### ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ BCR-ABL ТИРОЗИНКИНАЗЫ МЕТОДАМИ ВИРТУАЛЬНОГО СКРИНИНГА И МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

### А.В. Гончар

Белорусский государственный университет, г. Минск; raphaelkyzy@gmail.com; науч. рук. – Николаев Г.И., ст. преп.

В данной работе осуществлен поиск потенциальных ингибиторов нативной и мутантной (T315I) форм Bcr-Abl тирозинкиназы на основе фармакофорной модели комплекса данного белка с известным ингибитором нилотинибом методами молекулярного моделирования. В результате исследования были идентифицированы десять соединений-лидеров, которые согласно расчетным данным, могут послужить базовыми структурами для разработки на их основе эффективных потенциальных ингибиторов каталитического домена Bcr-Abl тирозинкиназы.

*Ключевые слова:* хронический миелоидный лейкоз; Bcr-Abl тирозинкиназа; ингибиторы; виртуальный скрининг; молекулярный докинг.

#### введение

Хронический миелоидный лейкоз — это рак клеток крови, характеризующийся нерегулируемым делением зрелых гранулоцитов и сосредоточением их в крови и костном мозге, откуда затем они перемещаются и образуют скопления в других жизненно важных органах, например, печени или селезенке [1]. На данный момент не существует лекарства, способного вылечить эту болезнь, но успешно применяется таргетная терапия ингибиторами тирозинкиназы, которая позволяет значительно продлить жизнь человека, страдающего миелолейкозом. Причиной хронического миелолейкоза является хромосомная мутация, приводящая к появлению химерного белка Bcr-Abl тирозинкиназы, который постоянно находится в активном состоянии и вызывает непрерывное деление иммунной клетки. Существует ряд эффективных ингибиторов тирозинкиназы, таких как иматиниб, нилотиниб, понатиниб. Но первые два не эффективны против специфической мутантной T315I (остаток треонина в положении 315 изменяется на остаток изолейцина) формы тирозинкиназы. На сегодняшний день из одобренных ингибиторов только понатиниб успешно воздействует на данную мутантную форму.

Целью данной работы является поиск потенциальных ингибиторовнативной и мутантной (T315I) форм Bcr-Abl тирозинкиназы. Для этого были использованы такие методы молекулярного моделирования как виртуальный скрининг, молекулярный докинг, молекулярная динамика.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Первым этапом исследования являлся виртуальный скрининг, гипотезой для которого выступала фармакофорная модель на основе уже известного мощного ингибитора, лекарственного препарата, нилотиниба. Для ее построения были проанализированы рентгенографические исследования комплекса Bcr-Abl/нилотиниб [1] и фармакофорная модель нилотиниба для Bcr-Abl тирозинкиназы, полученная с помощью подхода 3D-QSAR [2]. Непосредственно построение фармакофорной модели (табл. 1) и виртуальный скрининг проводились с помощью веб-сервиса Pharmit [3], в качестве входных данных были загружены нативная форма тирозинкиназы и нилотиниб из комплекса 3сs9 базы данных PDB.

Таблица 1

Тип фармакофора	Х	Y	Z	Радиус (Å)
Ароматический	33,09	0,45	52,07	1,1
Донор ВС	25,94	3,23	53,06	0,5
Акцептор ВС	35,2	-2,63	48,66	0,5
Акцептор ВС	27,37	3,05	51,31	0,5
Гидрофобный	33,09	0,45	52,07	1,0

Фармакофорная модель на основе нилотиниба

В результате виртуального скрининга было идентифицировано 32807 соединений, удовлетворяющих «правилу пяти» Липинского [4].

Для анализа взаимодействия отобранных соединений с молекулярной мишенью (нативной и мутантной формами тирозинкиназы) был проведен молекулярный докинг. В качестве эталонных ингибиторов для нативной формы рассматривался нилотиниб, а для мутантной – структурный аналог понатиниба AP24589, полученный из файла 30у3 комплекса Bcr-Abl (T315I) / AP24589 в PDB. Молекулярный докинг осуществлялся с помощью программы QuickVina 2 [5] в полужестком приближении (подвижный лиганд, фиксированный белок). Параметр глубины конформационного поиска лиганда был принят равным 150.

Для комплексов белок-лиганд, образованных 100 лучшими по результатам докинга соединениями, была рассчитана константа диссоциации с помощью нейросетевой оценочной функции NNScore 2.0 [6]. На основе четырех оценок было выделено 10 соединений-лидеров. В таблице 2 представлены их физико-химические параметры. Результаты докинга представлены в таблице 3.

#### Таблица 2

# Химические соединения, потенциальные ингибиторы нативной и мутантной (T315I) форм Bcr-Abl тирозинкиназы

Лиганд	Химическая	Молекуляр-	Число доноров	Число акцепто-	LogP
	формула	ная масса (Да)	водородной	ров водородной	
			связи	связи	
1	$C_{27}H_{25}N_3O_3$	439,5	2	6	3,8
2	$C_{24}H_{23}N_3O_2$	385,5	2	5	3,57
3	$C_{23}H_{22}N_4O_2$	386,5	2	6	2,15
4	$C_{21}H_{22}N_4O_2S$	394,2	2	6	3,27
5	$C_{20}H_{20}N_4O_2S$	380,2	2	6	2,9
6	$C_{21}H_{22}N_4O_2S$	394,2	2	6	3,3
7	$C_{25}H_{25}N_5O_2S$	459,6	3	6	3,6
8	$C_{22}H_{24}N_6O_4$	436,5	2	7	1,6
9	$C_{22}H_{24}N_6O_3$	420,5	2	6	2,9
10	$C_{21}H_{22}N_6O_4$	422,4	2	7	1,8

Таблица 3

## Оценка свободной энергии связывания с использованием метода MM/GBSA, результаты молекулярного докинга и NNScore2.0

Лиганд	$<\Delta H \pm (\Delta H)_{STD}>$	$\Delta { m G}$ (докинг)	<⊿H ±	$\Delta G$ (докинг)
	(ккал/моль)	(ккал/моль)	$(\Delta H)_{STD}>$	(ккал/моль)
	(Bcr-Abl)	(Bcr-Abl)	(ккал/моль)	(T315I)
			(T315I)	
Нилоти-	-47,88 ± 4,06	-15,1	$-41,19 \pm 3,21$	-10,8
ниб				
AP24589	$-56,1 \pm 4,17$	-11,4	-56,15 ± 4,61	-12,6
1	$-42,20 \pm 3,88$	-13,8	$-50,88 \pm 3,69$	-12,3
2	$-47,8 \pm 3,03$	-12,3	$-44,23 \pm 3,52$	-11,1
3	$-42,7 \pm 3,07$	-11,8	$-40,26 \pm 3,46$	-10,9
4	$-43,0 \pm 3,04$	-12,3	$-38,08 \pm 2,51$	-11,1
5	$-39,54 \pm 3,00$	-12,0	$-43,72 \pm 3,36$	-11,3
6	$-42,16 \pm 2,66$	-11,9	$-50,65 \pm 3,13$	-11,2
7	$-49,69 \pm 3,68$	-11,9	$-37,09 \pm 3,83$	-10,9
8	$-43,74 \pm 3,08$	-11,8	$-38,98 \pm 3,40$	-10,8
9	$-47,51 \pm 3,14$	-11,9	$-35,22 \pm 3,95$	-11,1
10	$-44,5 \pm 3,29$	-12,0	$-39,03 \pm 4,0$	-10,9

Для лучших 10 соединений была проведена молекулярная динамика с помощью пакета программ Amber [7], в расчетах для лиганда было использовано силовое поле GAFF, для белка FF14SB. Явным растворителем выступал раствор воды модели TIP3P, молярной силой 0.15 М. После этапа подготовки был выполнен расчет молекулярной динамики длительностью 30 нс в рамках ансамбля NPT при температуре 310 К и давлении 1.0 бар. Оценка свободной энергии связывания без учета энтропийного

вклада рассчитывалась с помощью программы Amber MMPBSA.py с использованием метода MM/GBSA [8] по фреймам траекторий, соответствующим последним 25 нс динамики и шагу 0.125 нс. Результаты представлены в таблице 3.

По итогам данной работы, с учётом оценки энергии связывания, полученной с помощью метода молекулярной динамики, из 10 наилучших идентифицированных соединений было решено выделить три потенциальных ингибитора для нативной формы (2, 7, 9), два для мутантной (1, 6), а также было найдено одно соединение (2), которое с большой вероятностью будет ингибировать обе формы тирозинкиназы.

#### Библиографические ссылки

- 1. Sabitha K. Nilotinib based pharmacophore models for BCRABL. Bioinformation. 2012;8(14):658-663. doi: 10.6026/97320630008658
- 2. Weisberg E., Manley P., Mestan J. AMN107 (nilotinib): a novel and selective inhibitor of BCR-ABL. Br J Cancer 94, 1765–1769 (2006). doi: 10.1038/sj.bjc.6603170.
- 3. *Sunseri J., & Koes D. R.* Pharmit: interactive exploration of chemical space. Nucleic Acids Research, 2016, 44(W1), W442–W448. doi: 10.1093/nar/gkw287.
- 4. *Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Advanced Drug Delivery Reviews. 2001 March 1, 46(1-3), 3–26. doi: 10.1016/s0169-409x(00)00129-0.
- Hassan N. M., Alhossary A. A., Mu Y., Kwoh, C.-K. ProteinLigand Blind Docking Using QuickVina-W With Inter-Process Spatio-Temporal Integration. Scientific Reports, 2017 Nov 13, 7(1). doi: 10.1038/s41598-017-15571-7.
- 6. *Jacob D. Durrant and J. Andrew McCammon.* Nnscore 2.0: A neural network receptor– ligand scoring function. Journal of Chemical Information and Modeling 2011, 51(11):2897–2903. doi: 10.1021/ci2003889.
- D.A. Case, K. Belfon, I.Y. Ben-Shalom, S.R. Brozell, D.S. Cerutti, T.E. Cheatham, III, V.W.D. Cruzeiro, T.A. Darden, R.E. Duke, G. Giambasu, M.K. Gilson, H. Gohlke, A.W. Goetz, R Harris, S. Izadi, S.A. Izmailov, K. Kasavajhala, A. Kovalenko, R. Krasny, T. Kurtzman, T.S. Lee, S. LeGrand, P. Li, C. Lin, J. Liu, T. Luchko, R. Luo, V. Man, K.M. Merz, Y. Miao, O. Mikhailovskii, G. Monard, H. Nguyen, A. Onufriev, F. Pan, S. Pantano, R. Qi, D.R. Roe, A. Roitberg, C. Sagui, S. Schott-Verdugo, J. Shen, C.L. Simmerling, N.R. Skrynnikov, J. Smith, J. Swails, R.C. Walker, J. Wang, L. Wilson, R.M. Wolf, X. Wu, Y. Xiong,Y. Xue, D.M. York and P.A. Kollman (2020), AMBER 2020, University of California, San Francisco.
- 8. *Rastelli G., Rio A. D., Degliesposti G., Sgobba M.* Fast and accurate predictions of binding free energies using MM-PBSA and MM-GBSA. Journal of Computational Chemistry, 2010. – Vol. 31, No 4. – P. 797-810. doi: 10.1002/jcc.21372.