



МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТИОЗОНИДА И АТФАЗЫ *M. TUBERCULOSIS* МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКИНГА

Б.В. Шилов¹, А.С. Смирнов¹, А.Ю. Савченко^{2,*}

¹ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова» Минздрава России
117997, Российская Федерация, Москва, ул. Островитянова, 1

² ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, 1

Изучали механизм взаимодействия нового противотуберкулёзного препарата тиозонид с вероятной мишенью организма *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. Были построены оригинальные модели трёх субъединиц этого энзима (альфа, дельта и эпсилон). Для моделирования докинга *in silico* использована программа AutoDock версии 4.2, которая включена в состав комплекса MGL Tools версии 1.5.6. Показано, что все три субъединицы имеют кластеры с минимальными энергиями связывания для молекулы тиозонида, причём у субъединицы эпсилон два кластера с равными вероятностями быть сайтом связывания тиозонида.

Ключевые слова: тиозонид, молекулярный докинг, лиганд-белковые взаимодействия

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Шилов Б.В., Смирнов А.С., Савченко А.Ю. Моделирование взаимодействия тиозонида и АТФазы *M. tuberculosis* методом молекулярного докинга. *Биомедицина*. 2021;17(3E):170–175. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-17-3E-170-175>

Поступила 11.05.2021

Принята после доработки 28.06.2021

Опубликована 20.10.2021

MODELING THE INTERACTION OF THIOZONIDE AND ATPHASE *M. TUBERCULOSIS* BY THE METHOD OF MOLECULAR DOCKING

Boris V. Shilov¹, Anton S. Smirnov¹, Alla Yu. Savchenko^{2,*}

¹ Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov
of the Ministry of Health Care of Russia
117997, Russian Federation, Moscow, Ostrovityanova Str., 1

² Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1

The mechanism of interaction of a new anti-tuberculosis drug thiozonide with a probable target of *M. tuberculosis* was studied. According to the data obtained, the most likely target with a thiozonide binding pocket is the subunit of bacterial ATP synthase, an enzyme that plays a key role in the processes of energy exchange in

the cell, coupling the reaction of ATP synthesis/hydrolysis with transmembrane proton transfer. Original models of the three subunits of this enzyme (alpha, delta, and epsilon) were built. To simulate docking *in silico*, the AutoDock program version 4.2 was used, which is included in the MGL Tools version 1.5.6. It was shown that all three subunits have clusters with the minimum binding energies for the thiosinide molecule, and the epsilon subunit has two clusters with equal probabilities of being a thiosinide binding site.

Keywords: thiozonide, molecular docking, ligand-protein interactions

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Shilov B.V., Smirnov A.S., Savchenko A.Yu. Modeling the Interaction of Thiozonide and ATPase *M. tuberculosis* by the Method of Molecular Docking. *Journal Biomed.* 2021;17(3E):170–175. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-17-3E-170-175>

Submitted 11.05.2021

Revised 28.06.2021

Published 20.10.2021

Введение

Несмотря на положительную динамику в борьбе с туберкулёзом, отмечается рост количества случаев туберкулёза с множественной, широкой и полной лекарственной устойчивостью возбудителя, когда возбудитель устойчив либо к препаратам 1-го ряда, либо обладает дополнительной резистентностью к фторхинолонам и хотя бы одному из препаратов 2-го ряда, либо вообще не поддаётся терапии всеми известными противотуберкулёзными препаратами (ПТП) [1, 2]. Варианты лечения туберкулёза оставались неизменными на протяжении последних 50 лет, что усугубило бремя лекарственной устойчивости. В последнее время надежды на эффективную терапию возлагаются в связи с появлением препаратов группы диарилхинолинов [3, 4], которые эффективно ингибируют микобактериальную АТФ-синтазу. Этот энзим необходим для оптимального роста *M. tuberculosis*, поскольку является ключевым ферментом, участвующим в энергетическом метаболизме, и поэтому рассматривается как многообещающая мишень для противотуберкулёзных препаратов [5, 6, 10].

Разработка отечественных учёных, инновационное ЛС с рабочим названием «тиозонид» — также представитель группы диарилхинолинов. Химически он пред-

ставляет собой -{1R,2S+1S,2R}-1-(6-Бром-2-хлорхинолил-3-ил)-4-(диметиламино)-2-(нафталин-1-ил)-1-фенилбутан-2-ол. Было показано, что противотуберкулёзная активность тиозонида в монотерапии на модели генерализованного туберкулёза у мышей сравнима с таковой препарата 2-го ряда рифампицина, тиозонид имеет ярко выраженный синергизм при совместном применении с изониазидом и рифампицином: сочетание этих препаратов приводило к практически полному излечению животных в течение двухмесячного курса терапии [7, 8].

Целью настоящего исследования было выявить вероятную мишень для активности тиозонида в отношении *M. tuberculosis* и определить возможность взаимодействия методом молекулярного докинга.

Материалы и методы

Для поиска мишеней к лиганду тиозониду *M. tuberculosis* были использованы возможности сервиса для предсказания мишеней лекарств SEA Search Service. Процедура предсказания основывается на проверке схожести молекул на основании коэффициента Танимото, указанного в последнем столбце на рис. 1, и основана на использовании химического сходства с лигандами, действие на мишени кото-

рых изучено и известно. Было проведено моделирование трёхмерных структур белковых субъединиц АТФ-синтазы микобактерии туберкулёза с помощью сервиса swiss-model ввиду отсутствия в базе данных PDB доступных моделей этого протеина. Для моделирования докинга *in silico* использована программа AutoDock версии 4.2, которая включена в состав комплекса MGL Tools версии 1.5.6. AutoDock разработан W. Lindstrom, G.M. Morris, C. Weber и R. Huey (The Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory) [11]. Этот программный продукт позволяет проводить молекулярный докинг с целью поиска локального минимума энергии взаимодействия между лигандом и белком, а также проводить поиск глобального минимума энергии взаимодействия между лигандом и белком, если положение лиганд-связывающего центра не определено экспериментально [3].

Интерес представляли физико-химические механизмы взаимодействия, для определения геометрии лиганд-рецепторных комплексов рецепторов на основе использования экспериментальных данных о строении лиганд-связывающего центра. Эффективность докинга в данной программе повышается путём построения карт электростатических потенциалов, силового поля AMBER (Assisted Model Building with Energy

Refinement) [9]. Результаты, полученные с помощью программы Autodock, позволяют анализировать минимальную энергию связывания лиганда с макромолекулой, вероятность нахождения лиганда в активном центре белка в положении и конформации, отвечающем наименьшей энергии связывания, и среднеквадратичное отклонение найденного положения лиганда от данных рентгеноструктурного анализа.

Результаты исследований

Поиск мишеней к лиганду тиозониду *M. tuberculosis* в сервисе для предсказания мишеней лекарств SEA Search Service показал значительный потенциал для связывания с белками бактерий. В качестве вероятных ключевых таргетных макромолекул были найдены белки — субъединицы АТФ-синтазы микобактерии туберкулёза (рис. 1).

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

На рис. 2 представлены оригинальные модели трёх субъединиц этого энзима.

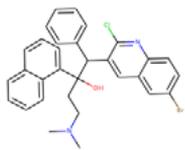
| Query | Target Key | Target Name | Description | P-Value | MaxTC |
|---|----------------|-------------|------------------------------|------------|-------|
|  compound_1 | Q5T0X5_MYCSM+5 | atpE | ATP synthase subunit c | 1.269e-119 | 0.78 |
| | ATP6_MYCTU+5 | atpB | ATP synthase subunit a | 1.522e-100 | 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-01 | 0.78 |

Рис. 1. Скриншот сервиса SEA Search Service с выявленными мишенями тиозонида у *M. tuberculosis*.

Fig. 1. Screenshot of the SEA Search Service with identified targets of thiozonide in *M. tuberculosis*.

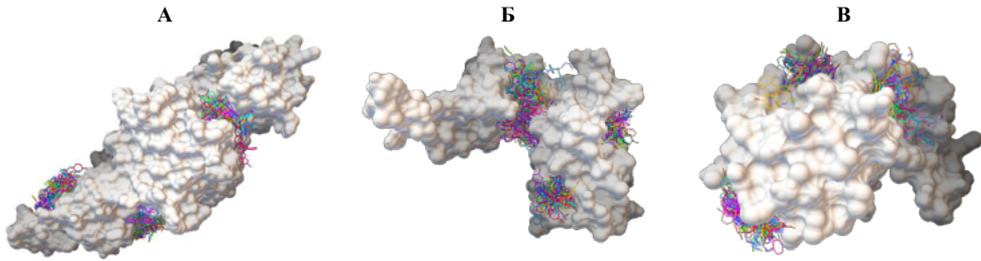


Рис. 2. Модели субъединиц АТФ-синтазы *M. tuberculosis* (А — альфа, Б — дельта, В — эpsilon) с наиболее вероятными участками закрепления молекулы тиозонида с выявленными мишенями тиозонида у *M. tuberculosis*.

Fig. 2. Models of *M. tuberculosis* ATP synthase subunits (А — alpha, Б — delta, В — epsilon) with the most likely sites for fixation of the thioisonide molecule with the revealed thioisonide targets in *M. tuberculosis*.

Как показало моделирование взаимодействия тиозонида с альфа-субъединицей АТФ-синтазы *M. tuberculosis*, с наибольшей вероятностью существуют три кластера связывания, каждый из которых не превышает размер 15 ангстрем. Первый кластер (с наименьшей энергией связывания и наибольшей аффинностью молекулы тиозонида к точке связывания) сформирован 18 конформациями лиганда (тиозонида) и характеризуется минимальной энергией связывания — 8,9 ккал/моль и максимальной — 5,7 ккал/моль. Наиболее вовлечёнными во взаимодействие аминокислотами энзима являются следующие: gln151, arg165, asp192, asn193, trp194, ala441, val442, glu443, ile486, ala487.

В отношении взаимодействия тиозонида с дельта-субъединицей АТФ-синтазы *M. tuberculosis* показано, что наиболее вероятно такое в трёх кластерах связывания, каждый из которых не превышает размер 15 ангстрем. Первый кластер (с наименьшей энергией связывания и наибольшей аффинностью молекулы тиозонида к точке связывания) содержит 22 конформации лиганда и характеризуется минимальной энергией связывания — 9,1 ккал/моль и максимальной — 7,04 ккал/моль. Наиболее вовлечённые во взаимодействие аминокисло-

ты представлены в списке: arg188, trp189, glu200, his201, val202, ser203, arg204, gln205, ala206, glu209, ley210, arg213.

Для эpsilon-субъединицы АТФ-синтазы *M. tuberculosis* также показаны три кластера связывания, каждый из которых не превышает размер 15 ангстрем. Первый кластер (с наименьшей энергией связывания и наибольшей аффинностью молекулы тиозонида к точке связывания) оказался самым большим и содержал 57 конформаций (из 100 рассчитанных) тиозонида. Его характеризовала минимальная энергией связывания — 11,05 ккал/моль и максимальная — 7,71 ккал/моль. Наиболее вовлечёнными во взаимодействие аминокислотами являются: phe6, tyr37, pro38, met39, his40, thr41, val73, gln74, pro75, asn76, gly77.

Заключение

Представленные результаты докинга тиозонида в молекулу АТФ-синтазы *M. tuberculosis* позволяют заключить, что все три субъединицы (альфа, дельта и эpsilon) изучаемого бактериального энзима пригодны в качестве точек связывания с лигандом тиозонида. В каждой из них определено до трёх наиболее аффинных центров связывания с молекулой нового противотуберкулёзного препарата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

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 лёгких*. 2014;6:46–50. [Bocharova I.V., Burenkov M.S., Lepexha L.N., Smirnova T.G., Chernousova L.N., Demihova O.V. Doklinicheskie issledovaniya spetsificheskoy aktivnosti novogo protivotuberkuleznogo preparata tiozonid [Preclinical studies of the specific activity of the new anti-TB drug thiozonide]. *Tuberkuloz i bolezni legkih* [Tuberculosis and lung disease]. 2014;(6):46–50. (In Russian)]. DOI: 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. [Men'shikova L.A. *Farmakokineticheskoe issledovanie original'nogo lekarstvennogo sredstva tiozonida* [Pharmacokinetic study of the original drug thiozonide]: Abstract of diss. ... cand. pharm. sci. Moscow, 2016. (In Russian)].
3. Шадрина М.С., Рогов А.В., Бравая К.Б., Немухин А.В. Молекулярный докинг производных гуанозиннуклеотидов в ГТФ-связывающие белки. *Вестник Московского Университета. Сер. 2. Химия*. 2005;46(6):363–369. [Shadrina M.S., Rogov A.V., Bravaya K.B., Nemuhin A.V. Molekulyarnyy doking proizvodnykh guanozinnukleotidov v GTF-svyazyvayushchie belki [Molecular docking of guanosine nucleotide derivatives into GTP-binding proteins]. *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Ser. 2. Himiya* [Moscow University Bulletin. Ser. 2. Chemistry]. 2005;46(6):363–369. (In Russian)].
4. Diacon A.H., Pym A., Grobusch M., Patientia R., Rustomjee R., Page-Shipp L., Pistorius C., Krause R., Bogoshi M., Churchyard G., Venter A., Allen J., Palomino J.C., De Marez T., van Heeswijk R.P.G., Lounis N., Meyvisch P., Verbeeck J., Parys W., de Beule K., Andries K., Neeley D.F.M. The Diarylquinoline TMC207 for multidrug-resistant tuberculosis. *N. Engl. J. Med.* 2009;360(23):2397–2405. DOI: 10.1056/NEJMoa0808427.
5. Esposito S., D'Ambrosio L., Tadolini M., Schaaf H.S., Caminero L.J., Marais B., Centis R., Dara M., Matteelli A., Blasi F., Migliori G.B. ERS/WHO Tuberculosis Consilium assistance with extensively drug-resistant tuberculosis management in a child: Case study of compassionate delamanid use. *Eur. Respiratory J.* 2014;44:811–815. DOI: 10.1183/09031936.00060414.
6. Koul A., Dendouga N., Vergauwen K., Molenberghs B., Vranckx L., Willebrords R., Ristic Z., Lill H., Dorange I., Guillemont J., Bald D., Andries K. Diarylquinolines target subunit c of mycobacterial ATP synthase. *Nat. Chem. Biol.* 2007;3:323–324. DOI: 10.1038/nchembio884.
7. Klopper M., Warren R.M., Hayes C., Gey van Pittius N.C., Streicher E.M., Müller B., Sirgel F.A., Chabula-Nxiweni M., Hoosain E., Coetzee G., van Helden P.D., Victor T.C., Trollip A. Ph. Emergence and spread of extensively and totally drug-resistant tuberculosis, South Africa. *Emerging Infectious Disease J.* 2013;19:449. DOI: 10.3201//EID1903.120246.
8. Ndjeka N., Schnippel K., Master I., Meintjes G., Maartens G., Romero R., Padanilam X., Enwerem M., Chotoo S., Singh N., Hughes J., Variava E., Ferreira H., te Riele J., Ismail N., Mohr E., Bantubani N., Conradie F. High treatment success rate for multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis using a bedaquiline-containing treatment regimen. *Eur. Respir. J.*, 2018;52(6). DOI: 10.1183/13993003.01528-2018.
9. Prasad P.A., Kanagasabai V., Arunachalam J. *Exploring conformational space using a mean field technique with MOLS sampling*. University of Madras, Guindy Campus, Chennai, India. 2007.
10. Sasseti C.M., Boyd D.H., Rubin E.J. Genes required for mycobacterial growth defined by high density mutagenesis. *Mol. Microbiol.* 2003;48(1):77–84. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2003.03425.x.
11. <http://autodock.scripps.edu>.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шилов Борис Владимирович, к.м.н., доц., ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России;

e-mail: borisshilov@gmail.com

Смирнов Антон Сергеевич, ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России;

e-mail: anton.smirnov.9910@gmail.com

Boris V. Shilov, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov of the Ministry of Health Care of Russia;

e-mail: borisshilov@gmail.com

Anton S. Smirnov, Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov of the Ministry of Health Care of Russia;

e-mail: anton.smirnov.9910@gmail.com

Савченко Алла Юрьевна*, ФГБУН «Научный
центр биомедицинских технологий ФМБА
России»;
e-mail: alursav@mail.ru

Alla Yu. Savchenko*, Scientific Center
of Biomedical Technologies of the Federal Medical
and Biological Agency of Russia;
e-mail: alursav@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author