

**FAVIPIRAVIR-TRIMETOPRIM SUPRAMOLEKULAR
KOMPLEKSINING DIGIDROFOLATREDUKTAZA FERMENTIGA
BOG‘LANISHINI AUTODOCK YORDAMIDA NAZARIY TADQIQ
QILISH**

¹Choriyev Odil Irgashevich

¹Ashurov Jamshid Mengnorovich,

¹Yeshimbetov Alisher Gulumbayevich,

¹Ibragimov Baxtiyor To‘laganovich

¹O‘zR FA akad. O.S. Sodiqov nomidagi Bioorganik kimyo instituti

***Annotatsiya.** Maqolada saratonga va bakteriyalarga qarshi dori vositalarini izlashda nishon oqsili sifatida ishtirok etuvchi digidrofolatreduktaza (DHFR) fermenti bilan favipiravir–trimetoprim (FAV·TMP) supramolekulyar kompleksining o‘zaro ta’siri AutoDock dasturi yordamida nazariy jihatdan o‘rganildi. Tadqiqot natijalariga ko‘ra, hosil qilingan kompleksning bog‘lanish energiyasi alohida olingan FAV va TMP ligandlariniki bilan solishtirilganda kuchliroq ekani aniqlandi, bu esa uning potentsial farmakologik ahamiyatini ko‘rsatadi.*

***Kalit so‘zlar:** Favipiravir, trimetoprim, digidrofolatreduktaza, molekulyar doking, AutoDock.*

**ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ
СУПРОМОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА ФАВИПИРАВИР-
ТРИМЕТОПРИМ С ФЕРМЕНТОМ ДИГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗОЙ С
ПОМОЩЬЮ AUTODOCK**

¹Чориев Одил Иргашевич

¹Ашууров Джамшид Менгнорович

¹Ешимбетов Алишер Гулумбаевич

¹Ибрагимов Бахтиёр Тўлаганович

¹Институт биоорганической химии имени акад. А.С. Содикова АН РУз

***Аннотация.** В статье теоретически исследовано взаимодействие супрамолекулярного комплекса фавипиравир–триметоприм (FAV·TMP) с*

ферментом дигидрофолатредуктазой (DHFR), выполняющим функцию мишени при поиске противоопухолевых и антибактериальных лекарственных средств. Согласно результатам молекулярного докинга, энергия связывания образованного комплекса оказалась выше, чем у отдельных лигандов FAV и TMP, что указывает на его потенциальную фармакологическую значимость.

Ключевые слова: Фавипиравир, триметоприм, дигидрофолатредуктаза, молекулярный докинг, AutoDock.

THEORETICAL STUDY OF THE BINDING OF THE FAVIPIRAVIR-TRIMETHOPRIM SUPRAMOLECULAR COMPLEX WITH THE DIGIDROFALATE REDUCTASE ENZYME USING AUTODOCK

¹Choriev Odil Irgashevich

¹Ashurov Djamshid Mengnorovich

¹Eshimbetov Alisher Gulumbaevich

¹Ibragimov Bakhtiyor To'laganovich

¹Institute of Bioorganic Chemistry named after acad. A. Sodikova AS RUz

Annotation. This study presents a theoretical investigation of the supramolecular complex formed between favipiravir and trimethoprim (FAV·TMP) and its interaction with the dihydrofolate reductase (DHFR) enzyme, which serves as a target protein in the search for anticancer and antibacterial drugs. Molecular docking results indicate that the binding energy of the FAV·TMP complex is significantly stronger compared to that of the individual FAV and TMP ligands, suggesting enhanced binding affinity and potential pharmacological relevance.

Key words: Favipiravir, trimetoprim, dihydrofolate reductase, molecular docking, AutoDock.

Kirish.

Hozirgi kunda farmatsevtika sohasida yangi dori vositalarini yaratishda mavjud dorilarni modifikatsiya qilish, shuningdek, ularning organik tuzlari va co-kristallarini olish orqali yangi biologik faollikka ega birikmalarni yaratishga alohida e'tibor qaratilmoqda [1–3]. Shu yo'nalishdagi avvalgi izlanishlarimiz

natijasida favipiravirning lamivudin bilan hosil qilgan kompleksi alohida olingan ligandlarga nisbatan yuqori faollik ko'rsatgani aniqlangan edi [4]. Mazkur ishda shu yo'nalishdagi tadqiqotlarimizni davom ettirar ekanmiz, favipiravirning trimetoprim (TMP) bilan hosil qilgan supramolekulyar kompleksining digidrofolatreduktaza (DHFR) fermenti bilan o'zaro ta'sirini nazariy jihatdan o'rganishga qaratilgan dastlabki natijalar taqdim etiladi.

Adabiyotlar tahlili

Trimetoprim (TMP) keng ta'sir doirasiga ega sintetik mikrobg qarshi vosita bo'lib, asosan peshob yo'llari infeksiyalarini davolashda yakka holda yoki sulfanilamidlar (sulfametoksazol, sulfadiazin, sulfamoksol) bilan birgalikda qo'llaniladi [5]. Ushbu antibiotik bakterial digidrofolatreduktaza (DHFR) ni selektiv tarzda ingibirlovchi pirimidin guruhiga mansub antifo'lat preparat hisoblanadi. DHFR fermenti tirik organizmlarda muhim biologik funksiyani bajaradi — u digidrofolatni tetragidrofolatga (THF) qaytarish reaksiyasini katalizlab, folatga bog'liq fermentlar faoliyati va DNK sintezi uchun zarur bo'lgan metabolitlarni ta'minlaydi [6, 7].

DHFR faoliyatining ingibirlanishi nuklein kislotalar va oqsillar sintezi uchun zarur bo'lgan moddalarning yetishmovchiligiga, shuningdek, DNK sintezi to'xtashiga hamda natijada o'sma yoki bakteriya hujayralarining halok bo'lishiga olib kelishi mumkin. Shu sababli, DHFR ingibitorlari turli xil o'sma kasalliklari va bakteriya infeksiyalarini nazorat qilishda qo'llaniladi [8]. Molekulyar darajada ligandning retseptor bilan bog'lanish xususiyatlarini tushunish yuqori ingibirlash potentsiali va yuqori selektivlikka ega bo'lgan yangi dori vositalarini ishlab chiqishda muhim ahamiyat kasb etadi [7].

So'nggi yillarda *in silico* yondashuvlari, xususan, molekulyar doking usuli yangi biologik faol birikmalarni nazariy asosda skrining qilish, ularni farmakologik tadqiqotlarga tavsiya etish maqsadida keng qo'llanilmoqda [9, 10]. Molekulyar doking ligand molekulasining retseptor (oqsil) faol markazi bilan o'zaro ta'sirini, bog'lanish konformatsiyasini va bog'lanish energiyasini baholashga imkon beradi.

Shu munosabat bilan, ushbu ishda AutoDock dasturi yordamida favipiravir–trimetoprim supramolekulyar kompleksining digidrofolatreduktaza fermenti bilan bog‘lanish xususiyatlari nazariy jihatdan o‘rganildi.

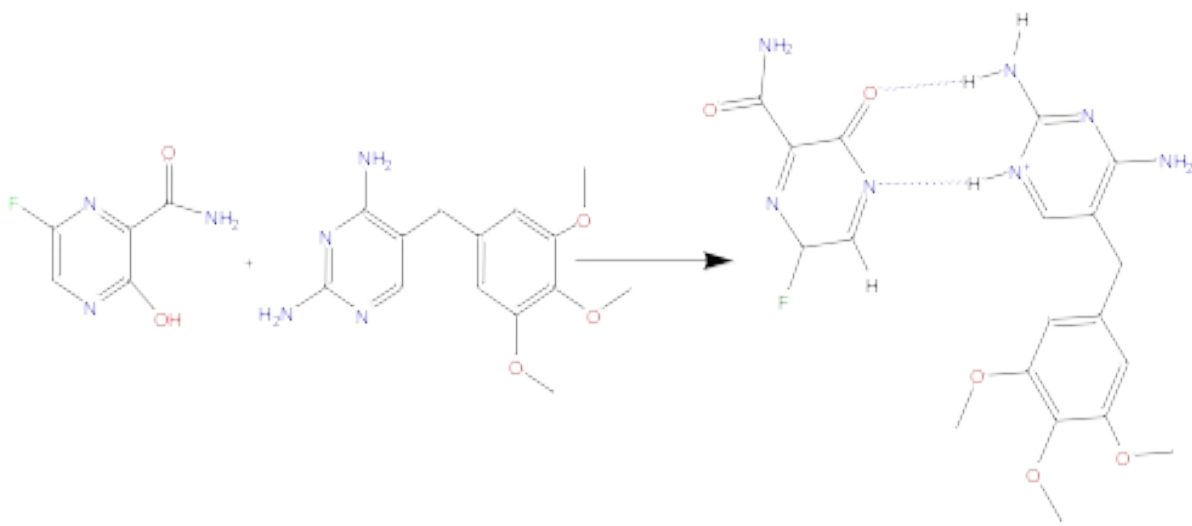
Metodika va usullar:

Kompleks sintezi: Favipiravir (15.7 mg, 0.1 mmol) va trimetoprim (29 mg, 0.1 mmol) 1:1 molyar nisbatlarda olindi va har biri alohida idishlarda 50°C haroratda 4 ml etanolning 50% li suvli eritmasida, 5 daqiqa davomida ultratovushli suv hammomida eritildi. Eritmalar qizdirilgan holatda reaksiyaga kiritirildi (pH-7), 40°C haroratda 30 daqiqa davomida mexanik aralashtirgichda aralashtirildi. Eritma sekinlik bilan sovutildi va xona haroratidagi (22°C) termostatda qoldirildi, 4 hafta davomida erituvchilarni bug‘latish orqali monokristallar o‘stirildi. Mikroskop ostida kuzatildi hamda RTT uchun yaroqli monokristallar ajratib olindi. Mahsulot unumi 85% (37.9 mg), suyuqlanish harorati 110°C.

Molekulyar doking metodikasi: Doking tadqiqoti uchun digidrofolatreduktaza (DHFR) fermentining 1U72 identifikatoriga ega kristall strukturasi Protein Data Bank ma’lumotlar bazasidan yuklab olindi [11]. Ligand molekulalari va suv molekulalari Biovia Discovery Studio dasturi yordamida 1U72 strukturasi ajratib olindi [12]. Protein’ning faol sayti P2Rank onlayn serveri orqali aniqlandi [13]. Molekulyar doking AutoDock 4.2 dasturi yordamida amalga oshirildi; tadqiqotda qutbli vodorod atomlari qo‘shilgan va Gastiger zaryadlari hisoblangan protein va ligand fayllari .pdbqt formatida tayyorlandi [14].

Tahlillar va natijalar: Biologik faol ikkita birikmaning o‘zaro ta’siri natijasida hosil bo‘lgan organik tuzlar (shuningdek, birgalikdagi kristallar yoki komplekslar deb ham ataladi) synergetik ta’sir tufayli boshlang‘ich molekulalarga nisbatan yuqori biologik faollikka ega bo‘lishi mumkin [15].

Ushbu ishda trimetoprim (TMP) ning virusga qarshi ma’lum preparat - favipiravir (FAV) [16] bilan hosil qilgan supramolekulyar kompleksi sintez qilindi. Kompleksning kristall strukturasi rentgen tuzilish tahlili (RTT) orqali aniqlandi. RTT natijalariga ko‘ra olingan monokristall 1:1 mol nisbatdagi TMP⁺ va FAV⁻ ionlaridan iborat organik tuz ekani aniqlandi (1-rasm).



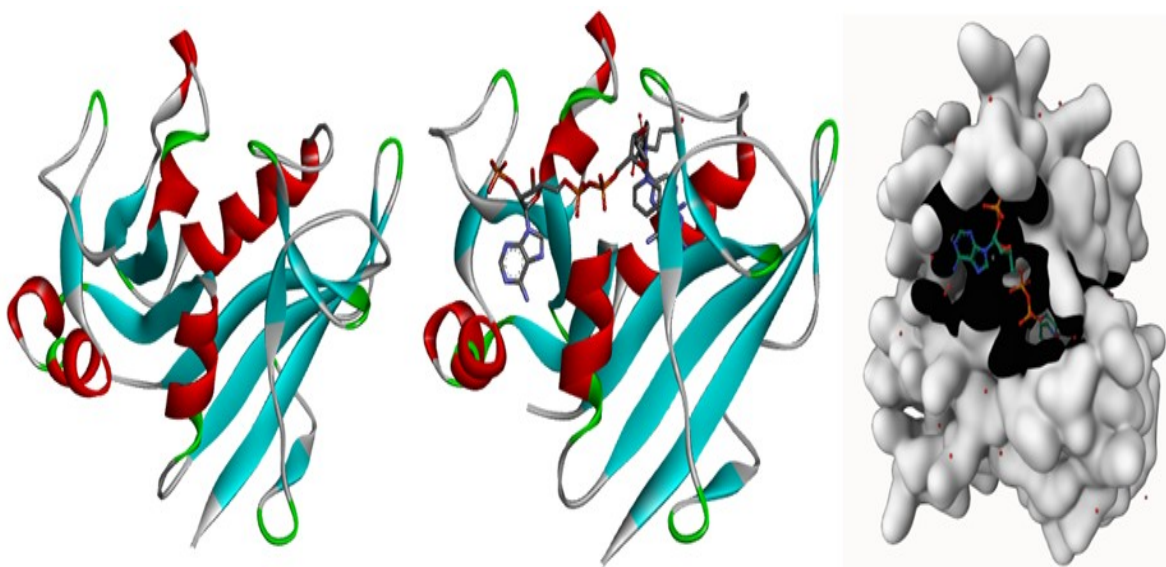
rasm. Favipiravir va trimetoprimning organik tuzining hosil bo‘lishi

Molekulyar doking natijalari 2 va 3-rasmlarda ko‘rsatilgan bo‘lib, FAV·TMP kompleksining fermentning faol markazida qulay holda joylashgani tasvirlangan. 1-jadvalda FAV, TMP va ularning kompleksi uchun 1U72 fermenti bilan bog‘lanish energiyalari taqdim etilgan. Hisob-kitoblarga ko‘ra, FAV ligandining bog‘lanish energiyasi eng kichik bo‘lib, $\Delta G_{\text{bind}} = -4.87$ kkal/mol ni tashkil qildi. TMP ligandining bog‘lanish energiyasi esa -7.22 kkal/mol bo‘lgan. FAV va TMP asosida hosil qilingan kompleksning bog‘lanish energiyasi -8.41 kkal/mol bo‘lib, ushbu natija kompleksning barqaror va faol holda ferment markazida joylashishini ko‘rsatadi (1-jadval).

1-jadval

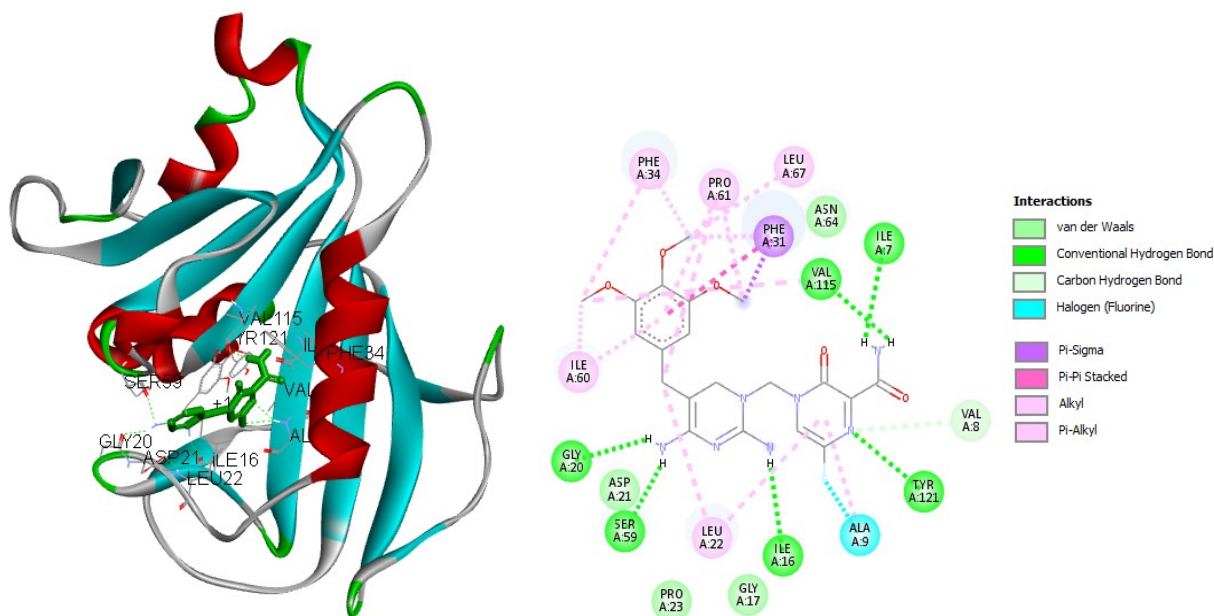
1U72 oqsili faol markazi koordinatalari va ligand molekulalari hamda kompleksning oqsilga bog‘lanish energiyalari

Ulanish	Faol markaz koordinatalari			Bog‘lanish energiyasi, kkal/mol
	X	Y	Z	
FAV	28.83	11.71	3.12	-4.87
TMP	28.83	11.71	3.12	-7.22
FAV-TMP	28.83	11.71	3.12	-8.41



2-rasm. 1u72 oqsilining uch o'lchamli ko'rinishi (a) va uning faol sayti (b, c)

Doking natijalariga ko'ra, kompleks 1U72 fermentining faol saytida quyidagi aminokislota qoldiqlari bilan o'zaro ta'sirga kirishgani aniqlandi: qutbsiz ILE7, ILE16, SER59 va VAL115 hamda qutbli GLY20 va TYR121. Kompleks mazkur faol markazda bir holatda TYR121 aminokislota qoldig'idagi –OH guruhi bilan H-bo'g' (vodorod bog'i) hosil qilib, N-donor sifatida ishtirok etgan. Qolgan holatlarda vodorod bog'lari $>C=O$ guruhlar orqali amalga oshgani qayd etildi (3-rasm).



3-rasm. 1u72 protein faol markaziga joylashgan ligandlar

Xulosa

Olib borilgan izlanishlar natijasida, saratonga va bakteriyalarga qarshi yangi dori vositalarini izlashda nishon oqsili sifatida xizmat qiluvchi digidrofolatreduktaza (DHFR) fermenti bilan favipiravir–trimetoprim (FAV·TMP) supramolekulyar kompleksining o‘zaro ta’siri nazariy jihatdan o‘rganildi. Molekulyar doking natijalari ushbu kompleksning DHFR fermentiga bo‘lgan bog‘lanish energiyasi alohida olingan FAV va TMP ligandlarinikiga nisbatan yuqoriligini ko‘rsatdi. Bu esa kompleksning farmakologik faollik nuqtai nazaridan ustun potensialga ega ekanligini anglatadi va uni yangi samarali birikma sifatida baholash imkonini beradi.

Ushbu tadqiqot O‘zR FA O.S. Sodiqov nomidagi Bioorganik kimyo instituti Kompleks birikmalar laboratoriyasining byudjetdan moliyalashtirish tadqiqotlari doirasida bajarildi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Magali B.H., Örn Almarsson and Matthew L.P. Crystal engineering and crystallography in the pharmaceutical industry. *CrystEngComm*, 2012, №-14, -P. 2349-2349. DOI: 10.1039/C2CE90019J.
2. Agnieszka Wróbel, Dawid Maliszewski, Maciej Baradyn, Danuta Drozdowska. Trimethoprim: An Old Antibacterial Drug as a Template to Sear for Nev Targets. Synthesis, Biological Activity and Molesul Modeling Study of Novel Trimethoprim Analogs. *Molecules*. 2020, 25(1), 116; <https://doi.org/10.3390/molecules25010116>
3. Brogden R.N., Carmine A.A., Heel R.C., Speight T.M., Avery G.S., Trimethoprim: A Review of its antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic use in urinary tract infections. *Drugs*. 1982, 23, 405–430.
4. Choriev O.I, Ashurov J.M., Yeshimbetov A.G., Ibragimov B.T., Favipiravir va lamivudin organik tuzining ayrim virus oqsil molekulalariga bog‘lanishini molekulyar doking usulida o‘rganish. O‘zR FA akademik O.S.Sodiqov nomidagi Bioorganik kimyoni instituti “Bioorganik kimyoni rivojlantirishning dolzarb

muammolari” mavzusidagi xalqaro ilmiy konferensiya materiallari. 13-14 noyabr 2023 yil. –B. 329

3. Foye W.O., Lemke T.L., Williams D.A. Principles of medicinal chemistry, 4th ed.; Williams and Wilkins, Media: Philadelphia, PA, USA, 2005.
4. Snapka R.M., Ge S., Trask J., Robertson F. Unbalanced growth in mouse cells with amplified dhfr genes. *Cell Prolif.* 1997. 30, 385–399.
5. Baker D. J., Beddell C.R., Champness J.N., Goodford P.J., Norrington F.E., Smith D.R and Stammers D.K._The binding of trimethoprim to bacterial dihydrofolate reduktaze,_Elsevier|North-Holland Biomedical Press, Volume 126, number 1/April 1981. [https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1016/0014-5793\(81\)90298-7](https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1016/0014-5793(81)90298-7)
6. Wang M., Yanga J., Yuana M. Synthesis and antiproliferative activity of a series of novel 6-substituted pyrido [3,2-d]pyrimidines as potential non-classical lipophilic antifolates targeting dihydrofolate reductase. *Eur. J. Med. Chem.* 2017, 128, 88–97.
7. Blakley R.L. Eukaryotic dihydrofolate reductase. *Adv. Enzymol. Relat. Areas. Mol. Biol.* 1995, 70, 23–102.
8. DeJarnette C, Luna-Tapia A, Estredge L.R., Palmer G.E. Dihydrofolate Reductase Is a Valid Target for Antifungal Development in the Human Pathogen *Candida albicans*. *mSphere*. 2020 Jun 24;5(3): e00374-20. doi: 10.1128/mSphere.00374-20. PMID: 32581079; PMCID: PMC7316490.
9. Heaslet H., Harris M., Fahnoe K., Sarver R., Putz H., Chang J., Subramanyam C., Barreiro G., Miller J.R. Structural comparison of chromosomal and exogenous dihydrofolate reductase from *Staphylococcus aureus* in complex with the potent inhibitor trimethoprim. *Proteins* 2009, 76, 706–717.
10. Hong W., Wang Y., Chang Z., Yang Y., Pu J., Sun T., Kaur S., Sacchettini J.C., Jung H., Wong W.L., et al. The identification of novel *Mycobacterium tuberculosis* DHFR inhibitors and the investigation of their binding preferences by using molecular modelling. *Sci. Rep.* 2015, 5, 15328.

11. Vivian Cody, Joe R. Luft and Walt Pangborn. *Acta Cryst.* (2005). D61, 147–155 doi: 10.1107/S0907444904030422
12. Dassault Systèmes BIOVIA. Discovery Studio Modeling Environment, Release 2017. Dassault Systèmes; San Diego, CA, USA: 2017
13. Krivák R., Hoksza D.J. P2Rank: machine learning based tool for rapid and accurate prediction of ligand binding sites from protein structure *Cheminform.* 2018.-Vol. 10, p.39. <https://doi.org/10.1186/s13321-018-0285-8>
14. Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S. and Olson A.J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *Journal of Computational Chemistry.* 2009. 30, 2785-2791.<http://dx.doi.org/10.1002/jcc.21256>
15. Ronald J.T. Quantitative Methods for Assessing Drug Synergism *Genes. Cancer* 2(11) 1003–1008. DOI: 10.1177/1947601912440575
16. Furuta Y., Takahashi K., Kuno-Maekawa M., Sangawa H., Uehara S., Kozaki K., Nomura N., Egawa H., Shiraki K., *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005. 49(3): 981–986.: 10.1128/AAC.49.3.981-986.2005.