

ПРИЛОЖЕНИЕ

к статье Н.С. Дырхеевой, И.А. Чернышовой, А.Ф. Арутюнян, А.Л. Захаренко, М.М. Кутузова, К.Н. Науменко, А.С. Вензеля, В.А. Иванисенко, С.М. Деева, А.Л. Жузе, О.И. Лаврик
 «Влияние димерных бисбензимидазолов на активность ферментов репарации ДНК тирозил-ДНК-фосфодиэстера 1 и 2 и поли(АДФ-рибоза)полимераз 1 и 2»

Таблица S1. Таблица среднеквадратических отклонений (RMSD) димерных ингибиторов DB₂Py(n) и DB₂P(n) в комплексе с TDP1 относительно оптимальной конформации базового фрагмента

Название ингибитора	Название мономерной единицы	Количество полученных конформаций лиганда в результате докинга	Лучшее (минимальное) значение энергии связывания по скоринг-функции GridScore, ккал/моль	Диапазон значений среднеквадратических отклонений (RMSD) для всех полученных конформаций, Å	Номер выбранной для дальнейшего анализа конформации	Значение среднеквадратичного отклонения (RMSD) выбранной конформации относительно исходной структуры, Å
DB ₂ Py(1)	MB ₂ Py(Ac)	5	-109.49	10.6–23.2	2	10.6
DB ₂ Py(3)		10	-113.92	5.7–23.2	1	11.5
DB ₂ Py(4)		8	-111.54	8.2–26.8	2	8.2
DB ₂ Py(5)		4	-116.65	11.7–24.1	1	11.7
DB ₂ Py(7)		6	-124.69	11.6–25.8	5	11.6
DB ₂ Py(9)		5	-131.12	8.5–27.1	1	8.5
DB ₂ Py(11)		3	-126.10	8.5–26.9	1	8.5
DB ₂ P(1)	MB ₂ (Ac)	6	-104.47	9.9–20.6	3	9.9
DB ₂ P(2)		4	-105.51	12.6–17.1	1	12.6
DB ₂ P(3)		2	-112.57	11.8–14.1	1	11.8
DB ₂ P(4)		6	-112.11	11.3–19.2	5	11.3

Значение среднеквадратичных отклонений (RMSD) рассчитывали между соединением-основанием и ближайшим мономерным фрагментом димерного соединения с учетом направления фрагмента без изменения координат молекул. Расчеты были проведены с помощью пакета RDKit.

Таблица S2. Таблица различных оценок связывания димерных ингибиторов DB₂Py(n) и DB₂P(n) с TDP1

Название ингибитора	Расчетная энергия связывания ингибитора с белком-мишенью методом ContinuousScore, ккал/моль	Расчетное значение отрицательного логарифма константы диссоциации (pKd) методом X-Score	Расчетная энергия связывания ингибитора с белком-мишенью скоринг-функцией Vinardo, ккал/моль	Расчетная энергия связывания ингибитора с белком-мишенью в энергетических единицах Rosetta (силовое поле Ref2015), REU
DB ₂ Py(1)	-78.0	7.55	-9.05	-14.77
DB ₂ Py(3)	-88.2	7.91	-11.21	-16.28
DB ₂ Py(4)	-82.2	8.06	-10.04	-18.04
DB ₂ Py(5)	-92.7	8.07	-11.61	-16.94
DB ₂ Py(7)	-93.5	8.18	-11.40	-18.52
DB ₂ Py(9)	-101.2	8.40	-12.38	-21.24
DB ₂ Py(11)	-101.1	8.04	-11.10	-20.93
DB ₂ P(1)	-82.6	7.08	-8.94	-18.62
DB ₂ P(2)	-82.2	7.03	-9.05	-18.22
DB ₂ P(3)	-86.3	7.49	-10.97	-18.12
DB ₂ P(4)	-86.1	7.01	-9.92	-16.37

DOCK ContinuousScore – оценивание энергии комплекса в USCF DOCK 6.11 без построения численной сетки, включающее ван-дер-ваальсовы и кулоновские взаимодействия после минимизации лиганда в сайте связывания. *Vinardo Score* – эмпирическая функция, учитывающая водородные связи, гидрофобные и ван-дер-ваальсовы взаимодействия с калибровкой по экспериментальным данным. *X-Score* – среднее значение по трем компонентам для оценки гидрофобных, полярных и электростатических контактов. Полноатомная энергетическая скоринг-функция *ref2015* (PyRosetta) комбинирует ван-дер-ваальсовы, электростатические,

водородные и сольватные взаимодействия для высокоточной оценки комплекса. В оценке средства связывания лигандов с TDP1 более низкие (отрицательные) значения для Vinardo, ref2015 и DOCK ContinuousScore указывают на более высокую аффинность взаимодействия. Напротив, для X-Score более высокие значения отражают большую силу связывания, поскольку эта функция использует шкалу, где положительные оценки коррелируют с лучшим средством.

Протокол молекулярной динамики

Исследование динамики белок-лиганд комплекса TDP1 с DB₂Py(1) проводилось методом молекулярной динамики с использованием программного пакета OpenMM 8.

Для параметризации белка применялось силовое поле AMBER ff14SB, лиганда – силовое поле GAFF-2.11 с использованием набора инструментов OpenFF Toolkit. Комплекс во время симуляции находился в кубической ячейке с молекулами воды модели TIP3P, при этом минимальное расстояние от атомов комплекса до границ ячейки составляло 10 Å. Границы являлись периодическими. Заряд системы нейтрализовался добавлением ионов Na⁺ и Cl⁻ до достижения физиологической ионной силы.

Применялось перераспределение масс водорода (4 а.е.м.) для увеличения шага интегрирования до 2 фс. После энергетической минимизации проводили эквилибрацию системы в течение 0.1 нс при 300 К. Длительность симуляции составила 10 нс.

Температура поддерживалась на уровне 300 К с помощью термостата Ланжевена (коэффициент трения 1.0 пс⁻¹), давление – 1 атм с использованием баростата Монте-Карло с корректировкой объема каждые 25 шагов. Связи с участием атомов водорода фиксировались алгоритмом SHAKE. Координаты системы сохранялись каждые 10 пс.

Анализ траектории проводился с помощью пакета MDTraj.

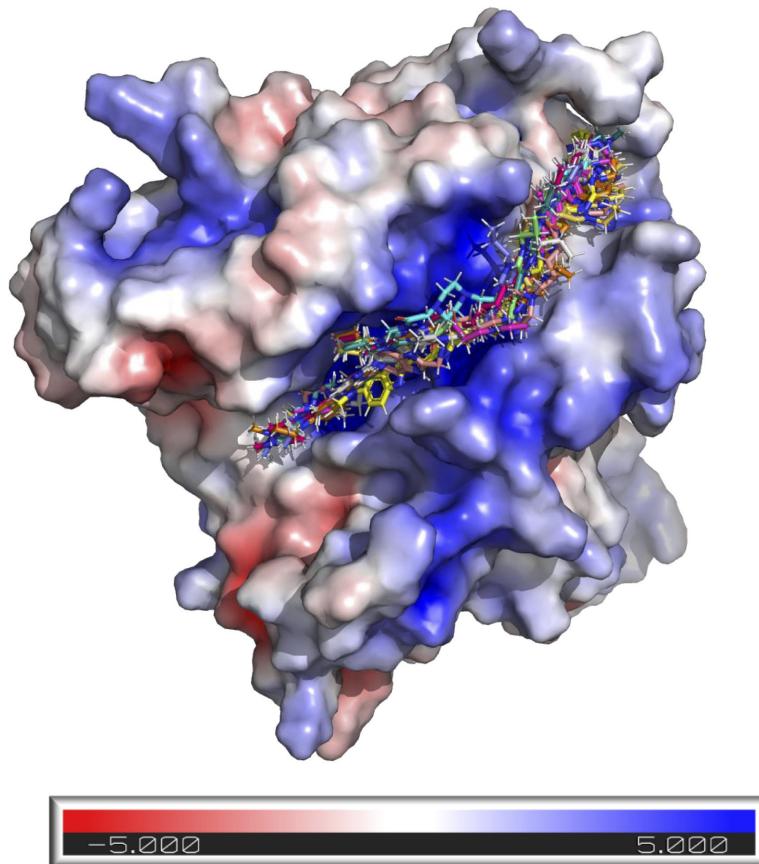


Рис. S1. Предсказанные конформации ингибиторов DB₂Py(n) и DB₂P(n) на поверхности TDP1 (PDB ID: 8V0B).

Поверхность белка окрашена в соответствии с распределением электростатического потенциала, рассчитанным с помощью APBS (Jurrus et al., 2018). Цветовая шкала: красный – отрицательный потенциал (-5 kT/e), белый – нейтральный (0 kT/e), синий – положительный потенциал ($+5 \text{ kT/e}$).

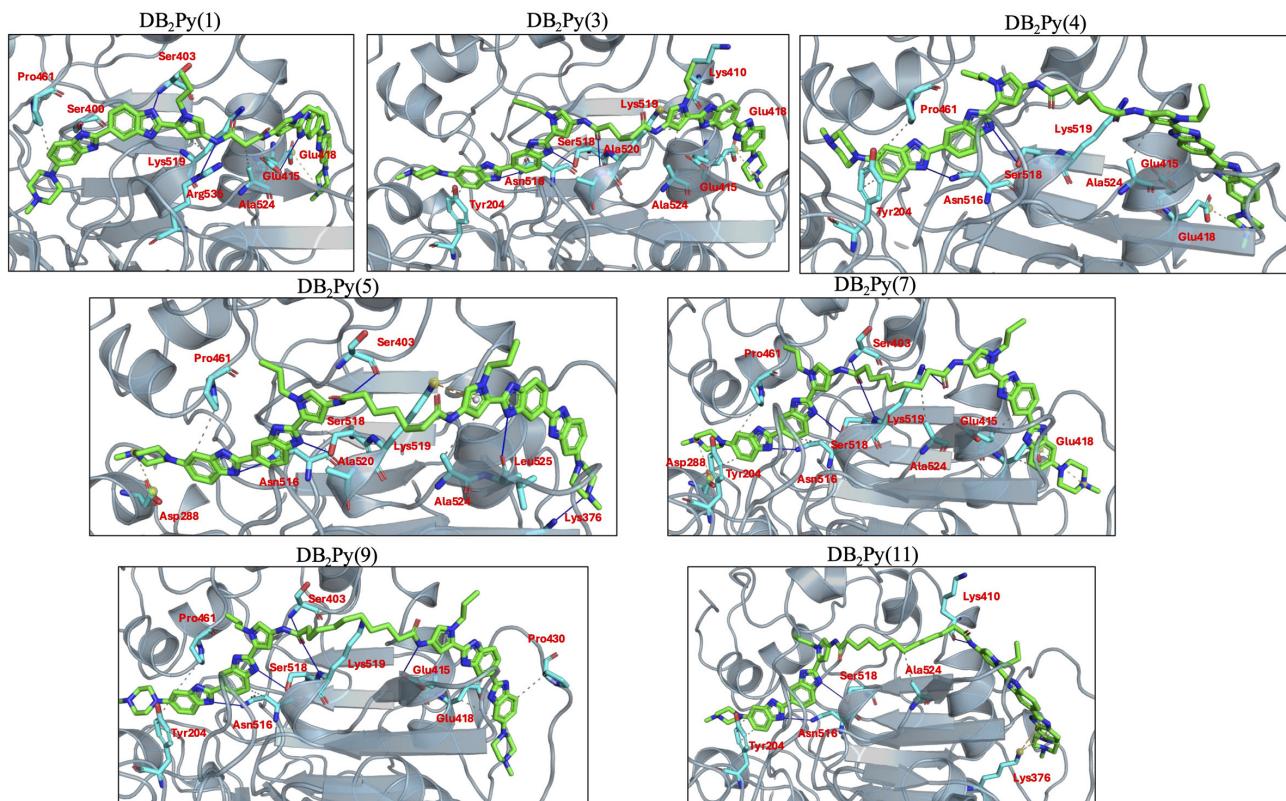


Рис. S2. Предсказанные конформации ингибиторов семейства DB₂Py(n) в комплексе с TDP1 с взаимодействующими остатками.
Сплошные синие линии – водородные связи, серые пунктирные линии – гидрофобные взаимодействия, оранжевые пунктирные линии – пи-cationные взаимодействия, желтые пунктирные линии – солевые мостики.

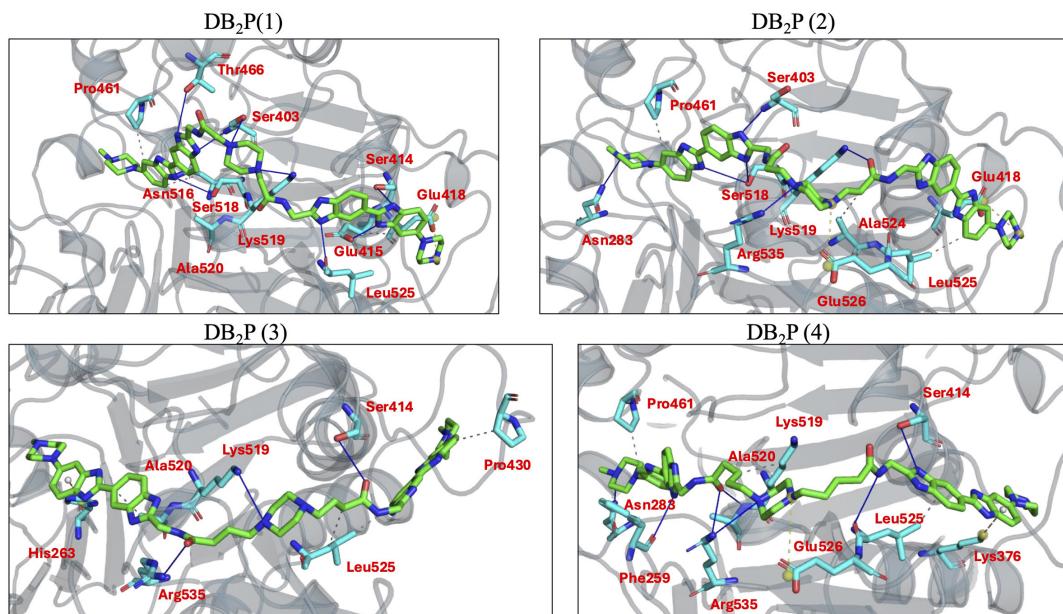


Рис. S3. Предсказанные конформации ингибиторов семейства DB₂P(n) в комплексе с TDP1 с взаимодействующими остатками.
Сплошные синие линии – водородные связи, серые пунктирные линии – гидрофобные взаимодействия, оранжевые пунктирные линии – пи-cationные взаимодействия, желтые пунктирные линии – солевые мостики.

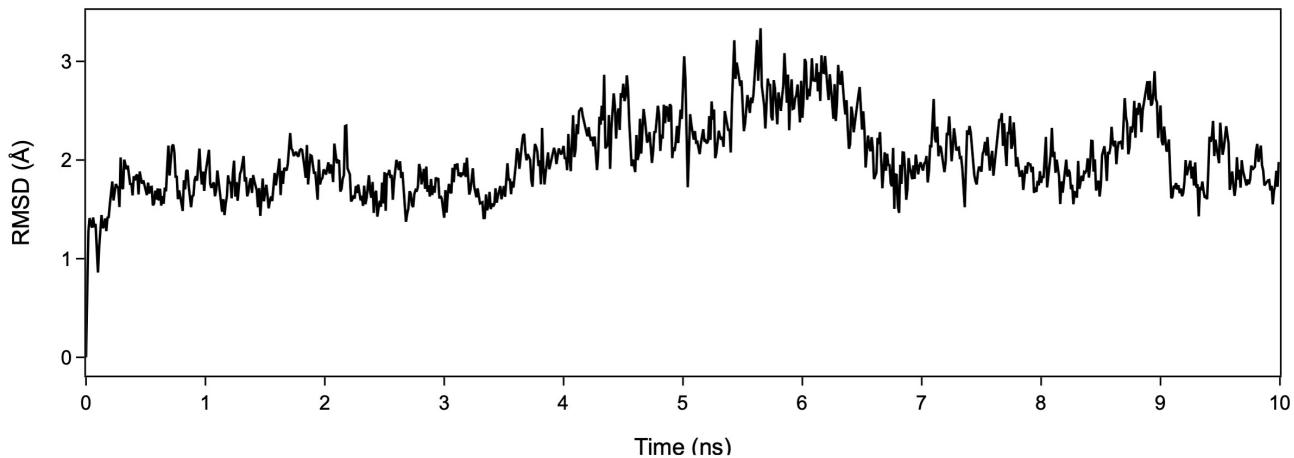


Рис. S4. Анализ среднеквадратичного отклонения (RMSD) положения DB₂Py(1) в активном центре белка в ходе 10-нс молекулярно-динамического моделирования.

График демонстрирует временную эволюцию RMSD лиганда относительно его начальной конформации после наложения белковых структур. Значения RMSD колеблются в диапазоне 1.5–3.0 Å, что свидетельствует о стабильном связывании лиганда с белком на протяжении всей траектории моделирования. После начального периода эквилибризации (0–200 пс) наблюдается относительно устойчивое поведение системы со средним значением RMSD около 2.0–2.5 Å. Периодические флюктуации RMSD указывают на конformationальную подвижность лиганда в пределах активного центра при сохранении основных взаимодействий с белком. Отсутствие резких скачков RMSD или систематического дрейфа подтверждает стабильность белок-лигандного комплекса и отсутствие диссоциации лиганда в течение времени моделирования.

Список названий соединений по IUPAC

MB₂

{6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl}methanamine

MB₂(Ac)

N-{(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl}acetamide

MB₂Py(Ac)

N-(5-{6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl}-1-propyl-1H-pyrrol-3-yl)acetamide

MB₃

(6-{6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl}-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methanamine

DB₂P(n)

- 1) N-((6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl)-2-(4-{{(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl}carbamoyl}methyl)piperazin-1-yl)acetamide
- 2) N-((6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl)-3-(4-{{2-[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]carbamoyl}ethyl})piperazin-1-yl)propenamide
- 3) N-((6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl)-4-(4-{{3-[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]carbamoyl}propyl})piperazin-1-yl)butanamide
- 4) N-((6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl)-5-(4-{{4-[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]carbamoyl}butyl})piperazin-1-yl)pentanamide

DB₃P(n)

- 1) N-[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]-2-[4-({[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]carbamoyl}methyl)piperazin-1-yl]acetamide
- 2) N-[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]-3-[4-(2-{[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]carbamoyl}ethyl)piperazin-1-yl]propanamide
- 3) N-[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]-4-[4-(3-{[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]carbamoyl}propyl)piperazin-1-yl]butanamide
- 4) N-[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]-5-[4-(4-{[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]carbamoyl}butyl)piperazin-1-yl]pentanamide

DB₃(n)

- 1) N,N'-bis[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]propanediamide
- 5) N,N'-bis[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]heptanediamide
- 9) N,N'-bis[(6-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)methyl]undecanediamide

DB₂Py(n)

- 1) N,N'-bis(5-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)-1-propyl-1H-pyrrol-3-yl)propanediamide
- 3) N,N'-bis(5-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)-1-propyl-1H-pyrrol-3-yl)pentanediamide
- 5) N,N'-bis(5-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)-1-propyl-1H-pyrrol-3-yl)heptanediamide
- 7) N,N'-bis(5-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)-1-propyl-1H-pyrrol-3-yl)nonanediamide
- 9) N,N'-bis(5-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)-1-propyl-1H-pyrrol-3-yl)undecanediamide
- 11) N,N'-bis(5-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-1,3-benzodiazol-2-yl]-1H-1,3-benzodiazol-2-yl)-1-propyl-1H-pyrrol-3-yl)tridecanediamide