

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ И ПРОГНОЗ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРОИЗВОДНЫХ 2-АЗЕТИДИНОНА

Ринейская О.Н.

Ринейская О.Н.

*Кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г.Минск, Беларусь
ryneiskaya@mail.ru*

Исследование посвящено разработке и анализу новых производных 2-азетидинона (эзетимиба), способных связываться с белком-транспортером холестерина NPC1L1. Методами молекулярного моделирования установлено, что наиболее высокой аффинностью (до -12,2 ккал/моль) обладают структуры с компактными заместителями и гетероциклическими фрагментами. Анализ при помощи SwissADME подтвердил благоприятный фармакокинетический профиль большинства соединений: они характеризуются высокой абсорбцией в желудочно-кишечном тракте, оптимальной липофильностью и соответствием правилам биодоступности. Несмотря на выявленную способность ряда производных взаимодействовать с изоферментами CYP1A2, CYP2C19 и CYP2C9, отсутствие ингибирования ключевых цитохромов CYP2D6 и CYP3A4 указывает на низкую вероятность критических взаимодействий между лекарственными средствами, что позволяет считать отобранные соединения перспективными для дальнейшей оптимизации и доклинических испытаний.

Ключевые слова: 2-азетидинон, молекулярный докинг, NPC1L1, SwissADME, фармакокинетика, эзетимиб.

MOLECULAR DOCKING AND PREDICTION OF BIOPHARMACEUTICAL PROPERTIES OF 2-AZETIDINONE DERIVATIVES

Ryneiskaya O.N.

*MD, PhD, Associate Professor of Department of General Chemistry
of educational Institution "Belarusian State Medical University",
Minsk, Belarus
ryneiskaya@mail.ru*

The study focused on the development and analysis of new 2-azetidinone (ezetimibe) derivatives capable of binding to the cholesterol transporter protein NPC1L1. Molecular modeling revealed that structures with compact substituents and heterocyclic fragments exhibited the highest affinity (up to -12.2 kcal/mol). SwissADME analysis confirmed the favorable pharmacokinetic profile of most compounds: they are characterized by high absorption in the gastrointestinal tract, optimal lipophilicity, and compliance with bioavailability guidelines. Despite the identified ability of several derivatives to interact with the CYP1A2, CYP2C19, and CYP2C9 isoenzymes, the lack of

inhibition of key cytochromes CYP2D6 and CYP3A4 indicates a low probability of critical drug-drug interactions, suggesting that the selected compounds are promising for further optimization and preclinical testing.

Key words: 2-azetidinone, NPC1L1, molecular docking, SwissADME, ezetimibe, pharmacokinetics.

Актуальность. Коррекция нарушений липидного обмена представляет собой приоритетную задачу здравоохранения Республики Беларусь ввиду взаимосвязи между уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) и риском развития сердечно-сосудистых осложнений [1]. Современные терапевтические стратегии ориентированы на достижение целевых концентраций ХС-ЛПНП, однако широкое применение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы ограничено феноменом статин-резистентности и развитием побочных эффектов у значительной группы пациентов [2,3]. Данные обстоятельства обуславливают необходимость внедрения комбинированных схем терапии, направленных на ингибирование абсорбции экзогенного холестерина.

Ключевой мишенью для фармакологической модуляции в данном контексте является трансмембранный белок энтероцитов Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1), обеспечивающий транспорт холестерина в клетки из просвета кишечника [4]. На текущий момент лекарственное средство эзетимиб остается единственным селективным ингибитором NPC1L1, используемым в клинической практике. Тем не менее, актуальность поиска новых производных 2-азетидинона сохраняется ввиду необходимости повышения аффинности к целевому белку и оптимизации фармакокинетических параметров соединений [5,6]. Известно, что эзетимиб быстро всасывается в кишечнике, подвергается глюкуронизации и способен как в свободном состоянии, так и в виде глюкуронида блокировать мишень. Это позволяет препарату и его метаболиту многократно воздействовать на NPC1L1 энтероцита, минимизируя воздействие на другие органы [7].

Применение методов молекулярного моделирования в разработке инновационных гиполипидемических агентов позволяет идентифицировать ключевые структурные детерминанты, обеспечивающие комплементарность лигандов к связывающему карману NPC1L1, что существенно повышает эффективность дизайна высокоспецифичных молекул с заданными терапевтическими характеристиками. Завершение этапа молекулярного моделирования и докинга требует верификации отобранных молекул с точки зрения их биодоступности других фармакокинетических параметров, что является определяющим для подтверждения теоретической возможности применения моделируемых соединений качестве эффективных лекарственных препаратов.

Целью работы является *in silico* дизайн новых производных эзетимиба и комплексная оценка их сродства к белку NPC1L1 методом молекулярного докинга с последующим прогнозированием фармакокинетических параметров и биодоступности полученных соединений.

Материалы и методы. Подготовка структурных моделей новых лигандов выполнялась в программной среде ChemOffice (модуль ChemDraw). Для корректной пространственной конфигурации молекул проведена оптимизация геометрии

с минимизацией энергии методами молекулярной механики до достижения градиента сходимости $<0,01$ ккал/(моль·Å) в приложении Chem 3D. В качестве биологической мишени выбрана кристаллографическая структура транспортного белка NPC1L1 (PDB ID: 7DFZ), депонированная в Protein Data Bank. Препроцессинг макромолекулы, включающий удаление молекул растворителя и нативных лигандов, достройку атомов водорода и расчет парциальных зарядов и молекулярный докинг осуществлялся в среде UCSF Chimera. Оценка аффинности комплексов «белок-лиганд» проводилась по значениям расчетной свободной энергии связывания (ΔG , ккал/моль). Топология активного центра и характер межмолекулярных взаимодействий (водородные связи, гидрофобные и π -контакты) верифицировались с помощью сервисов Proteins Plus и PLIP. Финальная визуализация и графический анализ полученных моделей выполнены в программе PyMOL. Прогнозирование фармакокинетических параметров и оценка «лекарственноподобности» (drug-likeness) разработанных соединений осуществлялись с помощью веб-ресурса SwissADME [8]. Анализ включал расчет ключевых физико-химических параметров, таких как молекулярная масса, количество связей, вокруг которых возможно вращение, молекулярная рефракция, коэффициент распределения в системе октанол-вода (LogP), растворимость в воде (LogS), количество акцепторов и доноров водородных связей, топологическая полярная площадь поверхности (TPSA).

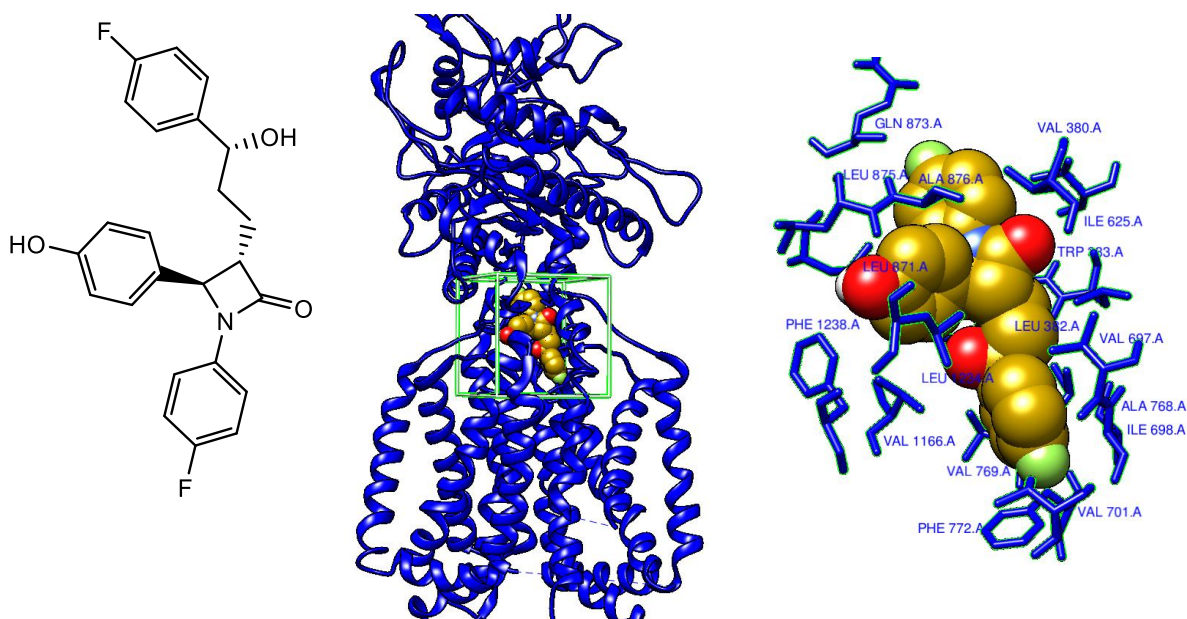


Рис. 1. Структурная формула эзетимиба и молекулярное моделирование его с белком-мишенью NPC1L1-EZE (Chimera)

Оценка соответствия структур критериям пероральной биодоступности проводилась на основании правил Lipinski и др.). Дополнительно анализировался профиль всасывания в желудочно-кишечном тракте (GI-абсорбция) и способность к проникновению через гематоэнцефалический барьер (модель BOILED-Egg), а также взаимодействие с Р-гликопротеином и основными изоформами цитохрома P450 для оценки потенциальных межлекарственных взаимодействий.

Результаты и их обсуждение. Полученный из базы данных комплекс белка-мишени и эзетимиба был проанализирован при помощи средств визуализации Proteins Plus и PLIP, что позволило выявить наиболее важные аминокислоты, участвующие в связывании лиганда (в радиусе 5 Å).

Полученные результаты позволили рассчитать центр области направленного молекулярного докинга, координаты которого составили $x=173,14$; $y=175,89$; $z=185,22$ с размером ячейки $20 \times 20 \times 20$ Å (рис. 1).

Эзетимиб представляет собой производное 2-азетидиона, выполняющего роль жесткого каркаса (рис. 1). Фармакологическая активность соединения обусловлена наличием двух фторфенольных колец, способствующих устойчивости к метаболическому окислению, и алифатической и фенольной гидроксильными группами. Соединение хирально: конфигурация атомов $3R$ и $4S$ обеспечивает комплементарность активному центру мишени.

На рисунке 1 также представлен результат трехмерной реконструкции комплекса эзетимиб-NPC1L1 в программе Chimera (комплекс получен в результате докинга). Белок представлен в виде α -спиральных участков, формирующих надмембранную часть и трансмембранный канал, где расположен лиганд в рамках области молекулярного докинга (ограничена кубом с зелеными ребрами).

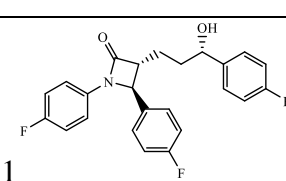
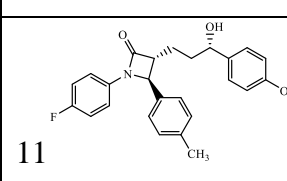
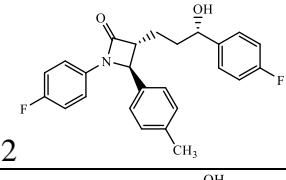
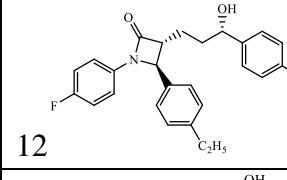
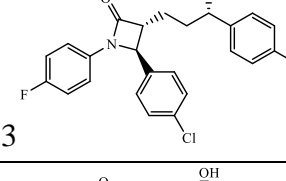
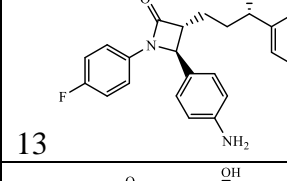
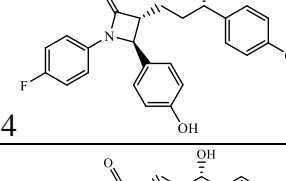
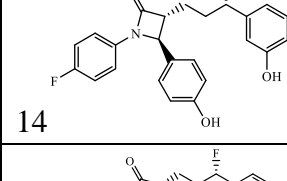
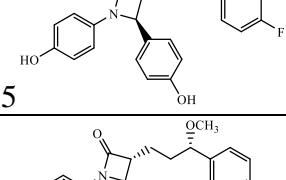
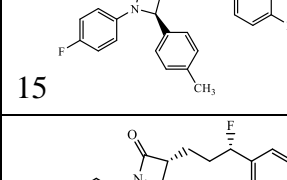
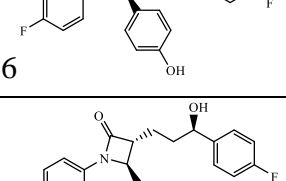
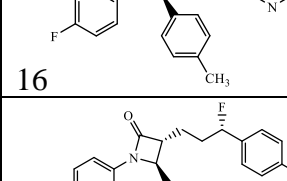
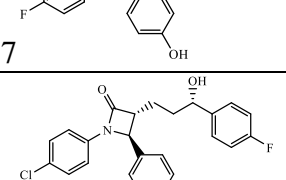
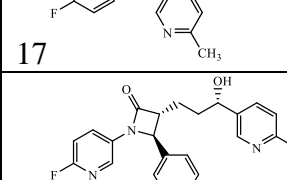
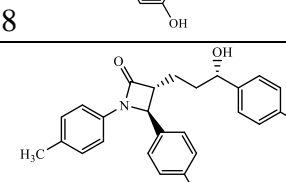
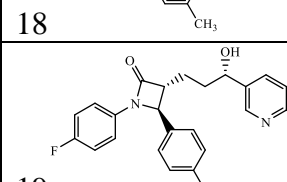
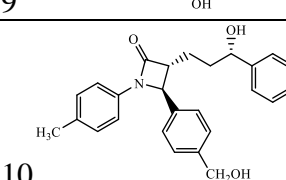
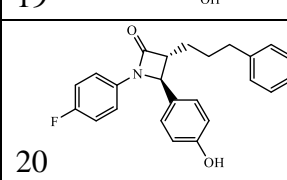


Визуальный анализ подтверждает высокую степень стерического соответствия, удерживаясь за счет гидрофобных взаимодействий ароматических колец с неполярными аминокислотными остатками. Расчетная энергия связывания составила -12.11 ккал/моль, что свидетельствует о формировании термодинамически стабильного комплекса и подтверждает высокую аффинность эзетимиба к данному центру связывания.

При помощи ChemOffice произведено проектирование 20-ти структур, являющихся производными эзетимиба, полученными путем введения или замещения функциональных групп в фенольных кольцах и боковой алифатической цепи (Таблица 1).

Анализ результатов молекулярного докинга показал, что наиболее высокой аффинностью к мишени NPC1L1 обладают соединения с компактными электроотрицательными заместителями (F, Cl) или метильными группами, в то время как введение объемных (метокси-) или полярных (ОН-групп в определенных позициях) заместителей снижает сродство из-за стерических препятствий.

Оптимальный результат (-11,8...-12,2 ккал/моль) достигается при использовании карбоциклических фрагментов или пиридинового цикла, способного образовывать дополнительные водородные связи. При этом этильные заместители (соед. 12) оказались неэффективными.

Характеристики взаимодействия (энергия связывания, ΔG) производных эзетемба с рецептором

Формула	ΔG , ккал/моль	Формула	ΔG , ккал/моль
 1	-11,6	 11	-11,1
 2	-11,6	 12	-9,7
 3	-11,8	 13	-10,5
 4	-11,5	 14	-11,1
 5	-10,8	 15	-12,2
 6	-10,4	 16	-11,9
 7	-11,4	 17	-11,7
 8	-11,3	 18	-11,8
 9	-11,3	 19	-10,8
 10	-11,2	 20	-11,5

Все перспективные производные сохраняют единый способ ориентации в активном центре и стабилизируются за счет прочных гидрофобных контактов, что подтверждает их потенциал в качестве гиполипидемических агентов.

Результаты анализа в SwissADME подтверждают высокую перспективность отобранных соединений, демонстрируя их соответствие ключевым критериям фармацевтической разработки. Большинство исследуемых производных характеризуются высокой желудочно-кишечной абсорбцией и оптимальной липофильностью (показатели $\text{Log } P$) в диапазоне 3.3–5.0), что напрямую коррелирует с ранее установленной способностью молекул образовывать устойчивые гидрофобные контакты в активном центре белка NPC1L1. Несмотря на то что некоторые соединения (например, соед. 14) могут быть субстратами Р-гликопротеина, что теоретически ограничивает их накопление, их высокие значения аффинности и сохранение единого способа ориентации в сайте связывания перевешивают этот фактор. Отсутствие ингибирования большинства изоферментов цитохрома Р450 (в частности, CYP2D6 и CYP3A4 для многих позиций) указывает на низкий риск межлекарственных взаимодействий. Таким образом, сочетание высокого расчетного сродства к мишени с благоприятными фармакокинетическими профилями и приемлемой синтетической доступностью обосновывает выбор этих структур как надежных кандидатов для дальнейшей оптимизации и разработки новых гиполипидемических средств.

Заключение. Проведенное комплексное исследование позволило установить, что модификация структуры эзетимиба путем введения атомов фтора и азотсодержащих гетероциклических фрагментов (пиридинового цикла) способствует достижению оптимальной комплементарности к сайту связывания NPC1L1, что подтверждается высокими значениями расчетной энергии аффинности (до -12,2 ккал/моль). Согласно данным прогностического моделирования ADME, соединения-лидеры (в частности, 15, 16 и 18) характеризуются сбалансированными физико-химическими параметрами, высокой желудочно-кишечной абсорбцией и приемлемым профилем метаболической стабильности в отношении основных изоферментов цитохрома Р450. Совокупность полученных результатов обосновывает перспективность данных структур как фундамента для направленного синтеза и последующих биологических испытаний новых высокоэффективных гиполипидемических агентов.

Список литературы

1. Статкевич Т.В. современные подходы к диагностике и лечению дислипидемий: фокус на новын клинические рекомендации/ Т.В. Статкевич, М.С. Денисевич, И.П. Патеюк // Кардиология в Беларуси. – 2023.– Т.15.– №4 – С. 452-465.
2. Mach, F. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk / F. Mach, C. Baigent, A. L. Catapano // European Heart Journal. – 2020. – Vol. 41, № 1. – P. 111–188.
3. Zhang, Y. Structural insights into the inhibition of NPC1L1 by ezetimibe / Y. Zhang, L. Ge, X. Huang // Nature Communications. – 2022. – Vol. 13, № 1. – Art. 3456.
4. Bhardwaj, S. NPC1L1: A Systemic Review on Intestinal Cholesterol Absorption and its Inhibition / S. Bhardwaj, K. K. Garg, P. Kumar [et al.] // Current Cardiology Reviews. – 2021. – Vol. 17, № 2. – P. 150–161.

5. Global, P. Recent advances in the discovery of NPC1L1 inhibitors as hypolipidemic agents / P. Global, S. Kumar, R. Singh // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2023. – Vol. 258. – Art. 115598.

6. Тюрина, Е. П. Молекулярный докинг как метод поиска новых лекарственных веществ / Е. П. Тюрина, А. В. Соколов // *Фармация и фармакология*. – 2021. – Т. 9, № 3. – С. 164–175.

7. Soulele, K. On the population pharmacokinetics and the enterohepatic recirculation of total ezetimibe / K. Soulele, V. Karalis // *Xenobiotica*. – 2019. – Vol. 49, № 3. – P. 320–330.

8. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules [Electronic resource] / Swiss Institute of Bioinformatics. – 2024. – Mode of access: swissadme.ch. – Date of access: 07.05.2024.