

УДК 577.152.314, 577.151.02

Моделирование структуры и скрининг ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 человека

И. В. Гущина^{1*}, Д. К. Нилов^{2*}, А. Л. Захаренко³, О. И. Лаврик^{3,4}, В. К. Швядас^{1,2*}¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 73²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40³Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8⁴Алтайский государственный университет, 656049, Барнаул, просп. Ленина, 61

*Авторы, внесшие равный вклад в представленную работу.

*E-mail: vyfas@belozersky.msu.ru

Поступила в редакцию 01.09.2016

Принята к печати 18.11.2016

РЕФЕРАТ Фермент репарации тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1 (Tdp1) является потенциальной молекулярной мишенью для противоопухолевой терапии. С использованием методов квантовой и молекулярной механики создана модель Tdp1 человека, учитывающая ионизационные состояния аминокислотных остатков активного центра и их взаимодействие с субстратом и конкурентными ингибиторами. В активном центре фермента идентифицированы полости, обеспечивающие связывание олигонуклеотида и фосфотирозина и представляющие интерес для дизайна ингибиторов. При помощи разработанной молекулярной модели обнаружены новые ингибиторы Tdp1, сульфогруппа которых способна занимать положение 3'-фосфатной группы субстрата с образованием водородных связей с Lys265, Lys495 и другими аминокислотными остатками участка связывания фосфотирозина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА докинг, ингибитор, молекулярное моделирование, тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ Tdp1 – тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1; Top1 – топоизомераза I; КМ – квантово-механический; ММ – молекулярно-механический.

ВВЕДЕНИЕ

Для снятия локальных напряжений ДНК-спирали в процессе репликации и транскрипции необходимо внесение одноцепочечных разрывов, которые осуществляются топоизомеразой I (Top1) [1, 2]. Однако в результате различных повреждений ДНК (разрывы цепи, повреждения азотистых оснований), а также под действием ингибиторов Top1 могут накапливаться ковалентные комплексы Top1-ДНК, в которых каталитический тирозин связан с 3'-концевым фосфатом [3, 4]. Восстановление исходной структуры ДНК и обеспечение репликации происходят в результате гидролиза таких комплексов тирозил-ДНК-фосфодиэстеразой 1 (Tdp1) – важным ферментом репарации ДНК, обнаруженным у человека и других эукариотических организмов [5–8].

Субстратом Tdp1 служит предварительно подвергшийся протеолизу комплекс Top1-ДНК, в котором Top1 представлена коротким пептидным фрагментом [9]. Tdp1 обладает широкой субстратной

специфичностью, поскольку Top1 вносит разрывы на различных участках цепи ДНК (хотя предпочтение отдается 3'-фосфодиэфирной связи тимидина) [10]. Активный центр Tdp1 располагается в центральной части субстратсвязывающей бороздки. Узкий участок бороздки с одной стороны от активного центра положительно заряжен и участвует в связывании цепи ДНК. Более широкий участок бороздки с другой стороны связывает пептидный фрагмент субстрата. В активном центре Tdp1 положение 3'-фосфатной группы субстрата стабилизируется водородными связями с остатками Lys265 и Lys495. Предполагается, что карбоксамидные группы Asn283 и Asn516 также вовлечены в связывание фосфата [11, 12]. Расщепление фосфодиэфирной связи между 3'-фосфатом и остатком тирозина осуществляется с участием боковых цепей His263 и His493 по механизму S_N2 (рис. 1) [13, 14]. В результате нуклеофильной атаки His263 образуется переходное состояние с фосфатом в конформации тригональной бипирами-

ды (в апикальных вершинах располагаются N^{c2} -атом His263 и тирозильный кислород). Остаток His493 выступает в роли донора протона для остатка тирозина в составе уходящей группы. Протонирование $N^{\delta 1}$ -атомов His263 и His493 стабилизируется водородными связями с боковыми цепями Glu538 и Gln294 соответственно. При этом непротонированное состояние N^{c2} -атома His263 может быть обусловлено близким расположением заряженных аминокрупп Lys265 и Lys495, а заряженное состояние His493 – близостью боковой цепи Asp288.

Камптотецин и его производные (иринотекан, топотекан) вызывают образование необратимых ковалентных комплексов Top1-ДНК и используются для повреждения ДНК опухолевых клеток [3]. Подавление репарации таких комплексов с помощью ингибиторов Tdp1 является перспективным путем усиления противоопухолевой активности камптотецинов, что подтверждается чувствительностью *TDP1*-дефицитных клеток к химиотерапии [15–17]. Хотя известно несколько соединений, подавляющих активность фермента, разработка лекарственных средств на основе ингибиторов Tdp1 пока далека от доклинической или клинической стадии. Так, ванадат-ион VO_4^{3-} , образующий координационную связь с His263 и имитирующий переходное состояние реакции, был использован при изучении механизма действия фермента и получении кристаллов комплексов Tdp1 с различными олигонуклеотидами и пептидными фрагментами [10, 13]. Вещества, ингибирующие Tdp1, обнаружены путем *in vitro* скрининга библиотек низкомолекулярных соединений среди стероидных производных [18], инденоизохинолинов [19, 20], миметиков фосфотирозина [21], тиоксотиазолидинонов [22], бензопентатиепинов [23] и диазаадамантанов [24]. Перечисленные соединения предположительно конкурируют за участок связывания субстрата, однако структуры фермент-ингибиторных комплексов неизвестны и не вполне понятна природа специфических взаимодействий этих веществ с остатками активного центра. Исследование взаимодействия некоторых ингибиторов с Tdp1 с использованием молекулярного докинга привело к противоречивым результатам, которые плохо согласуются с экспериментальными данными по ингибирующей активности соединений [25, 26]. Это дает основание предположить, что модели белка, построенные на основе кристаллических структур, нуждаются в уточнении и дополнительной оптимизации. В нескольких работах при оценке состояния ионизации боковых цепей гистидина [22] и лизина [18, 27] в активном центре не учитывали их молекулярное окружение и механизм реакции, что также ставит под вопрос достоверность моделирования. Очевидно,

что для изучения участков связывания потенциальных ингибиторов и адекватного описания взаимодействий необходима качественная модель Tdp1 человека, которая учитывала бы все особенности структурной организации активного центра. Целью настоящей работы было построение молекулярной модели Tdp1 с использованием гибридных методов квантовой и молекулярной механики и ее апробирование для компьютерного скрининга конкурентных ингибиторов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Создание модели белка

Молекулярную модель Tdp1 человека конструировали на основе кристаллической структуры 1nop (цепи A, C, D) [14]. Координаты неразрешенных петель в белке восстанавливали с помощью программы Swiss-PDBViewer 4.1 (осуществляет наложение структур) [28] и веб-сервера ModLoop (предсказывает положение недостающих тяжелых атомов) [29]. Координаты петли 425–434 перенесли из структуры 1qzq после ее наложения на 1nop, а координаты петли 560–567, которая отсутствует во всех структурах Tdp1, были предсказаны по аминокислотной последовательности.

Далее с использованием AmberTools 1.2 (<http://ambermd.org>) и пакета Amber 12 [30, 31], установленного на суперкомпьютере МГУ [32], моделировали фермент-субстратный комплекс Tdp1. Молекулу субстрата конструировали на основе структурного аналога из 1nop (ковалентный комплекс олигонуклеотид-ванадат-пептид), для чего атом ванадия заменили на фосфор. Для молекулярно-механического описания фосфотирозинового участка в молекуле субстрата использовали параметры из базы данных AMBER parameter database [33]. Остальные части субстрата и белок описывали с использованием силового поля *ff99SB* [34]. В структуру фермент-субстратного комплекса добавляли атомы водорода и помещали в ячейку воды (модель растворителя TIP3P, минимальное расстояние от белка до края ячейки – 12 Å). Для нейтрализации положительного суммарного заряда, обусловленного ионогенными группами белка и субстрата, в ячейку добавляли ионы хлора. Минимизацию энергии полученной системы проводили в две стадии. На первой стадии (2500 шагов по методу наискорейшего спуска, затем 2500 шагов по методу сопряженных градиентов) координаты белка и субстрата фиксировали позиционными ограничениями 2 ккал/(моль·Å²) на тяжелых атомах. На второй стадии (5000 шагов наискорейшего спуска, 5000 шагов по методу сопряженных градиентов) систему разделяли на кванто-

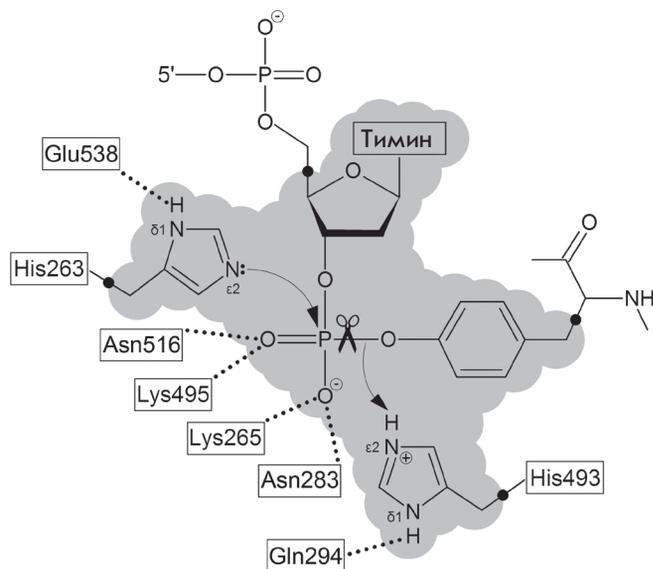


Рис. 1. Строение активного центра Tdp1. Остатки Lys265, Asn283, Lys495 и Asn516 участвуют в связывании фосфатной группы субстрата. В ходе реакции осуществляется нуклеофильная атака остатком His263 и перенос протона с His493 на уходящую группу. Серым цветом показан квантово-механический (КМ) регион, заданный при проведенном нами моделировании фермент-субстратного комплекса

во-механический (КМ) и молекулярно-механический (ММ) регионы. КМ-регион, включающий фрагмент субстрата и боковые цепи His263 и His493 (см. рис. 1), описывали полуэмпирическим гамильтонианом RM1 [35, 36] с использованием линкерных атомов на границе региона. Расчеты проводили с использованием периодических граничных условий и метода PME (Particle Mesh Ewald) для учета дальнедействующих электростатических взаимодействий.

Поиск связывающих карманов в полученной структуре Tdp1 осуществляли с помощью программ focket 2.0 и rocketZebra [37, 38], полости определяли в виде кластеров альфа-сфер (сферы, контактирующие с четырьмя атомами и при этом не содержащие внутренних атомов). Для детектирования полостей небольшого размера минимальное число альфа-сфер в полости уменьшали с 35 до 30, а максимальное расстояние между альфа-сферами на этапе кластеризации уменьшали с 2.5 до 2.4 Å. При поиске полостей не принимали в рассмотрение атомы водорода.

Компьютерный скрининг

Компьютерный скрининг ингибиторов Tdp1 проводили среди низкомолекулярных соеди-

нений из коммерческой библиотеки Vitas-M (<http://www.vitasmlab.com>). Протонирование и оптимизацию структуры соединений проводили согласно ранее описанной методике [39]. С использованием программы ACD/Spectrus DB 14.0 (<http://www.acdlabs.com>) из библиотеки отобрали соединения, содержащие сульфогруппу и удовлетворяющие правилу трех (молекулярная масса < 300, log P ≤ 3, доноры водородной связи ≤ 3, акцепторы водородной связи ≤ 3, вращаемые связи ≤ 3) [40, 41]. Из модели фермент-субстратного комплекса Tdp1 удаляли субстрат и молекулы воды, с помощью программы Lead Finder 1.1.15 [42, 43] строили потенциальную решетку (карту потенциала взаимодействия), охватывающую область активного центра. После этого проводили молекулярный докинг соединений в активный центр Tdp1 с использованием генетического алгоритма в режиме extra precision. Полученные структуры комплексов с ингибиторами оптимизировали по методике, примененной к фермент-субстратному комплексу Tdp1. При этом КМ-регион включал молекулу ингибитора и боковые цепи His263 и His493, молекулярно-механические параметры ингибиторов брали из силового поля GAFF [44]. Найденные позиции визуализировали с помощью программы VMD 1.9.2 [45].

Измерение ферментативной активности

Рекомбинантный белок Tdp1 человека экспрессировали в системе *Escherichia coli* и выделяли согласно [46]. Плазмида pET 16B Tdp1 была предоставлена д-ром К.У. Кальдекотт (Университет Сассекса, Великобритания). Фермент очищали хроматографией на никелевом сорбенте NTA-Ni²⁺-сефароза CL-6B с последующей доочисткой на фосфоцеллюлозе P-11. Ферментативную активность измеряли с использованием сконструированного ранее биосенсора 5'-(5,6 FAM-аас gtc agg gtc ttc c-BHQ1)-3', где FAM – флуорофор, BHQ1 – тушитель флуоресценции [23, 47]. Определение активности Tdp1 по отщеплению 3'-концевого заместителя BHQ1 проводили в следующих условиях: 50 mM Трис-НСl, pH 8.0, 50 mM NaCl, 7 mM β-меркаптоэтанол, 50 нМ биосенсор, 1.3 нМ Tdp1, 26°C. Скорость реакции при различных концентрациях ингибиторов STK370528 (Sigma-Aldrich) и STK376552 (Vitas-M Laboratory, Ltd.) измеряли на флуориметре POLARstar OPTIMA (BMG LABTECH, Германия). Измерения проводили в двух независимых экспериментах. Значения IC₅₀ (концентрация ингибитора, при которой активность фермента снижается на 50% [48]) определяли с помощью программы MARS Data Analysis 2.0 (BMG LABTECH).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Модель белка

При построении молекулярной модели Tdp1 человека для поиска конкурентных ингибиторов необходимо было выбрать подходящую кристаллическую структуру фермента, учесть ионизационные свойства важных для катализа аминокислотных остатков, а также воспроизвести оптимальную для взаимодействия с субстратом конформацию этих остатков. В базе данных Protein Data Bank представлены структуры апоформы Tdp1 (PDB ID 1jy1, 1qzq), а также комплексов с различными аналогами переходного состояния (1mu7, 1mu9, 1nop, 1rff, 1rfi, 1rg1, 1rg2, 1rh0, 1rgt, 1rgu). В качестве исходной структуры для моделирования был выбран комплекс с аналогом, наиболее близким по строению к природному субстрату, 1nop, в котором ванадат ковалентно связан с каталитическим остатком His263. В результате замены атома ванадия на фосфор получили стартовую структуру субстрата, представляющего олигонуклеотид 5'-GTT-3', присоединенный к пептиду KLNLYL через боковую цепь тирозина.

Важным этапом моделирования было восстановление неразрешенных петель 425–434 и 560–567, поскольку для дальнейшей оптимизации структуры необходима белковая цепь без разрывов. К структуре Tdp1 с достроенными петлями добавили атомы водорода, при этом в боковой цепи His263 водород был присоединен к N⁰¹-атому, а боковые цепи His493, Lys265 и Lys495 были заряжены. Координаты субстрата и добавленных атомов водорода оптимизировали с помощью двухстадийной минимизации энергии. На первой стадии провели молекулярно-механическую минимизацию с целью удаления наибольших напряжений в системе. На второй стадии для более точного описания взаимодействия субстрата с каталитическими остатками His263 и His493 использовали полуэмпирический гамильтониан RM1, эффективность которого была показана при симуляции биологических молекул [49, 50]. В табл. 1 приведены наиболее важные межатомные расстояния в активном центре стартовой и оптимизированной модели Tdp1. Исходное положение атомов фосфата в стартовой модели соответствует координатам ванадата в его комплексе с ферментом, являющемся аналогом переходного состояния. В результате оптимизации структуры фосфат приобретает тетраэдрическую конфигурацию, а расстояние между фосфором и His263 увеличивается с 2.0 до 2.7 Å, что означает переход активного центра в основное состояние. Водородные связи фосфатной группы с другими остатками не претерпевают существенных изменений. Это свидетельствует о том, что как в ос-

Таблица 1. Взаимодействия 3'-концевой фосфатной группы субстрата с остатками активного центра в стартовой и оптимизированной модели Tdp1 человека

Взаимодействие	Расстояние, Å	
	Стартовая модель	Оптимизированная модель
PO ₄ :P ... His263:NE2	2.0	2.7
PO ₄ :O _{bridging} ... His493:NE2	2.6	2.6
PO ₄ :O ... Lys265:NZ	2.8	2.7
PO ₄ :O ... Lys495:NZ	2.8	2.7
PO ₄ :O ... Asn283:ND2	3.0	2.8
PO ₄ :O ... Asn516:ND2	3.2	3.0

новном, так и в переходном состоянии в связывании субстрата участвуют боковые цепи Asn283 и Asn516, которые вместе с заряженными аминокислотными группами Lys265 и Lys495 образуют сеть водородных связей с 3'-фосфатной группой. После удаления субстрата из оптимизированной структуры получили модель Tdp1 для докинга низкомолекулярных соединений, в которой ориентация остатков активного центра способна обеспечить множественные взаимодействия с конкурентными ингибиторами.

Анализ поверхности субстратсвязывающей бороздки в модели Tdp1 позволил определить важные участки взаимодействия с потенциальными ингибиторами. Можно выделить две полости, обеспечивающие связывание олигонуклеотида и фосфотирозина, на границе которых располагаются боковые цепи His263 и Asn516 (рис. 2). Полость связывания олигонуклеотида представляет собой обширный участок, площадь поверхности которого составляет 666 Å². Среди аминокислотных остатков на этом участке можно отметить пары Ser400–Ser518 и Ser403–Ala520, которые участвуют в связывании второй и третьей фосфатной группы с 3'-конца. Полость связывания фосфотирозина существенно меньше по размеру (206 Å²), но при этом в ее формировании принимают участие все ключевые остатки активного центра – His263, His493, Lys265, Lys495, Asn283, Asn516, а также остатки Tyr204, Pro461 и Trp590, образующие гидрофобные контакты.

Большинство известных ингибиторов Tdp1 лишены отрицательно заряженных элементов структуры. Поэтому вполне возможно, что полость фосфотирозина, приспособленная для размещения 3'-концевого фосфата, не вовлечена в связывание этих соединений. Данное предположение подтверждается при моделировании связывания методом молекулярного

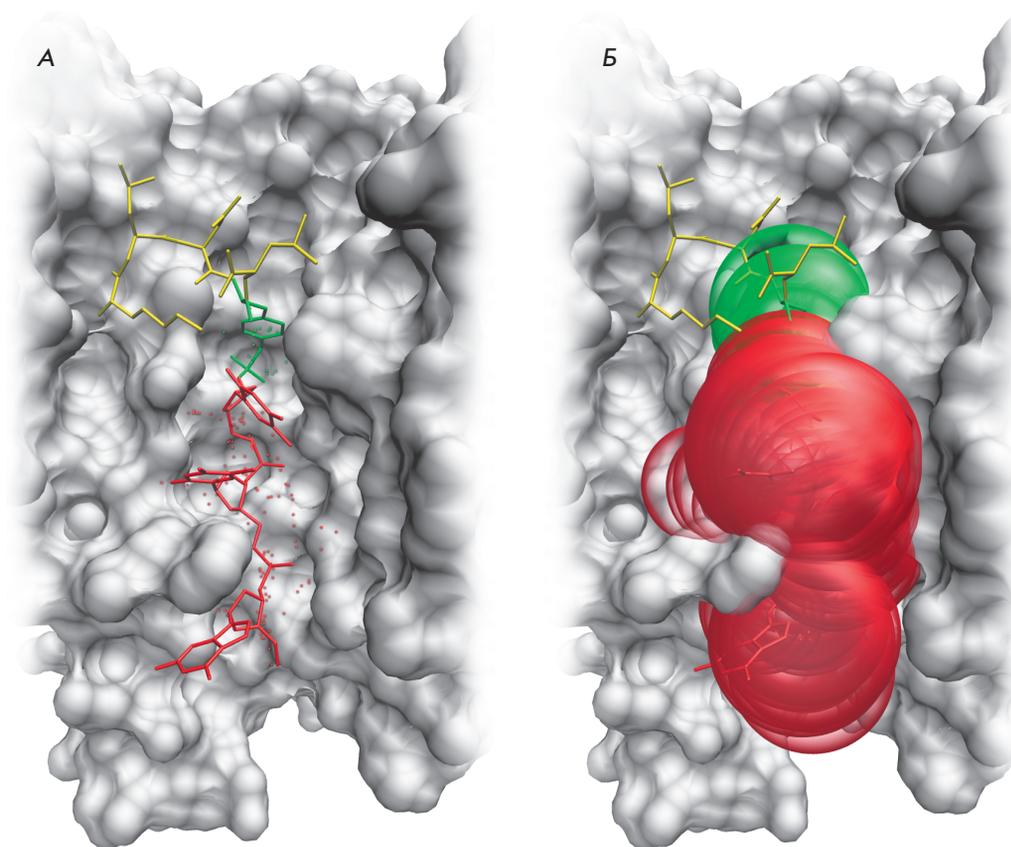


Рис. 2. Субстратсвязывающая бороздка в модели Tdp1 человека. А – взаимодействие молекулы субстрата с участками связывания олигонуклеотида и фосфотиروزина. Олигонуклеотид показан красным цветом, фосфотиروزин – зеленым, остальная часть пептида – желтым. Полости помечены точками, которые соответствуют центрам альфа-сфер. Б – расположение альфа-сфер в участках связывания олигонуклеотида и фосфотиروزина

докинга. Так, производные диазаадамантина, об ингибиторных свойствах которых сообщено недавно [24], располагаются на участке олигонуклеотида в активном центре модели Tdp1. Трициклический фрагмент занимает место третьего остатка рибозы с 3'-конца, а протяженный гидрофобный заместитель ориентирован в сторону участка связывания фосфотиروزина, однако с ним не взаимодействует (рис. 3А).

Скрининг ингибиторов

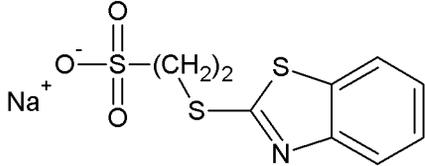
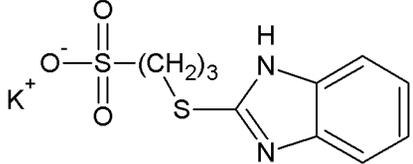
Наличие кластера консервативных остатков Lys265, Lys495, Asn283, Asn516, формирующих участок связывания фосфотиروزина, приводит к эффективно-му электростатическому взаимодействию фермента с субстратом и может быть важным структурным фактором, способным обеспечить связывание конкурентных ингибиторов, содержащих соответствующие заряженные функциональные группы. Такой функциональной группой могла бы быть сульфогруппа SO_3^- , являющаяся структурным аналогом фосфатной группы. Для проверки данного предположения из библиотеки низкомолекулярных соединений были отобраны сульфоновые кислоты и их соли (71 соединение), удовлетворяющие правилу трех, которое определяет диапазон физико-хими-

ческих параметров для молекулярных фрагментов (небольших молекул, используемых для первичного скрининга и последующей оптимизации структуры). Соединения докировали в активный центр модели Tdp1 и проверяли их способность к образованию водородных связей с Lys265, Lys495, Asn283, Asn516, а также других взаимодействий с участками связывания ДНК и пептида.

В результате проведенного скрининга были выбраны наиболее перспективные ингибиторы STK370528 и STK376552, в которых сульфогруппа соединена с гетероциклическим фрагментом с помощью тиоэфирного линкера (табл. 2, рис. 3Б). Конформацию аминокислотных остатков, взаимодействующих с STK370528 и STK376552 в полученных фермент-ингибиторных комплексах, затем оптимизировали с использованием гамильтониана RM1. Повторный молекулярный докинг с уточненными моделями белка показал, что STK370528 является более эффективным ингибитором и характеризуется лучшей энергией связывания ΔG^{recalc} (см. данные в табл. 2).

Ингибиторные свойства соединений по отношению к рекомбинантной форме Tdp1 человека изучали с использованием биосенсора, позволяющего определять активность фермента в режиме реального вре-

Таблица 2. Соединения, отобранные в результате компьютерного скрининга ингибиторов Tdp1 человека

Соединение	Химическая структура	ΔG^{calc} , ккал/моль	ΔG^{recalc} , ккал/моль	IC_{50} , мкМ
STK370528		-7.5	-8.7	83 ± 24
STK376552		-8.4	-8.0	686 ± 14

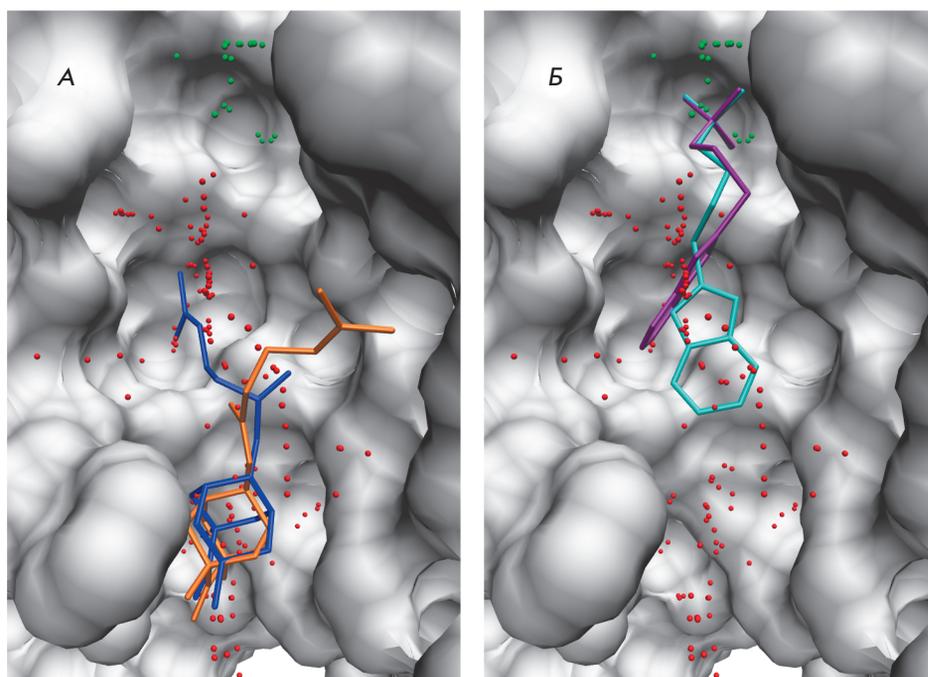


Рис. 3. Взаимодействие ингибиторов с субстрат-связывающей бороздкой в модели Tdp1 человека. А — связывание производных диазаадамантиана. Б — связывание сульфопроизводных STK370528 и STK376552. Полости олигонуклеотида и фосфотиروزина помечены альфа-сферами красного и зеленого цвета соответственно

мени – олигонуклеотида с флуорофором на 5'-конце и тушителем флуоресценции на 3'-конце. Метод основан на способности Tdp1 удалять с 3'-конца ДНК объемные аддукты различного происхождения [17], в том числе тушитель флуоресценции BHQ1 (Black Hole Quencher 1) [51]. После удаления BHQ1 в результате активности фермента происходит разгорание 5'-концевого флуорофора, и интенсивность флуоресценции зависит от количества расщепленного субстрата. На рис. 4 приведен типичный график зависимости скорости реакции от концентрации STK370528. Значения IC_{50} составили 83 мкМ для STK370528 и 686 мкМ для STK376552. Таким образом экспериментальное исследование подтвердило выводы молекулярно-

го моделирования и показало, что выбранные соединения являются ингибиторами Tdp1, подавляющими каталитическую активность фермента в микромолярном диапазоне концентраций.

Сульфогруппа ингибиторов способна занять положение 3'-фосфатной группы субстрата и образовать водородные связи с аминокислотными остатками Lys265, Lys495, Asn283, Asn516 и His493, формирующими участок связывания фосфотиروزина (рис. 5). Расположение гетероциклического фрагмента на участке связывания олигонуклеотида приводит к дополнительным взаимодействиям. В случае STK370528 бензотиазольная группа образует водородную связь с Asn516, а также гидрофоб-

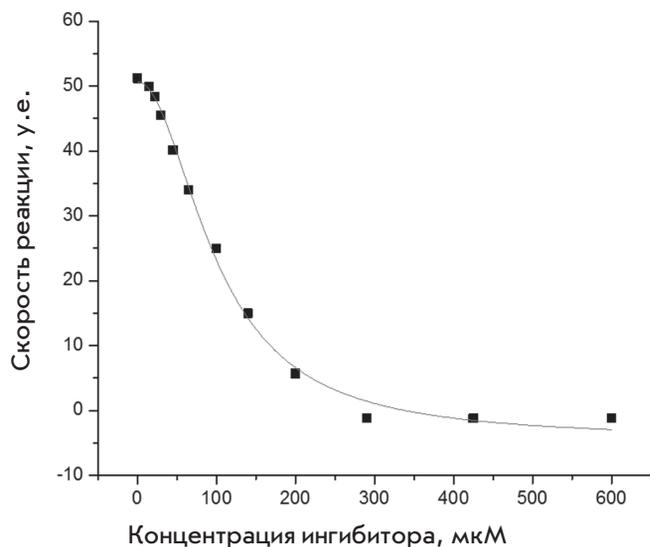


Рис. 4. Изменение скорости реакции, катализируемой Tdp1, при добавлении ингибитора STK370528

ные контакты с боковыми цепями Ala520 и Ala521. Гибкий линкер в структуре ингибиторов обеспечивает соединение групп, расположенных на различных участках активного центра Tdp1. В соединении STK376552 линкер удлиннен на одно метиленовое звено, что приводит к нарушению взаимодействия с Asn516 и Ala521 и снижению ингибирующей способности STK376552 по сравнению с STK370528.

Важную роль в связывании и ориентации ингибиторов в активном центре Tdp1 играют электростатические взаимодействия с заряженными остатками Lys265, Lys495 и His493. В случае незаряженных сульфонов (метилового и фенилового эфиров STK370528) эффективность взаимодействия с остатками активного центра снижается, что подтверждается большим числом возможных ориентаций ингибитора в активном центре фермента при молекулярном моделировании. Моделирование связывания инденоизохинолиновых сульфонов, которые ранее рассматривались в качестве потенциальных ингибиторов, однако не проявили активности в отношении Tdp1 [25], также свидетельствует о том, что этерифицированная сульфогруппа не способна обеспечить взаимодействие с участком связывания фосфотирозина.

ВЫВОДЫ

Проведенное исследование показало, что созданная молекулярная модель фермента репарации Tdp1, учитывающая особенности структурной организации активного центра, адекватно описывает харак-

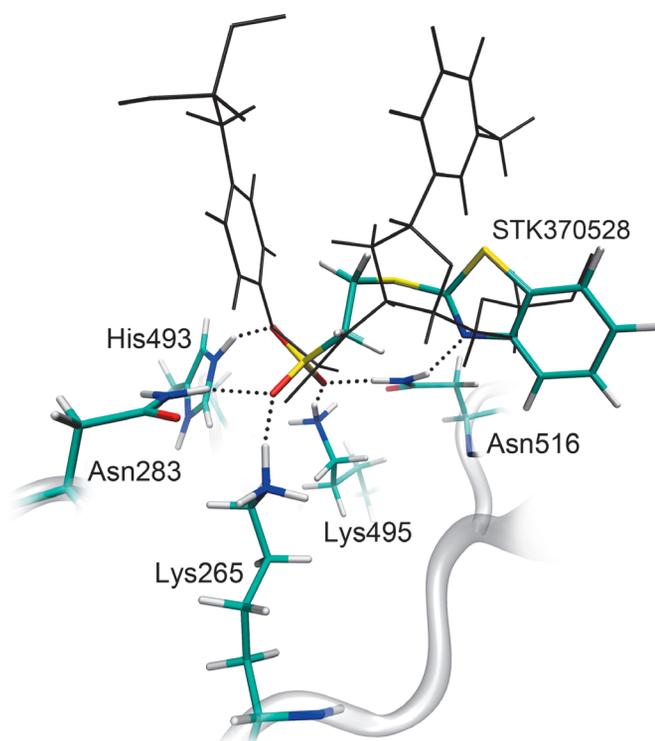


Рис. 5. Расположение ингибитора STK370528 в активном центре молекулярной модели Tdp1 человека. Пунктирными линиями показаны водородные связи, важные для стабилизации положения сульфогруппы. Серым цветом показаны координаты субстрата в модели фермент-субстратного комплекса

тер связывания низкомолекулярных соединений и позволяет отбирать конкурентные по отношению к субстрату ингибиторы с помощью компьютерного скрининга. На основе детального анализа межмолекулярных взаимодействий из компьютерной библиотеки соединений выбраны сульфонаты STK370528 и STK376552, подавляющие активность фермента в микромолярном диапазоне концентраций. Показано, что структурная организация и локализация участков связывания олигонуклеотида и фосфотирозина в субстратсвязывающей бороздке являются важными факторами, которые необходимо учитывать при создании новых ингибиторов Tdp1, а также оптимизации их структуры. ●

Работа поддержана грантом Президента РФ для молодых ученых (МК-7630.2016.4). Биохимические испытания ингибиторов Tdp1 поддержаны проектом комплексной программы СО РАН № П.2П/VI.57-4 (0309-2015-0023).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Champoux J.J. // *Annu. Rev. Biochem.* 2001. V. 70. P. 369–413.
2. Wang J.C. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2002. V. 3. P. 430–440.
3. Pommier Y. // *Nat. Rev. Cancer.* 2006. V. 6. P. 789–802.
4. Lebedeva N., Rechkunova N., Boiteux S., Lavrik O. // *IUBMB Life.* 2008. V. 60. P. 130–134.
5. Pommier Y., Redon C., Rao V.A., Seiler J.A., Sordet O., Takemura H., Antony S., Meng L., Liao Z., Kohlhagen G., et al. // *Mutat. Res.* 2003. V. 532. P. 173–203.
6. Murai J., Huang S.Y., Das B.B., Dexheimer T.S., Takeda S., Pommier Y. // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. P. 12848–12857.
7. Jakobsen A.K., Lauridsen K.L., Samuel E.B., Proszek J., Knudsen B.R., Hager H., Stougaard M. // *Exp. Mol. Pathol.* 2015. V. 99. P. 56–64.
8. Interthal H., Pouliot J.J., Champoux J.J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. V. 98. P. 12009–12014.
9. Deb ethune L., Kohlhagen G., Grandas A., Pommier Y. // *Nucl. Acids Res.* 2002. V. 30. P. 1198–1204.
10. Davies D.R., Interthal H., Champoux J.J., Hol W.G. // *J. Med. Chem.* 2004. V. 47. P. 829–837.
11. Davies D.R., Interthal H., Champoux J.J., Hol W.G. // *Structure.* 2002. V. 10. P. 237–248.
12. Raymond A.C., Rideout M.C., Staker B., Hjerrild K., Burgin A.B., Jr. // *J. Mol. Biol.* 2004. V. 338. P. 895–906.
13. Davies D.R., Interthal H., Champoux J.J., Hol W.G.J. // *J. Mol. Biol.* 2002. V. 324. P. 917–932.
14. Davies D.R., Interthal H., Champoux J.J., Hol W.G.J. // *Chem. Biol.* 2003. V. 10. P. 139–147.
15. Dexheimer T.S., Antony S., Marchand C., Pommier Y. // *Anticancer Agents Med. Chem.* 2008. V. 8. P. 381–389.
16. Beretta G.L., Cossa G., Gatti L., Zunino F., Perego P. // *Curr. Med. Chem.* 2010. V. 17. P. 1500–1508.
17. Comeaux E.Q., van Waardenburg R.C. // *Drug Metab. Rev.* 2014. V. 46. P. 494–507.
18. Dexheimer T.S., Gediya L.K., Stephen A.G., Weidlich I., Antony S., Marchand C., Interthal H., Nicklaus M., Fisher R.J., Njar V.C., et al. // *J. Med. Chem.* 2009. V. 52. P. 7122–7131.
19. Conda-Sheridan M., Reddy P.V., Morrell A., Cobb B.T., Marchand C., Agama K., Chergui A., Renaud A., Stephen A.G., Bindu L.K., et al. // *J. Med. Chem.* 2013. V. 56. P. 182–200.
20. Nguyen T.X., Abdelmalak M., Marchand C., Agama K., Pommier Y., Cushman M. // *J. Med. Chem.* 2015. V. 58. P. 3188–3208.
21. Marchand C., Lea W.A., Jadhav A., Dexheimer T.S., Austin C.P., Inglese J., Pommier Y., Simeonov A. // *Mol. Cancer Ther.* 2009. V. 8. P. 240–248.
22. Sirivolu V.R., Vernekar S.K., Marchand C., Naumova A., Chergui A., Renaud A., Stephen A.G., Chen F., Sham Y.Y., Pommier Y., et al. // *J. Med. Chem.* 2012. V. 55. P. 8671–8684.
23. Zakharenko A., Khomenko T., Zhukova S., Koval O., Zakharova O., Anarbaev R., Lebedeva N., Korchagina D., Komarova N., Vasiliev V., et al. // *Bioorg. Med. Chem.* 2015. V. 23. P. 2044–2052.
24. Захаренко А.Л., Пономарев К.Ю., Суслов Е.В., Корчагина Д.В., Волчо К.П., Васильева И.А., Салахутдинов Н.Ф., Лаврик О.И. // *Биоорган. химия.* 2015. Т. 41. С. 731–736.
25. Nguyen T.X., Morrell A., Conda-Sheridan M., Marchand C., Agama K., Birmingham A., Stephen A.G., Chergui A., Naumova A., Fisher R., et al. // *J. Med. Chem.* 2012. V. 55. P. 4457–4478.
26. Dean R.A., Fam H.K., An J., Choi K., Shimizu Y., Jones S.J., Boerkoel C.F., Interthal H., Pfeifer T.A. // *J. Biomol. Screen.* 2014. V. 19. P. 1372–1382.
27. Weidlich I.E., Dexheimer T., Marchand C., Antony S., Pommier Y., Nicklaus M.C. // *Bioorg. Med. Chem.* 2010. V. 18. P. 182–189.
28. Guex N., Peitsch M.C. // *Electrophoresis.* 1997. V. 18. P. 2714–2723.
29. Fiser A., Sali A. // *Bioinformatics.* 2003. V. 19. P. 2500–2501.
30. Case D.A., Darden T.A., Cheatham T.E., 3rd, Simmerling C.L., Wang J., Duke R.E., Luo R., Walker R.C., Zhang W., Merz K.M., et al. AMBER 12. University of California, San Francisco. 2012.
31. Case D.A., Cheatham T.E., 3rd, Darden T., Gohlke H., Luo R., Merz K.M., Jr., Onufriev A., Simmerling C., Wang B., Woods R.J. // *J. Comput. Chem.* 2005. V. 26. P. 1668–1688.
32. Воеводин В.Л., Жуматий С.А., Соболев С.И., Антонов А.С., Брызгалов П.А., Никитенко Д.А., Стефанов К.С., Воеводин Вад.В. // *Открытые системы.* 2012. Т. 7. С. 36–39.
33. Homeyer N., Horn A.H., Lanig H., Sticht H. // *J. Mol. Model.* 2006. V. 12. P. 281–289.
34. Hornak V., Abel R., Okur A., Strockbine B., Roitberg A., Simmerling C. // *Proteins.* 2006. V. 65. P. 712–725.
35. Rocha G.B., Freire R.O., Simas A.M., Stewart J.J.P. // *J. Comp. Chem.* 2006. V. 27. P. 1101–1111.
36. Walker R.C., Crowley M.F., Case D.A. // *J. Computat. Chem.* 2008. V. 29. P. 1019–1031.
37. Le Guilloux V., Schmidtke P., Tuffery P. // *BMC Bioinformatics.* 2009. V. 10. P. 168.
38. Suplatov D., Kirilin E., Arbatsky M., Takhaviev V., Švedas V. // *Nucl. Acids Res.* 2014. V. 42. P. W344–W349.
39. Нилов Д.К., Прохорова Е.А., Швядас В.К. // *Acta Naturae.* 2015. Т. 7. № 2. С. 62–68.
40. Congreve M., Carr R., Murray C., Jhoti H. // *Drug Discov. Today.* 2003. V. 8. P. 876–877.
41. Lipinski C.A. // *Drug Discov. Today Technol.* 2004. V. 1. P. 337–341.
42. Stroganov O.V., Novikov F.N., Stroylov V.S., Kulkov V., Chilov G.G. // *J. Chem. Inf. Model.* 2008. V. 48. P. 2371–2385.
43. Novikov F.N., Stroylov V.S., Stroganov O.V., Kulkov V., Chilov G.G. // *J. Mol. Model.* 2009. V. 15. P. 1337–1347.
44. Wang J., Wolf R.M., Caldwell J.W., Kollman P.A., Case D.A. // *J. Comput. Chem.* 2004. V. 25. P. 1157–1174.
45. Humphrey W., Dalke A., Schulten K. // *J. Mol. Graph.* 1996. V. 14. P. 33–38.
46. Lebedeva N.A., Rechkunova N.I., Lavrik O.I. // *FEBS Lett.* 2011. V. 585. P. 683–686.
47. Johansson M.K., Fidder H., Dick D., Cook R.M. // *J. Am. Chem. Soc.* 2002. V. 124. P. 6950–6956.
48. Neubig R.R., Spedding M., Kenakin T., Christopoulos A. // *Pharmacol. Rev.* 2003. V. 55. P. 597–606.
49. Seabra G. de M., Walker R.C., Roitberg A.E. // *J. Phys. Chem. A.* 2009. V. 113. P. 11938–11948.
50. Халиуллин И.Г., Нилов Д.К., Шаповалова И.В., Швядас В.К. // *Acta Naturae.* 2012. Т. 4. № 2. С. 83–89.
51. Jensen P.W., Falconi M., Kristoffersen E.L., Simonsen A.T., Cifuentes J.B., Marcussen L.B., Frohlich R., Vagner J., Harmsen C., Juul S., et al. // *Biosens. Bioelectron.* 2013. V. 48. P. 230–237.