

Я.О. Прокопеня

**СРАВНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АФФИННОСТИ
ФЛАВОНОИДОВ И ИХ ГЛИКОЗИДОВ В РАМКАХ РАЦИОНАЛЬНОГО
DRUG ДИЗАЙНА НОВЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И
ПРОТИВОЯЗВЕННЫХ СРЕДСТВ**

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

Кафедра общей химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Y.O. Prokopenya

**COMPARISON OF BIOLOGICAL AFFINITY IN SILICO OF FLAVONOIDS
AND THEIR GLYCOSIDES IN THE FRAMEWORK OF RATIONAL DRUG
DESIGN OF NEW ANTI-INFLAMMATORY AND ANTI-ULCER AGENTS**

Tutor: PhD in Chemistry, associate professor T.T. Lakhvich

Department of General Chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Методом молекулярного докинга in silico проведен сравнительный анализ аффинности флавоноидов и их гликозидов к ЦОГ-1, ЦОГ-2 и H^+/K^+ -АТФазе. Установлено, что для ингибирования циклооксигеназ оптимальны компактные агликоны (кризин, кемпферол, кверцетин), в то время как для связывания с H^+/K^+ -АТФазой предпочтительны гликозилированные формы.

Ключевые слова: флавоноиды, докинг, ЦОГ, H^+/K^+ -АТФаза.

Resume. A comparative analysis of the affinity of flavonoids and their glycosides for COX-1, COX-2, and H^+/K^+ -ATPase was performed in silico using molecular docking. Compact aglycones (chrysin, kaempferol, quercetin) are optimal for COX inhibition, while glycosylated forms are preferred for H^+/K^+ -ATPase binding.

Keywords: flavonoids, docking, COX, H^+/K^+ -ATPase.

Актуальность. Флавоноиды и их гликозиды представляют собой обширный класс природных биологически активных веществ, проявляющих широкий спектр фармакологической активности [1]. Оценка их потенциала in silico путем анализа аффинности к ключевым ферментам, участвующим в механизмах воспаления и язвообразования, является важным этапом рационального drug-дизайна, позволяющим отобрать перспективные молекулы для дальнейших исследований.

Цель: выполнить сравнительный анализ аффинности и топологии взаимодействия природных соединений класса флавоноидов и их гликозидов и синтетических лигандов (метаболита омепразола, диклофенака) к H^+/K^+ -АТФазе и циклооксигеназам (ЦОГ-1 и ЦОГ-2) с использованием молекулярного докинга.

Задачи:

1. Провести молекулярный докинг соединений с известными мишенями, участвующими в механизмах противоязвенного и противовоспалительного действий.
2. Определить перспективные соединения для дальнейшего фармакологического изучения и возможного применения в медицине.

Материалы и методы. Кристаллические структуры циклооксигеназы-1 (код белка 6Y3C), циклооксигеназы-2 (код белка 1CX2) были импортированы из базы данных Protein Data Bank, кристаллическая структура H^+/K^+ -АТФазы была

импортирована с ресурса UniProt (код белка P20648). Создание 2D и 3D структур исследуемого лиганда осуществлялось с помощью ChemOffice. Подготовка мишени и лиганда проводилась в AutoDock Tools. Для проведения докинга использовали AutoDock Vina [2, 3]. Анализ и графическое представление финальных комплексов, сгенерированных скриптом, выполнялись с использованием веб-инструмента PLIP.

Результаты и их обсуждение. Первый блок исследований был посвящен изучению противовоспалительной активности путем моделирования взаимодействия с ЦОГ-1 и ЦОГ-2. Референтный препарат для обеих изоформ – диклофенак.

Анализ результатов докинга с ЦОГ-1 показал, что в активном центре фермента успешно связались только три представителя исследуемого ряда. Среди них выделяется нарингенин халкон – соединение с раскрытым циклом, продемонстрировавшее энергию связывания (E_{cb}) -7,3 ккал/моль и сформировавшее 23 схожие конформации. Стабилизация его комплекса с ЦОГ-1 обеспечивается гидрофобными взаимодействиями с остатками VAL-116, VAL-349, TYR-355, LEU-359, TRP-387, ALA-527 и LEU-531, а также водородными связями с SER-530 и π -катионным взаимодействием с ARG-120 (рисунок 1).

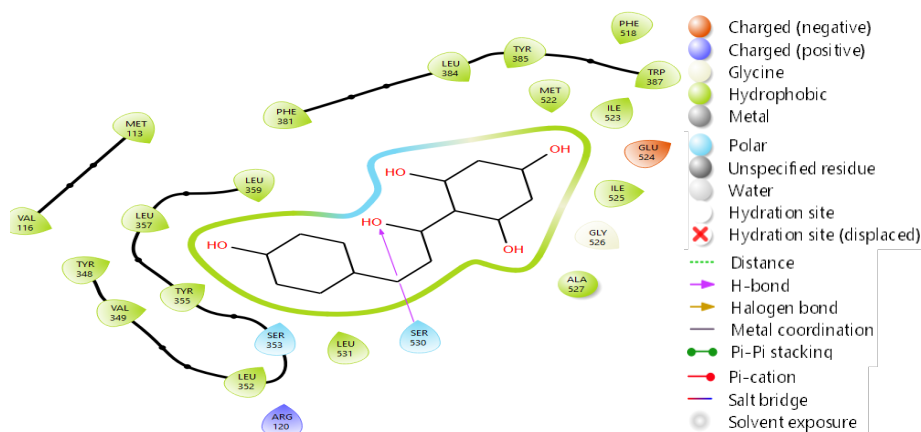


Рис. 1 – Схема взаимодействия нарингенин халкона с активным центром ЦОГ-1

Наилучшими показателями в отношении ЦОГ-1 обладает кризин: E_{cb} -7,7 ккал/моль, число схожих конформаций – 35. Ключевую роль играют гидрофобные контакты с ILE-523 и водородные связи с TYR-385, ALA-527 и SER-530 (рисунок 2).

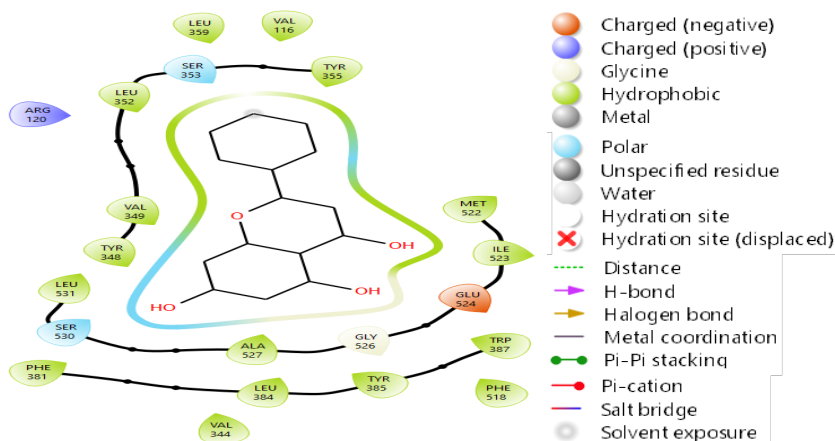


Рис. 2 – Схема взаимодействия кризина с активным центром ЦОГ-1

Полученные данные свидетельствуют о том, что эффективное связывание с активным центром ЦОГ-1 демонстрируют преимущественно соединения с компактными размерами и оптимальным балансом гидрофобных и полярных групп. Более крупные, гликозилированные аналоги теряют активность из-за выраженных стерических ограничений узкого канала фермента.

При моделировании взаимодействия с ЦОГ-2 количество лигандов, связавшихся в активном центре, возросло до восьми. Детальный анализ был сфокусирован на четырех наиболее показательных молекулах. Кризин продемонстрировал $E_{св}$ -9,7 ккал/моль (84 конформации). Схема взаимодействия кризина с ЦОГ-2 представлена на рисунке 3.

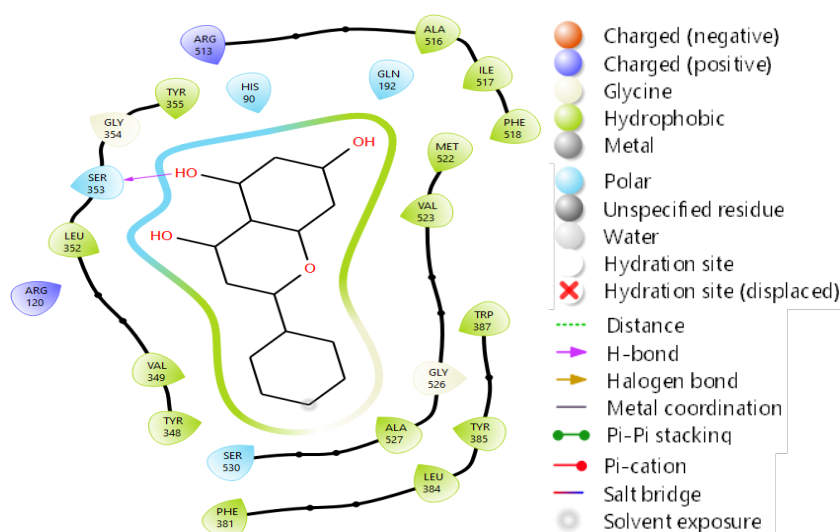


Рис. 3 – Схема взаимодействия кризина с активным центром ЦОГ-2

Как и диклофенак, кризин обладает бóльшим сродством к ЦОГ-2, чем к ЦОГ-1. Это подтверждается более отрицательной $E_{св}$ и увеличением числа конформаций. С ЦОГ-2 кризин связывается в энергетически более выгодной позиции, тогда как в ЦОГ-1 его связывание ограничено стерически и носит компенсаторный характер.

Кверцетин селективно связался с ЦОГ-2 ($E_{св}$ -9,7 ккал/моль, 70 конформаций). Комплекс кверцетина с ЦОГ-2 стабилизируется гидрофобными контактами с VAL-349, LEU-352, PHE-518, VAL-523, а также развитой сетью водородных связей с HIS-90, TYR-355, TYR-385, ARG-513, ILE-517 и PHE-518.

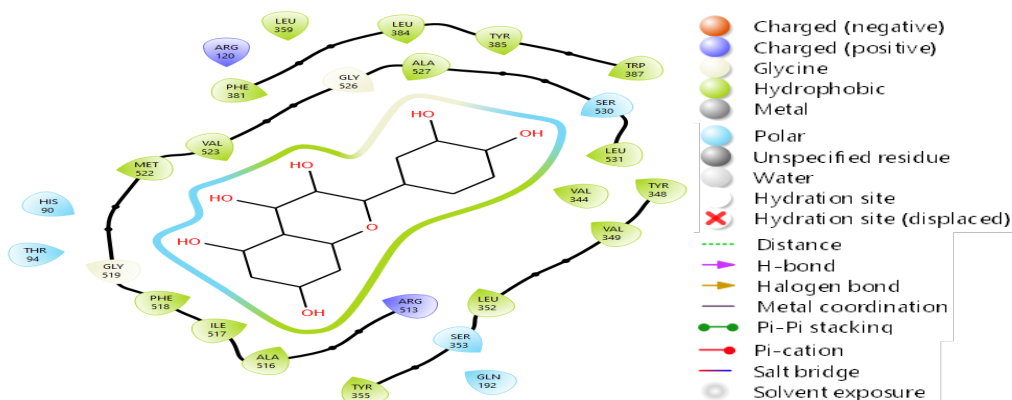


Рис. 4 – Схема взаимодействия кверцетина с активным центром ЦОГ-2

Вероятно, это обусловлено бóльшим объемом активного центра ЦОГ-2 по сравнению с ЦОГ-1, что допускает размещение дополнительных заместителей в структуре лиганда, обеспечивающих надежное закрепление.

Наиболее высокую аффинность из всех исследуемых соединений продемонстрировал кемпферол: $E_{св}$ достигла -9,9 ккал/моль (78 конформаций). Данный лиганд связывается с обеими изоформами, однако его селективность в отношении ЦОГ-2 значительно выше по причинам, аналогичным описанным для кризина. Схема взаимодействия кемпферола с ЦОГ-2 представлена на рисунке 5.

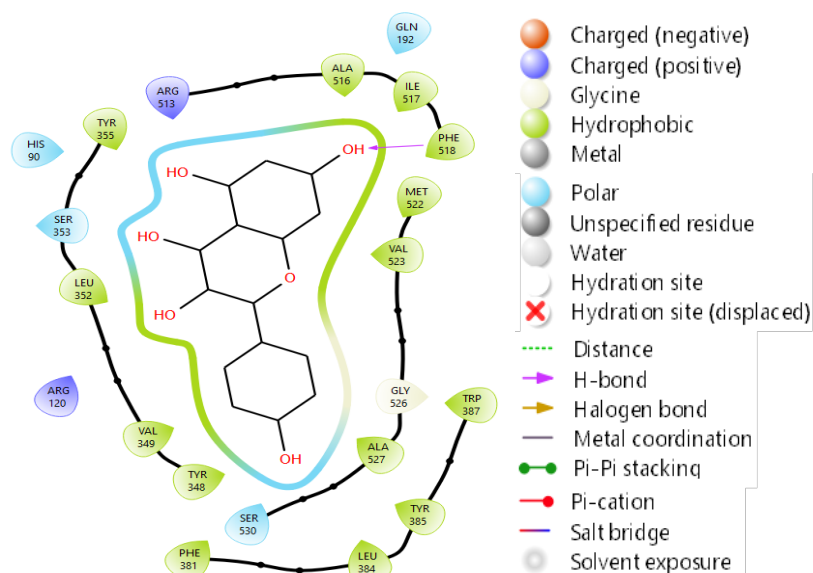


Рис. 5 – Схема взаимодействия кемпферола с активным центром ЦОГ-2

В то же время гесперетин показал наиболее слабое связывание с ферментом (-6,6 ккал/моль). Резюмируя первый блок, можно заключить, что гликозилирование, полезное для взаимодействия с другими мишенями, в случае ЦОГ становится критической помехой: сахара увеличивают объем молекулы, препятствуя проникновению в каталитический карман. Оптимальными ингибиторами ЦОГ являются компактные агликоны, обладающие гидроксильными группами в позициях 3, 5 и 7, при одновременном сохранении относительно гидрофобного В-кольца.

Второй блок докинга был направлен на оценку противоязвенной активности (мишень – H^+/K^+ -АТФаза). В качестве эталонного соединения использовался активный метаболит омепразола. В активном центре H^+/K^+ -АТФазы связались все исследуемые соединения, за исключением фисетин С-гликозида.

Кверцетин, являющийся агликоном многих флавоноидов, показал $E_{св}$ -9,0 ккал/моль и рекордные 124 конформации. Топология его связывания схожа с гиперозидом, но имеет отличия, продиктованные разницей в молекулярной массе. Схема взаимодействия кверцетина с H^+/K^+ -АТФазой представлена на рисунке 6.

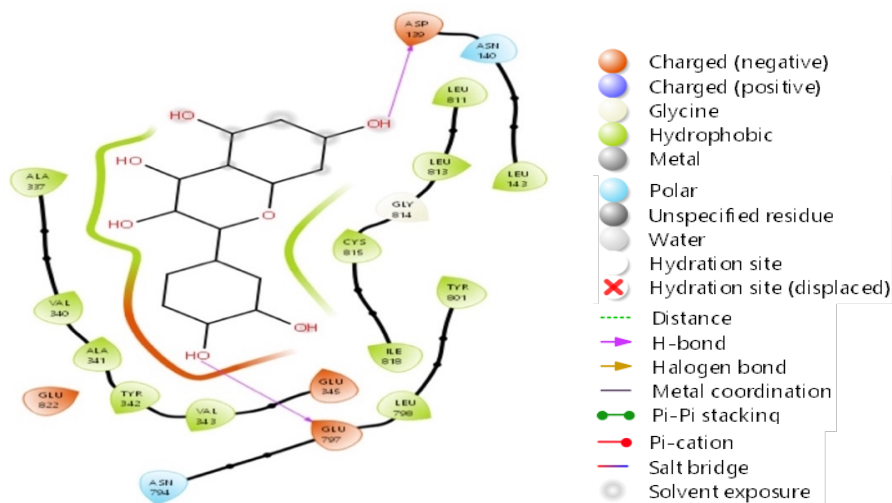


Рис. 6 – Схема взаимодействия кверцетина с H^+/K^+ -АТФазой

Особый интерес представляет гесперетин ($E_{св}$ -7,6 ккал/моль), выбранный из-за ключевой структурной особенности – восстановленного С-кольца. Данная модификация приводит к потере строгой плоскостной структуры молекулы, перераспределению электронной плотности и появлению дополнительной гибкости. Несмотря на это, аминокислотное окружение гесперетина в активном центре H^+/K^+ -АТФазы полностью совпадает с таковым у эталонного метаболита омегапрозола.

Анализ взаимодействия с протонной помпой выявил четкую тенденцию: увеличение числа заместителей (гидроксильных групп) и наличие гидрофобных радикалов (метокси-, пренил-), а также более разветвленная структура существенно улучшают энергию связывания за счет формирования множественных контактов с полярными остатками фермента (включая GLN-129, ASP-139, ARG-330, TYR-804).

Выводы. Гликозилирование флавоноидов препятствует их связыванию с активными центрами ЦОГ-1 и ЦОГ-2 из-за стерических затруднений. Наилучшими ингибиторами циклооксигеназ выступают компактные агликоны (кемпферол, кризин, кверцетин) и халконы (нарингенин халкон), при этом кемпферол и кверцетин проявляют выраженную селективность к ЦОГ-2. Для эффективного ингибирования H^+/K^+ -АТФазы оптимальными структурами являются гликозилированные флавонолы с 1-2 сахарными остатками и гидроксилами в позициях 3, 5, 7, 3', 4'. Восстановление С-кольца (как у гесперетина) придает молекуле гибкость, сохраняя специфичность связывания в каталитическом кармане протонной помпы.

Литература

1. Important flavonoids and their role as a therapeutic agent / A. Ullah [и др.] // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25, No. 22. – A. 5243.
2. AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings / J. Eberhardt [и др.] // *Journal of Chemical Information and Modeling*. – 2021.
3. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery / X. Y. Meng [и др.] // *Current computer-aided drug design*. – 2011. – T. 7, № 2. – С. 146–157.