

П.Д. Янчук
ДИЗАЙН И МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ
N-(4-СУЛЬФАМОИЛФЕНИЛ) ГЛЮКОНАМИДА КАК
ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА
Научные руководители: канд. хим. наук, доц. Ф.Ф. Лахвич,
преп.-стажёр М.И. Чернова
Кафедра общей химии
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

P.D. Yanchuk
DESIGN AND MOLECULAR MODELING OF N-(4-SULFAMOYLPHENYL)
GLUCONAMIDE AS A WATER-SOLUBLE PHARMACEUTICAL FORM
Tutors: PhD, associate professor T.T. Lakhvich, junior lecturer M.I. Chernova
Department of General Chemistry
Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Разработана методика синтеза глюконамида стрептоцида как водорастворимого аналога на основе смещения равновесия в системе осадок–раствор. Контроль процесса проводили методом тонкослойной хроматографии. Исследование *in silico* показало высокую аффинность коньюгата к биологическим мишениям – β -кетоацил[ACP]синтазы I и дегидроптератсинтазе(DHPS).

Ключевые слова: глюконамид, стрептоцид, методика синтеза, антибактериальное лекарственное средство.

Resume. A method for the synthesis of streptocide gluconamide as a water-soluble analog has been developed, based on equilibrium shift in the precipitate–solution system. The process was monitored using thin-layer chromatography. An *in silico* study demonstrated high affinity of the conjugate for biological targets— β -ketoacyl-[ACP] synthase I and dihydropteroate synthase (DHPS).

Keywords: gluconamide, streptocide, synthesis method, antibacterial pharmaceutical agent.

Актуальность. Дизайн и разработка методов получения водорастворимых аналогов биологически активных соединений представляет собой одно из перспективных направлений в области фармацевтической химии, а также в модификации существующих фармацевтических форм. Одним из эффективных путей повышения растворимости является введение углеводного фрагмента в структуру действующего вещества. В данной работе предложен препаративный метод получения глюконамида на основе стрептоцида (далее ГАС). Актуальность получения данного вещества подтверждена в эксперименте *in silico* по отношению к биологическим мишениям, ответственным за общее антибактериальное действие сульфаниламидов и специфическое действие ингибиторов биосинтеза жирных кислот клеточной стенки *Mycobacterium tuberculosis*.

Цель: разработка и оптимизация препаративного синтеза растворимой формы стрептоцида путем перевода его в глюконамидный коньюгат и изучение его аффинности в эксперименте *in silico*.

Задачи:

1. Разработка методики синтеза.
2. Изучение аффинности ГАС в эксперименте *in silico*.

Материалы и методы. В качестве рецептора был выбран энзим МТВ-KasA. Молекулярный докинг *in silico* осуществлен с помощью программы AutoDock. Реактивы и растворители, используемые в работе, имели квалификацию «ч», «ч.д.а.», «х.ч.» и перед введением в реакцию подвергались перегонке или кристаллизации.

Результаты и их обсуждение. Ранее конъюгаты на основе глюконовой кислоты были получены в результате взаимодействия соответствующих аминов и глюконолактона [1]. В данной работе была поставлена цель предложить препаративный метод получения на основе дешевого и доступного сырья – кальция глюконата – на основе стратегии смещения равновесия в системе растворенное вещество-осадок при добавлении щавелевой кислоты (Рис. 1).

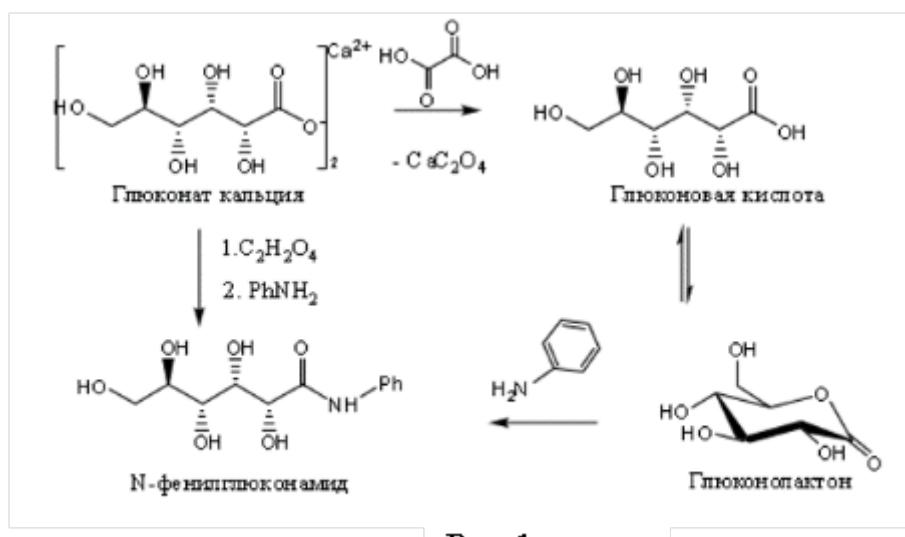


Рис.1

Рис. 1 – Взаимодействия соответствующих аминов и глюконолактона

0,87 г кальция глюконата и 0,2 г щавелевой кислоты дигидрата растворили в 30 мл дистиллированной воды. К полученному раствору при постоянном перемешивании добавили 0,7 г стрептоцида. Ход процесса контролировали методом ТСХ (система р-лей).

Известно, что сульфаниламиды обладают широким спектром противомикробного действия. Механизм действия связан с конкурентным антагонизмом с пара-аминобензойной кислотой и конкурентным угнетением фермента дигидроптероатсинтетазы. Это приводит к нарушению синтеза дигидрофолиевой кислоты, а затем тетрагидрофолевой кислоты и в результате – к нарушению синтеза нуклеиновых кислот. ГАС является не только сульфаниламидом, но также и альдонамидом. Известно, что альдонамиды используются в качестве ингибитора синтеза миколовых кислот для лечения туберкулеза. Механизм действия противотуберкулезных средств (Рис. 2):

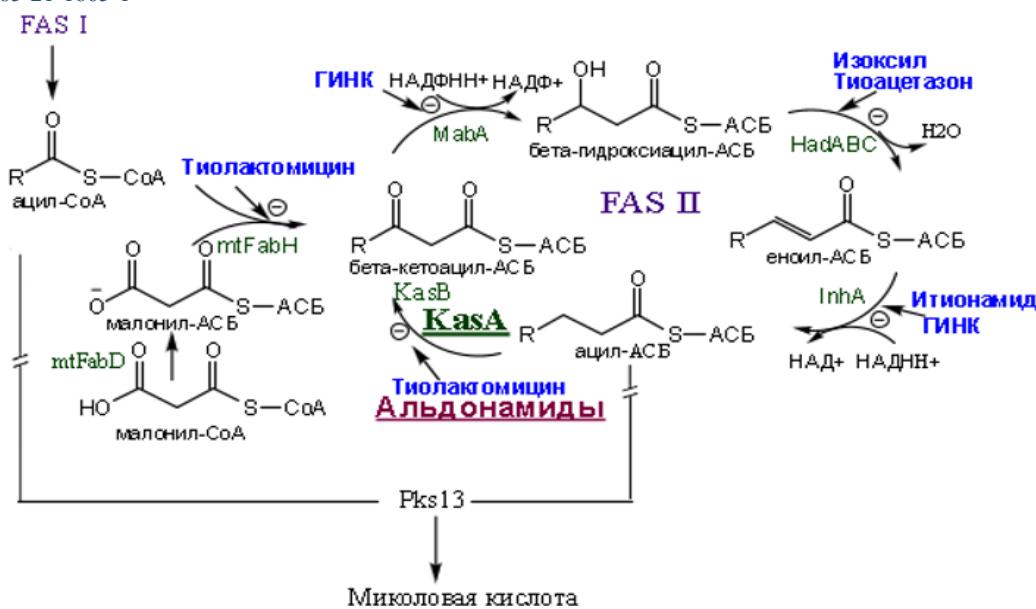


Рис. 2 – Механизм действия противотуберкулезных средств.

- 1.Нарушение образования клеточной стенки.
- 2.Нарушение синтеза белка (Аминогликозиды, Линезолид).
- 3.Нарушение синтеза нуклеиновых кислот (Рифампицин, Фторхинолоны).

Полученные результаты докинга показали, что глюконамид стрептоцида способен стабильно связываться с активным центром DHPS (1AD1). Лиганд располагается в области, близкой к р-аминосалициловой части активного центра, характерной для связывания обычных сульфонамидных антибиотиков. Главными мотивами связывания являются водородные связи между сульфонильной группой лиганда и донорными остатками DHPS (например, позитивно заряженным остатком Arg или полярными остатками His/Glu в окрестности РАВА-сайта), а также ароматическое кольцо лиганда располагается в гидрофобном кармане фермента. Полученная энергия связывания (ΔG) оказалась порядка $-7\ldots-8$ ккал/моль. Это согласуется с литературными данными: например, при докинге других производных сульфонамидов к DHPS сообщалось о $\Delta G \approx -8.1$ ккал/моль. Подобные значения (-7.2 и -6.9 ккал/моль) наблюдались и в других докинговых моделях DHPS. Таким образом, прогнозированное средство глюконамида стрептоцида к DHPS сопоставимо с эффективными ингибиторами фолатного пути. Высокая отрицательность ΔG и плотные контакты (несколько водородных связей и внековалентных взаимодействий) указывают на потенциально сильное связывание в активном центре DHPS.

В случае β -кетоацил-[ACP]-синтазы I глюконамид стрептоцида занял каталитический карман, хотя его структура отличается от естественного ацильного субстрата фермента. Лиганд образует водородные связи через гидроксили глюкозного фрагмента и аминогруппу с полярными остатками вблизи каталитического цистеина (например, с ближайшими гистидинами или аспартатами), а его ароматический сульфонил-фрагмент плотно упаковывается среди гидрофобных остатков кармана (алилиновые, фенилаланиновые боковые цепи). Такие

взаимодействия (водородные связи + гидрофобные в ван-дер-Ваальсовом диапазоне) стабилизируют комплекс, но их суммарная энергия связывания получилась несколько меньшей – порядка $-6\ldots-7$ ккал/моль. Таким образом, сродство лиганда к KAS I оказалось чуть ниже, чем к DHPS, что может отражать менее оптимальную подгонку лиганда в кармане этого фермента. Тем не менее даже комплекс с KAS I демонстрирует устойчивое связывание через ключевые контакты, что теоретически может способствовать вторичному механизму противобактериального действия (на пути синтеза жирных кислот). В совокупности результаты *in silico* указывают на то, что новый глюконамид стрептоцида эффективно взаимодействует с дигидроптероатсинтетазой (DHPS) – одной из известных мишней сульфонамидов – при этом комплексирование с KAS I тоже возможно, хотя менее выражено. Полученные энергии связывания и характер межмолекулярных контактов хорошо соотносятся с литературными примерами ($\Delta G \approx -6\ldots-8$ ккал/моль для подобных лигандов). Это позволяет предположить, что молекулярный докинг обоснованно прогнозирует способность глюконамида стрептоцида ингибировать DHPS и, возможно, нарушать синтез жирных кислот через KAS I.

Выводы:

1. Доказана высокая аффинность полученного лекарственного средства с классической и специфической мишенью в эксперименте *in silico*.
2. Разработана методика синтеза водорастворимой формы стрептоцида.

Литература

1. Reis, M. I. P. Synthesis and evaluation of D-gluconamides as green mineral scales / M. I. P. Reis [et al.] // Carbohydr. Res. – 2012. – Vol. 353. – P. 6–12. – DOI: 10.1016/j.carres.2012.01.027.
2. Saleem, H. Design, Synthesis, Characterization and Computational Docking Studies of Novel Sulfonamide Derivatives / H. Saleem [et al.] // EXCLI J. – 2018. – Vol. 17. – P. 169–180. – DOI: 10.17179/excli2017-886.
3. Morris, G. M. Using AutoDock for ligand-receptor docking / G. M. Morris, R. Huey, A. J. Olson // Curr. Protoc. Bioinform. – 2008. – Ch. 8, Unit 8.14. – P. 8.14.1–8.14.40. – DOI: 10.1002/0471250953.bi0814s24.