

И. С. Карпец, В. И. Целуйко
**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКИНГА ДЛЯ ПОИСКА
ПЕРСПЕКТИВНЫХ ИНГИБИТОРОВ КСАНТИНОКСИДАЗЫ**

Научный руководитель: канд. хим. наук, доц. Н. Н. Ковганко

Кафедра биологической химии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

***Резюме.** В статье приведен анализ результатов докинга для скрининга пиразолонов, также показана зависимость биологической активности данных соединений от природы и взаимного расположения функциональных групп.*

***Ключевые слова:** молекулярный докинг, пиразолон, энергия связывания, подагра.*

***Resume.** There is an analysis of the results of docking for screening pyrazolones, also showed the dependence of the biological activity of these compounds on the nature and mutual arrangement of functional groups.*

***Keywords:** molecular docking, pyrazolone, binding energy, gout.*

Актуальность. *Подагра* – системное тофусное заболевание, развивающееся в связи с воспалением в органах и системах в местах отложения кристаллов моноурата натрия у людей с гиперурикемией, обусловленной внешнесредовыми и/или генетическими факторами. [1]

Подагрой болеют преимущественно взрослые люди. Согласно статистическим данным, заболеваемость подагрой увеличилась в несколько раз за последние десятилетия и продолжает неуклонно расти. [2] Однако предполагается, что действительная картина заболеваемости отличается от данных исследования, так как полноценное изучение статистики осложнено поздним диагностированием пациентов.

Главная причина болезни — нарушение метаболизма пуриновых оснований, аденина и гуанина, - соединений, входящих в состав РНК и ДНК всех живых существ. В организме человека пурины превращаются в мочевую кислоту. Мочевая кислота представляет собой белый, плохо растворимый в воде порошок. При повышении концентрации мочевой кислоты в крови у людей, предрасположенных к кристаллообразованию, она начинает откладываться в суставах в виде натриевой соли (моноурата натрия). Отложение моноурата в суставах и вызывает приступ. [3]

Это приводит к изменению структуры сустава, механическому повреждению тканей и, как следствие, к частичному или полному разрушению сустава. Болезнь поражает суставы пальцев, стоп, кистей, локтей и коленей. Чаще всего от подагры страдают пальцы ног и суставы стопы, что обусловлено повышенной нагрузкой. [4]

Без правильного своевременного лечения подагра захватывает все новые и новые суставы, приводит к проблемам с почками и мочевым пузырём. Болезнь нередко переходит в хроническую форму. [4]

Росту концентрации мочевой кислоты могут способствовать несколько факторов:

1. Наследственная предрасположенность.
2. Чрезмерное поступление пуриновых соединений в организм с пищей и жидкостью.
3. Увеличение катаболизма пуринов.

4. Возрастное или дисфункциональное замедление процесса выведения мочевой кислоты из тела при мочеиспускании.

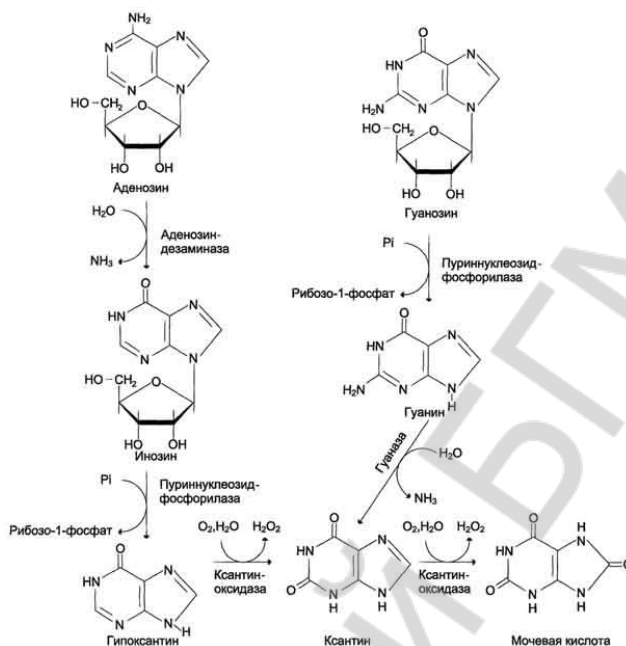


Рисунок 1 – Катаболизм пуриновых нуклеотидов

На картинке представлен катаболизм пуриновых нуклеотидов до мочевой кислоты, которая является непосредственной причиной развития подагры. На данный момент в лечении подагры применяют *противовоспалительные* лекарственные средства, *противоподагрические* лекарственные средства.

Среди наиболее часто используемых при подагре лекарственных средств *противовоспалительного* действия выделяют группу нестероидных лекарственных средств (Индаметацин, Бутадион) и глюкокортикостероидов (Преднизолон). Применение данных препаратов позволяет снижать воспалительные проявления, болезненность, отечность тканей в месте поражения.

Противоподагрические ЛС непосредственно влияют на проблему заболевания. Например, Аллопуринол – лекарственное средство, которое ингибирует ксантиноксидазу, фермент, катализирующий окисление гипоксантина в ксантин и ксантина в мочевую кислоту.

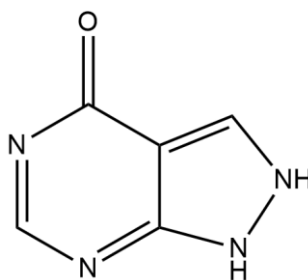


Рисунок 2 - Аллопуринол

Он является самым популярным препаратом для лечения подагры, все чаще подвергается резкой критике со стороны современных врачей, поскольку большое

количество побочных эффектов и осложнений при его регулярном применении ставит под вопрос целесообразность такой терапии. По данным статистики, в среднем у одного из двухсот шестидесяти больных подагрой Аллопуринол провоцирует внезапную смерть в результате почечной комы или остановки сердца. [5]

Международное исследование Аллопуринола, результаты которого были опубликованы в работе [6], доказывает высокую эффективность лекарственного средства и способность предупреждать наступление летального исхода. Но это исследование не отрицает наличие побочных эффектов и высокого риска для почек, и не отменяет необходимости новых разработок. Тем не менее, Аллопуринол по-прежнему является препаратом первой очереди при лечении подагры, из-за хорошей изученности и доступной цены.

Поэтому поиск новых лекарственных средств среди представителей других классов соединений может повысить выживаемость и качество жизни больных.

Классическая схема поиска веществ с потенциальной лекарственной активностью включает синтез и изучение биологической активности большого числа химических веществ с последующим проведением клинических испытаний. Сочетание традиционной схемы для ограниченного числа веществ с молекулярным докингом большого массива исследуемых лигандов является более эффективным. Следовательно, разработка модели докинга для последующего скрининга различно замещенных химических веществ является актуальным исследованием.

Цель: разработка модели докинга для поиска потенциальных противовоспалительных лекарственных средств на основе пятичленных гетероциклов (пиразолона и изоксазолон).

Задачи:

1. Анализ различных замещённых пятичленного гетероцикла (пиразолона).
2. Изучение их активности *in silico*.
3. Исследование характера влияния заместителей на величину энергии связывания.

Материал и методы. На основе анализа литературных данных из банка данных 3D структур белков Protein Data Bank нами был выбран фермент ксантиноксидаза. На основании разработанной модели была оценена свободная энергия связывания субстрата с ферментом, константа ингибирования и вероятная частота образования указанного комплекса. В качестве субстратов были выбраны соединения с пятичленным гетероциклом в своей структуре, степень ингибирования которых была определена ранее *in vitro*.

Молекулярный докинг — это метод молекулярного моделирования, который позволяет предсказать наиболее выгодную ориентацию и положение молекул для образования устойчивого комплекса.

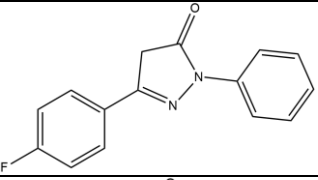
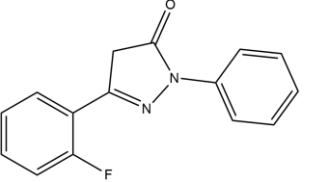
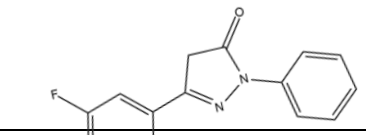
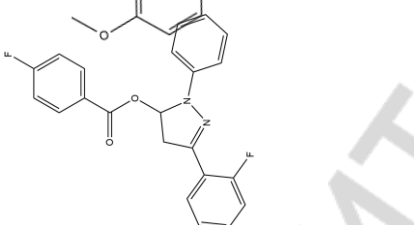
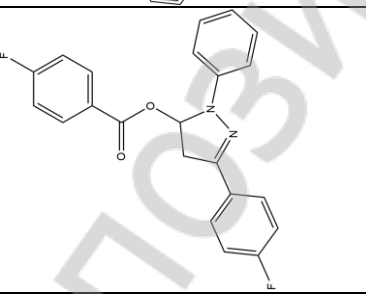
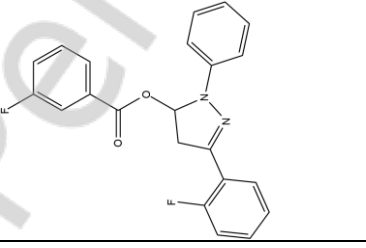
Метод используется для того, чтобы не синтезировать сотни или тысячи структур для испытания каждой *in vivo*, а найти наиболее оптимальные структуры с помощью испытаний *in silico* (молекулярного докинга).

Лучшие структуры синтезируют и отправляют на тестирование *in vitro* и *in vivo* для подтверждения полученных данных. Молекулярный докинг позволяет избе-

жать значительных экономических затрат на разработку и доклинические испытания нового лекарственного средства.

Результаты и их обсуждение. Для создания валидной модели были проанализированы данные исследования биологической активности *in vitro*. Для изучения влияния строения на свойства (в том числе биологическую активность) варьировали природу функциональных групп, относительную конфигурацию заместителей. [7]

Таблица 1. Энергия связывания испытуемых структур, относительно контрольной структуры.

Структура	Свободная энергия связывания	Эффект
	-5,40 kcal/mol	F в пара положении фенильного радикала ↓
	-5,80 kcal/mol	F во 2 положении фенильного радикала ↑
	-5,11 kcal/mol	Метокси группа в пара положении ↓
	-6,06 kcal/mol	Эфир фторбензойной кислоты ↑ И фтор во 2 положении ↑
	-5,33 kcal/mol	Эфир фторбензойной кислоты ↑ F в пара положении фенильного радикала ↓
	-6,18 kcal/mol	Эфир фторбензойной кислоты ↑ И фтор во 2 положении ↑

Анализ результатов докинга замещенных пиразолона показал, что большая энергия связывания характерна для производных со атомом F во 2 положении фенильного радикала, эфир фторбензойной кислоты группами.

Когда метокси группа стоит в пара- положении, а атом F в мета- положении (3 соединение), в сумме активность соединения падает. Это связано с индуктивными и мезомерными эффектами и образовании системы сопряжения. Когда атом F находится в кольце без метокси группы, у него более выраженный индуктивный эффект, но когда он связан с метокси группой, то больше проявляется мезомерный эффект, и появляется другое распределение электронной плотности над индуктивным. Т.к. у галогенов, как исключение, мезомерный эффект превалирует над индуктивным.

Результаты можно подтвердить, посмотрев на последнюю структуру, где видим эфир 3-фторбензойной кислоты, и фтор во 2 положении, и не имеем заместителей, которые понижают активность, тем самым, наше соединение имеет наименьшую свободную энергию связывания, т.е. проявляет наибольшую активность.

Полученные результаты позволяют сузить спектр потенциальных кандидатов для дальнейшего синтеза производных пиразолона для ингибирования ксантиноксидазы и лечения подагры.

Выводы:

1 Исследование пятичленного гетероцикла (пиразолона), *in vitro* и *in silico* показало зависимость их биологической активности от природы и взаимного расположения функциональных групп.

2 Установлено, что более активными являются производные с атомом фтора, эфирной группой фторбензойной кислоты, так как они понижают энергию, что положительно сказывается на взаимодействии вещества с рецептором.

3 Корреляция активности в опытах *in vitro* и *in silico* позволяет сделать заключение о том, что предложенная модель молекулярного докинга может быть использована для скрининга большого массива веществ ряда пятичленного гетероцикла (пиразолона) для выявления соединений, которые могут быть синтезированы для испытаний на противовоспалительную активность.

I. S. Karpets, V. I. Tseluika

THE USE OF MOLECULAR DOCKING TO SEARCH FOR PROSPECTIVE INHIBITORS OF XANTHINE OXIDASE.

Tutors: associate professor N. N. Kovganko,

Department of biological chemistry,

Belarusian State Medical University, Minsk

Литература

1. Насонова, В. А. Ранняя диагностика и лечение подагры [Текст]* / В. А. Насонова, В. Г. Барскова // Научно-практическая ревматология. – 2004. – №1. – С. 5-7.
2. Arromdee, E. Epidemiology of gout: is the incidence rising? [Text]* / E. Arromdee, C. J. Michet, C. S. Crowson // The Journal of Rheumatology. – 2002. – Vol. 29. – P. 2403-2406.
3. Насонова, В. А. Болезнь изобилия [Текст]* / В. А. Насонова, В. И. Барскова // Наука и жизнь. – 2004. - № 7. – С. 15-23.
4. Подагра: признаки, симптомы и лечение заболевания [Электронный ресурс] / Мастерская здоровья. – 2016. – Режим доступа: <http://mz-clinic.ru/bolezni/sustav/podagra.html>. (дата обращения: 15.02.2018).
5. Причины, симптомы и лечение подагры на ногах [Электронный ресурс] / Я здоров. – 2018. – Режим доступа: https://www.ayzdorov.ru/lechenie_podagri_chno.php#lechenie5. (дата обращения: 15.02.2018).

6. Chung, W. H. Allopurinol-induced severe cutaneous adverse reactions [Text]* / W. H. Chung // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2016. – Vol. 75. – P. 20.

7. Карпец, И.С. Использование молекулярного докинга для поиска перспективных ингибиторов ксантиноксидазы / И. С. Карпец, В.И. Целуйко// *Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2018: сборник тезисов докладов 72 Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, Минск, 2018г.* / Белорусский государственный медицинский университет; редкол.: Д.А. Соловьев [и др.]. – Минск, 2018. – С. 164.

Репозиторий БГМУ