

К.И. Кроль

**ДИЗАЙН ИНГИБИТОРОВ САЙТА СВЯЗЫВАНИЯ УБИХИНОЛА
И УБИХИНОНА IN SILICO НА ОСНОВЕ КРЕЗОКСИМ-МЕТИЛА**

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

Кафедра биоорганической химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

C.I. Krol

**UBIQUINOL/UBIQUINON BINDING SITE INHIBITORS DESIGN
IN SILICOBASED ON KRESOXIM-METHYL**

Tutor: PhD in chemistry, associate professor T.T. Lakhvich

Department of Bioorganic Chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Исследована *in silico* зависимость биологической активности от структуры производных модифицированного крезоксим-метила. Проанализировано влияние изменений в структуре (тип циклической системы, введение атомов фтора, гидроксильных групп, серы) на аффинность соединений-лигандов к рецептору.

Ключевые слова: биодоступность, крезоксим-метил, лиганд, энергия связывания.

Resume. The structure activity relationship (SAR) of modified kresoxim-methyl derivatives has been studied *in silico*. The influence of changes in the structure (type of the cyclic system, introduction of fluorine atoms, hydroxyl groups, sulfur) to affinity to receptor has been calculated.

Keywords: affinity to receptor, bioavailability, Kresoxim-methyl, ligand.

Актуальность. Поиск новых лекарственных средств (ЛС) для химиотерапии онкологических заболеваний является актуальной и социально значимой проблемой. Согласно данным IARC (*International Agency for Research on Cancer* - международное агентство по изучению рака) в 2020 г. было зафиксировано около 20000000 новых случаев злокачественных новообразований; около 10000000 пациентов умерли. Считается, что в течение жизни данные заболевания будут диагностированы у 20% жителей; при этом для 10% пациентов онкопаталогия станет причиной смерти. По оценкам учёных количество случаев онкологических заболеваний к 2040 г. может вырасти на 50 %, в сравнении с 2020 г. Поэтому поиск и разработка противоопухолевых ЛС может повысить выживаемость пациентов на разных стадиях заболевания, а также среднюю продолжительность и качество жизни некурабельных пациентов.

Цель: провести дизайн и молекулярный докинг ингибиторов Q-цикла митохондриального комплекса III, синтеза глутатионпероксидазы, ингибитора миграции и пролиферации клеток нейробластомы мышей на основе фунгицида стробилуринового ряда – крезоксим-метила.

Задачи:

1. Провести дизайн ингибиторов сайта связывания убихинола и убихинона на основе крезоксим-метила.

2. Исследовать зависимость биологической активности ингибитора от структуры *in silico*.

Материал и методы. Дизайн структур крезоксим-метила выполнен с помощью программы ChemOffice. Отбор белков-рецепторов проведен из банка данных 3D структур белков и нуклеиновых кислот Protein Data Bank. В качестве белка для исследования был выбран белок Urm1 (код в Protein Data Bank 2QJL) с лигандами: молекулой этиленгликоля, имитирующей жирные кислоты, и катионом магния. Молекулярный докинг *in silico* проведён при помощи ресурса Dockingserver 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. Основными мишенями крезоксим-метила являются сайты связывания убихинола и убихинона, обозначаемые как Q_o и Q_i. Сайты в свою очередь являются частью Q-цикла, входящего в митохондриальный комплекс III, ответственный за перенос электронов цепи.

В работе исследована зависимость биологической активности (в контексте поиска потенциальных противоопухолевых ЛС) от структуры молекул на основе крезоксим-метила.



Рис. 1 – Крезоксим-метил

Сравнительный анализ аффинности крезоксим-метила к протеинам сахаромецета *Saccharomyces cerevisiae* и быка домашнего *Bos Taurus*, являющиеся белками митохондриального комплекса (коды структур комплексов в Protein Data Bank 2QJL и 1SQP соответственно) позволил выбрать протеин 2QJL для дальнейшего исследования (см. табл. 1).

Табл.1. Зависимость биологической активности крезоксим-метила от белка

Название белка	Энергия связывания	Константа ингибирования
1SQP	-3,23 ккал/моль	4,30 mM
2QJL	-4,61 ккал/моль	415,86 uM

Наилучшие результаты показали модификации крезоксим-метила: бициклический (S)-((R)-7-фтор-5-(((5-фтор-2-метилфенил)тио)метил)-3,4-дигидро-1H-бензо[d][1,2]оксазин-4-ил)(метокси)метанол (модификация 2) и моноциклический фторированный (1S,2R)-2-(2-((3,5-дифтор-2-

метилфеноксиметил)-3,5 дифторфенил)-2-(метоксиамино)-1-(метиламино)этан-1-ол
 (модификация 3). (см. табл. 2)

Табл.2. Результаты молекулярного докинга для модификаций крезоксим-метила с 2QJL

№	Структурная формула	Энергия связывания	Константа ингибирования
1		-6,78 ккал/моль	10,70 μM
2		-6,99 ккал/моль	7,50 μM
3		-7,55 ккал/моль	2,93 μM
4		-5,73 ккал/моль	62,95 μM
5		-6,52 ккал/моль	16,73 μM
6		-6,01 ккал/моль	39,33 μM

Влияние атомов фтора

Присутствие в молекуле 2-4 атомов фтора значительно увеличивает энергию связывания, и, следовательно, биологическую активность модифицированного крезоксим-метила, от 4,61 ккал/моль до 5,73-7,55 ккал/моль. Поскольку введение атомов фтора в целом оптимизирует многие фармакокинетические параметры (биодоступность, экскреция и т.д.). Поэтому фторированные модификации представляют интерес для дальнейшего исследования.

Наличие гидроксильных групп

Введение ОН-группы в β -положение к бензольному кольцу (модификации 2, 3) значительно увеличивает энергию связывания; это объясняется образованием водородных связей. При увеличении число гидроксильных групп с одновременным удлинением углеродного скелета (глицериновые остатки), наблюдается незначительное уменьшение сродства лиганда к белку (уменьшение энергии связывания) (см. модификации 1, 6). Это можно объяснить конкуренцией между образованием внутримолекулярных водородных связей в молекуле лиганда с образованием межмолекулярных водородных связей между фрагментами лиганда и протеина.

Введение полигидроксильного фрагмента повысит растворимость соединения (образованием большего числа водородных связей), а также, возможно приведет к появлению специфических механизмов транспорта, что приведет к увеличению биодоступности. При этом возможные продукты гидролиза, окисления и т.д. (глицерин, глицеральдегид, пировиноградная и молочная кислота не являются токсичными продуктами для человеческого организма). Поэтому изученные соединения также являются перспективными для дальнейшего изучения.

Наличие серы (сульфиды, эстеры)

Наличие в соединениях серы (производные тиолов и тиокислот) незначительно уменьшает сродство лиганда к рецептору (белку) по сравнению с лигандами, имеющими этерную группу (соединения 2 – сульфидная группа; 4,5 – содержащее эстерную группу). Высокие энергии для соединений 2, 4, 5 обусловлены наличием гидроксильных групп.

Бициклическое соединение

Бициклические соединения 2, 5 обладают большим сродством по сравнению с моноциклическими производными. Бициклическое соединение 5, содержащее серу, обладает большей энергией связывания по сравнению с моноциклическим аналогом 4.

Наличие и положение амидных связей и других заместителей практически не влияет на сродство с белком.

Детализированный анализ характера взаимодействия лиганда с рецептором показал, что основной вклад в энергию связывания модификации 2 с белком вносят гидрофобные связи – (-2,3077 ккал/моль), что составляет 33% энергии связывания (Табл. 3).

Табл. 3. Энергия взаимодействий модификации 2 с конкретными аминокислотами белка

Галогеновые связи	Гидрофобные связи	Другие связи
GLU79 (-0.5593)	ILE61 (-1.2668)	LYS80 (-0.7276)
ILE65 (-0.4851)	TRP74 (-1.0409)	SER60 (-0.5624)
ARG62 (-0.3967)		GLY99 (-3.15)

Основной вклад в энергию связывания модификации 3 с протеином вносят гидрофобные связи – (-2,2110 ккал/моль) и катион-π взаимодействия (-1,5532 ккал/моль), что составляет 50% энергии связывания (Табл. 4).

Табл. 4. Энергия взаимодействий модификации 3 с аминокислотами белка

Водородные связи	Галогеновые связи	Катион-π взаимодействие	Гидрофобные связи	Другие связи
GLU79 (-0.4892)	GLY99 (-0.5151)	TRP74 (-1.5537)	ILE61 (-1.2066)	SER60 (-1.045)
	ARG62 (-0.4825)		PRO63 (-1.0044)	LYS80 (-0.9512)
	ILE65 (-0.1247)			

Выводы: дизайн веществ на основе модифицированной структуры крезоксим-метила, является перспективным направлением поиска новых Q_{out} -ингибиторов, как потенциальных субстратов в поиске противоопухолевых ЛС.

Вещества 2 и 3 имеют высокие энергии связывания с рецепторами благодаря наличию оксазинового кольца, сульфидной группы, гидроксильной группы в β-положении к бензольному кольцу. Использование глицерола, (присутствует в виде эфира глицерола в лиганде) также увеличивает аффинность лиганда к рецептору (белку). При этом потенциальное образование относительно нетоксичных продуктов метаболизма (глицеральдегида, молочной кислоты и других) позволяют использовать этот фрагмент для увеличения биодоступности.

Литература

1. Crofts, Antony. R. The modified Q-cycle: A look back at its development and forward to a functional model / Antony R. Crofts // BBA – Bioenergetics. – 2021. – P. 1-42. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2021.148417>.
2. DockingServer. [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.dockingserver.com/web/>. – Date of access: 05.04.2022.
3. Fisher, N., Meunier, B., Biagini, G. A. The cytochrome bc 1 complex as an antipathogenic target / N. Fisher, B. Meunier, G. A. Biagini // FEBS Letters. – 2020. – P. 1-42. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13868>.
4. Freshwater quality criteria of four strobilurin fungicides: Interspecies correlation and toxic mechanism / Shuo Wang, Jia Wang, Xiao Zhang, Xiao T. Xu, Yang Wen, Jia He, Yuan H. Zhao // Chemosphere. – 2021. – P. 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131340>.
5. Protein Data Bank. [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.rcsb.org>. - Date of access: 05.04.2022.