

УДК 635.037

DOI: 10.31040/2222-8349-2023-0-4-44-50

БИОХИМИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ СИНЕРГЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПО ОТНОШЕНИЮ К ПРОТИВОМИКРОБНЫМ СРЕДСТВАМ МЕТОДАМИ КОМПЬЮТЕРНОЙ ХИМИИ

© Ю.А. Плотникова, Е.С. Барышева, С.А. Пешков

В связи с широким распространением устойчивости микроорганизмов к существующим лекарственным препаратам потребность в поиске и разработке новых антибактериальных форм чрезвычайно велика. Использование комплексов природных соединений, отличающихся большим разнообразием, и антибиотиков может позволить получать антимикробные агенты разнообразной химической структуры и механизма действия, и обеспечить появление новых эффективных лекарственных средств.

Существует большое количество доказательств того, что биологически активные вещества (БАВ) растительных экстрактов могут улучшать работу некоторых противомикробных препаратов, их эффект заключается: в способности нарушать структуру бактериальной плазматической мембраны, вызывая образование пор и утечку внутреннего содержимого; изменении электрического заряда и изменение полярности; увеличение проницаемости, изменение текучести и другие явления, ответственные за антибактериальную активность. Синтез антибактериальных соединений на основе химической модификации противомикробных агентов природными комплексами является одним перспективных методов в борьбе с антибиотикорезистентностью.

В данной работе исследовали синергетическое действие биологически активных веществ (БАВ) лекарственных растений по отношению к противомикробным средствам, цефтазидиму и фосфомицину с помощью методов компьютерной химии. Оценивался вариант воздействия БАВ как на антибиотик, так и на пенициллинсвязывающие белки или бета-лактамазы в составе комплекса с антибиотиком, в результате чего могло произойти ингибирование белка, его конформационная перестройка, либо уменьшение необходимой минимальной концентрации антибиотика.

В качестве исследуемых антибактериальных препаратов были выбраны цефтазидим и фосфомицин. Лигандами стали 8 молекул (БАВ), обладающих антимикробными свойствами, такие как: алицин, галловая кислота, дигидрокверцитин, рутин, атропин, танин, тимол и сапонин. В качестве моделей для связывания было выбрано 2 белка из базы данных «RCSB Protein Data Bank», относящихся к двум различным классам ферментов.

На первом этапе молекулы исследуемых веществ оптимизировались в небольшом приближении HF/3-21+G и рассчитывалась термодинамическая задача. Вторым этапом производился конфигурационный поиск, после которого проходил молекулярный докинг, связывание исследуемых веществ (лигандов) с молекулами белков в программе AutoDock 4.2.6. В результате удавалось получить несколько сайтов связывания, вероятность образования которых была бы наибольшая.

Ключевые слова: пенициллин-связывающий белок, бета-лактамазы, лиганды, молекулярный докинг, кластер связывания.

Введение. Использование биологически активных веществ (БАВ) природных соединений, отличающихся большим разнообразием, в комплексе с антибиотиками, может позволить получать антимикробные агенты разнообразной

химической структуры и механизма действия, и обеспечить появление новых эффективных лекарственных средств.

Некоторые из БАВ не активны при использовании в одиночку и проявляют соответст-

ПЛОТНИКОВА Юлия Александровна, Оренбургский государственный университет,
e-mail: shik8mail@mail.ru

БАРЫШЕВА Елена Сергеевна – д.м.н., Оренбургский государственный университет,
e-mail: baryshevae@mail.ru

ПЕШКОВ Сергей Алексеевич – к.х.н., Оренбургский государственный университет,
e-mail: darvin156@mail.ru

вуюющую активность только тогда, когда они вводятся вместе с антибиотиком. Другие соединения проявляют синергетическую активность по другим механизмам, в дополнение к собственной антимикробной активности из-за плейотропных эффектов. В данной работе предполагается, что молекулы БАВ могут воздействовать как на антибиотик, так и на пенициллинсвязывающие белки или бета-лактамазы в составе комплекса с антибиотиком [1], что может привести к ингибированию белка, его конформационной перестройке и, в конечном итоге, уменьшению необходимой минимальной концентрации антибиотика. В связи с этим целью работы было исследовать синергетическое действие БАВ по отношению к противомикробным средствам, цефтазидиму и фосфомицину, с помощью методов компьютерной химии.

Материалы и методы. Общий порядок работы выглядит следующим образом. Первым этапом молекулы исследуемых веществ оптимизировались в небольшом приближении HF/3-21+G и рассчитывалась термодинамическая задача. В другой статье [2] по расчетным данным были построены теоретические ИК-спектры и проведено их сравнение с экспериментальными, полученными от чистых растворов веществ, после экстракции и смешанных с противомикробными средствами. Таким образом, было установлено, отсутствие молекулярных и наличие межмолекулярных комплексов. Вторым этапом производился конфигурационный поиск, после которого проходил молекулярный докинг, связывание исследуемых веществ (лигандов) с молекулами белков в программе AutoDock 4.2.6. В результате удавалось получить несколько сайтов связывания, вероятность образования которых была бы наибольшая.

В качестве лигандов выбраны 8 молекул (БАВ), обладающих антимикробными свойствами, таких как: аллицин, галловая кислота, ди-

гидрокверцитин, рутин, атропин, танин, тимол и сапонин. Цефтазидим и фосфомицин были взяты для проверки, выбранной теоретической расчетной модели. Танин взят в виде упрощенной модели – дигаловой кислоты. В качестве моделей для связывания было выбрано 2 белка из базы данных "RCSB Protein Data Bank", относящихся к двум различным классам ферментов (табл. 1) [3, 4].

Белок **1BLH** из базы данных содержит в структуре ингибитор [[N-(Бензилоксикарбонил) Амино]Метил]Фосфата (FOS), аналог фосфомицина, который перед моделированием удалялся и использовался отдельно. Белок **3OCN** содержал в загруженной структуре антибиотик цефтазидим, который также перед расчетом вырезался из структуры. Перед моделированием из белков удалялась вода, восстанавливались неполярные водородные атомы, устанавливался заряд. Размер сетки включал белок и лиганд целиком. Использовался генетический алгоритм Ламарка с количеством запусков, равным 50, размер популяции 300, максимальное количество оценок энергии – долгое от 25000000, остальные параметры по умолчанию [5–7].

Вероятность связывания оценивали по нескольким критериям:

1. Количество необъединенных, индивидуальных сайтов (кластеров) связывания (N) для каждого БАВ. Меньшее их количество указывает на пучность, большее – на разброс по поверхности. Большой разброс точек говорит о плохой аффинности БАВ по отношению к лиганду.

2. Значение эффективности лиганда (LE). Большое значение по модулю указывает на хорошее связывание.

3. Константа ингибирования (K_i). Показывает расчетное значение концентрации БАВ, необходимое для присоединения к белку. Чем меньше, тем лучше [8]. Вместе с параметром LE показывает эффективность связывания с белком.

Т а б л и ц а 1

Сводные данные по белкам

	1BLH	3OCN
Класс	Бета-лактамаза	Пенициллинсвязывающий белок
Количество остатков	257	564
Молекулярный вес	29.09 кДа	61.7 кДа
Организм	Staphylococcus aureus	Pseudomonas aeruginosa

4. Свободная энергия образования (ΔG). Отрицательное значение указывает на смещение реакции в сторону образования комплекса лиганд-БАВ. Большее значение по модулю для текущего комплекса, по сравнению с другими, показывает силу и выгоду взаимодействия.

5. Количество водородных связей. Для индивидуального взаимодействия большее количество образуемых водородных связей указывает на наибольшую вероятность удержания на поверхности белка и, в общем, увеличивает шанс присоединения БАВ к этому участку.

6. Окружение комплекса аминокислотами каталитической триады. Это набор нескольких аминокислот, в основном, трех, строго скоординированных в активном центре фермента.

Механизм работы этой триады заключается в создании каскада кислота-основание-нуклеофил, позволяющего создать цепь переноса электрона и выполнить ковалентный катализ с полным или неполным разрушением продукта. За счет этого и осуществляется ингибирование.

Для лучшей интерпретации результатов у молекул белков, после визуализации расчетов, были выделены пять кластеров (рис. 1). Кластером называли совокупность сайтов связывания на поверхности белка, ограниченного некоторыми размерами и в сумме имеющего наибольшее количество точек связывания среди различных БАВ, и обладающего, в большинстве случаев, наименьшей средней свободной энергией.

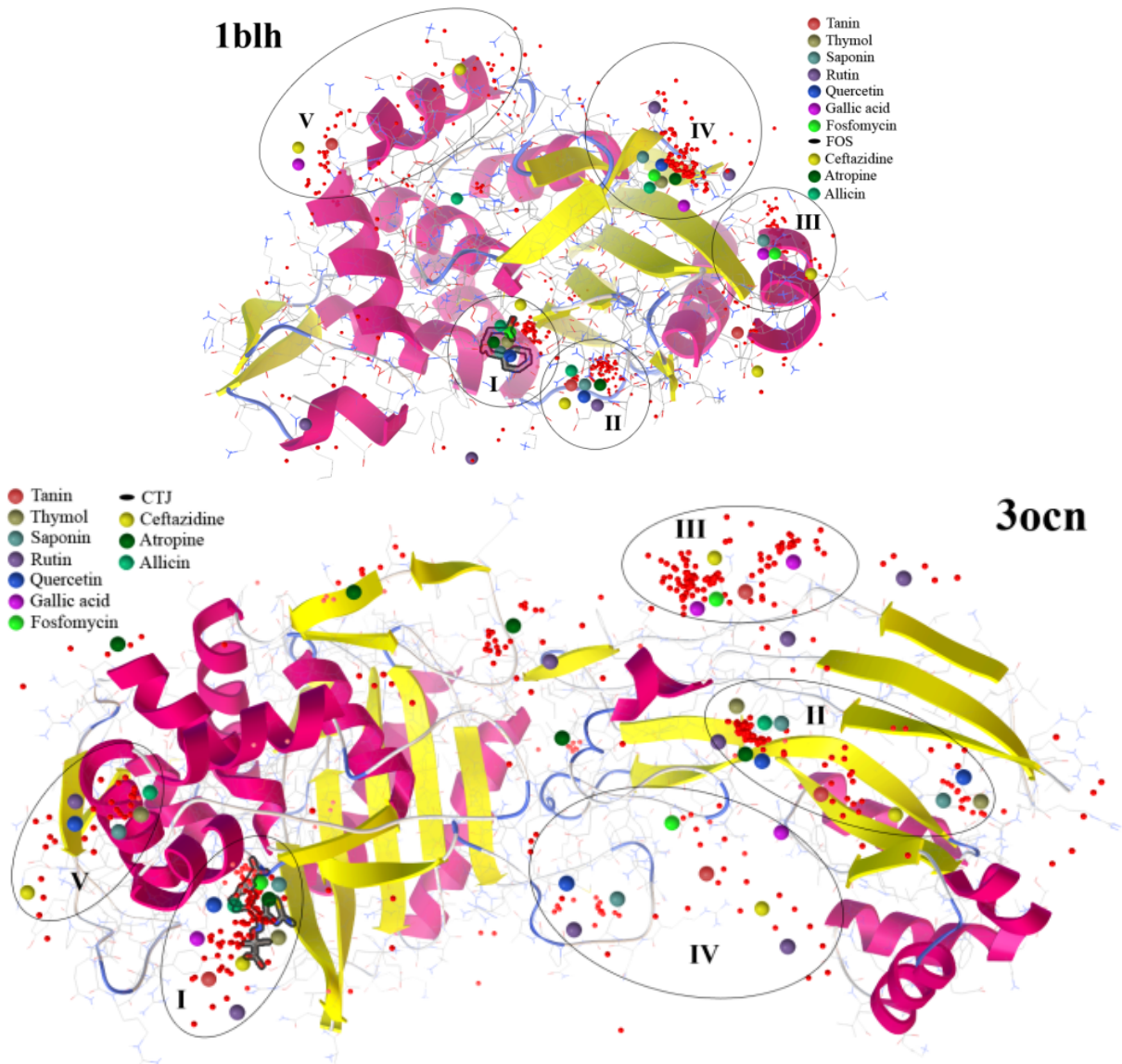


Рис. 1. Сайты связывания на поверхности белка. Красные точки – общее количество возможных взаимодействий; большие, цветные – наибольшее количество взаимодействий БАВ в этой области

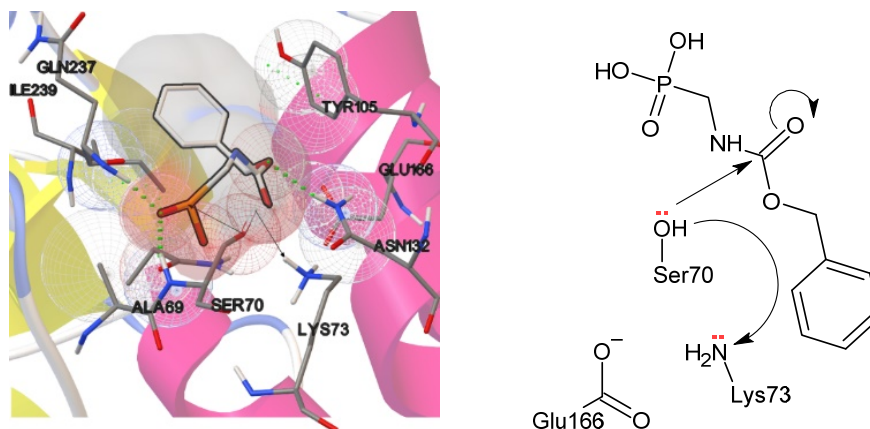


Рис. 2. Сайт связывания молекулы FOS с белком 1BLH и его каталитическая триада

Результаты и обсуждение. Результаты молекулярного докинга по определению сайта связывания FOS с бета-лактамазой (1BLH) совпали с результатами дифрактометрии приведенными в базе данных Protein Data Bank. Такие же данные получились и для цефтазида, но в отношении пенициллин-связывающего белка (3OCN). Это подтверждает хорошую воспроизводимость результатов, по выбранной расчетной модели. Более того, с помощью программы AutoDockTools, точно установлен активный центр, приходящийся на FOS и окружение аминокислот для белка 1BLH (рис. 2) [3].

Как видно из табл. 2, данные молекулярного докинга для каждого активного вещества имеют некоторый разброс, но обладают повторяемостью. Такой разброс можно обосновать разными классами веществ. Так, например, тимол, танин, рутин, кверцетин имеют схожие кластеры связывания. Подобные кластеры имеют цефтазидим, фосфомицин и FOS.

Для каждого БАВ в отношении двух белков был проведен отдельный комплексный анализ. Результаты анализа приведены в табл. 3.

Аллицин, скорее всего, имеет слабые шансы связывания с ферментами. Моделирование показало всего 1 водородную связь по кислороду карбонильной группы. В случае его присоединения к белку, эта группа будет заблокирована. На плохое связывание указывают высокие значения константы ингибирования и не высокие свободной энергии, в сравнении с противомикробными молекулами и другими БАВ.

Кластер связывания цефтазида для белка 3OCN совпадает с экспериментально установленным активным центром, приведенным в

базе данных PDB (кластер I). Для белка 1BLH фосфомицин имеет сайт связывания в I кластере, но абсолютное большинство конформаций находится в III кластере. Обе противомикробные молекулы имеют оптимумы, по совокупности параметров n , K_b , ΔG , LE , в III и, в отдельном случае, IV кластере, сильно удаленных от активного центра, находящегося в I кластере. Молекула FOS имеет сайты связывания как в I так и в IV кластере с большим количеством конформаций и, как указывалось ранее, точно установлено окружение аминокислот – каталитическая триада.

У галловой кислоты отсутствуют сайты связывания в I и II кластере для белков 1BLH и 3OCN. Наибольшее количество конформаций находится в III кластере для обоих белков. Значения K_b , ΔG , LE высокие и имеется большое количество водородных связей.

Кверцетин, рутин, атропин, сапонин и тимол имеют наибольшее количество точек связывания, для белка 1BLH, во II кластере, расположенном пространственно очень близко к I кластеру. Танин, в качестве исключения, обладает максимумом в III кластере, но также имеет и большое количество связываний во втором, тимол аналогично, но максимум находится в четвертом.

В итоге можно предположить, что лучшим взаимодействием с белком 1BLH должны обладать в порядке убывания сил связывания: танин, кверцетин, атропин. Но следует учитывать, что танин рассматривался в качестве дигалловой кислоты и настоящий танин вряд ли сможет обладать такими показателями, поэтому его показатели как ингибитора или регулятора активности белка 1BLH можно немного уменьшить.

Результаты молекулярного докинга белков с БАВ

		$\Delta G_{(max)}$ (кДж/моль)		$\Delta G_{(среднее)}$		K_i (мкМоль/л)		K_i (среднее)		n		LE		H-bond	
		1blh	3ocn	1blh	3ocn	1blh	3ocn	1blh	3ocn	1blh	3ocn	1blh	3ocn	1blh	3ocn
Allicin	I	-3.7	-3.5	-3.4	-2.6	2110	2950	2920	10157	5	11	-0.41	-0.38	1	1
	II	-3.4	-3.3	-3.3	-2.9	3200	3840	4324	6442	9	26	-0.38	-0.37	1	1
	III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	IV	-3.8	-	-3.6	-	1530	-	2238	-	24	-	-0.43	-	1	-
	V	-	-3.1	-	-2.9	-	5200	-	8318	-	4	-	-0.35	-	2
Ceftazidime	I	-5.2	-5.4	-5.2	-5.1	157	109	157	179	1	8	-0.14	-0.15	3	2
	II	-3.9	-5.7	-3.9	-3.7	1340	71	1340	6980	2	3	-0.11	-0.15	1	2
	III	-7.3	-6.2	-6.1	-4.1	5	31	81	2192	9	18	-0.2	-0.17	5	1
	IV	-	-4.7	-	-3.5	-	352	-	14793	-	4	-	-0.13	-	2
	V	-8.4	-4.8	-5.9	-3.7	1	290	210	2788	21	5	-0.23	-0.13	6	4
Fosfomycin	I	-3.8	-3.3	-3.8	-3.1	1560	3770	1560	6010	2	2	-0.48	-0.41	3	1
	II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	III	-4.7	-3.0	-4.5	-2.8	350	6540	512	8481	37	46	-0.59	-0.37	3	3
	IV	-4.3	-4.0	-4.3	-4.0	699	1210	798	1235	8	2	-0.54	-0.5	3	3
	V	-3.5	-	-3.4	-	2650	-	3030	-	4	-	-0.44	-	3	-
FOS	I	-5.2	-	-4.6	-	153	-	368	-	10	-	-0.35	-	3	-
	II	-4.8	-	-4.4	-	301	-	574	-	10	-	-0.32	-	3	-
	III	-5.1	-	-4.8	-	179	-	347	-	9	-	-0.34	-	3	-
	IV	-5.9	-	-4.9	-	50	-	218	-	18	-	-0.39	-	4	-
	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gallic acid	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	III	-5.9	-3.8	-5.1	-3.4	45	1730	146	3077	29	46	-0.49	-0.31	3	2
	IV	-5.9	-	-5.0	-	47	-	57	-	4	-	-0.49	-	4	-
	V	-5.1	-	-4.7	-	191	-	313	-	14	-	-0.42	-	2	-
Quercetin	I	-5.7	-5.1	-5.2	-4.4	67	171	182	805	7	18	-0.26	-0.23	3	4
	II	-6.1	-5.5	-5.8	-4.8	34	97	57	349	20	13	-0.28	-0.25	4	4
	III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	IV	-5.7	-4.3	-5.5	-3.9	64	723	99	1402	14	6	-0.26	-0.19	4	2
	V	-	-4.1	-	-3.6	-	1070	-	2940	-	3	-	-0.18	-	1
Rutin	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	II	-3.4	-	-2.0	-	3450	-	84335	-	12	-	-0.08	-	2	-
	III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	IV	-2.9	-	-2.2	-	7090	-	45490	-	5	-	-0.07	-	4	-
	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S_atropine	I	-5.9	-4.3	-4.9	-3.7	51	683	377	3741	13	3	-0.28	-0.21	2	1
	II	-5.5	-4.1	-4.8	-3.8	90	1060	383	2027	24	3	-0.26	-0.19	2	0
	III	-	-4.4	-	-3.1	-	570	-	6189	-	29	-	-0.21	-	1
	IV	-5.3	-	-4.7	-	140	-	519	-	6	-	-0.25	-	1	-
	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponin	I	-5.2	-4.5	-4.7	-3.9	165	546	361	1448	10	17	-0.3	-0.26	3	0
	II	-5.3	-4.6	-4.9	-3.7	125	463	248	1844	17	14	-0.31	-0.27	2	0
	III	-5.0	-	-4.6	-	212	-	332	-	9	-	-0.29	-	2	-
	IV	-5.0	-4.4	-4.8	-3.9	230	569	338	1497	9	7	-0.29	-0.26	2	2
	V	-	-3.9	-	-3.6	-	1310	-	2075	-	4	-	-0.23	-	0
Tanin	I	-	-4.5	-	-3.4	-	481	-	6133	-	9	-	-0.2	-	5
	II	-6.2	-4.2	-5.6	-3.1	31	909	86	6410	5	7	-0.27	-0.18	5	2
	III	-6.8	-3.5	-5.6	-2.7	10	2750	97	22461	14	9	-0.3	-0.15	5	4
	IV	-	-4.1	-	-3.2	-	956	-	6915	-	3	-	-0.18	-	4
	V	-5.9	-3.2	-5.6	-2.7	46	4180	87	12210	2	3	-0.26	-0.14	4	2
Thymol	I	-4.5	-4.0	-4.5	-3.8	490	1100	539	1870	5	10	-0.41	-0.37	3	2
	II	-4.5	-4.8	-4.3	-4.3	531	313	647	753	14	31	-0.41	-0.43	2	1
	III	-4.4	-	-4.4	-	560	-	575	-	2	-	-0.4	-	1	-
	IV	-5.0	-	-4.8	-	233	-	309	-	27	-	-0.45	-	3	-
	V	-	-3.9	-	-3.8	-	1420	-	1657	-	3	-	-0.35	-	0

Обобщенные результаты молекулярного докинга, указывающие кластер (место) вероятного присоединения БАВ к белкам

	1BLH				3OCN			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Allicin		*		*		*		
Ceftazidime			*		*		*	
Fosfomycin			*	*			*	
FOS	*			*				
Gallic acid			*				*	
Quercetin		*			*	*		
Rutin		*						
S atropine	*	*					*	
Saponin		*			*	*		*
Tanin		*	*		*			
Thymol		*		*	*	*		

Результаты молекулярного докинга для белка **3OCN** схожи с результатами для белка **1BLH** и коррелируют по многим БАВ и значениям K_b , ΔG , n , LE , H -bond, полученных для них. Существенное отличие, что у многих БАВ добавилось большое количество точек связывания в I кластере, там, где и находится активный центр белка, но II кластер также сохранился, однако в этом случае данный кластер пространственно значительно удален от I кластера. Так как **3OCN** является ПСБ, то можно предположить, что данные БАВ могут являться регуляторами активности белка и улучшать связывания противомикробных веществ с активным центром, действуя комплексно в виде межмолекулярного комплекса или отдельно, воздействуя одновременно на разные центры белка. Полный отрицательный результат показал рутин, свободная энергия при связывании с **3OCN** в его случае положительна, что указывает на невозможность образования комплекса. Плохие результаты также показали: тимол, сапонин и атропин. В целом значения ΔG , K_b , LE в сравнении с **1BLH** не сильно меньше по модулю, однако в некоторых случаях практически полностью отсутствуют водородные связи. За счет водородных связей происходит связывание и удержание молекул на поверхности белка, поэтому их малое количество или отсутствие, даже в случае низких значений свободной энергии, можно считать, указывает на невозможность присоединения к молекуле белка. Лучшие значения для **3OCN** показали танин и кверцетин.

Заключение. Обобщив результаты молекулярного докинга всех БАВ по двум белкам

можно сказать, что лучшим в роли ингибитора или регулятора активности белков **1BLH** и **3OCN** может выступать кверцетин либо дигалловая кислота (танин). В отдельных случаях могут использоваться тимол и сапонин. Вероятнее всего, это будет неконкурентное ингибирование, так как сайты связывания большинства БАВ находятся не в активном центре белков. Такой вариант предпочтительнее, так как в экспериментах *in vitro* [2] был доказан дозозависимый эффект.

Литература

1. Абеян Н., Грабский О., Тирацуян С. In silico Скрининг флавонов и их производных как потенциальных ингибиторов кворум-сенсинг регулятора LasR *Pseudomonas aeruginosa* // Молекулярная биология. 2020. Т. 54. № 1. С. 153–163.
2. Плотникова Ю.А. Химическая модификация противомикробных комплексов органическими молекулами с целью получения смешанно-лигандных антирезистентных агентов // Технологии живых систем. 2023. Т. 20. № 2. С. 42–52.
3. Chen C.C., Rahil J., Pratt R.F., & Herzberg O. Structure of a phosphonate-inhibited β -lactamase: an analog of the tetrahedral transition state/intermediate of β -lactam hydrolysis // Journal of molecular biology. 1993. V. 234. № 1. P. 165–178.
4. Sainsbury S., Bird L., Rao V., Shepherd S.M., Stuart D.I., Hunter W.N., Owens R.J., Ren J. Crystal structures of penicillin-binding protein 3 from *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of native and antibiotic-bound forms // Journal of molecular biology. 2011. V. 405. № 1. P. 173–184.
5. Huey R., Morris G.M., Forli S. Using AutoDock 4 and AutoDock vina with AutoDockTools: a tutorial // The Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory. 2012. T. 10550. № 92037. 1000 p.

6. Forli S., Huey R., Pique M. E., Sanner M.F., Goodsell D.S., & Olson A.J. Computational protein–ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite // *Nature protocols*. 2016. Т. 11. № 5. P. 905–919.

7. Праатама М.Р.Ф., Сисвандоно С. Изучение влияния количества запусков Autodock 4 на средне-квадратическое отклонение результатов докинга // *Фармация и фармакология*. 2020. Т. 8. № 6. С. 476–480.

8. Гендугов Т.А., Глушко А.А., Чиряпкин А.С., Чиряпкин В.С. Прогнозирование анксиолитического действия, опосредованного ГАМК А рецептором, методом молекулярного докинга // *Бюллетень науки и практики*. 2020. Т. 6. № 5. С. 38–45.

References

1. Abelyan N., Grabskij O., Tiracuyan S. In silico Skrining flavonov i ikh proizvodnykh kak potencial'nykh ingibitorov kvorum-sensing regulatora LasR *Pseudomonas aeruginosa* // *Molekulyarnaya biologiya*, 2020, vol. 54, no. 1, pp. 153–163.

2. Plotnikova YU.A. Khimicheskaya modifikaciya protivomikrobnnykh kompleksov organicheskimi molekulami s cel'yu polucheniya smeshanno-ligantnykh antirezistentnykh agentov // *Tekhnologii zhivyykh sistem*, 2023, vol. 20, no. 2, pp. 42–52.

3. Chen C.C., Rahil J., Pratt R.F., & Herzberg O. Structure of a phosphonate-inhibited β -lactamase: an

analog of the tetrahedral transition state/intermediate of β -lactam hydrolysis // *Journal of molecular biology*, 1993, vol. 234, no. 1, pp. 165–178.

4. Sainsbury S., Bird L., Rao V., Shepherd S.M., Stuart D.I., Hunter W.N., Owens R.J., Ren J. Crystal structures of penicillin-binding protein 3 from *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of native and antibiotic-bound forms // *Journal of molecular biology*, 2011, vol. 405, no. 1, pp. 173–184.

5. Huey R., Morris G.M., Forli S. Using AutoDock 4 and AutoDock vina with AutoDockTools: a tutorial // *The Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory*, 2012, vol. 10550, no. 92037, 1000 p.

6. Forli S., Huey R., Pique M. E., Sanner M.F., Goodsell D.S., & Olson A.J. Computational protein–ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite // *Nature protocols*, 2016, vol. 11, no. 5, pp. 905–919.

7. Pratama M.R.F., Sisvandonno S. Izuchenie vliyaniya kolichestva zapuskov Autodock 4 na sredne-kvadraticeskoe otklonenie rezultatov dokinga // *Farmaciya i farmakologiya*, 2020, vol. 8, no. 6, pp. 476–480.

8. Gendugov T.A., Glushko A.A., Chiryapkin A.S., Chiryapkin V.S. Prognozirovanie anksioliticheskogo dejstviya, oposredovannogo GAMK A receptorom, metodom molekulyarnogo dokinga // *Byulleten' nauki i praktiki*, 2020, vol. 6, no. 5, pp. 38–45.

BIOCHEMICAL INTERPRETATION OF THE SYNERGISTIC EFFECT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN RELATION TO ANTIMICROBIAL AGENTS BY COMPUTER CHEMISTRY METHODS

© Yu.A. Plotnikova, E.S. Barysheva, S.A. Peshkov

Orenburg State University

13, ave. Victory, 460018, Orenburg, Russian Federation

Due to the widespread resistance of microorganisms to existing drugs, the need for the search and development of new antibacterial forms is extremely high. The use of complexes of natural compounds, characterized by a wide variety, and antibiotics can make it possible to obtain antimicrobial agents of a diverse chemical structure and mechanism of action, and ensure the emergence of new effective medicines.

There is a large amount of evidence that biologically active substances (BAS) of plant extracts can improve the work of some antimicrobials, their effect is: the ability to disrupt the structure of the bacterial plasma membrane, causing the formation of pores and leakage of internal contents; changes in electric charge and polarity; increased permeability, change in fluidity and other phenomena responsible for antibacterial activity. Synthesis of antibacterial compounds based on chemical modification of antimicrobial agents by natural complexes is one of the promising methods in the fight against antibiotic resistance.

In this work, the synergistic effect of biologically active substances (BAS) of medicinal plants in relation to antimicrobial agents, ceftazidime and fosfomycin was investigated using computer chemistry methods. The variant of the effect of BAS on both the antibiotic and penicillin-binding proteins or beta-lactamases as part of a complex with an antibiotic was evaluated, as a result of which protein inhibition, its conformational rearrangement, or a decrease in the required minimum concentration of the antibiotic could occur.

Ceftazidime and fosfomycin were chosen as the studied antibacterial drugs. The ligands were 8 molecules (BAS) with antimicrobial properties, such as: allicin, gallic acid, dihydroquercetin, rutin, atropine, tannin, thymol and saponin. 2 proteins from the RCSB Protein Data Bank database belonging to two different classes of enzymes were selected as binding models.

At the first stage, the molecules of the studied substances were optimized in a small approximation HF/3-21+G and the thermodynamic problem was calculated. The second stage was a configuration search, after which molecular docking took place, binding of the studied substances (ligands) with protein molecules in the AutoDock 4.2.6 program. As a result, it was possible to obtain several binding sites, the probability of which would be the greatest.

Keywords: penicillin-binding protein, beta-lactamases, ligands, molecular docking, binding cluster.