

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 4-ОКСОПИРИМИДИНА С АКТИВНЫМ ЦЕНТРОМ ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ-2 МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

Гендугов Т.А.¹, Щербакова Л.И.¹, Глушко А.А.¹, Кодониди И.П.¹, Сочнев В.С.¹

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ВолгГМУ Минздрава России, Пятигорск, Россия, (357534, проспект Калинина 11), timbirlei2008@rambler.ru

Нестероидные противовоспалительные средства нашли широкое применение в медицине, однако длительное использование препаратов данной группы вызывает многочисленные побочные эффекты. Исходя из этого, актуальной задачей является изучение связи «структура-активность» для веществ с противовоспалительной активностью. Одним из инструментов поиска новых структур биологически активных веществ является метод молекулярной динамики, а именно, моделирование взаимодействия лиганд-фермент, позволяющее теоретически предсказывать биологическую активность исследуемых веществ. Осуществлено молекулярное моделирование взаимодействия производных 4-оксопиримидина с активным центром фермента циклооксигеназы-2, ингибирование которого вызывает противовоспалительный эффект. Моделирование молекулярной динамики проводилось в системе «циклооксигеназа-2-вода» для интервала времени 512 нс. По результатам моделирования оценена возможность взаимодействия производных 4-оксопиримидина с аминокислотами активного центра циклооксигеназы-2 и проникновения их в активный центр.

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные средства, циклооксигеназа, молекулярное моделирование, лиганд-фермент.

STUDY OF 4-OXOPYRIMIDINE DERIVATIVES INTERACTION WITH THE ACTIVE SITE OF CYCLOOXYGENASE-2 USING MOLECULAR DYNAMICS

Gendugov T.A.¹, Shcherbakova L.I.¹, Glushko A.A.¹, Kodonidi I.P.¹, Sochnev V.S.¹

¹Pyatigorsk medical-pharmaceutical Institute - branch of Volgograd state medical University, Pyatigorsk, Russia (357500, Pyatigorsk, prospect Kalinina, 11), timbirlei2008@rambler.ru

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs are widely used in medicine, but prolonged use of drugs from this group provoke many side effects. According to this structure-activity relationships study for anti-inflammatory substances is of current interest. Molecular dynamics is one of the tools used to search a new biologically active substances. Ligand-enzyme interaction simulation allows to predict biological activity of substances theoretically. Molecular modeling of 4-oxopyrimidine derivatives with the active site of enzyme cyclooxygenase-2, the inhibition of which causes the anti-inflammatory effect, performed. Molecular dynamics modeling was performed in system «cyclooxygenase-2-water» for the period of time 512 ns. According to simulation results the possibility of 4-oxopyrimidine derivatives interaction with amino acids of cyclooxygenase-2 active site and penetration of them in to its cavity evaluated.

Keywords: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, cyclooxygenase, molecular modeling, ligand-enzyme.

Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) нашли широкое применение в медицине. Масштабы их применения значительны: достаточно сказать, что ежедневно их используют более 30 млн. человек [2]. Длительное применение этих препаратов вызывает многочисленные негативные фармакологические эффекты: снижение иммунитета, остеопороз, гипергликемию, язвенное действие, нарушение синтеза белков, психические нарушения, задержку ионов натрия и воды, повышение артериального давления и др. [1]. В связи с этим, поиск новых НПВС, отвечающих современным требованиям фармакологии является приоритетным [4]. Перспективным направлением поиска НПВС, обладающих высокой биологической активностью и минимальной токсичностью является

молекулярное конструирование на основе эндогенных соединений организма, или достаточно близким по строению структур [3].

Цель исследования

Определить возможность связывания прогнозируемых производных 4-оксопиримидина с аминокислотами активного центра циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) и выявить из них наиболее перспективные ингибиторы.

Методы исследования

Основной фармакологический эффект НПВС заключается в ингибировании циклооксигеназы (ЦОГ) и липооксигеназы (ЛОГ) – ключевых ферментов метаболизма арахидоновой кислоты. Циклооксигеназа-1 (ЦОГ-1) продуцируется в обычных условиях и регулирует образование в организме простаноидов. Продукция циклооксигеназы-2 в значительной степени индуцируется процессом воспаления. Исходя из этого, наибольший интерес вызывает поиск избирательных ингибиторов ЦОГ-2. Селективное ингибирование ЦОГ-2 обеспечивает противовоспалительный эффект, снижает вероятность развития многих побочных проявлений, связанных с ингибированием физиологического (не связанного с воспалением) биосинтеза простаноидов [5].

ЦОГ-2 является гомодимером, каждая из субъединиц одновременно активна и содержит циклооксигеназный активный центр (рис.1) [6,7]. Каталитический домен является основной частью мономера ЦОГ-2 и центром связывания лиганда с ферментом.

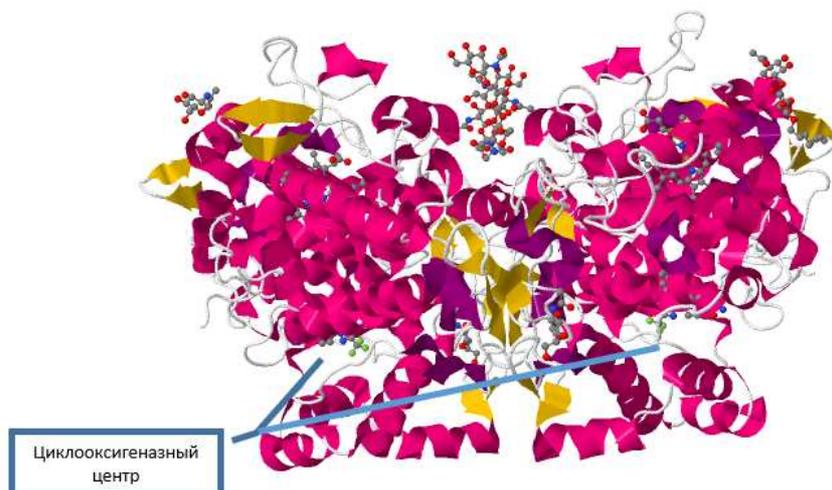


Рис. 1. Строение ЦОГ-2 (PDB ID: 3NTG) [9]

В качестве инструмента для поиска структур биологически активных веществ был использован метод молекулярной динамики, позволяющий достичь высокой достоверности результатов прогнозирования биологической активности, благодаря детальному описанию молекулярной системы. Объектом моделирования является система «лиганд-фермент». При этом, в процессе вычислительного эксперимента записываются различные параметры

образующегося комплекса, такие как энергия взаимодействия между лигандом и ферментом, дистанции между отдельными группами атомов. Моделирование молекулярной динамики проводилось с помощью программы БИОЭВРИКА. В качестве биологической мишени использована молекула фермента ЦОГ-2, трехмерная структура которой была получена методом рентгеноструктурного анализа (PDB ID: 4M11) [8]. К молекуле фермента в соответствии с валентностями были добавлены атомы водорода. Макромолекула была помещена в водное окружение. Далее проводилось оптимизация геометрии системы. Термостатирование осуществлялось с использованием термостата Берендсена при температуре 300К, длительность моделирования составила 512 нс (Рис.2).

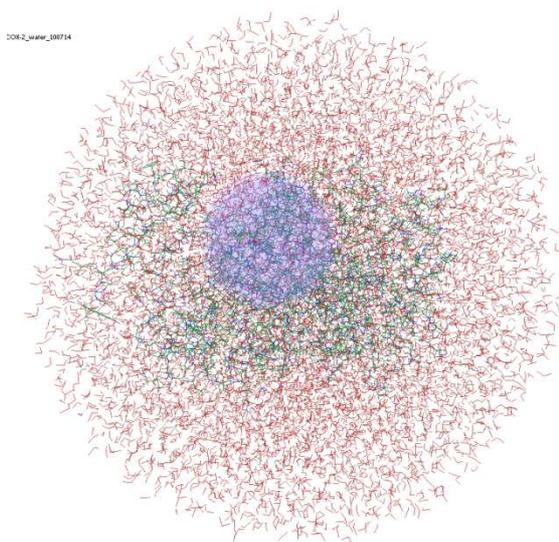


Рис.2. Молекулярная система «ЦОГ-2 – лиганд – вода»

При моделировании лиганд помещался в растворителе у входа в канал активного центра. Такое начальное расположение лиганда позволяет определить возможность его проникновения в каталитический центр фермента. В процессе моделирования оценивалась энергия ван-дер-ваальсова взаимодействия как показатель связывания лиганда с аминокислотами активного центра. На основе этих данных оценивалась длительность связывания лиганда с ферментом.

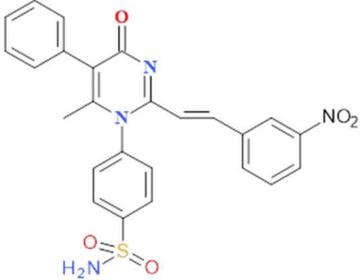
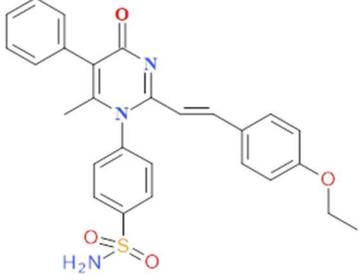
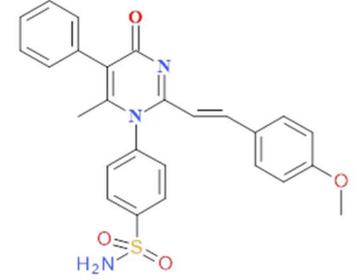
Результаты исследования и их обсуждение

В качестве исследуемых веществ были выбраны три производных 4-оксопиримидина, химические структуры которых приведены в таблице 1.

Таблица 1

Химические структуры и лабораторные шифры исследуемых веществ

Шифр исследуемых соединений	Структура
-----------------------------	-----------

PMSmNO ₂	
PMSpEtO	
PMSpMeOB	

По результатам моделирования была проведена оценка длительности связывания исследуемых веществ с активным центром фермента ЦОГ-2 (таблица 2).

Таблица 2

Оценка длительности связывания исследуемых веществ с активным центром ЦОГ-2

Исследуемые вещества	Длительность связывания, нс
PMSmNO ₂	84,21
PMSpEtO	56,89
PMSpMeOB	46,84

Моделирование молекулярной динамики показывает, что время связывания каждого из исследуемых веществ составляет не менее 40 нс, что доказывает возможность их связывания с аминокислотами каталитического центра ЦОГ-2.

Выводы

Результаты вычисления показывают, что исследуемые вещества способны проникать в активный центр ЦОГ-2 из водного окружения. Наибольшей активностью, предположительно, обладает вещество PMSmNO₂, что возможно связано с наличием нитрогруппы в фенильном радикале. Полученные результаты представляют интерес для дальнейшего конструирования новых НПВС в ряду производных 4-оксопиримидина и позволяют предположить наличие у исследуемых веществ противовоспалительной активности.

Список литературы

1. Аляутдин Р.Н. Фармакология - 2-е изд. – М.: Издательский дом ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 449 с.
2. Игнатов Ю.Д., Кукес В.Г., Мазуров В.И. Клиническая фармакология нестероидных противовоспалительных средств. – М., 2010. – 7 с.
3. Кодониди, И.П. Молекулярное конструирование N-замещенных производных 1,3-диазинона-4 / И.П. Кодониди // Фармация. – 2010.- №1. – С. 36 – 40.
4. Оганесян Э.Т. Исследование противовоспалительной активности производных хиназолинона-4 и их ациклических предшественников / Э.Т. Оганесян, И.П. Кодониди, Т.А. Лысенко [и др.] // Биомедицина. – 2010. - №5. – С. 105 – 107.
5. Харкевич Д.А. Фармакология. 10-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 661 с.
6. Picot D., Loll P. J., Garavito R. M. The X-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H2 synthase-1. Nature 1994, 367, 243-249.
7. Xiao G., Chen W., Kulmacz R. J. Comparison of structural stabilities of prostaglandin H synthase-1 and -2. J. Biol. Chem. 1998, 273, 6801-6811.
8. Xu S., Hermanson D.J., Banerjee S., Ghebreselasie K., Clayton G.M., Garavito R.M., Marnett L.J. Oxicams Bind in a Novel Mode to the Cyclooxygenase Active Site via a Two-water-mediated H-bonding Network. (2014) J.Biol.Chem. 289: 6799-6808.
9. Wang J.L., Limburg D., Graneto M.J., Springer J., Hamper J.R., Liao S., Pawlitz J.L., Kurumbail R.G., Maziasz T., Talley J.J., Kiefer J.R., Carter J. Journal: (2010) Bioorg.Med.Chem.Lett. 20: 7159-7163.

Рецензенты:

Компанцев В.А., д.фарм.н., профессор кафедры неорганической, физической и коллоидной химии Пятигорского медико-фармацевтического института — филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск;

Лазарян Д.С., д.фарм.н., заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии, профессор Пятигорского медико-фармацевтического института — филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск.