

Экспериментальные данные показали высокую достоверность прогнозирования биологической активности с помощью программы PASS для ОБК, ДНБ и АБК. Наличие антиоксидантных и гепатопротекторных свойств у исследованных соединений позволяет проводить дальнейшие исследования *in vivo* с целью выявления высокоэффективных корректоров цитостатической терапии.

УДК 615.2:542.91:577.15.07

СИНТЕЗ И ВИРТУАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АДАМАНТИЛСОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНЫХ ТРИМЕТИЛБИЦИКЛО[2.2.1]ГЕПТАН-2-ОНА

Г. М. Бутов, П. М. Васильев*, Г. Ю. Паршин,
В. М. Мохов, Р. У. Кунаев

*Волжский политехнический институт, Волгоградский
государственный медицинский университет**

Произведен синтез и виртуальный скрининг биологической активности адамантилсодержащих производных триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-она.

Ключевые слова: синтез, виртуальный скрининг, биологическая активность.

Ранее нами разработан метод получения адамантилсодержащих карбонильных соединений с использованием в качестве адамантилирующего агента тетрацикло[3.3.1.1^{3,7}.0^{1,3}]декана (1,3-дегидроадамантиана). Реакцией 1,3-дегидроадамантиана с кетонами, альдегидами, кетоэфирами и β-дикетонами нами были получены соответствующие адамантилсодержащие карбонильные соединения с высоким выходом и селективностью.

В продолжение исследований химических реакций 1,3-дегидроадамантиана с карбонильными соединениями осуществлено взаимодействие данного пропелана с бициклическими кетонами: 1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-оном (D,L-камфорой), 5,5,6-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-оном (изокамфаном) и 3-бром-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-оном (бромкамфорой).

Адамантирование производных триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-она без катализаторов при температуре 90—100 °С и продолжительности 4—6 часов приводит к соответствующим адамантилсодержащим производным: триметил-3-(адамант-1-ил)бицикло[2.2.1]гептан-2-ону, 5,5,6-триметил-3-(адамант-1-ил)бицикло[2.2.1]гептан-2-ону и 1,7,7-триметил-3-(1-бромадамант-3-ил)бицикло[2.2.1]гептан-2-ону с выходом 80—82 %. Структура соединений доказана методами ЯМР¹H- и масс-спектрометрией, а состав — хромато-масс-спектрометрией.

Указанные соединения были направлены на внеэкспериментальный компьютерный скрининг, который включал два этапа.

На первом этапе с помощью ИТ «Микрокосм» была произведена оценка возможного уровня

19 видов биологической активности: анальгетической, наркотической, местноанестезирующей, антидепрессантной, фунгицидной, антигерпесвирусной, анти-ВИЧ, противолейкозной, противоопухолевой, противогриппозной, антипикорнавирусной, антисептической, канцерогенной, кардиостимулирующей, кардиотонической, гипогликемической, нейрореплетической, ноотропной, транквилизирующей, туберкулоостатической.

На втором этапе для нескольких наиболее перспективных видов активности результаты прогноза в ИТ «Микрокосм» были уточнены с помощью методов молекулярного моделирования, а именно методом 3D-сходства к эталонным структурам известных лекарственных веществ.

По итогам двух этапов компьютерного скрининга выработаны достоверные мотивированные заключения о перспективности экспериментальных исследований ряда биологических свойств изучаемых соединений.

Заключение:

1. Все соединения должны проявлять высокую противогриппозную активность.

2. Все соединения должны проявлять либо высокую, либо, более вероятно, умеренную анальгетическую активность.

3. Все соединения должны проявлять либо высокую, либо, более вероятно, умеренную кардиотоническую активность.

4. Все соединения должны проявлять антигерпесвирусную активность.

5. 1,7,7-триметил-3-(1-бромадамант-3-ил)бицикло[2.2.1]гептан-2-он должен проявлять противоопухолевую и противолейкозную активности.

В настоящее время синтезированные соединения переданы на экспериментальное изучение противогриппозной активности.

УДК 615.07:615.2:634.58

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЛЕКТИНА АРАХИСА С УГЛЕВОДАМИ: РАССМОТРЕНИЕ МЕТОДОМ QM/MM- И АИМ-АНАЛИЗА

Н. А. Бычков, А. Н. Панкратов, О. М. Цивилева*

Саратовский государственный университет,
Институт биохимии и физиологии растений
и микроорганизмов РАН, г. Саратов*

Рассмотрено взаимодействие лектина арахиса с углеводами методами QM/MM и АИМ-анализа.

Ключевые слова: QM/MM-анализ, АИМ-анализ, лектин арахиса, углеводы.

Особый интерес для супрамолекулярной химии представляют белки-лектины. Белок-лигандное взаимодействие обуславливает возможность протекания иммунных реакций, избирательность действия лекарств, сопровождает самосборку органелл.

Цель работы — молекулярное моделирование взаимодействия лектина с углеводами гибридным методом QM/MM.

Из 59 лектинов, для которых в Брукхавенской базе данных протеинов (www.rcsb.org) представлена трехмерная структура, нами был выбран галактозоспецифичный белок арахиса, PDB-код 2PEL. Сообщается о преимущественной специфичности названного лектина к β -аномерам углеводов.

В элементарную ячейку белка входят 4 одинаковых полипептидных цепи, каждая из которых включает ионы кальция и марганца. Полипептидная цепь состоит из 3446 атомов (232 аминокислотных остатка). Из них были выбраны два участка, включающих сайт связывания; в состав первого входят аминокислотные остатки с 79-го по 134-й (775 атомов), в состав второго с 210-го по 215-й (84 атома). Концевые фрагменты полученных аминокислотных остатков были приведены к виду терминальных (добавлен водород к N-концу, кислород к C-концу, изменены типы атомов соответственно силовому полю). Для конвертирования исходного PDB-файла была использована программа Tinker версии 4.2, для просмотра и анализа полипептидной цепи — программа Protein Explorer версии 2.80.

Дальнейшая конвертация в формат, совместимый с PC GAMESS, была проведена посредством самостоятельно написанного кода. Ионы металлов были добавлены вручную. Молекулы углеводов были конвертированы тем же путем, что и полипептидные цепи.

В результате анализа полипептидной цепи с помощью программы Protein Explorer было решено включить в квантовохимическую часть аминокислоты 80—83 (аспарагиновая кислота, пролин, аланин), 125—129 (тирозин, серин, аспарагин, серин, глутаминовая кислота), 211 (серин). Углерод во всех случаях моделировался только квантово-химически, ионы металлов — молекулярно-механически.

Был проведен предварительный расчет и AIM-анализ. Выяснилось, что остаток 83 с углеводом водородных связей не образует, потому его было решено перевести в молекулярно-механическую часть.

Нами осуществлена попытка теоретического обоснования углеводной специфичности данного лектина посредством моделирования методом QM/MM с помощью пакета программ PC GAMESS. Квантово-химическую часть описывали методом PM3, молекулярно-механическую — силовым полем OPLSAA. Оптимизацию геометрии проводили стандартным градиентным методом.

Произведены расчеты всех конъюгатов лектин-углевода. На основе оптимизированной геометрии каждого комплекса выбиралось начальное приближение для расчетов изолированных моле-

кулярных систем белка и углевода. Таким образом, для оценки энергии образования того или иного комплекса использована своя величина энергии молекулы протеина, имеющего в каждом случае несколько различную конформацию.

Согласно рентгеноструктурным данным, взятым в качестве начального приближения при расчетах, вторичная структура лектина арахиса структурирована преимущественно по β -типу. После проведенной нами оптимизации геометрии такая структура белка сохраняется, что служит подтверждением корректности проведенных расчетов.

Результаты расчетов методом QM/MM приведены в табл. 1.

Если в качестве критерия углеводной специфичности рассматривать энергию комплексообразования, то полученные данные показывают, что лектин наиболее специфичен к 1,6- β -D-дигалактозе. Наименьшая специфичность наблюдается по отношению к 1,4- β -D-глюкозо-D-галактозе. Разница в энергиях комплексообразования с двумя названными углеводами составляет около 8 ккал/моль, что превышает погрешность расчета.

Таблица 1

Значения полной энергии комплексов лектина арахиса с углеводами

Система	Энергия образования комплекса, ккал/моль
D-Gal- β -1,3-D-Gal	-18,5
D-Gal- α -1,3-D-Gal	-15,7
D-Gal- β -1,6-D-Gal	-21,0
D-Gal- β -1,4-D-Gal	-17,5
β -D-Gal ⁺	-15,7
α -D-Gal ⁺	-17,2
D-Glc- β -1,4-D-Gal ⁺	-12,9

Примечания: 1. Знак «+» означает, что углеводная часть системы модифицирована по сравнению с рассмотренным в литературе аналогом; 2. Обозначение углеводных остатков: Gal — галактоза, Glc — глюкоза.

В соответствии с названным критерием ряд углеводной специфичности выглядит следующим образом: β -1,6-D-дигалактоза > β -1,3-D-дигалактоза > β -1,4-D-дигалактоза > α -D-галактоза > β -D-галактоза = α -1,3-D-дигалактоза > β -1,4-D-глюкозо-D-галактоза.

Экспериментально установлено, что лектин обладает большей специфичностью к α -метилгалактопиранозиду, нежели к его β -форме (ингибирующая активность по отношению к ингибирующей активности для лактозы составляют 2.5 и 1.25 соответственно); среди дисахаридов специфичность больше к β -аномерам, причем наиболее всего лектин специфичен к производным β -1,3 дисахаридам.

Таким образом, в нашей работе находит теоретическое обоснование наибольшая специфичность лектина арахиса по отношению к β -аномерным дигалактозам, а также большая специфичность

к производным галактозы по сравнению с производными глюкозы.

По программе AIMALL (aim.tkgristmill.com) с использованием волновой функции, полученной методом Хартри-Фока с базисным набором 3-21G для геометрии, найденной методом QM/MM, был проведен AIM-анализ белка, углевода и конъюгатов в случае системы 1,3- α -дигалактоза с лектином.

Для пар атомов, один из которых входит в состав лектина, а другой в состав α -1,3-*D*-дигалактозы, между которыми можно предположить образование водородных связей, нами на уровне теории HF/3-21G была проанализирована электронная плотность (ρ_b) в критической точке связи (ВСП) и лапласиан электронной плотности в ВСП ($\Delta\rho_b$) (табл. 2).

Таблица 2

Значения ρ_b и $\Delta\rho_b$ (а.е.) в критических точках связей

Номера атомов	ρ_b	$\Delta\rho_b$
O44...H152	0,0435	0,156
O128...H95	0,0222	0,092
H119...O130	0,0154	0,084
O9...H154	0,0492	0,138
H68...O139	0,0057	0,032

Примечание: O44 — атом кислорода COOH-группы остатка *L*-аспарагиновой кислоты. H95 — атом водорода CONH₂-группы остатка *L*-аспарагина. H119 — атом водорода OH-группы остатка *L*-серина. O9 — атом кислорода COOH-группы остатка *L*-глутаминовой кислоты. H68 — атом водорода OH-группы остатка *L*-тирозина. H152, H154 — атомы водорода OH-групп остатка *D*-галактозы. O128, O130, O159 — атомы кислорода OH-групп остатков *D*-галактозы.

С позиций квантовой теории «атомы в молекулах» (AIM) Р. Бейдера водородную связь характеризует небольшая электронная плотность в критической точке связи, а также положительный лапласиан. Чем больше электронная плотность в ВСП, тем сильнее водородная связь. Таким образом, можно сделать вывод, что образуются 5 водородных связей, причем две из них (O44...H152 и O9...H154) можно выделить как более сильные.

Эти наиболее прочные связи осуществляются между атомами кислорода карбоксильных групп аспарагиновой и глутаминовой кислот и атомом водорода гидроксильной группы галактозного звена. Менее прочные водородные связи присутствуют между атомами водорода амидной группы аспарагина и кислорода гидроксильной группы галактозного фрагмента, атомами водорода гидроксильной группы серина и кислорода гидроксильной группы галактозного остатка.

Таким образом, анализ топологических свойств электронной плотности указывает на доминирующую роль остатков аспарагиновой и глутаминовой кислот в белок-углеводном связывании.

В работе проведено сравнение углеводной специфичности природного лектина арахиса и лектинов его искусственных мутантов, в которых остаток *L*-глутаминовой кислоты (129-й аминокислотный остаток) замещен другими аминокислотными звеньями. Выяснилось, что такое замещение вызывает существенное повышение ингибирующих концентраций углевода, то есть снижение специфичности. Указанный результат согласуется с данными осуществленного нами AIM-анализа.

Результаты проведенного молекулярного моделирования коррелируют с данными экспериментов по вторичной структуре аминокислотной цепи лектина арахиса, по углеводной специфичности, а также вкладе в нее природы аномеров углеводов и звеньев *L*-глутаминовой кислоты. Последнее подтверждает предсказательную силу метода QM/MM в целом, энергии образования конъюгата белок-углевод как критерия углеводной специфичности, а также электронной плотности в критической точке связи и лапласиана этой величины в отношении установления ключевых для проявления лектиновой активности аминокислотных остатков.

УДК 577.2

МИРАЖИ 3D-МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

П. М. Васильев

Волгоградский государственный медицинский университет

Проведен сравнительный анализ возможностей моделирования биологической активности химических соединений.

Ключевые слова: 3D-моделирование, 2D-моделирование, докинг.

В настоящее время эффективный экспериментальный поиск новых соединений с высокой фармакологической активностью осложняется рядом факторов, главными из которых являются следующие:

1. Огромное число химических структур.
2. Большое разнообразие видов биологической активности.
3. Дороговизна первичного синтеза новых химических структур.
4. Высокая стоимость биологических экспериментов.
5. Достижение естественного максимума по многим видам фармакологической активности, обусловленного особенностями функционирования организма человека.

Указанные препятствия привели к резкому снижению эффективности поиска новых лекарственных средств.

Поэтому в настоящее время обязательным начальным этапом поиска фармакологически ак-