

УДК 547.732 + 547.856.1 + 579.61

Кут М.М., к.х.н., доц., Король Н.І., к.х.н., доц., Онисько М.Ю., д.х.н., доц.,
Лендел В.Г., д.х.н., проф.

IN SILICO ДОСЛІДЖЕННЯ ПРИМІДИНАРИЛТЕЛУРИДІВ, ЯК ПОТЕНЦІЙНИХ ІНГІБІТОРІВ *PLASMODIUM FALCIPARUM*

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», 88000, м.Ужгород, вул.Підгірна, 46;
e-mail: diana.kut@uzhnu.edu.ua

Малярійні плазмодії стають все більш стійкими до наявних протималярійних препаратів, що становить серйозну загрозу для успішного її лікування. Раніше було показано, що сполуки з екзоциклічним арилтелуровим фрагментом проявляють інгібуючу здатність до *Plasmodium falciparum*. В даному дослідженні проведено оцінку інгібуння конденсованих піримідинарилтелуридів щодо фальципаїну-2 (FP-2), як однієї з найбільш важливих малярійних терапевтичних мішеней в боротьбі з малярією. Серед досліджуваних телуридів виявлено, що 2-(((4-метоксифеніл)теланіл)метил)-2,3-дигідро-5Н-тіазоло[2,3-*b*]хіназолін-5-он утворює найбільш стабільний білково-лігандний комплекс із рецептором 2GHU. Енергія зв'язування ліганду з рецептором та концентрація інгібуння становлять -6.18 ккал/моль та 29.74 μ M відповідно. Амінокислоти рецептора з якими зв'язується ліганд: HIS27, ASP23, TYR199, LYS184, ALA21. Для комплексу фальципаїну-2 з даним тіазолохіназолінарилтелуртрихлоридом проведено також дослідження молекулярної динаміки протягом 100 нс, яке показало, що комплекс є стабільним і слугувало додатковим підтвердженням цінності та перспективності сполуки **1**. Слід зазначити, що тестована речовина проявляє більшу інгібуючу здатність до *Plasmodium falciparum* на відміну від таких протималярійних препаратів, як мефлохін, примаквін та хлорохін і може бути оцінений *in vitro* на протималярійну активність.

Ключові слова: малярія; *Plasmodium falciparum*; Falcipain-2; телурурганічні сполуки; телурид.

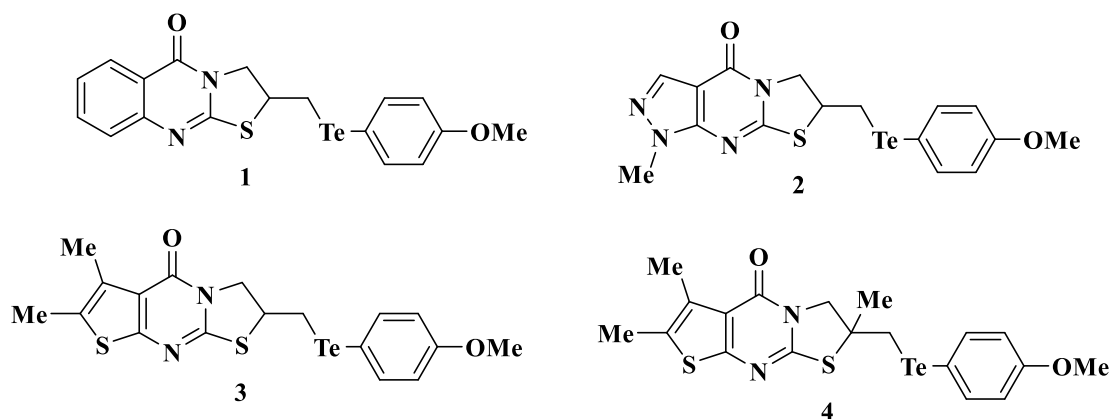
Найбільш поширеними та смертоносними на планеті є паразитарні захворювання, які спричиняють мільйони смертей [1]. Однією з таких інфекційних хвороб є малярія, а саме різновид тропічної малярії. Основним збудником даного інфекційного захворювання є *Plasmodium falciparum*, від якого щороку помирає півмільйона людей. *Plasmodium falciparum* розмножується багато разів всередині еритроцитів людини протягом 48 годин, що призводить до швидкого прогресування захворювання. Найбільш важливе клінічне значення в якості терапевтичної мішені в боротьбі з малярією посідає фальципаїн-2 (FP-2) [2,3]. FP-2 є первинною гемоглобіназою *Plasmodium falciparum*, малярійного паразита людини і є важливим папаїновим кланом трофозоїтної цистеїнової протеази, який розщеплює гемоглобін

господаря і викликає розрив еритроцитів у травній харчовій вакуолі [4]. Ефективної вакцини від даного типу малярії не існує, однак існують різні методи лікування. Нові протималярійні засоби є вкрай необхідними, оскільки наявні лікарські препарати є не завжди ефективними. З огляду на це, пошук дієвих ліків від малярії є актуальною проблемою.

Метою нашого дослідження є пошук нових інгібіторів FP-2 за допомогою молекулярного докінгу та віртуального скринінгу. В якості об'єктів вивчення слугували піримідинарилтелуриди **1-4**. Вибір саме таких об'єктів дослідження мотивується тим, що в літературі відомі сполуки з арилтелуровим фрагментом, які володіють інгібуючою активністю щодо *Plasmodium falciparum* [5,6]. В якості досліджуваного цільового білка використано 2GHU. Для

порівняння було проведено оцінку протималярійної активності вже наявних лікарських препаратів, які використовуються для лікування малярії, а саме: атоваквон,

доксидиклін, мефлохін, примаквін та хлорохін.



Вибір саме таких об'єктів дослідження мотивується тим, що в літературі відомі сполуки з арилтелуридовим фрагментом, які володіють інгібуючою активністю щодо *Plasmodium falciparum* [5,6]. В якості досліджуваного цільового білка використано 2GHU. Для порівняння було проведено оцінку протималярійної активності вже наявних лікарських препаратів, які використовуються для лікування малярії, а

саме: атоваквон, доксидиклін, мефлохін, примаквін та хлорохін. Для стикування ліганду і цільового білка використовувалася програма AutoDock. Основними показниками оцінки протималярійної активності слугували мінімальна інгібуюча концентрація та енергія зв'язування найбільш стабільної конформації ліганд-білкового комплексу. Результати молекулярного докінгу наведено в Таблиці 1.

Таблиця 1. Енергії взаємодії досліджуваних піримідинарилтелуридів 1-4 з цільовим білком 2GHU

Сполука	Енергія зв'язування ккал/моль	Константа інгібування, K_i , μM
1	-6.18	29.74
2	-5.68	68.52
3	-6.08	34.91
4	-5.66	70.51
Атоваквон	-6.5	17.26
Доксидиклін	-6.82	9.94
Мефлохін	-5.72	63.87
Примаквін	-6.01	39.17
Хлорохін	-4.91	251.21

Аналізуючи дані Таблиці 1, можна зробити висновок, що серед досліджуваних сполук телурид **1** має найкращу спорідненість до мішені 2GHU: енергія зв'язування ліганд-білкового комплексу (-6.18 ккал/моль), мінімальна інгібуюча концентрація K_i (29.74 μM). Близькі

значення до телуриду **1** має зразок **3**, тобто з даних таблиці 1 можна зробити висновок, що введення алкільної метильної групи до тiazолопіримідину зменшує інгібуючу активність до *Plasmodium falciparum*. Серед лікарських препаратів найкращий результат зв'язування показав доксидиклін, а

найгірший хлорохін. Якщо ж порівнювати результати молекулярного докінгу телуриду **1** та лікарських засобів, то він поступається тільки доксицикліну та атоваквону. Для кращого розуміння процесу утворення

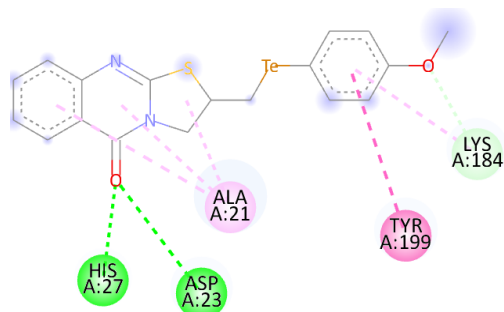
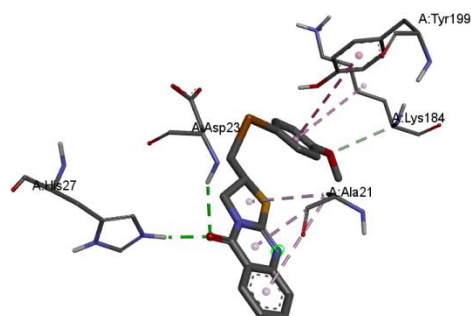


Рис. 1. 2D та 3D моделі зв'язування телуриду **1** з рецептором 2GHU.

Як видно з 2D моделі білкового комплексу карбонільна група телуриду **1** утворює водневі зв'язки з двома амінокислотами HIS27 та ASP23 рецептора 2GHU. Додатковим фактором стабілізації досліджуваного ліганд-білкового комплексу є наявність π - π зв'язку між фенольним кільцем арилтелуриду залишку та TYR199, а також C-H зв'язку метокси-групи телуриду **1** з амінокислотою LYS184. Тіазолохіназоліновий каркас бере участь у створенні низки π -алкільних контактів з амінокислотою ALA21.

ліганд-білкового комплексу між телуридом **1** та рецептором 2GHU на Рис. 1 наведено молекулярні моделі.



З метою поглиблення нашого дослідження ми провели симуляцію молекулярної динаміки протягом 100 нс комплексу фальципаїну-2 (PDB ID – 2GHU) та найбільш перспективної серед тестованих телуридовмісних речовин – сполукою **1**, а також розрахували значення RMSD, RMSF та SASA. З цією метою нами використано програмний пакет NAMD з візуалізатором VMD, а для розрахунків застосовувався плагін vmdICE [10-12].

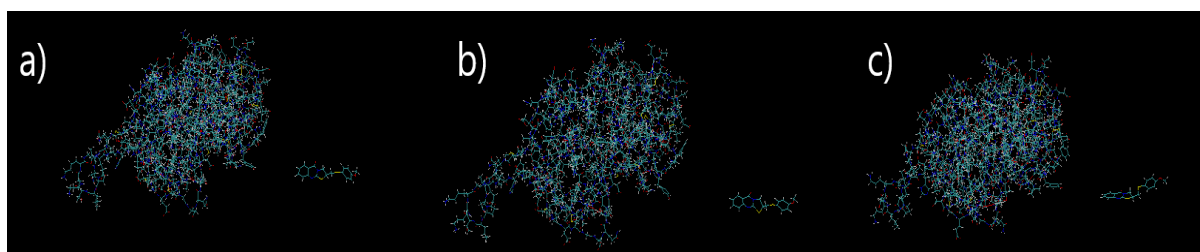


Рис. 2. Комплекс на 1нс (а), 3 нс (b) та 100 нс (c) симуляції.

Загальне значення RMSD складає 1,102 Å, а RMSF – 0,3184 Å. Вони є індикаторами конформаційних змін, індукованих у фальципаїні-2 після зв'язування зі сполукою **1**. RMSD відноситься до середньоквадратичного відхилення між кристалічною структурою комплексу протеїн-ліганд і еталонною структурою та вказує на ступінь конформаційної зміни, викликані зв'язуванням ліганду. Чим вище значення RMSD, тим більший ступінь

конформаційних змін. У цьому випадку значення 1,102 Å свідчить про те, що ліганд (сполука **1**) індукує помірний ступінь конформаційних змін фальципаїну-2 після зв'язування. RMSF, або середньоквадратичне коливання, відображає гнучкість атомів у комплексі протеїн-ліганд. Більше значення RMSF вказує на більшу гнучкість, а нижче значення вказує на більшу жорсткість, результат 0,3184 Å свідчить про те, що

область протеїну, що контактує з лігандом, є відносно жорсткою.

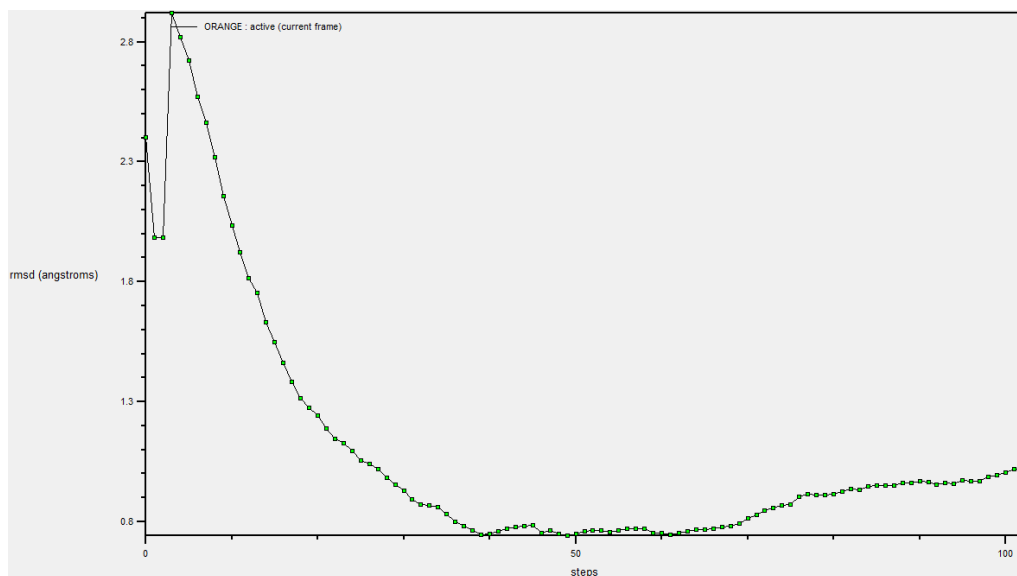


Рис. 3. Крива значень RMSD для комплексу фальципаїн-2 – сполука 1.

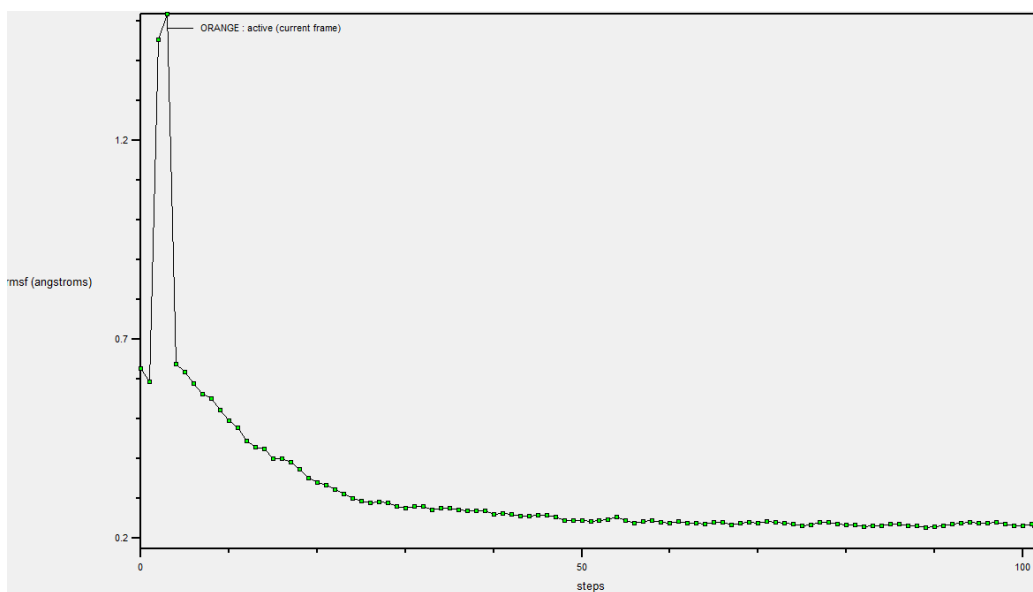


Рис. 4. Крива значень RMSF для комплексу фальципаїн-2 – сполука 1.

SASA є показником розміру сайту зв'язування ліганду на протеїну. SASA, або площа поверхні, доступної для розчинника, відображає ступінь впливу розчинника на місце зв'язування. Менше значення SASA свідчить про менший і менш відкритий сайт зв'язування. Одержане значення в $3,3584 \text{ \AA}^2$ вказує на те, що сайт зв'язування фальципаїну-2 є відносно

малим і не сильно піддається впливу розчинника.

Таким чином, виявлено, що досліджуваний комплекс піддається помірним конформаційним змінам, область зв'язування є відносно жорсткою і слабо піддається впливу розчинника, а отже – комплекс є достатньо стабільним та стійким, що додатково підтверджує перспективність сполуки 1 як протималарійного агента.

Загалом ці параметри надають цінну інформацію для розуміння взаємодії між фальципайном-2 і сполукою **1** і її можна використовувати для планування майбутніх експериментів, спрямованих на оптимізацію цієї взаємодії.

Висновки

Таким чином, результати *in silico* дослідження показали сильне зв'язування 2-(((4-метоксифеніл)теланіл)метил)-2,3-дигідро-5Н-тіазоло[2,3-*b*]хіназолін-5-ону з ферментом 2GHU: -6.18 ккал/моль (залишки амінокислот: HIS27, ASP23, TYR199, LYS184, ALA21.). Показано, що тіазолохіназолінарилтелуртрихлорид проявляє більшу інгібуючу здатність до *Plasmodium falciparum* на відміну від таких протималярійних препаратів, як мефлохін, примаквін та хлорохін і може бути оцінений *in vitro* на протималярійну активність.

Експериментальна частина

2-(((4-Метоксифеніл)теланіл)метил)-2,3-дигідро-5Н-тіазоло[2,3-*b*]хіназолін-5-он **1** синтезовано за методикою [7].

1-Метил-7-(((4-метоксифеніл)теланіл)метил)-6,7-дигідропіразоло[3,4-*d*]тіазоло[3,2-*a*]піримідин-4(1Н)-он **2** одержано згідно методики описаної в роботі [8]. 6,7-Диметил-2-(((4-метоксифеніл)теланіл)метил)-2,3-дигідро-5Н-тіазоло[3,2-*a*]тієно[2,3-*d*]піримідин-5-он **3** та 2,6,7-триметил-2-(((4-метоксифеніл)теланіл)метил)-2,3-дигідро-5Н-тіазоло[3,2-*a*]тієно[2,3-*d*]піримідин-5-он **4** отримували за методикою [9].

Молекулярний докінг

Для молекулярного докінгу використовували програму AutoDock [13]. Програму AutoDock Tools (ADT) (ver. 1.5.6) [12] застосовували для отримання відповідного формату структур білка та ліганду і створення «grid box». Як вихідну структуру використовували кристалічну структуру *Plasmodium falciparum* (PDB код 2GHU) [13]. Структуру ліганду створювали, оптимізували та зберігали у форматі Mol2 за допомогою програми Avogadro [14].

Часткові заряди та торсійні кути лігандів модифікували за допомогою програми ADT та зберігали також у PDBQT форматі. Для підготовки карти «grid map» та створення боксу «grid box» використовували підпрограму AutoGrid. Параметри комірки "grid box": X= 85, Y= 45, Z= 47. Для візуалізації та аналізу результатів докінгу застосовували програму Discovery Studio Visualizer [15].

Список використаної літератури

1. Momčilović S., Cantacessi C., Arsić-Arsenijević V., Otranto D., Tasić-Otašević S. Rapid diagnosis of parasitic diseases: Current scenario and future needs. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019, 25, 290–309. Doi: 10.1016/j.cmi.2018.04.028
2. Rajguru T., Bora D., Modi M.K. Identification of promising inhibitors for Plasmodium haemoglobinase Falcipain-2, using virtual screening, molecular docking, and MD Simulation. *J. Mol. Struct.* 2022, 1248, 131427. Doi: 10.1016/j.molstruc.2021.131427.
3. Chaurasia S., Pandey A. A Systematic In Silico Investigation of Phytochemicals from Artocarpus Species against Plasmodium falciparum Inhibitors. *Med. Sci. Forum.* 2022, 12(1), 5. Doi: 10.3390/eca2022-12712.
4. Hogg T., Nagarajan K., Herzberg S., Chen L., Shen X., Jiang H., Wecke M., Blohmke C., Hilgenfeld R., Schmidt C.L. Structural and functional characterization of Falcipain-2, a hemoglobinase from the malarial parasite Plasmodium falciparum. *J. Biol. Chem.* 2006, 281, 25425–25437. Doi: 10.1074/jbc.M603776200.
5. Cipriano S.S., Maluf S.E.C., Kut M., Ferrara T.F., Azevedo M.F., Carmona A.K., Onysko M., Cunha R.L.O.R. Characterization of novel tellurium-functionalized fused heterocyclic systems with antimalarial activity in vitro. *Drug Discovery for Neglected Diseases International Congress. Buenos Aires, Argentina.* 2018, P. 195.
6. Maluf S.E.C., Melo P.M.S., Varotti F.P., Gazarinic M.L., Cunha R.L.O.R., Carmona A.K. Hypervalent organotellurium compounds as inhibitors of P. falciparum calcium-dependent cysteine proteases. *Parasitology.* 2016, 65(1), 20–22. Doi: 10.1016/j.parint.2015.09.006.
7. Kut D., Kut M., Onysko M., Lendel V. Synthesis of thiazoloquinazolinaryltellurid. *Sci. Bull. Uzhh. Univ. Ser. Chem.* 2022, 47(1), 78–83. Doi: 10.24144/2414-0260.2022.1.78-83.
8. Kut M., Onysko M., Lendel V. The Influence of Condensed Cycle on Regiochemistry of Electrophilic Heterocyclization of 3-Alkenyl-2-Thioxopyrimidin-4-one by p-Alkoxyphenyl

tellurium Trichloride: Regiochemistry of Electrophilic Heterocyclization of 3-Alkenyl-2-Thioxopyrimidin-4-One by p-Alkoxyphenyltellurium Trichloride. *J. Heterocycl. Chem.* 2018, 55(4), 888–892. Doi: 10.1002/jhet.3114.

9. Kut M., Onysko M., Lendel V. Chemical properties of 6,7-disubstituted-2-(dichloro-(p-alkoxyphenyl)telluromethyl)-2,3-dihydro-5H-[1,3]thiazolo[3,2-a]thieno[2,3-d]pyrimidin-5-one hydrochlorides. *Sci. Bull. Uzhh. Univ. Ser. Chem.* 2016, 36(2), 57–59.

10. Humphrey W., Dalke A., Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of molecular graphics.* 1996, 14(1), 33–38. Doi: 10.1016/0263-7855(96)00018-5.

11. Phillips J.C., Braun R., Wang W., Gumbart J., Tajkhorshid E., Villa E., Schulten K. Scalable

molecular dynamics with NAMD. *Journal of computational chemistry.* 2005, 26(16), 1781–1802. Doi: 10.1002/jcc.20289.

12. Jo S., Cheng X., Islam S.M., Huang L., Rui H. VMDICE: a plug-in for visual molecular dynamics simulation of molecular dynamics flexible fitting. *Bioinformatics.* 2017, 33(5), 764–766. Doi: 10.1093/bioinformatics/btw712.

13. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://autodock.scripps.edu/downloads>.

14. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://mgltools.scripps.edu/downloads>.

15. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.rcsb.org/structure/2GHU>.

16. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://avogadro.cc/>.

17. BIOVIA, Dassault Systems, Discovery Studio Visualizer, San Diego: 2021.

Стаття надійшла до редакції: 17.05.2023

IN SILICO STUDY OF PYRIMIDINARYL TELLURIDES AS POTENTIAL INHIBITORS OF PLASMODIUM FALCIPARUM

Kut M., Korol N., Onysko M., Lendel V.

Uzhhorod National University, Pidhirna St., 46, 88000 Uzhhorod, Ukraine
e-mail: diana.kut@uzhnu.edu.ua

Malarial plasmodia are increasingly developing resistance to existing antimalarial drugs, posing a serious threat to successful treatment. Previous studies have demonstrated the inhibitory activity of compounds containing an exocyclic aryltellurium fragment against *Plasmodium falciparum*. This research focused on evaluating the inhibitory potential of fused pyrimidinaryl tellurides against falcipain-2 (FP-2), a crucial therapeutic target in the fight against malaria. Among the tested tellurides, 2-(((4-methoxyphenyl)thelanyl)methyl)-2,3-dihydro-5H-thiazolo[2,3-b]quinazolin-5-one demonstrated the most stable protein-ligand complex with the receptor 2GHU. The ligand exhibited a binding energy of -6.18 kcal/mol and an inhibition concentration of 29.74 μM . Notably, the ligand interacted with specific amino acids of the receptor, including HIS27, ASP23, TYR199, LYS184, and ALA21. Additionally, a 100 ns molecular dynamics study confirmed the stability of the falcipain-2 complex with this thiazoloquinazolinaryl telluride, further supporting the potential of compound **1**. Importantly, the tested substance exhibited superior inhibitory capability against *Plasmodium falciparum* compared to antimalarial drugs such as mefloquine, primaquine, and chloroquine, making it a candidate for *in vitro* evaluation of antimalarial activity.

Keywords: malaria; *Plasmodium falciparum*; telluride; Falcipain-2; 2GHU.

References

1. Momčilović S., Cantacessi C., Arsić-Arsenijević V., Otranto D., Tasić-Otašević S. Rapid diagnosis of parasitic diseases: Current scenario and future needs. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019, 25, 290–309. Doi: 10.1016/j.cmi.2018.04.028

2. Rajguru T., Bora D., Modi M.K. Identification of promising inhibitors for *Plasmodium haemoglobinase* Falcipain-2, using virtual screening, molecular docking, and MD Simulation. *J. Mol. Struct.* 2022, 1248, 131427. Doi: 10.1016/j.molstruc.2021.131427.

3. Chaurasia S., Pandey A. A Systematic In Silico Investigation of Phytochemicals from Artocarpus Species against Plasmodium falciparum Inhibitors. *Med. Sci. Forum.* 2022, 12(1), 5. Doi: 10.3390/eca2022-12712.
4. Hogg T., Nagarajan K., Herzberg S., Chen L., Shen X., Jiang H., Wecke M., Blohmke C., Hilgenfeld R., Schmidt C.L. Structural and functional characterization of Falcipain-2, a hemoglobinase from the malarial parasite Plasmodium falciparum. *J. Biol. Chem.* 2006, 281, 25425–25437. Doi: 10.1074/jbc.M603776200.
5. Cipriano S.S., Maluf S.E.C., Kut M., Ferrara T.F., Azevedo M.F., Carmona A.K., Onysko M., Cunha R.L.O.R. Characterization of novel tellurium-functionalized fused heterocyclic systems with antimalarial activity in vitro. *Drug Discovery for Neglected Diseases International Congress. Buenos Aires, Argentina.* 2018, P. 195.
6. Maluf S.E.C., Melo P.M.S., Varotti F.P., Gazarinic M.L., Cunha R.L.O.R., Carmona A.K. Hypervalent organotellurium compounds as inhibitors of P. falciparum calcium-dependent cysteine proteases. *Parasitology.* 2016, 65(1), 20–22. Doi: 10.1016/j.parint.2015.09.006.
7. Kut D., Kut M., Onysko M., Lendel V. Synthesis of thiazoloquinazolinyrtellurid. *Sci. Bull. Uzhh. Univ. Ser. Chem.* 2022, 47(1), 78–83. Doi: 10.24144/2414-0260.2022.1.78-83.
8. Kut M., Onysko M., Lendel V. The Influence of Condensed Cycle on Regiochemistry of Electrophilic Heterocyclization of 3-Alkenyl-2-Thioxopyrimidin-4-one by p-Alkoxyphenyl tellurium Trichloride: Regiochemistry of Electrophilic Heterocyclization of 3-Alkenyl-2-Thioxopyrimidin-4-One by p-Alkoxyphenyltellurium Trichloride. *J. Heterocycl. Chem.* 2018, 55(4), 888–892. Doi: 10.1002/jhet.3114.
9. Kut M., Onysko M., Lendel V. Chemical properties of 6,7-disubstituted-2-(dichloro-(p-alkoxyphenyl)telluromethyl)-2,3-dihydro-5H- [1,3]thiazolo[3,2-a]thieno[2,3-d]pyrimidin-5-one hydrochlorides. *Sci. Bull. Uzhh. Univ. Ser. Chem.* 2016, 36(2), 57–59.
10. Humphrey W., Dalke A., Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of molecular graphics.* 1996, 14(1), 33–38. Doi: 10.1016/0263-7855(96)00018-5.
11. Phillips J.C., Braun R., Wang W., Gumbart J., Tajkhorshid E., Villa E., Schulten K. Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal of computational chemistry.* 2005, 26(16), 1781–1802. Doi: 10.1002/jcc.20289.
12. Jo S., Cheng X., Islam S.M., Huang L., Rui H. VMDICE: a plug-in for visual molecular dynamics simulation of molecular dynamics flexible fitting. *Bioinformatics.* 2017, 33(5), 764–766. Doi: 10.1093/bioinformatics/btw712.
13. [Elektronnyi resurs]. Rezhym dostupu: <http://autodock.scripps.edu/downloads>.
14. [Elektronnyi resurs]. Rezhym dostupu: <http://mglttools.scripps.edu/downloads>.
15. [Elektronnyi resurs]. Rezhym dostupu: <https://www.rcsb.org/structure/2GHU>.
16. [Elektronnyi resurs]. Rezhym dostupu: <http://avogadro.cc/>.
17. BIOVIA, Dassault Systems, Discovery Studio Visualizer, San Diego: 2021.