

Н.А. Лепиков, П.А. Семенович

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ
ДЛЯ ОЦЕНКИ АФФИННОСТИ СВЯЗЫВАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО
ПРЕПАРАТА ГЕНТИФИНИБА С РЕЦЕПТОРОМ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО
ФАКТОРА РОСТА(EGFR)**

Научный руководитель: ассист. А.Н. Чепелев

Кафедра патологической физиологии

Белорусский государственный университет г. Минск

N.A. Lepikov, P.A. Semenovich

**USE OF MOLECULAR MODELING METHODS TO EVALUATE
THE BINDING AFFINITY OF THE ANTITUMOR DRUG GENTIFINIB
WITH THE EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR (EGFR)**

Tutor: assistant Chepelev A.N.

Department of Pathological Physiology

Belarusian State University Minsk

Резюме. Аминокислотная последовательность определяет все ключевые свойства белковой молекулы. Её изменения, как генеративные, так и соматические в определенной клеточной линии злокачественных новообразований, приводят к изменению структуры активных центров и участков связывания препаратов, что потенциально может изменить течение и исходы химиотерапевтического лечения.

Ключевые слова: Гентифиниб, EGFR, аффинность, гомологичное моделирование, рак легкого

Resume. The amino acid sequence determines all the key properties of the protein molecule. Its changes, both generative and somatic in a certain cell line of malignant neoplasms, lead to a change in the structure of active centers and drug-binding sites, which can potentially change the course and outcomes of chemotherapy treatment.

Keywords: Gentifinib, EGFR, affinity, homology modeling, lung cancer

Актуальность. Опухолевые заболевания легких ежегодно обнаруживаются у 1.8 млн пациентов. Большинство из них (85%) приходится на немелкоклеточный рак лёгкого (НМРЛ). Одним из наиболее эффективных подходов к терапии этого заболевания является применение химиотерапевтических препаратов[1]. Одним из является гентифиниб, в основе механизма действия которого лежит взаимодействие с рецептором эпидермального фактора роста (EGFR), участника туморогенеза[2]. Эффективность этого препарата у пациентов отличается. Предполагается, что EGFR в клетках опухоли подвергается мутационной изменчивости, что влияет на его связывание с препаратом[3].

Цель: оценить изменение сродства противоопухолевого препарата гентифиниба к белку-мишени EGFR при наиболее распространенных вариантах одно аминокислотных замен в его структуре для поиска возможных молекулярных механизмов формирования устойчивости к данному препарату.

Задачи:

1. Получить трехмерные модели EGFR, содержащие наиболее часто встречающиеся одно аминокислотные замены

2. Оценить способность гентифиниба связываться с измененным EGFR

3. Оценить возможное влияние мутаций на изменение сродства препарата к мишени.

Материалы и методы. В работе использовались методы гомологичного моделирования структуры мутантного белка при помощи программного обеспечения MODELLER (США) с последующим докингем спроектированных 3-х мерных структур. Создание мутантных аминокислотных последовательностей осуществлялось в киназном домене EGFR с последующей обработкой при помощи программного кода на основе языка программирования Python. Подготовка полученных гипотетических структурных моделей проводилась с помощью AutoDock Tools и PyMol. Докинг осуществлялся в AutoDock Vina.

Мутантные аминокислотные последовательности создавались на основе киназного домена EGFR дикого типа (PDB:3POZ), отделённого от лигандов и низкомолекулярных соединений при помощи PyMol. Отбор мутаций осуществлялся из базы данных COSMICv95. Молекула была подобрана в открытой базе данных химических соединений PubChem с последующей обработкой в OpenBabel.

Результаты и их обсуждение.

На основании гомологичного моделирования было получено 9 трёхмерных структур одно аминокислотных замен EGFR. В ходе докинга данных белков с молекулой гентифиниба были получены конформации белка-лиганда с наиболее отрицательными значениями изменения свободной энергии Гиббса.

Табл. 1. Изменение свободной энергии Гиббса при связывании вариантов EGFR с гентифинибом

мутация	максимальное изменение энергии Гиббса	минимальное значение энергии Гиббса	среднее значение энергии Гиббса
дикий тип	-8,5	-7.6	-7,94
T790M	-8,1	-7,5	-7,78
L858R	-7.9	-7.0	-7.3
G719A	-8.6	-8.0	-8.33
G719C	-9.1	-7.5	-8.188
G719D	-8.6	-6.8	-7.488
G179S	-8.8	-7.4	-8.122
L861Q	-8.1	-6.9	-7.355
L861R	-8.7	-7.4	-7.944

На основании полученных данных был составлен график изменения свободной энергии Гиббса при связывании молекулы гентифиниба с различными вариантами EGFR. Позже данные были сопоставлены с информацией научной литературы по устойчивости данных мутаций к ингибиторам протеинкиназ, в частности гентифинибу.

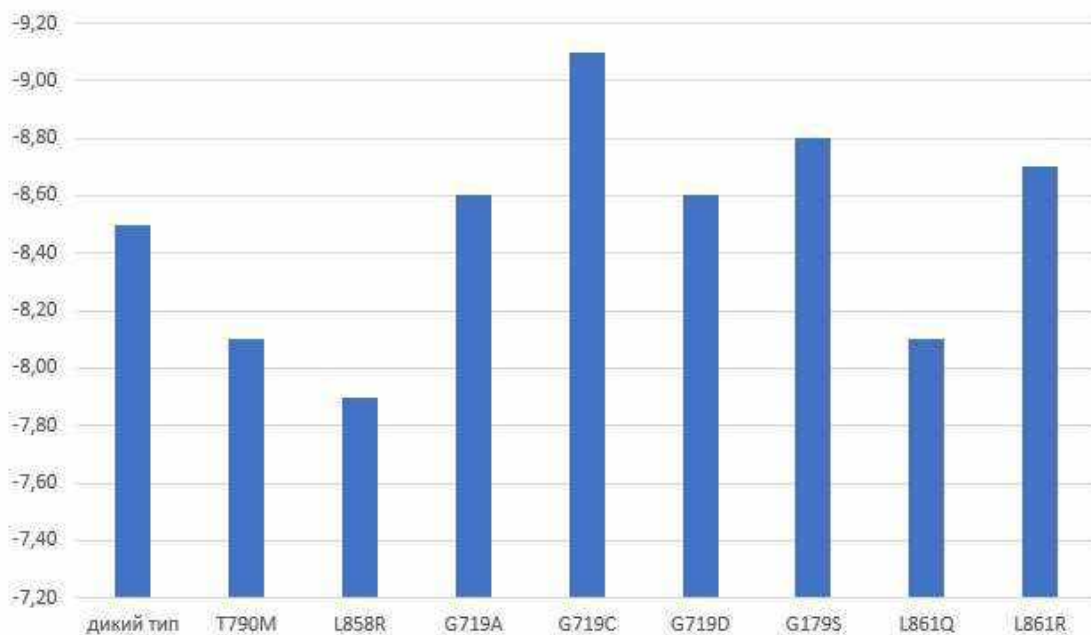


Рис. 1 – Диаграмма максимального изменения свободной энергии Гиббса при связывании различных вариантов EGFR с гентифинибом

В ходе докинга молекул вариантов EGFR с гентифинибом средние, минимальные и максимальные значения изменения свободной энергии Гиббса незначительно отличались от результатов докинга белка дикого типа. Однако данный вариант аминокислотных замен EGFR в научной литературе известен как вызывающий резистентность клеток плоскоклеточного рака легкого к гентифинибу.

На основании этих данных нами было выдвинуто предположение о вероятной причине расхождения данных докинга и литературы.

Мы провели второй раунд докинга, используя АТФ — конкурентный субстрат за активный центр киназного домена EGFR с гентифинибом.

Было показано, что T790M имеет на 11% большее сродство к АТФ, чем молекула дикого типа.

Выводы:

1. Большинство наиболее распространённых одноаминокислотных замен в EGFR не оказывают существенного негативного влияния на сродство белка к препарату.
2. Мутации группы G719 повышает сродство к гентифинибу.
3. Мутация рецептора T790M сопровождается снижением его сродства к гентифинибу.

4. Механизм такого взаимодействия, согласно полученным нами данным, заключается в повышенном связывании рецептором АТФ. Последний конкурирует с гентифинибом за центр связывания в EGFR.

Литература

1. Mithoowani, H.; Febbraro, M. Non-Small-Cell Lung Cancer in 2022: A Review for General Practitioners in Oncology. *Curr. Oncol.* 2022, 29, 1828-1839.
2. Sarmistha Talukdar, Luni Emdad, Swadesh K. Das, Paul B. Fisher, Chapter Four - EGFR: An essential receptor tyrosine kinase-regulator of cancer stem cells, Editor(s): Rakesh Kumar, Paul B. Fisher, *Advances in Cancer Research*, Academic Press, Volume 147, 2020, Pages 161-188
3. Борисова Е.И., Гуторов С.Л. Рациональное лекарственное лечение немелкоклеточного рака легкого. *Клиническая онкология*, 2011, 13, С. 45.