

УДК 615.011.5

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

DOI: 10.37903/vsgma.2021.1.5

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РИАМИЛОВИРА С N-ЦЕПЬЮ БЕЛКА HSP90A© Федулова К.Д.¹, Изможерова Н.В.¹, Иванова А.В.²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, 620028, Екатеринбург, ул. Репина, 3

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Россия, 634050, Томск, пр. Ленина, 36

Резюме

Цель. Провести молекулярный докинг противовирусного препарата риамиловир с N-цепью белка HSP90α.

Методика. Молекулярный докинг проводился при помощи программного обеспечения AutoDock Tools 1.5.6. Для визуальной оценки результатов использовалось программное обеспечение the PyMOL Molecular Graphics System 1.8.4.0. Использовалась рентгеноструктурная кристаллография белка HSP90α N-цепь в комплексе с лигандом FJ5 в формате PDB из базы данных Исследовательской коллаборации структурной биоинформатики (PDB ID: 5XRB). Структура риамиловира в формате SDF была взята из открытой базы данных PubChem, PubChem CID: 3113817, и затем была конвертирована из формата SDF в формат PDB при помощи Open Babel 2.4.1.

Результаты. В результате проведения молекулярного докинга N-цепи белка HSP90α с лигандом риамиловир были получены конформации, которые были разделены на 20 кластеров, минимальная энергия связывания равнялась -5.06 ккал/моль. При формировании комплекса «белок-лекарство» возможно образование водородных и Ван-дер-Ваальсовых связей с близлежащими аминокислотными остатками.

Заключение. Результаты молекулярного докинга риамиловира с N-цепью белка HSP90α подтверждает возможность данного взаимодействия.

Ключевые слова: риамиловир, молекулярный докинг, HSP90α

MODELING THE INTERACTION OF RIAMILOVIR WITH THE N-CHAIN OF THE HSP90A PROTEINFedulova K.D.¹, Izmozherova N.V.¹, Ivanova A.V.²

¹Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Ural state medical university» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 3, Repina St., 620028, Ekaterinburg, Russia

²Federal State Budget Educational Institution of Higher Education Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, 6, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russia

Abstract

Objective. To perform molecular docking between the antiviral drug riamilovir and N-chain HSP90α.

Methods. Molecular docking was performed using software AutoDock Tools 1.5.6. Binding pockets of this protein were examined from crystal structures and were evaluated using the PyMOL Molecular Graphics System 1.8.4.0. X-ray crystallographic structure of HSP90, complex of HSP90α N-domain with the HSP90 inhibitor FJ5 (PBD ID: 5XRB) was used. The structure of riamilovir was taken from PubChem database, PubChem CID: 3113817, and then converted from SDF into PBD format with Open Babel 2.4.1.

Results. As a result of molecular docking of HSP90α N-domain with riamilovir conformations were obtained and divided into 20 clusters; the minimum binding energy was -5.06 kcal/mol. During the the formation of the protein-drug complex, the formation of hydrogen and van der Waals bonds with nearby amino acid residues is possible.

Conclusion. The results of the molecular docking of riamilovir with the N-chain of the HSP90 α protein confirms the possibility of this interaction.

Keywords: riamilovir, molecular docking, HSP90

Введение

Противовирусный препарат риамиловир относится к азолоазинам и структурно напоминает основания пуринового ряда, таким образом он может выступать в качестве антиметаболита, что определяет его потенциально широкий спектр активности. В частности, сходство с пуринами определяет сродство риамиловира к пуриновым сайтам N-цепи белка HSP90 [2, 7].

Белки теплового шока 90 (Human shock protein 90, HSP90) являются перспективным объектом для изучения, в частности, цитоплазматическая изоформа HSP90 α участвует в различных физиологических и патологических процессах, включая сигнальную функцию внутри клетки, регуляцию апоптоза, поддержание цитоскелета, участие в жизненном цикле вирусов гепатита В и С, вируса папилломы человека и другие [9, 13].

На сегодняшний день уже известны несколько ингибиторов белка HSP90: геладанамидин и его производные, обладающие противовирусной и противоопухолевой активностью. Однако клинические исследования на данный момент откладываются, из-за низкой биодоступности и гепатотоксичности [3]. Таким образом поиск новых лекарственных молекул с активностью в отношении белка HSP90 α остается актуальным вопросом.

Возможной методикой исследования потенциальных ингибиторов белка HSP90 является молекулярного докинга, в результате которого возможно получение потенциальных комплексов (конформаций) «макромолекула-лиганд», вычисление энергии связывания и определение видов физико-химических взаимодействий [8].

Целью данной работы является проведение молекулярного докинга между N-цепи белка HSP90 α и риамиловиром.

Методика

Для проведения молекулярного докинга необходимы программное обеспечение, структуры макромолекулы и лиганда в формате PDB [8]. Для повышения точности молекулярного докинга оптимальным является использование контрольного лиганда, активность которого подтверждена в экспериментальных исследованиях.

Молекулярный докинг и оценка участков связывания проводились при помощи программного обеспечения AutoDock Tools 1.5.6. Для проведения таргетированного молекулярного докинга использовалась рентгеноструктурная кристаллография белка HSP90 α N-цепь в комплексе с лигандом FJ5 в формате PDB из базы данных Исследовательской коллаборации структурной биоинформатики (PDB ID: 5XRB, разрешение: 1.65 Å; R-фактор: 0.198).

Критериями выбора структуры были следующие параметры: максимальное разрешение, отсутствие мутаций в молекуле белка, подтвержденная ингибирующая способность в условиях *in vitro* и *in vivo* экспериментов [7]. Для визуальной оценки экспериментального взаимодействия между N-цепью белка HSP90 α и лиганда FJ5 использовалось программное обеспечение the PyMOL Molecular Graphics System 1.8.4.0. При помощи the PyMOL Molecular Graphics System 1.8.4.0 был определен участок связывания лиганда с ближайшими аминокислотами.

Структура риамиловира в формате SDF была взята из открытой базы данных PubChem, PubChem CID: 3113817, и затем была конвертирована из формата SDF в формат PDB при помощи Open Babel 2.4.1.

Для подготовки выбранных молекул для молекулярного докинга использовалось программное обеспечение AutoDock Tools 1.5.6: были удалены молекулы воды, неполярные ионы водорода, неподеленные пары электронов и нестандартные аминокислотные остатки; были добавлены заряды Гаштейгера и водороды. После подготовки N-цепь белка HSP90 α и лиганд FJ5 были разделены и сохранены по отдельности в формате PDB. Молекула риамиловира была подготовлена таким же образом, в обоих лигандах все связи, которые могут быть вращаемыми, были установлены как вращаемые.

Были заданы стандартные параметры для докинга: коэффициент масштабирования Ван-дер-Ваальса был установлен по умолчанию и равнялся 1.00, температура 298.15 К, число вероятных конформаций 1000.

Результаты исследования

Конформации, полученные в результате проведения повторного докинга N-цепи белка HSP90 α с лигандом FJ5, были разделены на 15 кластеров, энергия связывания варьировалась от -8.31 до -6.83 ккал/моль. Было установлено, что в лучшей конформации (рис. 1) следующие аминокислотные остатки N-цепи белка HSP90 α связываются с лигандом FJ5: ASN51, ALA55, ASP93, PHE138, TYR139, TRP182, THR184, включая водородные связи с ASP93, ASN51, PHE138 и Ван-дер-Ваальсовы связи со всеми близлежащими аминокислотными остатками. Катионные π -связи, π -связи, Т-образные взаимодействия не были обнаружены.

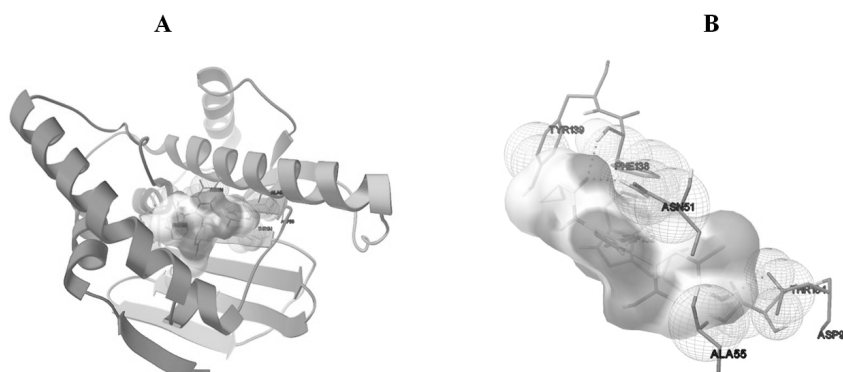


Рис. 1. А – трехмерная молекулярная структура: FJ5 в участке связывания с HSP90 α N-цепь. В – FJ5 и аминокислотные остатки: водородные связи с ASP93, ASN51, PHE138 и Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия с ASN51, ALA55, ASP93, PHE138, TYR139, TRP182, THR184

В результате проведения докинга N-цепи белка HSP90 α с лигандом риамилловир были получены конформации, которые были разделены на 20 кластеров, минимальная энергия связывания равнялась -5.06 ккал/моль. В лучшей конформации HSP90 α N-цепь с «Триазавирином» демонстрировала, что участок связывания формируют аминокислотные остатки: GLN23, ILE26, ILE104, LEU103, GLY108, PHE138, TYR139, TRP162, PHE170, включая водородную связь с GLN23 и Ван-дер-Ваальсовы связи со всеми близлежащими аминокислотными остатками (рис. 2). Катионные π -связи, π -связи, Т-образные взаимодействия не были обнаружены.

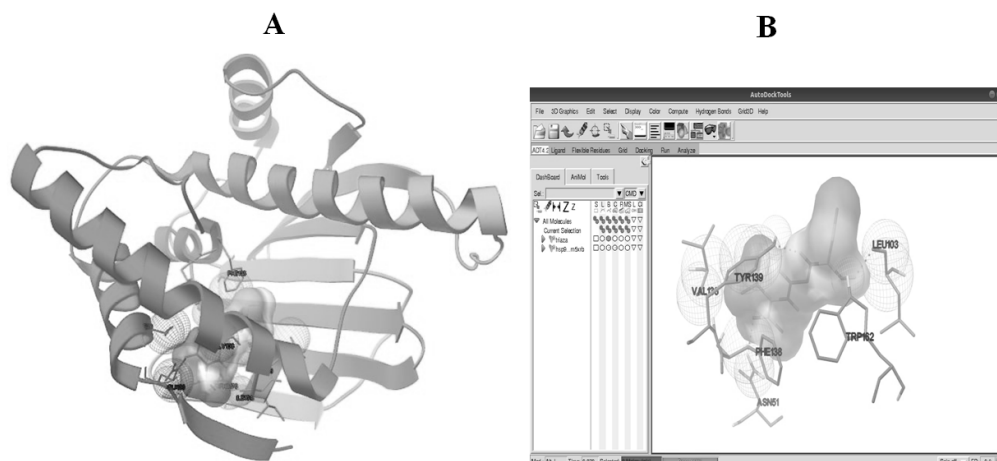


Рис. 2. А – трехмерная молекулярные структура: риамилловир в участке связывания с HSP90 α N-цепь. В – риамилловир с аминокислотными остатками: водородный мостик с GLN23 и Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия с GLN23, ILE26, ILE104, LEU103, GLY108, PHE138, TYR139, TRP162, PHE170

Обсуждение результатов исследования

Не смотря на некоторые ограничения, молекулярный докинг является хорошо изученным и экспериментально валидированным методом для изучения новых возможных взаимодействий между лекарственными молекулами и мишенями [11]. Кроме того, молекулярный докинг незаменим как инструмент для идентификации участка связывания в комплексе «макромолекула-лиганд», что в дальнейшем позволяет прогнозировать побочные эффекты [10]. Эта информация позволяет в дальнейшем оптимизировать строение лекарственной молекулы для предупреждения нежелательных взаимодействий [12].

Установление участка связывания контрольного лиганда 5FJ с N-цепью белка HSP90 α , дает возможность уточнить активный центр макромолекулы и проводить докинг в конкретном участке. Сравнение результатов молекулярного докинга потенциального ингибитора HSP90 риамиловира с результатами молекулярного докинга с «реальным» ингибитором 5FJ, позволяют более точно предсказать возможность взаимодействия риамиловира с HSP90.

Процесс оценки результатов докинга включает анализ полученных энергий связывания, лучшей энергией связывания считается наименьшая [6]. Энергия связывания складывается из тех взаимодействий, которые возможны в конкретном комплексе «макромолекула – лиганд», то есть учитываются: водородные связи, электростатические взаимодействия, десольватация, дисперсия, отталкивание и другие [6].

Лучшая энергия связывания контрольного лиганда с целевой молекулой составила -8,31 ккал/моль, в формировании участвовали водородные связи и Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия. По результатам докинга риамиловира с N-цепью белка HSP90 α была получена лучшая энергия равная -5,2 ккал/моль, в которой так же были Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия и водородная связь. Наличие водородных связей в комплексе «макромолекула – лиганд» говорит о высокой аффинности между обоими молекулами и потенциальной стабильности данного комплекса в реальных условиях [6].

На сегодняшний день риамиловир включен в рекомендации «Грипп у взрослых» и во временные методические рекомендации «Лекарственная терапия острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) в амбулаторной практике в период эпидемии COVID-19» [1, 4]. Данные о возможном взаимодействии риамиловира с белком HSP90 α , полученные при помощи молекулярного докинга, расширяют потенциальные показания и открывают дорогу для будущего репозиционирования риамиловира.

Аккумуляция данных доклинических исследований, включая исследования *in silico*, *in vitro* и *in vivo*, позволяет репозиционировать лекарственные средства [10]. Также применение компьютерных технологий позволяет сокращать длительность и стоимость исследований лекарственных средств [5]. Стремительное увеличение объема знаний в области молекулярной биологии и совершенствование вычислительных алгоритмов дают возможность более качественно использовать компьютерные технологии на доклиническом этапе исследований лекарственных молекул [12].

Заключение

На сегодняшний день, использование компьютерных технологий позволяет получить дополнительные данные о фармакодинамических и фармакокинетических свойствах лекарственных молекул. Результаты молекулярного докинга риамиловира с N-цепью белка HSP90 α значительно дополняют фармакодинамический профиль риамиловира, поскольку подтверждают возможность образования комплекса «макромолекула-лиганд». Наличие водородной связи предполагает, что полученное взаимодействие возможно в реальных условиях и комплекс «макромолекула-лиганд» будет стабилен. Данные молекулярного докинга позволяют планировать дальнейшие исследования противовирусной и противоопухолевой активности риамиловира на клеточных культурах и лабораторных животных. Кроме того, возможно внесение модификаций в молекулу риамиловира для улучшения связи препарата с N-цепью белка HSP90 α для усиления эффектов препарата.

Литература (references)

1. Временные методические рекомендации «Лекарственная терапия острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) в амбулаторной практике в период эпидемии COVID-19». – 2020. URL:https://static-0.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/050/033/original/RESP_REC_V2.pdf [Vremennyye metodicheskie rekomendacii «Lekarstvennaya terapiya ostryh respiratornyh virusnyh infekcij (ORVI) v ambulatornoj praktike v period epidemii COVID-19». – 2020. URL:https://static-0.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/050/033/original/RESP_REC_V2.pdf (in Russian)]
2. Киселев О.И. Адаптация молекул к лекарственным мишеням: новая фармацевтическая платформа для разработки противовирусных и противораковых препаратов // Вести медицины. – 2015. – Т.3, №801. – С. 2-3. [Kiselev O.I. *Vesti meditsiny*. Medical news. – 2015. – V.3, N80. – P. 2-3. (in Russian)]
3. Медведева Н.Р. Химическое моделирование процессов возможных превращений in vivo противовирусного препарата «Триазавирин»: Дис. ... канд. хим. наук. – Екатеринбург, 2014. – 161 с. [Medvedeva N.R. *Xhimicheskoe modelirovanie protsessov vozmozhnykh prevrashcheniy in vivo protivovirusnogo preparata «Triazavirin»* (kand.dis.). Chemical modeling of the processes of possible in vivo transformations of the antiviral drug «Triazavirin» (Candidate Thesis). – Ekaterinburg, 2014. – 161 p. (in Russian)]
4. Федеральные клинические рекомендации «Грипп у взрослых». – 2017. URL:<http://nnoi.ru/uploads/files/Gripp2017.pdf>. [Federal'nye klinicheskie rekomendacii «Gripp u vzroslyh». – 2017. URL:<http://nnoi.ru/uploads/files/Gripp2017.pdf>. (in Russian)]
5. Chan H.C., Shan H., Dahoun T. Advancing Drug Discovery via Artificial Intelligence // Trends in Pharmacological Sciences. – 2019. – V.40, N3. – P. 592-604.
6. Chen D., Oezguen N., Urvil P. et al. Regulation of protein-ligand binding affinity by hydrogen bond pairing // Science Advances. – 2016. – V.2, N3. – e1501240.
7. Chen D., Shen A., et al. Discovery of potent N-(isoxazol-5-yl)amides as HSP90 inhibitors // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2014. – V.87. – P. 765-781.
8. Dar A.M., Mir S. Molecular Docking: Approaches, Types, Applications and Basic Challenges // Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques. – 2017. – V.8, N3. URL:<https://doi.org/10.4172/2155-9872.10003566>
9. Faridi N., Ghahghaei A. HSP90 structure and function in cancer // Gene, Cell and Tissue. – 2018. – V.5, N3. – e81887.
10. Liu B., He H., Luo H. et al. Artificial intelligence and big data facilitated targeted drug discovery // Stroke and Vascular Neurology. – 2019. – V.4 URL:<https://doi:10.1136/svn-2019-0002908>
11. March-Vila E., Pinzi L., Sturm N. et al. On the Integration of In Silico Drug Design Methods for Drug Repurposing // Frontiers in Pharmacology. – 2017. – V.8. URL:<https://doi:10.3389/fphar.2017.002987>
12. Naiem T.I., Evangelos V.B., Stephan S. Research Techniques Made Simple: Molecular Docking in Dermatology – A Foray into In Silico Drug Discovery // Journal of Investigative Dermatology. – 2019. – V.139. – P. 2400-2408.
13. Wang Y., Jin F., Wang R. et al. HSP90: a promising broad-spectrum antiviral drug target // Archives of Virology. – 2017. – V.162. – P. 3269-3282.

Информация об авторах

Федулова Ксения Дмитриевна – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: fedulova.k.d@gmail.com

Изможерова Надежда Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, заведующей кафедрой фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: nadezhda_izm@mail.ru

Иванова Анна Витальевна – магистр по специализации «Интеллектуальный анализ больших данных (биоинформатика)» ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» Минобрнауки России. E-mail: thornni56@gmail.com

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.