

А. Ю. Харлап

**ДИЗАЙН НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ ДИГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ
И ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ СТРУКТУРА-БИОЛОГИЧЕСКАЯ
АКТИВНОСТЬ IN SILICO НА ОСНОВЕ ПЕМЕТРЕКСЕДА**

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

Кафедра биоорганической химии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A. Y. Kharlap

**DESIGN OF NEW DIHYDROFOLATE REDUCTASE INHIBITORS
AND THE STUDY OF DEPENDENCE STRUCTURE-BIOLOGICAL
IN SILICO ACTIVITY BASED ON PEMETREXED**

Tutor: Ph.D. in Chemistry, associate professor T. T. Lakhvich

Department of Bioorganic chemistry,

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В данной работе изучена зависимость структура-ингибирующая активность миметиков пеметрекседа по отношению к дигидрофолатредуктазе при помощи молекулярного докинга.

Ключевые слова: антифолаты, дигидрофолат редуктаза, молекулярный докинг, пеметрексед.

Resume. In this paper, the structure-inhibiting activity of pemetrexed mimetics in relation to dihydrofolate reductase was studied using molecular docking.

Keywords: antifolates, dihydrofolate reductase, molecular docking, pemetrexed.

Актуальность. С 1940-х годов антифолаты играют важную роль в химиотерапии злокачественных, микробных, паразитарных и хронических воспалительных заболеваний. Антипролиферативная активность антифолатов основывается на ингибировании ключевых ферментов в метаболизме фолатов, что ведёт к обрыву биосинтеза пурина и тимидилата, ингибированию репликации ДНК и смерти клетки [1, 2].

При помощи молекулярного моделирования (*in silico*) можно предсказать наиболее выгодную конформацию, при которой образуется устойчивый комплекс рецептор-лиганд, а также основные физико-химические показатели взаимодействия. Это помогает ограничить количество структур для дальнейших испытаний, а также экономит материальные и временные ресурсы.

В данном исследовании была изучена зависимость ингибирующей активности миметиков пеметрекседа по отношению к дигидрофолатредуктазе от природы заместителя *in silico* для последующей разработки новых лекарственных средств.

Цель: изучить зависимость ингибирующей способности антифолатов на основе пеметрекседа от природы и положения заместителя, а также размера сконденсированных друг с другом циклов.

Материал и методы. Дизайн структур выполнен с помощью программ ChemOffice. Структура фермента (PDB ID: 3GHW) взята из банка данных 3D структур Protein Data Bank (PDB). Молекулярный докинг соединений осуществлялся на сервере 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. Перед непосредственно дизайном антифолатов и их докинггом был проведён сравнительный анализ структур пеметрекседа и 5,10-МТНФ. Было выделено три различных участка в строении обеих молекул, которые выделены разными цветами на рисунке 1. Следует также отметить, что в структуре 5,10-МТНФ рядом с пиримидиновым циклом (коричневый) сконденсирован пиперазиновый, содержащий 6 атомов в цикле, а в структуре пеметрекседа — пиррольный, состоящий из 5 атомов.

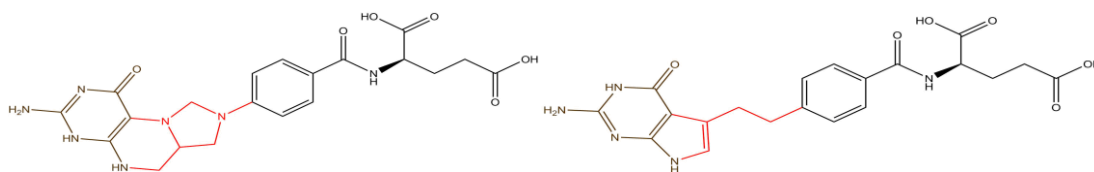


Рис. 1 – Сравнение 5,10-МТНФ (слева) и пеметрекседа (справа)

Кроме того, сравнивались также структуры 5,10-МТНФ и DHF, являющиеся соответственно коферментом и продуктом в реакции, осуществляемой тимидилат синтазой (рисунок 2).

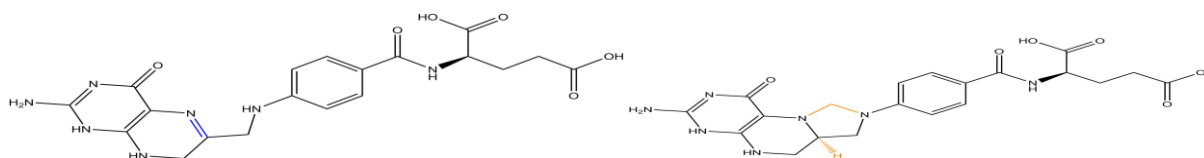


Рис. 2 – Сравнение 5,10-МТНФ (слева) и DHF (справа)

На том основании, что фрагменты, выделенные коричневым и чёрным цветом (далее — связывающие фрагменты) на рисунке 1, химически идентичны, была выдвинута гипотеза, что они отвечают за связывание с дигидрофолат-редуктазой и биологически активную пространственную ориентацию относительно неё. Соответственно, строение фрагмента, выделенного красным (далее — функциональный фрагмент), предположительно обуславливает различия в их свойствах. Важно отметить, что его размеры также важны, так как они непосредственно влияют на длину всей молекулы, а значит и за её возможность к принятию нужной конформации.

Исходя из того, что функциональный фрагмент может иметь различную длину в определённом диапазоне (примерно равному длине 4-6 sp^3 -связей), быть циклическим или алифатическим, были предложены различные заместители. Каждому заместителю был присвоен свой номер от 1 до 29. Так как рядом с пиримидиновым циклом, содержащимся в связывающем фрагменте, как отмечалось ранее, может находиться как шестичленный, так и пятичленный цикл, предлагаемым для докинга структурам присваивался буквенный индекс “a” (шестичленный) или “b” (пятичленный) в зависимости от того, какой цикл содержали они. Также докинг проводился для пяти структур с номерами 30-34, которые представляли собой 5,10-МТНФ, в котором замещалась метиленовая группа, уходящая в ходе биосинтеза, а также для пеметрекседа в качестве эталона сравнения. Всего было проанализировано 97 структур. Результаты, полученные для самого пеметрекседа и лучших результатов (рисунок 3), приведены в таблице 1.



Рис. 3 – Вещества 13b14 (слева) и 13b8 (справа)

Табл. 1. Результаты докинга для пеметрекседа и веществ 15а и 3b

| Вещество | Энергия связывания, ккал/моль | Константа ингибирования |
|-------------|-------------------------------|-------------------------|
| Пеметрексед | -10.01 | 46.36 nM |
| 13b14 | -12.10 | 1.34 nM |
| 13b8 | -12.50 | 688.48 pM |

Как видно из таблицы, вещества 13b14 и 13b8 даже превосходят пеметрексед по значениям энергии связывания и константы ингибирования, что в теории означает, что они должны проявлять более выраженное ингибирующее действие на дигидрофолат-редуктазу. Однако экспериментальные данные *in vitro* и *in vivo* по этому вопросу отсутствуют.

Заключение. Результаты данного исследования говорят о том, что соединения на основе пеметрекседа могут служить потенциальными ингибиторами дигидрофолат-редуктазы. На основании результатов докинга нами были сделаны следующие выводы:

1. соединения, в состав которых входят шестичленные циклы, как правило, имеют большую энергию связывания, чем аналоги, содержащие пятичленные циклы, что, вероятно, связано с большей конформационной лабильностью молекул
2. введение объёмных заместителей по отдельности существенно не сказывается на активности молекулы, однако, при введении нескольких групп наблюдается резкое снижение активности соединения
3. введение электроноакцепторных заместителей снижает энергию связывания и увеличивает константу ингибирования
4. с увеличением энергии связывания, значение константы ингибирования уменьшается;
5. энергия связывания зависит не только от донорно-акцепторных свойств заместителя.

Информация о внедрении результатов исследования. По результатам настоящего исследования опубликовано 2 статьи в сборниках материалов, 1 тезис доклада, получено 2 актов внедрения в образовательный процесс (кафедра биоорганической химии и кафедра общей химии УО «Белорусский государственный медицинский университет»).

Литература

1. National Cancer Institute. Pemetrexed disodium [Электронный ресурс] / National Cancer Institute. — Электрон. дан. — США, 2006. — Режим доступа: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/pemetrexeddisodium> (дата обращения: 10.07.2019).
2. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. Antifolate resistance – Homo sapiens (human) [Электронный ресурс] / Kanehisa Laboratories. — Электрон. дан. — Япония, 2016. — Режим доступа: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/pemetrexeddisodium> (дата обращения: 17.02.2019).