

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ИЗВЕСТНЫХ ИНГИБИТОРОВ ТЕЛОМЕРАЗЫ

А. В. Меркушова, А. М. Андрианов

Белорусский государственный университет, г. Минск;

St.merkush@gmail.com;

науч. рук. – А. М. Андрианов, д-р хим. наук, проф.

Прогрессирующая потеря теломерных концов хромосом является важным механизмом синхронизации, контролирующим удвоение числа клеток. Теломераза представляет собой фермент, который удлиняет одну цепь теломерной ДНК и компенсирует ее укорочение во время репликации. Поэтому активность теломеразы служит маркером пролиферации. Активность теломеразы не обнаруживается в большинстве соматических клеток, за исключением эмбриональных тканей, стволовых клеток и репродуктивных органов. В большинстве опухолевых клеток (80-90%) теломераза активируется и играет роль основного инструмента, поддерживающего длину теломер. Тестирование активности теломеразы чрезвычайно важно при поиске новых ингибиторов теломеразы – потенциальных противоопухолевых препаратов. В настоящей работе с помощью метода виртуальной комбинаторной химии сконструированы два потенциальных ингибитора теломеразы и проведена оценка их противоопухолевой активности на основе оценочной функции программы молекулярного докинга AutoDockVina. Выполнено предсказание фармакокинетических характеристик разработанных соединений. Показано, что сконструированные соединения формируют перспективные базовые структуры для разработки новых эффективных противоопухолевых препаратов.

Ключевые слова: рак, голофермент теломеразы человека, ингибиторы теломеразы, молекулярный докинг, противоопухолевые препараты.

ВВЕДЕНИЕ

В 1961 г. Хайфлик и Мурхиад открыли, что соматические клетки имеют ограниченный период жизни. В 1973 была выдвинута гипотеза (гипотеза конечной репликации) в соответствии с которой наблюдается укорочение теломер с прогрессирующим делением клеток *in vitro* и увеличением возраста *in vivo*. Нормальные соматические клетки пролиферируют ограниченное число раз *in vitro*, причем максимальное число называется пределом Хейфлика [1].

Теломеры выполняют несколько важнейших биологических функций. Они защищают хромосомы от рекомбинации, сквозного слияния и обеспечивают средство для полной репликации хромосом, участвуют в регуляции экспрессии генов. Очевидно, что в клетках, которые вос-

становливают длину теломер, должен существовать механизм, позволяющий им добавлять особые повторяющиеся последовательности нуклеотидов ДНК. В 1985 г. Блекберн и Грейберг открыли фермент, удлиняющий теломеры, – теломеразу. Теломераза – это РНК-зависимая ДНК-полимераза, которая синтезирует теломерные последовательности ДНК и обеспечивает молекулярную основу для неограниченного пролиферативного потенциала. Было обнаружено, что теломеразная активность отсутствует в большинстве соматических клеток человека, но присутствует в более 90 % раковых. Теломераза состоит из двух основных компонентов: один из них функциональный компонент РНК (у человека называемый hTR или hTERC) , который служит шаблоном для синтеза теломерной ДНК; другой – каталитический белок (hTERT) с обратной транскриптазной активностью. Экспрессия человеческого каталитического компонента hTERT оценивается менее чем в 1-5 копий на клетку и тесно связана с активностью теломеразы в клетках. hTERT обычно подавляется в нормальных клетках, но активируется в раковых клетках. Это позволяет предположить, что hTERT является основным фактором активности фермента [2].

Из-за важной роли теломеразы в онкогенезе этот фермент является привлекательной мишенью для противоопухолевой терапии. Например, наиболее известный ингибитор теломеразы BIBR1532[3] представляет собой небольшую молекулу, взаимодействующую с активным сайтом TERT и предотвращающую его активность. Однако более чем за 10-летнюю историю BIBR1532 так и не прошел стадию клинических испытаний. Таким образом, актуальным является поиск новых эффективных ингибиторов теломеразы с большей нейтрализующей активностью и улучшенными фармакологическими свойствами.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Существует много подходов к моделированию потенциальных лекарств, однако большинство методов не подходят для решения поставленной задачи, поскольку в данном случае требуется сгенерировать большое число близких по структуре новых соединений, чтобы иметь возможность отобрать наиболее перспективные молекулы исходя из заданных свойств. С точки зрения этих критериев наиболее подходящим является метод виртуальной комбинаторной химии, реализованный в программном пакете AutoGrow4[4], который позволяет сконструировать широкий набор новых соединений для последующего анализа. AutoGrow4 использует генетический алгоритм (ГА) для создания новых

высокоаффинных лигандов. Он использует исходную популяцию заданных (базовых) молекул для создания новой популяции (т.е. поколения) потенциальных лигандов. Эти популяции делятся на "поколения", каждое из которых подчиняется трем операторам: мутацией, кроссовером и отбором.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 2018 году группа Кэтлин Коллинз впервые представила результаты криоэлектронной микроскопии теломеразы человека и субстрата голофермента, и депонировала эти структуры в Банк данных белков (Protein Data Bank; коды PDB: EMD-7518, EMD-7519, EMD-7521) [5]. При этом, однако, кокристаллизации комплекса белка и лиганда получено не было. Поэтому в этой работе для оценки связывания лиганда с белком был выделен активный сайт человеческой теломеразы (Рис.1) и выровнен с помощью метода гомологичного моделирования (программа SWISS Model) на аналогичный белок из *T.castaneum* (PDB код: 5CQG)[4] в комплексе с ингибитором BIBR1532[3].

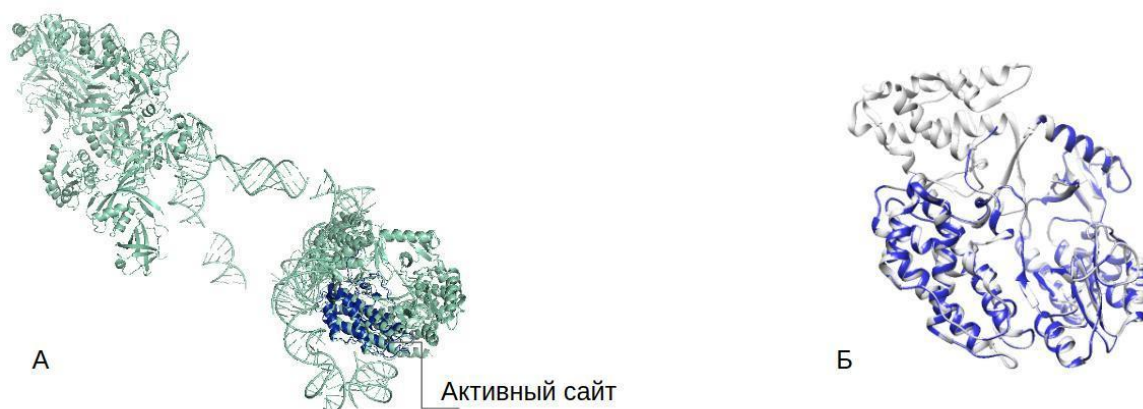


Рис. 1. А - Кокристаллизованная структура человеческой теломеразы. Б - Структура выровнена на теломеразу *T.castaneum*

В результате моделирования потенциальных ингибиторов теломеразы были отобраны два лучших по энергии связывания соединения – мутант 40951 и 818601.

Таблица 1

Сравнительная характеристика соединений

	BIBR1532	40951	818601
Молекулярная масса	331 г/ моль	526 г/ моль	531 г/ моль
Скоринговая функция	-8.9 ккал/моль	-10.9 ккал/моль	-12.8 ккал/моль
Взаимодействие	Ван-дер-Ваальсовы Координационные Водородные	Ван-дер- Ваальсовы Координационные	Водородные Ван-дер-Ваальсовы Координационные

В таблице 1 приведены основные характеристики полученных соединений и ингибитора теломеразы BIBR1532. Из данных таблицы 1 видно, что сконструированные соединения выигрывают по величине оценочной функции у BIBR1532. Высокое значение оценочной функции у мутанта 40951 обуславливается координационными взаимодействиями и более широкой сетью гидрофобных контактов. Количественная и качественная характеристика взаимодействия лигандов с рецептором проводилась с помощью программного пакета LigPlot. (рис. 2).

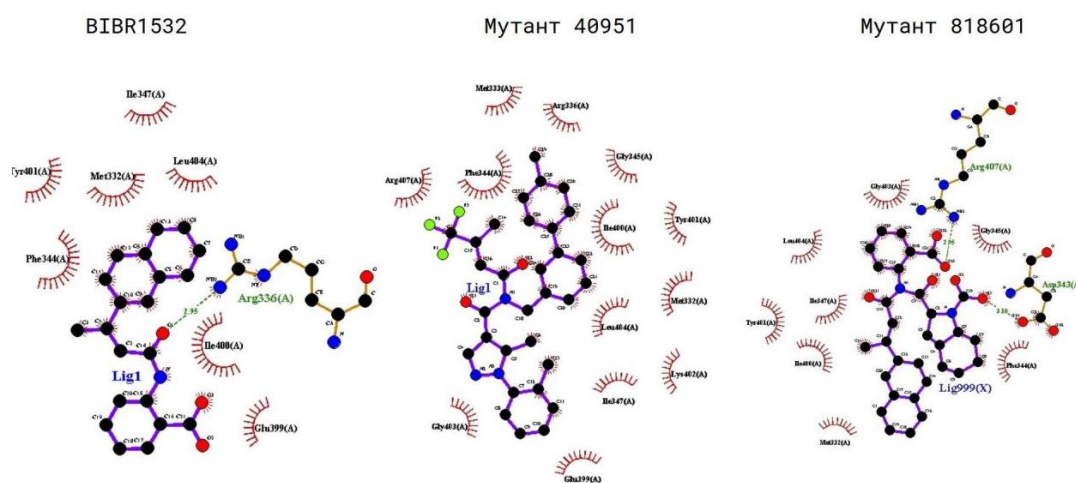


Рис. 2. Оценка соединений в LigPlot

С помощью полусфер с шипами на рисунке 1 отмечены аминокислотные остатки рецептора, а точечными линиями – водородные связи. С помощью программы Swiss ADME были предсказаны фармакологические свойства сконструированных лигандов и ингибитора BIBR1532. Результаты сравнительного анализа показали более предпочтительные фармакологические характеристики лигандов 40951 и 818601 по сравнению с соответствующими параметрами BIBR1532.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ сконструированных методами виртуальной комбинаторной химии соединений в комплексе с теломеразой свидетельствует о наличии эффективных межмолекулярных взаимодействий, приводящих к блокаде каталитического сайта фермента. По данным молекулярного докинга, комплексы этих соединений с теломеразой демонстрируют более низкие значения энергии связывания по сравнению с известным ингибитором BIBR1532. Идентифицированные соединения полностью удовлетворяют “правилу пяти” Липинского и формируют перспективные базовые структуры для разработки эффективных лекарственных препаратов для противоопухолевой терапии.

Библиографические ссылки

1. *Hayflick, Leonard*. The serial cultivation of human diploid cellstrains / Leonard Hayflick, Paul S Moorhead //Experimental cell research. 1961. Vol. 25, no. 3. Pp. 585–621
2. Structure and variability of human chromosome ends. /T De Lange, L Shiue, RM Myers et al. //Molecular and cellular biology. 1990. Vol. 10, no. 2. Pp. 518–527.
3. Mechanism of human telomerase inhibition by BIBR1532, asynthetic, non-nucleosidic drug candidate / Emanuelle Pascolo, Christian Wenz, Joachim Lingner et al. //Journal of Biological Chemistry. 2002. Vol. 277, no. 18. Pp. 15566–15572.
4. *Spiegel J.O., Durrant J.D.* AutoGrow4: an open-source genetic algorithm for de novo drug design and lead optimization / Durrant J.D. Spiegel, J.O. //Cheminform. 2020
5. Cryo-EM structure of substrate-bound human telomerase holoenzyme / Thi Hoang Duong Nguyen, Jane Tam, Robert A Wu et al. //Nature. 2018. Vol. 557, no. 7704. Pp. 190–195.