

**КОМПЬЮТЕРНЫЙ ДИЗАЙН ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ
МУЛЬТИТАРГЕТНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ
НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО
МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА**

**А.М. Андрианов¹, Ю.В. Корноушенко¹, Е.В. Королёва²,
Ж.В. Игнатович²⁾**

¹*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
ул. Купревича 5/2, 220141, г. Минск, Беларусь,
alexande.andriano@yandex.ru, yurakorval@gmail.com*

²*Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси,
ул. Франциска Скорины 36, 220141, г. Минск, Беларусь,
evk@ichnm.by*

Осуществлен компьютерный дизайн 126 амидов 2-ариламинопиримидинового ряда – потенциальных мультитаргетных ингибиторов протеинкиназ Bcr-Abl, Bcr-Abl^{T315I}, mTOR и JAK2, играющих важную роль в развитии хронического миелоидного лейкоза. С помощью метода молекулярного докинга проведена оценка биологической активности сконструированных соединений по отношению к этим ферментам. В результате идентифицированы четыре соединения-лидера, эффективно взаимодействующие с АТФ-связывающими сайтами всех исследованных протеинкиназ. Выполнен анализ межмолекулярных взаимодействий, реализующихся в структурных комплексах этих соединений с терапевтическими мишенями, и рассчитаны свободные энергии их образования. На основе полученных данных показано, что идентифицированные соединения формируют перспективные базовые структуры для разработки эффективных противоопухолевых препаратов нового поколения.

Ключевые слова. Хронический миелоидный лейкоз, ингибиторы протеинкиназ, молекулярное моделирование, противоопухолевые препараты.

**COMPUTER-AIDED DESIGN OF POTENTIAL MULTI-TARGETING
ANTICANCER COMPOUNDS OF A NEW GENERATION FOR
THERAPY OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA**

**A.M. Andrianov^a, Yu.V. Kornoushenko^a, E.V. Koroleva^b,
J.V. Ignatovich^b**

^a*Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus,
Kuprevich Street 5/2, Minsk 220141, Belarus, alexande.andriano@yandex.ru,
yurakorval@gmail.com*

^b*Institute of Chemistry of New Materials, National Academy of Sciences of Belarus,
Francysk Skaryna Street 36, Minsk 220141, Belarus, evk@ichnm.by
Corresponding author: alexande.andriano@yandex.ru*

Computer-aided design of 126 amides of the 2-arylamino-pyrimidine series, potential multi-targeting inhibitors of protein kinases Bcr-Abl, Bcr-Abl^{T315I}, mTOR, and JAK2 which play an important role in the development of chronic myeloid leukemia, was carried out. Using molecular docking tools, the biological activity of the designed compounds towards these enzymes was evaluated. As a result, four top-ranking compounds that efficiently interact with the ATP-binding sites of all the above protein kinases were identified. Analysis of intermolecular interactions realized in the structural complexes of these compounds with the therapeutic targets has been performed and the free energies of their formation have been calculated. Based on the data obtained, the identified compounds were predicted to form promising basic structures for the development of potent anticancer drugs of a new generation.

Keywords: Chronic myeloid leukemia; protein kinase inhibitors; molecular modeling; anticancer drugs.

Введение

Современный дизайн противоопухолевых препаратов все больше ориентируется на разработку полифункциональных ингибиторов, содержащих два и более фармакофора из разных лекарственных веществ, что усиливает активность соединений-предшественников и даже приводит к новым видам биологической активности за счет появления дополнительных взаимодействий с белком-мишенью [1]. Многофакторные процессы, ведущие к развитию и прогрессированию рака, влияют на многочисленные сигнальные пути и вызывают нарушение регуляции множества физиологических процессов. По этой причине лечение рака требует модуляции многих биологических мишеней для обеспечения достаточной терапевтической эффективности. Это достигается либо комбинированной терапией несколькими таргетными препаратами, либо применением мультитаргетных препаратов, воздействующих на несколько терапевтических мишеней и оказывающих аддитивное действие [1].

Возникающая со временем лекарственная устойчивость опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам, используемым для терапии хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ), характеризующегося быстрым неконтролируемым ростом миелоидных клеток в периферической крови и костном мозге, стимулирует поиск новых более эффективных ингибиторов протеинкиназ и схем лечения. Одной из перспективных стратегий разработки таких ингибиторов является дизайн химерных молекул на основе производных 2-ариламинопиримидина, которые наиболее часто используются в качестве базовых структур для создания низкомолекулярных ингибиторов протеинкиназ – органических соединений, проявляющих направленное патогенетическое действие.

Цель настоящей работы – осуществить дизайн и *in silico* оценку потенциальной противоопухолевой активности новых низкомолекулярных химических соединений на основе амидов 2-ариламинопиримидинового ряда, способных блокировать АТФ-связывающие сайты нативной Bcr-Abl тирозинкиназы, ее мутантной формы T^{315I}, серин/треонин специфической протеинкиназы mTOR и тирозинкиназы JAK2 – ферментов, играющих важную роль в развитии хронических форм миелоидного лейкоза. В то время как Bcr-Abl протеинкиназа непосредственно связана с прогрессированием ХМЛ, активность протеинкиназ mTOR и JAK2 охватывает большую группу различных лейкозов и связана с резистентностью опухолей к ингибиторам и с пролиферацией опухолевых клеток [2].

1. Методология исследования

Методология дизайна мультитаргетных ингибиторов протеинкиназ базировалась на объединении 2-ариламинопиримидинового фрагмента – основного фармакофора ингибиторов Bcr-Abl тирозинкиназы иматиниба и нилотиниба – с различными фрагментами азотсодержащих гетероциклических молекул, способных усиливать аффинность связывания лигандов за счет образования дополнительных прямых межатомных контактов с молекулярной мишенью. Для конструирования химерных молекул варьировали фармакофы в кислотном остатке амидов, изменяли положение заместителей в ариламинопиримидине, а также положение NH и NHCO групп. В результате были сконструированы структуры 126 амидов, эффективность связывания которых с протеинкиназами оценивали методом молекулярного докинга. Для генерации двумерных проекций координат атомов молекул использовали химический редактор ChemDraw 18.0 (<https://perkinelmerinformatics.com/products/research/chemdraw>), а затем с помощью программы Open Babel 2.4.1 рассчитывали трехмерные структуры этих соединений с последующей оптимизацией их геометрии и минимизацией энергии в силовом поле UFF (http://openbabel.org/wiki/Main_Page).

Молекулярный докинг. Подготовку соединений для молекулярного докинга осуществляли с помощью программного пакета MGLTools (<https://ccsb.scripps.edu/mgltools/>). Молекулярный докинг проводили с использованием программы AutoDock Vina (<https://vina.scripps.edu>) в приближении жесткого рецептора и гибких лигандов. Трехмерные структуры протеинкиназ Bcr-Abl, Bcr-Abl^{T315I}, mTOR и JAK2 заимствовали из Банка данных белков (<https://www.rcsb.org>; PDB ID: 3KFA, 3OY3, 4JT5, 3KRR соответственно). Ячейки для докинга охватывали АТФ-связывающие сай-

ты киназ. Параметр, характеризующий полноту поиска (охват конформационного пространства), был задан равным 100 (<https://vina.scripps.edu>).

Оценка аффинности связывания для комплексов лиганд/киназа. Значения свободной энергии связывания лигандов с протеинкиназами рассчитывали с помощью классической оценочной функции (ОФ) AutoDock Vina (<https://vina.scripps.edu>) и двух функций машинного обучения – RF-Score-4 (<https://pjballester.wordpress.com/software/>) и NNScore 2.0 (<https://git.durrantlab.pitt.edu/jdurrant/nnscore2>). Затем для всех соединений определяли их ранги для каждой мишени согласно значению ОФ и на основе этих данных вычисляли величину экспоненциального консенсусного ранга (ECR) по формуле (1) [3]:

$$ECR = \sum_{sf} \frac{1}{\sigma_{sf}} * \exp \left\{ -\frac{rank_{sf}}{\sigma_{sf}} \right\} \quad (1)$$

где $rank_{sf}$ – ранг соединения по данным ОФ sf ; σ_{sf} – параметр, контролирующий влияние ОФ на результаты консенсусного отбора (при расчетах ECR для всех рассматриваемых ОФ значение σ_{sf} задавали равным 10, предполагая, что их вклады в суммарную величину ECR одинаковы).

На заключительном шаге для всех лигандов рассчитывали перекрестный экспоненциальный консенсусный ранг (crossECR) по формуле (2):

$$crossECR(lig) = \sum_{prot} \frac{ECRrank_{prot}(lig)}{\max_{lig} \{ECRrank_{prot}(lig)\}} \quad (2)$$

где $ECRrank_{prot}$ – групповой ранг лиганда i для k -ой мишени, рассчитанный с использованием величин ECR. Лиганды, имевшие более низкие по сравнению с контрольными соединениями значения crossECR, относили к группе перспективных кандидатов на роль мультитаргетных противоопухолевых соединений, способных эффективно блокировать АТФ-связывающие сайты протеинкиназ Vcr-Abl, Vcr-Abl^{T315I}, mTOR и JAK2. В качестве контрольных соединений в расчетах использовали следующие ингибиторы: иматиниб и нилотиниб для Vcr-Abl киназы, понатиниб – для ее мутантной формы Vcr-Abl^{T315I}, торкиниб (PP242) – для протенкиназы mTOR и федратиниб – для тирозинкиназы JAK2.

2. Результаты и их обсуждение

В результате проведенных расчетов были отобраны четыре соединения-лидера (рис. 1), которые проявляют высокую аффинность связывания с АТФ-связывающими сайтами Vcr-Abl, Vcr-Abl^{T315I}, mTOR и JAK2 и, согласно данным перекрестного экспоненциального консенсусного ранжи-

рования, характеризуются более низкими величинами crossECR по сравнению с ингибиторами протеинкиназ, использованными в качестве контрольных соединений (табл. 1).

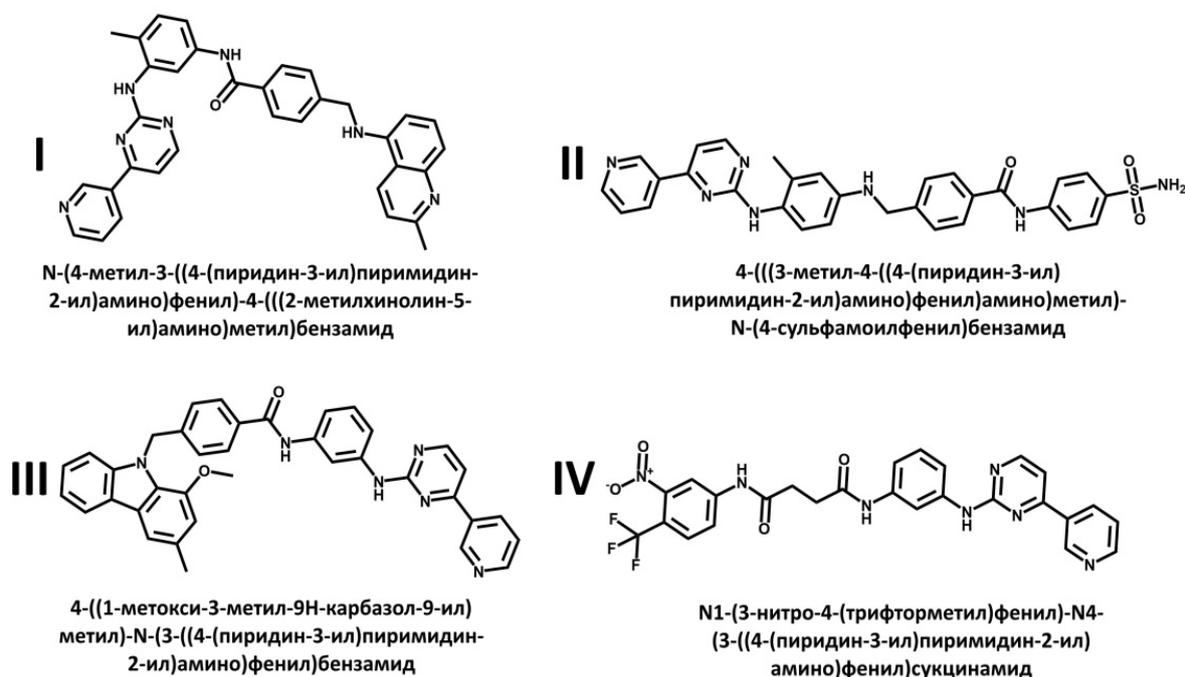


Рисунок 1 – Химические структуры четырех соединений, лучших по значению перекрестного экспоненциального консенсусного ранга. Приведены названия соединений в соответствии с систематической номенклатурой ИЮПАК

Анализ структурных комплексов лиганд/киназа свидетельствуют о том, что идентифицированные соединения характеризуются близким механизмом взаимодействия с АТФ-связывающими сайтами рассматриваемых протеинкиназ, основу которого формируют ван-дер-ваальсовы силы, водородные связи, π - π -стэкинг и катион- π взаимодействия. При этом доминирующую роль в стабилизации структурных комплексов играют многочисленные ван-дер-ваальсовы контакты, в которые вовлечены функционально важные остатки активных центров ферментов. В частности, лиганд I (рис. 1), характеризующийся во всех рассматриваемых случаях более низкими, по сравнению с контрольными ингибиторами, значениями свободной энергии связывания, формирует широкую сеть ван-дер-ваальсовых взаимодействий, а также водородные связи с остатками Asp-381 (Bcr-Abl киназа), Glu-286 (Bcr-Abl^{T315I}), Val-865, (mTOR) и , His-994 (JAK2).

Таблица 1. Значения свободной энергии связывания ΔG , рассчитанные для комплексов соединений I–IV с протеинкиназами Bcr-Abl (1), Bcr-Abl^{T315I} (2), mTOR (3) и JAK2 (4) с помощью оценочных функций Vina, RFScore4 и NNScore 2.0, и соответствующие величины crossECR.

Лиганд	ΔG_{VINA} , ккал/моль				$\Delta G_{\text{RFScore4}}$, ккал/моль				$\Delta G_{\text{NNScore2.0}}$, ккал/моль				cross ECR
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
I	-12,7	-11,8	-10,0	-12,1	-11,5	-11,5	-11,6	-10,4	-12,6	-11,4	-10,7	-13,3	0,41
II	-12,3	-10,6	-9,2	-10,2	-11,5	-11,3	-11,1	-11,1	-13,1	-11,7	-11,4	-12,4	0,44
III	-13,1	-11,0	-10,0	-11,5	-11,4	-11,6	-11,1	-10,5	-10,3	-10,8	-10,6	-12,6	0,44
IV	-11,5	-10,3	-9,0	-10,1	-11,3	-11,2	-11,1	-11,1	-11,6	-12,0	-11,0	-12,4	0,58
понати- ниб	-12,0	-12,2	-8,4	-10,7	-11,4	-11,3	-10,4	-11,3	-12,2	-12,3	-11,6	-9,1	0,88
федра- тиниб	-10,3	-8,8	-8,4	-9,8	-11,2	-10,9	-10,7	-11,2	-12,7	-9,5	-8,6	-12,4	1,6
торки- ниб	-8,5	-8,7	-8,2	-8,6	-10,0	-9,6	-10,2	-10,1	-9,2	-6,8	-9,3	-7,4	3,5

Наряду с водородными связями, этот лиганд участвует в катион- π -взаимодействии с остатком Lys-271 Bcr-Abl^{T315I}, а также с остатками Lys-812 и His-965 mTOR. Кроме этого, соединение I образует π -стэкинг с π -сопряженными системами ароматических остатков Tyr-253 и Phe-359 Bcr-Abl, Phe-317 и His-361 Bcr-Abl^{T315I}, Tyr-2225, Trp-2239 и His-2340 mTOR и Tyr-934 JAK2.

Таким образом, результаты молекулярного докинга (табл. 1) позволяют предположить, что соединения I–IV (рис. 1) могут быть потенциально активными по отношению к АТФ-связывающим сайтам протеинкиназ Bcr-Abl, Bcr-Abl^{T315I}, mTOR и JAK2 и, поэтому, обладать мультикиназным профилем ингибиторной активности. Безусловно, при анализе результатов молекулярного докинга следует иметь в виду, что этот подход к моделированию структуры комплексов белков с лигандами и к оценке энергии межмолекулярных взаимодействий использует различные приближения. Тем не менее, сравнительный анализ данных об аффинности связывания комплексов лиганд/киназа, полученных с привлечением трех различных оценочных функций, показывает (табл. 1), что подход, использованный в настоящем исследовании, позволил избежать ложноположительных результатов и корректно оценить силу межмолекулярных взаимодействий. В связи с этим, идентифицированные соединения могут

представлять интерес для дальнейшего экспериментального анализа с целью подтверждения *in vitro* их *in silico* свойств.

Заключение

Данные молекулярного моделирования показывают, что идентифицированные методами молекулярного моделирования производные 2-ариламинопиримидинового ряда (рис. 1) могут быть использованы в качестве перспективных базовых структур для разработки новых мульти-таргетных противоопухолевых препаратов, терапевтическое действие которых основано на совместной блокаде протеинкиназ Vcr-Abl, Vcr-Abl^{T315I}, mTOR и JAK2, играющих важную роль в развитии ХМЛ.

Работа выполнена в рамках задания 3.4.1. «Разработка новых противоопухолевых и противовирусных органических соединений с использованием методов компьютерного моделирования, машинного обучения и химического синтеза» ГПНИ «Конвергенция-2025»

Библиографические ссылки

1. Proschak E., Stark H., Merk A. Polypharmacology by Design: A Medicinal Chemist's Perspective on Multitargeting Compounds // J. Med. Chem. 2019. № 62(2). P. 420–444.
2. Mogni L., Marzaro G., Redaelli S., Zamboni A. Dual Kinase Targeting in Leukemia // Cancers (Basel). 2021. № 13(1). P. 119. doi: 10.3390/cancers13010119.
3. Palacio-Rodriguez K., Lans I., Cavasotto C.N., Cossio P. Exponential consensus ranking improves the outcome in docking and receptor ensemble docking // Scientific Reports. 2019. № 9(1). P. 5142. doi: 10.1038/s41598-019-41594.