

ИЗУЧЕНИЕ МИШЕНЕЙ НОВОГО ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРЕПАРАТА ГРУППЫ ДИАРИЛХИНОЛИНОВ ТИОЗОНИДА



Шилов Борис Владимирович^{1,2}, Савченко Алла Юрьевна¹

1 - Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Российская Федерация, г. Москва;

2 - ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Минздрава России, г. Москва

ДИАРИЛХИНОЛИНО ТИОЗОНИДЛАР ГУРУҲИ СИЛГА ҚАРШИ ЯНГИ ДОРИ ВОСИТАЛАРИ НИШОНИНИ ҶРГАНИШ

Шилов Борис Владимирович^{1,2}, Савченко Алла Юрьевна¹

1 – Олий таълим Федерал давлат автоном таълим муассасаси “МИФИ” Миллий тадқиқот ядро университети, Россия Федерацияси, Москва ш.;

2 - Олий таълим Федерал давлат автоном таълим муассасаси Россия соғлиқни сақлаш вазирлигининг Н.И.Пирогов номидаги Россия Миллий тадқиқот тиббиёт университети, Москва ш.

STUDY OF TARGETS OF A NEW ANTI-TUBERCULOSIS DRUG OF THE DIARYLQUINOLINE GROUP THIOZONIDE

Shilov Boris Vladimirovich^{1,2}, Savchenko Alla Yurievna¹

1 - Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "National Research Nuclear University MEPhI", Russian Federation, Moscow;

2 - Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov of the Ministry of Health of Russia, Moscow

e-mail: info@kkmeduniver.uz

Резюме. Тиозонид диарилхинолинларга тегишли бўлиб, улар МЛУ-силни даволашда силга қарши дорилар роли учун энг яхши номзодлардан бири ҳисобланади, бу эса биоинформатика усулларида фойдаланган ҳолда тиозонид лиганднинг потенциал мақсадларини баҳолашнинг долзарблигига олиб келди. Танимото коэффитсиенти бўйича молекулаларнинг кимёвий ўхшашилик даражасига асосланиб, ўрганилаётган лиганднинг маълум мақсадларга таъсирини башорат қиладиган SEA қидирув хизмати. Ишда ChEMBL маълумотлар базасидан олинган ёзувлар ишлатилган, шунга ўхшаши бирикмалар Танимото коэффитсиенти ёрдамида қидирилган. Мумкин бўлган тиозонид мақсадларини башорат қилиши учун 6 хил молекуляр идентификатор (бармоқ излари) ва уларнинг 4 та комбинатсиясидан фойдаланган ҳолда PPV: Polypharmacology Browser for Target Prediction хизматидан фойдаланилган. Қидирув тиозониднинг бактериал оқсиллар билан боғланиши учун муҳим потенциални кўрсатди. Тиозониднинг мумкин бўлган мақсадлари PPV ёрдамида таҳлил қилинди: Polypharmacology Browser for Target Prediction in ChEMBL. Тиозониднинг кимёвий тузилиши асосида табассумлар форматда бошланган қидирув сўрови ChEMBL маълумотлар базасида тақдим этилган турли мақсадлар орасида ўрганилаётган бирикма билан ўзаро таъсир қилиши эҳтимоли энг юқори эканлигини аниқлашга имкон берди. Қидирув натижасида дастур турли хил микобактериялар, шу жумладан *M. tuberculosis* учун тиозониднинг энг юқори потенциал фаоллигини башорат қилди. Олинган қидирув маълумотларига кўра, тиозонид билан боғланиши чўнтаги билан энг кўп мақсадли бактериал АТФ синтазасининг суб бирлиги, АТФ синтези/гидролиз реактсиясини трансформатсия билан боғлаш орқали ҳужайра энергия алмашинуви жараёнларида асосий рол ўйнайдиган фермент ҳисобланади. мембрана протон узатиши. Баъзи инсон оқсиллари ушбу хизматда тиозонид молекуласи учун тахминий мақсад сифатида ҳам тахмин қилинган, аммо бу оқсилларнинг тиозонид учун нишон бўлиши эҳтимоли микобактерияларга қараганда анча паст.

Калит сўзлар: МЛУ-сил, тиозонид, оқсил-нишонлар.

Abstract. Thiosinide belongs to the diarylquinolines, which are considered to be one of the best candidates for the role of anti-TB drugs for the treatment of MDR-tuberculosis, which has led to the relevance of assessing potential targets

of the thiozonide ligand using bioinformatics methods. To predict drug targets, the SEA Search Service was used, which, based on the level of chemical similarity of molecules, by the Tanimoto coefficient, predicts the effect of the studied ligand on known targets. Records from the ChEMBL database were used in the work; similar compounds were searched for using the Tanimoto coefficient. To predict possible thiozonide targets, the PPB: Polypharmacology Browser for Target Prediction service was used, using 6 different molecular descriptors (Fingerprints) and 4 combinations thereof. The search showed a significant potential for thiozonide to bind to bacterial proteins. Possible targets of thiozonil were analyzed using the PPB: Polypharmacology Browser for Target Prediction in ChEMBL service. The search query initiated on the basis of the chemical structure of thiozonide in the smiles format made it possible to identify among the various targets presented in the ChEMBL database the most likely to interact with the compound under study. As a result of the search, the program predicted the greatest potential activity of thiozonide for various types of mycobacteria, including *M. tuberculosis*. According to the obtained data, the most likely target with a thiozonide binding pocket is a subunit of bacterial ATP synthase, an enzyme that plays a key role in the processes of cell energy exchange by coupling the reaction of ATP synthesis/hydrolysis with transmembrane proton transfer. Some human proteins were also predicted as putative targets for the thiozonide molecule in this service, however, the probability of being a target for thiozonide in these proteins is significantly lower than that in mycobacteria.

Keywords: MDR-tuberculosis, thiozonide, target proteins.

Актуальность. Новое лекарственное средство с рабочим названием тиозонид, по химической структуре представляющее собой {1R,2S+1S,2R}-1-(6-Бром-2-хлорхинолил-3-ил)-4-(диметиламино)-2-(нафталин-1-ил)-1-фенилбутан-2-ол, является одним из потенциальных противотуберкулезных препаратов (ППП), направленных на преодоление туберкулеза с множественной (МЛУ) или широкой (ШЛУ) лекарственной устойчивостью возбудителя. Он обладает противотуберкулезной активностью, сравнимой в монотерапии в эксперименте на мышах с генерализованной формой туберкулеза с таковой у рифампицином, который является препаратом 2-го ряда терапии. [1,2]. Учитывая, что тиозинид относится к диарилхинолинам, которые принято считать одними из оптимальных кандидатов на роль ППП для лечения МЛУ- туберкулеза [5], актуальным является изучение потенциала его влияния на *M. tuberculosis*.

В этой связи целью настоящего исследования явилась оценка потенциальных мишеней тиозонида при помощи методов биоинформатики.

Материалы и методы. Поскольку в исследовании необходимо использовать химическую формулу вещества, представленную в определенном формате, был применен редактор химических соединений Marvin Sketch компании ChemAxon, в котором были созданы файлы, описывающие структурную формулу препарата Тиозонид в нескольких форматах: mol, inchi, sdf и smiles. Они использовались в качестве запросов к базам данных или сервисам, связанным с поиском предполагаемых мишеней к тиозониду, а также применялись для моделирования в качестве исследуемого лиганда [6].

Для предсказания мишеней лекарств был использован сервис SEA Search Service который на основании уровня химического сходства молекул, по коэффициенту Танимото, предсказывает действие изучаемого лиганда на известные мишени. Данный сервис разработан Shoichet Laboratory

in the Department of Pharmaceutical Chemistry at the University of California, San Francisco (UCSF). Сервис Similarity ensemble approach (SEA) доступен по адресу <http://sea.bkslab.org/> [4].

В работе использованы записи базы данных ChEMBL, в которой содержится информация о значительном количестве мишеней (на сегодняшний день около 15 тысяч мишеней), более двух миллионов соединений, о которых известно более 19 миллионов изученных активностей в отношении мишеней. В базе проводили поиск подобных соединений с использованием коэффициента Танимото [3].

Для предсказания возможных мишеней тиозонида использовали сервис PPB: Polypharmacology Browser for Target Prediction in ChEMBL, расположенный на сайте <http://gdbtools.unibe.ch:8080/PPB/browser.html>.

При поиске формировали запрос на основе химической структуры в формате smiles и производили поиск среди мишеней, представленных в базе данных ChEMBL, наиболее вероятных молекул для взаимодействия с тиозонидом. Polypharmacology browser производил поиск используя данные о 4613 группах, содержащих по меньшей мере 10 биоактивных молекул, испытанных на заданную биологическую мишень. При этом использовались 6 разных молекулярных описателей (Fingerprints) и 4 их комбинации (рис. 1).

Были использованы следующие молекулярные дескрипторы:

1) *Топологические фармакофорные (Xfp) и пар атомов (APfp)*. Xfp фармакофорный фингерпринт начинает формироваться с отнесения атомов молекулы к четырем различным группам, определяемым обобщенными типами фармакофорных атомов, а именно, Гидрофобные – Hydrophobic (H), Акцепторы водородных связей – Hydrogen Bond Acceptor (HBA), Доноры водородных связей – Hydrogen Bond Donor (HBD) и атомы Sp². Для дальнейшей классификации атомов

для Xfp рассчитывают образование «пар атомов» (включающих пять различных групп, а именно Н-Н, НВА-НВА, НВД-НВД, НВА-НВД and Sp2-Sp2) на топологических расстояниях от 0 до 10, что приводит к формированию размерности 55 (5x11) для фингерпринта Xfp. Более простая форма Xfp называется APfp, она формируется путем подсчета всех возможных пар атомов при увеличении топологического расстояния (от 0 до 10) без учета фармакофорных типов атомов, что приводит к 11-мерной топологической форме молекулярного отпечатка.

Fingerprints:

- APfp Xfp MQN SMIfp
- Sfp ECfp4
- Xfp+SMIfp+Sfp (Ffp1)
- Xfp+MQN+SMIfp (Ffp2)
- Xfp+SMIfp+Sfp+ECfp4 (Ffp3)
- Xfp+MQN+SMIfp+Sfp+ECfp4 (Ffp4)

Рис. 1. Скриншот базы данных ChEMBL с выбранными молекулярными описателями для поиска мишеней тиозонида у *M.tuberculosis*

2) *Молекулярные квантовые числа* – Molecular Quantum Numbers (MQN), который представляет 42 целочисленных значения дескрипторов молекулярных структур, которые подсчитывают атомы, типы связей, полярные группы и топологические особенности.

3) *Молекулярные отпечатки SMILES* (SMIfp), представляющий собой скалярный дескриптор, рассчитанный на основе 34 отдельных символов в строках молекул, представленных в формате SMILES.

4) Подструктурный отпечаток – Substructure Fingerprint (Sfp)

Этот отпечаток представляет собой битовую строку (последовательность цифр «0» и «1»), которая содержит информацию о структуре. Используемый отпечаток подструктур (Sfp), сгенерирован с использованием пакета ChemAxon JChem с длиной связей 7 и содержит 1024 бита.

5) Отпечаток на основе расширенных взаимодействий - Extended-Connectivity Fingerprint (ECfp4)

Отпечаток на основе расширенных взаимодействий (ECFPs) представляет собой круговой топологический отпечаток, разработанный для характеристики молекул, поиска сходства и моделирования взаимодействия на основе «структуры-активности». Они являются одними из самых популярных инструментов нахождения сходства при поиске лекарств, также они эффективно используются в самых разных приложениях.

б) Нур1, Нур2, Нур3 and Нур4

Поскольку разные фингерпринты поразному описывают одну и ту же молекулу, объединение информации из этих отпечатков, дополняющих друг друга, обеспечивало новый взгляд на пространство химического взаимодействия с более детальным и эффективным кодированием малой молекулы [7].

Полученные результаты и их обсуждение. Для поиска мишеней к лиганду тиозонид у *M.tuberculosis* были использованы возможности сервиса для предсказания мишеней лекарств SEA Search Service. Процедура предсказания основывалась на проверке схожести молекул на основании коэффициента Танимото, указанного в последнем столбце иллюстрации, и на основании химического сходства с лигандами, показывала их действие на известные мишени.

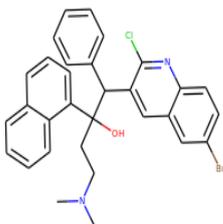
| Query | Target Key | Target Name | Description | P-Value | MaxTC |
|---|----------------|-------------|------------------------------|------------|-------|
|  <p>compound_1</p> | Q5TIX5_MYCSM+5 | atpE | ATP synthase subunit c | 1.269e-119 | 0.78 |
| | ATP6_MYCTU+5 | atpB | ATP synthase subunit a | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPA_MYCTU+5 | atpA | ATP synthase subunit alpha | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPB_MYCTU+5 | atpD | ATP synthase subunit beta | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPE_MYCTU+5 | atpC | ATP synthase epsilon chain | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPFD_MYCTU+5 | atpFH | ATP synthase subunit b-delta | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPF_MYCTU+5 | atpF | ATP synthase subunit b | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPG_MYCTU+5 | atpG | ATP synthase gamma chain | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPL_MYCTU+5 | atpE | ATP synthase subunit c | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPL_BACP3+5 | atpE | ATP synthase subunit c | 7.119e-81 | 0.78 |

Рис. 2. Скриншот сервиса SEA Search Service с выявленными мишенями тиозонида у *M. tuberculosis*

Таблица 1. Список из 24 мишеней в порядке убывания их предсказанной активности в отношении тиозонида и их идентификаторы в базе данных ChEMBL

| Мишень | Идентификатор в сервисе |
|---|-------------------------|
| Mycobacterium_mageritense | CHEMBL612959 |
| Mycobacterium_chelonae | CHEMBL612641 |
| Mycobacterium_kansasii | CHEMBL614984 |
| Mycobacterium_fortuitum | CHEMBL614983 |
| Mycobacterium_smegmatis | CHEMBL613088 |
| Mycobacterium_tuberculosis | CHEMBL360 |
| Mycobacterium_vaccae | CHEMBL613224 |
| Mycobacterium_phlei | CHEMBL614985 |
| Mycobacterium_avium | CHEMBL614982 |
| Mycobacterium_tuberculosis_H37Rv | CHEMBL2111188 |
| Mycobacterium_bovis | CHEMBL613086 |
| Corynebacterium_jeikeium | CHEMBL613351 |
| Helicobacter_pylori | CHEMBL612600 |
| Mycobacterium_marinum | CHEMBL614987 |
| Streptococcus_mutans | CHEMBL612426 |
| p53-binding_protein_Mdm-2 | CHEMBL5023 |
| Endoplasmic_reticulum-associated_amyloid_beta-peptide-binding_protein | CHEMBL4159 |
| Enterococcus_faecalis | CHEMBL362 |
| Bacillus_subtilis | CHEMBL359 |
| Escherichia_coli | CHEMBL354 |
| Staphylococcus_aureus | CHEMBL352 |
| HCT-116 | CHEMBL394 |
| Cellular_tumor_antigen_p53 | CHEMBL4096 |

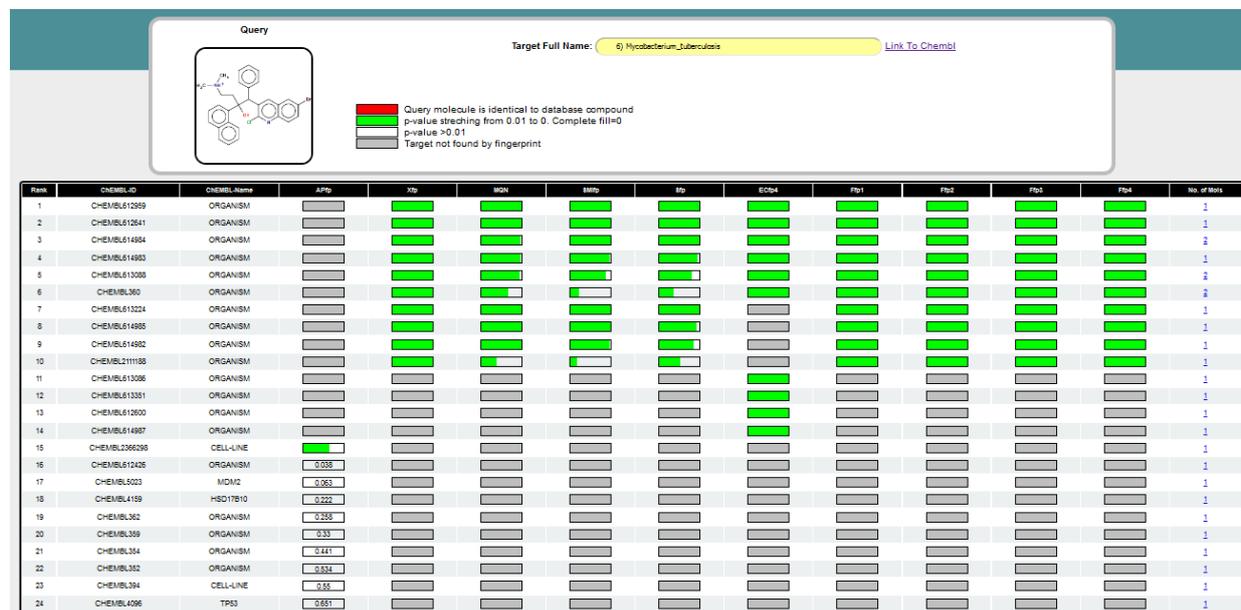


Рис. 3. Молекулярные дескрипторы (Fingerprint) в отчете о поиске вероятных мишеней для тиозонида у *M.tuberculosis*

Поиск показал значительный потенциал тиозонида для связывания с белками бактерий. В качестве вероятных ключевых таргетных макромолекул были найдены белки – субъединицы АТФ-синтазы микобактерии туберкулеза (рис. 2).

В базе данных ChEMBL при поиске схожих с тиозонидом соединений (при схожести по коэффициенту Танимото >70) были найдены соеди-

нения, которые проявляли активность в отношении различных микобактерий, в частности, обладали характеристикой ингибитора развития МТВ (CHEMBL4068649, CHEMBL1221879, CHEMBL1221824, CHEMBL457781, CHEMBL376488). Коэффициент Танимото этих молекул >91, что говорит об их высокой схожести с тиозонидом.

Был проведен анализ возможных мишеней тиозонила с использованием сервиса PPB: Polypharmacology Browser for Target Prediction in ChEMBL. Инициированный на основе химической структуры тиозонида в формате smiles поисковый запрос позволил выявить среди различных мишеней представленных в базе данных ChEMBL наиболее вероятные для взаимодействия с изучаемым соединением. В результате поиска наибольшую потенциальную активность тиозонида программа предсказала для различных видов микобактерий, включая *M. Tuberculosis* (табл., рис.3).

В качестве предполагаемых мишеней для молекулы тиозонида в данном сервисе также были предсказаны некоторые белки человека, однако вероятность быть мишенью для тиозонида у этих белков достоверно более низкая, нежели таковая у микобактерии.

Выводы:

1. В результате использования биоинформатического подхода к идентификации белковых мишеней для препарата тиозонид выявлено, что вероятными мишенями для него являются микобактерии, в том числе *M. Tuberculosis*.

2. Согласно полученным поисковым данным, наиболее вероятной мишенью с карманом связывания тиозонида являются субъединица бактериальной АТФ-синтазы – фермента, играющего ключевую роль в процессах энергообмена клетки, осуществляя сопряжение реакции синтеза/гидролиза АТФ с трансмембранным переносом протонов.

Литература:

1. Бочарова И.В., Буренков М.С., Лепеха Л.Н., Смирнова Т.Г., Черноусова Л.Н., Демихова О.В. Доклинические исследования специфической активности нового противотуберкулезного препарата тиозонид. Туберкулез и болезни легких. 2014; (6): 46-50. doi.org/10.21292/2075-1230-2014-0-6-46-50;
2. Меньшикова Л.А. Фармакокинетическое исследование оригинального лекарственного средства тиозонида: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук: М., 2016;
3. Gaulton A., Hersey A., Nowotka M., Bento A.P., Chambers J., Mendez D., Mutowo P., Atkinson F., Bellis L.J., Cibrián-Uhalte E., Davies M., Dedman N., Karlsson A., Magariños M.P., Overington J.P., Papadatos G., Smit I., Leach A.R. (2017) 'The ChEMBL database in 2017.' *Nucleic Acids Res.*, 45(D1) D945-D954;
4. Keiser MJ, Roth BL, Armbruster BN, Ernsberger P, Irwin JJ, Shoichet BK. Relating protein pharmacology by ligand chemistry. *Nat Biotech* 25 (2), 197-206 (2007)

5. Koul A., Dendouga N., Vergauwen K., Molenberghs B., Vranckx L., Willebrods R., Ristic Z., Lill H., Dorange I., Guillemont J., Bald D., Andries K. Diarylquinolines target subunit c of mycobacterial ATP synthase //J.: *Nat.Chem.Biol.* - 2007.-N.3(6).-p.323-4;

6. Marvin Sketch. <https://chemaxon.com/products/marvin>

7. Nguyen K.T., Blum L.C., van Deursen R., Raymond J.L. Classification of Organic Molecules by Molecular Quantum Numbers //J.: *Chem.Med.Chem.*- 2009.-N.4.-p.1803-1805.

ИЗУЧЕНИЕ МИШЕНЕЙ НОВОГО ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРЕПАРАТА ГРУППЫ ДИАРИЛХИНОЛИНОВ ТИОЗОНИДА

Шилов Б.В., Савченко А.Ю.

Резюме. Тиозинид относится к диарилхинолинам, которые принято считать одними из оптимальных кандидатов на роль ПТП для лечения МЛУ-туберкулеза, что обусловило актуальность оценка потенциальных мишеней лиганда тиозонид при помощи методов биоинформатики. Для предсказания мишеней лекарств был использован сервис SEA Search Service который на основании уровня химического сходства молекул, по коэффициенту Танимото, предсказывает действие изучаемого лиганда на известные мишени. В работе использованы записи базы данных ChEMBL, в ней проводили поиск подобных соединений с использованием коэффициента Танимото. Для предсказания возможных мишеней тиозонида использовали сервис PPB: Polypharmacology Browser for Target Prediction, при этом использовались 6 разных молекулярных дескрипторов (Fingerprints) и 4 их комбинации. Поиск показал значительный потенциал тиозонида для связывания с белками бактерий. Был проведен анализ возможных мишеней тиозонила с использованием сервиса PPB: Polypharmacology Browser for Target Prediction in ChEMBL. Инициированный на основе химической структуры тиозонида в формате smiles поисковый запрос позволил выявить среди различных мишеней представленных в базе данных ChEMBL наиболее вероятные для взаимодействия с изучаемым соединением. В результате поиска наибольшую потенциальную активность тиозонида программа предсказала для различных видов микобактерий, включая *M. tuberculosis*. Согласно полученным поисковым данным, наиболее вероятной мишенью с карманом связывания тиозонида являются субъединица бактериальной АТФ-синтазы – фермента, играющего ключевую роль в процессах энергообмена клетки, осуществляя сопряжение реакции синтеза/гидролиза АТФ с трансмембранным переносом протонов. В качестве предполагаемых мишеней для молекулы тиозонида в данном сервисе также были предсказаны некоторые белки человека, однако вероятность быть мишенью для тиозонида у этих белков достоверно более низкая, нежели таковая у микобактерии.

Ключевые слова: МЛУ-туберкулез, тиозонид, белки-мишени.