

РАЗРАБОТКА ИНГИБИТОРОВ КАРБАПЕНЕМАЗЫ ОХА-23

Мацко М.И., Байроченко Д.С., Ринейская О.Н.

*Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь*

Актуальность. В настоящее время антибиотикорезистентность становится значимой проблемой современной медицины, существенно усложняя процесс подбора антибактериальной терапии. Наиболее патогенные микроорганизмы приобретают устойчивость в том числе и к антибиотикам резервного ряда, что существенно сужает диапазон лекарственных средств, эффективных в борьбе с инфекционными заболеваниями. Таким образом, поиск новых антибактериальных средств представляет актуальную проблему.

Преодоление антибиотикорезистентности грамотрицательных микроорганизмов является одним из приоритетных направлений в разработке противомикробных средств в связи с выработкой сложных механизмов резистентности, включающих синтез ферментов, расщепляющих β -лактамы фрагменты антибиотиков [3]. В 2024 году Всемирной организацией здравоохранения был обновлён список лекарственно-устойчивых бактерий, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека, согласно которому критически важной является разработка средств для борьбы с *Acinetobacter baumannii* [5]. Основной причиной тому является способность данного микроорганизма вызывать тяжелые нозокомиальные инфекции, сочетающаяся с наличием высокой устойчивости к карбапенемам (β -лактамам резервного ряда).

Высокий уровень устойчивости *A. baumannii* к антибиотикам объясняется наличием у данной бактерии оксациллиназ (ОХА-ферментов), относящихся к β -лактамазам класса D, способных гидролизовать карбапенемы. Они, как правило, нечувствительны к ингибиторам первого поколения, таким как клавулановая кислота [4]. Основными представителями β -лактамаз класса D у *A. baumannii* являются ОХА-23, ОХА-24/40, ОХА-58 [1].

В данной работе был предложен дизайн ингибиторов карбапенемазы ОХА-23 на основе уже существующего лиганда NA-1-157 [2].

Цель. Разработка лигандов, способных эффективно связываться с активным центром карбапенемазы ОХА-23, приводя к уменьшению её активности путём конкурентного ингибирования.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено с помощью *in silico* методов. Третичная структура карбапенемазы ОХА-23 была взята из свободной базы данных Protein Data Bank – PDB ID 9NSZ.

Для визуализации и изучения аминокислотного окружения активного центра молекулы ОХА-23, а также последующей разработки лигандов на основании полученных данных, была использована программа PyMOL 3.1.6.1. Дизайн лигандов в двумерном и трёхмерном форматах проводился с помощью программы Marvin. С целью проведения молекулярного докинга и отбора наиболее высокоаффинных лигандов была использована программа

SwissDock (Socking with attracting cavities). Для анализа взаимодействий в белок-лигандных комплексах с наилучшими значениями энергии связывания использовался веб-сервис PLIP.

Рассмотрим более подробно ключевые этапы проведенной работы. На основании данных об актуальности и распространенности среди популяции *A. baumannii* было выбрано подсемейство ферментов OXA-23. В качестве референсной модели для проведения данного исследования был выбран белок-лигандный комплекс из базы данных PDB – 9NSZ – выбор был обусловлен качеством представленной модели. В этом комплексе в активном центре OXA-23 находится лиганд NA-1-157 ((5R)-3-[(3S,5S)-5-(диметилкарбамоил)пирролидин-3-ил]сульфанил}-5-[(2S,3R)-3-гидрокси-1-оксобутан-2-ил]-5-метил-4,5-дигидро-1H-пиррол-2-карбоновая кислота), который обладает более высокой аффинностью к таргетному белку, чем его ближайший структурный аналог – меропенем.

Далее осуществлялась модификация NA-1-157 путём добавления различных функциональных групп (метильных, карбоксильных, тиольных, аминных, гидроксильных и кетогрупп), замены отдельных атомов, а также изменения кратности связей в молекуле. С разработанными лигандами был проведён глобальный докинг. В дальнейшем на основе полученных значений энергий связывания были отобраны молекулы с наиболее высокой аффинностью, и с ними проводился локальный докинг с целью уточнения белок-лигандных взаимодействий, а также последующей их визуализации.

Результаты и их обсуждение. На основании полученных данных о механизмах гидролитической активности OXA-23 в отношении меропенема, а также структуре активного центра и его окружения, были созданы 30 лигандов.

Для каждого лиганда был проведён слепой докинг (зона поиска: размером 60*53*75 с центром в координатах -2; -26; -7) с целью уточнения возможности связывания молекул вне активного центра фермента. Из них 12 молекул имели значение энергии связывания лучше (от -7,69 до -8,17 ккал/моль), чем у референсного соединения NA-1-157 (-7,685 ккал/моль). При этом у меропенема значение составило -7,42 ккал/моль. В ходе визуализации результатов докинга было выявлено, что все 12 лигандов связываются с белком-мишенью в области его активного центра, что говорит о возможности использования их в качестве конкурентного ингибитора карбапенемазы и позволяет отобрать их для дальнейшего проведения локального докинга.

Для лигандов с лучшими значениями с целью проведения локального докинга была уменьшена область интереса до размеров активного центра – 30*25*30 с центром в положении 5; -23; -15. Данный шаг был предпринят для уточнения значений энергии связывания и возникающих межмолекулярных взаимодействий. Полученные результаты показали изменение энергии связывания как в лучшую, так и в худшую сторону для различных лигандов и составили -7,69; -7,72; -7,79; -7,85; -7,86; -7,87; -7,88; -7,91; -7,93; -8,15 (для двух лигандов) и -8,49.

Для более корректного сравнения значений аффинности было принято решение провести локальный докинг таргетного белка с NA-1-157. В результате для него получено значение -7,75, что отсекает необходимость дальнейшего рассмотрения лигандов со значениями энергии связывания -7,69 и -7,72. Ниже представлены названия по ИЮПАК 5-ти лучших лигандов:

1. (R)-5-((2S,3R)-3-гидрокси-1-оксобутан-2-ил)-5-метил-3-(((3S,5S)-5-(1-метилгидразин-1-карбонил)пирролидин-3-ил)тио)-4,5-дигидро-1H-пиррол-2-карбоновая кислота: -7,91;
2. (R)-3-(((3S,5S)-5-(диметилкарбамоил)-1-метилпирролидин-3-ил)тио)-5-((2S,3R)-3-гидрокси-1-оксобутан-2-ил)-5-метил-4,5-дигидро-1H-пиррол-2-карбоновая кислота: -7,93;
3. (R)-5-((2R,3R)-1-(формилокси)-3-гидроксибутан-2-ил)-5-метил-3-(((3S,5S)-1-метил-5-(1-метилгидразин-1-карбонил)пирролидин-3-ил)тио)-4,5-дигидро-1H-пиррол-2-карбоновая кислота: -8,15;
4. (R)-3-(((3S,5S)-5-(диметилкарбамоил)-1-метилпирролидин-3-ил)тио)-5-((2S,3R)-3-гидрокси-1-тиоксобутан-2-ил)-5-метил-4,5-дигидро-1H-пиррол-2-карбоновая кислота: -8,15;
5. (R)-5-((2R,3R)-1-этокси-3-гидроксибутан-2-ил)-5-метил-3-(((3S,5S)-1-метил-5-(1-метилгидразин-1-карбонил)пирролидин-3-ил)тио)-4,5-дигидро-1H-пиррол-2-карбоновая кислота: -8,49.

Выводы. Были разработаны 10 потенциальных ингибиторов фермента OXA-23 *A. baumannii* с более низкими значениями энергии связывания с β -лакта-мазой класса D (9NSZ), чем у референсной молекулой NA-1-157. Полученные результаты позволяют рекомендовать 10 лучших лигандов для дальнейшего детального изучения возникающих белок-лигандных, взаимо-действий с целью уточнения ингибирующей активности в отношении таргетного белка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Approaches for the discovery of metallo- β -lactamase inhibitors: A review / C. Shi, J. Chen, X. Kang [et al.] // Chemical Biology and Drug Design. – 2019. – Vol. 94, № 2. – P. 1427-1440.
2. Dual mechanism of the OXA-23 carbapenemase inhibition by the carbapenem NA-1-157 / M. Toth, N. K. Stewart, P. Quan [et al.] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2025. – Vol. 69, № 10. – P. e00918-25.
3. Gauba, A. Evaluation of Antibiotic Resistance Mechanisms in Gram-Negative Bacteria / A. Gauba, Kh. M. Rahman // Antibiotics. – 2023. – Vol. 12, № 11. – P. 1590.
4. Metallo- β -lactamases: Structure, function, epidemiology, treatment options, and the development pipeline / S. E. Boyd, W. W. Hope, D. M. Livermore, D. C. Hooper // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2020. – Vol. 64, № 10. – P. e00397-20.
5. WHO updates list of drug-resistant bacteria most threatening to human health / World Health Organization. – URL: www.who.int/news/item/17-05-2024-who-updates-list-of-drug-resistant-bacteria-most-threatening-to-human-health (date of access: 15.02.2026).