



# БОЛЬШИЕ ВЫЗОВЫ

ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНКУРС  
НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЕКТОВ



Региональный трек  
Всероссийского конкурса  
научно-технологических проектов

**«БОЛЬШИЕ ВЫЗОВЫ»**

направление

Генетика, персонализированная и прогностическая  
медицина

название работы

Поиск ингибиторов  
РНК-полимеразы  
метапневмовируса методом  
молекулярного докинга

участник(и)

Артамонова Екатерина Андреевна

#большиевызовы  
#мгк

г. Москва  
2021

[mgk.olimpiada.ru](http://mgk.olimpiada.ru)

# Актуальность

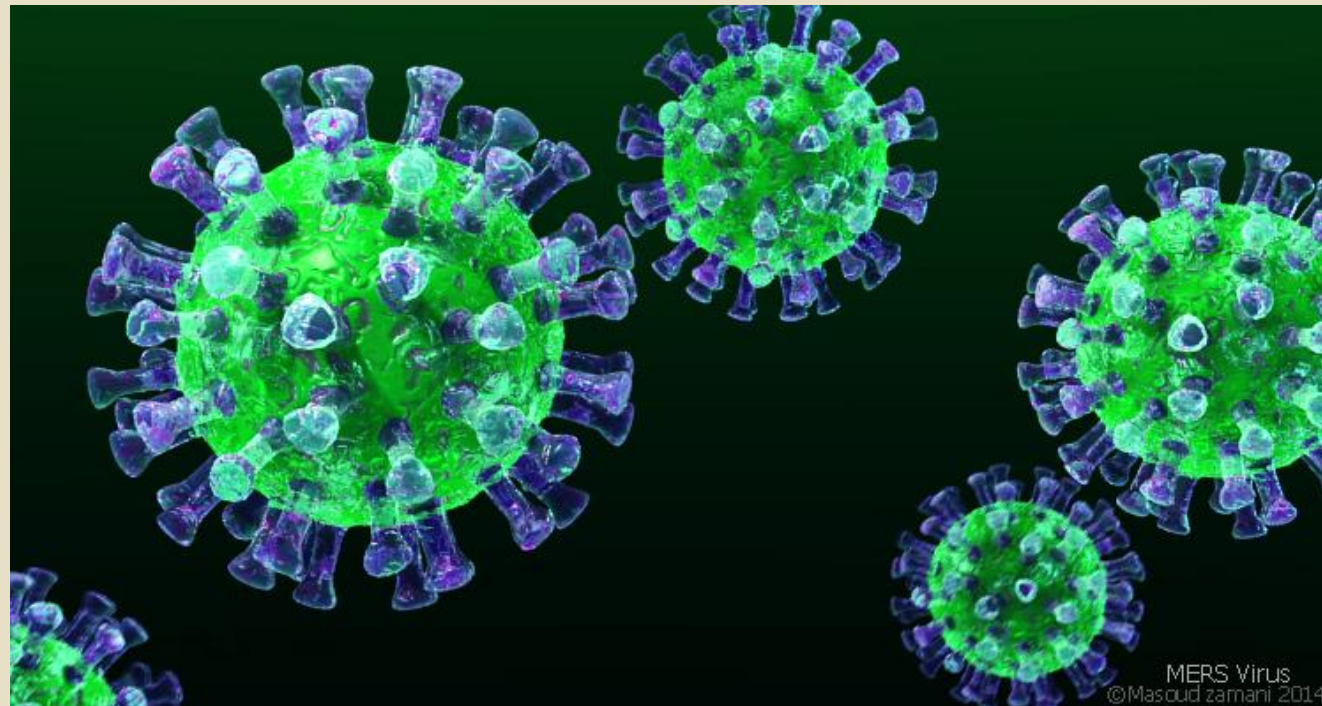
- Метапневмовирус человека является самой распространенной причиной ОРВИ у детей .
- На сегодняшний день не существует специфичного препарата против метапневмовируса .
- Большинство препаратов, ингибирующих вирусные ферменты , обладает высокой токсичностью.
- Растения семейства Розоцветные широко применяются в качестве лекарств и обладают малой токсичностью.
- Идея нашего проекта состояла в том , чтобы найти растительное вещество, которое помогло бы бороться с метапневмовирусом человека.

# Используемые термины

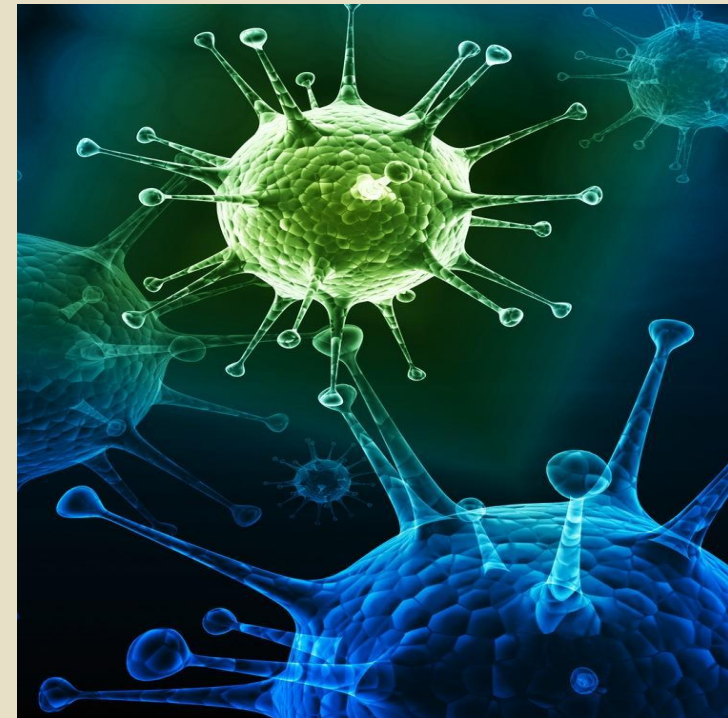
- Вирусы— неклеточные формы жизни, обладающие собственным геномом и способные к воспроизведению лишь в клетках более высокоорганизованных существ.
- Докинг – компьютерное моделирование связывания веществ .
- Рецептор — в данном случае: молекула фермента, на которую проводится докинг.
- Лиганд- в данном случае : малая молекула, докинг которой проводится на рецептор .
- Ингибитор — вещество, замедляющее протекание ферментативной реакции.
- Фермент – это **биологический катализатор**, который облегчает протекание химической реакции и за счет этого увеличивает её скорость.

# Разнообразие вирусов

- Коронавирус – возбудитель MERS (ближневосточного респираторного синдрома)

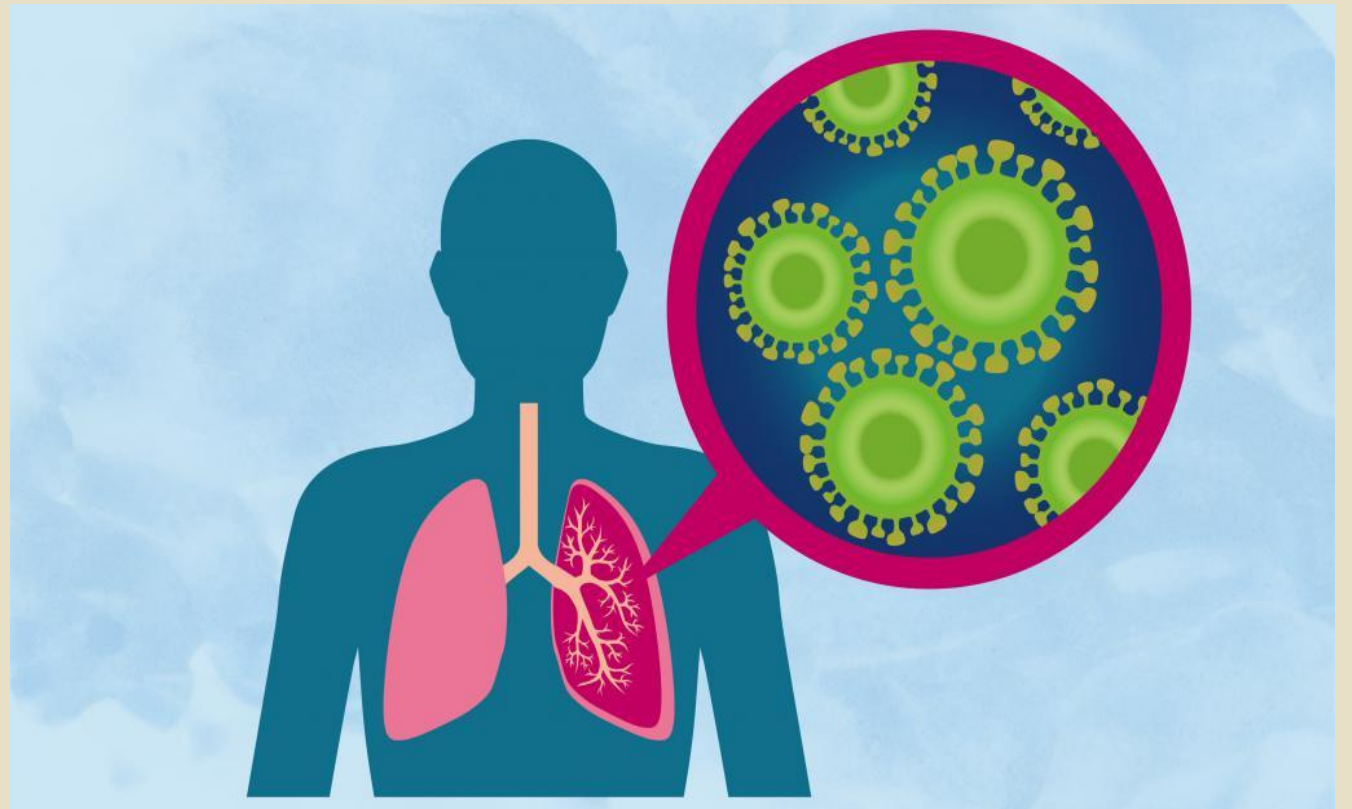


- Вирус гриппа

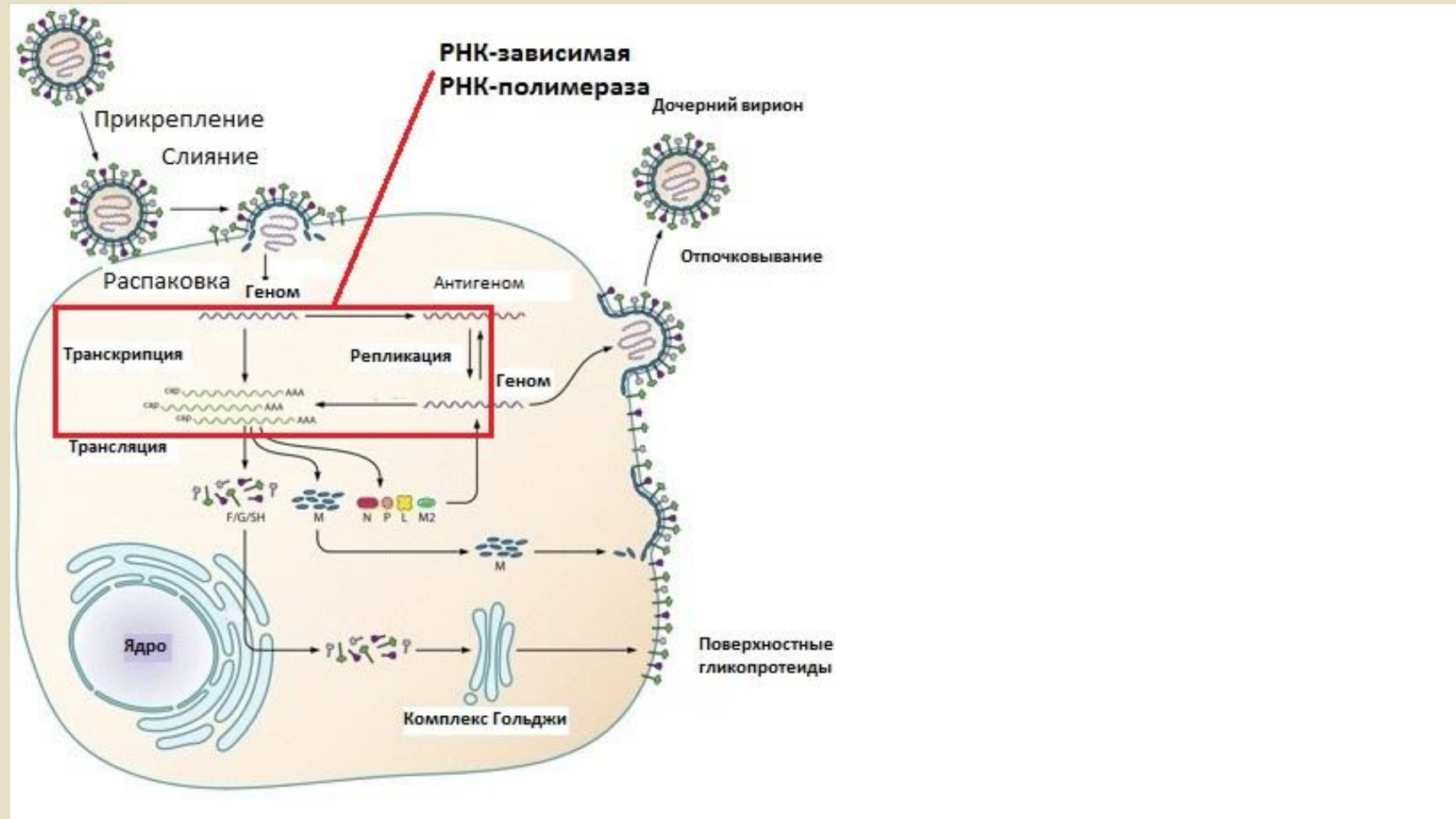


# Метапневмовирус человека

- Вид РНК-содержащих вирусов ,вызывает ОРВИ у человека, преимущественно у детей.
- Семейство: Paramyxoviridae (Парамиксовирусы).
- Род: Metapneumovirus (метапневмовирус).
- Открыт в 2001г.



# Жизненный цикл метатневмовируса



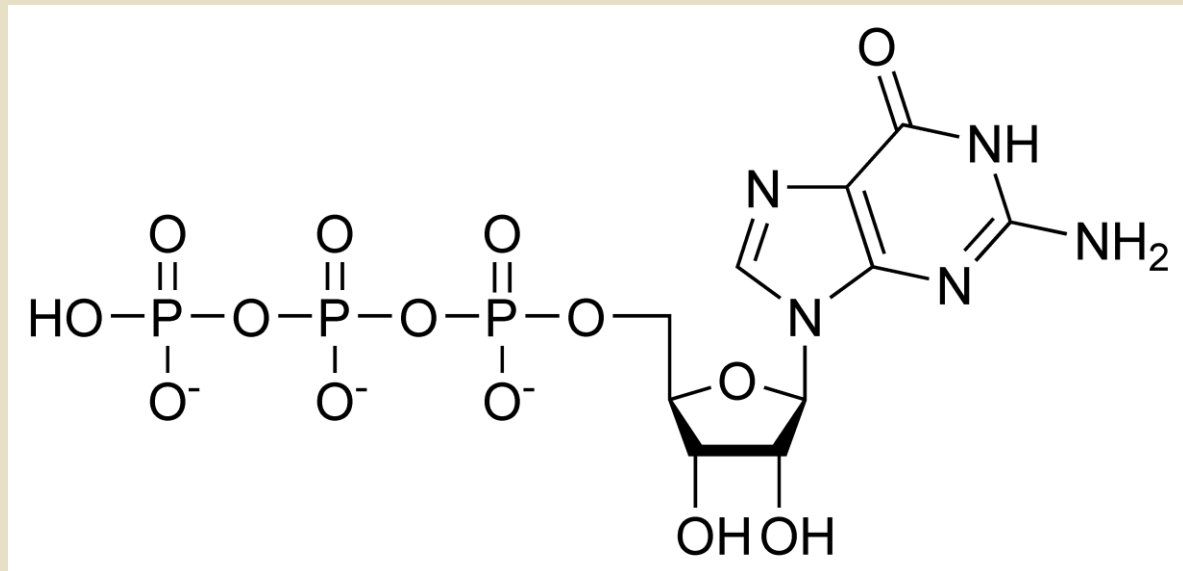
# Ключевой фермент метатневмовируса.

- РНК-зависимая РНК-полимераза: синтез РНК на матрице РНК.
- Осуществляет транскрипцию и репликацию.
- Известна 3D-структура части РНК-зависимой РНК-полимеразы (PDB ID: 4UCZ).

РНК-полимераза 4UCZ



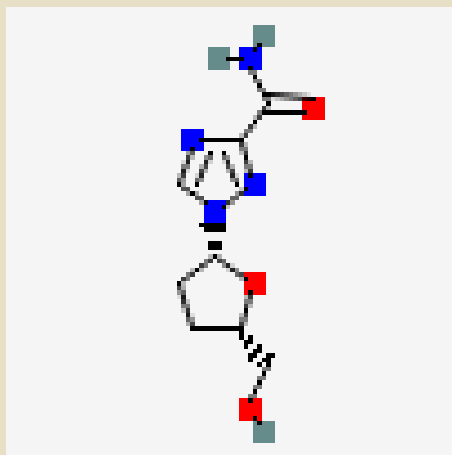
Субстрат: ГТФ



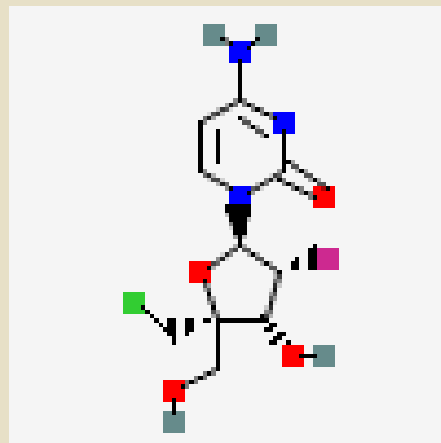
# Ингибиторы вирусных ферментов

- Антиметаболиты (нуклеозидные аналоги):

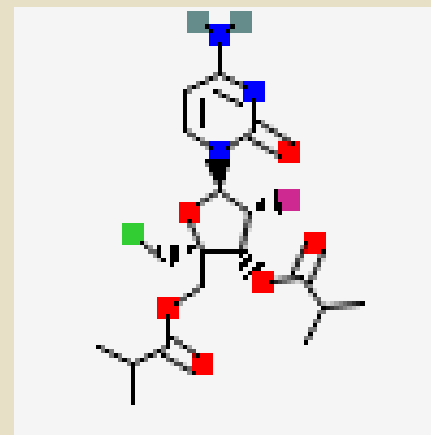
Рибавирин



2'-фтор-4'-хлорметилцитидин  
(ALS-8112).



Люмицитабин  
(ALS-8176).





# Цель работы

- Исследовать потенциальные ингибиторы вирусных ферментов в растениях .
- *(Возможна меньшая токсичность по сравнению с существующими ингибиторами).*

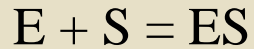
# Задача проекта

Поиск потенциальных ингибиторов РНК-зависимой РНК-полимеразы в растениях Московской области из семейства Розоцветные.

# Энергия и константа связывания веществ с ферментом

- -Необходимо связывание с РНК-зависимой РНК-полимеразой в том же месте, что и ГТФ/ГМФ.
- -Энергия связывания должна быть как можно ниже, желательно ниже, чем энергия связывания субстратов.

Смысл константы связывания:



$K = [E][S]/[ES]$ , размерность – моль/л

При  $[S] = K$

$[E] = [ES]$  – концентрация свободного фермента равна концентрации фермент-субстратного комплекса

(50% молекул фермента связано с субстратом)

$$K = e^{\Delta G/RT}$$

$\Delta G$  – энергия Гиббса связывания, Дж/моль

$R = 8,314$  Дж/(моль К) – универсальная газовая постоянная

$T$  – температура, К

(310 К – температура тела человека )

# Дизайн исследования

- - Выбор растений для литературного поиска: [floralib.msk.ru](http://floralib.msk.ru)
- - Поиск литературы об активных соединениях выбранных растений: GoogleScholar – запросы общего вида “*Genus species active compounds*”; “*Genus species active components*”; “*Genus species chemical composition*”, где Genus – родовое название, species – видовое название.
- - Составление списка активных соединений (химических названий)
- - Скачивание трёхмерных координатных файлов искомых соединений из базы данных PubChem;
- - Скачивание трёхмерных координатных файлов РНК-зависимой РНК-полимеразы из базы данных Protein Data Bank (ID: 4UCZ)
- - Работа в PyMol: определение центров масс лигандов (ГТФ и ГМФ); удаление лигандов из координатного файла; сохранение координатных файлов субъединиц; преобразование файлов соединений из .sdf в .pdb;
- - Работа в AutodockTools: подготовка файлов для докинга – добавление атомов водорода, зарядов атомов, сохранение в PDBQT-формате.
- - Молекулярный докинг в Autodock Vina
- - Отбор перспективных веществ среди исследованных соединений

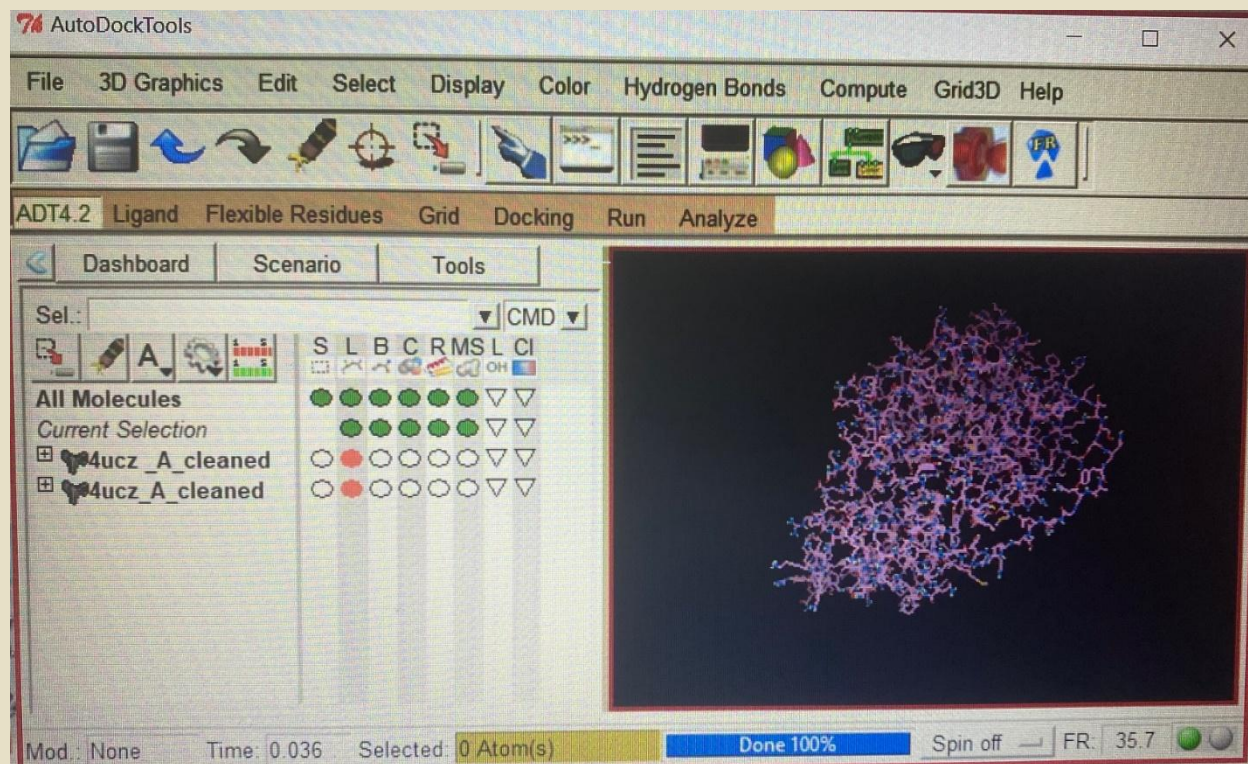
# Выбор растений (семейство Розоцветные)

- Род *Geum*: *Geum rivale*- Гравилат речной, *Geum urbanum*- Гравилат городской
- Род *Potentilla*: *Potentilla erecta*- Лапчатка прямостоячая ( Калган), *Potentilla anserina*- Лапчатка гусиная,*Potentilla norvegica* -Лапчатка норвежская , *Potentilla arenaria* -Лапчатка песчаная, *Potentilla argentea* -Лапчатка серебристая,
- Род *Filipendula*: *Filipendula vulgaris*-Лабазник обыкновенный( таволга), *Filipendula ulmaria*- Лабазник вязолистый ( таволга вязолистая ) .

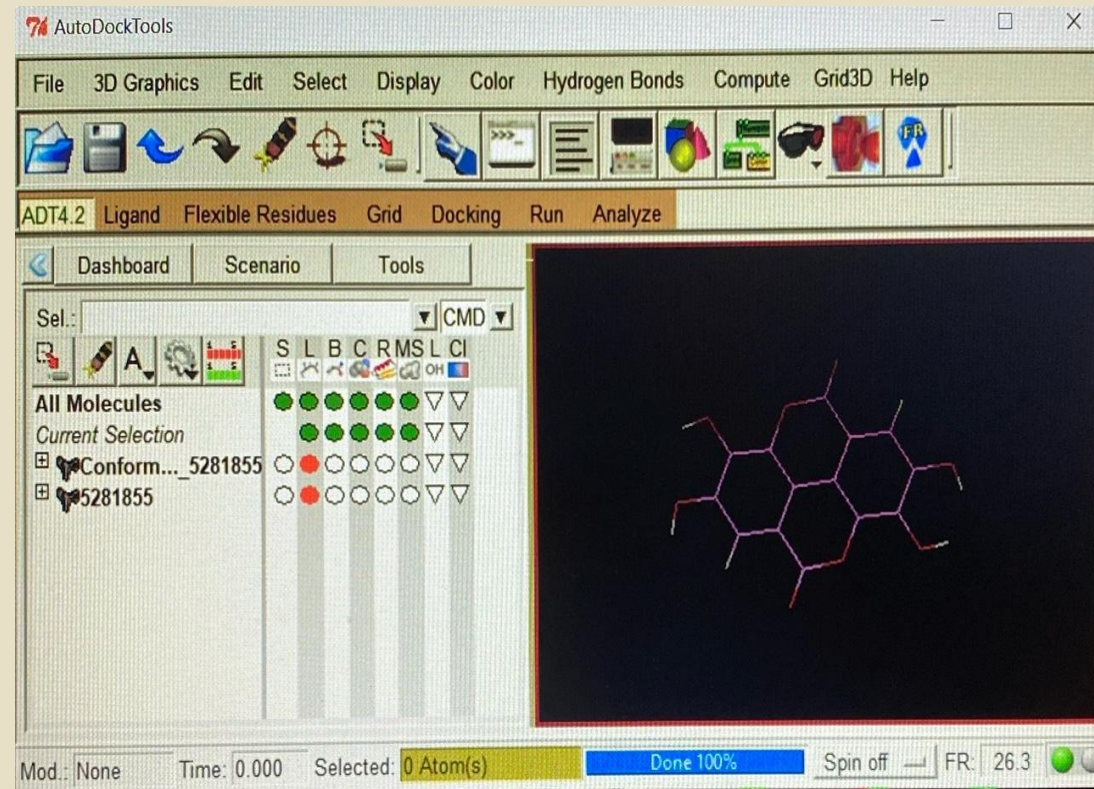
# Активные соединения: гравилат речной

- Gallic acid 370
- Protocatechuic acid 72
- P-Hydroxybenzoic acid 135
- Vanillic acid 8468
- Caffeic acid 689043
- Syringic acid 10742
- P-Coumaric acid 637542
- Ferulic acid 445858
- Sinapic acid 637775
- Ellagic acid 5281855
- Salicylic acid 338
- В гравилате речном содержатся следующие соединения, мы провели докинг этих веществ в РНК-полимеразу.

# Подготовка рецептора



# Подготовка лиганда



# Работа докинговой программы: 5-20 минут на вещество.

```
C:\WINDOWS\system32\cmd.exe
C:\Users\Asus\Desktop\Docking_Antamovna_noconfig>vina.exe --receptor 4ucz_A_cleaned.pdbqt --ligand 5281855.pdbqt --center_x 25 --center_y -11 --center_z -48 --size_x 30 --size_y 30 --size_z 30 --exhaustiveness 8 --out 5281855_4ucz_A_cleaned_30ex8.pdbqt --log 5281855_4ucz_A_cleaned_30ex8.log
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:      #
#                                                           #
# O. Trott, A. J. Olson,                                     #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and    #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461                                                    #
#                                                           #
# DOI 10.1002/jcc.21334                                     #
#                                                           #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.  #
#####
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -1077361256
Performing search ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
*****
```

```
Файл Правка Формат Вид Справка
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:      #
#                                                           #
# O. Trott, A. J. Olson,                                     #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and    #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461                                                    #
#                                                           #
# DOI 10.1002/jcc.21334                                     #
#                                                           #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.  #
#####
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -1077361256
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1      -8.4      0.000      0.000
2      -8.4      8.303      11.000
3      -8.4      8.305      10.600
4      -8.0      6.748      9.652
5      -7.9      8.925      10.602
6      -7.6      3.678      7.352
7      -7.6      2.380      4.122
8      -7.6      2.756      6.196
9      -7.6      7.798      10.592

writing output ... done.
```



# Докинг активных фенольных соединений из гравилата речного

Название вещества	Идентификатор PubChem	Энергия связывания, ккал/моль	Константа связывания, мкмоль/л
Галловая кислота	370	-6.1	50.044
Протокатеховая к-та	72	-6.1	50.044
Пара-гидроксибензойная к-та	135	-6.2	42.545
Ванильная кислота	8468	-5.9	69.240
Кофейная кислота	689043	-6.5	26.142
Сиреневая кислота	10742	-6.1	50.044
Паракумаровая к-та	637542	-6.3	36.170
Феруловая кислота	445858	-6.4	30.750
Синаповая кислота	637775	-6.4	30.750
Салициловая кислота	338	-6.1	50.044
<b>Эллаговая кислота</b>	<b>5281855</b>	<b>-8.2</b>	<b>1.655</b>

# Докинг субстратов РНК-полимеразы (цепь A/цепь B)

Субстрат	Энергия связывания кКал/моль	Константы связывания мкмоль/л
АТФ	-8.5 / -8,4	1.017/1.196
ГТФ	-9.1/ -8,8	0.384/ 0.625
УТФ	-8.7 / -8,3	0.735/ 1.407
ЦТФ	-8.8 / -8,2	0.625 / 1.655

# Эллаговая кислота: ВОЗМОЖНЫЙ КЛЮЧ К РНК-полимеразе?

- Связывание эллаговой кислоты с РНК-полимеразой сравнимо с субстратами РНК-полимеразы
- Возможно, производные эллаговой кислоты (в частности, гликозиды) будут обладать более сильным сродством к ферменту?
- В базе данных PubChem по запросу «ellagic acid» было обнаружено 14 соединений, в частности, гликозиды.
- Был проведён докинг этих соединений с РНК-зависимой РНК-полимеразой метапневмовируса. (среднее время докинга- 15-20 минут на вещество).

# Докинг производных эллаговой кислоты (15-20 минут/соединение/цепь)

ID Pubchem	102390018	133322358	5318135	10951064	102148497	54004380	101129363	101757027	53304703	101757026	101949535	10026656	78384860	10838304
ЭНЕРГИЯ СВЯЗЫВАНИЯ ЦЕПЬ А кКал/моль	-9.1	-8.5	-11.9	-9.5	-11.0	-9.9	-10.0	-10.3	-8.9	-10.4	-10.4	-10.3	-10.4	-9.0
ЭНЕРГИЯ СВЯЗЫВАНИЯ ЦЕПЬ В кКал/моль	-8.7	-8.4	-10.4	-9.3	-10.8	-9.7	-10.2	-10.1	-9.0	-9.7	-9.7	-10.8	-9.7	-9.3
Константы связ. А, мкмоль/л	0.38395	1.0169	0.00407	0.20057	0.01756	0.10477	0.0890746	0.054732	0.53122	0.046531	0.0465311	0.054732	0.046531	0.45162
Константы связывания	0.73499	1.196	0.046531	0.27750	0.024307	0.14496	0.064379	0.075727	0.45162	0.14496	0.14496	0.024307	0.14496	0.27750

# Перспективные производные эллаговой кислоты

Идентификатор	Название	Энергия связывания, ккал/моль (цепь А / цепь В)	Константа связывания, нмоль/л (цепь А / цепь В)	Вст речается в растениях
5318135	2-О-(6-О-бета-D-глюкопиранозил-бета-D-глюкопиранозил)эллаговая кислота	-11.9/-10.4	4.07/46.5	Filipendula ulmaria (таволга вязолистная), Potentilla anserina (лапчатка гусиная)
102148497	Эллаговой кислоты 2-О-(6-О-альфа-L-рамнопиранозил-бета-D-глюкопиранозид)	-11.0/-10.8	17.6/24.3	Filipendula ulmaria (таволга вязолистная), Potentilla anserina (лапчатка гусиная)
101129363	Эллаговой кислоты 4-ацетиларабинозид	-10.0/-10.2	89.07/64.38	Geum rivale (гравилат речной); Rubus idaeus (малина), Vitis rotundifolia (виноград круглолистный)
101757027	Эллаговой кислоты 4-ацетилксилозид	-10.3/-10.1	54.7/75.7	Geum rivale (гравилат речной), Geum urbanum (гравилат городской)

# Выводы.

- Производные эллаговой кислоты ( содержатся в семействе Розоцветные ) в проведённых вычислениях показали способность связываться с субстрат-связывающим доменом РНК-зависимой РНК-полимеразы метапневмовируса человека с очень низкими значениями энергий и констант связывания (менее -10 ккал/моль, менее 89,07 нмоль/л). Для сравнения, наиболее сильное связывание субстрата (ГТФ) характеризуется энергией -8,8 ккал/моль, что соответствует константе связывания 531,2 нмоль/л.
- Возможно, исследованные вещества окажутся применимы в качестве лекарственных средств против метапневмовирусной инфекции.

Спасибо за внимание!

