## Рациональный дизайн потенциальных ингибиторов Bcr-Abl тирозинкиназы методами молекулярного моделирования

Андрианов А.М.<sup>\*1</sup>, Корноушенко Ю.В.<sup>1</sup>, Карпенко А.Д.<sup>2</sup>, Босько И.П.<sup>2</sup>, Игнатович Ж.В.<sup>3</sup>, Королева Е.В.<sup>†3</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь <sup>2</sup>Объединенный институт проблем информатики, Национальная академия наук

еоиненный институт проолем информатики, *Национальная акаоеми* Беларуси, Минск, Республика Беларусь <sup>3</sup>Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Открытие природы ингибирования опухолевых процессов малыми органическими молекулами изменило принципы разработки лекарственных соединений для противоопухолевой терапии. Последние достижения в этой области связаны с созданием низкомолекулярных ингибиторов протеинкиназ – органических соединений, проявляющих направленное патогенетическое действие. В настоящей работе осуществлен іп silico дизайн 38 потенциальных ингибиторов протеинкиназ с мультикиназным профилем на основе производных 2-ариламинопиримидина. Методами молекулярного моделирования оценен потенциал их ингибиторной отношении нативной и мутантной (Т<sub>3151</sub>) активности в Bcr-Abl тирозинкиназы – фермента, играющего ключевую роль в патогенезе хронического миелоидного лейкоза, характеризующегося неконтролируемым ростом миелоидных клеток в периферической крови и костном мозге. В результате выполненных исследований идентифицированы 5 соединенийлидеров, проявляющих, согласно расчетным данным, высокую аффинность связывания с нативной и мутантной Abl-киназой. Показано, что сконструированные методами молекулярного моделирования соединения представляют собой перспективные базовые структуры для разработки новых эффективных противоопухолевых препаратов.

**Ключевые слова:** протеинкиназы, Bcr-Abl тирозинкиназа, ингибиторы Bcr-Abl тирозинкиназы, компьютерный дизайн лекарств, фармакофорное моделирование, молекулярный докинг, квантовая химия, молекулярная динамика.

#### введение

Исследования фундаментальных молекулярных механизмов, лежащих в основе передачи сигналов опухолевых клеток, выяснили решающую роль протеинкиназ в канцерогенезе, поскольку в тех случаях, когда эти ферменты чрезмерно экспрессированы или активны, они способствуют пролиферации клеток [1, 2]. За последние три десятилетия было установлено, что множественные злокачественные опухоли человека обусловлены модуляцией и дисфункцией протеиновых и липидных киназ и дезактивированных фосфатаз из-за перестановок хромосом и генетических мутаций [3–5]. Исследования мутаций генома киназ показали, что генетически

<sup>\*</sup>alexande.andriano@yandex.ru

<sup>&</sup>lt;sup>†</sup>evkoroleva@gmail.com

наследуемые варианты специфических киназ причинно связаны с возникновением, развитием, прогрессированием и рецидивом рака [1, 6]. Кроме онкологических проблем, дисрегуляция киназ характерна для многих заболеваний человека, включая иммунные, неврологические и инфекционные заболевания [7–10].

В настоящее время набор из приблизительно 538 киназ, закодированных в геноме человека, рассматривается в качестве перспективных мишеней для разработки новых лекарственных препаратов для терапии различных видов злокачественных опухолей [11]. Ингибиторы киназ показали высокую эффективность при лечении злокачественных опухолей, особенно для случаев специфических мутаций, которые в основном управляют онкогенезом [11]. Используемые в химиотерапии ингибиторы киназ классифицируются в соответствии с их способностью блокировать перенос терминального фосфата АТФ на белки – субстраты, которые обычно содержат остаток серина, треонина или тирозина [12]. Ингибиторы киназы прямого взаимодействия с АТФ-связывающим сайтом фермента подразделяются на два типа. Ингибиторы типа І могут связываться с активными и неактивными конформацими киназ, а ингибиторы типа II – только с их неактивными конформациями [12, 13]. Ингибиторы типа I и II блокируют сайт связывания АТФ и используют водородные связи с амидной основной цепью аминокислотных остатков шарнирной области. Различие между ними заключается в том, что ингибиторы типа II обычно проникают глубже в карман, обеспечивая доступ к аллостерическому сайту связывания. В отличие от ингибиторов типа I и II, ингибиторы киназ типа III не конкурируют с АТФ за связывание с АТФ-связывающим карманом и взаимодействуют напрямую с аллостерическими сайтами фермента [13].

С 2001 года было зарегистрировано 28 низкомолекулярных ингибиторов АТФсвязывающего сайта киназ, одобренных Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) для терапии онкологических заболеваний [11]. Первый ингибитор киназ иматиниб специфически связывается с Bcr-Abl киназой, которая играет ключевую роль в развитии хронического миелоидного лейкоза (XMЛ), характеризующегося неконтролируемым ростом миелоидных клеток в периферической крови и костном мозге [14–18]. Bcr-Abl киназа, катализирующая процесс развития XMЛ, является одним из наиболее хорошо изученных онкогенов [11, 19, 20]. Терапия иматинибом оказалась довольно успешной: пациенты с XMЛ достигали полного цитогенного ответа через 2 года после начала лечения и состояния стойкой ремиссии на протяжении длительного времени, а их смертность существенно не отличалась от общей популяции [11, 14–18, 21].

Лекарственные препараты на основе новых ингибиторов специфической Bcr-Abl киназы, применяемые в настоящее время в клинической практике, дают более благоприятные результаты по сравнению с обычной цитотоксической терапией [11, 17, 21, 22]. Использование этих ингибиторов позволило значительно увеличить продолжительность жизни пациентов при хроническом миелоидном лейкозе (ХМЛ), а также при некоторых стромальных опухолях желудочно-кишечного тракта.

Кроме иматиниба, в настоящее время для терапии ХМЛ используется несколько ингибиторов Bcr-Abl тирозинкиназы прямого взаимодействия с АТФ-связывающим карманом фермента, среди которых следует в первую очередь отметить такие препараты, как нилотиниб, понатиниб, дазатиниб и бозутиниб [23–32]. Однако все эти соединения токсичность, вызывающую проявляют высокую ряд гематологических И негематологических побочных эффектов [11]. Кроме того, у большинства пациентов возникает резистентность к применяемым препаратам, приобретаемая после длительной химиотерапии [11]. В связи с этим актуальным является поиск новых ингибиторов Всг-Abl тирозинкиназы, обладающих меньшей токсичностью и снижающих риск возможного возникновения резистентности к используемым препаратам, связанной с их длительным применением.

Модели *in silico* могут обеспечить быструю, масштабную и систематическую предварительную проверку химических веществ. В настоящей работе методами молекулярного моделирования осуществлен рациональный дизайн высокоаффинных ингибиторов нативной и мутантной (T<sub>315I</sub>) Bcr-Abl тирозинкиназы на основе амидов 2-ариламинопиримидиного ряда.

Для этого были проведены исследования, включающие:

 – фармакофорное моделирование химерных молекул – потенциальных противоопухолевых соединений с мультикиназным профилем ингибиторной активности
 – на основе производных 2-ариламинопиримидина и замещенных арилкарбоновых кислот, содержащих в качестве заместителей фармакофорные фрагменты пиперазина, морфолина, изоксазола и изотиазола;

- in silico дизайн потенциальных ингибиторов Bcr-Abl тирозинкиназы;

– молекулярный докинг сконструированных соединений с АТФ-связывающими сайтами нативной и мутантной форм фермента;

– оптимизацию построенных комплексов с помощью полуэмпирического квантовохимического метода РМ7 [33];

– молекулярную динамику (МД) комплексов лиганд/Abl-киназа;

– анализ межмолекулярных взаимодействий, ответственных за энергетическую стабилизацию комплексов;

– расчет значений констант диссоциации комплексов лиганд/Abl-киназа и свободной энергии связывания и отбор структур, перспективных для химического синтеза и тестирования на противоопухолевую активность.

В результате проведенных исследований идентифицированы соединения-лидеры, способные к эффективным и специфическим взаимодействиям с АТФ-связывающим сайтом нативной и мутантной Всг-Abl тирозинкиназы.

#### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

# Фармакофорное моделирование потенциальных ингибиторов Bcr-Abl тирозинкиназы

Структура целевого амида условно может быть разделена на два фрагмента (кислотный и аминный) и линкер, связывающий их между собой через NH, NHCO группы и, в ряде случаев, через фенильный фрагмент. NH, NHCO группы обеспечивают водородные связи в активном центре киназы. Для конструирования химерных молекул 38 амидов использовали варьирование фармакофоров в кислотном остатке. Изменяя положение заместителей в ариламинопиримидине – амине, являющемся ключевым структурным фрагментом иматиниба [14], и положение NH и NHCO групп – проверяли влияние пространственной структуры амида на эффективность связывания с Ablкиназой в скрининге *in silico*. В качестве примера на рисунке 1 приведена схема сборки пяти наиболее перспективных химерных молекул, которые, согласно данным молекулярного моделирования, проявляют высокую аффинность связывания с молекулярной мишенью (см. раздел "Результаты и обсуждение"). Для построения двумерных структур потенциальных ингибиторов Abl-киназы использовали редактор химической графики ChemDraw Ultra 12.0 [34], а моделирование их трехмерных структур осуществляли с помощью программного пакета OpenBabel [35] с последующей оптимизацией их структурных параметров в силовом поле UFF [36].



**Рис. 1.** Схема сборки пяти наиболее перспективных химерных молекул, проявляющих высокую аффинность связывания с молекулярной мишенью согласно данным молекулярного моделирования.

#### Молекулярный докинг

Структурные комплексы 38 сконструированных соединений с нативной и мутантной Всг-Abl тирозинкиназой моделировали методом молекулярного докинга в программном пакете QuickVina 2 [37] с учетом конформационной подвижности лигандов. Трехмерные структуры нативной и мутантной Abl-киназы заимствовали из комплексов фермента с понатинибом в кристалле (коды 3OXZ и 3OY3 соответственно в Банке данных белков PDB, http://www.rcsb.org/pdb/) [38]. Перед проведением докинга с помощью программы OpenBabel [35] к структурам белка и лигандов добавляли атомы водорода и проводили их оптимизацию в силовом поле UFF [36]. Ячейка для докинга включала ATФ-связывающий карман фермента и представляла собой фрагменты структур нативной и мутантной Abl-киназы со следующими параметрами:  $\Delta X = 17$  Å,  $\Delta Y = 16$  Å,  $\Delta Z = 31$  Å с

#### АНДРИАНОВ и др.

центром при X = 14 Å, Y = -7 Å, Z = 16 Å. Параметр, характеризующий полноту поиска (охват конформационного пространства), был задан равным 100. В качестве положительного контроля в расчетах использовали молекулы иматиниба, понатиниба, нилотиниба, дазатиниба, бозутиниба и бафетениба, трехмерные структуры которых заимствовали из Банка данных белков PDB (коды соединений: понатиниб – 30XZ [38], иматиниб – 20IQ [39], нилотиниб – 3CS9 [40], дазатиниб – 2GQG [41], бозутиниб – 5AJQ, бафетениб – 2E2B [42]).

#### Оптимизация структурных комплексов

Квантово-химические расчеты выполняли полуэмпирическим методом РМ7 [33] в программном пакете MOPAC2016 [43] с неявной моделью растворителя в рамках приближения COSMO (COnductor-like Screening MOdel) [44] при значении диэлектрической проницаемости, равном 78.4. При подготовке к оптимизации в структурах комплексов восстанавливали атомы водорода [35] и оптимизировали их геометрию в силовом поле UFF [36]. Для ускорения вычислений использовали метод локализованных орбиталей [45] в форме алгоритма линейного масштабирования SCF MOZYME [33, 43]. Градиент энергии, при котором завершается процесс оптимизации, задавали равным 20 ккал/моль/Å [33, 43].

#### Молекулярная динамика комплексов лиганд/Abl-киназа

Молекулярную динамику комплексов проводили с помощью программного пакета Amber18 в силовых полях ff14SB (Abl-киназа) [46] и GAFF (лиганды) [47]. Для задания парциальных зарядов атомов использовали модуль Antechamber программного пакета AmberTools18 [46]. Атомы водорода добавляли с помощью программы tleap AmberTools18 [46]. Комплексы помещали в кубическую коробку, заполняли растворителем (модель воды TIP3P [48]) и добавляли ионы Na<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> до значения ионной силы, равного 0.10 М. Систему минимизировали (первые 500 шагов использовали алгоритм наискорейшего спуска, последние 500 шагов – сопряжённых градиентов), а затем нагревали от 0 К до 310 К в течение 1 нс в рамках статистического ансамбля NVT и термостата Ланжевена с последующим уравновешиванием в течение 1 нс и давлении 1.0 атм (ансамбль NPT, баростата Берендсена). На заключительном этапе систему уравновешивали в течение 0.5 нс при постоянном объёме и проводили молекулярную динамику в течение 50 нс в изобарно-изотермических условиях при температуре 310 К и давлении 1 атм. Интегрирование уравнений движения Ньютона осуществляли с помощью алгоритма "leap-frog" [46] с шагом интегрирования 2.0 фс. Для фиксации длин связей, в образовании которых участвуют атомы водорода, применяли алгоритм SHAKE [49]. Максимальное расстояние, на котором учитывали электростатические взаимодействия, задавали равным 8.0 Å. Для расчета энергии электростатических взаимодействий использовали метод Эвальда [50].

#### Анализ профиля межмолекулярных взаимодействий и аффинности связывания

Межмолекулярные взаимодействия в статических моделях комплексов лигандов с Abl-киназой идентифицировали с помощью программы BINANA [51]. Трехмерные структуры комплексов визуализировали средствами программного пакета UCSF Chimera [52]. Для иллюстрации профиля межмолекулярных взаимодействий использовали программу Ligplot [53]. Величины констант диссоциации ( $K_d$ ) рассчитывали с помощью оценочной функции NNScore 2.0 [54], разработанной на основе методов машинного обучения с использованием 20 нейронных сетей и предназначенной для предсказания высокоаффинных низкомолекулярных лигандов. Значения свободной энергии связывания предсказывали с помощью оценочной функции QuickVina 2 и вычисляли на основе величин  $K_d$  по формуле  $\Delta G = R \times T \times \ln K_d$ , где  $\Delta G$  – свободная энергия связывания, R – универсальная газовая постоянная, T – абсолютная температура, равная 310 K) [55]. Энтальпию связывания для комплексов лиганд/Abl-киназа, оптимизированных квантово-химическим методом PM7, рассчитывали, как разность теплоты образования молекул в связанном и свободном состояниях [43].

Средние значения энергии связывания для динамических моделей комплексов лиганд/Abl-киназа рассчитывали с помощью метода MM/GBSA [56–58], реализованного в программном пакете AMBER 18 [46]. При оценке свободной энергии первые 10 нс MД моделирования отводили на релаксацию системы и не учитывали в расчетах. Энергию связывания вычисляли для 200 комплексов МД траектории, разделенных во времени интервалом 0.2 нс. Для расчета полярной составляющей энергии сольватации использовали континуальную модель растворителя Пуассона-Больцмана с ионной силой 0.10. Неполярные компоненты свободной энергии гидратации вычисляли на основе расчетов площади поверхности, доступной растворителю [46]. Анализ МД траекторий выполняли с помощью программного модуля СРРТRAJ пакета AmberTools 18 [46].

В качестве позитивного контроля в квантово-химических и МД расчетах использовали молекулы иматиниба, нилотиниба и понатиниба.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований были отобраны 5 соединений-лидеров (рис. 2), которые, согласно расчетным данным, специфически и эффективно взаимодействуют с АТФ-связывающим карманом нативной и мутантной форм Ablкиназы и характеризуются низкими значениями *K*<sub>d</sub> и свободной энергии связывания. В таблице 1 представлены их физико-химические параметры, которые обеспечивают такие важные для лекарства свойства как абсорбция, распределение, метаболизм, выделение, И используются для отбора соединений, перспективных для разработки фармацевтических препаратов [59]. Анализ данных этой таблицы показывает, что все идентифицированные потенциальные ингибиторы Abl-киназы являются малыми молекулами и, за исключением лиганда IV, полностью удовлетворяют критериям, налагаемым на химическое соединение "правилом пяти" Липинского [59], в соответствии с которым потенциальное лекарство должно обладать молекулярной массой менее 500 Да, иметь липофильность (log P – коэффициент распределения вещества на границе раздела вода-октанол) менее 5, иметь менее пяти атомов-доноров водородной связи и суммарно не более 10 атомов азота и кислорода.

На рисунке 3 приведен структурный комплекс соединения I с активным центром нативной и мутантной форм Abl-киназы (табл. 2). Исследование профиля межмолекулярных взаимодействий соединения I с нативной Abl-киназой показывает, что этот лиганд формирует пять водородных связей с остатками Asp-381, Thr-315, Glu-316 и Met-318 ATФ-связывающего кармана фермента (табл. 2, рис. 3).

Кроме водородных связей, соединение I образует солевой мостик с His-163 и 49 вандер-ваальсовых контактов с остатками, важными для обеспечения каталитической функции фермента, такими как Lys-271, Glu-286, Thr-315 и Asp-381 (табл. 2, рис. 4). Как и в случае нативной Abl-киназы, при связывании с ее мутантной формой соединение I вступает в многочисленные межмолекулярные контакты, образуя три водородных связи с Glu-286, Asp-381 и Val-270 и 49 ван-дер-ваальсовых контактов (табл. 2, рис. 3, 4).



N-гидрокси-4-((3-(4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-иламино)фениламино)метил)бензамид







N-гидрокси-4 -((4-метил-3-(4-(пиридин-3-ил) пиримидин-2-иламино)фениламино) метил)бензамид



2- (4 -((4-метил-3-(4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-иламино)фениламино)метил)бензамидо) пентандиовая кислота



N-(2-метил-5-(4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2иламино)фенил)-2-(тритилтио)ацетамид

**Рис. 2.** Химические структуры сконструированных соединений потенциальных ингибиторов Ablкиназы.

Соединения II–V проявляют аналогичный механизм связывания с Abl-киназой, основу которого формируют водородные связи и ван-дер-ваальсовые взаимодействия, играющие доминирующую роль в стабилизации комплексов нативной и мутантной Abl-киназы с лигандами (табл. 2).

Таблица 1. Физико-химические параметры химических соединений потенциальных ингибиторов Abl-киназы<sup>\*</sup>

Лиганд	Химическая формула	Молекулярная масса (Да)	LogP	Число доноров водородной связи	Число акцепторов водородной связи
I (31)	$C_{23}H_{20}N_6O_2$	412.2	-0.018	0	8
II (30)	$C_{24}H_{22}N_6O_2$	426.2	0.276	0	8
III (36)	$C_{26}H_{20}N_6O_2$	312.0	-0.053	5	6
IV (37)	$C_{29}H_{28}N_6O_5$	540.0	-1.359	3	11
V (38)	C <sub>37</sub> H <sub>31</sub> N <sub>5</sub> OS	448.0	0.04	0	8

\*Физико-химические параметры рассчитаны с помощью веб-сервера открытого доступа "Lipinski Rule of Five" (http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp).

Эффективность межмолекулярных взаимодействий идентифицированных соединений с Abl-киназой подтверждают низкие значения  $K_d$  и свободной энергии связывания, что свидетельствует об их высоком сродстве с активным центром фермента (табл. 3). Анализ величин  $K_{d \, \text{H}}$  энергии связывания, рассчитанных для соединений I–V с

помощью оценочной функции QuickVina 2, показывает, что, с учетом погрешностей расчетов, они сопоставимы с соответствующими параметрами, предсказанными с помощью идентичного вычислительного протокола для ингибиторов Abl-киназы, широко используемых в клинической практике для терапии XMЛ (табл. 3). Этот вывод подтверждают также данные квантово-химических расчетов (табл. 4), согласно которым для нативной Abl-киназы значения свободной энергии образования комплексов анализируемых молекул с ферментом ниже соответствующих величин, предсказанных для молекул иматиниба, нилотиниба и понатиниба. При этом в случае мутантной Abl-киназы соединения I–V демонстрируют более низкие значения энтальпии связывания по сравнению с иматинибом, близкие величины с нилотинибом, но существенно уступают понатинибу по химическому сродству к ферменту (табл. 4).



Рис. 3. Структурные комплексы соединения I с нативной (а) и мутантной (б) Всг-Abl тирозинкиназой, построенные методом молекулярного докинга и оптимизированные квантовохимическим методом РМ7. Соединение изображено с помощью молекулярной модели "шарик-палочка-шарик". Отмечены остатки фермента, образующие межатомные контакты с лигандами (табл. 2). Остатки Abl-киназы, участвующие в водородном связывании, отмечены с помощью "палочковой" модели. Водородные связи показаны сплошными зелеными линиями. "Проволочная" модель использована для обозначения остатков, формирующих ван-дер-ваальсовы контакты и солевой мостик.

#### АНДРИАНОВ и др.

Лиганд	Водородная связь <sup>1</sup>	Ван-дер-ваальсовы контакты <sup>2</sup>	Солевые мостики <sup>3</sup>			
Нативная Abl-киназа						
I	NHN[D381] NHO[D381] NHOG1[T315] OHO[E316] OHN[M318]	M290(6), E286(14), D381(2), V299(4), K285(2), V289(1), T315(3), K271(1), A380(2), F382(9), L370(2), V256(1), A269(2)	СООН163			
п	NHN[K271] NHOG[T315] NHO[E316] OHN[M318]	M290(5), V299(3), A380(5), I293(1), E286(15), K285(2), V289(2), K271(1), T315(3), V256(2), A269(2), F382(8), L370(2)	NCHCE286			
III	-	V289(3), I293(6), L354(3), H361(2), K285(1), E286(8), A380(3), V299(1), F359(1), I360(1), T315(6), F382(6), A269(2), V256(3), K271(3)	_			
IV	NHN[D381]	E286(14), D381(1), I293(1), M290(2), V299(4), A380(5), K285(2), V289(1), T315(5), K271(2), F382(8), V256(3), A269(1)	NCHCE286			
V NHN[D381]		V289(5), F359(1), K285(6), I293(4), L298(1), H361(2), L354(2), A380(2), E286(8), M290(1), G383(2), E282(7)	_			
	Мут	антная Abl-киназа				
I	NHOE2[E286] NHN[D381] OHN[V270]	E286(13), V299(3), A380(3), I293(2), K285(4), G383(1), E282(1), D381(1), M290(2), I315(6), F382(7), K271(3), A269(2), I313(1)	_			
п	NHOE2[E286], OHN[V270]	E286(12), V299(4), A380(3), I293(2), K285(4), G383(2), E282(2), D381(1), M290(2), I315(6), F382(7), K271(2), I313(1), A269(2)	_			
ш	NHOD2[D381], NHZ1NZ[K271], NHOE2[E286], NHN[D381]	D381(8), E286(9), V289(2), G383(3), R386(1), E282(6), F283(1), K271(3), V270(4), I315(6), V256(4), F382(4), A269(5), M290(2), I313(1)	_			
IV	_	G321(9), F317(3), L248(4), D325(2), E329(4), Y326(4), Y320(4), L370(5), A269(5), I315(1), F382(7), V256(3)	_			
v	NHN[I360] NHN[D381]	K285(5), V289(6), F359(4), ILE360(2), I293(4), H361(6), L354(2), D381(6), E286(3), B362(9), G383(1), D363(2)	-			

**Таблица 2.** Межмолекулярные взаимодействия, реализующиеся в структурных комплексах сконструированных соединений с Bcr-Abl тирозинкиназой

 
 R362(9), G383(1), D363(2)

 <sup>1</sup>Первыми указаны атомы молекулы лиганда, а вторыми – атомы аминокислотных остатков Ablкиназы (приведены в квадратных скобках в однобуквенном коде).

<sup>2</sup>Аминокислотные остатки Abl-киназы, формирующие ван-дер-ваальсовы контакты с лигандами. В скобках указано число контактов.

<sup>3</sup>Для солевых мостиков первыми приведены функциональные группы лигандов, а вторыми – аминокислотные остатки Abl-киназы.



**Рис. 4.** Аминокислотные остатки нативной (**a**) и мутантной (**б**) Abl-киназы, формирующие ван-дерваальсовы контакты с соединением I. Эллипсом выделены остатки, вовлеченные в водородное связывание.

Данные молекулярной динамики в целом согласуются с основными выводами, сделанными на основе анализа статических моделей комплексов лиганд/Abl-киназа. Эти комплексы относительно стабильны в течение молекулярно-динамических расчетов, о чем свидетельствуют средние значения энергии связывания и соответствующие им стандартные отклонения (табл. 5). На относительную стабильность комплексов лиганд/Abl-киназа указывают значения среднеквадратичных отклонений (RMSD, rootmean square deviation) координат атомов динамических моделей от стартовых структур соединений I-V в связанных с ферментом состояниях (рис. 5, 6). Средние значения RMSD и стандартных отклонений для нативной Abl-киназы, составляющие  $2.2 \pm 0.5$  Å (соединение I),  $2.6 \pm 0.5$  Å (соединение II),  $2.8 \pm 0.7$  Å (соединение III),  $2.5 \pm 0.5$  Å (соединение IV) и  $2.8 \pm 0.6$  Å (соединение V), близки к величинам  $2.7 \pm 0.8$  Å,  $2.4 \pm 0.5$  Å и 2.1 ± 0.4 Å, полученным для молекул иматиниба, понатиниба и нилотиниба соответственно. В случае мутантной Abl-киназы значения RMSD для соединений I-V равны соответственно  $2.3 \pm 0.4$  Å,  $2.0 \pm 0.3$  Å,  $2.7 \pm 0.5$  Å,  $3.0 \pm 0.7$  Å и  $3.6 \pm 0.8$  Å и близки к предсказанным для контрольных молекул величинам, составляющим  $2.0 \pm 0.4$  Å (иматиниб),  $2.2 \pm 0.5$  Å (понатиниб) и  $2.7 \pm 0.7$  Å (нилотиниб). Сравнение каждой последующей динамической структуры комплексов лиганд/Abl-киназа с предыдущей моделью приводит к средним значениям RMSD, также свидетельствующим об их относительной стабильности в течение MD расчетов: для идентифицированных и контрольных соединений они варьируют в интервале  $0.8 \pm 0.1$  Å  $\div 0.90 \pm 0.1$  Å.

Анализ данных о вкладах индивидуальных аминокислот Abl-киназы в энтальпийную компоненту свободной энергии связывания позволил идентифицировать остатки фермента, доминирующие во взаимодействии с идентифицированными соединениями. Из данных таблицы 6 видно, что в случае нативной Abl-киназы существенный вклад в образование стабильных комплексов с соединениями I–V вносят остатки Val-289, Met-290, Ile-293, Val-299 и Phe-359. Кроме этих остатков, лиганд IV эффективно взаимодействует с Leu-248, Tyr-253, Val-256, Ala-269, Ile-313, Thr-315, Leu-370 и Phe-382 (табл. 6), что объясняет данные квантово-химических расчетов и молекулярной динамики, согласно которым это соединение проявляет более высокую аффинность связывания с нативной формой фермента по сравнению с остальными лигандами (табл. 4, 5). При взаимодействии с мутантной Abl-киназой соединения I–III и V в качестве "горячих точек" связывания используют остатки Val-289, Met-290, Ile-293, Ile-315, Phe-

359 и Phe-382, а лиганд IV –	такие аминокислоты фермента, как	Leu-248, Tyr-253, Val-
256, Ile-315, Tyr-320, Gly-321	, Leu-370 и Phe-382 (табл. 6).	

**Таблица 3.** Значения энергии связывания ( $\Delta G$ ) и констант диссоциации ( $K_d$ ), вычисленные для статических моделей комплексов лиганд/Abl-киназа на основе данных молекулярного докинга

Лиганд	∆ <b>G</b> <sup>1</sup> ккал/моль	<i>K</i> <sub>d</sub> <sup>2</sup> мкмоль	∆ <i>G<sub>кd</sub>³ ккал/моль</i>	∆ <b>G</b> <sup>1</sup> ккал/моль	<i>K</i> <sub>d</sub> <sup>2</sup> мкмоль	∆ <i>G<sub>ка</sub><sup>3</sup></i> ккал/моль
	нативная Abl-киназа		мутантная Abl-киназа			
I (31)	-10.4	0.016	-11.0	-10.6	0.006	-11.7
II (30)	-10.5	0.02	-10.9	-11.0	0.2	-9.49
III (36)	-10.8	0.001	-12.7	-10.8	0.07	-10.1
IV (37)	-10.1	0.004	-11.9	-9.8	0.14	-9.7
V (38)	-8.6	0.004	-11.9	-8.8	0.04	-10.5
Иматиниб	-9.5	0.001	-12.7	-9.8	0.001	-12.7
Понатиниб	-13.9	0.007	-11.6	-13.5	0.1	-9.92
Нилотиниб	-9.9	0.006	-11.7	-11.8	0.03	-10.6
Дазатиниб	-8.5	0.006	-11.7	-8.4	0.03	-10.6
Бозутиниб	-7.4	1.78	-8.15	-7.9	2.17	-8.02
Бафетениб	-10.5	2.27	-8.0	-9.6	0.005	-11.7

<sup>1</sup>Значения энергии связывания, полученные с помощью оценочной функции QuickVina 2;

<sup>2</sup> Значения констант диссоциации, рассчитанные с использованием оценочной функции NNScore 2.0;

<sup>3</sup> Значения энергии связывания, вычисленные по данным о величинах  $K_d$ .

Лиганл	∆ <i>Н</i> , ккал/моль				
	нативная Abl-киназа	мутантная Abl-киназа			
Ι	-169.46	-80.30			
II	-176.28	-88.52			
III	-206.92	-148.58			
IV	-222.82	-100.97			
V	-178.2	-85.28			
Иматиниб	-147.73	-33.76			
Нилотиниб	-144.88	-84.06			
Понатиниб	-167.64	-229.33			

**Таблица 4.** Значения энтальпии связывания  $\Delta H$ , вычисленные для статических моделей комплексов лиганд/Abl-киназа на основе данных квантово-химического метода PM7

#### ДИЗАЙН ИНГИБИТОРОВ Bcr-Abi ТИРОЗИНКИНАЗЫ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

**Таблица 5.** Средние значения и стандартные отклонения энтальпии связывания  $(\Delta H \pm \Delta H_{\text{STD}})$ , вычисленные для динамических моделей комплексов лиганд/Abl-киназа с помощью оценочной функции MM/GBSA основе данных молекулярной динамики

	$\Delta H \pm \Delta H_{ m STD}$ , ккал/моль				
Лиганд	нативная Abl- киназа	мутантная Abl- киназа			
Ι	$-50.6\pm2.9$	$-52.8\pm3.6$			
II	$-50.9\pm3.0$	$-51.9\pm5.7$			
III	$-51.3 \pm 3.3$	$-51.3\pm4.7$			
IV	$-70.2 \pm 3.9$	$-53.5\pm5.1$			
V	$-50.2 \pm 3.2$	$-48.8\pm7.2$			
Иматиниб	$-70.4 \pm 3.2$	$-56.3\pm4.1$			
Нилотиниб	$-68.3 \pm 4.0$	$-68.2 \pm 3.3$			
Понатиниб	$-66.1 \pm 3.0$	$-48.9\pm3.8$			



**Рис. 5.** Временные зависимости значений *RMSD* (Å), рассчитанных между динамическими и стартовыми структурами комплексов идентифицированных соединений с нативной Abl-киназой. В расчетах использовали атомы основной цепи молекулы-мишени.

407



**Рис. 6.** Временные зависимости значений *RMSD* (Å), рассчитанных между динамическими и стартовыми структурами комплексов идентифицированных соединений с мутантной Abl-киназой. В расчетах использовали атомы основной цепи молекулы-мишени.

Расчет величин среднеквадратичных колебаний (*RMSF*, root-mean square fluctuations) индивидуальных остатков Abl-киназы, используемых в качестве количественной меры гибкости каждой аминокислоты во время моделирования молекулярной динамики, показывает, что в обеих формах фермента большинство его остатков, включая аминокислоты, формирующие "горячие точки" связывания, пространственно ограничены. Полученные значения *RMSF*, не превышающие для этих аминокислот 1.0 Å, свидетельствуют о малых внутренних движениях, что соответствует данными об их вкладах в энтальпию связывания (табл. 6).

При анализе полученных результатов необходимо иметь в виду, что все вычислительные подходы к моделированию структуры комплексов белков с лигандами и к оценке энергии межмолекулярных взаимодействий связаны с различными приближениями, которые варьируют от упрощенных форм уравнений до приближений, ограничивающих размер системы и фундаментальных приближений в уравнениях, необходимых для решения задачи. Тем не менее, точность метода РМ7 [60] и относительно небольшой разброс в значениях энергии связывания в приближениях оценочных функций QuickVina 2 и NNScore 2.0 (табл. 3), позволяют предполагать, что полученные данные корректно описывают профиль межмолекулярных взаимодействий

#### ДИЗАЙН ИНГИБИТОРОВ Bcr-Abi ТИРОЗИНКИНАЗЫ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

и энергетические характеристики статических комплексов сконструированных соединений с Abl-киназой (табл. 2–4). С учетом погрешности метода MM/GBSA, составляющей приблизительно 1–3 ккал/моль [56], это предположение можно отнести и к результатам молекулярной динамики, свидетельствующим об относительной стабильности комплексов лиганд/Abl-киназа (рис. 5, 6) и высоком сродстве идентифицированных соединений с АТФ-связывающим сайтом фермента (табл. 5).

Таблица 6. Средни	ие значения и	и стандартные	отклонения	энтальпии	связывания	для	
индивидуальных	аминокислоти	тных остатко	в Abl-кин	азы в	комплексах	c	
идентифицированными соединениями*							

Лиганд								
Остаток	Ι	II	III	IV	V			
	Вклад остатка в энтальпию связывания (ккал/моль)							
	Нативная Abl-киназа							
Leu-248	-	_	—	$-1.0 \pm 0.4$	-			
Tyr-253	_	_	_	$-1.0 \pm 0.4$	_			
Val-256	$-0.7 \pm 0.2$	$-0.8\pm0.3$	$-0.6 \pm 0.2$	-1.4 ±.0.4	-			
Ala-269	-	_	_	$-1.1 \pm 0.3$	-			
Lys-271	$-0.9 \pm 0.3$	$-0.9\pm0.3$	$-0.8 \pm 0.4$	$-0.6 \pm 0.3$	-			
Lys-285	$-0.8 \pm 0.3$	$-0.6\pm0.3$	$-0.8\pm0.4$	-	-			
Glu-286	-	_	$-0.8\pm0.6$	-	$-0.5\pm0.7$			
Val-289	$-2.1 \pm 0.4$	$-2.1 \pm 0.4$	$-2.1 \pm 0.4$	$-0.6 \pm 0.4$	$-1.6 \pm 0.5$			
Met-290	$-1.5 \pm 0.3$	$-1.5 \pm 0.4$	$-1.7 \pm 0.4$	$-2.2 \pm 0.5$	$-2.6 \pm 0.5$			
Ile-293	$-1.1 \pm 0.3$	$-1.1 \pm 0.3$	$-1.0 \pm 0.3$	$-1.6 \pm 0.5$	$-2.8 \pm 0.4$			
Leu-298	$-0.6\pm0.2$	$-0.6\pm0.2$	$-0.5\pm0.2$	$-1.0\pm0.3$	$-1.7 \pm 0.3$			
Val-299	$-1.0 \pm 0.3$	$-1.0 \pm 0.4$	$-0.8 \pm 0.3$	$-2.1 \pm 0.6$	$-0.8 \pm 0.4$			
Gln-300	-	_	_	$-0.5\pm0.2$	$-0.5\pm0.2$			
Leu-301	_	_	_	$-0.9 \pm 0.2$	$-0.5 \pm 0.2$			
Ile-313	$-0.9 \pm 0.3$	$-0.7\pm0.3$	$-0.8 \pm 0.3$	$-1.0 \pm 0.2$	-			
Thr-315	$-0.8 \pm 0.3$	$-0.7\pm0.3$	$-0.9 \pm 0.3$	$-1.5 \pm 0.3$	-			
Phe-317	-	_	-	$-0.9 \pm 0.3$	-			
Met-318	-	-	-	$-0.7 \pm 0.4$	-			
Leu-354	$-0.7 \pm 0.3$	$-1.0 \pm 0.2$	$-0.7 \pm 0.3$	$-0.8 \pm 0.3$	$-1.1 \pm 0.3$			
Phe-359	$-1.2 \pm 0.4$	$-1.3 \pm 0.5$	$-1.6 \pm 0.4$	$-0.6 \pm 0.3$	$-3.1 \pm 0.6$			
His-361	$-0.7 \pm 0.3$	$-0.8\pm0.2$	$-0.9 \pm 0.3$	$-0.7 \pm 0.3$	-			
Leu-370	-	_	—	$-1.5 \pm 0.4$	-			
Ala-380	$-0.8 \pm 0.2$	$-1.0 \pm 0.3$	$-0.8 \pm 0.2$	$-0.9 \pm 0.3$	$-0.5 \pm 0.2$			
Asp-381	$-0.6 \pm 0.4$	$-0.5\pm0.5$	$-0.9 \pm 0.4$	$-0.7 \pm 0.5$	-			
Phe-382	$-0.7 \pm 0.2$	$-0.8 \pm 0.2$	$-0.7 \pm 0.2$	$-1.1 \pm 0.5$	-			
		Мутантная	Abl-киназа					
Leu-248	-	_	_	$-1.9 \pm 0.5$	-			
Tyr-253	-	_	_	$-1.3 \pm 0.7$	_			
Val-256	—	—	—	$-1.9 \pm 0.4$	—			
Ala-269	-	—	—	$-0.6\pm0.3$	—			
Lys-271	$-0.8\pm0.3$	$-0.8\pm0.4$	—	$-0.7\pm0.6$	—			
Lys-285	$-0.8\pm0.3$	$-0.6\pm0.3$	—	_	$-0.5\pm0.7$			
Glu-286	$-1.2 \pm 0.7$	$-0.6\pm0.8$	-	$-0.5 \pm 0.3$	-			
Ala-288	-	_	_	-	$-0.5 \pm 0.5$			
Val-289	$-2.2 \pm 0.4$	$-2.0 \pm 0.4$	$-1.5 \pm 0.7$	-	$-2.8 \pm 0.7$			
Met-290	$-1.6 \pm 0.4$	$-1.6 \pm 0.4$	$-2.6 \pm 0.6$	-	$-1.3 \pm 0.8$			
Glu-292	-	_	_	-	$-0.9\pm0.6$			
Ile-293	$-1.3 \pm 0.3$	$-1.2 \pm 0.3$	$-1.7 \pm 0.7$	-	$-2.1 \pm 0.6$			
Leu-298	$-0.5\pm0.2$	$-0.6\pm0.2$	$-1.0\pm0.2$	-	$-1.0\pm0.4$			

409

Лиганд								
Остаток	Ι	II	III	IV	V			
	Вклад остатка в энтальпию связывания (ккал/моль)							
Val-299	$-0.5\pm0.2$	$-0.6\pm0.2$	$-0.9\pm0.4$	—	$-0.5\pm0.4$			
Leu-301	—	—	$-0.7\pm0.5$	—	—			
Ile-313	$-1.1\pm0.3$	$-1.0\pm0.3$	$-0.5\pm0.3$	$-0.9\pm0.6$	—			
Ile-315	$-1.6 \pm 0.3$	$-1.5 \pm 0.4$	$-1.6 \pm 0.3$	$-1.7 \pm 0.5$	$-0.6 \pm 0.6$			
Phe-317	—	—	—	$-0.6\pm0.4$	—			
Tyr-320	—	—	—	$-1.2 \pm 0.8$	—			
Gly-321	—	—	—	$-1.1 \pm 0.4$	—			
Tyr-326	—	—	—	$-0.6\pm0.6$	—			
Leu-354	$-0.6\pm0.3$	$-0.8\pm0.3$	$-0.8\pm0.4$	—	$-1.2 \pm 0.4$			
Lys-357	—	—	—	—	$-0.5\pm0.4$			
Phe-359	$-1.3 \pm 0.4$	$-1.3 \pm 0.4$	$-1.7 \pm 0.8$	-	$-2.9 \pm 0.6$			
His-361	$-0.9\pm0.3$	$-0.8\pm0.4$	$-0.8\pm0.3$	—	$-0.5\pm0.3$			
Leu-370	—	—	—	$-1.3 \pm 0.3$	—			
Ala-380	$-0.7 \pm 0.2$	$-0.8 \pm 0.3$	$-1.2 \pm 0.4$	_	$-0.5 \pm 0.3$			
Asp-381	$-0.8 \pm 0.5$	$-0.7 \pm 0.5$	$-0.7 \pm 0.4$	_	$-0.6 \pm 0.5$			
Phe-382	$-0.9 \pm 0.3$	$-0.8 \pm 0.2$	$-1.0 \pm 0.4$	$-2.0 \pm 0.6$	$-0.5 \pm 0.5$			
Arg-386	-	$-0.7 \pm 1.1$	_	_	_			

<sup>\*</sup>Приведены данные для остатков Abl-киназы с энтальпией ≤ −0.5 ккал/моль. Жирным шрифтом выделены остатки фермента, вносящие значительный вклад в энтальпию связывания. Жирным курсивом отмечены аминокислоты, эффективно взаимодействующие с лигандом V (см. текст).

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сконструированные *in silico* на основе производных 2-ариламинопиримидина соединения (рис. 1, 2) образуют широкую сеть межмолекулярных контактов с функционально важными остатками Bcr-Abl тирозинкиназы (табл. 2, рис. 3, 4). Они проявляют высокое сродство к АТФ-связывающему сайту фермента в соответствии с низкими значениями  $K_d$  и свободной энергии связывания, рассчитанными для их комплексов с нативной и мутантной Abl-киназой методами молекулярного докинга, квантовой химии и молекулярной динамики (табл. 3–5).

Таким образом, данные молекулярного моделирования свидетельствуют о том, что идентифицированные лиганды I–V (рис. 1, 2) представляют значительный интерес для проведения дальнейших экспериментальных и теоретических исследований. Эти исследования включают химический синтез лигандов, биомедицинские испытания *in vitro* и оптимизацию структуры соединения-лидера методами QSAR [61, 62], направленную на получение его аналогов с улучшенной противоопухолевой активностью и приемлемыми фармакокинетическими и токсикологическими параметрами.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Köstler W.J., Zielinski C.C. Targeting Receptor Tyrosine Kinases in Cancer. In: *Receptor Tyrosine Kinases: Structure, Functions and Role in Human Disease*. Eds.: Wheeler D.L., Yarden Y. New York: Springer Science & Business Media, 2015. P. 78–225.
- 2. Maurer G., Tarkowski B., Baccarini M. Raf kinases in cancer-roles and therapeutic opportunities. *Oncogene*. 2011. V. 30. P. 3477–3488.
- 3. Bardelli A., Parsons D.W., Silliman N., Ptak J., Szabo S., Saha S., Markowitz S., Willson J.K.V., Parmigiani G., Kinzler K.W., Vogelstein B., Velculescu V.E. Mutational analysis

of the tyrosine kinome in colorectal cancers. *Science*. 2003. V. 300. № 5621. P. 949. doi: 10.1126/science.1082596

- Bartram C.R., de Klein A., Hagemeijer A., van Agthoven T., Geurts van Kessel A., Bootsma D., Grosveld G., Ferguson-Smith M.A., Davies T., Stone M., et al. Translocation of c-abl oncogene correlates with the presence of a Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukaemia. *Nature*. 1983. V. 306. 277–280. doi: <u>10.1038/306277a0</u>
- Futreal P.A., Coin L., Marshall M., Down T., Hubbard T., Wooster R., Rahman N., Stratton M.R. A census of human cancer genes. *Nat. Rev. Cancer*. 2004. V.4. P. 177–183. doi: 10.1038/nrc1299
- 6. Kittler H., Tschand P. Driver mutations in the mitogen-activated protein kinase pathway: the seeds of good and evil. *Br. J. Dermat.* 2018. V. 178. P. 26–27.
- Sato S., Sanjo H., Takeda K., Ninomiya-Tsuji J., Yamamoto M., Kawai T., Matsumoto K., Takeuchi O., Akira S. Essential function for the kinase TAK1 in innate and adaptive immune responses. *Nat. Immunol.* 2005. V. 6. № 11. P. 1087–1095. doi: <u>10.1038/ni1255</u>
- 8. Mueller B.K., Mack H., Teusch N. Rho kinase, a promising drug target for neurological disorders. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2005. V. 4. P. 98–387.
- 9. Chong Z.Z., Shang Y.C., Wang S., Maiese K. A critical kinase cascade in neurological disorders: PI 3-K, Akt and Mtor. *Future Neurol.* 2012. V. 7. P. 733–748.
- Tabit C.E., Shenouda S.M., Holbrook M., Fetterman J.L., Kiani S., Frame A.A., Kluge M.A., Held A., Dohadwala M.M., Gokce N., Farb M.G., Rosenzweig J., Ruderman N., Vita J.A., Hamburg N.M. Protein kinase C-β contributes to impaired endothelial insulin signaling in humans with diabetes mellitus. *Circulation*. 2013. V. 127. P. 86–95.
- Bhullar K.S., Lagarón N.O., McGowan E.M., Parmar I., Jha A., Hubbard B.P., Rupasinghe H.P. V. Kinase-targeted cancer therapies: progress, challenges and future directions. *Mol. Cancer.* 2018. V. 17. Article No. 48. doi: <u>10.1186/s12943-018-0804-2</u>
- Dar A.C., Shokat K.M. The evolution of protein kinase inhibitors from antagonists to agonists of cellular signaling. *Annu. Rev. Biochem.* 2011. V. 80. P. 769–795. doi: <u>10.1146/annurev-biochem-090308-173656</u>
- Roskoski R. Classification of small molecule protein kinase inhibitors based upon the structures of their drug-enzyme complexes. *Pharmacol. Res.* 2016. V. 103. P. 26–48. doi: <u>10.1016/j.phrs.2015.10.021</u>
- Kantarjian H., Sawyers C., Hochhaus A., Guilhot F., Schiffer C., Gambacorti-Passerini C., Niederwieser D., Resta D., Capdeville R., Zoellner U. et al. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic leukemia. *New Engl. J. Med.* 2002. V. 346. P. 645–652. doi: <u>10.1056/NEJMoa011573</u>
- 15. Imatinib. New indications, but not robust evidence. *Prescrire Int.* 2008. V. 95. P. 91–94.
- O'Brien S.G., Guilhot F., Larson R.A., Gathmann I., Baccarani M., Cervantes F., Cornelissen J.J., Fischer T., Hochhaus A., Hughes T. et al.; IRIS Investigators. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *New Engl. J. Med.* 2003. V. 348. P. 994–1004. doi: <u>10.1056/NEJMoa022457</u>
- Druker B.J., Guilhot F., O'Brien S.G., Gathmann I., Kantarjian H., Gattermann N., Deininger M.W.N., Silver R.T., Goldman J.M., Stone R.M. et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *New Engl. J. Med.* 2006. V. 355. P. 2408–2417. doi: <u>10.1056/NEJMoa062867</u>
- Hochhaus A., Larson R.A., Guilhot F., Radich J.P., Branford S., Hughes T.P., Baccarani M., Deininger M.W., Cervantes F., Fujihara S. et al. Long-term outcomes of imatinib treatment for chronic myeloid leukemia. *New Engl. J. Med.* 2017. V. 376. № 10. P. 917–927. doi: <u>10.1056/NEJMoa1609324</u>

- 19. Shah N.P., Tran C., Lee F.Y., Chen P., Norris D., Sawyers C.L. Overriding imatinib resistance with a novel ABL kinase inhibitor. *Science*. 2004. V. 305. № 5682. P. 399–401. doi: 10.1126/science.1099480
- Lombardo L.J., Lee F.Y., Chen P., Norris D., Barrish J.C., Behnia K., Castaneda S., Cornelius L.A.M., Das J., Doweyko A.M. et al. Discovery of N-(2-chloro-6-methylphenyl)-2-(6-(4-(2-hydroxyethyl)-piperazin-1-yl)-2-methylpyrimidin-4-ylamino) thiazole-5-carboxamide (BMS-354825), a dual Src/Abl kinase inhibitor with potent antitumor activity in preclinical assays. *J. Med. Chem.* 2004. V. 47. № 27. P. 6658–6661. doi: 10.1021/jm049486a
- Hochhaus A., Larson R.A., Guilhot F., Radich J.P., Branford S., Hughes T.P., Baccarani M., Deininger M.W., Cervantes F., Fujihara S. et al. Long-term outcomes of imatinib treatment for chronic myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2017. V. 376. P. 917– 927. doi: <u>10.1056/NEJMoa1609324</u>
- Davies S., Reddy H., Caivano M., Cohen P. Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors. *Biochem. J.* 2000. V. 351. P. 95–105. doi: 10.1042/0264-6021:3510095
- O'Hare T. A decade of nilotinib and dasatinib: From in vitro studies to first-line tyrosine kinase inhibitors. *Cancer Res.* 2016. V. 76. № 20. P. 5911–5913. doi: <u>10.1158/0008-5472.CAN-16-2483</u>
- Saglio G., Kim D.W., Issaragrisil S., le Coutre P., Etienne G., Lobo C., Pasquini R., Clark R.E., Hochhaus A., Hughes T.P. et al. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *New Engl. J. Med.* 2010. V. 362. № 24. P. 2251–2259. doi: 10.1056/NEJMoa0912614
- 25. Kantarjian H.M., Hochhaus A., Saglio G., De Souza C., Flinn I.W., Stenke L., Goh Y.-T., Rosti G., Nakamae H., Gallagher N.J. et al. Nilotinib versus imatinib for the treatment of patients with newly diagnosed chronic phase, Philadelphia chromosome-positive, chronic myeloid leukaemia: 24-month minimum follow-up of the phase 3 randomised ENESTnd trial. *The Lancet Oncol.* 2011. V. 12. № 9. P. 841–851. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70201-7
- Tan F.H., Putoczki T.L., Stylli S.S., Luwor R.B. Ponatinib: a novel multi-tyrosine kinase inhibitor against human malignancies. *OncoTargets Ther.* 2019. V. 12. P. 635–645. doi: 10.2147/OTT.S189391
- 27. Lipton J.H., Chuah C., Guerci-Bresler A., Rosti G., Simpson D., Assouline S., Etienne G. et al. Ponatinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukaemia: An international, randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet Oncol.* 2016. V. 17. № 5. P. 612–621. doi: 10.1016/S1470-2045(16)00080-2
- Wang D., Pan H., Wang Y. T315L: a novel mutation within BCR-ABL kinase domain confers resistance against ponatinib. *Leuk. Lymphoma*. 2017. V. 58. № 7. P. 1733–1735. doi: 10.1080/10428194.2016.1251591
- Kantarjian H.M., Cortes J.E., Kim D.W., Khoury H.J., Brümmendorf T.H., Porkka K., Martinelli G., Durrant S., Leip E., Kelly V. et al. Bosutinib safety and management of toxicity in leukemia patients with resistance or intolerance to imatinib and other tyrosine kinase inhibitors. *Blood.* 2014. V. 123. № 9. P. 1309–1318. doi: <u>10.1182/blood-2013-07-513937</u>
- Cortes J.E., Kim D.W., Kantarjian H.M., Brümmendorf T.H., Dyagil I., Griskevicius L., Malhotra H., Powell C., Gogat K., Countouriotis A.M., Gambacorti-Passerini C.J. Bosutinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: Results from the BELA trial. *Clin. Oncol.* 2012. V. 30. № 28. P. 3486–3492. doi: 10.1200/JCO.2011.38.7522
- 31. Brümmendorf T.H., Cortes J.E., de Souza C.A., Guilhot F., Duvillié L., Pavlov D., Gogat K., Countouriotis A.M., Gambacorti-Passerini C. Bosutinib versus imatinib in newly

diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukaemia: Results from the 24-month followup of the BELA trial. *Br. J. Haematol.* 2015. V. 168. № 1. P. 69–81. doi: 10.1111/bjh.13108

- Kantarjian H.M., Cortes J.E., Kim D.W., Khoury H.J., Brümmendorf T.H., Porkka K., Martinelli G., Durrant S., Leip E., Kelly V., Turnbull K., Besson N., Gambacorti-Passerini C. Bosutinib safety and management of toxicity in leukemia patients with resistance or intolerance to imatinib and other tyrosine kinase inhibitors. *Blood.* 2014. V. 123. № 9. P. 1309–1318. doi: <u>10.1182/blood-2013-07-513937</u>
- Stewart J.J.P. Optimization of parameters for semiempirical methods VI: more modifications to the NDDO approximations and re-optimization of parameters. J. Mol. Model. 2013. V. 19. P. 1–32. doi: 10.1007/s00894-012-1667-x
- 34. Cousins K.R. Computer review of ChemDraw Ultra 12.0. J. Am. Chem. Soc. 2011. V. 133. № 21. P. 8388. doi: <u>10.1021/ja204075s</u>
- 35. *Open Babel*: The Open Source Chemistry Toolbox. URL: <u>http://openbabel.org/wiki/Main\_Page</u> (accessed 02.12.2020).
- 36. Rappe A.K., Casewit C.J., Colwell K.S., Goddard III W.A., Skiff W.M. UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations. *J. Am. Chem. Soc.* 1992. V. 114. № 25. P. 10024–10035. doi: <u>10.1021/ja00051a040</u>
- Alhossary A., Handoko S.D., Mu Y., Kwoh C.K. Fast, accurate, and reliable molecular docking with QuickVina 2. *Bioinformatics*. 2015. V. 31. № 13. P. 2214–2216. doi: <u>10.1093/bioinformatics/btv082</u>
- Zhou T., Commodore L., Huang W.S., Wang Y., Thomas M., Keats J., Xu Q., Rivera V.M., Shakespeare W.C., Clackson T. et al. Structural mechanism of the Pan-BCR-ABL inhibitor ponatinib (AP24534): Lessons for overcoming kinase inhibitor resistance. *Chem. Biol. Drug Des.* 2011. V. 77. № 1. P. 1–11. doi: <u>10.1111/j.1747-0285.2010.01054.x</u>
- Seeliger M.A., Nagar B., Frank F., Cao X., Henderson M.N., Kuriyan J. C-Src binds to the cancer drug imatinib with an inactive Abl/c-Kit conformation and a distributed thermodynamic penalty. *Structure*. 2007. V. 15. № 3. P. 299–311. doi: <u>10.1016/j.str.2007.01.015</u>
- Weisberg E., Manley P.W., Breitenstein W., Brueggen J., Cowan-Jacob S.W., Ray A., Huntly B., Fabbro D., Fendrich G., Hall-Meyers E., Kung A.L., Mestan J., Daley G.Q., Callahan L., Catley L., Cavazza C., Azam M., Neuberg D., Wright R.D., Gilliland D.G., Griffin J.D. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell.* 2005. V. 7. № 2. P. 129–141. doi: <u>10.1016/j.ccr.2005.01.007</u>
- Tokarski J.S., Newitt J., Chang C.Y.J., Cheng J.D., Wittekind M., Kiefer S.E., Kish K., Lee F.Y.F., Borzilerri R., Lombardo L.J., Xie D., Zhang Y., Klei H.E. The Structure of Dasatinib (BMS-354825) Bound to Activated ABL Kinase Domain Elucidates Its Inhibitory Activity against Imatinib-Resistant ABL Mutants. *Cancer Res.* 2006. V. 66. P. 5790–5797. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-4187
- 42. Horio T., Hamasaki T., Inoue T., Wakayama T., Itou S., Naito H., Asaki T., Hayase H., Niwa T. Structural factors contributing to the Abl/Lyn dual inhibitory activity of 3-substituted benzamide derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007. V. 17. 2712–2717. doi: 10.1016/j.bmcl.2007.03.002
- 43. Stewart J.J.P. *MOPAC2016*. Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, Google Scholar, 2016.
- 44. Klamt A., Schüürmann G.J. COSMO: a new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the screening energy and its gradient. *Chem. Soc. Perkin Trans.* 1993. V. 2. P. 799–805. doi: <u>10.1039/P29930000799</u>
- 45. Høyvik I.-M., Jansik B., Jørgensen P. Trust region minimization of orbital localization functions. *J. Chem. Theory Comput.* 2012. V. 8. P. 3137–3146. doi: <u>10.1021/ct300473g</u>

- 46. Case D.A., Belfon K., Ben-Shalom I.Y., Brozell S.R., Cerutti D.S., Cheatham III T.E., Cruzeiro V.W.D., Darden T.A., Duke R.E., Giambasu G. et al. *AMBER 2020*. San Francisco: University of California, 2020.
- 47. Wang J., Wolf R.M., Caldwell J.W., Kollman P.A., Case D.A. Development and testing of a general Amber force field. *J. Comput. Chem.* 2004. V. 25. P. 1157–1174. doi: 10.1002/jcc.20035
- 48. Jorgensen W.L., Chandrasekhar J., Madura J.D., Impey R.W., Klein M.L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. J. Chem. Phys. 1983. V. 79. № 2. P. 926–935. doi: <u>10.1063/1.445869</u>
- 49. Ryckaert J.P., Ciccotti G., Berendsen H.J.C. Numerical integration of the Cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *J. Comput. Phys.* 1977. V. 23. № 3. P. 327–341. doi: 10.1016/0021-9991(77)90098-5
- Essmann U., Perera L., Berkowitz M.L., Darden T., Lee H., Pedersen L.G. A smooth particle mesh Ewald method. J. Chem. Phys. 1995. V. 103. P. 8577–8593. doi: 10.1063/1.470117
- Durrant J.D., McCammon J.A. BINANA: A novel algorithm for ligand-binding characterization. J. Mol. Graph. Model. 2011. V. 29. № 6. P. 888–893. doi: <u>10.1016/j.jmgm.2011.01.004</u>
- Pettersen E.F., Goddard T.D., Huang C.C., Couch G.S., Greenblatt D.M., Meng E.C., Ferrin T.E. UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. *J. Comput. Chem.* 2004. V. 25. № 13. P. 1605–1612. doi: <u>10.1002/jcc.20084</u>
- McDonald I.K., Thornton J.M. Satisfying hydrogen bonding potential in proteins. J. Mol. Biol. 1994. V. 238. № 5. P. 777–793. doi: 10.1006/jmbi.1994.1334
- 54. Durrant J.D., McCammon J.A. NNScore 2.0: A neural-network receptor–ligand scoring function. J. Chem. Inf. Model. 2011. V. 51. № 11. P. 2897–2903. doi: 10.1021/ci2003889
- Sharma G., First E.A. Thermodynamic analysis reveals a temperature-dependent change in the catalytic mechanism of *Bacillus stearothermophilus* tyrosyl-tRNA synthetase. *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. № 7. P. 4179–4190. doi: 10.1074/jbc.M808500200
- 56. Genheden S., Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligandbinding affinity. *Expert Opin. Drug Discov.* 2015. V. 10. № 5. P. 449–461. doi: <u>10.1517/17460441.2015.1032936</u>
- 57. Xu L., Sun H., Li Y., Wang J., Hou T. Assessing the performance of MM/PBSA and MM/GBSA methods. 3. The impact of force fields and ligand charge models. J. Phys. Chem. B. 2013. V. 117. № 28. P. 8408–8421. doi: 10.1021/jp404160y
- Sun H., Li Y., Tian S., Xu L., Hou T. Assessing the performance of MM/PBSA and MM/GBSA methods. 4. Accuracies of MM/PBSA and MM/GBSA methodologies evaluated by various simulation protocols using PDBbind data set. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2014. V. 16. P. 16719–16729. doi: 10.1039/c4cp01388c
- Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Del. Rev.* 2001. V. 46. № 1–3. P. 3–26. PMID: 11259830. doi: 10.1016/s0169-409x(00)00129-0
- 60. Christensen A.S., Kubař T., Cui Q., Elstner M. Semiempirical quantum mechanical methods for noncovalent interactions for chemical and biochemical applications. *Chem. Rev.* 2016. V. 116. № 9. P. 5301–5337. doi: 10.1021/acs.chemrev.5b00584
- Cherkasov A., Muratov E.N., Fourches D., Varnek A., Baskin II., Cronin M., Dearden J., Gramatica P., Martin Y.C., Todeschini R., Consonni V., Kuz'min V.E., Cramer R., Benigni R., Yang C., Rathman J., Terfloth L., Gasteiger J., Richard A., Tropsha A. QSAR modeling: where have you been? Where are you going to? *J. Med. Chem.* 2014. V. 57. № 12. P. 4977–5010. doi: 10.1021/jm4004285

62. Kuseva C., Schultz T.W., Yordanova D., Tankova K., Kutsarova S., Pavlov T., Chapkanov A., Georgiev M., Gissi A., Sobanski T., Mekenyan O.G. The implementation of RAAF in the OECD QSAR Toolbox. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 2019. V. 105. P. 51–61. doi: 10.1016/j.yrtph.2019.03.018

Рукопись поступила в редакцию 04.11.2020, переработанный вариант поступил 04.12.2020. Дата опубликования 09.12.2020.

#### 

## Rational Design of Potential Bcr-Abl Tyrosine Kinase Inhibitors by the Methods of Molecular Modeling

### Anrdrianov A.M.<sup>1</sup>, Kornoushenko Yu.V.<sup>1</sup>, Karpenko A.D.<sup>2</sup>, Bosko I.P.<sup>2</sup>, Ignatovich Zh.V.<sup>3</sup>, Koroleva E.V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Bioorganic Chemistry, NAS of Belarus, Minsk, Republic of Belarus <sup>2</sup>United Institute of Informatics Problem, NAS of Belarus, Minsk, Republic of Belarus <sup>3</sup>Institute of Chemistry of New Materials, NAS of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Abstract. Discovery of the nature of inhibiting cancer processes by small organic molecules has changed the principles of the development of drug compounds for antitumor therapy. Recent achievements in this area are associated with the design of small-molecule protein kinase inhibitors, organic compounds exhibiting directed pathogenetic action. In this study, in silico design of 38 potential anti-cancer compounds with multikinase profile was carried out based on the derivatives of 2-arylaminopyrimidine. Evaluation of inhibitory activity potential of these compounds against the native and mutant  $(T_{315I})$  forms of Bcr-Abl tyrosine kinase, an enzyme that plays a key role in the pathogenesis of chronic myeloid leukemia characterized by uncontrolled growth myeloid cells in peripheral blood and bone marrow, was performed using molecular modeling tools. As a result, 5 top-ranking compounds that exhibit, according to the calculated data, a highaffinity binding to the native and mutant Bcr-Abl tyrosine kinase were identified. The designed compounds were shown to form good scaffolds for the development of novel potent antitumor drugs.

**Key words:** protein kinases, Bcr-Abl tyrosine kinase, Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitors, computer-aided drug design, pharmacophore-based modeling, molecular docking, quantum chemistry, molecular dynamics.