

И.А. Комлач

СРАВНЕНИЕ *IN SILICO* АФФИННОСТИ ПРЯМЫХ ОРАЛЬНЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ К ГЛЮКОКИНАЗЕ

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

Кафедра биоорганической химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

I.A. Komlach

IN SILICO COMPARISON OF THE AFFINITY OF DIRECT ORAL ANTICOAGULANTS TO GLUCOKINASE

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

Department of Bioorganic chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В статье рассматривается взаимодействие *in silico* прямых оральных антикоагулянтов (ПОАК) с белком-мишенью – глюкокиназой (ГК). Проанализированы комплексы лиганда с протеином в аллостерическом центре, который отвечает за действие активаторов глюкокиназы.

Ключевые слова: аллостерический центр, аффинность, глюкокиназа, ксабаны, молекулярный докинг, сахарный диабет.

Resume. With the help of molecular docking methods, the interaction of the directly acting oral anticoagulants with the target protein - glucokinase has been studied *in silico*. Complexes of a ligand with a protein in the allosteric center, which is responsible for the action of glucokinase activators, have been analyzed.

Keywords: affinity, allosteric center, diabetes mellitus, glucokinase, molecular docking, Xabanes.

Актуальность. Ксабаны (Ривароксабан, Апиксабан, Эдоксабан и Бетриксабан) относятся к группе прямых оральных антикоагулянтов, которые ингибируют фактор свёртываемости крови Ха. Клинические испытания показали перспективность этих соединений в качестве заменителей антагонистов витамина К или низкомолекулярного гепарина для профилактики инсульта при фибрилляции предсердий и для лечения и вторичной профилактики венозной тромбоэмболии. Ксабаны воздействуют непосредственно на фактор Ха в каскаде свертывания крови без участия антитромбина [2].

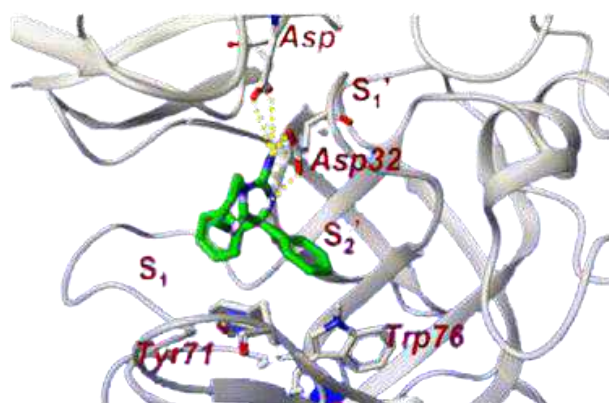


Рис. 1 – фактор Ха

Фактор Ха (тромбопластин, фактор Стюарта-Пауэра) представляет собой зависимую от витамина К сериновую протеазу, которая вырабатывается печенью. Тромбопластин катализирует превращение протромбина в тромбин, конечный фермент в каскаде свертывания крови, который отвечает за образование фибринового сгустка [1].

В настоящее время ряд исследований посвящен поиску новой или дополнительной активности уже существующих или находящихся на последних стадиях клинических испытаний ЛС. Данная стратегия получила в англоязычной литературе название “repurposing”, и позволяет на практике реализовать основные принципы рационального драг-дизайна. При установлении нового типа физиологической активности регистрация новых показаний для применения ЛС не требует проведения ряда испытаний (изучение фармакокинетики, фармакодинамики, токсичности и т. д.), которые необходимы при разработке нового ЛС.

Ранее было показано, что Ривароксабан имеет высокую аффинность к глюкокиназе [4]. Молекулы исследуемых в данной работе ксабанов имеют приблизительно одинаковые молекулярные массы и топологию; следовательно, можно предполагать, что величина энергии связывания лигандов с выбранной мишенью-протеином будет коррелировать с возможной биологической активностью. Поэтому цель нашего исследования – определить аффинность соединений этого класса в отношении к ГК.

Цель: моделирование и анализ *in silico* эффективности связывания прямых оральных антикоагулянтов с белком-мишенью ГК для прогнозирования влияния ПОАК на уровень глюкозы.

Задачи:

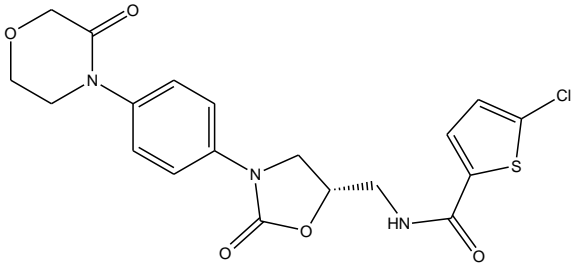
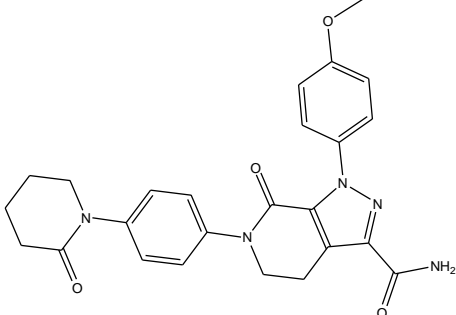
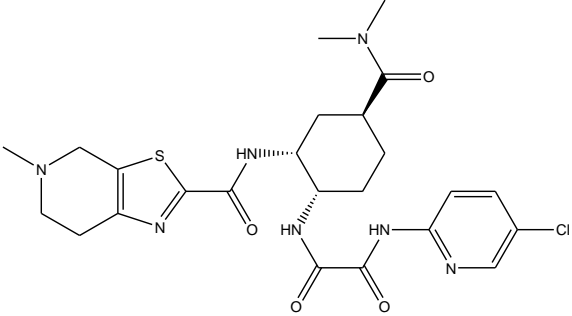
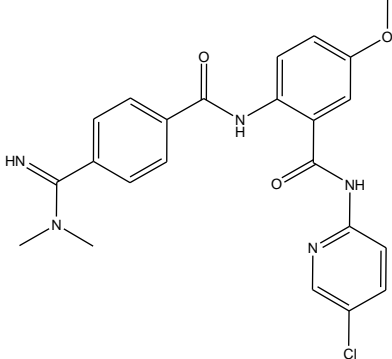
1. Провести молекулярный докинг Ривароксабана, Аписабана, Эдоксабана и Бетриксабана с глюкокиназой.
2. Проанализировать структуру сайта связывания, сравнить характер взаимодействия лигандов с рецептором в аластерическом центре.
3. Определить, какие функциональные группы антикоагулянтов обеспечивают связывание с белком-мишенью.

Материалы и методы. Информация о трехмерной структуре фермента GSK (код белка 4RCH) взята из банка данных 3D структур белков и нуклеиновых кислот Protein Data Bank. Дизайн моделей соединений выполнен с помощью пакета программ ChemOffice. AutoDock 4 использовался для подготовки лигандов к стыковке с рецептором, расчета сетки потенциалов и лиганд-белковых взаимодействий. При стыковке с целью оптимизации процесса в Autodock 4 использовался генетический алгоритм поиска глобального минимума Ламарка (LGA) с числом прогонов 150, размером популяции 200. Программа OpenBabelGUI использовалась в качестве конвертера форматов, требуемых AutoDock 4, PLIP и Protein-Plus. Поиск центров связывания, изучение характера взаимодействий лигандов с рецептором производился при помощи онлайн-серверов PLIP и Protein-Plus.

Результаты и их обсуждение. Структурный анализ показал, что данные соединения имеют сходство со строением экспериментальных лекарственных средств - активаторов глюкокиназы, которая участвует в регуляции метаболизма

глюкозы [3]. ПОАК содержат группы, обеспечивающие эффективное связывание с аминокислотами (АК) аллостерического центра фермента. При этом пространственное строение соединений определяет топологию и энергию взаимодействия с биологической мишенью.

Табл. 1. Лиганды, отобранные для молекулярного моделирования

№	Лиганд
I	Ривароксабан 
II	Апиксабан 
III	Эдоксабан 
IV	Бетриксабан 

При помощи методов молекулярного докинга получены комплексы Ривароксабана, Бетриксабана Апиксабана, Эдоксабана с протеином в аллостерическом центре, который отвечает за действие активаторов глюкокиназы.

Минимальная энергия связывания составила соответственно -9,41 ккал/моль, -12,25 ккал/моль, -13,89 ккал/моль и -15,02 ккал/моль.

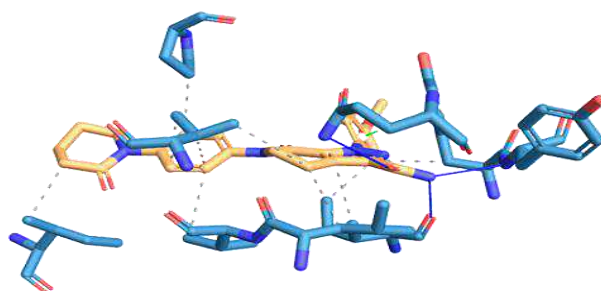


Рис. 2 – Структурный комплекс Ривароксабана с ГК

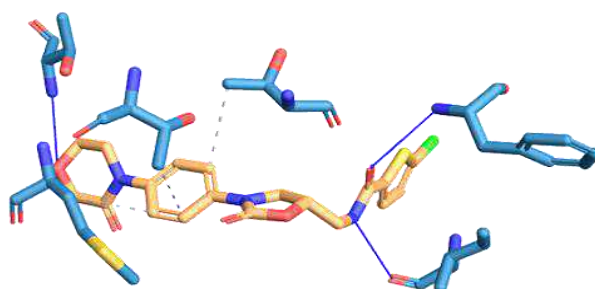


Рис. 3 – Структурный комплекс Апиксабана с ГК

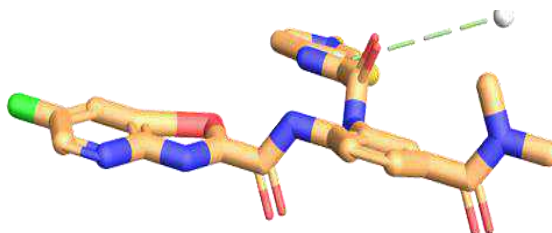


Рис. 4 – Структурный комплекс Эдоксабана с ГК

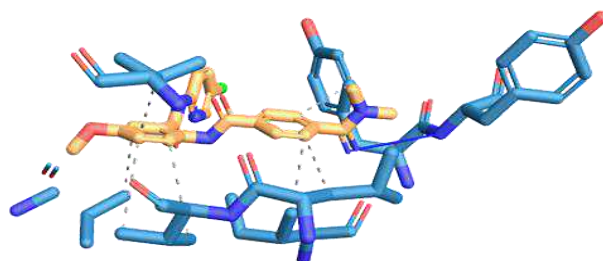


Рис. 5 – Структурный комплекс Бетриксабана с ГК

Результаты исследования *in silico* свидетельствуют о высокой аффинности лигандов к аллостерическому центру глюкокиназы. Для всех исследованных соединений характерны гидрофобные взаимодействия с Leu 451, Ile 211 и Val 455. Также было установлено, что важную роль в связывании Ривароксабана и Апиксабана с рецептором-мишенью играет лактамный фрагмент, взаимодействующий с аминокислотным остатком Arg 63. Помимо этого во всех выбранных лигандах наблюдается стэкинг-взаимодействие с аминокислотой Thr

214. Эти взаимодействия согласуются с результатами предыдущих исследований по дизайну активаторов ГК.

Выводы: результаты исследования свидетельствуют о том, что ПОАК могут служить потенциальными активаторами глюкокиназы. Ксабаны отличаются по химическом строению, но относятся к одной фармацевтической группе по характеру физиологического действия. В процессе исследования мы подтвердили, что ПОАК также взаимодействуют схожим образом с глюкокиназой. Следовательно, выделение данной химико-фармацевтической группы является оправданным.

Расположение мажорных кластеров в пределах аллостерического центра определяет связывание с однотипными аминокислотами. Выявлены инвариантный (Tyr 214, Ile 211, Val 455) и вариативный (Val 62, Leu 451, Pro 66) набор АК остатков, обеспечивающих взаимодействие лигандов с ферментом.

Результаты исследования открывают перспективу их использования для разработки дальнейших протоколов лечения пациентов с повышенным уровнем глюкозы.

Литература

1. Chatterjee T., Col J. P., Maj G. Inherited Factor X (Stuart–Prower Factor) deficiency and its management / T. Chatterjee, J. P. Col, G. Maj [et al] // Med J Armed Forces India. – 2015. – Vol. 71. – P. 184-186. <https://doi.org/10.1016%2Fj.mjafi.2014.01.007>.
2. Dhruvo J. S. Xabans as Direct Factor Xa Inhibitors / J. S. Dhruvo // Journal of Bioanalysis & Biomedicine. – 2015. – Vol. 8. – P. 1-3.
3. Кулебякин, К.Ю., Механизмы транскрипционного контроля обмена глюкозы в печени. / К.Ю. Кулебякин, Ж.А. Акопян, Т.Н. Кочегура, Д.Н. Пеньков // Сахарный диабет. – 2016. – С. 190-198. <https://doi.org/10.14341/DM2003436-40>.
4. Лахвич Ф. Ф., Ринейская О. Н. Исследование *in silico* аффинности ривароксабана к глюкокиназе / Ф. Ф. Лахвич, О. Н. Ринейская // Медицинский журнал. – 2023. – С. 62-66.