

**ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ АКТИВНОГО ЦЕНТРА
КАРБАПЕНЕМАЗЫ ОХА-23: ПРЕДПОСЫЛКИ К РАЗРАБОТКЕ НОВЫХ
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ**

Байроченко Д.С., Мацко М.И.

Байроченко Д.С.

Студент лечебного факультета

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

г. Минск, Беларусь

bairon0404@gmail.com;

Мацко М.И.

Студент стоматологического факультета

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

г. Минск, Беларусь

mariamatsko08@gmail.com;

В статье рассмотрены особенности механизмов ингибирования карбапенемазы ОХА-23 двумя различными структурами: антибактериальным препаратом меропенемом и созданным на основе его структуры соединением НА-1-157. Проведен анализ аминокислотного состава активного центра упомянутого фермента с целью сравнения взаимодействий, возникающих в нем в процессе ингибирования. Выявлена и обоснована возможность разработки новых лекарственных средств путем модификации соединения НА-1-157.

Ключевые слова: ОХА-23; активный центр; ингибирование ферментов; антибактериальные препараты

**STRUCTURAL FEATURES OF THE OXA-23 CARBAPENEMASE ACTIVE
CENTER: PREREQUISITES FOR THE DEVELOPMENT OF NEW
ANTIBACTERIAL DRUGS**

Bairachenka D.S.

Student of the Medical Faculty of the Educational Institution "Belarusian State Medical University",

Minsk, Belarus

Minsk, Belarus

bairon0404@gmail.com;

Matsko M.I.

Student of the Dentistry Faculty of the Educational Institution "Belarusian State Medical University",

Minsk, Belarus

Minsk, Belarus

mariamatsko08@gmail.com;

This article discusses the specific mechanisms of OXA-23 carbapenemase inhibition by two different structures: the antibacterial drug meropenem and the compound NA-1-157 created on the basis of its structure. The analysis of the amino acid composition of the active center of the mentioned enzyme was carried out in order to compare

the interactions that occur in it during the inhibition process. The possibility of developing new drugs by modifying the compound NA-1-157 has been identified and substantiated.

Key words: OXA-23; active center; enzyme inhibition; antibiotics

Постоянно растущая устойчивость микроорганизмов к антибактериальным препаратам является серьезной угрозой, с которой сегодня сталкивается медицина. Данная проблема становится все более актуальной: растёт число бактериальных осложнений, возникающих в ходе лечения, особенно в хирургических и отделениях реанимации и интенсивной терапии. Помимо этого, увеличение числа резистентных штаммов влечет за собой необходимость более длительного нахождения пациентов в условиях круглосуточного стационара и, соответственно, увеличение затрат на лечение. В 2015 году Всемирной ассамблеей здравоохранения был утвержден Глобальный план действий по устойчивости к противомикробным препаратам, включающий и устойчивость к антибиотикам [1].

Согласно списку, опубликованному Всемирной организацией здравоохранения в 2017 году, к патогенам, борьба с которыми имеет критический уровень приоритетности, относится в том числе *Acinetobacter baumannii*.

Данный патоген обладает устойчивостью к антибиотикам резервного ряда и обуславливает возникновение нозокомиальных инфекций различных локализаций, в том числе кровотока, дыхательных путей, кожи и мягких тканей, нервной системы, мочевыводящих путей [2]. Что существенно усложняет процесс лечения.

Одним из способов преодоления антибиотикорезистентности является воздействие на фермент, инактивирующий лекарственные средства. Выбор фермента, ингибирование которого позволило бы решить вопрос резистентности *A. baumannii*, основывался на литературных данных, полученных в базе данных PubMed, а также на официальном сайте Всемирной организации здравоохранения. Согласно данным глобального исследования SENTRY, проведенного в 2020–2021 году, 73 % клинических изолятов CRAB (Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*) продуцировали оксациллиназу OXA-23, способную расщеплять карбапенемы, что и обуславливало их резистентность [3]. Разработка высокоаффинных ингибиторов упомянутой карбапенемазы является перспективным направлением для решения вопросов множественной лекарственной устойчивости.

Далее из базы данных 3D структур белков и нуклеиновых кислот Protein Data Bank (PDB) было выбрано два комплекса: 9NT0 и 9NSZ. Они использовались для изучения аминокислотного окружения и взаимодействий, возникающих между OXA-23 и лигандами, находящимися в этих комплексах.

В состав 9NT0 входит карбапенемаза OXA-23 и меропенем, в состав 9NSZ – OXA-23 и структура NA-1-157 (модифицированная молекула меропенема, рис. 1), которая связывается с активным центром белковой молекулы, что было подтверждено *in vitro* методом рентгеноструктурного анализа [4].

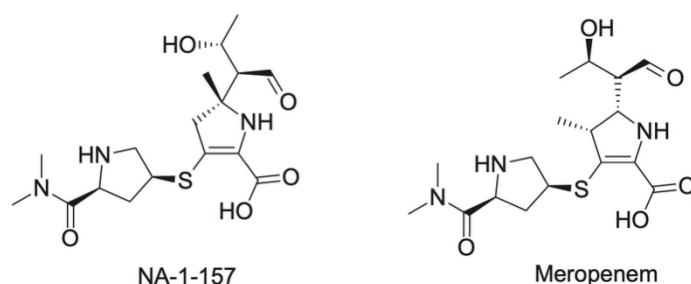


Рис. 1. Сравнение структур меропенема и NA-1-157

Выбор этой карбапенемазы основывался на ее широкой распространенности, а самих 9NT0 и 9NSZ на их высоком разрешении (1,6Å и 1,8Å соответственно), а также высоком качестве предоставленных структур, оцениваемом по 5-ти параметрам: Rfree, Clashscore, Ramachandran outliers, Sidechain outliers, RSRZ outliers (рис. 2).

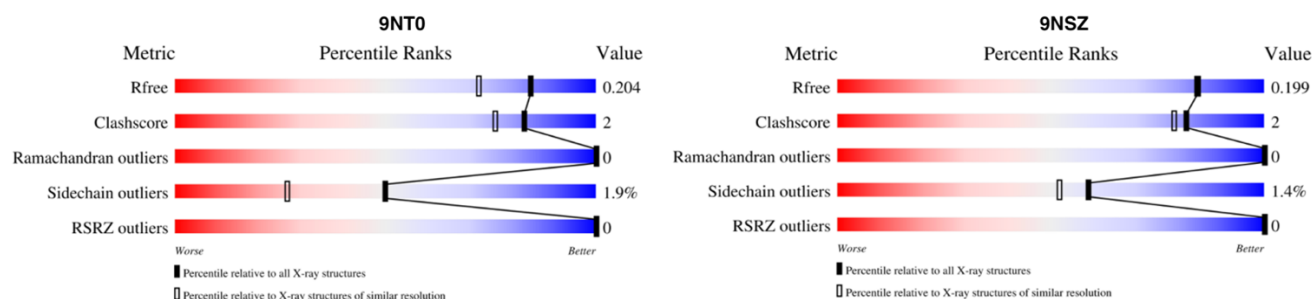


Рис. 2. Характеристика качества 3D-структуры отобранных моделей, предоставляемые базой данных PDB

При этом NA-1-157, взаимодействуя с активным центром карбапенемазы, ингибирует ее гидролитическую активность. Сравнительный анализ возникающих взаимодействий между меропенемом, NA-1-157 и аминокислотным окружением активного центра ОХА-23 позволит установить, какие взаимодействия могут играть ключевую роль в стабилизации комплекса, а также правильной ориентации молекулы лиганда в активном центре фермента. Данная информация перспективна в отношении моделирования более аффинных структур, являющихся потенциальными ингибиторами карбапенемазы.

С использованием программы SwissDock был проведен полугибкий докинг, по результатам которого было выяснено, что значение энергии связывания для меропенема выше, чем для NA-1-157 (-7,42 ккал/моль и -7,685 ккал/моль соответственно).

С целью определения межмолекулярных взаимодействий, которые могут оказывать значительное влияние на улучшение энергии связывания, была проведена их визуализация и анализ с использованием веб-сервиса PLIP и программы PyMOL версии 3.1.6.1.

Белок ОХА-23 состоит из двух доменов: смешанного α/β домена, который имеет две α -спирали и шестицепочечную β -структуру, и из полностью α -домена. При этом активный сайт фермента лежит в области между этими двумя доменами [5].

Рассмотрим структуру активного центра ОХА-23 (рис. 3). Для всех представителей класса D β -лактамаз характерно наличие консервативного серин-лизинового мотива структуры Ser-X-X-Lys. У данного фермента каталитическими аминокислотными остатками являются Ser-79 и Lys-82, разделенные Thr-80 и Phe-81. При этом Lys-82 карбоксилирован, что играет ключевую роль в образовании ацил-ферментного комплекса с последующим гидролизом лактамного кольца. Карбоксилизин находится во внутреннем лизиновом кармане, стенки которого представлены Asn-85, Tyr-131, Trp-165, а также боковой частью спирали $\alpha 3$. Лизиновый карман отделен от активного центра гидрофобным колпачком – Val-128, Leu-166. Ser-79 также является каталитическим (откуда и происходит группа сериновых β -лактамаз), к нему ковалентно присоединяется лиганд.

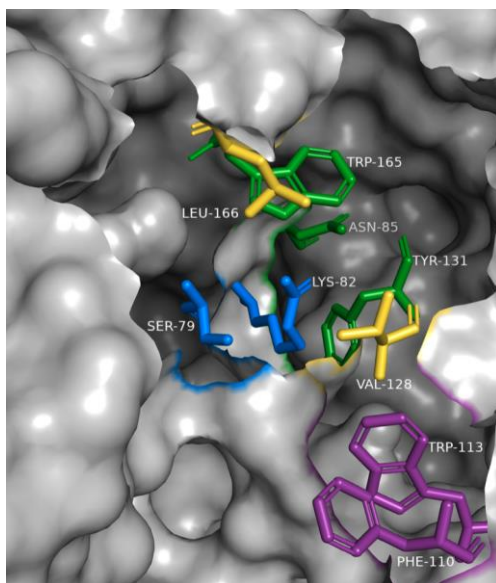


Рис. 3. Структура активного центра ОХА-23 (синим цветом обозначены каталитические аминокислотные остатки, зеленым - внутренний лизиновый карман, желтым - гидрофобный колпачок, фиолетовым - остатки, удаляющиеся от колпачка по время катализа)

Процесс гидролиза возможен лишь в случае вхождения в активный центр фермента молекулы, содержащей в своей структуре β -лактамное кольцо. Механизм ферментативного катализа основан на образовании ацил-ферментного комплекса с последующим гидролизом лактамного кольца (рис. 4). На первом этапе происходит активация каталитического серина с образованием алкоксид-аниона. Далее происходит нуклеофильная атака лактамного кольца субстрата с его раскрытием и последующим образованием ацил-ферментного комплекса. Затем карбоксилизин активирует молекулу воды, которая реагирует со сложноэфирной связью ацил-ферментного комплекса, расщепляя ее. Таким образом происходит восстановление структуры активного центра карбапенемазы с образованием продукта реакции с раскрытым лактамным кольцом, что приводит к потере антибиотиком способности связываться с пенициллинсвязывающими белками бактерии, из-за чего препарат теряет свою эффективность.

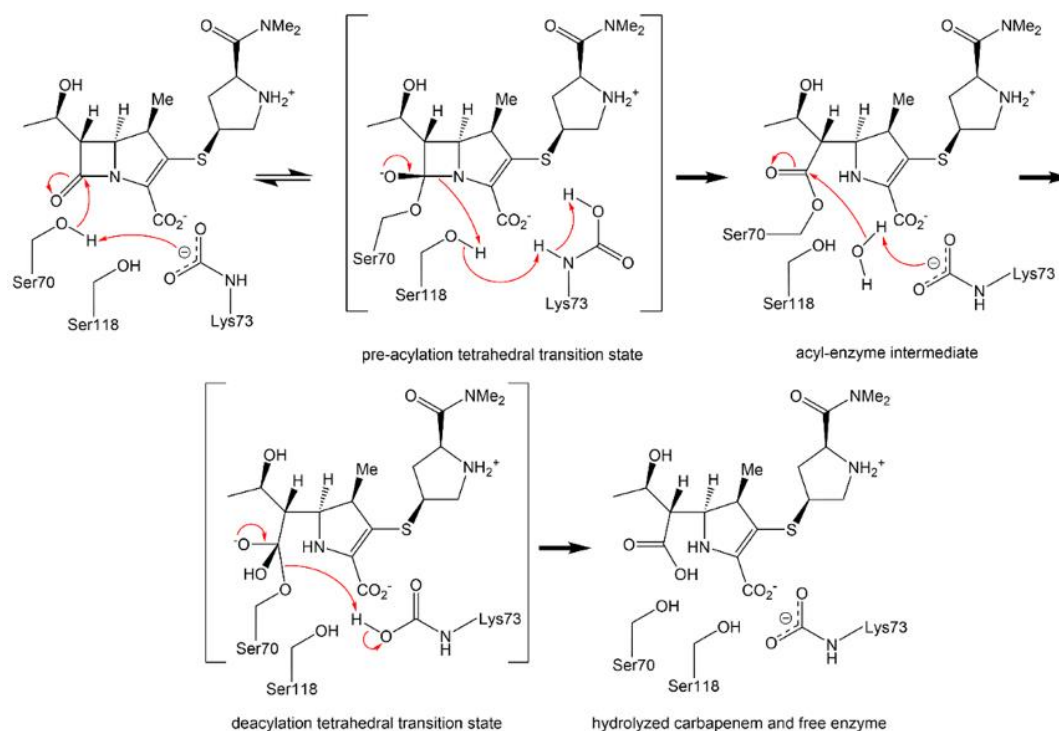


Рис. 4. Схематическое изображение механизма катализа ОХА-23

Необходимо сравнить взаимодействия, возникающие между ОХА-23 и NA-1-157 и меропенемом. С этой целью был использован веб-сервис PLIP. Полученные данные представлены в таблицах 1 и 2.

Гидрофобные взаимодействия играют ключевую роль в распознавании сайта связывания, а также фиксации и правильной ориентации молекулы NA-1-157 в активном центре белковой молекулы вблизи гидрофобного колпачка. Водородные связи дополнительно фиксируют лиганд в активном центре фермента. Особую значимость представляет таковая с каталитическим Ser-79. Образование водного и солевого мостиков с Lys-216 и Arg-259, вероятно, способствует стабилизации комплекса.

Таблица 1

Взаимодействия между NA-1-157 и ОХА-23

№	Тип взаимодействия	Аминокислотный остаток	Межатомное расстояние, (Å)
1	гидрофобные	Val-128	3,79
2	гидрофобные	Leu-166	3,85
3	гидрофобные	Trp-219	3,62
4	гидрофобные	Met-221	3,84
5	водородная связь	Ser-79	1,94-2,77*
6	водородная связь	Ser-126	3,10-3,91*
7	водородная связь	Thr-217	2,07-2,76*
8	водородная связь	Thr-219	1,80-2,76*
9	водный мостик	Lys-216	2,78-2,75
10	солевой мостик	Arg-259	3,39

Примечание. *для водородной связи: атом-акцептор - Н - атом-акцептор - атом-донор электронов

Взаимодействия между меропенемом и ОХА-23

№	Тип взаимодействия	Аминокислотный остаток	Межатомное расстояние, (Å)
1	гидрофобные	Phe-110	3,40
2	гидрофобные	Trp-113	3,78
3	гидрофобные	Val-128	3,61
4	водородная связь	Ser-79	1,98-2,77*
5	водородная связь	Ser-126	1,86-2,84*
6	водородная связь	Thr-217	2,41-3,04*
7	водородная связь	Thr-219	1,96-2,92*
8	солевой мостик	Lys-216	5,17
9	солевой мостик	Arg-259	3,50

Примечание. *для водородной связи: атом-акцептор - Н - атом-акцептор - атом-донор электронов

Между меропенемом и целевым белком также наблюдается образование гидрофобных взаимодействий. При этом возникновение Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий с Phe-110 и Trp-113 наиболее вероятно приводит к движению их боковых цепей, вследствие чего возникает отверстие в гидрофобном колпачке, открывая таким образом доступ к лизиновому карману и способствуя активации молекулы воды с расщеплением ацил-ферментного комплекса и последующим высвобождением гидролизованного меропенема. Водородные связи в данном комплексе идентичны таковым между NA-1-157 и ОХА-23. Образование двух солевых мостиков с Lys-216 и Arg-259 способствует стабилизации полученного комплекса.

Анализ структуры активного центра карбапенемазы ОХА-23 и механизмов ферментативной реакции проясняют принципы функционирования данного фермента. За счет рассмотрения взаимодействий, возникающих между ОХА-23 с одной стороны, меропенемом и NA-1-157 с другой, были определены ключевые взаимодействия, обеспечивающие связывание и ориентацию лигандов в активном центре фермента: гидрофобные взаимодействия с Val-128, водородные связи с каталитическим Ser-79, а также Ser-126, Thr-217, Thr-219 и образование водных и солевых мостиков с Lys-216, Arg-259. Полученные данные являются предпосылкой для последующего моделирования лигандов-потенциальных ингибиторов ОХА-23.

Список литературы

1. Устойчивость к антибиотикам [Электронный ресурс] / Всемирная организация здравоохранения. – Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>. – Дата доступа: 10.03.2026.
2. Инфекции, вызванные *Acinetobacter baumannii*: факторы риска, диагностика, лечение, подходы к профилактике / Ю.Л. Горбич, И.А. Карпов, О.И. Кречикова // Медицинские новости. – 2011. – № 5. – С. 31–39.
3. Combating Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Insights from Japan, with Global Relevance / Y. Yoshino, Y. Kimura, F. Ito // Infect Drug Resist. – 2025. – Vol. 18. – P. 6673–6683.
4. Dual mechanism of the OXA-23 carbapenemase inhibition by the carbapenem NA-1-157 / M. Toth, N.K. Stewart, P. Quan, M.M.K. Khan [et al.] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2025. – Vol. 69, 10. – P. e00918-25.

5. The Dynamics of OXA-23 β -Lactamase from *Acinetobacter baumannii* / R. Arrigoni, A. Ballini, L. Santacroce, L.L. Palese // International journal of molecular sciences. – 2023. – Vol. 24, № 24. – P. 17527.