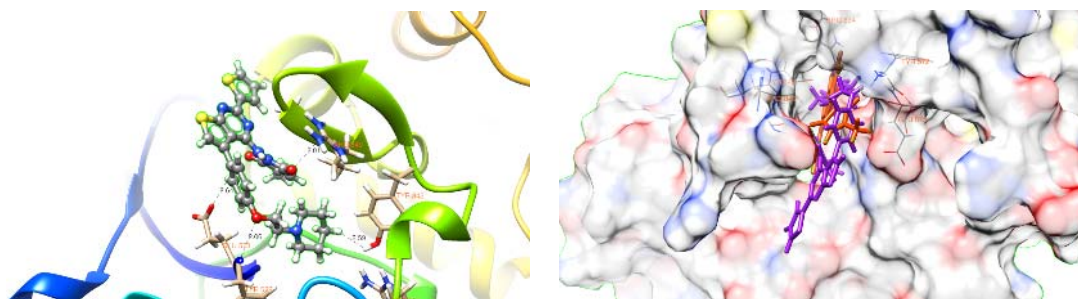


图 6 利用 CDOCKER 得到的 17d 以及 13i 与 17d 对接最适构象比较

Fig.6 Comparison of interaction between 13i and 17d against FLT3.(Purple: 17d, Orange: 13i)

可以发现 17d 与 13i 类似同样是与 TYR572, GLU573, TYR832 与 ARG849 形成氢键从而稳定的结合, 但是进一步对比发现, 17d 是 R1 上取代基插入活性位点让其与激活位点结合, 基于噻吩并嘧啶的母核则是通过折叠将五元环塞入活性位点而使得两者之间有“张力”而与激活位点牢牢结合; 13i 则是母体环塞入激活位点, 有趣的是实验结果表明两者的 IC<sub>50</sub> 的值相差不大, 但是两者的结合模式是有差异的。

### 2.3 分子动力学模拟

将 CDOCKER 的结果进行分子动力学模拟, 对对接进行优化, 探讨配体分子与受体动态的过程, 采用的是 Discovery Studio2.0 的分子动力学模块, 主要是模拟退火法, 经过优化 1, 优化 2, 升温, 平衡, 模拟采样 5 个阶段。然后将小分子化合物的初始位置与能量最低位置的构象相互叠合, 结果如图 7。

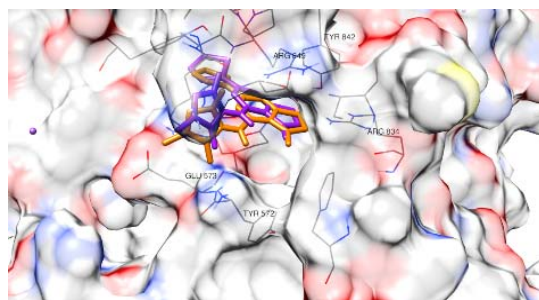


图 7 13i 与 FLT3 活性位点的作用模式

Fig.7 Interaction pattern of FLT3 active site with 13i

Orange: before MD, Purple: after MD

分子动力学模拟后配体受体相互作用能量在约 -45kJ/mol 的位置波动, 并未有较大的起伏。通过对分子的距离监控发现受体与配体的距离维持在一个较稳定的值之间, 氢键未出现断裂, 相互之间距离也相对合适, 通过 RMSD 值分析可以发现 RMSD 曲线在升温之后趋于稳定, 始终维持在 1Å 以内, 说明 CDOCKER 的对接结果具有可靠性。通过图 7 可以清晰发现最低构象相对于初始构象稍微下移, 而避免了靠 ARG849 过近, 同时又与 TYR573 氢键更为紧密。

### 2.4 基于 HipHop 药效团分析

为了了解基于 SPC-839 优化的化合物 13i 对于 FLT3 具有原始分子没有的强烈抑制作用的原因, 我们对其实验的 10 个化合物中的 13i 以及 FLT3 具有代表性的化合物抑制剂(图式 1)AC220、MLN518、Enmd-2076、Fostamatinib 和 Tozasertib 进行基于共同特征的 HipHop 药效团分析研究, 主要研究其疏水

特征, 氢键供体特征以及氢键受体特征。HipHop 药效团分析对活性数据无要求, 只需要 6 个左右结构多样性的小分子化合物, 适合实验数据量少和  $IC_{50}$  跨度低的小分子化合物。13i 作用结果如图 8。

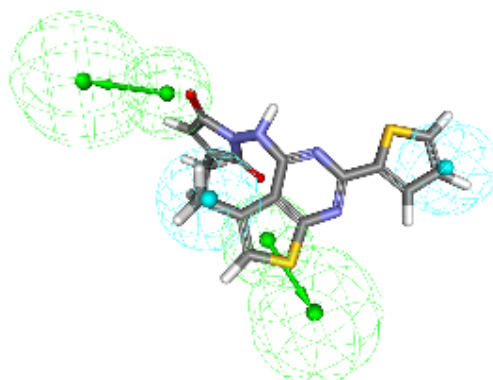


图 8 化合物药效团分析

Fig.8 pharmacophore studies

Green:the hydrogen bond acceptor ;Blue:hydrophobic

由图中可以看出, 甲基与噻吩基提供了疏水中心, 而绿色圈内的硫原子与氧原子提供了氢键受体, 通过 SPC-839 和 13i 的比较可以发现, 苯并噻啉变为噻吩并噻啉, 使得小分子拥有了一个氢键受体。结合对接分析可以发现在做小分子优化时不宜修改甲基与噻吩基, 而宜在维持现有环上基团的基础上将六元环与五元环延长骨架, 使得小分子拉长从而能够更加有利于与 FLT3 的近膜区和 N-端激活结构域之间的激活位点相互契合, 从而抑制 FLT3 的激活作用。Yang 等<sup>[42]</sup>随后的合成分析一系列的噻吩(2,3-d)并噻啉具有活性验证了这一药效团分析的可靠性。

## 2.5 结论

通过对 FLT3 蛋白质的胞质内结构分析, 发现活化环的构象改变导致 FLT3 自抑制, 使得 FLT3 受体失活, 当受体胞外部分激活导致活化环的构象发生改变, 造成活性位点暴露, 从而使得受体激活, 而 13i 恰好占据 FLT3 的激活位点(主要为近膜区与 C 端的激活环上发生结合) 从而使得 FLT3 仍然被抑制。13i 小分子抑制剂具有低  $IC_{50}$  得益于甲基与噻吩基提供的疏水中心作用, 硫原子与氧原子提供的氢键受体作用, 使得其能够与 TYR572、GLU573、GLN575 以及 ARG849 等氨基酸残基进行结合。17d 则是 R1 上取代基与母核上的 2 羰基吡咯塞入活性位点而使得与激活位点牢牢结合, 而发生抑制作用。

综上所述 10 个小分子化合物特别是 13i 与 17d 对于 FLT3 的抑制是非常明显的, 进一步的优化和毒理实验充满前景。同时此类化合物与 FLT3 的作用机理也给该类抑制剂的设计与优化提供了新的思路。

## 参考文献

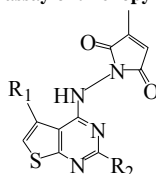
- [1] S Schenone, C Brullo, M Botta. *Curr. Med. Chem.*, 2008, 15: 3113~3132.
- [2] H Konig, M Levis. *Expert Opin. Ther. Targets*, 2015, 19: 37~54.
- [3] P D Kottaridis, R E Gale, M E Frew et al. *Blood*, 2001, 98: 1752~1759.
- [4] O Rosnet, C Schiff, M J Pebusque et al. *Blood*, 1993, 82:1110~1119.
- [5] D Small, M Levenstein, E Kim et al. *PNAS*, 1994, 91: 459~463.
- [6] J Griffith, J Black, C Faerman et al. *Mol. Cell*, 2004, 13:169~178.
- [7] C H Park, C Lee, J S Yang et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2014, 24: 2655~2660.
- [8] M Levis, R Pham, B D Smith et al. *Blood*, 2004, 104:1145~1150.
- [9] M Durben, D Schmiedel, M Hofmann et al. *Mol. Ther.*, 2015,23(4):648~655.
- [10] P P Zarrinkar, R N Gunawardane, M D Cramer et al. *Blood*, 2009, 114:2984~2992.
- [11] D J Deangelo, R M Stone, M L Heaney et al. *Blood*, 2006, 108: 3674~3681.
- [12] G C Fletcher, R D Brokx, T A Denny et al. *Mol. Cancer Ther.*, 2011, 10:126~137.
- [13] M Bajpai. *IDrugs*, 2009, 12:174~185.
- [14] R Williams. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2009, 18:1581~1594.
- [15] M N Wass, L A Kelley, M J Sternberg. *Nucl. Acids Res.*, 2010, 38: W469~473.
- [16] Z Zhang, Y Li, B Lin et al. *Bioinformatics*, 2011, 27: 2083~2088.
- [17] J A Capra, R A Laskowski, J M Thornton et al. *PLoS Comput. Biol.*, 2009, 5:e1000585.

- [18] T Kawabata. *Proteins*, 2010, 78:1195~1211.  
 [19] B Huang. *OMICS*, 2009, 13:325~330.  
 [20] R Wang, Y Gao, L Lai. *Perspect. Drug Discov. Design*, 2000, 19: 47~66.  
 [21] R Wang, S Wang. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 2001, 41:1422~1426.  
 [22] R Wang, L Lai, S Wang. *J. Comput. Aided Mol. Des.*, 2002, 16:11~26.  
 [23] R Wang, Y Lu, S Wang. *J. Med. Chem.*, 2003, 46:2287~2303.  
 [24] Y Li, L Han, Z H Liu et al. *J. Chem. Inf. Model.*, 2014, 54: 1717~1736.  
 [25] S N Rao, M S Head, A Kulkarni et al. *J. Chem. Inf. Model.*, 2007, 47: 2159~2171.  
 [26] G Wu, D H Robertson, C L Brooks, 3rd et al. *J. Comput. Chem.*, 2003, 24:1549~1562.  
 [27] M Rarey, B Kramer, T Lengauer et al. *J. Mol. Biol.*, 1996, 261: 470~489.  
 [28] C M Venkatachalam, X Jiang, T Oldfield et al. *J. Mol. Graph. Model.*, 2003, 21:289~307.  
 [29] A Kamper, J Apostolakis, M Rarey et al. *J. Chem. Inf. Model.*, 2006, 46:903~911.  
 [30] P T Lang, S R Brozell, S Mukherjee et al. *RNA*, 2009, 15: 1219~1230.  
 [31] E F Pettersen, T D Goddard, C C Huang et al. *J. Comput. Chem.*, 2004, 25:1605~1612.  
 [32] H Zhao, D Huang. *PLoS One*, 2011, 6:e19923.  
 [33] H Zhao, A Caflisch. *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, 91C: 4~14.  
 [34] N Oberhauser, A Nurisso, P A Carrupt. *J. Comput. Aided Mol. Des.*, 2014, 28:587~596.  
 [35] S S Mallajosyula, S Jo, W Im et al. *Methods Mol. Biol.*, 2015, 1273: 407~429.  
 [36] G Gao, J C Walser, M L Beaucher et al. *EMBO J.*, 2010, 29: 819~829.  
 [37] P Furet, G Bold, T Meyer et al. *J. Med. Chem.*, 2006, 49: 4451~4454.  
 [38] C C Smith, C Zhang, K C Lin et al. *Cancer Discov.*, 2015, 5: 668~679.  
 [39] Z Zhou, A K Felts, R A Friesner et al. *J. Chem. Inf. Model.*, 2007, 47: 1599~1608.  
 [40] B D Bursulaya, M Totrov, R Abagyan et al. *J. Comput. Aided Mol. Des.*, 2003, 17: 755~763.  
 [41] M Kontoyianni, L M McClellan, G S Sokol. *J. Med. Chem.*, 2004, 47: 558~565.  
 [42] J S Yang, C H Park, C Lee et al. *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, 85: 399~407.

## 支撑材料

表 S1 噻吩并嘧啶基类似物 FLT3 激酶检测

Table S1 FLT3 kinase assay of thienopyrimidine-based analogues



Compound	R1	R2	FLT3 kinase assay IC <sub>50</sub> (1M)
13h	H	Thiophen-2-yl	0.175±0.229
13i	Methyl	Thiophen-2-yl	0.065±0.125
13j	CH <sub>2</sub> COOEt	Thiophen-2-yl	0.673±0.113
13k	Phenyl	Thiophen-2-yl	0.208±0.161
13l	3-Hydroxy-phenyl	Thiophen-2-yl	0.488±0.214
13m	4-Hydroxy-phenyl	Thiophen-2-yl	0.750±0.109
17a	 HCl	Thiophen-2-yl	0.133±0.084
17b	 HCl	Thiophen-2-yl	0.540±0.098
17c	 HCl	Thiophen-2-yl	0.175±0.056
17d	 HCl	Thiophen-2-yl	0.085±0.190
AC220	-	-	0.120±0.030
MLN518	-	-	0.102±0.303



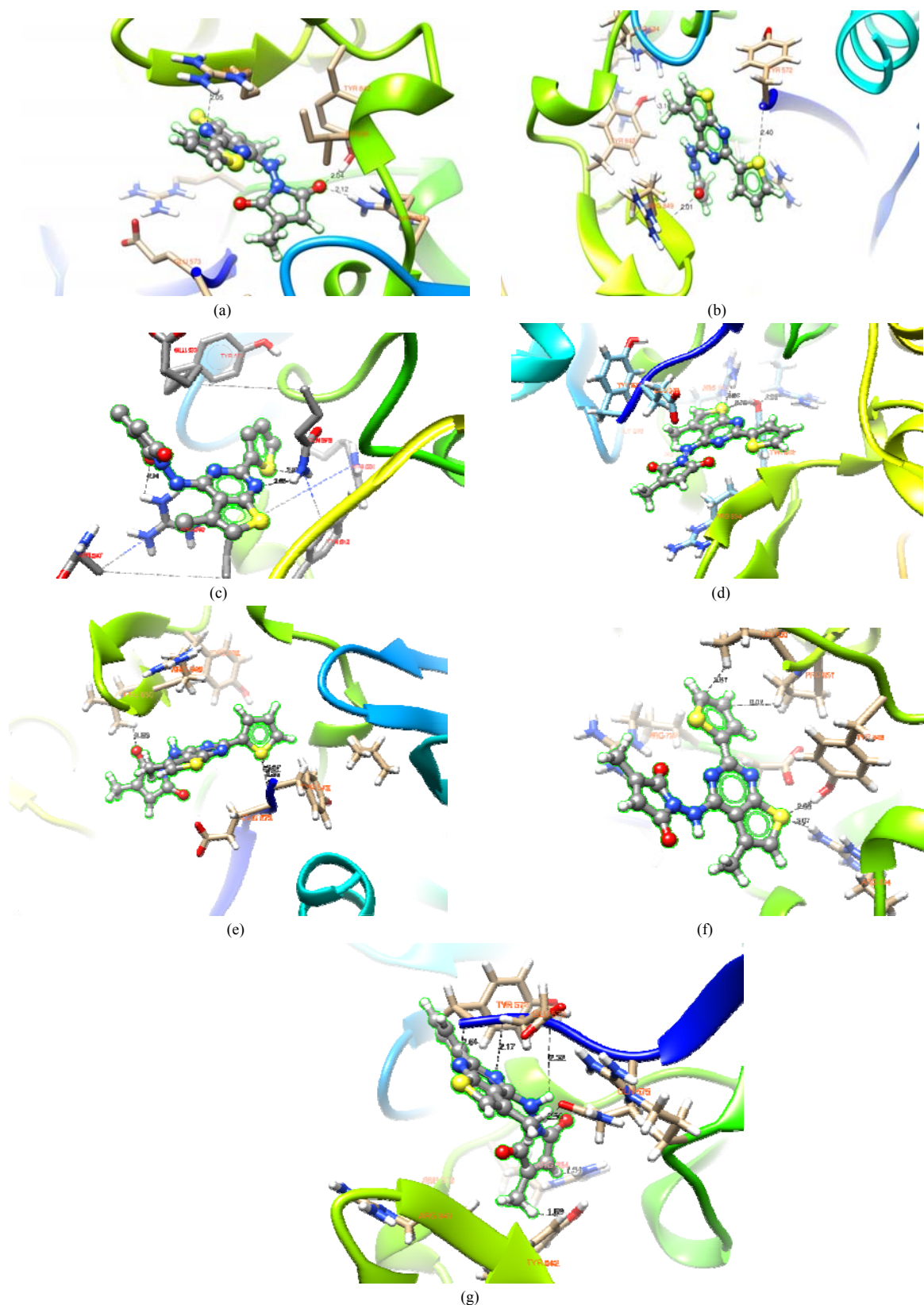


图 S1: (a)-(g)依次为 Libdock、CDOCKER、Autodock、Dock、LigandFit、Flexible Dock、LebDock 对接的最佳评分图  
 Fig.S1 Binding mode predictions of 13i to FLT3 by Libdock、CDOCKER、Autodock、Dock、LigandFit、Flexible Dock and LebDock

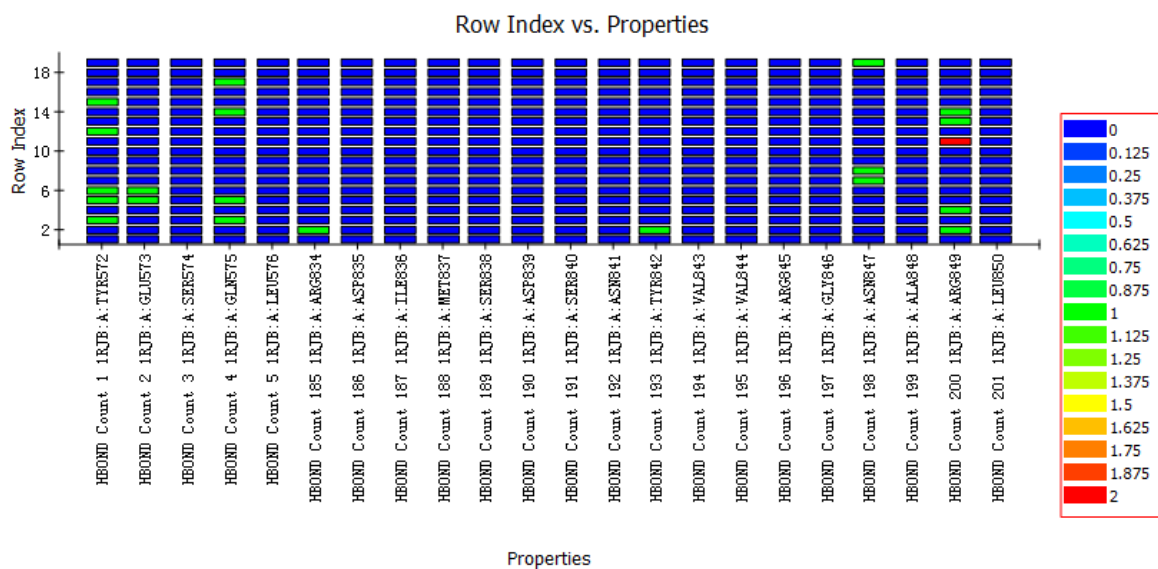


图 S2: CDOCKER 下 13i 抑制剂与 FLT3 蛋白质残基氢键分布

Fig.S2 Hbond distribution of 13i with FLT3.

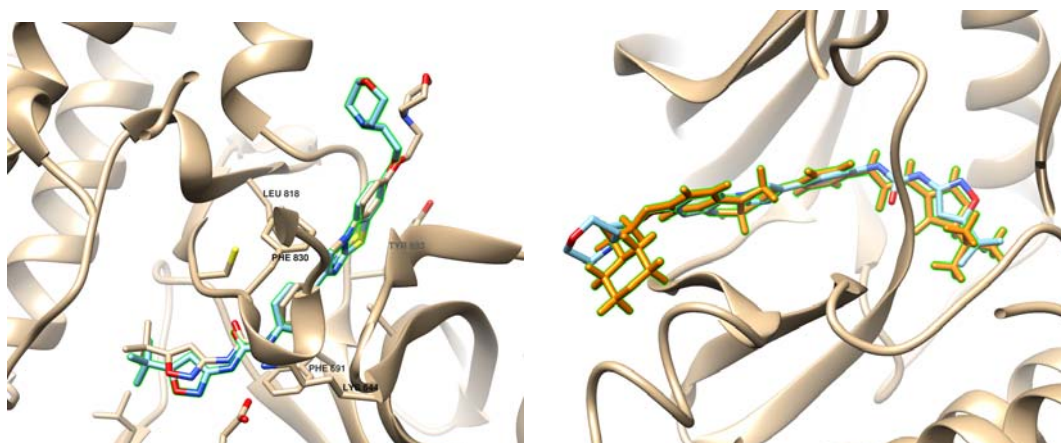


图 S3: 左: AutoDock 对接姿势(蓝色:Autodock 计算最优配体构象;小麦色:晶体复合物配体构象)右: CDOCKER 对接姿势(橙色: CDOCKER 计算最优配体构象;蓝色:晶体复合物配体构象)

Fig.S3 Left: AutoDock dock pose(blue), right: CDOCKER dock pose (Orange)