



UDK: 547.789;547.778;547.

Dilrabo BOBODO'STOVA,

Tayanch doktorant, O'zR FA akademik S.Yunusov nomidagi o'simlik moddalari kimyosi instituti, Toshkent, O'zbekiston

E-mail: dilrabo.bobodustova97@gmail.com

Asqar ABDURAZAKOV,

T.f.d., yetak.i.x., O'zR FA akademik S.Yunusov nomidagi o'simlik moddalari kimyosi instituti, Toshkent, O'zbekiston

E-mail: asqar2606@mail.ru

Dilnoza ISMAILOVA,

PhD, katta ilmiy xodim, O'zR FA akademik S.Yunusov nomidagi o'simlik moddalari kimyosi instituti, Toshkent, O'zbekiston

E-mail: d.jalilova@mail.ru

PhD S.H. Bobonazorova taqrizi asosida

ACYL DERIVATIVES OF 4-(6-PHENYL-7H-[1,2,4]TRIAZOLO[3,4-B][1,3,4]THIADIAZIN-3-YL)ANILINE AS POTENTIAL INHIBITORS OF 5BK8 AND 9EHA PROTEINS

Annotation

This study investigated the binding properties of newly synthesized biologically active compounds toward the SHP2 protein tyrosine phosphatase using a molecular docking approach. The crystal structure of SHP2 (PDB ID: 5BK8) was obtained from the Protein Data Bank and prepared for docking calculations using BIOVIA Discovery Studio. Three-dimensional structures of the ligands were generated and geometrically optimized with Avogadro software. Molecular docking simulations were carried out using AutoDock Vina to evaluate binding affinity, ligand orientation, and interactions with amino acid residues located in the active site of the protein. The obtained results demonstrated favorable binding characteristics of the investigated compounds and suggested their potential as promising SHP2 inhibitors. These findings provide a theoretical basis for further experimental validation and the development of novel targeted therapeutic agents.

Keywords: SHP2, molecular docking, AutoDock Vina, 5BK8, inhibitor, protein–ligand interaction, virtual screening.

АЦИЛЬНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 4-(6-ФЕНИЛ-7Н-[1,2,4]ТРИАЗОЛО[3,4-В][1,3,4]ТИАДИАЗИН-3-ИЛ)АНИЛИНА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИНГИБИТОРЫ БЕЛКОВ 5BK8 И 9ЕНА

Аннотация

В данной работе методом молекулярного докинга исследованы особенности связывания новых биологически активных соединений с белковой тирозинфосфатазой SHP2. В качестве объекта исследования использована кристаллическая структура белка 5BK8, полученная из базы данных Protein Data Bank и подготовленная в программе BIOVIA Discovery Studio. Трёхмерные структуры лигандов были построены и оптимизированы с использованием программы Avogadro. Расчёты молекулярного докинга выполнены в программном комплексе AutoDock Vina. Оценены энергия связывания, пространственное расположение лигандов и их взаимодействие с аминокислотными остатками активного центра белка. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности исследуемых соединений в качестве потенциальных ингибиторов SHP2 и могут служить основой для дальнейших экспериментальных исследований.

Ключевые слова: SHP2, молекулярный докинг, AutoDock Vina, 5BK8, ингибитор, взаимодействие белок-лиганд, виртуальный скрининг.

4-(6-FENIL-7H-[1,2,4]TRIAZOLO[3,4-B][1,3,4]TIADIAZIN-3-IL)ANILIN ATsil HOSILALARI 5BK8 VA 9EHA OQSILLARINING TAHMINIY INGIBITORI

Annotatsiya

Ushbu tadqiqotda SHP2 oqsil-tirozin fosfatazaga nisbatan yangi biologik faol birikmalarning bog'lanish xususiyatlari molekulyar docking usuli yordamida o'rganildi. Tadqiqot uchun Protein Data Bank bazasidan olingan 5BK8 kristall strukturasi tanlandi va BIOVIA Discovery Studio dasturida docking hisob-kitoblariga tayyorlandi. Ligandlarning uch o'lchovli tuzilmalari Avogadro dasturida yaratilib, geometrik optimallashtirish amalga oshirildi. Molekulyar docking hisob-kitoblari AutoDock Vina dasturida bajarildi va ligandlarning bog'lanish energiyasi hamda oqsilning faol markazidagi aminokislotalar bilan o'zaro ta'siri baholandi. Olingan natijalar tadqiq qilingan birikmalarning SHP2 oqsiliga nisbatan istiqbolli inhibitor bo'lish imkoniyatini ko'rsatdi hamda kelgusida eksperimental tadqiqotlar o'tkazish uchun ilmiy asos yaratdi.

Kalit so'zlar: SHP2, molekulyar docking, AutoDock Vina, 5BK8, ingibitor, oqsil-ligand o'zaro ta'siri, virtual skrinig.

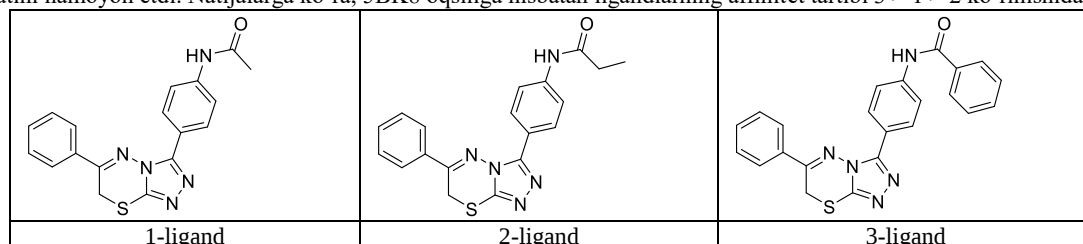
Kirish. Bugungi kunda saraton kasalliklari dunyo miqyosida inson salomatligi uchun eng dolzarb muammolardan biri bo'lib qolmoqda. Jahon sog'liqni saqlash tashkiloti ma'lumotlariga ko'ra, onkologik kasalliklar tufayli yuz berayotgan o'lim holatlari yildan-yilga ortib bormoqda. Mavjud dori vositalarining ayrimlari yuqori samaradorlikka ega bo'lsada, ularning nojo'ya ta'sirlari, selektivligining pastligi hamda dori vositalariga chidamlilikning rivojlanishi yangi terapevtik birikmalarni izlashni taqozo etmoqda. Shu sababli zamonaviy farmatsevtika va medicinal kimyo sohasida ma'lum molekulyar nishonlarga yo'naltirilgan dori vositalarini yaratish ustuvor ilmiy yo'nalishlardan biriga aylangan. So'nggi yillarda oqsil-tirozin fosfatazalar hujayra ichidagi signal uzatish jarayonlarini boshqaruvchi muhim fermentlar sifatida keng o'rganilmoqda. Mazkur fermentlar hujayralarning o'sishi, bo'linishi, differensiyalanishi, migratsiyasi va apoptozi kabi biologik jarayonlarni nazorat qiladi. Ushbu oilaga mansub

SHP2 oqsili esa hujayra signalizatsiyasida markaziy o'rin egallaydi. SHP2 MAPK/ERK, PI3K/AKT hamda JAK/STAT signal yo'llarining faollashuvida ishtirok etib, ko'plab fiziologik jarayonlarni boshqaradi. Ilmiy tadqiqotlar SHP2 oqsilining me'yordan ortiq faollashuvi turli xil xavfli o'smalar, jumladan o'pka, ko'krak bezi, yo'g'on ichak, oshqozon saratoni hamda ayrim gematologik kasalliklarning rivojlanishiga sabab bo'lishi mumkinligini ko'rsatmoqda. Shu bois SHP2 oqsili zamonaviy onkologiyada istiqbolli molekulyar nishon sifatida qaralmoqda. Ushbu oqsilga selektiv ta'sir ko'rsatuvchi inhibitorlarni yaratish saraton kasalliklarini davolash samaradorligini oshirish bilan birga, sog'lom hujayralarga salbiy ta'sirni kamaytirishga ham xizmat qiladi.

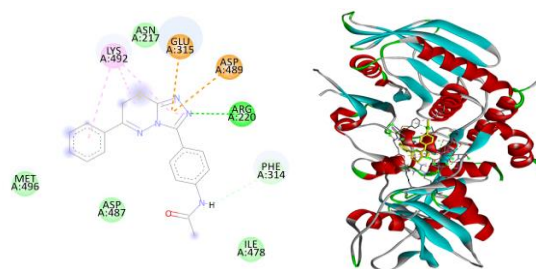
Mavzuga oid adabiyotlar tahlili. So'nggi yillarda oqsil-tirozin fosfatazalari hujayra ichidagi signal uzatish mexanizmlarini boshqaruvchi muhim fermentlar qatoriga kiradi. Ushbu fermentlar hujayra proliferatsiyasi, differentsiatsiyasi, migratsiyasi va apoptoz jarayonlarini nazorat qiladi. PTP oilasiga mansub SHP2 oqsili esa MAPK/ERK, PI3K/AKT va JAK/STAT signal yo'llarining faollashuvida muhim rol o'ynaydi. Tadqiqotlar SHP2 faolligining ortishi ko'plab saraton kasalliklari rivojlanishida muhim ahamiyat kasb etishini ko'rsatgan [1–3]. SHP2 oqsilining kristall tuzilishi va uning autoingibitsiya mexanizmi bir qator strukturaviy tadqiqotlarda batafsil o'rganilgan. Xususan, 5BK8 kristall strukturasi asosida o'tkazilgan tadqiqotlarda N-SH2 va PTP domenlari o'rtasidagi o'zaro ta'sir ferment faolligini boshqarishi aniqlangan. Ushbu ma'lumotlar yangi ingibitorlarni loyihalashda muhim nazariy asos bo'lib xizmat qilmoqda [2,4]. So'nggi yillarda SHP2 ga qarshi allosterik ingibitorlarni yaratish bo'yicha ko'plab ilmiy ishlar olib borildi. Tadqiqotchilar SHP099 kabi birikmalar fermentning autoingibitsiya holatini barqarorlashtirib, RAS/MAPK signal yo'lini samarali bloklashini aniqladilar. Bu esa SHP2 ni zamonaviy nishonli terapiyaning istiqbolli obyekti sifatida baholash imkonini berdi [3,5,6]. Molekulyar docking usullari yangi biologik faol moddalarni izlashda eng ko'p qo'llaniladigan hisoblash metodlaridan biri hisoblanadi. AutoDock Vina dasturi yuqori tezlik va nisbatan aniq bog'lanish energiyasini hisoblash imkoniyati tufayli ko'plab tadqiqotlarda qo'llaniladi. Mazkur dastur ligandning oqsil faol markazidagi eng qulay konformatsiyasini aniqlash imkonini beradi [7,8]. Pagadala va hamkorlari docking natijalarining ishonchligini oshirish uchun oqsil va ligandlarni oldindan to'g'ri tayyorlash zarurligini ta'kidlaganlar. Xususan, suv molekularini olib tashlash, vodorod atomlarini qo'shish, protonlanish holatini aniqlash va geometriyani optimallashtirish yakuniy natijalarga sezilarli ta'sir ko'rsatishi qayd etilgan [9]. Ligandlarning uch o'lchovli tuzilishini yaratish va geometriyasini optimallashtirishda Avogadro dasturi keng qo'llaniladi. Ushbu dastur MMFF94 va UFF kuch maydonlari yordamida molekulaning energiyasini minimallashtirish imkonini beradi. Natijada termodinamik jihatdan eng barqaror konformatsiya hosil qilinadi va docking hisoblashlarining aniqligi oshadi [10]. Docking hisoblashlari uchun oqsilni tayyorlashda BIOVIA Discovery Studio dasturi keng qo'llanilib, oqsil tarkibidagi suv molekulari, kristallanish ligandlari hamda boshqa geteroatomlarni olib tashlash, vodorod atomlarini qo'shish va oqsilni docking uchun mos holatga keltirish imkonini beradi. Mazkur dastur bugungi kunda strukturaviy bioinformatika sohasidagi asosiy platformalardan biri hisoblanadi [11]. Virtual skrining va molekulyar docking usullaridan foydalanish laboratoriya tajribalarini sezilarli darajada qisqartiradi hamda istiqbolli ingibitorlarni dastlabki bosqichda saralash imkonini beradi. Shu sababli zamonaviy dori dizayni tadqiqotlarida ushbu usullar eksperimental metodlar bilan birgalikda qo'llanilmoqda [6,9,12].

Tadqiqot metodologiyasi. Tadqiqot davomida molekulyar docking hisob-kitoblarini amalga oshirish uchun Protein Data Bank ma'lumotlar bazasidan SHP2 oqsil-tirozin fosfatazaning 5BK8 identifikatsion kodiga ega kristall tuzilmasi tanlab olindi. Docking tahlillarining ishonchligini ta'minlash maqsadida oqsil strukturasi dastlab BIOVIA Discovery Studio 2021 dasturida tayyorlandi. Bunda kristall panjarasida mavjud bo'lgan suv molekulari, kristallanish jarayonida ishtirok etgan ligandlar hamda hisoblash natijalariga salbiy ta'sir ko'rsatishi mumkin bo'lgan boshqa geteroatomlar strukturadan chiqarib tashlandi. Keyingi bosqichda oqsilga yetishmayotgan vodorod atomlari qo'shilib, docking dasturi uchun zarur bo'lgan formatga o'tkazildi. Tadqiqotda foydalanilgan ligandlarning uch o'lchovli modellari Avogadro dasturida hosil qilindi. So'ngra ularning geometrik tuzilmalari energiyani minimallashtirish usuli yordamida optimallashtirildi. Ushbu jarayon natijasida molekularlarning energetik jihatdan eng barqaror konformatsiyalari tanlab olinib, oqsil–ligand o'zaro ta'sirlarini yanada aniqroq modellashirish uchun tayyorlandi. Molekulyar docking hisob-kitoblari AutoDock Vina dasturiy paketi yordamida bajarildi. Ligandlarning bog'lanish ehtimolini baholash uchun oqsilning faol markazini to'liq qamrab oluvchi qidiruv maydoni belgilandi. Grid markazining koordinatalari mos ravishda $X = 26.391$, $Y = 27.712$ va $Z = -0.415$ qiymatlariga o'rnatildi. Qidiruv maydonining o'lchamlari esa barcha yo'nalishlarda $40 \text{ \AA} \times 40 \text{ \AA} \times 40 \text{ \AA}$ etib tanlandi. Mazkur parametrlar ligandlarning faol markaz hududida turli fazoviy joylashish variantlarini baholash hamda eng qulay bog'lanish konformatsiyalarini aniqlash imkonini berdi.

Tahlil va natijalar. Tadqiqot davomida birikmalarining biologik faolligini baholash maqsadida ular 5BK8 oqsiliga nisbatan molekulyar docking usuli yordamida o'rganildi. Docking natijalari ligandlarning oqsil faol markaziga bog'lanish energiyalari asosida tahlil qilindi. 5BK8 oqsili bilan olib borilgan docking tadqiqotlari natijasida 1-, 2- va 3-birikmalar uchun mos ravishda -8.7 , -8.4 va -10.4 kcal/mol bog'lanish energiyalari qayd etildi. Olingan natijalar ichida 3-birikma eng yuqori affinitetni namoyon qilib, -10.4 kcal/mol qiymat bilan boshqa birikmalardan sezilarli darajada ustun ekanligi aniqlandi. Bu mazkur ligandning oqsil faol markazidagi aminokislota qoldiqlari bilan samarali vodorod bog'lari, elektrostatik hamda gidrofob o'zaro ta'sirlar hosil qilishi mumkinligini ko'rsatadi. 1-birikma -8.7 kcal/mol , 2-birikma esa -8.4 kcal/mol energiya bilan nisbatan yaxshi bog'lanish qobiliyatini namoyon etdi. Natijalarga ko'ra, 5BK8 oqsiliga nisbatan ligandlarning affinitet tartibi $3 > 1 > 2$ ko'rinishida bo'ldi.

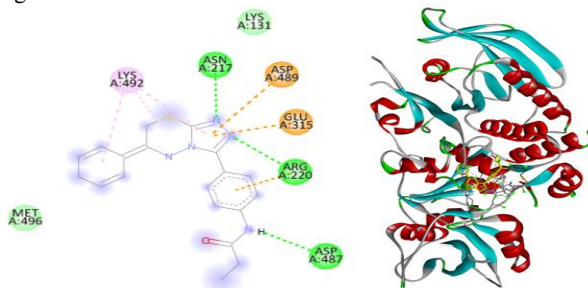


1-rasm. Ligandlarning 2D ko'rinishi



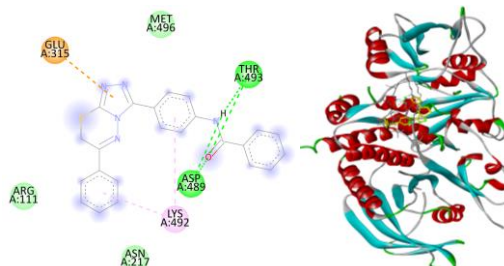
Rasm 1. Ligand va oqsil o'rtasidagi o'zaro ta'sirlarning 2D va 3D vizualizatsiyasi

1-ligandning 5BK8 oqsilining aktiv markazida yuqori barqarorlik bilan joylashganini ko'rsatdi. Docking tahliliga ko'ra, ligand ARG A:220 aminokislota qoldig'i bilan konvensional vodorod bog'i hosil qilgan. Ushbu o'zaro ta'sir ligandning oqsil faol markazida selektiv va mustahkam ushlanishini ta'minlaydi. Shuningdek, GLU A:315 va ASP A:489 qoldiqlari bilan π -anion o'zaro ta'sirlari aniqlangan bo'lib, bu elektrostatik interaksiyalar ligandning aromatik imidazo-pirimidin halqasi ustidagi π -elektron buluti bilan manfiy zaryadlangan karboksilat guruhlarida tortishish kuchini ifodalaydi. LYS A:492 va ASN A:217 aminokislotalari bilan π -alkil ta'sirlari ham kuzatilgan bo'lib, bu gidrofob interaksiyalar ligandning aromatik halqalari va oqsilning gidrofob hududlari orasidagi moslashuvni kuchaytiradi. MET A:496, ASP A:487 va ILE A:478 aminokislota qoldiqlari esa van-der-Vaals kuchlari orqali ligand bilan bog'langan.



Rasm 2. Ligand va oqsil o'rtasidagi o'zaro ta'sirlarning 2D va 3D vizualizatsiyasi

2-ligandning 5BK8 oqsil faol markazida yuqori barqarorlik bilan joylashganini ko'rsatdi. Docking tahliliga ko'ra, ligand ASN A:217 va ARG A:220 aminokislota qoldiqlari bilan konvensional vodorod bog'lari hosil qilgan, shuningdek ASP A:487 qoldig'i bilan ham vodorod bog'i aniqlangan. Ushbu o'zaro ta'sirlar ligandning oqsil faol markazida selektiv va mustahkam ushlanishini ta'minlaydi. Bundan tashqari, ASP A:489 va GLU A:315 qoldiqlari bilan π -anion, ARG A:220 qoldig'i bilan esa π -kation o'zaro ta'sirlari aniqlangan bo'lib, bu elektrostatik interaksiyalar ligandning aromatik halqalari ustidagi π -elektron buluti bilan zaryadlangan aminokislota yon zanjirlari orasidagi kuchli tortishishni ifodalaydi. LYS A:492 aminokislota bilan alkil va π -alkil ta'sirlari kuzatilgan bo'lib, bu gidrofob interaksiyalar ligandning aromatik tizimi va oqsilning gidrofob hududlari orasidagi moslashuvni kuchaytiradi. MET A:496 va LYS A:131 aminokislota qoldiqlari esa van-der-Vaals kuchlari orqali ligand bilan bog'langan.



Rasm 3. Ligand va oqsil o'rtasidagi o'zaro ta'sirlarning 2D va 3D vizualizatsiyasi

3-ligandning 5BK8 oqsil faol markazida yuqori barqarorlik bilan joylashganini ko'rsatdi. Docking tahliliga ko'ra, ligand THR A:493 aminokislota qoldig'i bilan konvensional vodorod bog'i hosil qilgan, shuningdek amid guruhi (-NH-) orqali ASP A:489 qoldig'i bilan ham vodorod bog'i aniqlangan. Ushbu o'zaro ta'sirlar ligandning faol markazda aniq yo'nalishda va mustahkam holatda ushlanishini ta'minlaydi. Bundan tashqari, GLU A:315 qoldig'i bilan π -anion o'zaro ta'siri aniqlangan bo'lib, bu elektrostatik interaksiya ligandning imidazol halqasi ustidagi π -elektron buluti bilan glutamat qoldig'ining manfiy zaryadlangan karboksilat guruhi orasidagi tortishishni ifodalaydi. LYS A:492 aminokislota bilan π -alkil ta'siri kuzatilgan bo'lib, bu gidrofob interaksiya ligandning aromatik halqalari va oqsilning gidrofob hududlari orasidagi moslashuvni kuchaytiradi. MET A:496, ARG A:111 va ASN A:217 aminokislota qoldiqlari esa van-der-Vaals kuchlari orqali ligand bilan bog'langan.

Xulosa va takliflar. Mazkur tadqiqotda SHP2 oqsil-tirozin fosfatazaning (PDB ID: 5BK8) kristall strukturasi asosida yangi biologik faol birikmalarning molekulyar docking tahlili AutoDock Vina dasturi yordamida amalga oshirildi. Oqsil BIOVIA Discovery Studio dasturida, ligandlar esa Avogadro dasturida tayyorlanib, geometrik optimallashtirildi. Docking natijalari ligandlarning SHP2 oqsilining faol markazi bilan o'zaro ta'siri va bog'lanish energiyasini baholash imkonini berdi. Tadqiqot natijasida ayrim birikmalar yuqori affinitet va qulay bog'lanish konformatsiyasini namoyon etib, SHP2 ning potentsial inhibitorlari sifatida istiqbolli ekanligi aniqlandi. Olingan natijalar yangi antitumor preparatlarni yaratishda molekulyar docking usulining samaradorligini tasdiqlaydi hamda keyingi eksperimental tadqiqotlar uchun nazariy asos bo'lib xizmat qiladi. Kelgusida eng istiqbolli birikmalar uchun molekulyar dinamika simulyatsiyalari, MM-PBSA hisoblashlari, ADMET tahlillari hamda in vitro va in vivo biologik sinovlarni o'tkazish tavsiya etiladi.

ADABIYOTLAR

1. Grossmann K.S., Rosário M., Birchmeier C., Birchmeier W. The tyrosine phosphatase Shp2 in development and cancer // *Advances in Cancer Research*. – 2010. – Vol. 106. – P. 53–89. – DOI: 10.1016/S0065-230X(10)06002-1.
2. Chen Y.N.P., LaMarche M.J., Chan H.M. et al. Allosteric inhibition of SHP2 phosphatase inhibits cancers driven by receptor tyrosine kinases // *Nature*. – 2016. – Vol. 535, No. 7610. – P. 148–152. – DOI: 10.1038/nature18621.
3. Nichols R.J., Haderk F., Stahlhut C. et al. RMC-4550, a selective SHP2 inhibitor, suppresses RAS signaling // *Cancer Research*. – 2018. – Vol. 78. – P. 3381–3393.
4. Hof P., Pluskey S., Dhe-Paganon S., Eck M.J., Shoelson S.E. Crystal structure of the tyrosine phosphatase SHP-2 // *Cell*. – 1998. – Vol. 92, No. 4. – P. 441–450. – DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80938-1.
5. Fodor M., Price E., Wang P. et al. Dual allosteric inhibition of SHP2 phosphatase // *ACS Chemical Biology*. – 2018. – Vol. 13, No. 3. – P. 647–656. – DOI: 10.1021/acscchembio.7b00980.
6. Xie J., Si X., Gu S. et al. Discovery of novel SHP2 inhibitors by virtual screening // *Bioorganic Chemistry*. – 2021. – Vol. 110. – Art. 104777. – DOI: 10.1016/j.bioorg.2021.104777.
7. 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. – P. 455–461. – DOI: 10.1002/jcc.21334.
8. Forli S., Huey R., Pique M.E., Sanner M.F., Goodsell D.S., Olson A.J. Computational protein–ligand docking and virtual drug screening with AutoDock // *Nature Protocols*. – 2016. – Vol. 11, No. 5. – P. 905–919. – DOI: 10.1038/nprot.2016.051.
9. Pagadala N.S., Syed K., Tuszynski J. Software for molecular docking: A review // *Biophysical Reviews*. – 2017. – Vol. 9, No. 2. – P. 91–102. – DOI: 10.1007/s12551-016-0247-1.
10. Hanwell M.D., Curtis D.E., Lonie D.C., Vandermeersch T., Zurek E., Hutchison G.R. Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform // *Journal of Cheminformatics*. – 2012. – Vol. 4. – Art. 17. – DOI: 10.1186/1758-2946-4-17.
11. BIOVIA. Discovery Studio Visualizer User Guide. – San Diego: Dassault Systèmes BIOVIA, 2021.
12. Lionta E., Spyrou G., Vassilatis D.K., Cournia Z. Structure-based virtual screening for drug discovery: Principles, applications and recent advances // *Current Topics in Medicinal Chemistry*. – 2014. – Vol. 14, No. 16. – P. 1923–1938. – DOI: 10.2174/1568026614666140929124445.