

И.А. Комлач

ИССЛЕДОВАНИЕ *IN SILICO* АФФИННОСТИ ЛИНЕЗОЛИДА 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 STUDY OF THE AFFINITY OF LINEZOLID TO GLUCOKINASE

Tutor: PhD, associate professor T.T. Lakhvich

Department of Bioorganic chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. При помощи методов молекулярного докинга изучено *in silico* взаимодействие Линезолида с белком-мишенью – глюкокиназой (ГСК). Полученные результаты свидетельствуют о дополнительном действии антибиотика Линезолида и открывают перспективу разработки новых эффективных лекарственных средств (ЛС) с учётом влияния данного ЛС на уровень глюкозы в крови.

Ключевые слова: аллостерический центр; глюкокиназа; Линезолид; молекулярный докинг.

Resume. The interaction of Linezolid with the target protein - glucokinase (GCK) was studied *in silico* using molecular docking methods. The results obtained indicate the additional effect of the antibiotic Linezolid and open up the prospect of developing the new effective medicines, taking into account the effect of this drug on blood glucose levels.

Keywords: allosteric center; glucokinase; Linezolid; molecular docking.

Актуальность. Линезолид – синтетический антибиотик, применяемый для лечения инфекционных заболеваний, вызванных грамположительными бактериями, которые резистентны к другим антибиотикам. Представитель класса оксазолидинонов Линезолид одобрен для лечения инфекционных заболеваний кожи, мягких тканей, туберкулёза с множественной лекарственной устойчивостью и пневмонии [1].

Структурный анализ показал, что Линезолид имеет сходство со строением экспериментальных ЛС -активаторов глюкокиназы, которая участвует в регуляции метаболизма глюкозы [2]. Линезолид содержит группы, обеспечивающие эффективное связывание с аминокислотами фермента. При этом пространственное строение молекулы обеспечивает ее включение в карманы белка. Следовательно, можно предполагать, что результаты исследования *in silico* аффинности Линезолида к глюкокиназе имеют высокие шансы быть валидизированными в исследованиях *in vitro* и *in vivo*.

Результаты исследования могут быть использованы при курировании пациентов при назначении антибиотиков оксазолидинонового ряда с учетом факторов их влияния на углеводный обмен.

Цель: моделирование и анализ *in silico* эффективности связывания Линезолида с белком-мишенью ГСК для прогнозирования влияния антибиотиков оксазолидинонового ряда на углеводный обмен.

Задачи:

1. Провести молекулярный докинг Линезолида с глюкокиназой.

2. Проанализировать структуру сайта связывания, изучить характер взаимодействия лиганда с рецептором в аллостерическом центре.

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 [3]. Создание структурных формул соединений выполнено с помощью пакета программ ChemOffice. AutoDock 4 использовался для подготовки лигандов к стыковке с рецептором, расчета сетки потенциалов и лиганд-белковых взаимодействий [4]. При стыковке с целью оптимизации процесса в Autodock использовался генетический алгоритм поиска глобального минимума Ламарка (LGA) с числом прогонов 200, размером популяции 300. 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. В структуре молекулы Линезолида, (*S*)-*N*-({3-[3-фторо-4-(морфонил-4-ил)фенил]-2-оксо-1,3-оксазолидин-5-ил} метил)ацетамида, ключевым является *N*-арилоксазолидиноновый фрагмент, который маркирован зеленым цветом. Поэтому линезолид и родственные соединения с антибактериальной активностью известны как оксазолидиноновые антибиотики.

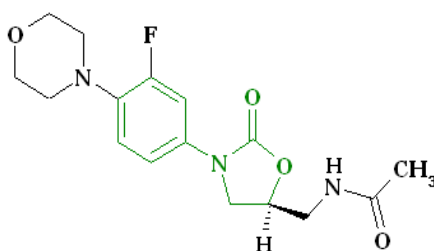


Рис. 1 – Структурная формула Линезолида

Было показано, что для проявления биологической активности Линезолид и родственные ЛС должны содержать арильный фрагмент в оксазолидиноновом цикле. Важную роль играет также конфигурация стереоцентра при С-5. Ароматический фторсодержащий заместитель повышает биодоступность и активность молекулы. Фрагмент морфолина в пара-положении снижает токсичность ЛС [5].

«Слепой» докинг Линезолида к протеину показал возможность взаимодействия лиганда в пределах двух карманов (рис.2), при этом было выделено 24 варианта стыковки из 200 пробегов.

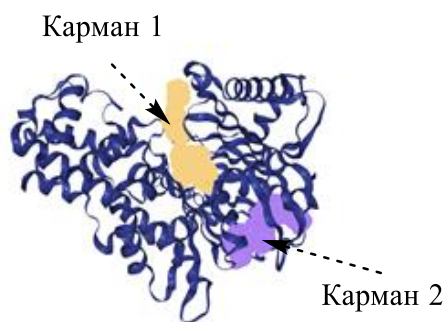


Рис. 2 – Центры связывания глюкокиназы



Рис. 3 – Центр связывания Линезолида с GCK

Минимальное значение энергии связывания Линезолида в пределах аллостерического центра составило - 11,53 ккал/моль. Для дальнейшего анализа были выбраны кластеры с наибольшей аффинностью лиганда к протеину (менее -10 ккал/моль) и с числом пробегов не менее 15 (таблица 1).

Табл. 1. Показатели, характеризующие кластеры докинга Линезолида и глюкокиназы (4RCH) в области аллостерического центра

№	Минимальная Есвяз., ккал/моль	Ki, нМ	Средняя Есвяз., ккал/моль	Число пробегов в пределах кластера
1	-11,53	3,52	-10,91	24
2	-11,34	4,85	-10,80	27
3	-11,23	5,87	-10,48	50
4	-10,83	11,61	-10,51	19
5	-10,62	16,41	-10,31	23

Комплексы с минимальными энергиями были визуализированы и проанализированы в онлайн-сервисах PLIP и Protein-Plus. Данные о взаимодействиях между атомами лиганда и остатками аминокислот (АК) протеина представлена в таблице 2.

Табл. 2. Показатели, характеризующие взаимодействия атомов Линезолида и АК протеина комплекса с минимальной энергией кластеров 1, 2, 3, 4, 5 в центре связывания 2

АК	Тип взаимодействия	Межатомное расстояние, Å				
		Комплекс 1	Комплекс 2	Комплекс 3	Комплекс 4	Комплекс 5
Tyr61	Водородная связь	-	-	-	2,96	-
Val62	Гидрофобное	3,28	3,61	-	-	3,42
Arg63	Водородная связь	3,42	3,59	3,65	3,80	3,33
Pro66	Гидрофобное	3,24	-	3,63	-	-
	Водородная связь	-	-	-	-	2,96
Glu96	Водородная связь	2,72	-	-	-	3,59
Gln98	Гидрофобное	-	3,58	-	3,99	3,33
Pe211	Гидрофобное	3,68	3,20	3,42	3,61	3,55
Tyr214	Гидрофобное	3,90	3,70	-	-	3,43
Tyr215	Гидрофобное	3,29	-	-	3,77	3,32
Leu451	Гидрофобное	3,22	3,88	3,61	3,95	3,86
Val452	Галогеновая	-	2,70	-	-	-
Val455	Гидрофобное	3,81	3,77	3,70	3,40	3,95
Val455	Водородная связь	-	-	3,43	3,49	-
Ala456	Гидрофобное	-	-	3,63	-	-

Следует отметить, что во всех проанализированных кластерах для Линезолида выделяется взаимодействие N-ариллоксазолидинового фрагмента с Tyr 214. Это согласуется с результатами предыдущих исследований по дизайну активаторов GSK различных классов. Так, была показана аффинность фрагментов пиридина [6], имидазола [7] и пиримидина [8] к Tyr 214.

Помимо взаимодействия с Tyr 214, следует отметить взаимодействие фрагментов Линезолида с Arg 63, Val 452 и Val 452, которые также были подтверждены в исследованиях для других активаторов GSK. Аналогичные взаимодействия могут существенно менять топологию всего фермента и обеспечивать активацию GSK за счет блокирования каталитически неактивной супероткрытой конформации.

Выводы: строение Линезолида обеспечивает его высокую аффинность к протеину в области аллостерического центра глюкокиназы.

Полученные результаты открывает возможности для дизайна дальнейших исследования для валидации в экспериментах *in vitro* и *in vivo* и прогнозирования влияния антибиотиков оксазолидинового ряда на углеводный обмен.

Литература

1. Hashemian, SMR. Linezolid: a review of its properties, function, and use in critical care. / SMR Hashemian, M. Farhadi, T. Ganjparvar. // Drug Des. Devel. Ther. – 2018. – Vol. 12. – P. 1759-1767. <https://doi.org/10.2147/dddt.s164515>.

2. 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. – Vol. 8. – P. 190-198. <https://doi.org/10.14341/DM2003436-40>.
3. Berman, H. M. The Protein Data Bank / H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng [et al] // *Nucleic Acids Research*. – 2000. – Vol. 19. – P. 235-242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>.
4. 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. – Vol. 16. – P. 2785-2791. [Электронный ресурс]. Режим доступа <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>.
5. Gregory W. A. Antibacterials. Synthesis and structure-activity studies of 3-aryl-2-охоохазолидинс. // W. A Gregory, D. R. Brittelli, C. L. Wang, H. S. Kezar, / *J Med Chem*. . – 1990. – Vol. 32. – P. 1673-1681. <https://doi.org/10.1021/jm00171a035>.
6. Ronald J. Hinklin. Discovery of 2-Pyridylureas as Glucokinase Activators. *Journal of Medicinal Chemistry* / Ronald J. Hinklin, et al // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2014. – Vol. 57(19), P. 8180-8186. <https://doi.org/10.1021/jm501204z>
7. Kamata K. Structural basis for allosteric regulation of the monomeric allosteric enzyme human glucokinase. // K. Kamata, M. Mitsuya, T. Nishimura, J. Eiki / *Structure*. 2004. – Vol. 12(3). – P. 429-38. <https://doi.org/10.1016/j.str.2004.02.005>
8. Tsumura Y. Disruptions in hepatic glucose metabolism are involved in the diminished efficacy after chronic treatment with glucokinase activator. // Tsumura Y. et. al / 2022. *PLoS ONE* – Vol. 17(3): e0265761. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265761>