

ИССЛЕДОВАНИЕ *IN SILICO* ЗАВИСИМОСТИ СТРУКТУРА–АКТИВНОСТЬ ОКСАЗОЛИДИНОВ В ПОИСКЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Лахвич Ф. Ф., Борова М. И., Ринейская О.Н.

*Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Реферат. Лекарственно-устойчивый туберкулез является актуальной проблемой для Республики Беларусь. В данной работе представлены результаты исследования *in silico* оксазолидинов как новой группы потенциальных противотуберкулезных лекарственных средств. Получены были количественные характеристики, которые отражают аффинность Линезолида и его производных, а также Ривароксабана к протеину β -кетоацил[АСР]синтазе I. Установлено, что наименьшую энергию связывания показал S-изомер Ривароксабана ($-8,47$ ккал/моль). Была изучена взаимосвязь структура–активность для оксазолидинов. Установлено, что амидная группа в оксазиновом кольце, а также фтор не влияют на связывание с рецептором. Тиофеновый фрагмент участвует в гидрофобных взаимодействиях с фенилаланином-239 β -кетоацил[АСР]синтазы I. Полученные данные будут использованы при дальнейшем поиске противотуберкулезных лекарственных средств.

Ключевые слова: докинг, зависимость структура-активность, Линезолид, оксазолидины, Ривароксабан.

Введение. В настоящее время Линезолид применяют для лечения инфекций, вызванных лекарственно-устойчивыми штаммами грамположительных бактерий, в том числе для терапии заболеваний, вызванных метициллин-резистентными золотистыми стафилококками, ванкомицин-резистентными энтерококками [1]. Также Всемирная организация здравоохранения предлагает схемы лечения, содержащие Линезолид, для терапии туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) [2]. Проблема устойчивого к терапии туберкулеза для Беларуси стоит довольно остро. Доля МЛУ-ТБ среди всех диагностированных случаев туберкулеза составляет около 35 % [3].

Описанный ранее механизм действия Линезолида заключается в ингибировании синтеза бактериальных белков [4]. Однако в контексте противотуберкулезной активности Линезолид может обладать и другим механизмом действия. Микобактерии содержат в составе своей клеточной стенки миколовые кислоты, которые обуславливают кислотоустойчивость бактерий и, следовательно, являются специфическими молекулярными мишенями для действия лекарственных средств. В нашей работе мы поставили задачу с помощью исследования *in silico* проверить возможность реализации альтернативного механизма действия Линезолида и его производных за счет ингибирования β -кетоацил[АСР]синтазы I — фермента, участвующего в синтезе миколовых кислот. Для этого был проведен молекулярный докинг с соответствующим модельным протеином, который мы ранее использовали при изучении аффинности дигидрокси замещенных изонипекотинамидов [5] и альдонамидов [6].

Близким по структуре к Линезолиду ЛС являются антикоагулянт Ривароксабан. Проведенные испытания Ривароксабана компанией Байер не показали антибактериальной активности в отношении грамположительных бактерий [7]. Но микобактерии являются специфическими грамположительными бактериями, поэтому целью данного исследования явилась сравнительная оценка аффинности Ривароксабана, Линезолида и его производных к β -кетоацил[АСР]синтазе I с помощью молекулярного докинга.

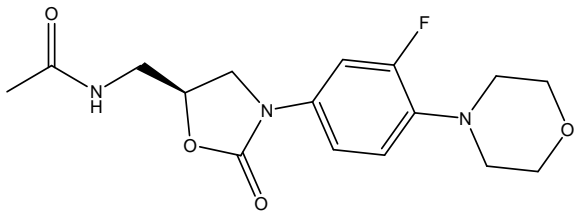
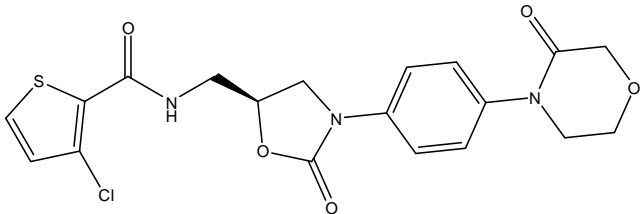
Материалы и методы. Дизайн структур выполнен с помощью программного пакета ChemOffice. Информация о трехмерной структуре протеина (код белка 2WGF, цепь A) получена с сайта Protein Data Bank.

Молекулярный докинг *in silico* осуществлен с помощью электронного ресурса Dockingserver [8] с использованием полуэмпирического метода расчетов квантовой химии PM6, метода геометрической оптимизации MMFF94 при значении pH 7,0, количество пробегов — 20. В настоящей работе энергией связывания считали наименьшее значение изменения свободной энергии Гиббса при переходе комплекса лиганд-протеин из несвязанного в связанное состояние [9].

Результаты и их обсуждение. Был проведен молекулярный докинг Линезолида и его производных и Ривароксабана с β -кетоацил[АСР]синтазой I.

Более низкая энергия связывания и константа ингибирования для Ривароксабана (таблица 1) свидетельствуют о его более высокой аффинности к анализируемому белку.

Таблица 1 — Результаты молекулярного докинга Линезолида (I) и Ривароксабана(II)

№	Лиганд	Свободная энергия связывания	Константа ингибирования
I		-6,70 ккал/моль	12,20 μ M
II		-8,47 ккал/моль	614,18 nM

Для определения причины значительного отличия в энергии связывания был проведен сравнительный анализ структур Линезолида и Ривароксабана. Так, в отличие от Линезолида молекула Ривароксабана содержит амидную группу в оксазиновом фрагменте, гидрофобный тиофеновый фрагмент, а также атом хлора, который потенциально может образовывать

галогеновую связь. В то же время Линезолид содержит атом фтора в бензольном кольце. Как Линезолид, так и Ривароксабан представлены S-изомером. На основании данных отличий были построены лиганды на основе структур Линезолида и Ривароксабана для установления зависимости структура- активность *in silico* (таблицы 2, 3).

Таблица 2 — Результаты молекулярного докинга Линезолида (I) и его производных

№	Лиганд	Свободная энергия связывания	Константа ингибирования
I		-6,70 ккал/моль	12,20 μM
III		-6,52 ккал/моль	16,51 μM
IV		-6,60 ккал/моль	14,43 μM

Таблица 3 — Результаты докинга для Ривароксабана (II) и его R-изомера (V)

№	Лиганд	Свободная энергия связывания	Константа ингибирования
II		-8,47 ккал/моль	614,18 nM
V		-8,07 ккал/моль	1,21 μM

Энергии связывания лигандов I (Линезолид), III и IV оказались практически одинаковыми. Таким образом, амидная группа и фтор существенным образом не влияют на связывание с протеином.

Можно предположить, что ключевую роль в повышении аффинности лиганда к протеину играет введение в молекулу Ривароксабана гидрофобного тиофенового фрагмента.

Лидером среди всех изученных лигандов оказался Ривароксабан, представленный S-изомером. Далее было изучено влияние конфигурации стереогенного центра Ривароксабана на связывание с белком (см. таблицу 3)

Большую энергию связывания показывает лиганд II, представляющий собой S-изомер (-8,47 ккал/моль), который соответствует лекарственному средству Ривароксабан. Для дан-

ного лиганда был проанализирован характер взаимодействия с аминокислотными остатками активного центра белка.

В результате эксперимента установлено, что основной вклад в энергию связывания вносят гидрофобные взаимодействия (таблица 4). Суммарная энергия гидрофобных взаимодействий равна -3,38 ккал/моль, что составляет около 40 % от всей энергии взаимодействия лиганда с рецептором. При этом галогеновая связь хлора с гистидином 345 составляет только 1,69 % от общей энергии взаимодействия, а связь с глицином-200, по-видимому, энергетически невыгодна.

Значительный вклад в связывание с рецептором вносит тиофеновый фрагмент, который обеспечивает π -стекинг взаимодействия с аминокислотой фенилаланином-239 (рисунок 1).

Таблица 4 — Энергия связывания лиганда (ккал/моль) с аминокислотными фрагментами протеина

Галогеновая связь	Полярные взаимодействия	Гидрофобные взаимодействия	Другие взаимодействия
HIS345 (-0,1433) GLY200 (0,8165)	GLU199 (0,0811)	PRO206 (-0,9706) LEU205 (-0,8247) PHE239 (-0,7364) VAL123 (-0,4501) ALA119 (-0,4009)	GLU203 (-0,8968)

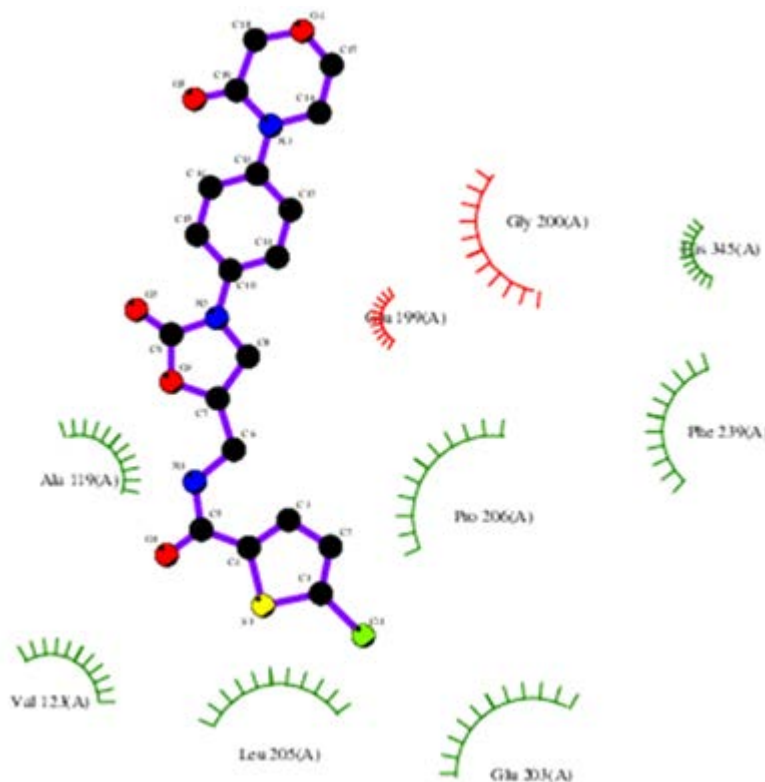


Рисунок 1 — Взаимодействие Ривароксабана с рецептором

Исходя их высоких предсказанных *in silico* количественных показателей аффинности Ривароксабана (и умеренных — для Линезолида) к протеину β -кето-ацил[АСР]синтазе I, можно предположить, что противотуберкулезное действие Линезолида может быть обусловлено альтернативным механизмом ингибирования синтеза миколовых кислот.

Полученные данные будут в дальнейшем использованы для определения фармакофора и для последующего поиска противотуберкулезных средств *in vitro*.

Заключение. Установлено, что в эксперименте *in silico* Ривароксабан показывает высокую аффинность к белку-рецептору β -кетоацил[АСР]синтазе I; при этом он связывается с протеином значительно эффективнее

по сравнению с Линезолидом. Амидная группа в оксазиновом фрагменте, а также фтор в бензольном кольце не влияют на энергию связывания с рецептором. Наибольший вклад в энергию связывания Ривароксабана с протеином вносят гидрофобные взаимодействия, в том числе за счет тиофенового фрагмента.

Результаты исследования *in silico* показывают перспективность изучения производных оксазолидинонов, в том числе субстанций, которые используются в медицине при поиске новых противотуберкулезных лекарственных средств. Полученные результаты предполагают проведение дальнейших исследований для изучения биологической активности производных оксазолидинонов *in vitro*.

Список цитированных источников

1. Hashemian, S. M. R. Linezolid: a review of its properties, function, and use in critical care / S. M. R. Hashemian, T. Farhadi, M. Ganjparvar // Drug. Des. Devel. Ther. — 2018. — № 12. — P. 1759–1767.
2. Treatment of tuberculosis: Guidelines for national programmes [Electronic resource] / World Health Organization. — Mode of access: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/67890>. — Date of access: 01.06.2022.
3. Global tuberculosis report 2021 [Electronic resource] / World Health Organization. — Mode of access: https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/. — Date of access: 01.06.2022.
4. Livermore, D. M. Linezolid *in vitro*: mechanism and antibacterial spectrum / M. D. Livermore // J. Antimicrob Chemother. — 2003. — № 51. — P. 9–16.
5. Лахвич, Ф. Ф. Рациональный дизайн модели ациклических аналогов гидроксиизонипекотиновых кислот / Ф. Ф. Лахвич, П. Ю. Зушик, А. Ф. Лахвич // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т. — Минск : БГМУ, 2019. — Вып. 9. — С. 389–399.
6. Лахвич, Ф. Ф. Исследование сродства альдонамидов к рецепторам KASA в контексте разработки противотуберкулезных препаратов / Ф. Ф. Лахвич, М.И. Борова // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т. — Минск : БГМУ, 2021. — Вып. 11. — С. 518–523.
7. Assessment report Xarelto Rivaroxaban [Electronic resource] / European Medicines Agency. — Mode of access: https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/xarelto-h-c-944-x-0010-epar-assessment-report-extension_en.pdf. — Date of access: 01.06.2022.
8. DockingServer [Electronic resource] / DockingServer, 2006. — Mode of access: <https://www.dockingserver.com/web>. — Date of access: 01.06.2022.
9. Горемыкин, К. В. Исследование взаимодействия лигандов с аденозиновыми рецепторами типа a_{2b} *in silico* / К. В. Горемыкин, И. В. Ивлев, Ю. А. Королева // Вестник Новосибирского гос. ун-та. Сер. Биология, клинич. медицина. — 2010. — Т. 8, № 1. — С. 11–16.

In silico SAR studies of oxazolidinones as potential anti-tuberculosis drugs

Lakhvich T. T., Borava M. I., Ryneiskaya O. N.

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Drug-resistant tuberculosis poses a major risk to global health security and in particular for Belarus. In this work, we have studied *in silico* anti-tuberculosis activity of oxazolidinones as a new group of potential drugs. The assay included the evaluation of SAR for Linezolid and its derivatives, as well as for Rivaroxaban with the receptor protein Ketoacyl synthase A. The highest binding energy was found for

S-isomer of Rivaroxaban, (-8.47 kcal/mol). It has been found that the amide group in the oxazine ring, as well as fluorine, do not affect the binding to the receptor. The thiophene fragment is involved in hydrophobic interactions with phenylalanine-239 of Ketoacyl synthase I. The data obtained will be useful for new search for anti-tuberculosis drugs.

Keywords: docking, Linezolid, oxazolidinones, Rivaroxaban, structure-activity relationship.

Поступила 05.09.2022