

А.А. Баньковский

**МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ ТАЛИДОМИДА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ
С ЦЕЛЬЮ РАЗРАБОТКИ ЭФФЕКТИВНЫХ СРЕДСТВ
С АНТИМИЕЛОМНОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. О.Н Рунейская

Кафедра биоорганической химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A.A. Bankovsky

**MOLECULAR DOCKING OF THALIDOMIDE AND ITS DERIVATIVES
TO DEVELOP EFFECTIVE MEDICINES WITH ANTIMYELOMA ACTIVITY**

Tutor: Ph.D, associate professor O.N. Ryneiskaya

Bioorganic Chemistry Department

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В работе на основе молекулы талидомида выполнен дизайн различных его производных *in silico* и проведен молекулярный докинг с основным белком-мишенью – цереблном (CRBN). Выявлен наилучший лиган и проведена оценка полученных данных в сравнении с показателями талидомида и помалидомида. Последний известен как наиболее эффективное производное талидомида, применяющееся в клинике в лечении множественной миеломы.

Ключевые слова: талидомид, множественная миелома, докинг, AutoDock, цереблон.

Resume. In this work, on the basis of the thalidomide molecule, various derivatives were designed *in silico* and molecular docking was carried out with the resulting target protein, cereblon (CRBN). The best ligand was identified and an income estimate was made with indicators of thalidomide and pomalidomide. The last case in which the thalidomide derivative occurs most frequently occurs in the case of recurrent multiple myeloma.

Keywords: thalidomide, multiple myeloma, docking, AutoDock, cereblon.

Актуальность. Множественная миелома (ММ) является вторым по распространенности злокачественным заболеванием крови после неходжкинской лимфомы. На её долю приходится около 1,8% всех новых случаев злокачественных заболеваний и 2,1% всех смертей от них. В 1999 году было показано, что талидомид эффективен при лечении ММ. В настоящее время в клинике широко применяются при данной патологии производные талидомида: леналидомид и помалидомид (последний является наиболее терапевтически эффективным). ММ на сегодняшний день остается неизлечимым высоколетальным заболеванием, поэтому вопрос о поиске более эффективных лекарств и схем комплексной терапии до сих пор остается крайне актуальным.

Цель: моделирование и анализ *in silico* эффективности связывания талидомида и ряда его производных с белком-мишенью CRBN для выявления наиболее успешных образцов, перспективных в отношении антимиеломной активности.

Задачи:

1. Провести молекулярный докинг и показать характеристики связывания различных производных талидомида с цереблном;

2. Выявить наиболее перспективное производное талидомида в отношении антимиеломной активности;

3. Проанализировать структуру сайта связывания, характер взаимодействия с рецептором лучшего лиганда.

Материал и методы. Дизайн производных талидомида выполнен с использованием пакета программ ChemOffice. Трехмерная структура cereblon была взята из базы данных Protein Data Bank (PDB) [1]. Для молекулярного докинга *in silico* использовался ряд специализированных программ: AutoDock 4 [2] – для подготовки к стыковке рецептора и лиганд-белковых взаимодействий, онлайн-сервер Proteins Plus - для визуализации полученных соединений, а также для дальнейшего анализа архитектуры и энергетической составляющей полученного комплекса; программа OpenBabelGUI использовалась в качестве конвертера различных форматов, требуемых программой AutoDock 4.

Результаты и их обсуждение. Несмотря на относительно простую химическую структуру, физико-химические свойства талидомида довольно сложны. Молекула талидомида содержит хиральный центр. В соответствии с R/S-номенклатурой стереоизомеров, различают правовращающий (R-) и левовращающий (S-) изомеры. В 1979 г. было обнаружено, что энантиомеры проявляют разные биологические и физиологические свойства. Появилась теория о том, что именно (S)-энантиомер вызывает тератогенный эффект [3]. Впоследствии эта теория полностью подтвердилась.

Действующее вещество лекарственного средства представляло собой рацемат, в составе которого находился тератогенный (S)-изомер. Однако даже употребление (R)-изомера приводит к аномалиям развития плода. Ныне установлено, что энантиомеры талидомида могут быстро рацемизироваться в растворе. Рацемизация происходит посредством кето-енольной таутомерии [4] (рисунок 1).

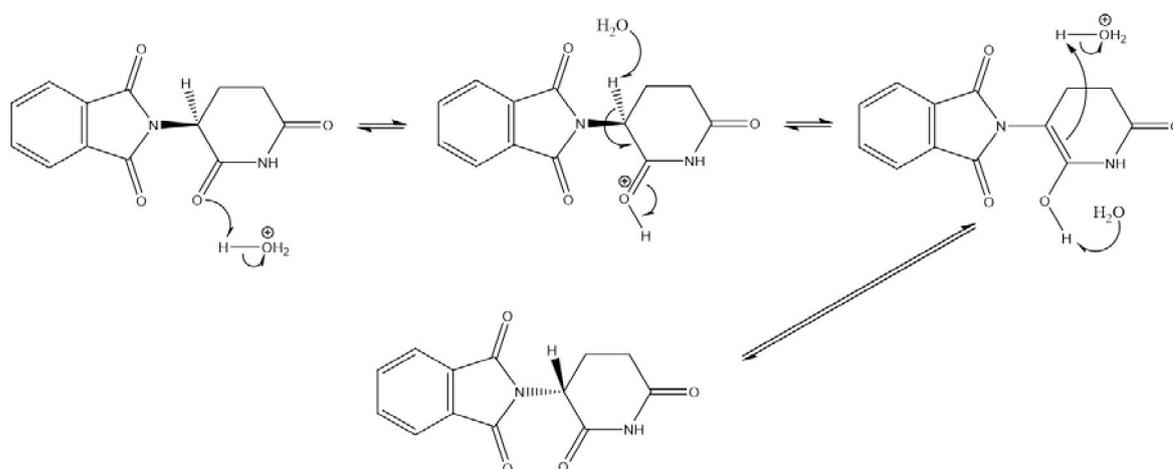


Рис. 1 – Схема рацемизации талидомида в растворе

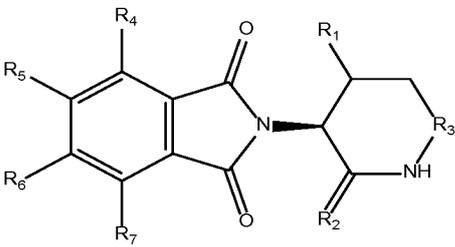
В 2010 году было установлено, что единственным белком, связывающим талидомид, был cereblon (CRBN) [5]. Однако CRBN не был изолированным белком. В реальности молекула талидомида связалась посредством CRBN с целым комплексом. В комплекс входит убиквитинлигаза, которая специфически «помечает»

определенные субстраты убиквитином, что необходимо для их деградации в протеосомах. Некоторые из субстратов в избытке продуцируются клетками ММ с целью их выживания. Они ответственны за такие важнейшие для злокачественных клеток процессы, как неоангиогенез, адгезия, инвазия и метастазирование. Разрушение этих субстратов неизбежно ведет к гибели миеломных клеток.

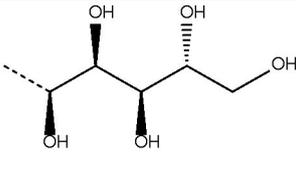
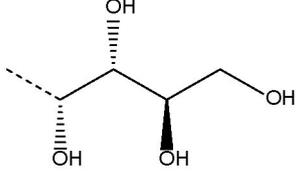
С другой стороны, хорошо известно, что для корректной закладки органов и конечностей плода необходимо образование новых сосудов. Поэтому в настоящее время считается, что связывание талидомида и его производных именно с CRBN лежит в основе и тератогенных, и терапевтических эффектов данного препарата.

В этом исследовании было произведено конструирование и последующий анализ 17-ти структур являющихся производными талидомида, полученными путем введения или удаления отдельных функциональных групп в пиперидиновый или изоиндолиновый фрагменты. Для удобства была составлена таблица лигандов (таблица 1).

Табл. 1. Характеристики взаимодействия (энергия связывания E_b и константа ингибирования K_i) лиганд-рецептор производных

<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> <div style="font-size: 2em; margin-right: 20px;">A</div>  </div>									
A									
№	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	E _b kcal/mol	K _i
1	-	O	CO	H	H	H	H	-9,28	157,64 nM
2	CH ₃ (R-)	O	CO	H	H	H	H	-9,08	219,44 nM
3	CH ₃ (S-)	O	CO	H	H	H	H	-8,57	522,40 nM
4	H	CH ₂	CO	H	H	H	H	-8,95	274,62 nM
5	H	CH ₂	C = CH ₂	H	H	H	H	-9,16	192,48 nM
6 (R-)	H	O	COOH	H	H	H	H	-7,71	2,23 μM
7 (S-)	H	O	COOH	H	H	H	H	-8,18	1,16 μM
8	H	O	CO	F	F	F	F	-8,56	533,86 nM
9	H	O	CO	F	F	H	F	-8,56	535,78 nM
10	H	O	CO	F	F	F	H	-8,52	566,03 nM
11	H	O	CO	F	H	H	F	-8,71	411,26 nM

Продолжение таблицы 1

12	H	O	CO	F	F	H	H	-8,64	461,06 nM
13	H	O	CO	F	H	F	H	-8,61	484,73 nM
14	H	O	CO	F	H	H	H	-8,71	409,41 nM
15	H	O	CO	H	H	F	H	-8,61	488,3 nM
Б	Б								
	№	Z ₁						E _b kcal/mol	K _i
	16							-6,14	31,49 μM
17							-6,34	22,6 μM	

В результате проведенного эксперимента *in silico* выявлен лиганд, наиболее эффективно связывающийся с CRBN – 2-(2,6-диоксо-1,2,5,6-тетрагидропиридин-3-ил)изоиндолин-1,3-дион (рисунок 2).

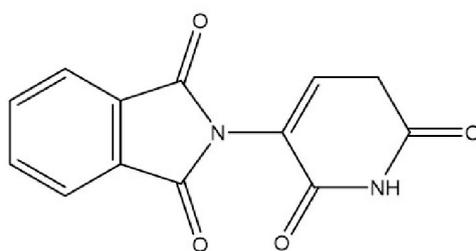


Рис. 2 – Структурная формула 2-(2,6-диоксо-1,2,5,6-тетрагидропиридин-3-ил)изоиндолин-1,3-дион

K_i составила 157,64 nM при энергии связывания E_b = -9,28 ккал/моль (у талидомида K_i = 330,95 nM при E_b = -8,84 ккал/моль).

При этом он продемонстрировал более высокую аффинность к CRBN даже по сравнению с наиболее эффективным среди производных талидомида, применяющихся в клинике – помалидомидом (K_i = 268,9 nM при E_b = -8,97 ккал/моль). Проведен анализ характера взаимодействий данного образца с церебллоном (рисунок 3).

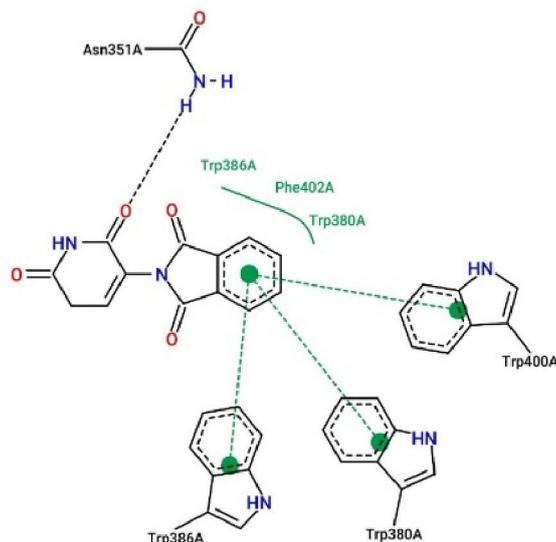


Рис. 3 – Взаимодействия лиганда и рецептора

Молекула данного лиганда не имеет хиральных центров в отличие от остальных образцов. Такая высокая эффективность взаимодействия, возможно, обусловлена меньшей конформационной подвижностью, что при связывании с рецептором, по-видимому, энергетически более выгодно.

Выводы: полученные результаты дают основание прогнозировать более высокую терапевтическую активность в отношении множественной миеломы у 2-(2,6-диоксо-1,2,5,6-тетрагидропиридин-3-ил)изоиндолин-1,3-диона и позволяют планировать дальнейшие исследования данного образца *in vitro* и *in vivo*.

Литература

1. Berman, H. M. The Protein Data Bank / H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng [et al] // *Nucleic Acids Research*. – 2000. – Vol. 28. – P. 235-242.
2. Morris, G. M. Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility / G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M. F. Sanner, R. K. Belew, D. S. Goodsell, A. J. Olson // *Computational Chemistry*. – 2009. – №16. – P. 2785-2791.
3. Blaschke, G. Chromatographische Racemattrennung von Thalidomid und teratogene Wirkung der Enantiomere [Chromatographic separation of racemic thalidomide and teratogenic activity of its enantiomers (author's translation)] / G. Blaschke, H. Kraft, K. Fickentscher, F. Köhler // *Arzneimittelforschung*. – 1979. – Vol. 29, №10. – P. 1640-1642.
4. Tian, C. Enantiomerization mechanism of thalidomide and the role of water and hydroxide ions / P Xiu, Y Meng, W Zhao, Z Wang, R Zhou // *Chemistry*. – 2012. – Vol. 18, №45. – P. 14305-14313.
5. Ito, T. Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity / T. Ito, H. Ando, T. Suzuki, T. Ogura, K. Hotta, Y. Imamura, Y. Yamaguchi, H. Handa // *Science*. – 2010. – Vol. 327, №5971. – P. 1345-1350.