

## СТРУКТУРА МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 538.911

### ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ ТРИАЗОЛА В АКТИВНОМ ЦЕНТРЕ ИМИДАЗОЛГЛИЦЕРОФOSFATДЕГИДРАТАЗЫ ИЗ *Mycobacterium tuberculosis* МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

© 2019 г. Ю. К. Агапова<sup>1,\*</sup>, В. И. Тимофеев<sup>1,2</sup>, А. С. Комолов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

<sup>2</sup> Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН, Москва, Россия

\*E-mail: agarova.jk@gmail.com

Поступила в редакцию 06.02.2019 г.

После доработки 06.02.2019 г.

Принята к публикации 14.02.2019 г.

Построены модели комплексов имидазолглицерофосфатдегидратазы из *Mycobacterium tuberculosis* с некоторыми производными триазола, для которых известно, что они являются ингибиторами гомологичного фермента растительного происхождения. Методом молекулярной динамики показано, что данные соединения стабильно связываются в активном центре имидазолглицерофосфатдегидратазы из *M. tuberculosis*. Описаны их положение и окружение в активном центре фермента. Данная работа может быть использована для модификации исследуемых производных триазола при создании на их основе селективных противотуберкулезных лекарств.

DOI: 10.1134/S0023476119040027

#### ВВЕДЕНИЕ

Имидазолглицерофосфатдегидратаза (IGPD) катализирует шестой этап биосинтеза важнейшей аминокислоты — гистидина. IGPD отвечает за превращение имидазолглицерофосфата (IGP) в имидазолацетолфосфат (IAP) [1]. Гистидин является одной из 20 аминокислот, входящих в состав белков, и необходим бактерии для ее роста и развития. Ферментативный путь синтеза гистидина из 5-фосфорибозил-1-пирофосфата протекает в 10 стадий и задействует в общей сложности 11 ферментов. При этом биосинтез гистидина осуществляется только у бактерий, растений, грибов и полностью отсутствует у млекопитающих, которые получают гистидин вместе с пищей [2, 3]. Так как блокирование данного фермента в патогенной бактерии не нарушит метаболические процессы в организме хозяина, IGPD является привлекательной мишенью для поиска потенциальных противотуберкулезных лекарств.

Пространственная структура свободного фермента и его комплекса с природным субстратом (IGP) установлена при разрешении 2.02 и 2.1 Å соответственно [4]. Биологический ансамбль IGPD включает в себя 24 субъединицы, а в состав каждого из 24 его активных центров входят аминокислотные остатки трех соседних субъединиц. IGPD является металлозависимым ферментом, в каждом из 24 активных центров которого содержатся два иона марганца [4, 5]. Положение актив-

ного центра и природа входящих в него аминокислотных остатков установлены при анализе расположения субстрата в комплексе IGPD/IPG. В комплексе IGPD/IPG имидазольная группа субстрата IGP расположена в активном центре между двумя ионами марганца (Mn1 и Mn2) приблизительно на расстоянии 6 Å от каждого иона марганца; N- и C-атомы имидазольного кольца IGP участвуют в ван-дер-ваальсовых взаимодействиях с атомом CZ Met107A, а N1- и N2-атомы Arg99C формируют водородные связи с атомами OP5 и OP6 IGP соответственно.

Субстрат находится вблизи поверхности фермента и окружен преимущественно полярными остатками. Глицерофосфатный фрагмент молекулы субстрата посредством водородных связей контактирует с остатками Glu21A, Arg99A, Glu180A, Lys184A. Ион Mn1 взаимодействует с атомами NE2 остатков His47A, His176A, His74B, атомом OE1 остатка Glu180A, атомами N2, O3 субстрата IGP, а Mn2 связан с атомами NE2 остатка His73B, His152B, His177A, атомом OE1 остатка Glu77B, боковыми радикалами остатков Met107A, Arg99C, Lys174A, Glu21B. Показано, что растительные IGPD оказались эффективными мишенями для ингибиторов — производных триазола при конструировании на их основе гербицидов [6].

В настоящей работе проведено моделирование комплексов аналогов триазола с имидазолглице-

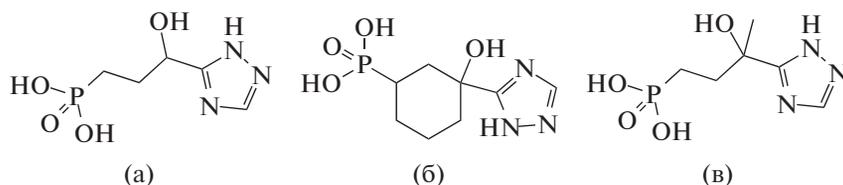


Рис. 1. Структурные формулы аналогов триазола, ингибиторов IGPD: IRL 1695 (а), IRL 1803 (б), IRL 856 (в).

рофосфатдегидратазой из *M. tuberculosis* для оценки возможности использования исследуемых лигандов в качестве прототипов высокоселективных противотуберкулезных лекарств.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Построение трехмерных моделей комплексов.** Для построения комплексов IGPD с тремя аналогами триазола (IRL 1695, IRL 1803, IRL 856, рис. 1) использовали метод молекулярного докинга (интернет-сервис Mcule [https://mcule.com]).

В качестве мишени использовали структуру IGPD из *M. tuberculosis* (PDB\_ID: 4gqu). Для каждого из трех ингибиторов были построены четыре модели лиганд–рецептор. Для дальнейшего анализа были выбраны лучшие согласно оценочной функции докинга модели комплексов.

**Молекулярно-динамическая симуляция моделей комплексов PSP с пептидами.** Поведение комплексов IGPD из *M. tuberculosis* изучали в молекулярно-динамическом (МД) эксперименте. Для проведения МД-симуляции выбрано силовое поле OPLS-AA/L [7]. Область моделирования пред-

ставляла собой кубическую ячейку  $35 \times 35 \times 35$  нм. Белок помещали в центр ячейки, весь объем которой заполняли водой с использованием модели воды spc216. Расчеты проводили с использованием программного пакета GROMACS [8].

На первом этапе МД-эксперимента провели минимизацию энергии комплексов для релаксации структуры, чтобы избежать стерических столкновений при дальнейшей симуляции. Затем на подвижность атомов системы были наложены ограничения, и при помощи симуляции системы в термостате и баростате установлены температура 300 К и давление 1 атм. Использовали алгоритмы поддержания температуры и давления – термостат Berendsen [9] и баростат Parrinello-Rahman [10]. После этого все ограничения были сняты и проведен МД-эксперимент, параметры которого представлены в табл. 1. В результате для каждого из комплексов получены траектории движения всех атомов продолжительностью 10 нс. Все вычисления проводили на суперкомпьютере НИЦ “Курчатовский институт”.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные методом молекулярного докинга модели комплексов IGPD с тремя аналогами триазола (IRL 1695, IRL 1803, IRL 856) были ранжированы согласно оценочной функции докинга (табл. 2). В отобранных четырех вариантах положения ингибиторов в активных центрах каждого комплекса различались не более чем на  $0.3 \text{ \AA}$ . Для моделей трех комплексов, выбранных согласно лучшей оценочной функции докинга, был проведен расчет методом молекулярной динамики. Рассчитываемое время для каждой из трех моде-

Таблица 1. Параметры молекулярно-динамического эксперимента

Система в термостате	
Термостат	Berendsen
Температура, К	300
Система в баростате	
Баростат	Parrinello-Rahman
Устанавливаемое давление, атм	1
Температура, К	300
Продолжительность NVT и NPT динамики, пс	100
Шаг временной сетки, пс	0.002
Молекулярная динамика	
Шаг временной сетки $dt$ , пс	0.002
Количество шагов	10000000
Длина траектории, нс	10
Количество записанных фреймов	100
Интегратор	Leap-frog

Таблица 2. Оценочная функция докинга для комплексов IGPD с IRL 1695, IRL 1803 и IRL 856

Модель	Значение оценочной функции докинга		
	IRL 1695	IRL 1803	IRL 856
1	−4.9	−5.4	−5.4
2	−4.8	−5.4	−5.2
3	−4.7	−5.3	−5.0
4	−4.4	−5.0	−4.5

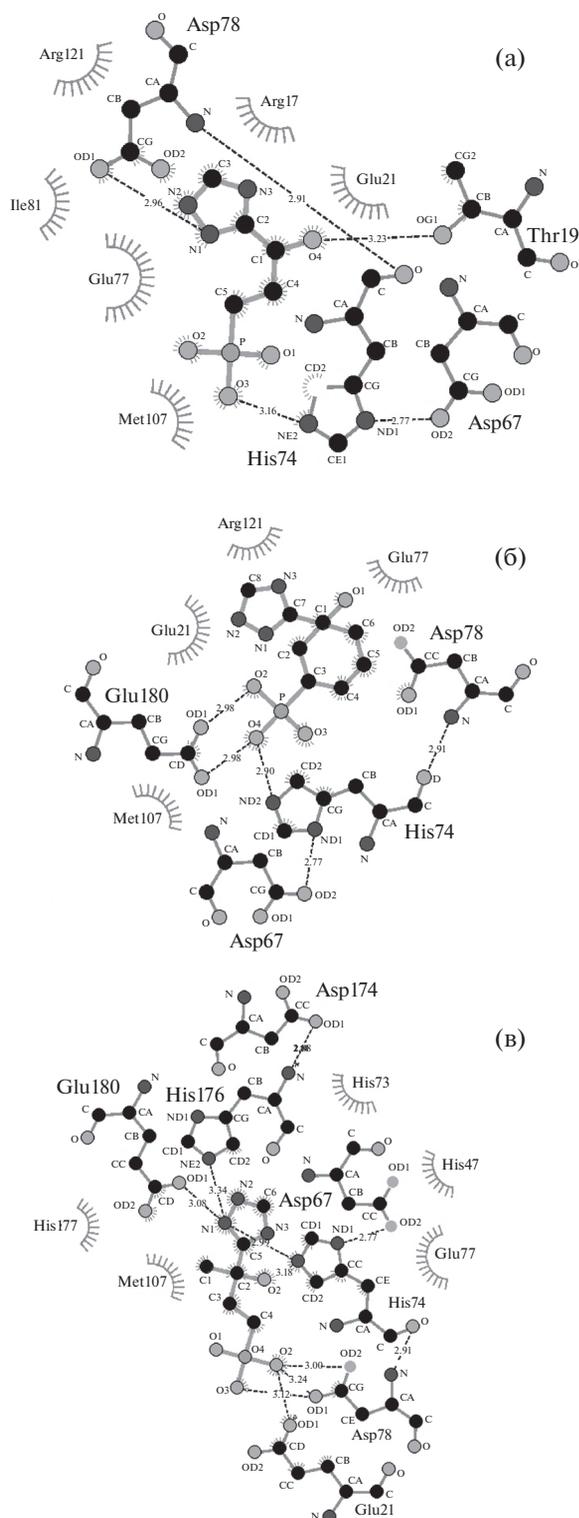


Рис. 2. Окружение аналогов триазола, ингибиторов IGPД, в активном центре фермента IGPД после 10 нс МД-симуляции: IRL 1695 (а), IRL 1803 (б), IRL 856 (в).

лей составило 10 нс. Сравнение полученных моделей после 10 нс МД-симуляции с начальным положением ингибиторов в активном центре фермента показало, что все существенные взаимодействия ингибиторов с белком сохраняются в

конечной точке МД-траектории. С помощью программы LigPlot [11] был проведен анализ аминокислотного окружения каждого из ингибиторов на 10 нс МД-траектории (рис. 2).

Из рисунка видно, что как фосфатная (IRL 1695/O3-HIS74/NE2), так и триазольная (IRL 1695/N1-ASP178/OD1) группы ингибитора IRL 1695 образуют с молекулой белка водородные связи, тогда как только фосфатная группа ингибитора IRL 1803 имеет водородные связи с белком (IRL 1803/O3-GLU180/OE2, IRL 1803/O4-GLU180/OE1, IRL 1803/O4-HIS74/NE2). Ингибитор IRL 856 образует значительно больше водородных связей с молекулой белка, причем в отличие от IRL 1695 и IRL 1803 к гистидинам активного центра обращена не фосфатная, а триазольная группа ингибитора. Таким образом, несмотря на большую степень сходства исследуемых ингибиторов (IRL 1695 отличается от IRL 856 только отсутствием СН<sub>3</sub>-группы, рис. 1), имеется существенная разница в связывании этих ингибиторов в активном центре фермента. Полученные структурные данные будут использованы как основа для разработки высокоселективных противотуберкулезных препаратов.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-34-00876) в части расчетов молекулярного докинга и молекулярной динамики и при поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках выполнения работ по Государственному заданию ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН в части анализа результатов молекулярного моделирования.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ames B.N., Garry B., Herzenberg L.A. // J. Mol. Biol. 1960. V. 33. P. 533.
2. Alifano P., Fani R., Lio P. et al. // Microbiol. Rev. 1996. V. 60. P. 44.
3. Stepansky A., Leustek T. // Amino Acids. 2006. V. 30. P. 127.
4. Ahangar M.S., Khandokar Y., Nasir N. et al. // Acta Cryst. F. 2011. V. 67. P. 1451.
5. Подшивалов Д.Д., Манджиева Ю.Б., Сидоров-Бирюков Д.Д. и др. // Кристаллография. 2018. Т. 63. № 1. С. 82.
6. Mori I., Fonne-Pfister R., Matsunaga S. et al. // Planta Physiol. 1995. V. 107. P. 719.
7. Jorgensen W.L., Maxwell D.S., Tirado-Rives J. // J. Am. Chem. Soc. 1996. V. 118. P. 11225.
8. Abraham Murtola T., Schulz R. et al. // Software X. 2015. V. 1–2. P. 19.
9. Berendsen H.J.C., Postma J.P.M., van Gunsteren W.F. et al. // J. Chem. Phys. 1984. V. 81. P. 3684.
10. Parrinello M., Rahman A. // J. Chem. Phys. 1982. V. 76. № 5. P. 2662.
11. Swindells M.B., Laskowski R.A. // J. Chem. Inf. Model. 2011. V. 51. P. 2778.