

М.С. Красная

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ АФФИННОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
6-ТИОДЕЗОКСИГУАНОЗИНА К АКТИВНОМУ ЦЕНТРУ ТЕЛОМЕРАЗЫ**

Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. О.Н. Ринейская

Кафедра общей химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

M.S. Krasnaya

**PREDICTION OF AFFINITY OF NEW 6-THIODEOXYGUANOSINE
DERIVATIVES TO THE ACTIVE CENTER OF TELOMERASE**

Tutor: PhD in Medicine, associate professor O.N. Ryneiskaya

Department of General Chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Работа посвящена разработке структурных аналогов 6-тиодезоксигуанозина и проведен их молекулярный докинг с теломеразой. По результатам исследования наибольшую аффинность к теломеразе имели производные, содержащие полярные заместители при С2 аминокгруппе пуринового кольца, которые характеризуются делокализацией электронной плотности и -М-эффектом.

Ключевые слова: теломераза, ингибитор, молекулярный докинг, 6-тиодезоксигуанозин, π -стэкинг.

Resume. The authors developed structural analogs of 6-thiodeoxyguanosine and performed molecular docking with telomerase. The study revealed that derivatives containing polar substituents at the C2 amino group of the purine ring, characterized by delocalization of electron density and the -M effect, exhibited the highest affinity to telomerase.

Keywords: telomerase, inhibitor, molecular docking, 6-thiodeoxyguanosine, π -stacking.

Актуальность. С развитием онкологии все большее внимание уделяется разработке и изучению высокоспецифичных методов лечения опухолей, которые при высокой противоопухолевой активности должны наносить минимальный вред здоровым клеткам организма пациента. Препараты, используемые для целевого воздействия на конкретные мишени в раковых клетках, называются таргетными. В последнее время активно разрабатываются таргетные препараты на основе нуклеотидов, которые вмешиваются в процесс репликации дезоксирибонуклеиновых кислот (ДНК), и, следовательно, размножения раковых клеток. Одним из механизмов, обеспечивающих специфичность действия подобных препаратов, является ингибирование теломеразы. Теломераза представляет собой фермент из класса обратных транскриптаз, препятствующий укорочению теломеров за счет присоединения нуклеотидов к 3'-концу теломерного участка цепи ДНК. Механизм действия теломеразы заключается в следующем: одноцепочечная теломерная ДНК прикрепляется к якорному сайту теломеразы, после чего к ней начинают присоединяться нуклеотиды TTAGGG комплементарно матричной последовательности сайта hTR [5]. Затем происходит транслокация синтезированной цепи, и процесс повторяется. Таким образом, теломераза способствует восстановлению естественной потери нуклеотидов теломер в каждом клеточном цикле [4]. Теломераза отсутствует в здоровых соматических клетках и содержится в

стволовых, половых и опухолевых клетках. Ингибирование данного фермента позволяет существенно ограничить пролиферацию раковых клеток.

На современном этапе в разработке уже имеются такие препараты, которые находятся на стадии клинических испытаний. Один из них, являющийся антиметаболитом гуанозина, создан на основе атеганозина (6-тио-2'-дезоксигуанозина); также известен как ТНЮ [3]. Связываясь с ДНК при помощи теломеразы, он изменяет структуру теломера и вызывает разрушение цепи теломерной ДНК, что приводит к гибели раковой клетки [1] и предотвращает рецидивирование заболевания [2].

Научный интерес представляет моделирование и анализ взаимодействия атеганозина с теломеразой в сравнении с гуанозином и поиск модификаций препарата *in silico* с целью выявления аналогов с большей аффинностью.

Цель: *in silico* исследование сродства 6-тиодезоксигуанозина и его производных к теломеразе для выявления образцов, способных препятствовать процессу репарации теломер в опухолевых клетках.

Задачи:

1. Описать строение теломеразы и принцип ее работы.
2. Проанализировать механизм влияния 6-тиодезоксигуанозина на активность теломеразы.
3. Создать *in silico* модифицированные структурные аналоги ТНЮ.
4. Сравнить их активность при помощи молекулярного докинга и выявить наиболее успешный образец.

Материалы и методы. Для моделирования взаимодействия ТНЮ, а также его производных, с теломеразой из базы данных Protein Data Bank была взята структура теломеразы под идентификационным номером PDB ID: 3KYL, соответствующая белку, который выделен из жуков вида *Tribolium castaneum* [6], поскольку ее структура не содержит лигандов и приближена к структуре человеческой теломеразы. При подготовке молекулы к докингу было принято решение оставить ион магния, входящий в структуру 3KYL, так как при проведении пробного докинга без него было выявлено, что Mg^{2+} находится в активном центре фермента и участвует в связывании фосфатной группы ТНЮ и его структурных производных.

Нами были предложены 22 структурных аналога 6-тиодезоксигуанозина путем введения в положения 1, 2, 7 и 8 пуринового кольца, а также на аминокгруппу при C2 заместителей, различных по размеру и полярности. Все предложенные структуры имели только по одному отличию от исходной молекулы (Рис. 1). Стоит также отметить, что для докинга использовали именно трифосфатные формы нуклеотидов, поскольку именно они захватываются ДНК-полимеразами (теломеразы) для встраивания в нуклеотидную цепь. С помощью ChemDraw были подготовлены 2D структурные формулы потенциальных лекарственных средств - производных 6-тио-2'-дезоксигуанозина. Подготовка лигандов к молекулярному докингу с геометрической оптимизацией структуры осуществлялась в Chem3D при помощи метода энергетической минимизации в силовом поле MM2.

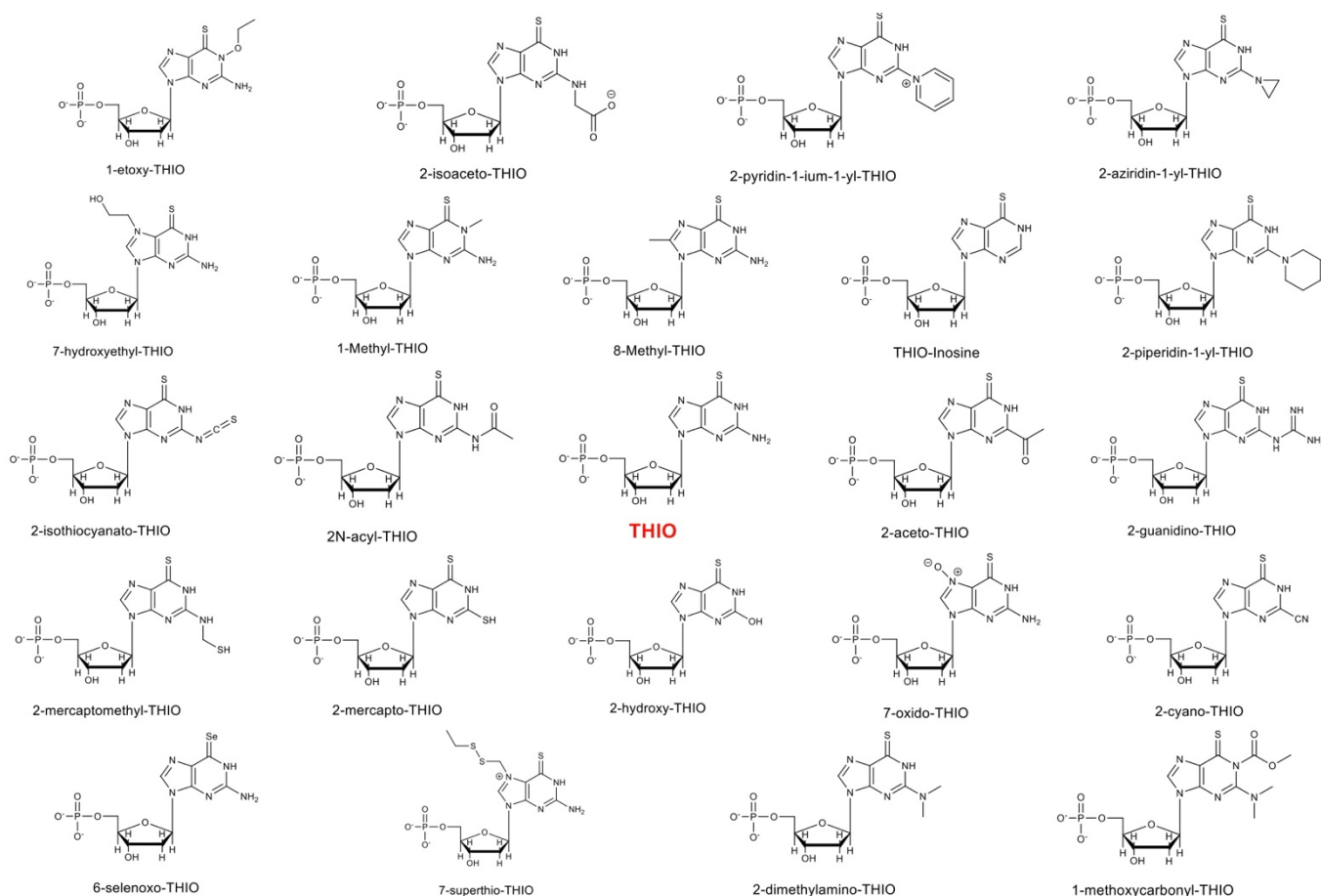


Рис. 1 – Структурные аналоги 6-тиодезоксигуанозина

Преобразование файлов в формат .pdbqt было произведено с помощью сервиса Science Codons. Расчет энергии связывания в системе белок-лиганд производился посредством AutoDock Vina. Так как биохимический процесс, катализируемый теломеразой, происходит с участием ионов магния, важным было на стадии подготовки лиганда установить отрицательный заряд остатков фосфорной кислоты, что и было сделано. Каждый лиганд подвергался молекулярному докингу с теломеразой (3KYL). Далее проводилась оценка энергии сродства (аффинности) лигандов к активному центру фермента.

Результаты и их обсуждение. По результатам молекулярного докинга получили по 9 конформаций для каждого лиганда относительно активного центра теломеразы. Путем 3D-визуализации в программе PyMol выбирали ту из них, в которой пуриновый цикл располагался параллельно предыдущим дезоксирибонуклеотидам в цепи теломерной ДНК (Рис. 2).

Было выявлено, что среди изученных производных 3 имели более высокое сродство к теломеразе, чем 6-тиодезоксигуанозинтрифосфат: 2N-ацил-6-тиодезоксигуанозинтрифосфат, 2-пиридино-6-тиодезоксигуанозинтрифосфат и 2-изоацето-6-тиодезоксигуанозинтрифосфат. (Табл. 1).

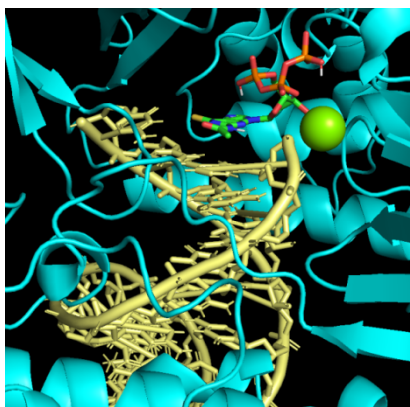


Рис. 2 – Оптимальная конформация лиганда с параллельной ориентацией пуринового цикла относительно теломерной ДНК (PyMOL)

Табл. 1. Аффинность изученных производных THIO к теломеразе

№ производного	Краткое название	Аффинность, ккал/моль
Стандарт	THIO	-8,905
1	1-methyl-THIO	-8,673
2	1-OEt-THIO	-8,098
3	1-methoxycarbonyl-THIO	-8,849
4	2-OH-THIO	-8,362
5	2-SH-THIO	-8,741
6	8-methyl-THIO	-8,56
7	THIO-inosine	-8,752
8	2-aceto-THIO	-7,567
9	2N-acyl-THIO	-9,626
10	2-MeSH-THIO	-6,719
11	2-PPy-THIO	-7,7
12	2-CN-THIO	-8,275
13	2-DiMe-THIO	-9,009
14	2-isothio-THIO	-8,57
15	2-micro-THIO	-8,339
16	2-guanidino-THIO	-9,031
17	7-oxy-THIO	-7,762
18	2-Py-THIO	-9,962
19	2-isoaceto-THIO	-9,556
20	7-superthio-THIO	-9,12
21	7-hydroxyethyl-THIO	-6,74
22	SNIO(6-selenoxo-THIO)	-8,483

Онлайн-сервис ProteinsPlus позволил визуализировать полученные в результате молекулярного докинга комплексы: были получены 2D-изображения аминокислотного окружения лигандов-лидеров (Рис. 3).

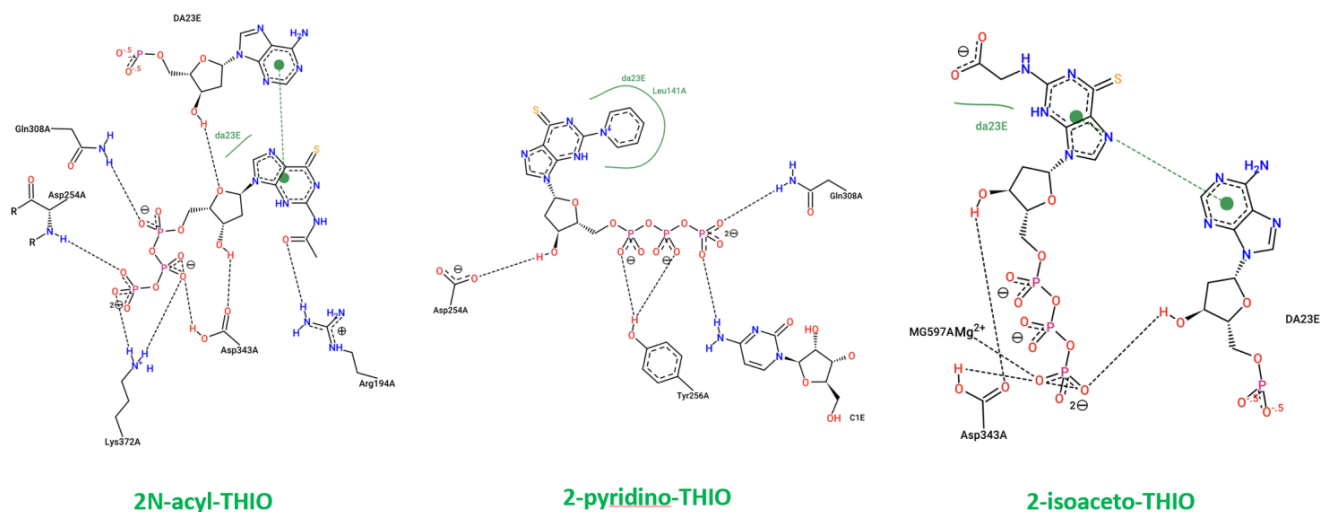


Рис. 3 – Структуры наиболее устойчивых комплексов лиганд-фермент

На представленных рисунках можно видеть наличие π -стэкинга между лигандом и предыдущим дезоксирибонуклеотидом в цепи ДНК, что указывает на параллельное расположение азотистых оснований и, соответственно на правильную конформацию лиганда в активном центре.

Выводы:

1. Лиганды, характеризующиеся наличием в положениях N₁, C₂, N₇ и C₈ 6-тиодезоксигуанозина ацильной, пиперидинильной и изоацето- групп, демонстрируют высокую комплементарность и могут рассматриваться как потенциальные ингибиторы теломеразы.

2. Среди изученных лигандов наибольшую аффинность показали комплексы с производными, характеризующимися наличием у аминогруппы заместителя с делокализованной электронной плотностью.

3. Роль формирующейся системы сопряжения в процессе связывания с активным центром теломеразы предстоит выяснить с помощью методов молекулярной динамики.

4. Полученные данные позволяют планировать проведение исследований указанных лигандов *in vitro*.

Литература

1. Ажибек, Н. А. Ингибирование теломеразы человека олигонуклеотидами : автореф. дис. ... канд. хим. наук: 02.00.10 / Н. А. Ажибек ; Моск. гос. ун-т им. М. В. Ломоносова. – М., 2014. – 24 с.
2. Induction of Telomere Dysfunction Mediated by the Telomerase Substrate Precursor 6-Thio-2'-Deoxyguanosine / I. Mender, **S. Gryaznov** [et al.] // *Cancer Cell*. – 2015. – Vol. 28, № 2. – P. 236–249.
3. Mender, I. 6-Thio-2'-Deoxyguanosine (THIO) as a New Frontier in Cancer Immunotherapy / I. Mender, **S. Gryaznov**, J. W. Shay // *Frontiers in Oncology*. – 2020. – Vol. 10. – Art. 601350.
4. Shay, J. W. Telomeres and telomerase: three decades of progress / J. W. Shay, W. E. Wright // *Nature Reviews Genetics*. – 2019. – Vol. 20, № 5. – P. 299–309.
5. Structural basis for telomerase catalytic subunit TERT binding to RNA template and telomeric DNA / M. Mitchell [et al.] // *Nature Structural & Molecular Biology*. – 2010. – Vol. 17, № 4. – P. 513–518.
6. THIO-Targeted Telomere Therapy: A Novel Strategy for Cancer Treatment / S. Sengupta, **S. Gryaznov** [et al.] // *Cancers*. – 2022. – Vol. 14, № 15. – Art. 3662.