

Поиск возможных молекулярных мишеней действия новых противотуберкулезных соединений

Калитванская М.А.¹, Макаров Д.А.², Хандажинская А.Л.², Анашкина А.А.^{2, 3*}

¹ Волгоградский медицинский университет, Волгоград, Россия

² Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

³ Сеченовский университет, Москва, Россия

* anastasia.a.anashkina@mail.ru

Ключевые слова: мишени; туберкулез; противотуберкулезные соединения

Мотивация и цель: На сегодняшний день туберкулез является одной из главных проблем в мире, так как умерло и продолжает умирать людей от туберкулеза больше, чем от СПИДа, малярии и других болезней вместе взятых. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), на 2020 г. туберкулезом в мире было инфицировано около 1 млрд человек, из которых 70 млн умерло [1]. Несмотря на то что туберкулез излечим, главная угроза состоит в том, что микобактерии быстро приобретают устойчивость к лекарственным препаратам – со скоростью 0.5 SNPs на геном в год [2, 3]. Устойчивость микобактерий к рифампицину (РИФ) в 2022 г. была выявлена у более чем 450 тыс. пациентов, а у 1.3 млн человек развился туберкулез, устойчивый к изониазиду (ИНГ). Механизмы устойчивости к этим препаратам уже хорошо известны, на данный момент составлен каталог мутаций и их связи с фенотипической лекарственной устойчивостью, что облегчает разработку лекарственных средств [4]. Однако проблема до конца не решена, и устойчивость возникает ко всем появляющимся препаратам. Целью нашей работы является проведение скрининга структурно близких соединений уже изученных ранее соединений с подтвержденной активностью и *in silico* изучение их взаимодействия с рядом белков *M. tuberculosis*.

Методы и алгоритмы: В качестве основы для разработки новых противотуберкулезных соединений мы взяли ряд соединений с известной противотуберкулезной активностью и методом Scaffold Replacement в программе МОЕ создали библиотеки химических соединений с последующим докинггом к семи белкам *M. tuberculosis*: 6-hydroxymethyl-7,8-dihydropteroate synthase (1eye [5]), isocitrate lyase (1f8i, 1f61 [6]), Alkylperoxidase (1gu9, 1lw1 [7, 8]), Type II Dehydroquinase (1h0r [9]), 3-dehydroquinate dehydratase (1h0s, 1h05 [10, 11]), diaminopimelate dicarboxylase (1hkv [12]), Acyl Carrier Protein (1klp [13]).

Результаты: Найдено, что соединение 1-(1,4-дигидрокси-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-5-(пиперидин-1-ил)пиримидин-2,4(1H,3H)-дион, возможно, взаимодействует с белком 6-hydroxymethyl-7,8-dihydropteroate synthase (1eye) (табл. 1). Кроме того, в протонированной по атому азота в положении 1 имидазольного фрагмента форме данное соединение может взаимодействовать с белком isocitrate lyase (1f8i) и 3-dehydroquinate dehydratase (1h0s). Возможный сайт связывания 6-hydroxymethyl-7,8-dihydropteroate synthase (1eye) включает остатки: Arg 253, Gly 50, Gly 22, Val 107, His 255, Asp 86, Asp 21, Phe 182, Ser 20, Gly 209, Leu 207, Lys 213, Asn 105, Asp 177, Met 130, Asn 13, Val 11, Ser 211, Val 128, Leu 180, Thr 15, Asp 17 и также обладает лучшим результатом по аффинности связывания (–8.0 ккал/моль) (рис. 1).

Таблица 1. Соединения, показавшие наилучшую афинность в эксперименте по докингу к белкам *M. tuberculosis*

1eye	<chem>O=C1N(c2n(O)c3c(c(O)ccc3)n2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-8.0	1h0r	<chem>O=C(N[C@H](O)c1oc(O)c(N2C(=O)NC(=O)C(N3CCCC3)=C2)c1)C</chem> 	-6.8
1f8i	<chem>O=C1N(c2[n+](O)c3c(c(O)ccc3)[nH]2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-7.6	1hkv	<chem>O=C1N(c2n(O)c3c(c(O)ccc3)c2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-6.6
1h0s	<chem>O=C1N(c2[n+](O)c3c(c(O)ccc3)[nH]2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-7.0	1klp	<chem>O=C1N(c2n(O)c3c(c(O)ccc3)c2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-6.6
1lw1	<chem>O=C1N(c2n(O)c3c(c(O)ccc3)[n+H]2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-6.9	1f61	<chem>O=C1N(c2[n+](O)c3c(c(O)ccc3)[nH]2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-6.4
1gu9	<chem>O=C(N[C@H](O)c1oc(O)c(N2C(=O)NC(=O)C(N3CCCC3)=C2)c1)C</chem> 	-6.8	1h05	<chem>O=C1N(c2n(O)c3[n+](c(O)ccc3)c2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-6.4
1eye	<chem>O=C1N(c2n(O)c3c(c(O)ccc3)n2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-8.0	1h0r	<chem>O=C(N[C@H](O)c1oc(O)c(N2C(=O)NC(=O)C(N3CCCC3)=C2)c1)C</chem> 	-6.8

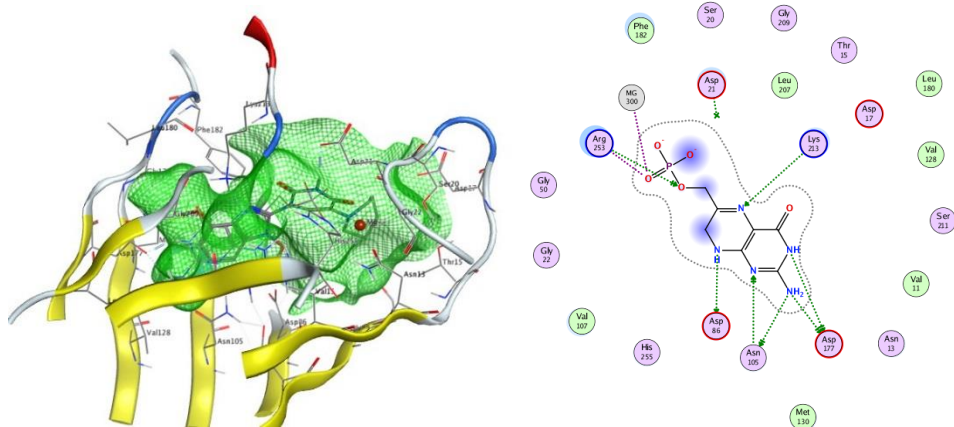


Рис. 6. Потенциальный сайт связывания найденного соединения в белке 6-hydroxymethyl-7,8-dihydropteroate synthase (1eye) включает остатки Arg 253, Gly 50, Gly 22, Val 107, His 255, Asp 86, Asp 21, Phe 182, Ser 20, Gly 209, Leu 207, Lys 213, Asn 105, Asp 177, Met 130, Asn 13, Val 11, Ser 211, Val 128, Leu 180, Thr 15, Asp 17

Выводы: Методами молекулярного моделирования найдено три потенциально активных химических соединения с противотуберкулезной активностью.

Финансирование: Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 23-14-00106 «Новое поколение биоцидов с широким спектром биологического действия».

Search for possible molecular targets of new anti-tuberculosis compounds

Kalitivanskaya M.A.¹, Makarov D.A.², Khandazhinskaya A.L.², Anashkina A.A.^{2, 3*}

¹ Volgograd Medical University, Volgograd, Russia

² Engelhardt Institute of Molecular Biology, RAS, Moscow, Russia

³ Sechenov University, Moscow, Russia

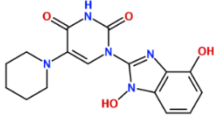
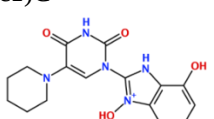
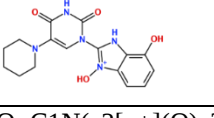
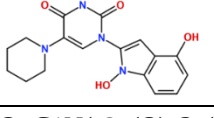
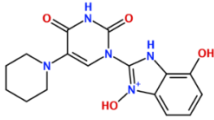
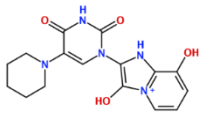
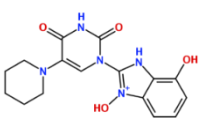
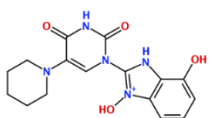
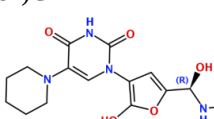
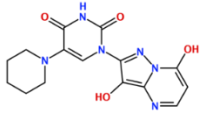
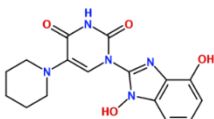
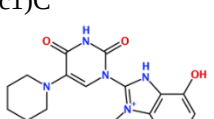
* anastasia.a.anashkina@mail.ru

Key words: targets; tuberculosis; anti-tuberculosis compounds

Motivation and Aim: Today, tuberculosis is one of the main problems in the world, since more people have died and continue to die from tuberculosis than from AIDS, malaria and other diseases combined. According to the World Health Organization (WHO), in 2020, about 1 billion people were infected with tuberculosis in the world, 70 million of whom died [1]. Although tuberculosis is curable and the main threat is that mycobacteria are rapidly acquiring drug resistance at a rate of 0.5 SNPs per genome per year [2, 3]. Mycobacterial resistance to rifampicin (RIF) was detected in more than 450 thousand patients in 2022, and 1.3 million people developed isoniazid-resistant tuberculosis (INR). The mechanisms of resistance to these drugs are already well known; a catalog of mutations and their relationship with phenotypic drug resistance has now been compiled,

which facilitates the development of drugs [4]. However, the problem has not been completely solved, and resistance occurs to all emerging drugs. The purpose of this work is to screen structurally similar compounds of previously studied compounds with confirmed activity and in silico study of their interaction with a number of *M. tuberculosis* proteins.

Table 1. Compounds that showed the best affinity in the docking experiment for *M. tuberculosis* proteins

1eye	<chem>O=C1N(c2n(O)c3c(c(O)ccc3)n2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-8.0	1h0r	<chem>O=C(N[C@H](O)c1oc(O)c(N2C(=O)NC(=O)C(N3CCCCC3)=C2)c1)C</chem> 	-6.8
1f8i	<chem>O=C1N(c2[n+](O)c3c(c(O)ccc3)[nH]2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-7.6	1hkv	<chem>O=C1N(c2n(O)c3c(c(O)ccc3)c2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-6.6
1h0s	<chem>O=C1N(c2[n+](O)c3c(c(O)ccc3)[nH]2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-7.0	1klp	<chem>O=C1N(c2n(O)c3c(c(O)ccc3)c2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-6.6
1lwl	<chem>O=C1N(c2n(O)c3c(c(O)ccc3)[n+H]2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-6.9	1f61	<chem>O=C1N(c2[n+](O)c3c(c(O)ccc3)[nH]2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-6.4
1gu9	<chem>O=C(N[C@H](O)c1oc(O)c(N2C(=O)NC(=O)C(N3CCCCC3)=C2)c1)C</chem> 	-6.8	1h05	<chem>O=C1N(c2n(O)c3[n+](c(O)ccc3)c2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-6.4
1eye	<chem>O=C1N(c2n(O)c3c(c(O)ccc3)n2)C=C(N2CCCCC2)C(=O)N1</chem> 	-8.0	1h0r	<chem>O=C(N[C@H](O)c1oc(O)c(N2C(=O)NC(=O)C(N3CCCCC3)=C2)c1)C</chem> 	-6.8

Methods and Algorithms: As a basis for the development of new anti-tuberculosis compounds, we took a number of compounds with known anti-tuberculosis activity and created libraries of chemical compounds using the Scaffold Replacement method in the MOE program, followed by docking to seven *M. tuberculosis* proteins (6-hydroxymethyl-7,8-dihydropteroate synthase (1eye [5]), isocitrate lyase (1f8i, 1f61 [6]), Alkylperoxidase (1gu9, 1lw1 [7], [8]), Type II Dehydroquinase (1h0r [9]), 3-dehydroquinate dehydratase (1h0s, 1h05 [10], [11]), diaminopimelate dicarboxylase (1hkv [12]), Acyl Carrier Protein (1klp [13])).

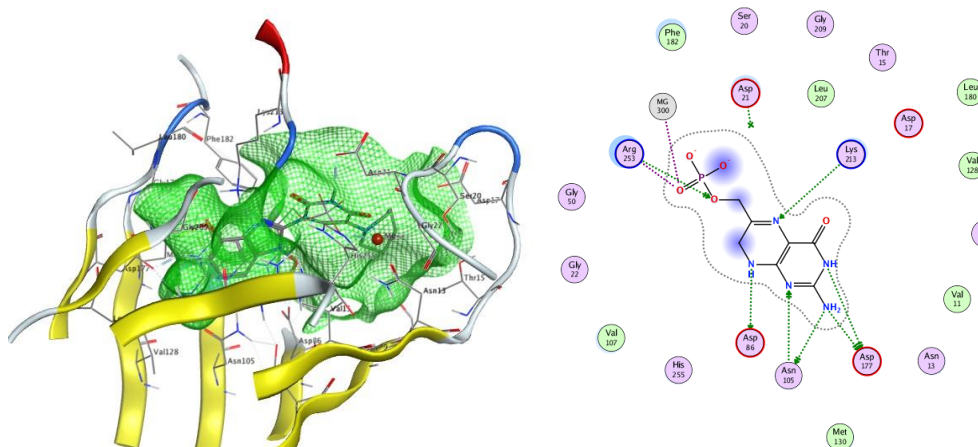


Fig. 1. Potential binding site of the found compound in the protein 6-hydroxymethyl-7,8-dihydropteroate synthase (1eye) includes residues Arg 253, Gly 50, Gly 22, Val 107, His 255, Asp 86, Asp 21, Phe 182, Ser 20, Gly 209, Leu 207, Lys 213, Asn 105, Asp 177, Met 130, Asn 13, Val 11, Ser 211, Val 128, Leu 180, Thr 15, Asp 17

Results: It was found that the compound 1-(1,4-dihydroxy-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-5-(piperidin-1-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dione may interact with the 6-hydroxymethyl-7,8-dihydropteroate synthase (1eye) protein (Table 1). In addition, in the form protonated at the nitrogen atom in position 1 of the imidazole fragment, this compound can interact with the protein isocitrate lyase (1f8i) and 3-dehydroquinate dehydratase (1h0s). Possible binding site for 6-hydroxymethyl-7,8-dihydropteroate synthase (1eye) includes residues: Arg 253, Gly 50, Gly 22, Val 107, His 255, Asp 86, Asp 21, Phe 182, Ser 20, Gly 209, Leu 207, Lys 213, Asn 105, Asp 177, Met 130, Asn 13, Val 11, Ser 211, Val 128, Leu 180, Thr 15, Asp 17 and also has the best binding affinity (–8.0 kcal/mol) (Fig. 1).

Conclusions: Using molecular modeling methods, three potentially active chemical compounds with anti-tuberculosis activity were found.

Funding: The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-14-00106 “New generation of biocides with a wide spectrum of biological action”.

Список литературы/References

1. Кривохиж В. Туберкулез. Современный взгляд на лечение и профилактику. Litres, 2019
2. CDCTB. Tuberculosis (TB) – Drug-Resistant TB [Electronic resource]. Centers for Disease Control and Prevention. 2022. URL: <https://www.cdc.gov/tb/topic/drtb/default.htm> (accessed: 14.05.2024)
3. Comin J. et al. Estimation of the mutation rate of *Mycobacterium tuberculosis* in cases with recurrent tuberculosis using whole genome sequencing. *Sci Rep*. 2022;12(1):16728
4. Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance, 2nd ed [Electronic resource]. URL: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240082410> (accessed: 14.05.2024)
5. Baca A.M. et al. Crystal structure of *Mycobacterium tuberculosis* 6-hydroxymethyl-7,8-dihydropteroate synthase in complex with pterin monophosphate: new insight into the enzymatic mechanism and sulfa-drug action. *J Mol Biol*. 2000;302(5):1193-1212
6. Sharma V. et al. Structure of isocitrate lyase, a persistence factor of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat Struct Mol Biol*. 2000;7(8):663-668
7. Nunn C.M. et al. The Crystal Structure of *Mycobacterium tuberculosis* Alkylhydroperoxidase AhpD, a Potential Target for Antitubercular Drug Design. *J Biol Chem*. 2002;277(22):20033-20040
8. Koshkin A. et al. The Mechanism of *Mycobacterium tuberculosis* Alkylhydroperoxidase AhpD as Defined by Mutagenesis, Crystallography, and Kinetics. *J Biol Chem*. 2003;278(32):29502-29508
9. Lence E. et al. Mechanistic Basis of the Inhibition of Type II Dehydroquinase by (2S)- and (2R)-2-Benzyl-3-dehydroquinic Acids. *ACS Chem Biol*. 2013;8(3):568-577
10. Peón A., Otero J.M., Tizón L. Understanding the Key Factors that Control the Inhibition of Type II Dehydroquinase by (2R)-2-Benzyl-3-dehydroquinic Acids. *ChemMedChem*. 2010;5(10):1726-1733
11. Evans L.D.B., Roszak A.W., Noble L.J. et al. Specificity of substrate recognition by type II dehydroquinases as revealed by binding of polyanions. *FEBS Lett*. 2002;530(1-3):24-30. doi 10.1016/S0014-5793(02)03346-X
12. Gokulan K. et al. Crystal Structure of *Mycobacterium tuberculosis* Diaminopimelate Decarboxylase, an Essential Enzyme in Bacterial Lysine Biosynthesis. *J Biol Chem*. 2003;278(20):18588-18596
13. Wong H.C. et al. The Solution Structure of Acyl Carrier Protein from *Mycobacterium tuberculosis*. *J Biol Chem*. 2002;277(18):15874-15880