

ИНФОРМАТИКА

INFORMATICS

УДК 004.94+547.7+616-006+616-085

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2024-68-3-196-206>

Поступило в редакцию 15.03.2024

Received 15.03.2024

А. М. Андрианов¹, К. В. Фурс², А. Д. Карпенко², Т. Д. Войтко³,
член-корреспондент А. В. Тузиков²

¹Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь

³ООО «Фабрика инноваций и решений», Витебск, Республика Беларусь

**DE NOVO ДИЗАЙН И ВИРТУАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ
ИНГИБИТОРОВ ТИРОЗИНКИНАЗЫ Bcr-Abl С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИЙ
ГЛУБОКОГО ОБУЧЕНИЯ И МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ**

Аннотация. С помощью комплексного вычислительного подхода, включающего технологии глубокого обучения и молекулярного моделирования, осуществлен *de novo* дизайн и виртуальный скрининг малых молекул, обладающих высоким потенциалом ингибиторной активности против тирозинкиназы Bcr-Abl, играющей ключевую роль в патогенезе хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ). В результате проведенных исследований идентифицированы 5 соединений, характеризующихся, согласно расчетным данным, низкими значениями свободной энергии связывания с ферментом, которые сопоставимы с величинами, предсказанными для иматиниба, nilотиниба и понатиниба – противоопухолевых препаратов, широко используемых в клинике для лечения пациентов с ХМЛ. Показано, что эти соединения способны образовывать стабильные комплексы с АТФ-связывающими сайтами тирозинкиназы Bcr-Abl и ее мутантной формы T315I, что подтверждает анализ профилей аффинности связывания и межмолекулярных взаимодействий, ответственных за их энергетическую стабилизацию. На основе полученных расчетных данных предполагается, что сгенерированные нейронной сетью глубокого обучения соединения формируют перспективные базовые структуры для разработки новых эффективных лекарственных препаратов для терапии ХМЛ.

Ключевые слова: тирозинкиназа Bcr-Abl, хронический миелоидный лейкоз, противоопухолевые препараты, генеративные нейронные сети глубокого обучения, молекулярный докинг, молекулярная динамика

Для цитирования. *De novo* дизайн и виртуальный скрининг потенциальных ингибиторов тирозинкиназы Bcr-Abl с помощью технологий глубокого обучения и молекулярного моделирования / А. М. Андрианов [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2024. – Т. 68, № 3. – С. 196–206. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2024-68-3-196-206>

Alexander M. Andrianov¹, Konstantin V. Furs², Anna D. Karpenko², Timofey D. Vaitko³,
Corresponding Member Alexander V. Tuzikov²

¹Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

³Factory of Innovations and Solutions, LLC, Vitebsk, Republic of Belarus

**DE NOVO DESIGN AND VIRTUAL SCREENING OF POTENTIAL Bcr-Abl TYROSINE KINASE
INHIBITORS USING DEEP LEARNING AND MOLECULAR MODELING TECHNOLOGIES**

Abstract. *De novo* design and virtual screening of small-molecule compounds with a high potential inhibitory activity against the Bcr-Abl tyrosine kinase playing a key role in the pathogenesis of chronic myeloid leukemia (CML) were carried out by an integrated computational approach including technologies of deep learning and molecular modeling. As a result, according to the calculation data we identified 5 compounds exhibiting low values of binding free energy to the enzyme comparable with those predicted for imatinib, nilotinib and ponatinib, anticancer drugs widely used in the clinic to treat patients with CML. It was shown that these compounds are able to form stable complexes with the ATP-binding sites of the Bcr-Abl tyrosine kinase and its mutant form T315I, which is confirmed by the analysis of the profiles of binding affinity and

intermolecular interactions responsible for their energy stabilization. Based on the obtained data, these compounds, which have been generated by the deep learning neural network, are assumed to form promising basic structures for development of new effective drugs for treatment of patients with CML.

Keywords: Bcr-Abl tyrosine kinase, chronic myeloid leukemia, deep learning generative neural networks, molecular docking, molecular dynamics, anticancer drugs

For citation. Andrianov A. M., Furs K. V., Karpenko A. D., Vaitko T. D., Tuzikov A. V. *De novo* design and virtual screening of potential Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitors using deep learning and molecular modeling technologies. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2024, vol. 68, no. 3, pp. 196–206 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2024-68-3-196-206>

Введение. Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) представляет собой клональное миело-пролиферативное заболевание, на долю которого приходится около 15–20 % лейкозов у взрослых пациентов [1; 2]. ХМЛ характеризуется гибридным белком BCR-ABL1 – конститутивно активной тирозинкиназой, которая является продуктом филадельфийской хромосомы (Ph), образующейся в результате реципрокной транслокации между хромосомами 9 и 22 [1]. Белок BCR-ABL1 играет ключевую роль в патогенезе ХМЛ и поэтому является оптимальной мишенью для малых молекул, способных селективно связываться с тирозинкиназой Bcr-Abl и ингибировать ее повышенную активность [2]. В настоящее время для лечения ХМЛ на различных стадиях Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (U.S. FDA) одобрены пять ингибиторов фермента – иматиниб, нилотиниб, дазатиниб, бозутиниб и понатиниб, нацеленных на его АТФ-связывающий сайт [1–3]. Первый ингибитор киназы Bcr-Abl иматиниб был обнаружен в 1996 г. и показал высокую селективность и активность *in vitro* в отношении клеточных линий BCR/ABL1 [4]. Однако после выявления развития с течением времени устойчивости к иматинибу у значительного процента пациентов, во многих случаях опосредованной мутацией T315I в гене *Abl*, был инициирован поиск новых ингибиторов белка BCR-ABL1 [2; 3]. Ингибиторы тирозинкиназы Bcr-Abl второго и третьего поколения, такие как нилотиниб, дазатиниб, бозутиниб и понатиниб, а также аллостерический ингибитор с альтернативным механизмом действия – асциминиб, характеризуются повышенной по сравнению с иматинибом противолейкемической активностью [2; 3]. Это приводит к более глубоким и быстрым молекулярным ответам на первой линии терапии и позволяет использовать в большинстве случаев более низкие дозы препарата, что сопровождается лучшими профилями токсичности и, в конечном итоге, во многих случаях дает основание рассматривать возможность ремиссии без лечения [1–3]. Однако необходимо отметить, что у значительной части пациентов с ХМЛ не удается достичь глубокого молекулярного ответа. Так, у более 50 % онкологических больных, получавших иматиниб, со временем развивается резистентность или непереносимость, а при использовании ингибиторов Bcr-Abl тирозинкиназы второго поколения (нилотиниб, дазатиниб или бозутиниб) в качестве терапии первой линии примерно в 30–40 % случаев возникает необходимость изменить схему лечения через 5 лет [1]. Несмотря на то что в настоящее время существуют четкие рекомендации по терапии ХМЛ первой и второй линий, пациенты с неэффективностью лечения к терапии второй линии имеют ограниченные возможности и плохо реагируют на дополнительное лечение, при этом немногие достигают глубокого молекулярного ответа [1]. В связи с этим имеется неудовлетворенная потребность в более эффективных вариантах третьей линии терапии для пациентов с резистентностью или непереносимостью. Подробная информация об используемых в клинике препаратах и текущих разработках перспективных ингибиторов тирозинкиназы Bcr-Abl представлена в [1–3], свидетельствующих о том, что исследования по обнаружению новых, эффективных и безопасных кандидатов в лекарственные средства против этого тяжелого онкологического заболевания по-прежнему чрезвычайно актуальны.

Одним из перспективных подходов к решению этой проблемы является использование технологий искусственного интеллекта, которым в последнее время уделяется большое внимание в фармацевтических исследованиях, поскольку они значительно сокращают время и стоимость разработки новых лекарств [5–7]. В связи с интенсивным развитием нейронных сетей с различными архитектурами и методами обучения и ростом объемов баз данных лекарственных средств подходы, основанные на глубоком обучении, все чаще используются на всех этапах разработки лекарственных препаратов и физиологически активных соединений [5; 6]. За последние несколь-

ко лет глубокие генеративные модели показали превосходную эффективность, особенно в молекулярном *de novo* дизайне потенциальных лекарств. Применение этих моделей уже показало их способность генерировать молекулы, которые могут быть синтезированы, активны *in vitro*, стабильны и проявляют активность *in vivo* на моделях, связанных с различными заболеваниями [6]. В частности, большой потенциал технологий искусственного интеллекта подтверждают результаты работы [8], в которой с их помощью обнаружен новый структурный класс антибиотиков, эффективных против метициллин-устойчивых штаммов золотистого стафилококка.

В настоящем исследовании с помощью комплексного вычислительного подхода, включающего алгоритмы глубокого обучения и методы молекулярного моделирования, осуществлен виртуальный скрининг низкомолекулярных химических соединений, обладающих потенциалом ингибиторной активности против нативной и мутантной тирозинкиназы Bcr-Abl с аминокислотной заменой Thr-315 на Ile-315, которая является одной из основных причин резистентности к иматинибу [3]. Для решения поставленной задачи были выполнены исследования, которые включали следующие этапы:

1) *De novo* дизайн малых молекул, потенциально активных против тирозинкиназы Bcr-Abl и ее мутантной формы T315I, с помощью разработанной нами ранее [9] нейронной сети глубокого обучения.

2) Молекулярный докинг сгенерированных нейронной сетью соединений с каталитическими сайтами тирозинкиназы Bcr-Abl и Bcr-Abl^{T315I}.

3) Молекулярную динамику (МД) комплексов лиганд/Bcr-Abl и расчет свободной энергии их образования.

4) Анализ полученных результатов и отбор соединений, перспективных для дальнейших биомедицинских исследований.

Материалы и методы исследования. *Генерация соединений.* Для *de novo* дизайна потенциальных ингибиторов тирозинкиназы Bcr-Abl и ее мутантной формы T315I использовали глубокую нейронную сеть на основе модели гетероэнкодера [9], обученную на наборе малых молекул, содержащих пиримидин, включая 2-ариламинопиримидин – фрагмент, присутствующий в качестве основного фармакофора в структурах многих низкомолекулярных ингибиторов протеинкиназ [10]. В результате работы нейронной сети были получены линейные представления SMILES («система упрощенного представления молекул в строке ввода»; https://dbpedia.org/page/Simplified_molecular-input_line-entry_system) для 1117 молекул. Затем с помощью модуля RDKit (<http://www.rdkit.org/>) SMILES-строки этих молекулы очищали от дубликатов, проверяли на корректность, интерпретируемость и преобразовывали в трехмерные структуры. После процедуры фильтрации молекул были отобраны 1083 соединения, ингибиторную активность которых против тирозинкиназы Bcr-Abl и Bcr-Abl^{T315I} предсказывали методами молекулярного докинга и молекулярной динамики.

Молекулярный докинг. Подготовку соединений для молекулярного докинга сгенерированных нейронной сетью соединений со структурами тирозинкиназы Bcr-Abl (PDB ID: 3KFA; <https://www.rcsb.org>) и ее мутантной формы T315I (PDB ID: 3OY3; <https://www.rcsb.org>) осуществляли с помощью программного пакета MGLTools (<https://ccsb.scripps.edu/mgltools/>). Ячейку для докинга, общую для тирозинкиназы Bcr-Abl и Bcr-Abl^{T315I}, конструировали с использованием программных средств AutoDockTools 1.5.6 (<https://ccsb.scripps.edu/mgltools/1-5-6/>). Для этого с помощью программного пакета PyMol (<https://pymol.org/2/>) структуру нативной тирозинкиназы накладывали на структуру мутантной формы, совмещали их по атомам C^α и подбирали размеры ячейки таким образом, чтобы она полностью включала АТФ-связывающий центр фермента. В результате построенная ячейка имела следующие параметры: ΔX = 31 Å, ΔY = 23 Å, ΔZ = 23 Å с центром при X = 18 Å, Y = 8 Å, Z = 6 Å в системе координат тирозинкиназы Bcr-Abl с мутацией T315I. Значение параметра, характеризующего полноту поиска, задавали равным 100. Межмолекулярные взаимодействия в статических моделях комплексов лигандов с тирозинкиназой Bcr-Abl и ее мутантной формой T315I идентифицировали с помощью программы BINANA (<https://durrantlab.pitt.edu/binana-download/>).

Оценку сродства соединений к тирозинкиназе Vcr-Abl и Vcr-Abl^{T315I} выполняли в два этапа. Сначала по величинам оценочной функции (ОФ) AutoDock Vina были отобраны 569 молекул со значениями энергии связывания с обеими молекулярными мишенями ниже -9 ккал/моль, для которых проводили переоценку энергии с помощью ОФ машинного обучения NNScore 2.0 (<https://git.durrantlab.pitt.edu/jdurrant/nnscore2>) и RFScore 4 (<https://pjballester.wordpress.com/software/>). Затем для всех отобранных 569 соединений определяли их ранги согласно каждой ОФ и на основе этих данных вычисляли величину экспоненциального консенсусного ранга [11]. Для идентификации соединений, потенциально активных против обеих терапевтических мишеней, для каждой молекулы рассчитывали перекрестный экспоненциальный консенсусный ранг по формуле, предложенной в [9]. Молекулы, имевшие низкие значения перекрестного ранга, были отнесены к группе перспективных кандидатов на роль противоопухолевых соединений, способных блокировать каталитические сайты как тирозинкиназы Vcr-Abl, так и ее мутантной формы T315I. В результате согласно этому критерию были отобраны 19 соединений, комплексы которых с АТФ-связывающим карманом фермента анализировали методами молекулярной динамики.

Молекулярная динамика. Молекулярную динамику комплексов лиганд/Vcr-Abl и лиганд/Vcr-Abl^{T315I} выполняли в программном пакете Amber18 с использованием силовых полей Amber ff14SB (белок) и GAFF (лиганды) (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Для задания парциальных зарядов атомов (модель AM1-BCC) использовали модуль Antechamber программного пакета AmberTools19 (<https://ambermd.org/doc12/Amber19.pdf>). Атомы водорода добавляли с помощью программы reduce пакета AmberTools19. Комплексы помещали в усеченный октаэдр, заполняли растворителем (модель воды TIP3P) и добавляли ионы Na^+ и Cl^- до значения ионной силы, равного $0,15$ М. Систему минимизировали методами наискорейшего спуска (500 шагов) и сопряженных градиентов (500 шагов), нагревали от 0 до 300 К в течение 50 пс в рамках статистического ансамбля NVT и термостата Ланжевена, а затем уравнивали в течение 50 пс при давлении $1,0$ атм (ансамбль NPT, баростат Берендсена). На заключительном шаге систему уравнивали в течение $0,5$ нс при постоянном объеме и проводили молекулярную динамику длительностью 200 нс в изобарно-изотермических условиях при температуре 300 К и давлении 1 атм. Интегрирование уравнений движения Ньютона осуществляли с помощью алгоритма «leap-frog» с шагом интегрирования $2,0$ фс. Для фиксации длин связей, в образовании которых участвуют атомы водорода, применяли алгоритм SHAKE (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Максимальное расстояние, на котором учитывали электростатические взаимодействия, задавали равным $8,0$ Å. Для расчета энергии электростатических взаимодействий использовали метод Эвальда (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>).

Энтальпийную и энтропийную компоненты свободной энергии связывания рассчитывали с помощью пакета Amber18 с использованием метода MM/GBSA и модуля Nmode соответственно (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Энергию связывания вычисляли для последних 150 комплексов молекулярно-динамической траектории, разделенных во времени интервалом 1 нс. Полярную составляющую энергии сольватации рассчитывали в континуальном растворителе с использованием обобщенной модели Борна с ионной силой $0,15$ М. неполярные компоненты свободной энергии гидратации вычисляли на основе расчетов площади поверхности, доступной растворителю (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Анализ МД траекторий выполняли с помощью программного модуля CPPTRAJ пакета AmberTools19 для последних 150 нс моделирования.

В качестве позитивного контроля в расчетах использовали ингибиторы тирозинкиназы Vcr-Abl иматиниб, нилотиниб и понатиниб.

Результаты и их обсуждение. В результате совместного анализа данных молекулярного докинга и молекулярной динамики нами были идентифицированы пять соединений-лидеров (рис. 1), проявляющих высокое сродство к каталитическим сайтам как тирозинкиназы Vcr-Abl, так и ее мутантной формы T315I. Результаты молекулярного докинга показали (табл. 1), что комплексы этих соединений с тирозинкиназой Vcr-Abl и Vcr-Abl^{T315I} характеризуются низкими значениями энергии связывания, близкими к величинам, предсказанным для иматиниба, нилотиниба и понатиниба, которые были использованы в расчетах в качестве позитивного контроля. Данные молекулярно-динамических расчетов в целом согласуются с результатами молекулярного докинга,

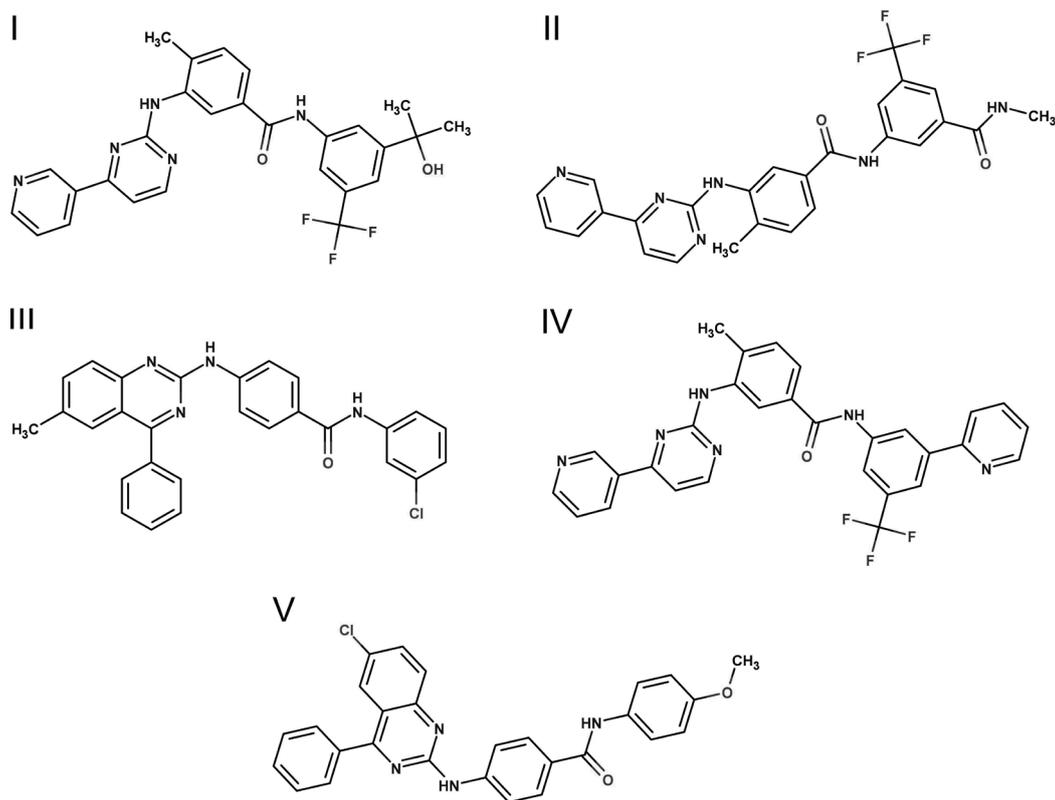


Рис. 1. Химические структуры идентифицированных соединений – потенциальных ингибиторов Bcr-Abl и ее мутантной формы T3151. Названия соединений согласно систематической номенклатуре ИЮПАК: I – N-[3-(2-гидроксипропан-2-ил)-5-(трифторметил)фенил]-4-метил-3-[[4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил]амино]бензамид; II – N-метил-3-(4-метил-3-[[4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил]амино]бензамидо)-5-(трифторметил)бензамид; III – N-(3-хлорфенил)-4-[[6-метил-4-фенилхиназолин-2-ил]амино]бензамид; IV – 4-метил-N-[3-(пиридин-2-ил)-5-(трифторметил)фенил]-3-[[4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил]амино]бензамид; V – 4-[[6-хлор-4-фенилхиназолин-2-ил]амино]-N-(4-метоксифенил)бензамид

Fig. 1. Chemical structures of the identified compounds, potential inhibitors of Bcr-Abl tyrosine kinase and its mutant form T3151. The compounds names according to the IUPAC systematic nomenclature: I – N-[3-(2-hydroxypropan-2-yl)-5-(trifluoromethyl)phenyl]-4-methyl-3-[[4-(pyridin-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]benzamide; II – N-methyl-3-(4-methyl-3-[[4-(pyridin-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]benzamido)-5-(trifluoromethyl)benzamide; III – N-(3-chlorophenyl)-4-[[6-methyl-4-phenylquinazolin-2-yl]amino]benzamide; IV – 4-methyl-N-[3-(pyridin-2-yl)-5-(trifluoromethyl)phenyl]-3-[[4-(pyridin-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]benzamide; V – 4-[[6-chloro-4-phenylquinazolin-2-yl]amino]-N-(4-methoxyphenyl)benzamide

Т а б л и ц а 1. Значения свободной энергии связывания ΔG (ккал/моль) для статических моделей комплексов лиганд/Bcr-Abl и лиганд/Bcr-Abl^{T3151}, рассчитанные с помощью ОФ Vina, RFScore 4 и NNScore 2.0

T a b l e 1. Binding free energy values ΔG (kcal/mol) for static models of the ligand/Bcr-Abl and ligand/Bcr-Abl^{T3151} complexes calculated using scoring functions AutoDock Vina, RFScore 4 and NNScore 2.0

| Лиганд Ligand | Нативная киназа Bcr-Abl Native Bcr-Abl kinase | | | Мутантная киназа Bcr-Abl Mutant Bcr-Abl kinase | | |
|------------------|--|-----------------------|-----------------------|---|-----------------------|-----------------------|
| | ΔG_{VINA} | $\Delta G_{NNScore2}$ | $\Delta G_{RFScore4}$ | ΔG_{VINA} | $\Delta G_{NNScore2}$ | $\Delta G_{RFScore4}$ |
| I | -12,4 | -11,1 | -11,0 | -10,7 | -8,9 | -11,0 |
| II | -12,5 | -11,0 | -11,0 | -10,7 | -8,8 | -11,0 |
| III | -13,3 | -11,5 | -11,2 | -11,9 | -8,5 | -11,3 |
| IV | -13,0 | -10,8 | -11,0 | -11,3 | -9,0 | -11,0 |
| V | -12,5 | -9,2 | -11,0 | -10,7 | -8,3 | -11,3 |
| Иматиниб | -10,6 | -9,9 | -10,3 | -9,8 | -9,4 | -10,7 |
| Нилотиниб | -12,9 | -10,7 | -10,7 | -11,1 | -8,4 | -10,7 |
| Понатиниб | -10,6 | -9,9 | -10,3 | -12,4 | -11,3 | -10,9 |

о чем свидетельствуют средние значения свободной энергии образования комплексов идентифицированных и контрольных соединений с тирозинкиназой Bcr-Abl и Bcr-Abl^{T315I} (табл. 2). Из анализа средних значений свободной энергии связывания и стандартных отклонений, приведенных в табл. 2, следует, что комплексы обнаруженных лигандов с тирозинкиназой Bcr-Abl и ее мутантной формой T315I относительно стабильны в течение МД расчетов. Этот вывод подтверждают данные о временных зависимостях среднеквадратичных отклонений (RMSD, Root-Mean-Square Deviations) координат атомов динамических структур комплексов от их стартовых моделей (рис. 2). Согласно приведенным на рис. 2 графикам зависимости RMSD атомных координат от времени, их средним значениям и стандартным отклонениям, анализируемые комплексы не подвергаются значительным структурным изменениям на МД траекториях. Так, для нативной киназы Bcr-Abl средние значения RMSD, равные $2,5 \pm 0,2$ Å (соединение I), $2,5 \pm 0,6$ Å (соединение II), $2,8 \pm 0,6$ Å (соединение III), $2,7 \pm 0,6$ Å (соединение IV) и $3,2 \pm 0,5$ Å (соединение V), близки к величинам $2,3 \pm 0,4$, $3,4 \pm 0,6$ и $2,5 \pm 0,3$ Å, полученным для иматиниба, нилотиниба и понатиниба соответственно (рис. 2). В случае мутантной формы фермента средние значения RMSD для соединений I–V равны $2,6 \pm 0,5$ Å (соединение I), $2,3 \pm 0,4$ (соединение II), $3,0 \pm 0,6$ (соединение III), $2,5 \pm 0,5$ (соединение IV) и $2,2 \pm 0,4$ Å (соединение V) и сопоставимы с величинами, рассчитанными для иматиниба ($3,0 \pm 0,7$ Å), нилотиниба ($2,7 \pm 0,7$ Å) и понатиниба ($2,7 \pm 0,5$ Å). В то же время средние значения RMSD для нативной и мутантной киназы Bcr-Abl в свободном состоянии, составляющие $3,5 \pm 0,8$ и $2,5 \pm 0,5$ Å соответственно, сопоставимы с соответствующими величинами, рассчитанными для анализируемых соединений в комплексах с нативной и мутантной формой фермента (рис. 2), что является дополнительным подтверждением их относительной конформационной стабильности.

Таким образом, данные молекулярного моделирования свидетельствуют о высоком потенциале ингибиторной активности идентифицированных соединений. В табл. 3 приведены их физико-химические параметры, традиционно используемые в виртуальном скрининге наиболее вероятных кандидатов в лекарственные средства для предсказания с помощью «правила пяти» Липинского молекул с большим потенциалом биодоступности при пероральном введении [12]. Согласно этому правилу, потенциальное лекарство должно иметь молекулярную массу меньше 500 Да, липофильность (LogP – коэффициент распределения на границе октанол/вода) меньше 5 и число потенциальных доноров и акцепторов водородной связи меньше пяти и десяти соответственно [12]. Из анализа данных табл. 3 следует, что соединения I–V характеризуются незначительными нарушениями «правила пяти», связанными с небольшим превышением их молекулярной массы (соединения I, II и IV) и/или липофильности, что позволяет предположить, что эти соединения обладают лекарственными свойствами [12]. В пользу этого предположения свидетельствуют результаты расчетов логарифма молярной растворимости соединений в воде LogS, числа вращающихся связей N и топологической площади полярной поверхности TPSA (табл. 4), которые являются важными характеристиками, влияющими на оральную биодоступность кандидатов в лекарства [13]. Так, прогнозируемые значения LogS – одного из основных свойств, влияющих на всасывание, позволяют предположить, что эти молекулы растворимы в воде,

Т а б л и ц а 2. Средние значения свободной энергии связывания $\langle \Delta G \rangle$ и соответствующие им стандартные отклонения ΔG_{STD} , рассчитанные для динамических моделей комплексов лиганд/Bcr-Abl

Table 2. Average binding free energies $\langle \Delta G \rangle$ and corresponding standard deviations ΔG_{STD} calculated for dynamic models of the ligand/Bcr-Abl complexes

| Лиганд Ligand | $\Delta G \pm \Delta G_{\text{STD}}$, ккал/моль |
|---|--|
| <i>Нативная киназа Bcr-Abl</i> <i>Native Bcr-Abl kinase</i> | |
| I | $-27,3 \pm 6,8$ |
| II | $-26,1 \pm 6,8$ |
| III | $-24,5 \pm 7,3$ |
| IV | $-25,6 \pm 6,6$ |
| V | $-23,1 \pm 6,6$ |
| Иматиниб | $-29,3 \pm 6,5$ |
| Нилотиниб | $-24,8 \pm 6,7$ |
| Понатиниб | $-38,2 \pm 6,6$ |
| <i>Мутантная киназа Bcr-Abl</i> <i>Mutant Bcr-Abl kinase</i> | |
| I | $-24,1 \pm 7,5$ |
| II | $-23,7 \pm 6,4$ |
| III | $-25,9 \pm 7,7$ |
| IV | $-23,1 \pm 6,9$ |
| V | $-24,8 \pm 7,3$ |
| Иматиниб | $-17,7 \pm 9,3$ |
| Нилотиниб | $-26,3 \pm 7,1$ |
| Понатиниб | $-37,5 \pm 6,6$ |

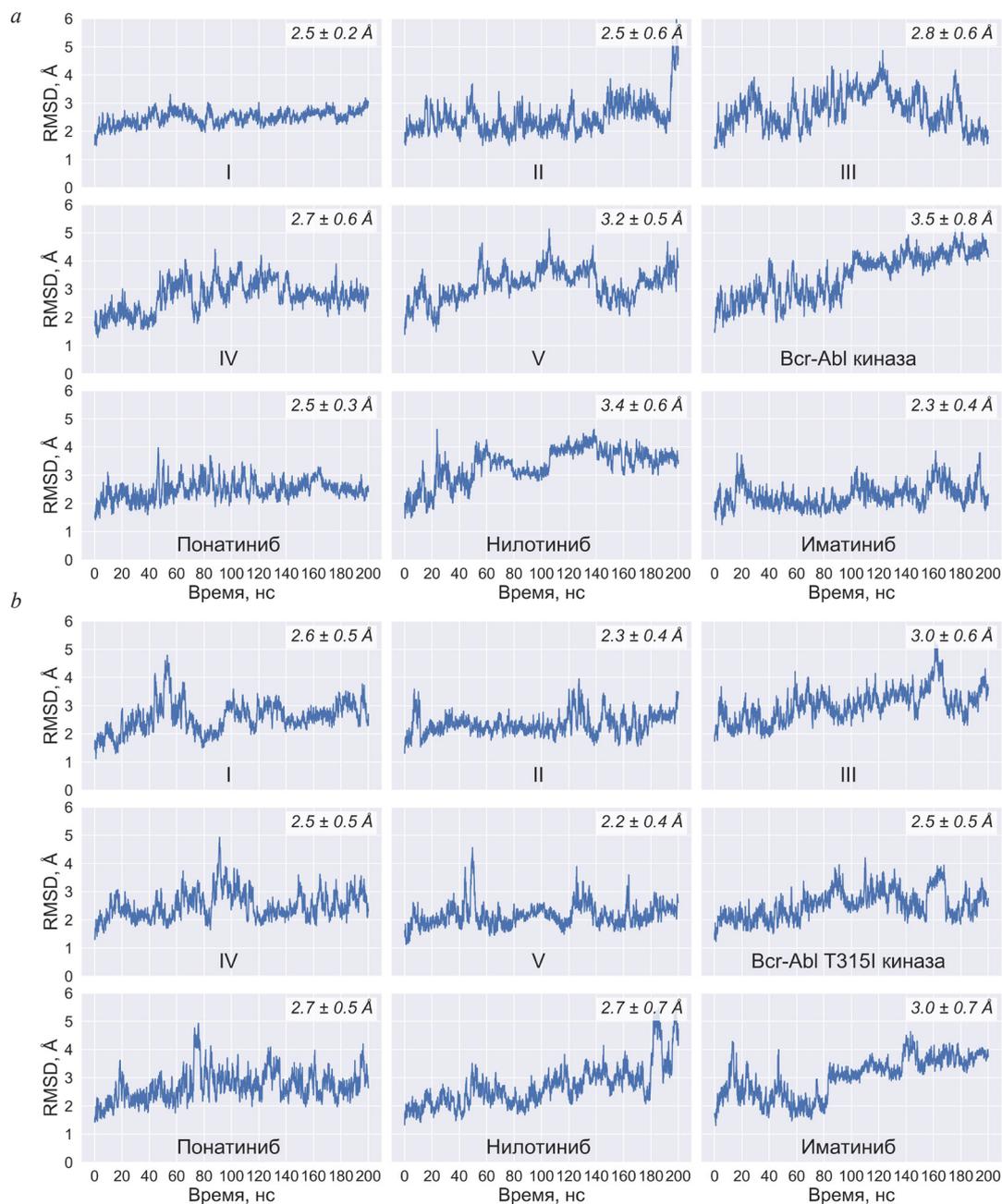


Рис. 2. Временные зависимости значений RMSD (Å), рассчитанных между динамическими и стартовыми структурами комплексов соединений I–V с тирозинкиназой Bcr-Abl (a) и ее мутантной формой T315I (b). В правом верхнем углу указаны средние значения RMSD и соответствующие стандартные отклонения для последних 150 нс МД траекторий. Приведены также соответствующие значения для контрольных соединений и фермента в свободном состоянии

Fig. 2. Time dependences of the RMSD values (Å) calculated between the dynamic and starting structures of complexes of compounds I–V with Bcr-Abl tyrosine kinase (a) and its mutant form T315I (b). The upper right corner shows the average RMSD values and corresponding standard deviations for the last 150 ns of the MD trajectories. Corresponding values for the control compounds and the unliganded enzyme are also given

а значения N и TPSA полностью удовлетворяют требованиям, предъявляемым к потенциальному лекарственному средству, чтобы быть активным при пероральном приеме [13]. Кроме того, по данным компьютерного прогнозирования, проведенного с помощью веб-сервера ProTox-II (https://tox-new.charite.de/prottox_II/), рассматриваемые соединения обладают приемлемой цитотоксичностью и относятся к четвертому (соединения I, II, V) или третьему (соединения III, IV) классу острой пероральной токсичности. При этом значения полулетальной дозы LD₅₀ для этих

соединений варьируют в диапазоне от 200 до 2000 мг/кг [13]. Наконец, расчеты также показывают, что соединения I–V могут быть синтезированы для последующих биомедицинских исследований, что является основным фактором при выборе перспективных лекарственных веществ, сгенерированных нейронной сетью. Это подтверждается результатами оценки их синтетической доступности, проведенной с использованием программного обеспечения веб-сервера SwissADME (табл. 4), которое классифицирует сложность синтеза химических соединений в диапазоне от 1 (очень легко) до 10 (очень сложно) [14].

Т а б л и ц а 3. Физико-химические параметры идентифицированных соединений

T a b l e 3. Physicochemical parameters of the identified compounds

| Лиганд Ligand | Химическая формула ¹ Chemical formula | Молекулярная масса ¹ (Да) Molecular mass (Da) | LogP ² | Число доноров водородной связи ¹ Number of H-bond donors | Число акцепторов водородной связи ¹ Number of H-bond acceptors |
|------------------|--|---|-------------------|--|--|
| I | C ₂₇ H ₂₄ F ₃ N ₅ O ₂ | 507,51 | 4,66 | 3 | 8 |
| II | C ₂₆ H ₂₁ F ₃ N ₆ O ₂ | 506,48 | 4,07 | 3 | 8 |
| III | C ₂₈ H ₂₁ ClN ₄ O | 464,95 | 5,81 | 2 | 3 |
| IV | C ₂₉ H ₂₁ F ₃ N ₆ O | 526,51 | 5,18 | 2 | 8 |
| V | C ₂₈ H ₂₁ ClN ₄ O ₂ | 480,94 | 5,48 | 2 | 4 |

П р и м е ч а н и я: ¹ – физико-химические параметры рассчитывали с помощью веб-сервера открытого доступа SwissADME (<http://www.swissadme.ch>); ² – LogP (липофильность соединения) вычисляли с использованием веб-сервера SciFinder (<https://scifinder.cas.org/>).

N o t e s: ¹ – physical and chemical parameters were calculated using the SwissADME open access web server (<http://www.swissadme.ch>); ² – LogP (compound lipophilicity) was calculated using the SciFinder web platform (<https://scifinder.cas.org/>).

Т а б л и ц а 4. Данные о молярной растворимости в воде, количестве вращающихся связей, топологической площади полярной поверхности и синтетической доступности, предсказанные для идентифицированных соединений с помощью веб-сервера SwissADME

T a b l e 4. Data on the molar water solubility, number of rotatable bonds, topological polar surface area, and synthetic accessibility predicted for the identified compounds using the SwissADME web server

| Лиганд Ligand | Молярная растворимость в воде LogS Molar water solubility LogS | Число вращающихся связей Number of rotatable bonds | Топологическая площадь полярной поверхности TPSA, Å ² Topological polar surface area TPSA, Å ² | Синтетическая доступность Synthetic availability |
|------------------|---|---|---|---|
| I | -5,75 | 8 | 100,03 | 3,63 |
| II | -5,41 | 9 | 108,90 | 3,50 |
| III | -7,29 | 6 | 66,91 | 3,00 |
| IV | -6,52 | 8 | 92,69 | 3,64 |
| V | -7,05 | 7 | 76,14 | 2,97 |

На рис. 3 представлена информация о межмолекулярных взаимодействиях в статических моделях комплексов соединений I–V (рис. 1) с тирозинкиназой Src-Abl и ее мутантной формой T315I и показаны ориентации этих молекул в каталитическом сайте фермента. В частности, анализ межмолекулярных взаимодействий соединения I с нативной Src-Abl киназой показывает (рис. 3), что этот лиганд формирует две водородные связи с остатками Glu-286 и Asp-381. Кроме водородных связей, соединение I участвует во взаимодействиях Ван-дер-Ваальса с 17 остатками фермента, которые образуют с этим лигандом в общей сложности 52 прямых межатомных контакта.

Соединение I, связываясь с мутантной тирозинкиназой Src-Abl, образует водородную связь с остатком Asp-381, и, как и в случае нативной формы фермента, формирует многочисленные ван-дер-ваальсовы контакты (рис. 3). Для соединений II–V данные молекулярного моделирования предсказывают аналогичный механизм связывания с тирозинкиназой Src-Abl и Src-Abl^{T315I}, который обеспечивается главным образом водородными связями и большим числом контактов Ван-дер-Ваальса (рис. 3).

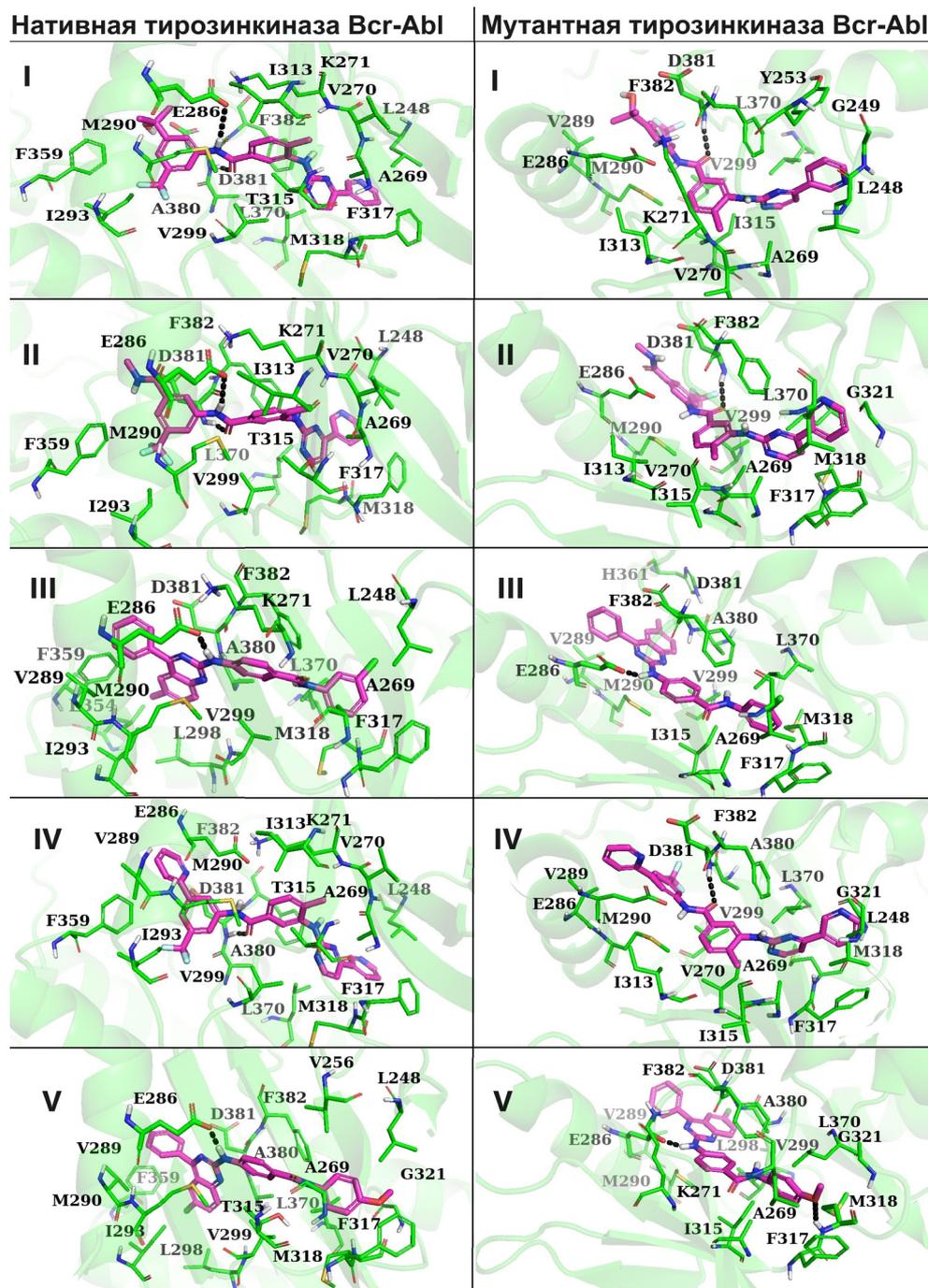


Рис. 3. Комплексы соединений I–V с нативной и мутантной тирозинкиназой Bcr-Abl, построенные методом молекулярного докинга. Приведены остатки фермента, участвующие в межмолекулярных взаимодействиях с лигандами. Водородные связи показаны черными пунктирными линиями

Fig. 3. Complexes of compounds I–V with native and mutant Bcr-Abl tyrosine kinase generated by molecular docking. The enzyme residues involved in intermolecular interactions with the ligands are given. Hydrogen bonds are shown with black dotted lines

Таким образом, результаты исследования профиля межмолекулярных взаимодействий, ответственных за энергетическую стабилизацию комплексов лиганд/Bcr-Abl, свидетельствуют о наличии в их интерфейсе многочисленных и эффективных межатомных контактов. Эти результаты согласуются с выводами о высоком сродстве идентифицированных соединений к каталитическим сайтам тирозинкиназы Bcr-Abl и ее мутантной формы T315I, сделанными на основе анализа данных молекулярного моделирования (табл. 1 и 2).

Заклучение. В настоящем исследовании с помощью разработанной ранее нейронной сети глубокого обучения сгенерированы 1083 низкомолекулярных химических соединения, и проведена *in silico* оценка потенциала их ингибиторной активности по отношению к тирозинкиназе Bcr-Abl и ее мутантной форме T315I, резистентной к широко используемому в клинике для терапии ХМЛ иматинибу. В результате выполненных исследований идентифицированы 5 соединений-лидеров, проявляющих, согласно расчетным данным, высокую аффинность связывания с тирозинкиназой Bcr-Abl и Bcr-Abl^{T315I} и обладающих лекарственными свойствами. Совместный анализ данных компьютерного прогнозирования позволяет предположить, что сконструированные с помощью технологий искусственного интеллекта соединения представляют значительный интерес для проведения дальнейших экспериментальных и теоретических исследований, включающих синтез, биомедицинские испытания *in vitro* и оптимизацию их структур, направленную на получение аналогов с улучшенной противоопухолевой активностью и приемлемыми фармакокинетическими и токсикологическими параметрами. Сгенерированные *de novo* соединения I, II, IV, содержащие 2-ариламинопиримидин (рис. 1), могут также быть использованы для разработки ингибиторов протеинкиназ многоцелевого действия, что подтверждается многочисленными исследованиями, свидетельствующими о том, что производные 2-ариламинопиримидина обладают большим потенциалом в качестве кандидатов в лекарственные средства для противоопухолевой терапии.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Государственной программы научных исследований «Конвергенция 2025» (подпрограмма «Междисциплинарные исследования и новые технологии», задание 3.04.1).

Acknowledgments. The work was supported by the State Scientific Research Program “Convergence 2025” (sub-program “Interdisciplinary Research and New Technologies”, project 3.04.1).

Список использованных источников

1. Cortes, J. Third-line therapy for chronic myeloid leukemia: current status and future directions / J. Cortes, F. Lang // *J. Hematol. Oncol.* – 2021. – Vol. 14. – Art. 44. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01055-9>
2. Kumar, V. Developing therapeutic approaches for chronic myeloid leukemia: a review / V. Kumar, Jyotirmayee, M. Verma // *Mol. Cell. Biochem.* – 2023. – Vol. 478, N 5. – P. 1013–1029. <https://doi.org/10.1007/s11010-022-04576-0>
3. Management of chronic myeloid leukemia in 2023 – common ground and common sense / J. Senapati [et al.] // *J. Blood Cancer J.* – 2023. – Vol. 13. – Art. 58. <https://doi.org/10.1038/s41408-023-00823-9>
4. Buchdunger, E. Pharmacology of imatinib (STI571) / E. Buchdunger, T. O’Reilly, J. Wood // *Eur. J. Cancer.* – 2002. – Vol. 38, N 5. – P. S28–S36. [https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(02\)80600-1](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(02)80600-1)
5. Advances and perspectives in applying deep learning for drug design and discovery / C. F. Lipinski [et al.] // *Front. Robotics and AI.* – 2019. – Vol. 6. – Art. 108. <https://doi.org/10.3389/frobt.2019.00108>
6. Deep learning enables rapid identification of potent DDR1 kinase inhibitors / A. Zhavoronkov [et al.] // *Nat. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 37. – P. 1038–1040. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0224-x>
7. Application of deep learning and molecular modeling to identify small drug-like compounds as potential HIV-1 entry inhibitors / A. M. Andrianov [et al.] // *J. Biomol. Struct. Dyn.* – 2022. – Vol. 40, N 16. – P. 7555–7573. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1905559>
8. Discovery of a structural class of antibiotics with explainable deep learning / F. Wong [et al.] // *Nature.* – 2024. – Vol. 626. – P. 177–185. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06887-8>
9. Генеративная нейронная сеть на основе модели гетероэнкодера для *de novo* дизайна потенциальных противоопухолевых препаратов: применение к Bcr-Abl тирозинкиназе / А. Д. Карпенко [и др.] // *Информатика.* – 2023. – Т. 20, № 3. – С. 7–20. <https://doi.org/10.37661/1816-0301-2023-20-3-7-20>
10. Recent advances in Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitors for overriding T315I mutation / J. Liu [et al.] // *Chem. Biol. Drug Des.* – 2021. – Vol. 97, N 3. – P. 649–664. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13801>
11. Exponential consensus ranking improves the outcome in docking and receptor ensemble docking / K. Palacio-Rodriguez [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9. – Art. 5142. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41594-3>
12. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / C. A. Lipinski [et al.] // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2001. – Vol. 46, N 1–3. – P. 3–26. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00129-0)
13. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates / D. F. Veber [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2002. – Vol. 45, N 12. – P. 2615–2623. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>
14. Daina, A. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules / A. Daina, O. Michielin, V. Zoete // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7, N 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>

References

1. Cortes J., Lang F. Third-line therapy for chronic myeloid leukemia: current status and future directions. *Journal of Hematology and Oncology*, 2021, vol. 14, art. 44. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01055-9>
2. Kumar V., Jyotirmayee, Verma M. Developing therapeutic approaches for chronic myeloid leukemia: a review. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2023, vol. 478, no. 5, pp. 1013–1029. <https://doi.org/10.1007/s11010-022-04576-0>

3. Senapati J., Sasaki K., Issa G. C., Lipton J. H., Radich J. P., Jabbour E., Kantarjian H. M. Management of chronic myeloid leukemia in 2023 – common ground and common sense. *Blood Cancer Journal*, 2023, vol. 13, art. 58. <https://doi.org/10.1038/s41408-023-00823-9>
4. Buchdunger E., O'Reilly T., Wood J. Pharmacology of imatinib (STI571). *European Journal of Cancer*, 2002, vol. 38, no. 5, pp. S28–S36. [https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(02\)80600-1](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(02)80600-1)
5. Lipinski C. F., Maltarollo V. G., Oliveira P. R., da Silva A. B. F., Honorio K. M. Advances and perspectives in applying deep learning for drug design and discovery. *Frontiers in Robotics and AI*, 2019, vol. 6, art. 108. <https://doi.org/10.3389/frobt.2019.00108>
6. Zhavoronkov A., Ivanenkov Y. A., Aliper A., Veselov M. S., Aladinskiy V. A., Aladinskaya A. V., Terentiev V. A., Polykovskiy D. A., Kuznetsov M. D., Asadulaev A., Volkov Yu., Zhulus A., Shayakhmetov R. R., Zhebrak A., Minaeva L. I., Zagribelnyy B. A., Lee L. H., Soll R., Madge D., Xing L., Guo T., Aspuru-Guzik A. Deep learning enables rapid identification of potent DDR1 kinase inhibitors. *Nature Biotechnology*, 2019, vol. 37, pp. 1038–1040. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0224-x>
7. Andrianov A. M., Nikolaev G. I., Shuldov N. A., Bosko I. P., Anischenko A. I., Tuzikov A. V. Application of deep learning and molecular modeling to identify small drug-like compounds as potential HIV-1 entry inhibitors. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2022, vol. 40, no. 16, pp. 7555–7573. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1905559>
8. Wong F., Zheng E. J., Valeri J. A., Donghia N. M., Anahtar M. N., Omori S., Li A., Cubillos-Ruiz A., Krishnan A., Jin W., Manson A. L., Friedrichs J., Helbig R., Hajian B., Fiejtek D. K., Wagner F. F., Soutter H. H., Earl A. M., Stokes J. M., Renner L. D., Collins J. J. Discovery of a structural class of antibiotics with explainable deep learning. *Nature*, 2024, vol. 626, pp. 177–185. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06887-8>
9. Karpenko A. D., Vaitko T. D., Tuzikov A. V., Andrianov A. M. A generative neural network based on a hetero-encoder model for *de novo* design of potential anticancer drugs: application to Bcr-Abl tyrosine kinase. *Informatics*, 2023, vol. 20, no. 3, pp. 7–20 (in Russian). <https://doi.org/10.37661/1816-0301-2023-20-3-7-20>
10. Liu J., Zhang Y., Huang H., Lei X., Tang G., Cao X., Peng J. Recent advances in Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitors for overriding T315I mutation. *Chemical Biology and Drug Design*, 2021, vol. 97, no. 3, pp. 649–664. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13801>
11. Palacio-Rodriguez K., Lans I., Cavasotto C. N., Cossio P. Exponential consensus ranking improves the outcome in docking and receptor ensemble docking. *Scientific Reports*, 2019, vol. 9, art. 5142. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41594-3>
12. 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. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001, vol. 46, no. 1–3, pp. 3–26. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00129-0)
13. Veber D. F., Johnson S. R., Cheng H. Y., Smith B. R., Ward K. W., Kopple K. D. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2002, vol. 45, no. 12, pp. 2615–2623. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>
14. Daina A., Michielin O., Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 2017, vol. 7, art. 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>

Информация об авторах

Андреанов Александр Михайлович – д-р хим. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: alexande.andriano@yandex.ru.

Фурс Константин Викторович – инженер-программист. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kybujlo@gmail.com.

Карпенко Анна Дмитриевна – научный сотрудник. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: rfe.karpenko@gmail.com.

Войтко Тимофей Дмитриевич – инженер-программист. ООО «Фабрика инноваций и решений» (пр. Строителей, 11А, 210032, Витебск, Республика Беларусь). E-mail: timvaitko@gmail.com.

Тузиков Александр Васильевич – член-корреспондент, д-р физ.-мат. наук, профессор, заведующий лабораторией. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tuzikov@newman.bas-net.by.

Information about the authors

Andrianov Alexander M. – Ph. D. (Chemistry), Professor, Chief Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alexande.andriano@yandex.ru.

Furs Konstantin V. – Software Engineer. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Sarganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kybujlo@gmail.com.

Karpenko Anna D. – Researcher. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Sarganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rfe.karpenko@gmail.com.

Vaitko Timofey D. – Software Engineer. Factory of Innovations and Solutions (LLC) (11A, Stroitelei Ave., 210032, Vitebsk, Republic of Belarus). E-mail: timvaitko@gmail.com.

Tuzikov Alexander V. – Corresponding Member, D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor, Head of the Laboratory. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Sarganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tuzikov@newman.bas-net.by.