



Дизайн низкомолекулярных ингибиторов эффлюкс-белка MDR1

Григорьева Т.А., Романова А.А., Трибулович В.Г.

НИЛ «Молекулярная фармакология» СПбГТИ(ТУ)

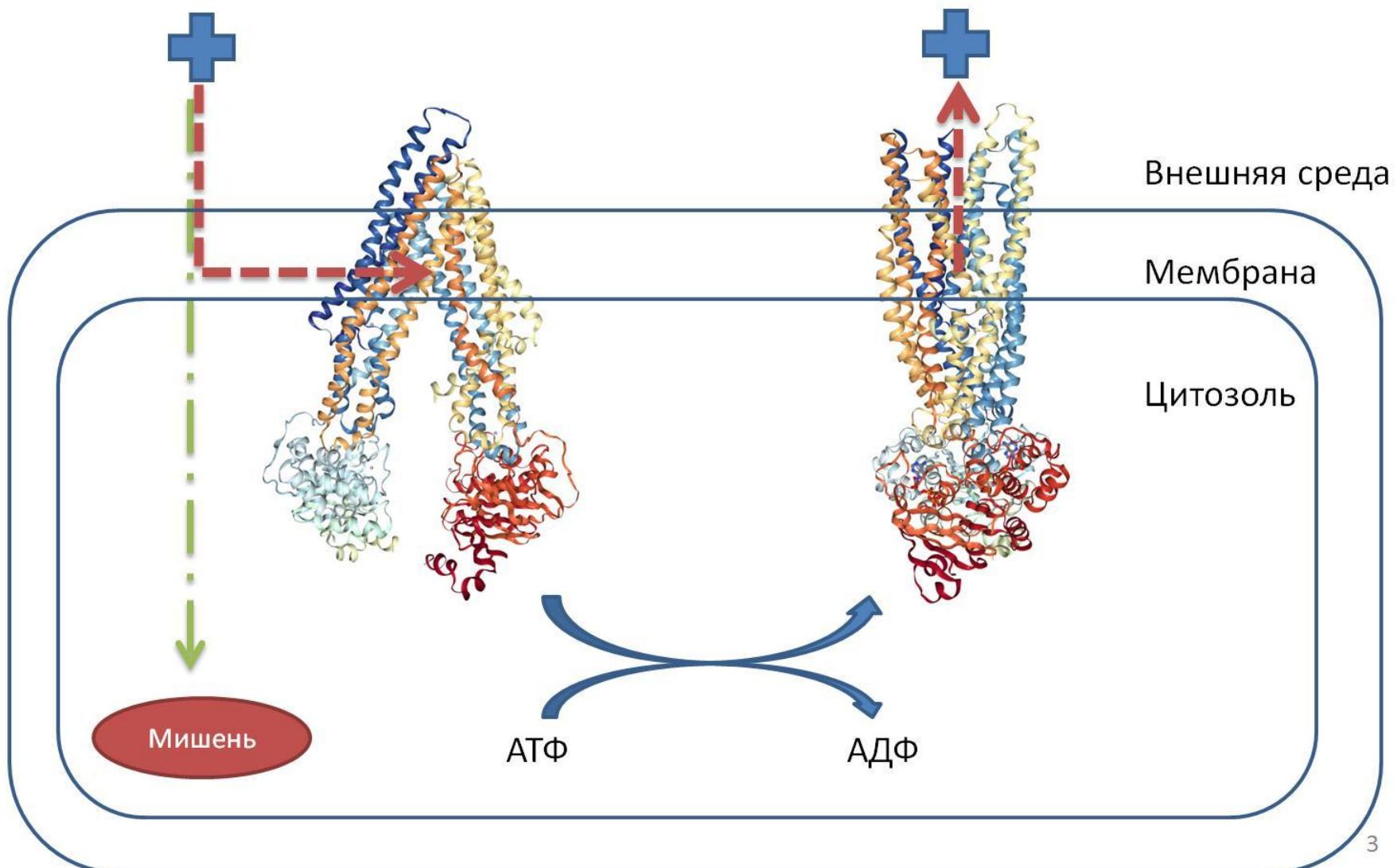
rozentatiana@gmail.com

2020 г.

Актуальность темы

- Злокачественные новообразования занимают второе место в структуре смертности населения России, а в ряде развитых стран смертность от онкологических заболеваний вышла на первое место. Необходимость эффективного лечения и профилактики развития онкозаболеваний отражена в Национальной стратегии Правительства РФ по борьбе с онкологическими заболеваниями.
- Серьезной проблемой химиотерапии пролиферативных заболеваний является первичная химиорезистентность раковых клеток. Кроме того, по мере появления эффективных методов противораковой терапии и увеличения продолжительности жизни пациентов все более остро встает задача борьбы с возникновением вторичной лекарственной устойчивости опухолей. Комплексный характер таких заболеваний определяет низкую эффективность монотерапии и делает необходимым использование сочетанной терапии, направленной на подавление различных механизмов, поддерживающих жизнеспособность раковых клеток.
- Повышенная активность белков-транспортеров, препятствующая попаданию лекарственного препарата в клетку, считается одним из основных механизмов возникновения лекарственной устойчивости (Gillet, 2012). Причем по мере повышения эффективности лечения первичных опухолей все существенное становится проблема развития вторичной резистентности. Многократно показано, что в ответ на обработку препаратами за счет различных механизмов происходит увеличение экспрессии белков-транспортеров (Santos, 2013).

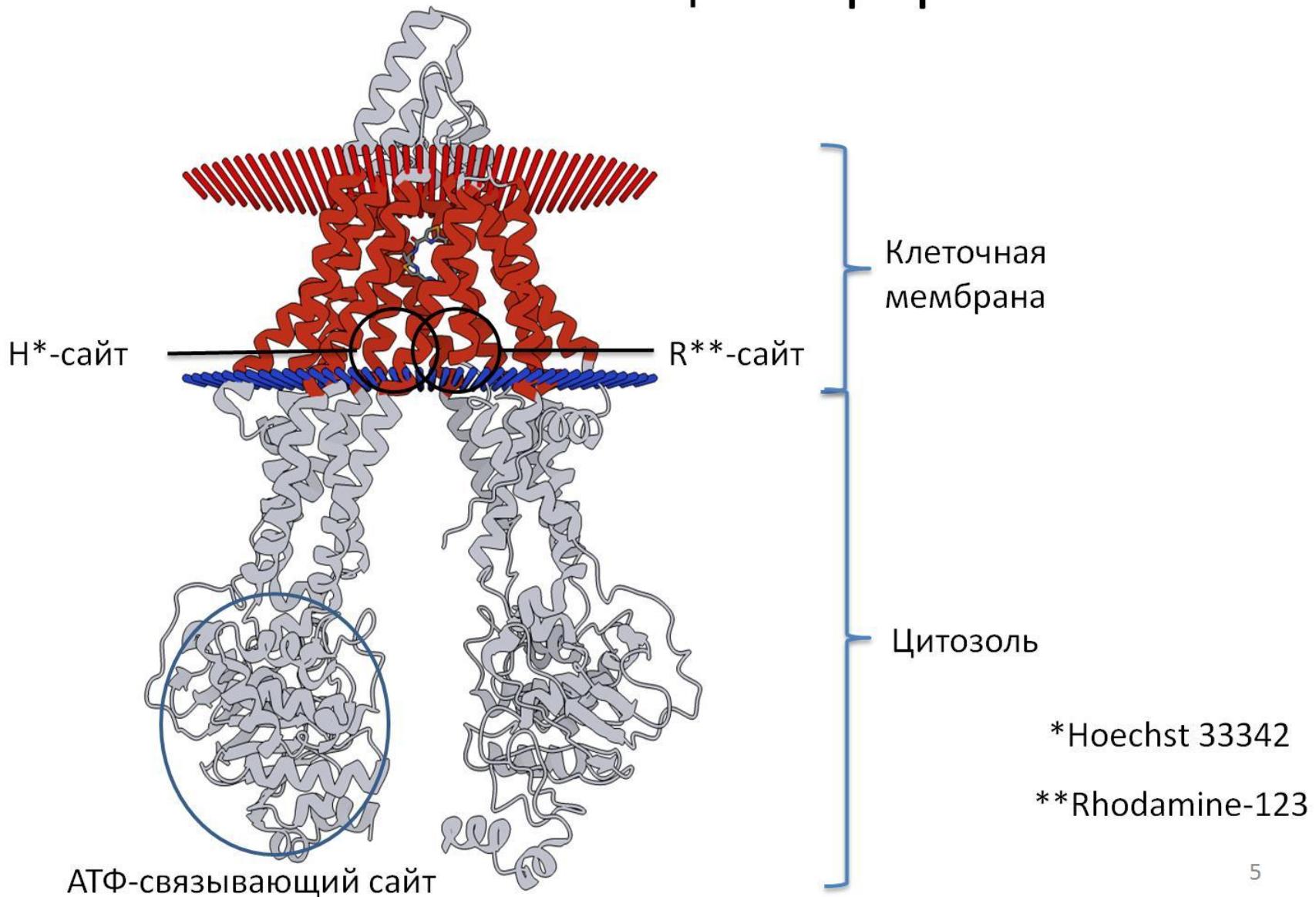
Гликопротеин-Р (MDR1) - причина химиорезистентности опухолей



Гликопротеин-Р (MDR1) - причина химиорезистентности опухолей

- Первоначально гликопротеин-Р изучался в качестве основной причины химиорезистентности опухолевых клеток, однако позже было установлено, что он является необходимым компонентом жизнедеятельности нормальных клеток, которые обеспечивают детоксикацию и вывод ксенобиотиков.
- Он экспрессируется в эпителии кишечника, в печени, в иммунокомпетентных клетках (Chan, 2004) и, фактически, формирование множественной лекарственной устойчивости является предельным случаем функционирования механизма адаптации к неблагоприятным факторам внешней среды (Свирновский, 2005).
- Белок-транспортер выступает в роли насоса, откачивающего из клетки ксенобиотики: захватывает низкомолекулярные соединения с внутриклеточной стороны мембранны и выбрасывает их наружу, что в случае раковой клетки предотвращает накопление лекарственного препарата и, соответственно, снижает эффективность химиотерапии.

Структура транспортера в «захватывающей» форме

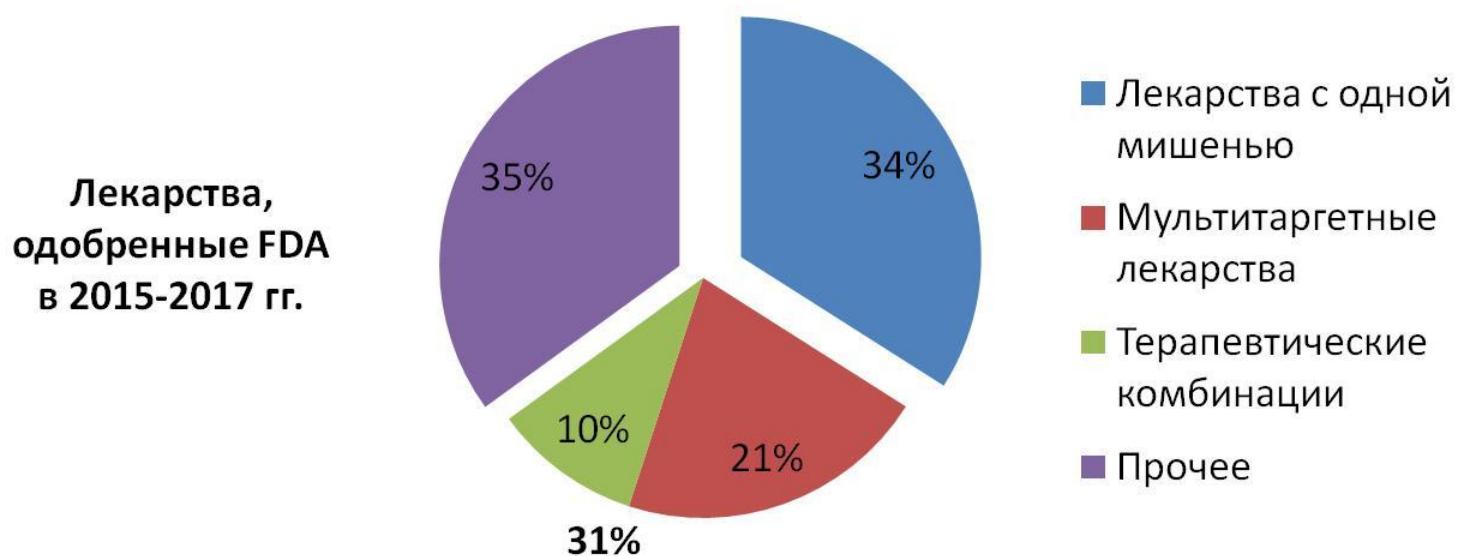


2019	
6QEE	Nanodisc reconstituted Human-mouse chimeric ABCB1 (ABCB1HM)-EQ mutant in complex with UIC2 Fab and Zosuquidar.
6QEX	Nanodisc reconstituted human ABCB1 in complex with UIC2 fab and taxol
6A6M	Crystal structure of an outward-open nucleotide-bound state of the eukaryotic ABC multidrug transporter CmABCB1
6A6N	Crystal structure of an inward-open apo state of the eukaryotic ABC multidrug transporter CmABCB1
2018	
6Q81	Structure of P-glycoprotein(ABCB1) in the post-hydrolytic state
6GDI	Structure of P-glycoprotein(ABCB1) in the post-hydrolytic state
6COV	Molecular structure of human P-glycoprotein in the ATP-bound, outward-facing conformation
2016	
5KOY	Mouse pgp 34 linker deleted bound with ATP
5KO2	Mouse pgp 34 linker deleted mutant Hg derivative
5KPD	Mouse pgp 34 linker deleted double EQ mutant
5KPI	Mouse native PGP
5KPJ	Mouse pgp methylated protein
4XWK	P-glycoprotein co-crystallized with BDE-100
2015	
4Q9H	<i>P-glycoprotein at 3.4 Å resolution</i>
4Q9I	P-glycoprotein cocrystallised with QZ-Ala
4Q9J	P-glycoprotein cocrystallised with QZ-Val
4Q9K	P-glycoprotein cocrystallised with QZ-Leu
4Q9L	P-glycoprotein cocrystallised with QZ-Phe

2014	
3WMG	Crystal structure of an inward-facing eukaryotic ABC multidrug transporter G277V/A278V/A279V mutant in complex with an cyclic peptide inhibitor, aCAP
3WME	Crystal structure of an inward-facing eukaryotic ABC multidrug transporter
3WMF	Crystal structure of an inward-facing eukaryotic ABC multidrug transporter G277V/A278V/A279V mutant
2013	
4M1M	Corrected Structure of Mouse P-glycoprotein
4M2S	Corrected Structure of Mouse P-glycoprotein bound to QZ59-RRR
4M2T	Corrected Structure of Mouse P-glycoprotein bound to QZ59-SSS
4KSB	Structures of P-glycoprotein reveal its conformational flexibility and an epitope on the nucleotide-binding domain
4KSC	Structures of P-glycoprotein reveal its conformational flexibility and an epitope on the nucleotide-binding domain
4KSD	Structures of P-glycoprotein reveal its conformational flexibility and an epitope on the nucleotide-binding domain
4LSG	Structure of Mouse P-Glycoprotein
2012	
4F4C	The Crystal Structure of the Multi-Drug Transporter
2009	
3G5U	Structure of P-glycoprotein Reveals a Molecular Basis for Poly-Specific Drug Binding
3G60	Structure of P-glycoprotein Reveals a Molecular Basis for Poly-Specific Drug Binding
3G61	Structure of P-glycoprotein Reveals a Molecular Basis for Poly-Specific Drug Binding

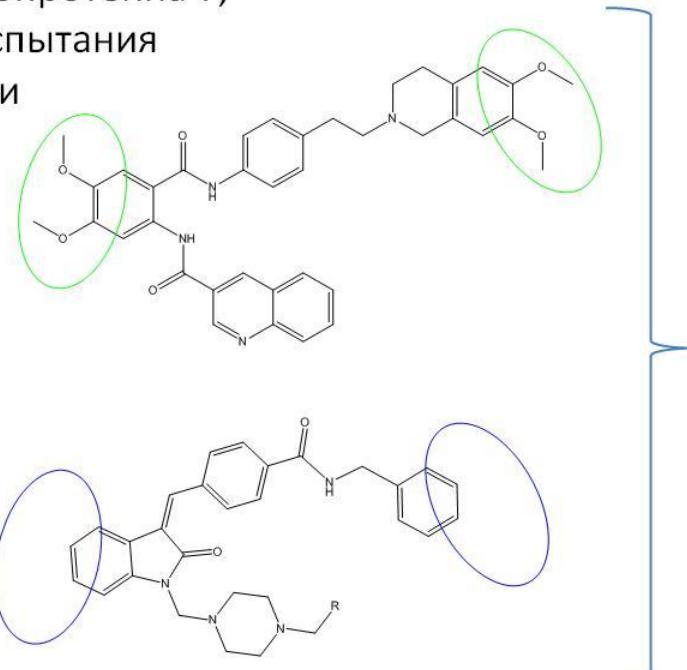
Мультитаргетность

- Комплексные патологические системы устойчивы к монотаргетным препаратом благодаря включению компенсаторных механизмов (Talevi, 2015), в этих условиях принципиально иной эффект наблюдается в случае сочетанной терапии и применения мультитаргетных препаратов.
- Анализ, проведенный группой R. Ramsay показал, что количество полифармакологических агентов, одобренных американской FDA за 2015-2017 гг. практически сравнялось с количеством препаратов с одной мишенью (Ramsay, 2018).
- Поскольку ингибиторы белков-транспортеров не проявляют самостоятельных терапевтических свойств, то перспективным представляется создание молекулы, которая объединит в себе свойства и ингибитора, и противоракового агента. Были предложены молекулы, соединяющие в себе структуры ингибиторов MDR1 и противораковых агентов (Palmeira, 2012).



Ингибиторы MDM2 как платформа для создания ингибиторов гликопротеина-Р

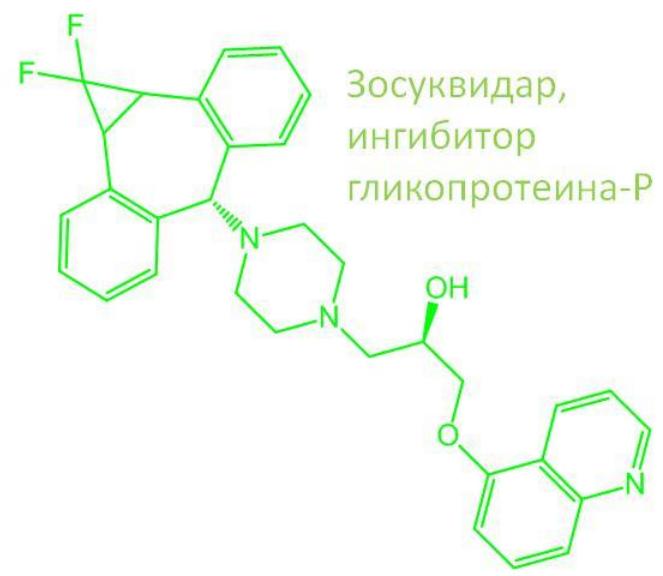
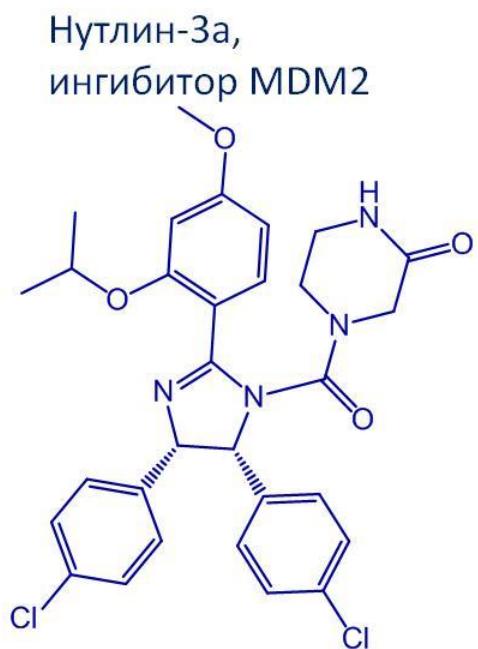
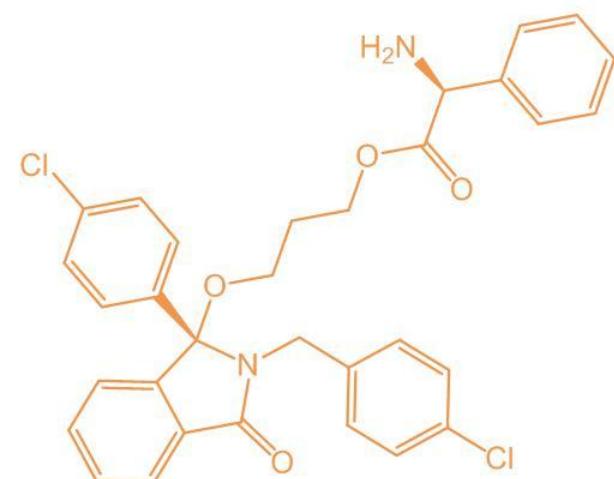
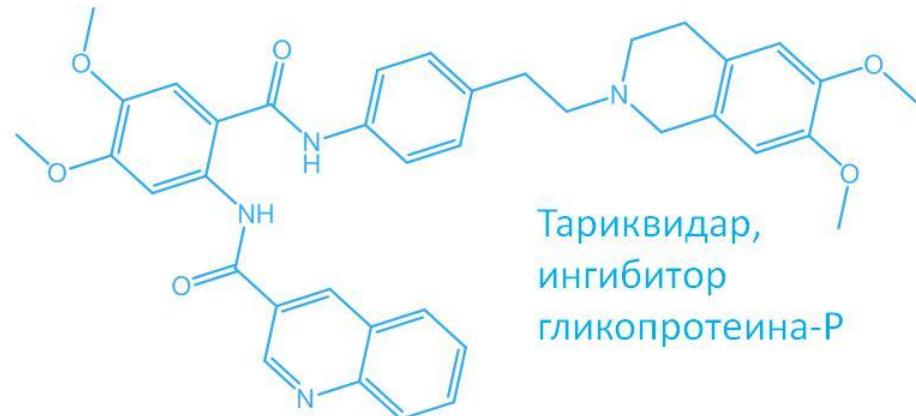
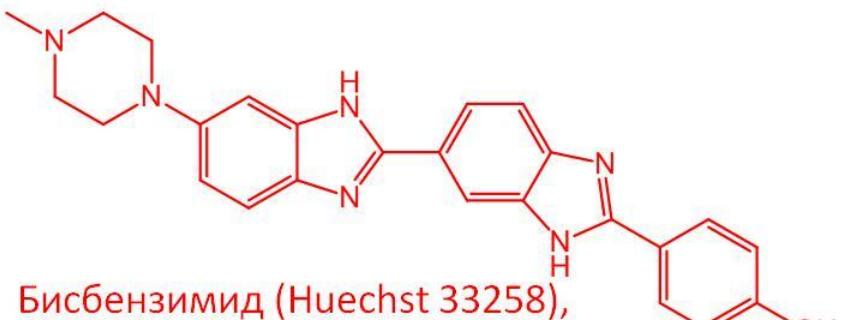
Тариквидар, ингибитор гликопротеина-Р,
проходящий клинические испытания
в рамках сочетанной терапии



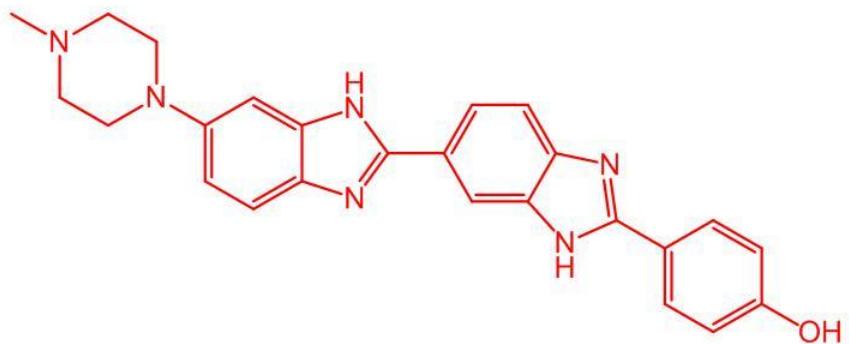
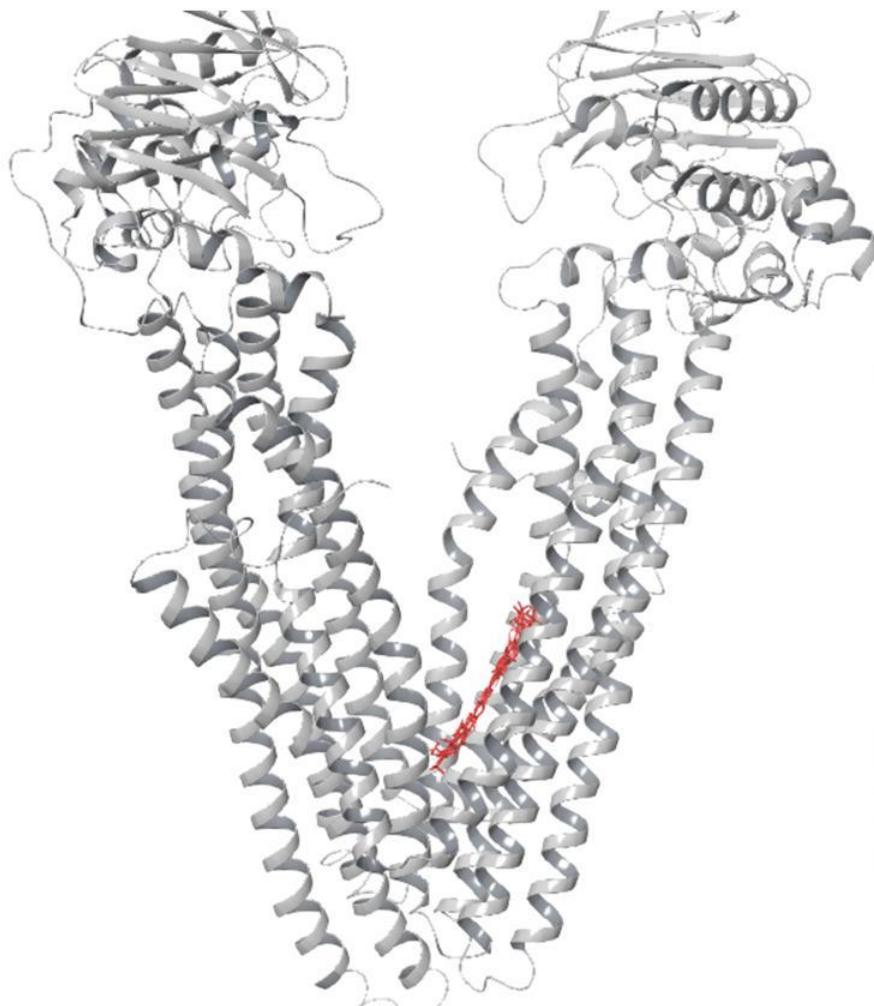
Мультитаргетный препарат,
активный по отношению к
MDM2 и гликопротеину-Р

Класс ингибиторов MDM2,
разработанный в НИЛ «Молекулярная фармакология».
В основе современных ингибиторов MDM2 лежит постепенно
оптимизируемая, но относительно жесткая фармакофорная гипотеза.

Рассматриваемые соединения

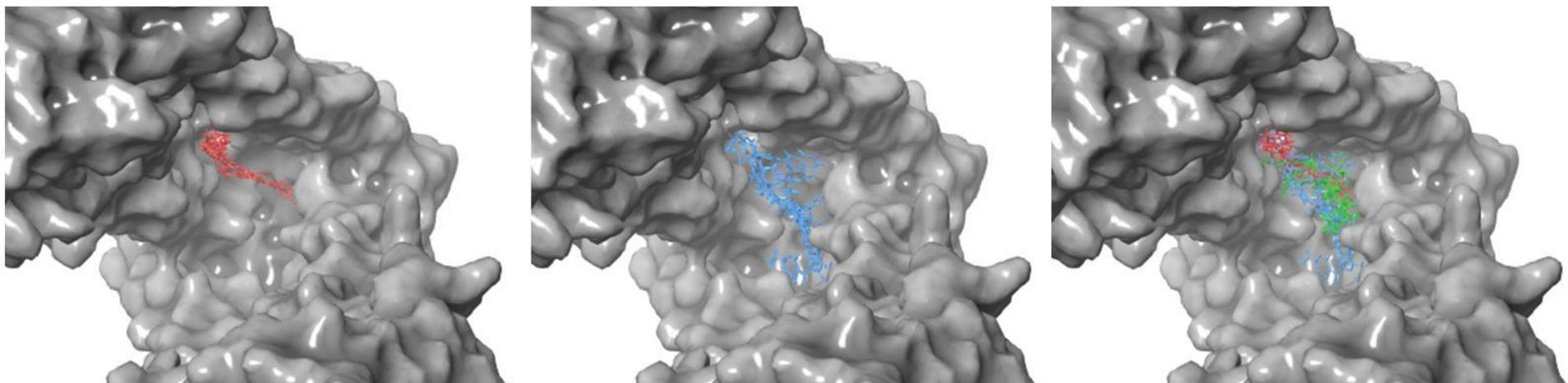


Сайт связывания бисбензимида (Huechst 33258)



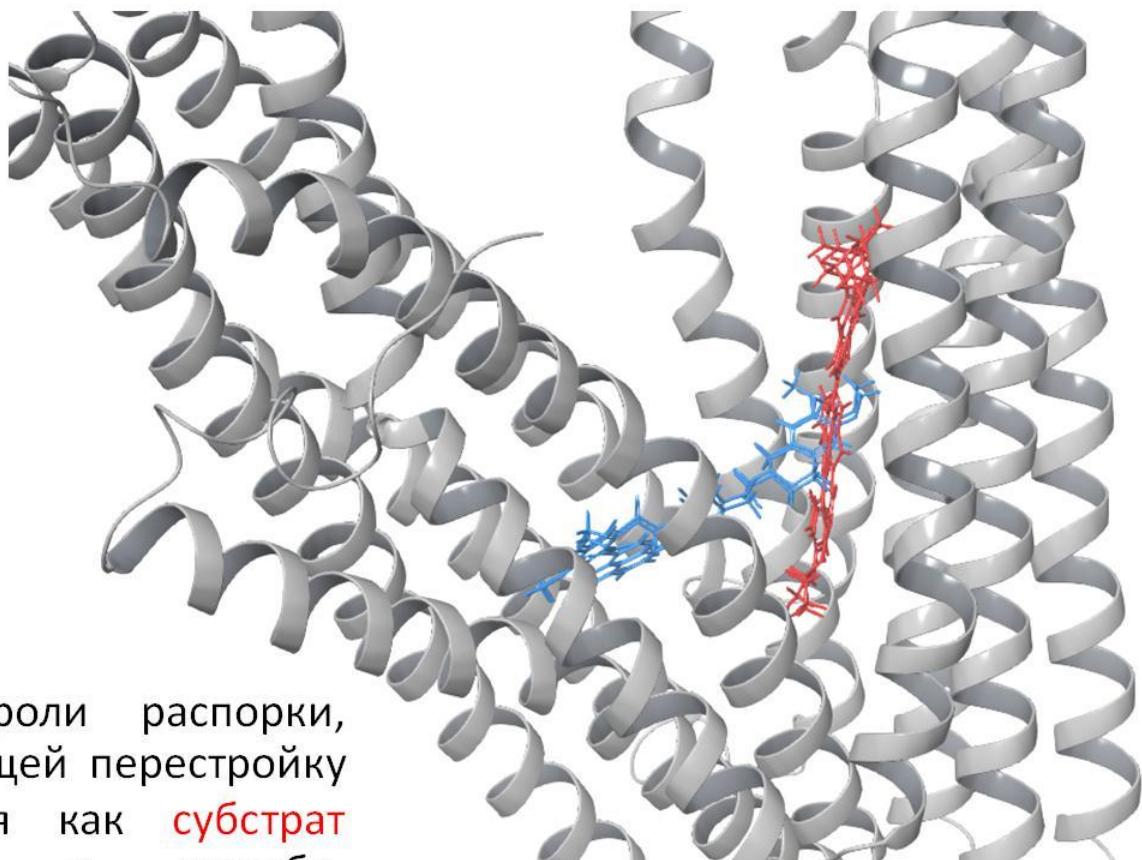
Результаты хорошо согласуются с классическим представлением Н-сайта (см. слайд 5).

Связывание субстрата и ингибиторов гликопroteина-Р



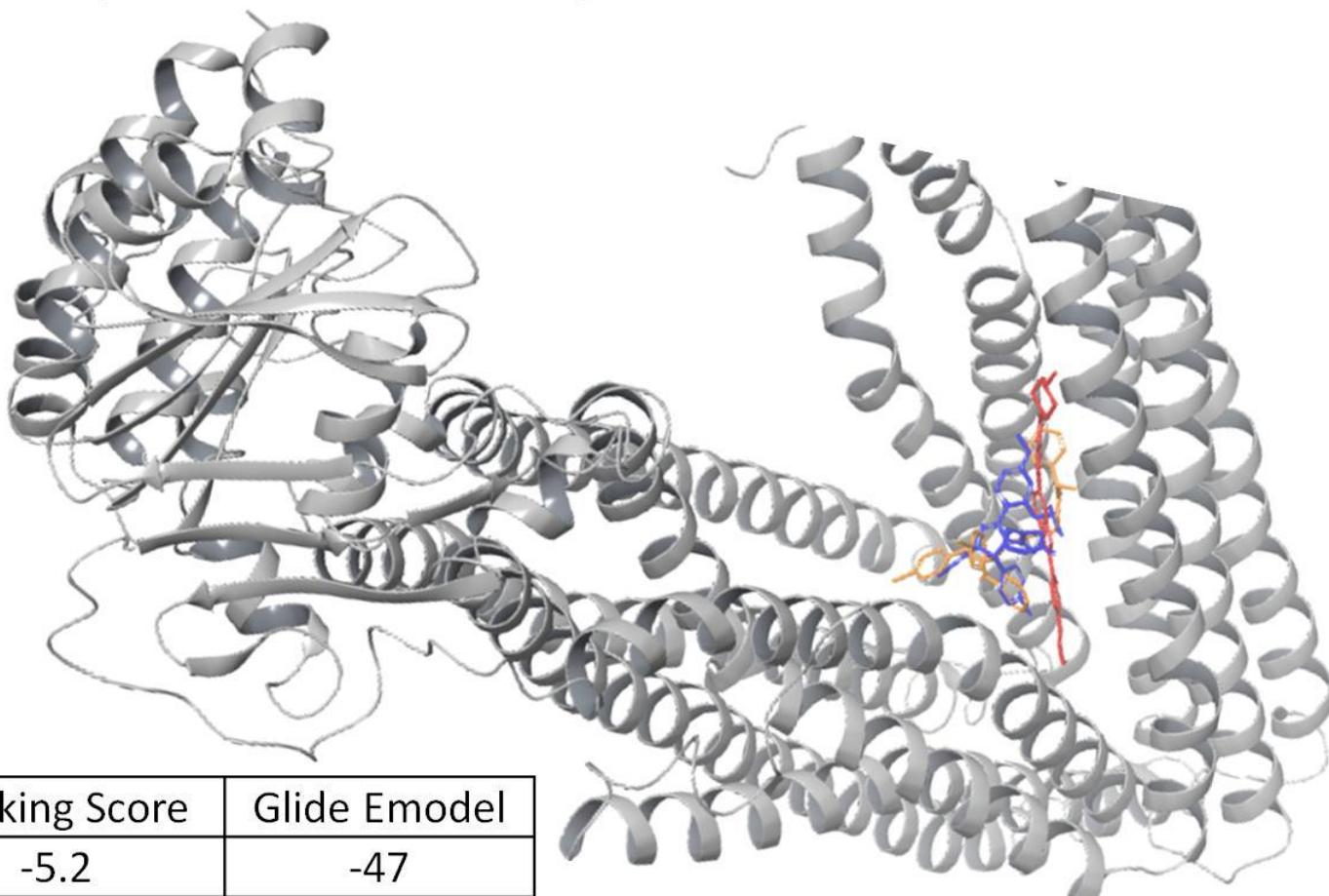
Соединение	Docking Score	Glide Emodel
Бисбензимид	-5.2	-47
Тариквидар	-7.3	-66
Зосуквидар	-6.9	-52

Ингибитор = «Распорка»



Ингибитор выступает в роли распорки, механически предотвращающей перестройку транспортера, в то время как субстрат компактно располагается в желобе, образованном альфа-спиралями.

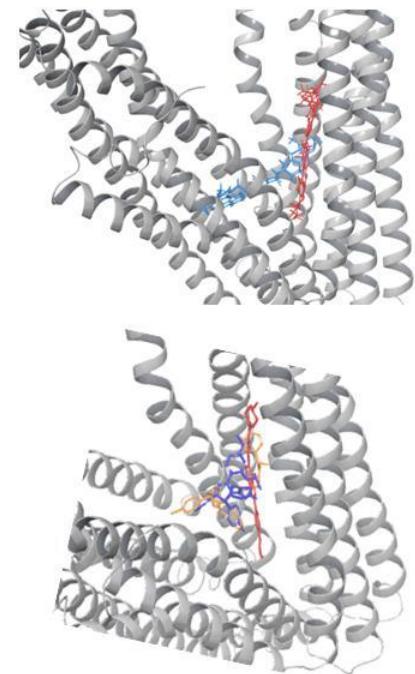
Ингибиторы MDM2 как платформа для создания ингибиторов гликопroteина-Р



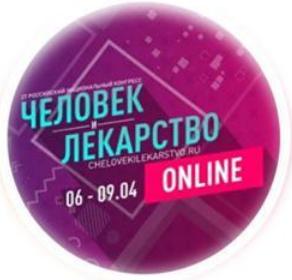
Соединение	Docking Score	Glide Emodel
Бисбензимид	-5.2	-47
Нутлин-За	-5.5	-43
Ингибитор MDM2	-6.4	-60

ВЫВОДЫ

- В случае гликопroteина-Р ингибитор связывается с той же областью, что и субстраты, но выполняет роль «распорки» между лабильными цепями, затрудняя конформационную перестройку, необходимую для осуществления эфлюкса (слайд 12).
- Укладка и энергетические параметры связывания ингибитора MDM2,rationально оптимизированного в НИЛ «МолФарм», предполагают наличие у его ингибиторной активности по отношению к гликопротеину-Р (слайд 13).



Таким образом, ингибиторы MDM2 являются перспективной платформой для разработки мультитаргетных агентов, активных по отношению к гликопротеину-Р (MDR1).



Спасибо за внимание

Будем рады вопросам и комментариям!

- Григорьева Татьяна Алексеевна: rozentatiana@gmail.com,
- Мы ВКонтакте: <https://vk.com/molpharm>



Авторы выражают благодарность Гурееву М.А. за программное обеспечение и техническую работу.