

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ АФФИННОСТИ СВЯЗЫВАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ГЕНТИФИНИБА С РЕЦЕПТОРОМ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА (EGFR)

**Н.А. Лепиков, П.А. Семенович**

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

**Аннотация.** Целью исследования явилась оценка изменений сродства гентифиниба к белку-мишени рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) при наиболее распространенных вариантах одноаминокислотных замен в его структуре для поиска возможных молекулярных механизмов формирования устойчивости к данному препарату. Выявлено, что наиболее распространенные одноаминокислотные замены в EGFR не оказывают существенного негативного влияния на сродство белка к препарату.

**Ключевые слова:** гентифиниб, рецептор эпидермального фактора роста, аффинность, гомологичное моделирование, рак легкого.

## USE OF MOLECULAR MODELING METHODS TO EVALUATE THE BINDING AFFINITY OF THE ANTITUMOR DRUG GENTIFINIB WITH THE EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR (EGFR)

**N.A. Lepikov, P.A. Semenovich**

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

**Summary.** The aim of the study was to evaluate changes in the affinity of gentifinib for the target protein of the epidermal growth factor receptor (EGFR) with the most common variants of single amino acid substitutions in its structure in order to search for possible molecular mechanisms for the formation of resistance to this drug. It was found that the most common single amino acid substitutions in EGFR do not have a significant negative effect on the affinity of the protein to the drug.

**Keywords:** gentifinib, epidermal growth factor receptor, affinity, homology modeling, lung cancer.

**Введение.** Рак легкого остается ведущей причиной смертности от рака среди мужчин и женщин в развитых странах мира [1]. На долю рака легкого ежегодно приходится около 2 млн диагнозов и 1,8 млн смертей [2]. Новообразование легких является вторым по частоте онкологическим диагнозом у мужчин и женщин (после рака предстательной железы и молочной железы соответственно) [2]. С расширением доступа к табаку и индустриализацией в развивающихся странах заболеваемость раком легких растет во всем мире. Средний возраст постановки диагноза – 70 лет [3]. У мужчин в два раза чаще диагностируют рак легких, что в значительной степени отражает различия в потреблении табака, хотя женщины могут быть более восприимчивы из-за более высокой доли мутаций рецепторов эпидермального фактора роста и эффектов эстрогена [2].

Рак легкого делится на два широких гистологических класса, которые растут и распространяются по-разному: мелкоклеточный рак легкого (МРЛ) и немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) [1]. Большинство из них (85 %) приходится на НМРЛ [4].

Варианты лечения рака легких включают хирургическое вмешательство, лучевую терапию, химиотерапию и таргетную терапию. Одним из наиболее эффективных подходов к терапии данного заболевания является применение химиотерапевтических препаратов [5]. Одним из таких препаратов является гентифиниб, в основе механизма действия которого лежит взаимодействие с рецептором эпидермального фактора роста (EGFR), участника туморогенеза [6]. Гефитиниб представляет собой низкомолекулярный ингибитор тирозинкиназы рецептора EGFR. Эффективность гефитиниба у пациентов отличается [7]. Предполагается, что EGFR в клетках опухоли подвергается мутационной изменчивости, что влияет на его связывание с препаратом [7]. Известно, что аминокислотная последовательность определяет все ключевые свойства белковой молекулы. Ее изменения, как генеративные, так и соматические в определенной клеточной линии злокачественных новообразований, приводят к изменению структуры активных центров и участков связывания препаратов, что потенциально может изменить течение и исходы химиотерапевтического лечения.

Таким образом, представляет интерес проведение оценки изменения средства противоопухолевого препарата гентифиниба к белку-мишени EGFR при наиболее распространенных вариантах одно аминокислотных замен в его структуре для поиска возможных молекулярных механизмов формирования устойчивости к данному препарату.

**Цель исследования.** Оценить изменение средства противоопухолевого препарата гентифиниба к белку-мишени EGFR при наиболее распространенных вариантах одноаминокислотных замен в его структуре для поиска возможных молекулярных механизмов формирования устойчивости к данному препарату.

**Материалы и методы.** В работе использовались методы гомологичного моделирования структуры мутантного белка при помощи программного обеспечения MODELLER (США) с последующим докингем спроектированных трехмерных структур. Создание мутантных аминокислотных последовательностей осуществлялось в ки-назном домене EGFR с последующей обработкой при помощи программного кода на основе языка программирования Python. Подготовка полученных гипотетических структурных моделей проводилась с помощью AutoDock Tools и PyMol. Докинг осуществлялся в AutoDock Vina.

Мутантные аминокислотные последовательности создавались на основе ки-назного домена EGFR дикого типа (PDB:3POZ), отделенного от лигандов и низкомолекулярных соединений при помощи PyMol. Отбор мутаций осуществлялся из базы данных COSMICv95. Молекула была подобрана в открытой базе данных химических соединений PubChem с последующей обработкой в OpenBabel.

**Результаты и обсуждение.** На основании гомологичного моделирования было получено 9 трехмерных структур одно аминокислотных замен EGFR. В ходе докинга данных белков с молекулой гентифиниба были получены конформации белка-лиганда с наиболее отрицательными значениями изменения свободной энергии Гиббса (таблица).

Изменение свободной энергии Гиббса при связывании вариантов EGFR с гентифинибом

Мутация	Максимальное изменение энергии Гиббса	Минимальное значение энергии Гиббса	Среднее значение энергии Гиббса
Дикий тип	-8,5	17,6	-7,94
T790M	-8,1	-7,5	-7,78
L858R	-7,9	-7,0	-7,3
G719A	-8,6	-8,0	-8,33
G719C	-9,1	-7,5	-8,188
G719D	-8,6	-6,8	-7,488
G179S	-8,8	-7,4	-8,122
L861Q	-8,1	-6,9	-7,355
L861R	-8,7	-7,4	-7,944

На основании полученных данных был составлен график изменения свободной энергии Гиббса при связывании молекулы гентифиниба с различными вариантами EGFR (рисунок).

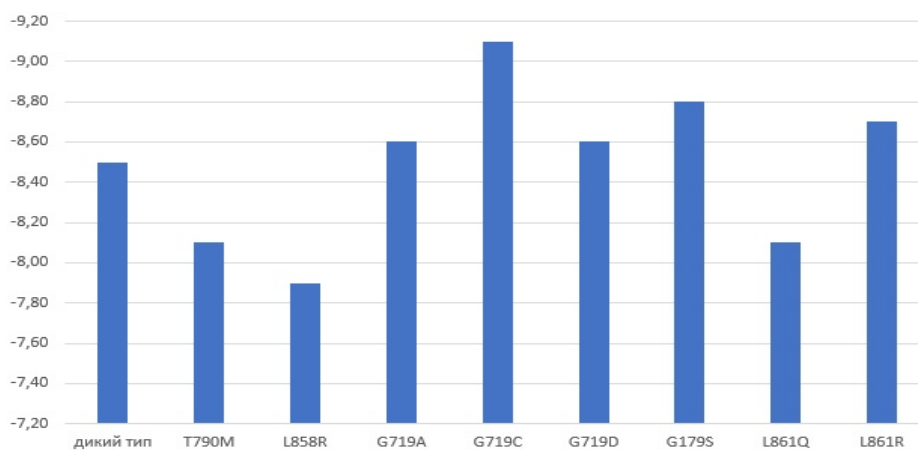


Рис. 1. Диаграмма максимального изменения свободной энергии Гиббса при связывании различных вариантов EGFR с гентифинибом

В дальнейшем полученные данные были сопоставлены с имеющейся информацией в научной литературе по устойчивости данных мутаций к ингибиторам протеинкиназ, в частности гентифинибу.

В ходе докинга молекул вариантов EGFR с гентифинибом средние, минимальные и максимальные значения изменения свободной энергии Гиббса незначительно отлича-

лись от результатов докинга белка дикого типа. Однако данный вариант аминокислотных замен EGFR в научной литературе известен как вызывающий резистентность клеток плоскоклеточного рака легкого к гентифинибу.

На основании этих данных нами было выдвинуто предположение о вероятной причине расхождения данных докинга и литературы. Мы провели второй раунд докинга, используя АТР – конкурентный субстрат за активный центр киназного домена EGFR с гентифинибом. Было показано, что Т790М имеет на 11 % большее сродство к АТФ, чем молекула дикого типа.

**Заключение.** По результатам проведенного исследования можно сделать следующие выводы: большинство наиболее распространенных одно аминокислотных замен в EGFR не оказывают существенного негативного влияния на сродство белка к препарату; мутации группы G719 повышает сродство к гентифинибу; мутация рецептора Т790М сопровождается снижением его сродства к гентифинибу; механизм такого взаимодействия, согласно полученным нами данным, заключается в повышенном связывании рецептором АТФ. Последний конкурирует с гентифинибом за центр связывания в EGFR.

### Список литературы

1. Lung cancer: Biology and treatment options / H. Lemjabbar-Alaoui [et al.] // *Biochim Biophys Acta*. – 2015. – Vol. 1856, no. 2. – P. 189–210.
2. Epidemiology of lung cancer / K.C. Thandra [et al.] // *Contemp Oncol (Pozn)*. – 2021. – Vol. 25, no. 1. – P. 45–52.
3. Sharma R. Mapping of global, regional and national incidence, mortality and mortality-to-incidence ratio of lung cancer in 2020 and 2050 // *Int. J. Clin. Oncol*. – 2022. – Vol. 27, no. 4. – P. 665–675.
4. Abandoning the Notion of Non-Small Cell Lung Cancer / V. Relli [et al.] // *Trends Mol Med*. – 2019. – Vol. 25, no. 7. – P. 585–594.
5. Mithoowani H., Febbraro M. Non-Small-Cell Lung Cancer in 2022: A Review for General Practitioners in Oncology // *Curr. Oncol*. – 2022. – Vol. 29, no. 3. – P. 1828–1839.
6. The Role of Gefitinib in Patients with Non-small-cell Lung Cancer in India / A.A. Mehta [et al.] // *Indian J. Palliat. Care*. – 2013. – Vol. 19, no. 1. – P. 48–53.
7. Gefitinib as first-line treatment for patients with advanced non-small-cell lung cancer with activating epidermal growth factor receptor mutation: Review of the evidence / C. Gridelli [et al.] // *Lung Cancer*. – 2011. – Vol. 71, no. 3. – P. 249–257.