

ISSN 1561-8323 (Print)  
ISSN 2524-2431 (Online)

**ХИМИЯ**  
**CHEMISTRY**

УДК 577.151.42:004.94  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-1-37-43>

Поступило в редакцию 01.08.2018  
Received 01.08.2018

**А. В. Фарина, член-корреспондент Е. Н. Калиниченко**

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

**ВИРТУАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ ПИРРОЛ-СОДЕРЖАЩИХ СТРУКТУРНЫХ  
АНАЛОГОВ ИМАТИНИБА МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКИНГА**

**Аннотация.** Ингибиторы тирозинкиназ стали общепринятым стандартом в лечении хронического миелоидного лейкоза. Однако вторичная резистентность пациентов, часто развивающаяся с течением заболевания, обуславливает необходимость поиска новых эффективных киназных ингибиторов. В данной работе с помощью программного обеспечения Autodock Vina был осуществлен молекулярный докинг комбинаторной библиотеки структур, сконструированных *de novo*. При этом основной подход к дизайну заключался в замене бензольного линкера в структуре иматиниба на пиррольный фрагмент. В качестве рецепторов использовались структуры киназ C-ABL, Human ABL и T315I-мутантная ABL. Подготовка лигандов проводилась средствами пакета MGL Tools. Подготовка рецепторов, определение размеров и положения активного центра фермента, анализ и визуализация результатов осуществлялись в программе Chimera 1.10. Для параметра интенсивности поиска (exhaustiveness) Autodock Vina было установлено значение 24. На основании сравнения с результатами докинга известных ингибиторов иматиниба и нилотиниба исследуемые структуры были отфильтрованы. Выбраны две наиболее перспективные структуры, для которых оценка энергии связывания Autodock Vina score составила –13,6 и –13,1 соответственно.

**Ключевые слова:** ингибитор тирозинкиназы, иматиниб, молекулярный докинг, хронический миелоидный лейкоз, таргетная терапия

**Для цитирования.** Фарина, А. В. Виртуальный скрининг пиррол-содержащих структурных аналогов иматиниба методом молекулярного докинга / А. В. Фарина, Е. Н. Калиниченко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2019. – Т. 63, № 1. – С. 37–43. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-1-37-43>

**Alexander V. Farina, Corresponding Member Elena N. Kalinichenko**

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

**DOCKING-BASED VIRTUAL SCREENING OF PYRROLE CONTAINING IMATINIB  
STRUCTURE ANALOGS**

**Abstract.** Tyrosine kinase inhibitors became a common treatment option for chronic myelogenous leukemia (CML). Still secondary resistance of patients connected with disease progression remains a major challenge. More effective kinase inhibitors are of great need. In this study, design and molecular docking of combinatory library of *de novo* imatinib-like structures was performed using Autodock Vina. The main design approach was to replace a benzene linker in the structure of imatinib with a pyrrole ring. Crystal structures of CML-related C-ABL, Human ABL and T315I mutant ABL were used as receptors. Ligands were prepared in MGL Tools. Chimera 1.10 was used for receptor preparation, binding site parametrization and visualization of results. Vina's exhaustiveness of search was set to 24. All docked structures were filtered based on the known inhibitors results. Two structures showed the promising predicted binding affinities (Autodock Vina's score –13.6 and –13.1 respectively) comparable with those of approved kinase inhibitors imatinib and nilotinib.

**Keywords:** tyrosine kinase inhibitor, imatinib, molecular docking, chronic myeloid leukemia, targeted therapy

**For citation:** Farina A. V., Kalinichenko E. N. Docking-based virtual screening of pyrrole containing imatinib structure analogs. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2019, vol. 63, no. 1, pp. 37–43 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-1-37-43>

**Введение.** Эффективность лечения хронического миелоидного лейкоза существенно повысилась после введения в клиническую практику препаратов иматиниб, нилотиниб и понатиниб, являющихся специфическими ингибиторами тирозинкиназ. Данные соединения селективно связываются с активным центром BCR-ABL тирозинкиназы – белком, ответственным за развитие заболевания, что приводит к подавлению роста опухолевых клеток, не влияя на функцию здоровых клеток. Тем не менее, использование препаратов часто ограничено невосприимчивостью пациентов, а также развитием серьезных побочных эффектов или резистентности вследствие появления мутантных форм BCR-ABL [1]. Таким образом, разработка новых ингибиторов тирозинкиназ, активных в отношении хронического миелолейкоза, является актуальной научной задачей.

Одним из методов выявления соединений-кандидатов, потенциально обладающих биологической активностью, является компьютерное моделирование комплексов белок–лиганд. В данной работе для поиска потенциальных ингибиторов тирозинкиназ проведен виртуальный скрининг созданной нами библиотеки соединений с использованием метода молекулярного докинга.

**Материалы и методы исследования.** Требования к структуре соединений-кандидатов для проведения скрининга были обусловлены особенностями связывания иматиниба, первого успешного ингибитора BCR-ABL тирозинкиназы, в активном центре фермента. Принципиально, в структуре иматиниба можно выделить три фрагмента: участок связывания в адениновом кармане, участок связывания в DFG-out (аллостерическом) кармане и линкер. Поскольку наиболее устойчивая мутация BCR-ABL киназы характеризуется заменой в 315-м положении аминокислотной последовательности треонина на изолейцин, основным препятствием для расположения иматиниба в активном центре является стерический фактор, обусловленный более объемным остатком изолейцина по сравнению с гидроксильной группой треонина. Исходя из этого, был выбран подход к дизайну новых соединений, заключающийся в замене бензольного линкера в структуре иматиниба на менее объемный пиррольный фрагмент. При этом суммарная пространственная протяженность линкера была увеличена путем введения в пиррольное кольцо различных заместителей. Поскольку замена линкера может привести к существенному изменению пространственной ориентации пиридин-пиримидиновой системы, ответственной за связывание иматиниба в адениновом кармане, были предложены различные модификации этого структурного фрагмента. Конечная библиотека соединений была создана комбинаторным методом и включает 5 вариантов структурных фрагментов для аденинового кармана, 5 вариантов линкера и 2 фрагмента для DFG-out кармана, аналогичных фрагментам известных ингибиторов нилотиниба и понатиниба (рис. 1). Для подтверждения адекватности предложенной процедуры докинга структуры известных ингибиторов BCR-ABL тирозинкиназы (иматиниба, нилотиниба и понатиниба) были также внесены в библиотеку соединений.

Трехмерные структуры соединений были получены при помощи онлайн сервиса Molview.org [2] и предварительно минимизированы с использованием силовых полей Merck Molecular Force Field (MMFF94s) и General Amber Force Field (GAFF) средствами программного пакета OpenBabel [3]. Таким образом, для каждой исследуемой двухмерной структуры было получено три трехмерные структуры (неминимизированная, MMFF94s и GAFF), каждая из которых анализировалась отдельно.

Трехмерные структуры белков были взяты из базы данных RSCB PDB [4]. Для проведения исследования использовались экспериментальные данные рентгеноструктурного анализа трех киназ: C-ABL в комплексе с иматинибом (PDB запись 1IEP), Human ABL в комплексе с нилотинибом (PDB запись 3CS9) и ABL-киназа с T315I мутацией в комплексе с AP24589 (PDB запись 3OY3) [5–7]. Молекулы воды были предварительно удалены из структуры комплексов.

Для проведения докинга использовалось программное обеспечение Autodock Vina [8]. При этом были модифицированы следующие параметры докинга: интенсивность поиска (exhaustiveness) увеличена с 8 до 24, для числа ориентаций лиганда установлено значение 5. Подготовка лигандов проводилась средствами пакета MGL Tools [9]. Подготовка рецепторов, определение размеров и положения активного центра фермента, анализ и визуализация результатов осуществлялись в программе Chimera 1.10.2 [10].

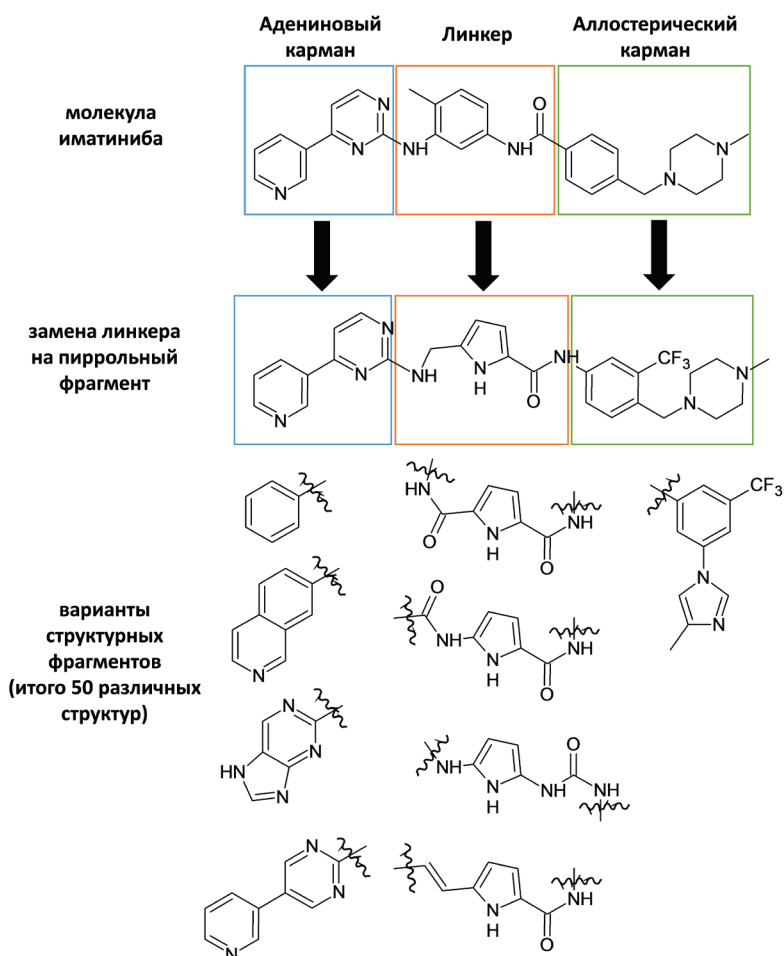


Рис. 1. Дизайн новых соединений для проведения виртуального скрининга  
 Fig. 1. Design of new structures for virtual screening

Полученные в результате проведения виртуального скрининга оценки эффективности связывания и варианты расположения лиганда в активном центре фермента использовались для валидации методики докинга, выявления и фильтрации потенциальных соединений-кандидатов.

**Результаты и их обсуждение.** После проведения скрининга для каждого соединения были получены по 5 вариантов связывания лиганда в активном центре и соответствующие им значения оценки эффективности связывания – «Autodock Vina Score».

В первую очередь, нами были проанализированы результаты докинга известных ингибиторов. При этом полученные с помощью Autodock Vina варианты расположения лигандов в активном центре, обладающие наилучшей оценкой, оказались идентичны опубликованным экспериментальным данным для соответствующих ферментов (рис. 2), что может служить косвенным подтверждением правильности выбранной методики докинга.

В случае немутированных тирозинкиназ (C-ABL и Human ABL) нилотиниб *in silico* оказался более активен, чем иматиниб, что согласуется с экспериментальными данными по ингибирующей активности данных соединений [11]. Понатиниб получил наименьшую оценку, хотя на практике более эффективно ингибирует BCR-ABL тирозинкиназы, по сравнению с нилотинибом. Это может быть связано с тем, что реальная пространственная структура белка в комплексе с понатинибом отличается от таковой в случае нилотиниба и иматиниба. Кроме того, комплекс понатиниба с белком может быть более устойчив вследствие более жесткой молекулярной структуры понатиниба.

Тем не менее, по отношению к T315I мутантной форме ABL тирозинкиназы понатиниб показал наиболее высокие результаты. При этом размещение иматиниба (для всех вариантов сило-

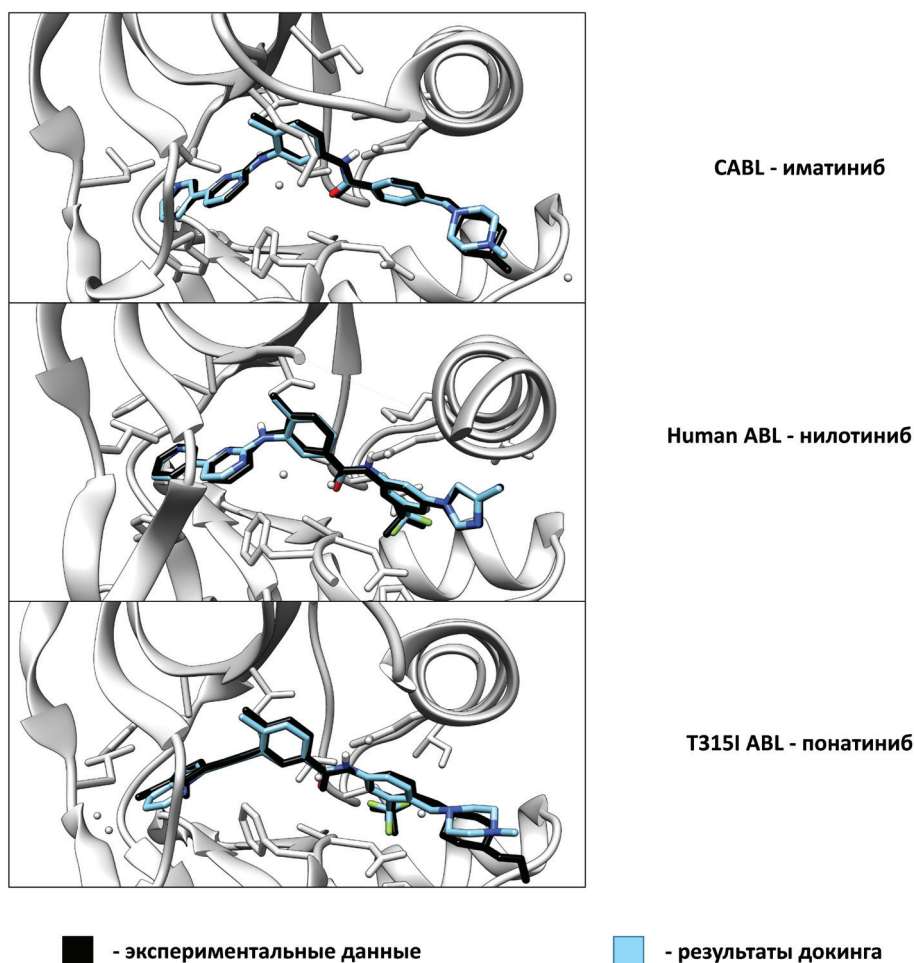


Рис. 2. Структура полученных докингом комплексов белок–лиганд для известных ингибиторов в сравнении с экспериментальными данными

Fig. 2. Structure of the protein–ligand complexes obtained by docking for the known inhibitors in comparison to the experimental data

вых полей) и нилотиниба (для MMFF94s минимизированной структуры) в активном центре мутантного белка оказалось невозможным. Эти данные соответствуют тому факту, что на сегодняшний день понатиниб является единственным зарегистрированным препаратом, активным в отношении T315I-мутации [12].

На основании анализа полученных результатов докинга известных ингибиторов нами были сформированы критерии для фильтрации соединений-кандидатов: для каждого соединения наличие хотя бы одной ориентации лиганда с оценкой лучше, чем  $-13$ , при этом значения по остальным вариантам структуры должны быть не хуже, чем  $-12,5$ .

Среди изученных лигандов структура А удовлетворяла выбранным критериям в отношении C-ABL и Human ABL; структура В – только в отношении C-ABL. В отношении мутантной T315I ABL-киназы таких соединений не оказалось. Оценки эффективности связывания выбранных структур и известных ингибиторов представлены в таблице.

Результаты докинга для выбранных структур А и В были визуализированы и проанализированы на предмет наличия водородных связей и конформационных ошибок рассчитанного расположения лиганда. Следует отметить, что в моделях комплексов с наиболее высокой оценкой для структур А и В положение линкера, а также аденинового и DFG-out карманов соответствовали изначальной логике дизайна этих структур. При этом существенных конформационных проблем для таких ориентаций выявить не удалось.

**Оценка эффективности связывания с тирозинкиназами известных ингибиторов и лучших исследуемых структур, полученных в результате докинга**  
**Estimation of the efficiency of binding with tyrosine kinases of the known inhibitors and the best tested structures obtained as a result of docking**

Соединение Compound	C-ABL			Human ABL			T315 ABL		
	н/м*	MMFF94s	GAFF	н/м	MMFF94s	GAFF	н/м	MMFF94s	GAFF
Иматиниб	-12,9**	-12,7	-13,2	-11,9	-11,9	-12,0	-9,4	-8,8	-9,9
Нилотиниб	-13,9	-13,8	-13,7	-14,0	-13,9	-14,0	-12,4	-9,9	-12,3
Понатиниб	-12,5	-12,8	-12,7	-11,3	-11,4	-11,4	-13,1	-13,7	-13,2
A	-13,6	-13,4	-13,6	-12,9	-13,1	-12,9	-12,2	-11,6	-12,0
B	-12,7	-13	-13,1	-12,5	-12,7	-12,7	-12,4	-12,2	-11,8

Примечания: \* – исходная неминимизированная структура, полученная при помощи сервиса Molview; \*\* – приведены значения для модели связывания с наиболее высокой оценкой. Оценка «Autodock Vina Score» является аппроксимацией энергии связывания (ккал/моль). Меньшее значение говорит о более высоком средстве лиганда к ферменту.

Notes: \* – initial deminimized structure obtained by Molview; \*\* – are given for poses with the best score. The “Autodock Vina Score” is the approximation of the binding energy (kcal/mole). The smaller value points to the higher, affinity.

Для комплексов А с белками C-ABL и Human ABL, а также В с C-ABL был произведен поиск водородных связей средствами программного обеспечения Chimera. Результаты поиска показали теоретическую возможность образования водородных связей с аминокислотными остатками Glu-286, Met-318, Asp-281. Визуализированные пространственные структуры комплексов с наиболее высокой оценкой Autodock Vina приведены на рис. 3. Особенно перспективным, на наш

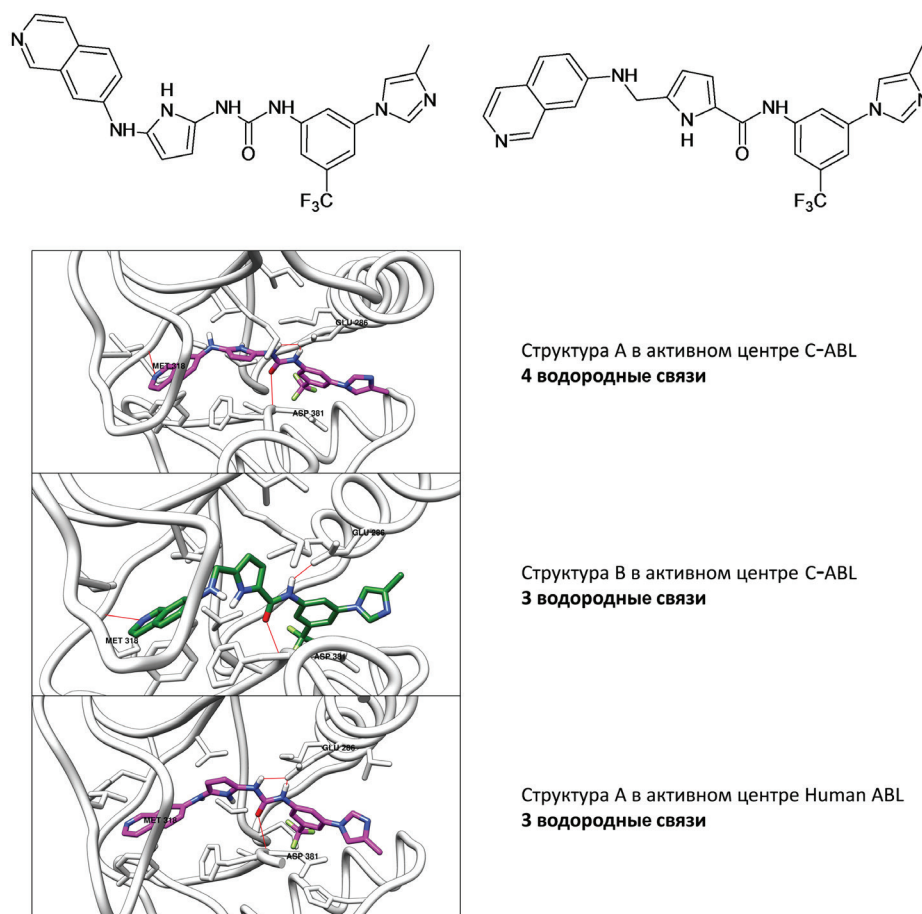


Рис. 3. Структуры А и В в комплексе с C-ABL и Human ABL. Водородные связи отмечены красной линией  
 Fig. 3. Structures A and B in the complex with C-ABL and Human ABL. The red line shows the hydrogen bonds

взгляд, выглядит взаимодействие мочевинового фрагмента в структуре А с активным центром фермента с образованием двух водородных связей с аминокислотным остатком Glu-286 и одной – с Asp-281.

**Заключение.** Выбранный подход к дизайну новых соединений заключался в замене бензольного линкера в структуре иматиниба на менее объемный пиррольный фрагмент при увеличении общей пространственной протяженности линкера в результате введения в пиррольное кольцо различных заместителей. Конечная библиотека соединений была создана комбинаторным методом и включала 5 вариантов структурных фрагментов для аденинового кармана, 5 вариантов линкера и 2 фрагмента для DFG-out кармана, аналогичных фрагментам известных ингибиторов нилотиниба и понатиниба. Молекулярный докинг с применением программного обеспечения Autodock Vina при модификации следующих параметров докинга: увеличения до 24 интенсивности поиска (exhaustiveness) и установления значения 5 для числа ориентаций лиганда, является удобным средством анализа комплексов белок–лиганд и поиска потенциальных ингибиторов тирозинкиназ. На основании проведенного нами скрининга были выбраны два перспективных соединения для последующих исследований методом молекулярной динамики и химического синтеза.

### Список использованных источников

1. Milojkovic, D. Mechanisms of Resistance to Imatinib and Second-Generation Tyrosine Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia / D. Milojkovic, J. Apperley // *Clinical Cancer Research*. – 2009. – Vol. 15, N 24. – P. 7519–7527. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-09-1068>
2. MolView [Electronic resource]. – Mode of access: <http://molview.org>. – Date of access: 25.10.2017.
3. Open Babel: An open chemical toolbox / N. M. O’Boyle [et al.] // *Journal of Cheminformatics*. – 2011. – Vol. 3, N 1. – P. 33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
4. The Protein Data Bank / H. M. Bergman [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2000. – Vol. 28, N 1. – P. 235–242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
5. Crystal structures of the kinase domain of c-Abl in complex with the small molecule inhibitors PD173955 and imatinib (STI-571) / B. Nagar [et al.] // *Cancer Research*. – 2002. – Vol. 62, N 15. – P. 4236–4243.
6. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl / E. Weisberg [et al.] // *Cancer Cell*. – 2005. – Vol. 7, N 2. – P. 129–141. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.01.007>
7. Structural Mechanism of the Pan-BCR-ABL Inhibitor Ponatinib (AP24534): Lessons for Overcoming Kinase Inhibitor Resistance / T. Zhou [et al.] // *Chemical Biology & Drug Design*. – 2011. – Vol. 77, N 1. – P. 1–11. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2010.01054.x>
8. Trott, O. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading / O. Trott, A. J. Olson // *J. Comput. Chem*. – 2010. – Vol. 31, N 2. – P. 455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
9. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility / G. Morris [et al.] // *J. Comput. Chem*. – 2009. – Vol. 30, N 16. – P. 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
10. UCSF Chimera. A visualization system for exploratory research and analysis / E. Pettersen [et al.] // *J. Comput. Chem*. – 2004. – Vol. 25, N 13. – P. 1605–1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
11. Comprehensive Analysis of the *in vitro* Potency of Ponatinib, and all other Approved BCR-ABL Tyrosine Kinase Inhibitors (TKIs), Against a Panel of Single and Compound BCR-ABL Mutants / J. M. Gozgit [et al.] // *Blood*. – 2013. – Vol. 122, N 21. – P. 3992.
12. FDA [Electronic resource]: FDA Drug Safety Communication: FDA requires multiple new safety measures for leukemia drug Iclusig; company expected to resume marketing. United States Food and Drug Administration. – Mode of access: <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm379554.htm>. – Date of access: 05.10.2017.

### References

1. Milojkovic D., Apperley J. Mechanisms of Resistance to Imatinib and Second-Generation Tyrosine Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia. *Clinical Cancer Research*, 2009, vol. 15, no. 24, pp. 7519–7527. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-09-1068>
2. MolView, 2017. Available at: <http://molview.org> (accessed 25 October 2017).
3. O’Boyle N. M., Banck M., James C. A., Morley C., Vandermeersch T., Hutchison G. R. Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 2011, vol. 3, no. 1, pp. 33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
4. Berman H. M., Westbrook J., Zukang F., Gilliland G., Bhat T. N., Weissig H., Shindyalov I. N., Bourne P. E. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 2000, vol. 28, no. 1, pp. 235–242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
5. Nagar B., Bornmann W. G., Pellicena P., Schindler T., Veach D. R., Miller W. T., Clarkson B., Kuriyan J. Crystal structures of the kinase domain of c-Abl in complex with the small molecule inhibitors PD173955 and imatinib (STI-571). *Cancer Research*, 2002, vol. 62, no. 15, pp. 4236–4243.

6. Weisberg E., Manley P. W., Breitenstein W., Brügger 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., Mohammed A., 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, vol. 7, no. 2, pp. 129–141. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.01.007>
7. Zhou T., Commodore L., Huang W.-S., Wang Y., Thomas M., Keats J., Xu Q., Rivera V. M., Shakespeare W. C., Clackson T., Dalgarno D. C., Zhu X. Structural Mechanism of the Pan-BCR-ABL Inhibitor Ponatinib (AP24534): Lessons for Overcoming Kinase Inhibitor Resistance. *Chemical Biology & Drug Design*, 2011, vol. 77, no. 1, pp. 1–11. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2010.01054.x>
8. Trott O., Olson A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 2010, vol. 31, no. 2, pp. 455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
9. Morris G., Huey R., Lindstrom W., Sanner M. F., Belew R. K., Goodsell D. S., Olson A. J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 2009, vol. 30, no. 16, pp. 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
10. Pettersen E., 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. *Journal of Computational Chemistry*, 2004, vol. 25, no. 13, pp. 1605–1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
11. Gozgit J. M., Schrock A., Chen T.-H., Clackson T., Rivera V. M. Comprehensive Analysis of the *in vitro* Potency of Ponatinib, and all other Approved BCR-ABL Tyrosine Kinase Inhibitors (TKIs), Against a Panel of Single and Compound BCR-ABL Mutants. *Blood*, 2013, vol. 122, no. 21, pp. 3992.
12. *FDA Drug Safety Communication: FDA requires multiple new safety measures for leukemia drug Iclusig; company expected to resume marketing.* United States Food and Drug Administration. Available at: <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm379554.htm> (accessed 5 October 2017).

### Информация об авторах

Фарина Александр Васильевич – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: farina@iboch.by.

Калиниченко Елена Николаевна – член-корреспондент, д-р хим. наук, профессор, заместитель директора. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kalinichenko@iboch.bas-net.by.

### Information about the authors

Farina Alexander Vasilievich – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: farina@iboch.by.

Kalinichenko Elena Nikolaevna – Corresponding Member, D. Sc. (Chemistry), Professor, Deputy Director. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kalinichenko@iboch.bas-net.by.