

А. А. Кульчик

ДИЗАЙН НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ ТИМИДИЛАТ СИНТАЗЫ И ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ СТРУКТУРА-БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ *IN SILICO*

Научный руководитель: канд. хим. наук, доц. Ф. Ф. Лахвич

Кафедра биоорганической химии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. В данной работе изучена зависимость структура-ингибирующая активность миметиков 5,10-метилентетрагидрофолата по отношению к комплексу тимидилат синтаза-дезоксинуридин монофосфат при помощи молекулярного докинга.

Ключевые слова: 5,10-метилентетрагидрофолат, антиметаболиты фолиевой кислоты, антифолаты, дезоксиуридин монофосфат, лиганд, миметики 5,10-метилентетрагидрофолата, молекулярный докинг, противоопухолевая активность, тимидилат синтаза, фермент.

Resume. The structure-inhibitory activity dependence of 5,10-methylenetetrahydrofolate mimetics to thymidylate synthase-deoxyuridine monophosphate complex in molecular docking modelling have been studied.

Keywords: 5,10-methylenetetrahydrofolate, 5,10-methylenetetrahydrofolate mimetics, antifolates, antitumor activity, deoxyuridine monophosphate, ferment, folic acid antimetabolites, ligand, molecular docking, thymidylate synthase

Актуальность. С 1940-х годов антифолаты играют важную роль в хемотерапии злокачественных, микробных, паразитарных и хронических воспалительных заболеваний. Антипролиферативная активность антифолатов основывается на ингибировании ключевых ферментов в метаболизме фолатов, что ведёт к обрыву биосинтеза пурина и тимидилата, ингибированию репликации ДНК и смерти клетки.

При помощи молекулярного моделирования (*in silico*) [1] можно предсказать наиболее выгодную конформацию, при которой образуется устойчивый комплекс рецептор-лиганд, и взаимное положение субстрата и лиганда, а также основные физико-химические показатели данного взаимодействия. Это помогает ограничить количество структур для дальнейших доклинических и клинических испытаний, а также экономит материальные и временные ресурсы.

В данном исследовании была изучена зависимость ингибирующей активности миметиков 5,10-метилентетрагидрофолата по отношению к тимидилат синтазе от природы заместителя *in silico* для последующей разработки новых лекарственных средств.

Цель: дизайн структур и изучение зависимости строения-ингибирующая активность у миметиков 5,10-метилентетрагидрофолата.

Задачи:

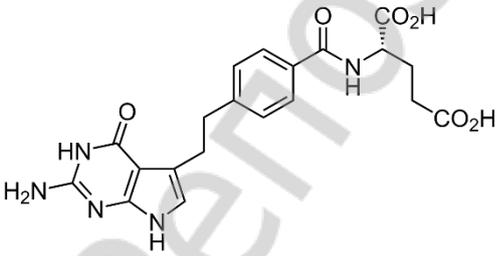
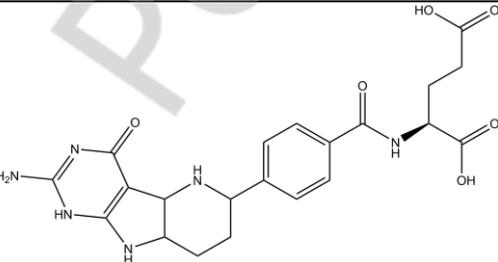
1. Дизайн новых ингибиторов тимидилат синтазы (ТС), являющихся антагонистами фолиевой кислоты (антифолатами).
2. Докинг предложенных соединений с комплексом тимидилат синтаза-дезоксинуридин монофосфат.
3. Изучение зависимости структура-ингибирующая активность на основе полученных данных.

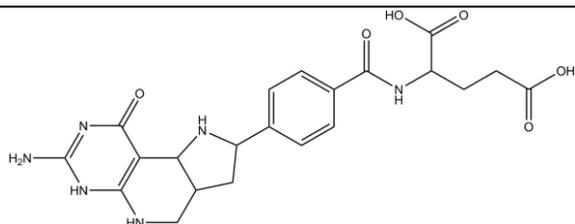
4. Предложение «второго поколения» структур потенциальных антифолатов на основании полученных данных.

Материалы и методы. Дизайн структур выполнен с помощью программ ChemOffice. Структура фермента (PDB ID: 5X5D) взята из банка данных 3D структур Protein Data Bank (PDB) [2]. Молекулярный докинг соединений осуществлялся на сервере DockingServer [3] с использованием полуэмпирического метода расчётов квантовой химии PM6, метода геометрической оптимизации MMFF94 и метода расчёта заряда Gasteiger при значении pH 7.0.

Результаты и их обсуждение. Известно, что тимидилат синтаза (ТС), осуществляющая *in vivo* процесс синтеза тимидин монофосфата из дезоксиуридин монофосфата, также необходима для протекания сопряжённого процесса превращения 5,10-метилентетрагидрофолата (5,10-МТГФ) в дигидрофолат (ДГФ) [4]. При ингибировании данного процесса нарушается синтез пиримидиновых азотистых оснований, а следовательно и репликация ДНК, в том числе и в опухолевых клетках. В качестве ингибиторов тимидилат синтазы используются в том числе и антифолаты, которые имеют схожую с фолиевой кислотой структуру, но мешают протеканию катализируемой ферментом реакции. Одним из известных антифолатов, применяемых сегодня в комбинации с цисплатином в химиотерапии плевральной мезотелиомы и немелкоклеточного рака лёгких является пеметрексед, выпускаемый компанией Eli Lilly and Company. В ходе работы было смоделировано взаимодействие пеметрекседа с тимидилат синтазой. Затем было предложено два ряда структур: в одном из них структуры содержали пироллидиновый цикл (серия «а»), конденсированный с пиримидиновым, а во втором – пиперидиновый (серия «b»). Результаты взаимодействия пеметрекседа и лучших структур каждой серии и их сравнение представлены в таблице 1.

Таблица 1. Сравнение взаимодействия пеметрекседа и некоторых предлагаемых структур с тимидилат синтазой

Структура (1)	Свободная энергия связывания (2)	Константа ингибирования (3)
	-5,13 kcal/mol	173,81 uM
	-7.91 kcal/mol	1.58 uM

	-8.58 kcal/mol	514.77 nM
---	----------------	-----------

На основании результатов докинга можно сделать следующие выводы:

1. Структуры серии «b» обладают, как правило, большей энергией связывания с ферментом.
2. Энергия тем больше, чем в меньшей степени у варьируемого заместителя выражены акцепторные свойства.
3. С увеличением энергии связывания, значение константы ингибирования уменьшается.
4. Учет только донорно-акцепторных свойств заместителя не в полной мере определяет величину энергии связывания.

Возможным объяснением, почему данные две структуры показывают наилучшие результаты в рамках своих серий, является наличие водородной связи, изображённой на рисунке 1.

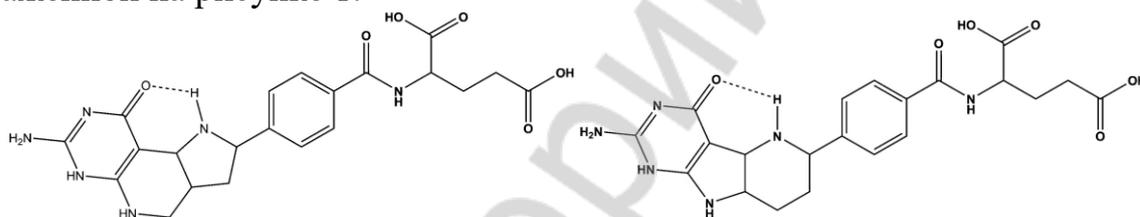
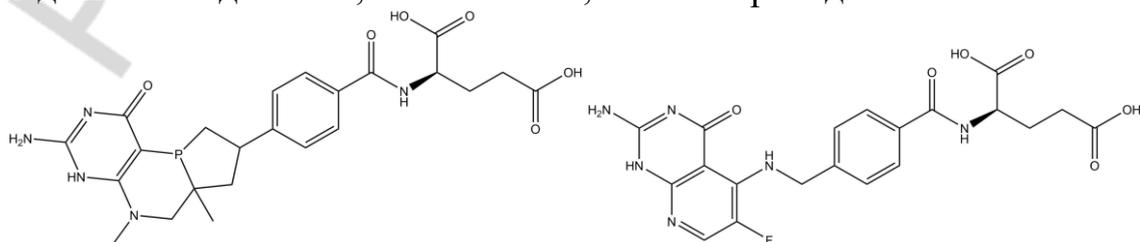


Рисунок 1 – Гипотетические водородные связи

Из всего выше сказанного, можно выдвинуть требования к новым структурам:

1. Должны содержать пиперидиновый цикл, конденсированный с пиримидиновым.
2. Должны содержать донорные заместители.
3. Заместитель не должен быть слишком большим или слишком маленьким, чтобы молекула в целом обладала геометрией, сходной с 5,10-МТНФ.
4. Необходимо заместить атом водорода, который переносится с молекулы фолата на последней стадии реакции синтеза dTMP, что сделает последнюю стадию, как и реакцию в целом, неосуществимой.
5. По возможности заместитель должен быть таким, чтобы образовывалась водородная связь с атомом кислорода.

Можно предложить «второе поколение» структур, приведённых на рисунке 2. Докинг данных соединений, к сожалению, пока не проводился.



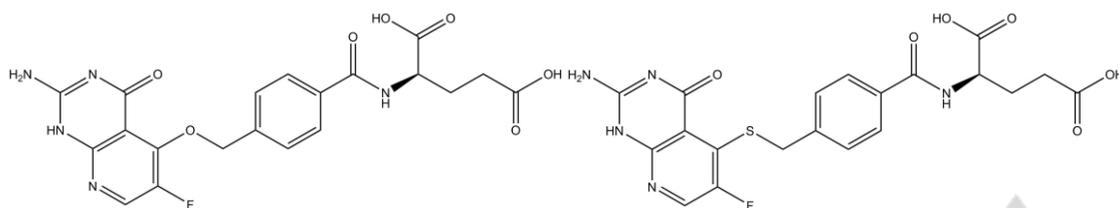


Рисунок 2 – «Второе поколение» предлагаемых антифолатов

Кроме того, в науке иногда открытия происходят «сами собой». В ходе одного из докингов произошла ошибка в считывании pdb-файла, содержащего структуру лиганда, и проведён докинг со структурой, содержащей 7-оксаспиро-[8.6]-цикл и показавшей сравнительно хорошие результаты. Однако, подробное рассмотрение данного соединения и анализ полученных результатов выходят за рамки данной статьи.

Выводы:

1. Структуры серии «b» обладают, как правило, большей энергией связывания с ферментом.
2. Энергия тем больше, чем в меньшей степени у варьируемого заместителя выражены акцепторные свойства.
3. С увеличением энергии связывания, значение константы ингибирования уменьшается.
4. Энергия связывания зависит от геометрии лиганда.
5. Связывание с тимидилат синтазой может становиться энергетически более выгодным, если в структуре образуется внутримолекулярная водородная связь.
6. Предложены структуры потенциальных антифолатов (по 33 структуры серий «a» и «b» и 4 структуры «второго поколения»).

A. A. Kulchyk

IN SILICO DESIGN OF NEW THYMIDYLATE SYNTHASE INHIBITORS AND STUDY OF STRUCTURE-BIOLOGICAL ACTIVITY DEPENDENCE

Supervisor: Ph.D. in Chemistry, associate professor *Todar. T. Lahvich,*

*Department of Bioorganic chemistry,
Belarusian State Medical University, Minsk*

Литература

1. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications / D.B. Kitchen, et al // *Nature Reviews. Drug Discovery.* – 2004. – V.3, №11. – P. 935–949.
2. DockingServer [Электронный ресурс] – Режим доступа к ресурсу: <http://www.dockingserver.com/web/>
3. Protein Data Bank [Электронный ресурс] – Режим доступа к ресурсу: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>
4. Поддубная, И.В. Роль пеметрекседа (Алимта) в лечении распространенного неплоскоклеточного немелкоклеточного рака легкого / И.В. Поддубная // *Современная онкология* – 2009. - N 3.-С.62-68.