

## РАЦИОНАЛЬНЫЙ ДИЗАЙН ИНГИБИТОРОВ СИНТЕЗА МИКОЛОВЫХ КИСЛОТ НА ОСНОВЕ УГЛЕВОДОВ И ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ СТРУКТУРА-БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ IN SILICO

Борова М.И.

*Белорусский государственный медицинский университет,  
кафедра биорганической химии, г. Минск*

**Ключевые слова:** докинг; зависимость строение-активность; миколовые кислоты; моносахариды.

**Резюме:** проведен дизайн и изучена insilico зависимость биологическая активность-строение ингибиторов синтеза миколовых кислот основе моноз.

**Resume:** molecular design of inhibitors of mycolic acid synthesis based on monosaccharides and correlation between their structure and biological activity in silico has been studied.

**Актуальность.** Миколовые кислоты являются структурными компонентами клеточной стенки микобактерий. Они представляют собой 2-алкил-3-гидрокси-длинноцепочечные жирные кислоты, содержащие от 78 до 95 атомов углерода, связанные с пептидогликаном[4]. Установлено, что микобактерии обладают кислотоустойчивостью благодаря наличию миколовых кислот в своей клеточной стенке. При попадании в организм человека микобактерии поглощаются фагоцитами, в которых создаётся кислая среда (pH 4.5-6.2)[5]. Таким образом, кислотоустойчивость, обусловленная наличием миколовых кислот, является фактором патогенности микобактерии, защищающим клетку от фагоцитоза.

Комплекс ферментов, участвующих в синтезе миколовых кислот, представляет собой внутриклеточные мишени действия противотуберкулёзных препаратов. Специфическим и эффективным лекарственным средством для лечения туберкулёза является изониазид. Однако вследствие мутаций в генах *inhA*, *kasA*, *acrM*, кодирующих синтез ферментов[2], отвечающих за синтез миколовых кислот, у микобактерий возникает резистентность к данному лекарственному средству. Например, вследствие мутации в гене *inhA* происходит его суперэкспрессия, что обеспечивает продолжение синтеза миколовой кислоты и вызывает инактивацию активного интермедиата изониазида. Частота появления мутантов с лекарственной устойчивостью различна и для изониазида составляет  $10^{-6}$  [1]. Поэтому актуальным становится поиск других молекул, которые смогут ингибировать синтез миколовых кислот.

**Цель:** провести дизайн и молекулярный докинг ингибиторов синтеза миколовых кислот на основе пентоз и гексоз.

**Задачи:** 1. Провести молекулярный дизайн производных углеводов; 2. Определить влияние структуры и стереохимии функциональных групп на связывание с белком-рецептором; 3. Выявить лидеры среди всех структур, которые можно использовать для синтеза веществ, которые потенциально могут использоваться в качестве лекарственных средств для лечения туберкулеза.

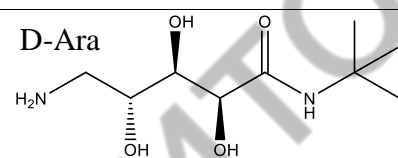
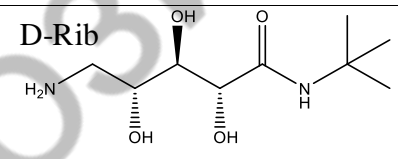
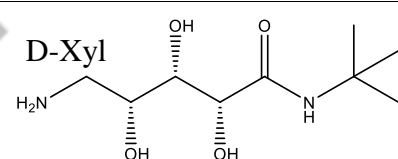
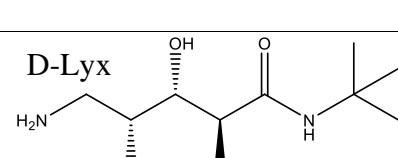
**Материал и методы.** Дизайн структур выполнен с помощью химических программ ChemOffice. Выбор белков-рецепторов проведен из банка данных 3D структур белков и нуклеиновых кислот ProteinDataBank. В качестве белка-рецептора был выбран 2WGF-TRANSFERASE. Молекулярный докинг *in silico* осуществлен с помощью программы Dockingserver [3] с использованием полуэмпирического метода расчётов квантовой химии PM6, метода геометрической оптимизации MMFF94 и метода расчёта заряда Gasteiger при значении pH 7.0, количество пробегов - 100.

**Результаты и их обсуждение.** Нами был проведен дизайн структур на основе модифицированных моносахаридов. В основу были положены производные пентоз и гексоз, с терминальными амидной и amino-группами.

При изучении *in silico* зависимости строения (структура и стереохимия) – биологическая активность мы установили влияние природы аминогрупп, конфигурации гидроксильных групп у стереогенных центров, D-, L- конфигурации моносахаридов, длины углеводородного скелета и природы концевой амидной и трет-бутиламидной групп на эффективность связывания с рецептором.

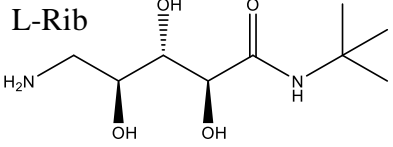
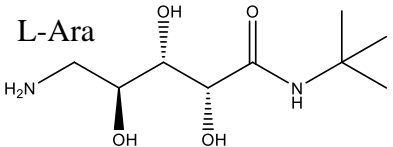
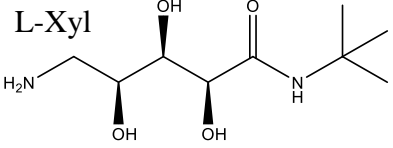
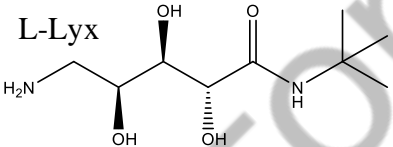
Для анализа зависимости структура-биологическая активность от относительной конфигурацией OH-групп в D-пентозах в качестве лигандов были смоделированы структуры с D-рибо, D-арабино, D-ксило, D-ликсо-конфигурацией гидроксильных групп (таблица 1). Наибольшую энергию связывания с рецептором показали структуры с D-рибо(-9.26 ккал/моль) и D-ксило(-8.91 ккал/моль) конфигурацией.

**Табл.1.** Зависимость структура-активность веществ с конфигурацией гидроксильных групп D-пентоз *in silico*

№	Лиганд	Свободная энергия связывания	Константа ингибирования
I	D-Ara 	-7.98 ккал/моль	1.41 uM
V	D-Rib 	-9.26 ккал/моль	164.21 nM
VI	D-Xyl 	-8.91 ккал/моль	295.49 nM
VII	D-Lyx 	-8.10 ккал/моль	1.16 uM

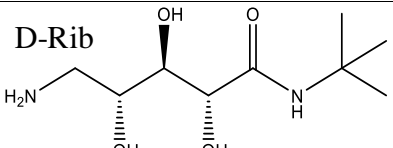
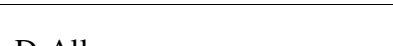
В исследовании зависимости структура-биологическая активность от относительной конфигурацией гидроксильных групп в L-пентозах (таблица 2) было обнаружено, что наибольшую энергию связывания имеет структура с L-арабино-конфигурацией гидроксильных групп (-9.02 ккал/моль).

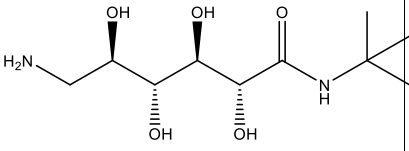
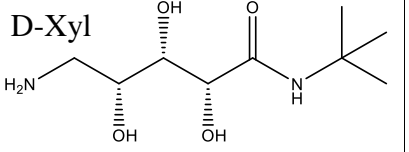
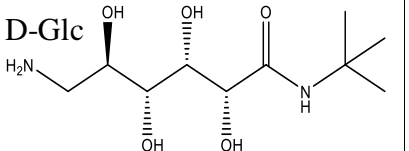
**Табл.2.** Зависимость структура-активность веществ сL-конфигурацией *in silico*

№	Лиганд	Свободная энергия связывания	Константа ингибирования
VIII	L-Rib 	-7.92 ккал/моль	1.57 μM
IX	L-Ara 	-9.02 ккал/моль	243.56 nM
X	L-Xyl 	-7.07 ккал/моль	6.60 μM
XI	L-Lyx 	-7.63 ккал/моль	2.54 μM

Для анализа зависимости «конфигурация модифицированных гексоз-биологическая активность» были выбраны алло- и глюко-структуры (таблица 3), у которых конфигурация вицинальныхОН-групп аналогична пентозам-лидерам (рибо-и ксило-). Установлено, что энергия связывания структур с D-ксило и D-глюко-конфигурацией сопоставимы (-8.91 и -8.47 ккал/моль). При этом гексоза с D-алло-конфигурацией значительно хуже связывается с рецептором, чем пентоза с D-рибо-конфигурацией (-7.04 против 9.26 ккал/моль).

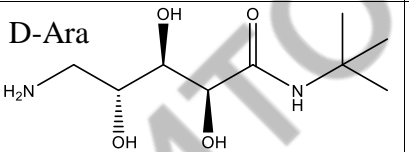
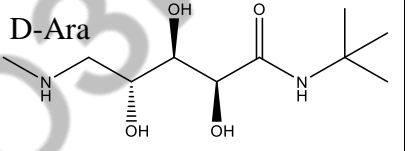
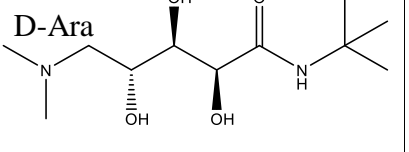
**Табл.3.** Зависимость структура-активность веществ для пентоз и гексоз *in silico*

№	Лиганд	Свободная энергия связывания	Константа ингибирования
V	D-Rib 	-9.26 ккал/моль	164.21 nM
XII	D-AlI 	-7.04 ккал/моль	1.57 μM

			
VI	D-Xyl 	-8.91 ккал/моль	295.49 nM
XIII	D-Glc 	-8.47 ккал/моль	

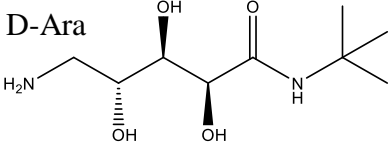
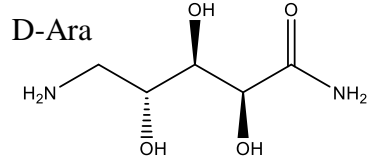
При исследовании влияния типа аминогруппы были выбраны структуры с D-арабино-конфигурацией гидроксильных групп, трет-бутиламидной группой и первичной, вторичной и третичной терминальной аминогруппой (таблица 4). Было установлено, что наиболее эффективно связывается лиганд с первичной аминогруппой (свободная энергия связывания -7.98 ккал/моль).

**Табл.4.** Зависимость структура-активность веществ с первичной, вторичной и третичной аминогруппой *in silico*

№	Лиганд	Свободная энергия связывания	Константа ингибирования
I	D-Ara 	-7.98 ккал/моль	1.41 uM
II	D-Ara 	-7.74 ккал/моль	2.11 uM
III	D-Ara 	-7.10 ккал/моль	6.22 uM

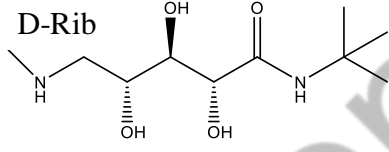
При исследовании влияния типа амидной группы в качестве лигандов была выбрана структура с D-арабино конфигурацией гидроксильных групп и первичной аминогруппой (таблица 5). Было показано, что большую энергию связывания показала структура с терминальной трет-бутиламидной группой (-7.98 ккал/моль).

**Табл.5.** Зависимость структура-активность веществ с трет-бутиламидной группой и амидной группой *in silico*

№	Лиганд	Свободная энергия связывания	Константа ингибирования
I		-7.98 ккал/моль	1.41 $\mu\text{M}$
IV		-7.07 ккал/моль	6.60 $\mu\text{M}$

На примере структур с D-рибо- конфигурацией было выявлено значительное снижение энергии связывания для четвертичного азота (таблица 6).

**Табл.6.** Зависимость структура-активность веществ для производных D-рибозы

№	Лиганд	Свободная энергия связывания	Константа ингибирования
XIV		-8.16 ккал/моль	1.04 $\mu\text{M}$
XV		-6.13 ккал/моль	32.28 $\mu\text{M}$

**Выводы:** 1. Наиболее эффективное связывание с рецептором имеют структуры с D-рибо, D-ксило, D-глюко и L-арабино-конфигурацию гидроксильных атомов, первичную или вторичную аминогруппу и трет-бутиламидную группу; 2. Данные структуры могут быть использованы в поиске потенциальных ЛС против туберкулеза.

#### Литература

1. Степаншин Ю.Г. Молекулярные механизмы устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* к лекарственным препаратам/ Степаншин Ю.Г., Степаншина В.Н., Шемякин И.Г.// Государственный научный центр прикладной микробиологии, п. Оболенск, Московская обл. АНТИБИОТИКИ-ИХИМИОТЕРАПИЯ, 1999-N4.-стр. 39-43.

2. Черняева Е. Н. Биохимические механизмы лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* /Е. Н. Черняева // *Biological Communications*. 2012. №2

3. Bikadi,Z., Hazai, E. *Application of the PM6 semi-empirical method to modeling proteins enhances docking accuracy of AutoDockJ*. *Cheminf.* 1, 15 (2009)

4. Marrakchi, H. Mycolic Acids: Structures, Biosynthesis, and Beyond. / H. Marrakchi, M.-A. LanéelleK, M. Daffé //Chemistry&Biology 2014. – V 1.- P. 67-85
5. Vandal O. Acid Resistance in Mycobacterium tuberculosis/ Omar H. Vandal, Carl F. Nathan, and Sabine Ehrt//J Bacteriol. 2009 Aug; 191(15).- P.4714–4721

Репозиторий БГМУ