

УДК: 582.23:576:577+57.04:00

ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТОРІВ САЙТУ МІЖДОМЕННОЇ ЩІЛИНИ FtsZ БІЛКУ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ФАРМАКОФОРНОГО ПОШУКУ І МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКІНГУ

П.А. КАРПОВ *, Д.С. ОЖЕРЄДОВ, С.П. ОЖЕРЄДОВ, О.Н. ДЕМЧУК, Я.Б. БЛЮМ

Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, вул. Байди Вишневецького, 2а, Київ, 04123, Україна

E-mail: karpov@nas.gov.ua ; karpov@ifbg.org.ua

Автор для кореспонденції – Карпов П.А., e-mail: karpov@nas.gov.ua, karpov@ifbg.org.ua

Наразі відома значна кількість інгібіторів бактеріального FtsZ білка, біологічна активність яких підтверджена біохімічно, однак цільові сайти ліганд-білкової взаємодії у більшості випадків залишаються невідомими. Це значно ускладнює подальший комбінаторний дизайн, що і обумовило необхідність біоінформатичного пошуку ефекторів сайту міждомЕННОЇ щілини цього білка (Inter-Domain Cleft = IDC). Актуальне дослідження базувалося на результатах фармакофорного скринінгу за допомогою сервісу Pharmit і результатах молекулярного докінгу з використанням програм CCDC GOLD і iGEMDOCK. Цільовою групою була об'єднана бібліотека з 379 речовин, сформована за результатами ревізії структурної бази даних RCSB Protein Data Bank і речовин бази даних ChEMBL, для яких безпосередня взаємодія з FtsZ білком доведена біохімічно. За результатами фармакофорного пошуку, докінгу і структурно-біологічного аналізу було визначено 88 ефекторів сайту IDC. Ще одна сполука ряду куркумінонідів була визначена як потенційний ефектор сайту IDC.

Ключові слова: FtsZ, білок, міждомЕННА щілина, IDC, ефектори, ліганд-білкова взаємодія, фармакофорний пошук, молекулярний докінг.

Вступ. Апарат бінарного поділу бактерій утворюється складним ансамблем білків комплексу дивісоми. Проте, саме FtsZ (Filamenting temperature-sensitive mutant Z) білок є ключовим компонентом Z-кільця, що рекрутує інші білки комплексу (Wang et al, 2020). Це визначає FtsZ як важливу і перспективну молекулярну мішень ліганд-залежного інгібування бі-

нарного поділу бактерій (Karpov et al, 2016; Pradhan et al, 2021).

Існує значна і досить гетерогенна група сполук, для яких доведена безпосередня взаємодія з FtsZ білком (Kifayat et al, 2023). Незважаючи на перспективність таких ефекторів, для ряду сполук відомі факти токсичності (Stokes et al, 2012). Переважно, це стосується речовин, які діють за ГТФ-конкурентним механізмом (Han et al, 2021). Внаслідок подібності сайтів гідролізу ГТФ (NBS – Nucleotide Binding Site) у FtsZ білків, бактерій і еукаріотичного тубуліну переважна більшість ефекторів сайту NBS проявляє неспецифічність взаємодії (Andreu et al, 2022). Цей факт обумовлює токсичність зазначених ефекторів, що значно стримує їх клінічне впровадження. Саме тому, останнім часом зростає інтерес до ефекторів альтернативних сайтів, які діють за механізмами алостеричних зсувів (Andreu et al, 2022). За даними кристалографічного аналізу відомо дві групи таких сполук: 1) ефектори сайту зв'язування бензамідів, відомого як сайт міждомЕННОЇ щілини (Pradhan et al, 2021), і 2) ефектори одного з двох сайтів зв'язування гідроксумаринів (Alnamani et al, 2021).

На сьогодні ефектори сайту міждомЕННОЇ щілини (Inter-Domain Cleft = IDC) привертають особливу увагу. До появи структурно-біологічних доказів безпосередньої взаємодії з FtsZ 2,6-дифторбензамідна сполука PC190723 (3-[(6-chloro[1,3]thiazolo[5,4-b]pyridin-2-yl)met-hoxy]-2,6-difluoroben-zamide) позиціонувалась як ефективний інгібітор поділу бактерій (Andreu

et al, 2010). Зокрема, ефективність даної сполуки була показана на штаммах *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis* (Matsui et al, 2012; Gurnani et al, 2022). Важливо, що PC190723 проявив себе як потужний антистафілоковий агент, здатний пригнічувати метицилін-резистентні штами *S. aureus* MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*) (Tan et al, 2012). На відміну від супресивної дії ГТФ-конкурентних сполук, PC190723 діє як індуктор збирання та конденсації протофіламентів, що призводить до опосередкованого інгібування ГТФазної активності, індукції полімеризації і стабілізації філаментів (Andreu et al, 2010; Andreu et al, 2022; Sharma et al, 2023). Існувала гіпотеза, що зв'язування бензамідних похідних з FtsZ відбуватися у сайті, еквівалентному сайту зв'язування таксолу у β -тубуліну (Haydon et al, 2008). Першим експериментальним комплексом, на підставі якого була доведена ця гіпотеза і підтверджене існування алостеричних зсувів елементів структури FtsZ білка, стала рентгенівська структура 3VOB комплексу FtsZ *S. aureus subsp. aureus* Mu50 з PC190723 (Matsui et al, 2012). Було підтверджено, що PC190723 зв'язується у сайті, розташованому у щілині що утворюється між субдоменами «N» та «C» (Matsui et al, 2012). За результатами дослідження, авторами було депоновано кілька PDB-структур FtsZ (3VO8, 3VO9, 3VOA, 3VOB, 3VPA) у апо- та GDP-зв'язаної формах, які свідчили про наявність конформаційних перебудов протофіламентів, аналогічних описаним у тубуліну (Matsui et al, 2012). Було показано, що завдяки внутрішнім ліганд-індукованим зсувам молекул FtsZ деформуються внутрішні контакти протофіламентів, що призводить до утворення хаотичних псевдоцентрів замість канонічного Z-кільця (Adams et al, 2011). Сайт IDC також підтверджується структурою PDB-комплексу 4DXD, отриманого іншою дослідницькою групою на прикладі метицилін-резистентного штаму *S. aureus* MRSA (Tan et al, 2012).

За допомогою флюоресцентних зондів у яких флуорофорний фрагмент замінював хлоргіазолопіридинний фрагмент PC190723, зокрема, зонду 4-хлор-7-нітро-2,1,3-бензоксадіазолу (NBD), було підтверджено перемикавання полімеризації у розчині, за умов якої щілина IDC виявля-

лась відкритою у полімеризованого FtsZ і закритою у мономерів (Huecas et al, 2021). Паралельно було отримано рентгенівські структури мономерів FtsZ білка з *S. aureus* (Fujita et al, 2017a; Wagstaff et al, 2017), які прояснили формування відкритої і закритої конформацій сайту IDC (Ramírez-Aportela et al, 2014) і їх зв'язок з функціонально-динамічними перебудовами цитоскелету бактерій під час бінарного поділу (Wagstaff et al, 2017).

З структурної точки зору, планарна конформація PC190723 щільно прилягає до «нижньої» частини кишені IDC (дистальна по відношенню до сайту ГДФ і взаємодії з Ca^{2+} PDB-структура 3VOB, рис. 1) (Tan et al, 2012; Matsui et al, 2012). Зі структурної точки зору це суттєво обмежує простір комбінаторних модифікацій (Huecas et al, 2021), але з протилежного полюсу сайт IDC має достатній вільний об'єм субкишені (Löwe and Amos, 1998). Проте, слід зауважити, що ліганди, котрі проявляють спорідненість виключно до цієї ділянки сайту, наразі невідомі, але цей об'єм надає потенціал подальшого комбінаторного дизайну (Huecas et al, 2021). На наш погляд, це твердження є дискусійним, оскільки результати тестового докінгу з IDC-кишенями дискретних PDB-структур FtsZ (PDB комплекси з різними ефекторами IDC) не свідчили про повну і коректну посадку усієї групи контрольних лігандів (PDB: 9PC, DVX, OLQ, OM8, OMW, ZI1, ZI6, ZI7, ZI9). При цьому для всіх зазначених речовин існують неспростовні кристалографічні докази взаємодії саме із сайтом IDC (PDB-структури: 8HTB, 6YD1, 6YD5, 6YD6, 5XDT, 5XDU, 5XDV, 6KVP, 4DXD, 3VOB та 6KVP). За допомогою методу «point-cloud» нами було побудовано 3D-моделі кишень сайту IDC і виконано їх ранжування на прикладі зазначених комплексів (Ozheriedov et al, 2024). 3D-зліпки кишень IDC підтвердили мінливість об'єму і форми, що виникає під впливом індивідуальної адаптації до ліганду та визначили домінуючі конформації кишені сайту. Було зроблено висновок, що докінг лігандів із використанням індивідуальних PDB структур або моделей FtsZ білку може бути не ефективним, але результати віртуального скринінгу можуть бути покращені за рахунок використання ансамблю мішеней, якій максимально

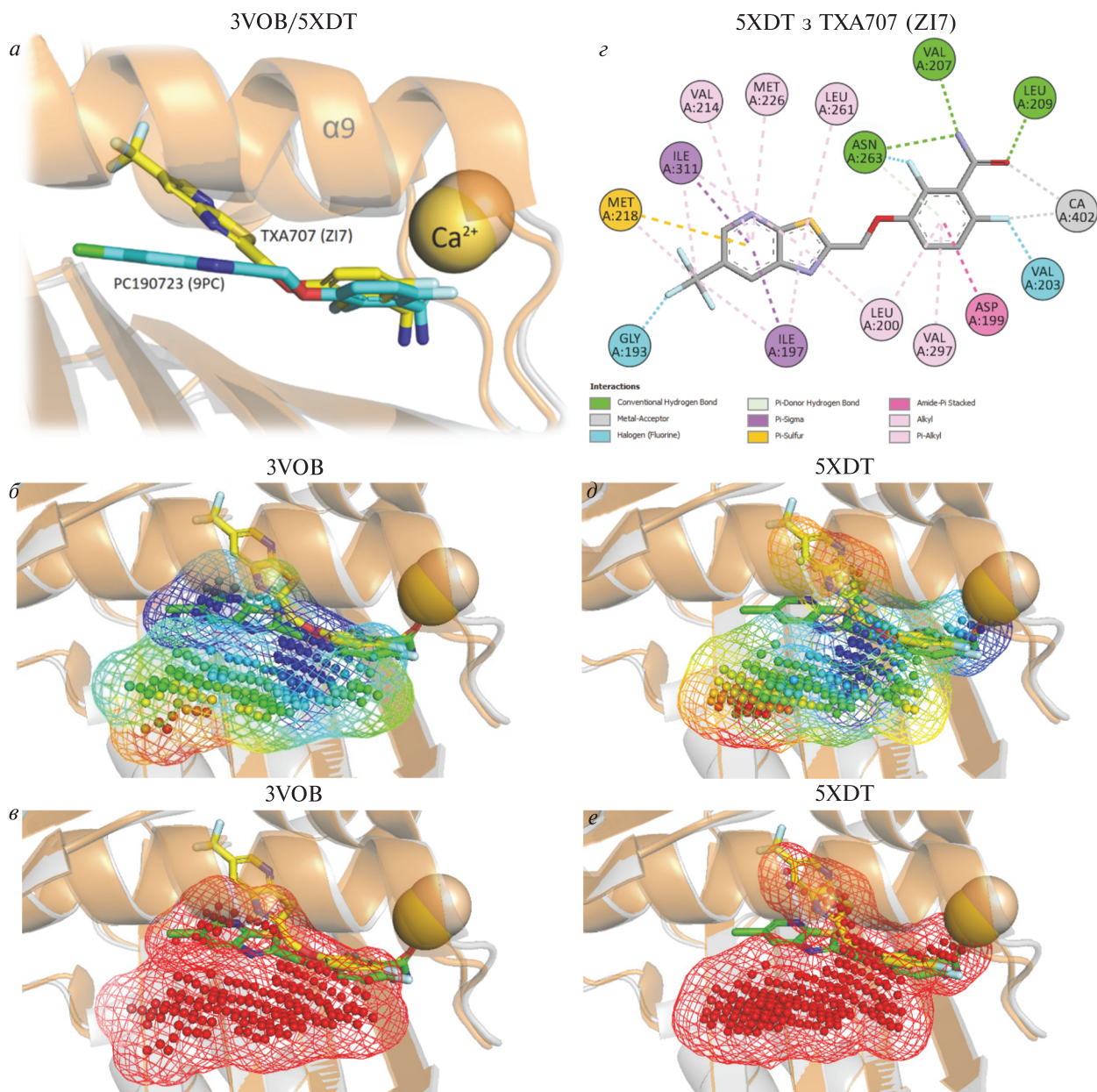


Рис. 1. Мінливість кишені сайту міждоменної щілини IDC FtsZ білку *S. aureus* на прикладі двох експериментальних (RCSB Protein Data Bank) комплексів з канонічним алостеричним ефектором – 9PC (PC190723) і 2,6-дифтор-3-метоксибензамідним похідним ZI7 ряду зантринів: *a* – відмінності поз лігандів у сайті; *з* – 2D-карта взаємодії ZI7 з FtsZ білком *S. aureus* (комплекс 5XDT); *б* і *в* – «point-cloud» зліпок кишені сайту IDC комплексу 3VOB (FtsZ+9PC) з картуванням гідрофобних (*б*) і електростатичних (*в*) властивостей кишені IDC; *д* і *е* – аналогічний «point-cloud» зліпок кишені сайту IDC комплексу 5XDT (FtsZ+ZI7)

враховує варіації форми і об'єму кишені сайту (Ozheriedov et al, 2024).

Зараз відома значна кількість інгібіторів FtsZ, біологічна активність яких підтверджена

біохімічно, проте їх зв'язок з тим чи іншим сайтом залишається невизначним. Ревізія бази даних ChEMBL (www.ebi.ac.uk/chembl/) дозволила виявити 379 ефекторів FtsZ, проте

цільові сайти більшості речовин або відомі на рівні прогнозу або невідомі взагалі. Водночас, у RCSB Protein Data Bank депоновано 85 структур FtsZ білків в комплексі з 61 унікальним лігандом. Саме тому в межах актуального дослідження був виконаний відбір ефекторів сайту IDC на основі результатів фармакофорного скринінгу і молекулярного докінгу. Цільовою групою була зведена бібліотека речовин, сформована на підставі результатів ревізії структурної бази даних RCSB Protein Data Bank і речовин з бази даних ChEMBL, для яких безпосередня взаємодія з FtsZ доведена біохімічно.

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження були структури RCSB Protein Data Bank (www.rcsb.org) бактеріального FtsZ білка *S. aureus* в комплексі з алостеричними ефекторами: 4DXD, 3VOB (Matsui et al, 2012; Tan et al, 2012), 6YD1, 6YD5, 6YD6 (Huecas et al, 2021), 5XDU, 5XDV (Fujita et al, 2017b), 8HTB (Bryan et al, 2023), 6KVP та 6KVQ (Ferrer-González et al, 2019). Структурну модель апоформи SaFtsZ (UniProtKB: P0A029/FTSZ_STAAM) із закритою конформацією сайту IDC було отримано з репозиторію моделей AlphaFold (UniProtKB: AF-P0A029-F1) ресурсу UniProtKB (UniProt Consortium, 2023; Cramer, 2021; Jumper et al, 2021). Додаткові повноатомні структурні моделі SaFtsZ з відкритими конформаціями сайту IDC були побудовані за допомогою серверу Swiss-Model (<https://swissmodel.expasy.org>) з використанням відповідних шаблонів з PDB-структур (Waterhouse et al, 2018).

Візуалізацію та аналіз молекулярних структур виконували з використанням програмного забезпечення PyMOL v.2.5.5 (Schrödinger LLC, www.pymol.org) і BIOVIA Discovery Studio 2021 Client (<https://discover.3ds.com/>). Аналіз об'ємів і геометрії кишені сайту здійснювали за допомогою технології Catalophore™, реалізованою за допомогою плагіну Innophore CavitOmiX (версія 1.0, 2022, Innophore GmbH – <https://innophore.com/cavitomix>), інтегрованого в програму PyMOL. При цьому гідрофобність порожнин розраховували з використанням інтегрованого модуля VASCo (Steinkellner et al, 2009), а об'єм сайтів визначали з використанням модифікованого алгоритму LIGSITE (Hendlich et al, 1997).

Фармакофорний пошук здійснювали за допомогою інтерактивного On-Line сервісу Pharmit (<https://pharmit.csb.pitt.edu/>), який дозволяє здійснювати віртуальний скринінг великих бібліотек лігандів на підставі фармакофорних дескрипторів, молекулярних форм і мінімізації енергії (Sunseri and Koes, 2016).

Молекулярний докінг сполук, відібраних за результатами фармакофорного пошуку, здійснювали за допомогою програми CCDC GOLD 2023.2.0 (Build 382240; www.ccdc.cam.ac.uk, under Licence and Support Agreement of CCDC FAIRE programme grant ID: 21554) (Jones et al, 1997). При цьому, ранжування гіпотез здійснювали на підставі показників оцінювальних фітнес-функцій: ChemPLP (основана) і ASP (функція рескорінгу). Внесок водневих зв'язків, Ван-дер-Ваальсових сил та інших факторів формування ліганд-білкового комплексу оцінювали на підставі результатів докінгу за допомогою програми iGEMDOCKv2.1 (Yang and Chen, 2004). На підставі оригінального методу (Generic Evolutionary Method for molecular DOCKing) ця програма дозволяє розрахувати кількісні фітнес-показники спорідненості сполук до сайту на підставі внеску водневих зв'язків (Hbond), сил Ван-дер-Ваальса (vdW) і електростатики (Elec): $\text{Fitness} = \text{vdW} + \text{Hbond} + \text{Elec}$ (Yang and Chen, 2004; Bellaver et al, 2024), що надає додаткові аргументи під час відбору ефекторів сайту IDC. Молекулярними мішенями докінгу були PDB-структури: 3VOB, 5XDT, 6YD1 і 5XDU, які достатньою мірою охоплюють флуктуації об'єму і геометрії сайту IDC, описані у нашому попередньому дослідженні (Ozheriedov et al, 2024).

Остаточну обробку скорингових показників фармакофорного пошуку і молекулярного докінгу здійснювалась за допомогою програми Microsoft Excel 2016.

Результати та обговорення. За результатами ревізії RCSB Protein Data Bank було відібрано 11 комплексів FtsZ білку з ефекторами сайту IDC, представлених дев'ятьма похідними 2,6-дифторбензамідного ряду (рис. 2). Відібрані сполуки (за виключенням флюоресцентного зонду DVX) були використані як позитивний контроль фармакофорного пошуку і молекулярного докінгу. Ще шість сполук, що є ефек-

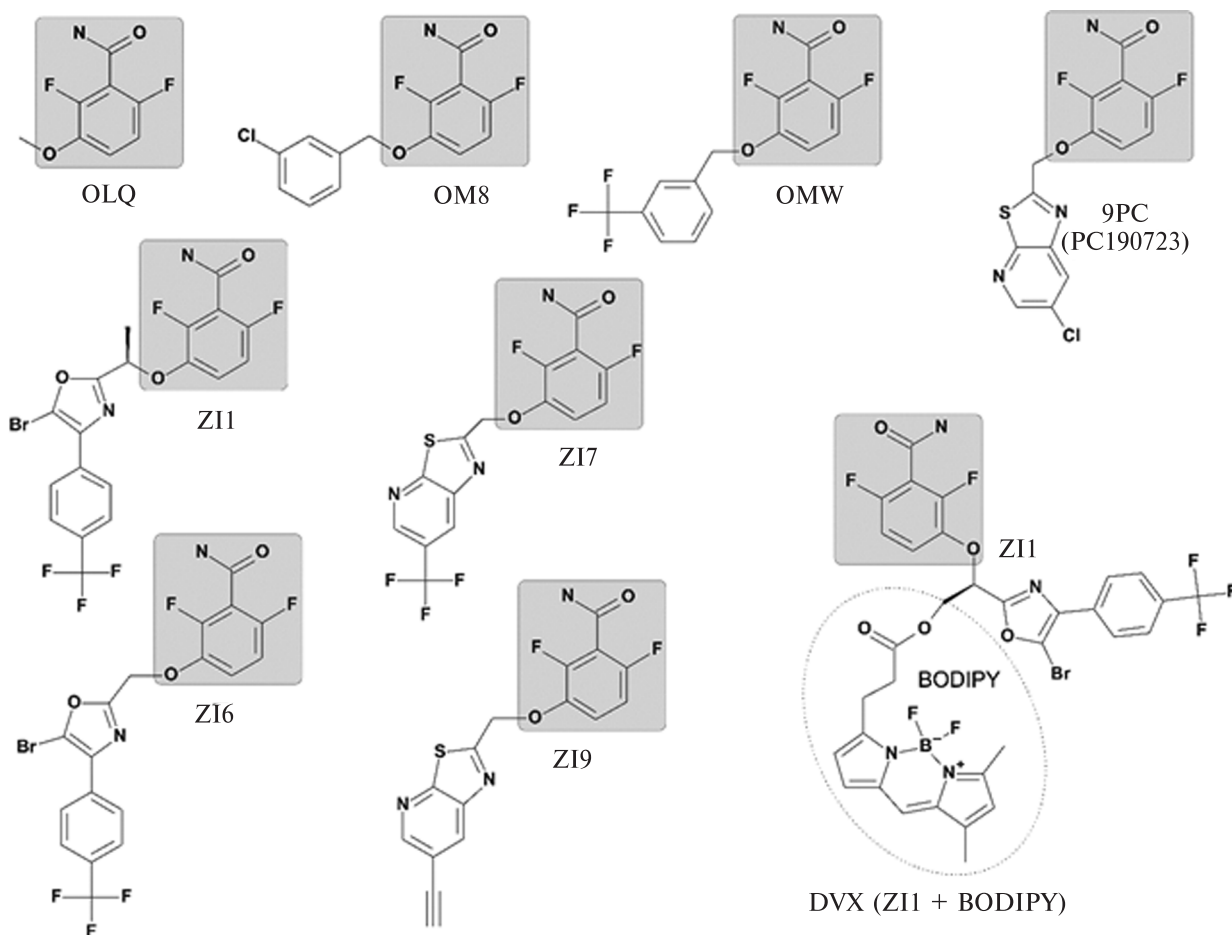


Рис. 2. Група референсних сполук, для яких існують кристалографічні докази взаємодії із сайтом міждоменної щілини (IDC) FtsZ білка, використаних для моделювання фармакофорів і контролю результатів молекулярного докінгу: OLQ – 2,6-діфтор-3-метоксибензамід, OM8 – 3-[(3-хлорфеніл)метокси]-2,6-біс(флуораніл)бензамід, OMW – 2,6-біс(флуораніл)-3-[[3-(трифторметил)феніл]метокси]бензамід, 9PC – 3-[(6-хлоро[1,3]тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)метокси]-2,6-діфторбензамід, ZI1 – 3-[(1*R*)-1-[5-броманіл-4-[4-(трифторметил)феніл]-1,3-оксазол-2-іл]етокси]-2,6-біс(флуораніл)бензамід, ZI6 – 3-[(1*R*)-1-[5-броманіл-4-[4-(трифторметил)феніл]-1,3-оксазол-2-іл]етокси]-2,6-біс(флуораніл)бензамід, ZI7 – 2,6-біс(флуораніл)-3-[[6-(трифторметил)-[1,3]тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл]метокси]бензамід, ZI9 – 3-[(6-етиніл-[1,3]тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)метокси]-2,6-біс(флуораніл)бензамід і DVX – флюоресцентний зонд на основі ZI1 і бор-дипірометенового флуорофору (BODIPY). Сірим кольором позначено 2,6-діфтор-3-метоксибензамідний фрагмент

торами сайту гідролізу ГТФ і сайту гідроксикумаринів, було використано як негативний контроль. Цільовою групою віртуального скринінгу були ефектори FtsZ з бази даних ChEMBL (www.ebi.ac.uk/chembl/), що були депоновані на підставі результатів біохімічних досліджень. За результатами ревізії даних RCSB Protein Data Bank і ChEMBL було створено узагальнену бібліотеку, яка на момент дослідження

нараховувала 379 ефекторів FtsZ. Бібліотека використовувалась або безпосередньо, якщо аналітичні програми дозволяли враховувати конформаційну рухливість і стереоізомерію, або була основою для генерації похідних бібліотек, які враховували конформаційну гнучкість і ізомерію лігандів. Так, для фармакофорного пошуку засобами Pharmit (<https://pharmit.csb.pitt.edu/>) була сформована бібліотека конформо-

мерів, яка використовувалась для скринінгу і зараз доступна на сервісі Pharmit як IFBG: Public Library «PDB+ChEMBL» за кодом VBS30O74 UAMW00AL8EML.

Незважаючи на наявність у референсних сполук консервативного функціонально важливого 2,6-дифтор-3-метоксибензамідного фрагменту (рис. 1), використання узагальненого фармакофору визначилось неефективним, що за нашою думкою є наслідком адаптаційних зсувів ліганд-білкового пізнання (Ozheriedov et al, 2024). Про це свідчить наявність у списку хітів сполук негативного контролю, а також, відсутність окремих кристалографічно доведених ефекторів сайту IDC. Тому подальша стратегія фармакофорного скринінгу базувалась на використанні індивідуальних фармакофорів для кожної структури з RCSB Protein Data Bank: 6YD1 (комплекс з OLQ), 6YD5 (комплекс з OM8), 6YD6 (комплекс з OMW), 6KVP (комплекс з ZI1), 5XDU (комплекс з ZI6), 5XDV (комплекс з ZI6), 5XDT (комплекс з ZI7), 8HTB (комплекс з ZI9), 4DXD (комплекс з 9PC = PC190723), 3VOB (комплекс з 9PC = PC190723) і 6KVQ (комплекс з DVX = ZI1+BODIPY).

Для коректного визначення функціонально важливих дескрипторів фармакофорів, їх діаметрів і векторів нами використовувались як інструменти сервісу Pharmit, так і результати аналізу ліганд-білкових взаємодій в програмі BIOVIA Discovery Studio 2021 Client. Було враховано внесок водневих зв'язків (H-Bonds), гідрофобні взаємодії (Hydrophobicity), внесок зарядів (Interpolated Charge), електростатичних взаємодій (Electrostatics), доступність розчиннику (SAS) і узагальнюючі 2D-карти взаємодій (Interactions). Приклад аналізу для комплексу 3VOB канонічного алостеричного ефектору – 9PC (PC190723) і FtsZ білку *S. aureus* subsp. *aureus* *Mu50* (NCBI Taxonomy ID: 158878) представлено на рис. 3. Ключовим показником якості фармакофорної моделі був повний охват групи сполук позитивного контролю і відсутність хітів негативного контролю (за умов максимальної відповідності 2D-карті ліганд-білкових взаємодій). З врахуванням флуктуацій форми і об'єму кишені сайту IDC (рис. 4) (Ozheriedov et al, 2024) було задано обмеження поверхні сайту: Shape > Exclusive

Shape > Receptor (Tolerance = 1), що зменшувало кількість хибно-позитивних хітів. При обробці результатів скринінгу хіти фільтрувались за показниками скорінгу. Таким чином, у остаточному звіті сервіс надавав лише одну лідер-версію для кожної сполуки.

По завершенні сесій скринінгу (11 сесій – за кількістю залучених у дослідження PDB-комплексів), звіти було експортовано у Microsoft Excel, де після узагальнення списків хітів і виключення дублікатів, остаточна вибірка склала 89 індивідуальних сполук. Наступне дослідження потенціалу зв'язування відібраних сполук із сайтом IDC здійснювали на підставі результатів молекулярного докінгу. Відповідно були сформовані бібліотеки, адаптовані до вимог програм CCDC GOLD 2023.2.0 і iGEMDOCK v2.1 (у форматах *.sdf і *.mol2).

Молекулярний докінг у програмі CCDC GOLD здійснювали з використанням чотирьох PDB-структур: 3VOB, 5XDT, 6YD1 і 5XDU. Результати докінгу підтвердили попередні висновки, і набір докованих лігандів помітно варіював в залежності від мішені. Це ще раз підтвердило необхідність використання ансамблю мішеней у протоколах віртуального скринінгу ефекторів сайту IDC. Так, результати докінгу з використанням PDB-структури 3VOB (комплекс FtsZ *S. aureus* з 9PC/PC190723), свідчать про те, що деякі з речовин, відібраних за результатами фармакофорного пошуку, не показали достовірні положення посадки:

ZI1, ZI6, ZI9, ChEMBL116438 (CURCUMIN), ChEMBL1096127, ChEMBL1097433, ChEMBL1097439, ChEMBL3098781, ChEMBL3098782, ChEMBL3098784, ChEMBL3098786, ChEMBL4097421, ChEMBL4104165, ChEMBL4207571 і ChEMBL4281701.

Примітно, що до цієї групи потрапили три з чотирьох зантринів (ZI1, ZI6 і ZI9), для яких, взаємодія з сайтом IDC підтверджена кристалографічно: ZI1 (PDB: 6KVP), ZI6 (PDB: 5XDU, 5XDV), ZI7 (PDB: 5XDT) та ZI9 (PDB: 8HTB). Вирівнювання структур комплексів 3VOB (з 9PC) і 5XDT (з ZI7) підтвердило суттєву відмінність активних конформацій 9PC та ZI7, хоча їх 2,6-дифтор-3-гідроксибензамідні фрагменти показали консервативність їх розташування та взаємодій (рис. 1). Порівняння об'ємів IDC

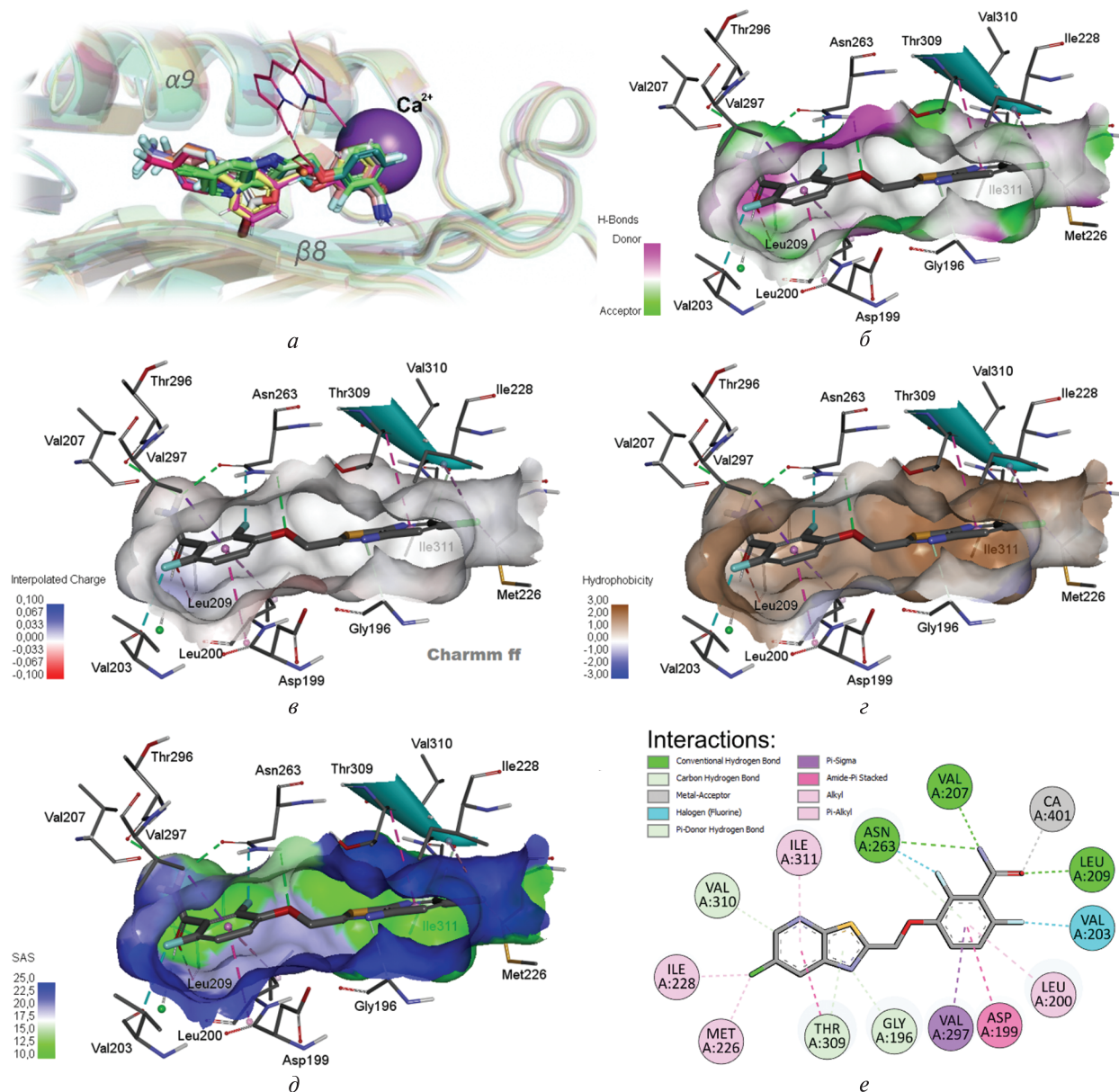


Рис. 3. Результати аналізу взаємодій ліганду з кишенею сайту міждоменної щілини (IDC) FtsZ-білку на прикладі PDB-структури 3VOB (комплекс 9PC (PC190723) і FtsZ білку *S. aureus* subsp. *aureus* Mu50): *a* – структурне вирівнювання PDB-комплексів FtsZ з 9PC і іншими референсними лігандами; *б* – внесок водневих зв’язків; *в* – внесок інтерполярих зарядів (за умови використання силового поля Charmm ff); *г* – внесок гідрофобних властивостей сайту; *д* – доступність кишені сайту для сольвенту; *е* – узагальнююча 2D-карта взаємодій на прикладі PC190723 і FtsZ білку *S. aureus* комплексу 3VOB

кишень структур 3VOB і 5XDT із застосуванням плагіну CaviOmIX підтвердило очевидність ліганд-білкового пізнання (рис. 1, б/д і в/е), а докінг із використанням структури 5XDT показав коректні позиції посадки всіх

чотирьох зантринів. Загалом, використання структур 3VOB, 5XDT, 6YD1 та 5XDU достатньо охоплює конформаційні флуктуації кишені IDC і в сукупності давало коректне відображення посадки для всієї групи лігандів, відібраних

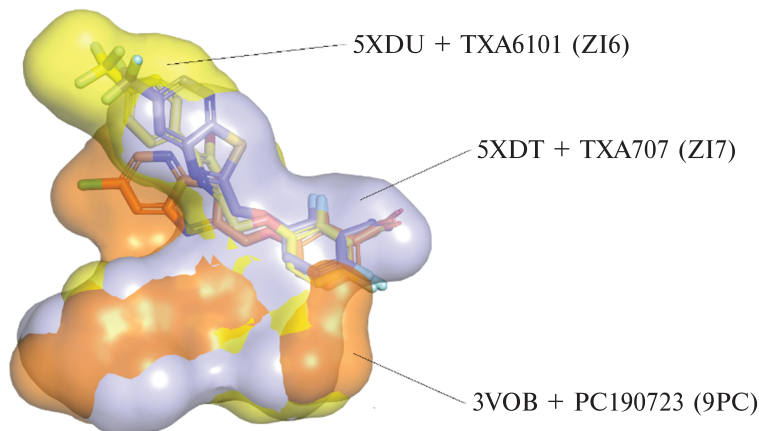


Рис. 4. Флуктуації форми і об’єму кишені сайту міждоменної щілини на прикладі структурного вирівнювання «point-cloud» зліпків клішень IDC трьох ліганд-білкових комплексів FtsZ білку *S. aureus*, депонованих в RCSB Protein Data Bank: 3VOB – комплекс FtsZ білку з аллостеричним інгібітором PC190723 (позначено помаранчевим кольором), 5XDT – комплекс FtsZ білку з зантрином ZI7 = TXA707 (позначено блакитним кольором) і 5XDU – комплекс FtsZ білку з зантрином ZI6 = TXA6101 (позначено жовтим кольором)

на підставі результатів фармакофорного скринінгу. При цьому візуальна оцінка розташування лігандів у кишені сайту здійснювалась за допомогою програми PyMOL шляхом порівняння конформацій з контрольним лігандом (ліганд PDB-структури). Найкращі показники фітнес-функцій CCDC GOLD: ChemPLP (PLP.Fitness і PLP.PLP) та ASP (ASP.Fitness і ASP.ASP) узагальнені і наведені в таблиці. Показники CCDC GOLD порівнювали з положенням лігандів, що

показали найбільшу конформаційну подібність до референсних сполук з PDB. Це дозволило мінімізувати хибне завищення чи заниження показників фітнес-функцій. Загалом, показники цільової групи зіставляли з показниками референсних лігандів контролю (редокінг лігандів з PDB-структур). Погани значення фітнес-функцій показала лише одна речовина – куркуміноїд CHEMBL116438 (PubChem ID: 103340697), хоча навіть ця сполука мала

Узагальнені результати докінгу хітів фармакофорного пошуку ефекторів сайту IDC засобами програми CCDC GOLD

N	Сполука (PDB + ChEMBL)	PubChem ID:	Коректність по- садки відносно референтної сполуки (+/-)	PLP. Fitness	PLP.PLP	ASP. Fitness	ASP.ASP
Контрольна група ефекторів сайту IDC на підставі даних RCSB Protein Data Bank							
1	9PC (CHEMBL511201)	25016417	+	80,79	-78,09	40,77	44,77
2	OLQ (CHEMBL453452)	3544383	+	57,80	-53,63	24,82	28,53
3	OM8 (CHEMBL5092442)	59402956	+	73,74	-69,74	33,77	39,21
4	OMW (CHEMBL5080731)	156022394	+	87,51	-84,02	35,75	43,96
5	ZI1 (-)	90123239	+	104,07	-99,27	47,33	53,96
6	ZI6 (CHEMBL3098779)	72947301	+	103,55	-96,58	46,96	52,79
7	ZI7 (CHEMBL3909654)	90135655	+	90,89	-85,26	41,44	45,47
8	ZI9 (-)	167312464	+	93,93	-88,27	26,57	41,67
Бензаміди 2,6- дифлюробензаміди							
9	CHEMBL1096127	46237011	+	102,19	-96,07	46,81	51,29
10	CHEMBL3098684	72947707	+	101,26	-95,93	47,79	59,29
11	CHEMBL1094205	46236897	+	86,07	-80,84	39,34	46,81

Продовження таблиці

N	Сполука (PDB + ChEMBL)	PubChem ID:	Коректність по- садки відносно референтної сполуки (+/-)	PLP. Fitness	PLP.PLP	ASP. Fitness	ASP.ASP
12	CHEMBL1094222	46237137	+	76,73	-74,62	39,43	45,86
13	CHEMBL1095807	46237267	+	76,03	-73,05	39,12	46,17
14	CHEMBL1095808	46237133	+	74,34	-74,53	32,45	36,69
15	CHEMBL1094221	46237138	+	74,49	-71,65	39,22	46,01
16	CHEMBL1094513	46237009	+	64,97	-61,34	30,61	35,64
17	CHEMBL1095809	46237268	+	73,63	-71,48	36,74	42,95
18	CHEMBL1095213	46236896	+	73,12	-72,21	36,17	38,06
19	CHEMBL1096673	46237139	+	72,24	-68,44	38,47	46,14
20	CHEMBL1095810	46236764	+	71,37	-68,65	38,33	45,90
21	CHEMBL1096128	46237270	+	98,73	-93,39	45,26	51,72
22	CHEMBL1096337	46236891	+	60,74	-58,26	30,38	34,72
23	CHEMBL1096342	46236898	+	70,25	-70,38	34,50	39,04
24	CHEMBL1097098	46237273	+	71,50	-68,66	38,99	47,14
25	CHEMBL1097434	46888549	+	71,83	-68,51	41,86	51,48
26	CHEMBL1097435	46236615	+	96,49	-90,59	47,89	52,21
27	CHEMBL1097440	46236763	+	72,30	-71,28	38,03	41,09
28	CHEMBL1097446	46237014	+	77,04	-74,12	38,72	44,98
29	CHEMBL1097447	46237015	+	76,22	-73,27	40,49	48,98
30	CHEMBL1097767	46236611	+	72,58	-70,16	41,74	48,69
31	CHEMBL1097796	46236892	+	61,99	-59,27	29,06	36,16
32	CHEMBL1098877	46236767	+	66,04	-62,88	25,91	31,35
33	CHEMBL3098677	70980286	+	70,95	-74,32	37,66	48,96
34	CHEMBL3098682	72947706	+	82,61	-82,83	40,48	52,34
35	CHEMBL3098781	72947303	+	86,22	-85,81	43,24	51,08
36	CHEMBL3098782	72947304	+	99,25	-92,11	47,16	54,80
37	CHEMBL3098784	72947500	+	87,40	-82,49	38,46	50,37
38	CHEMBL3098785	66574494	+	72,41	-73,02	33,95	39,32
39	CHEMBL3098786	66574450	+	101,61	-97,52	47,49	56,93
40	CHEMBL3098787	66575003	+	72,31	-71,10	34,42	43,21
41	CHEMBL3098791	59402677	+	83,95	-81,24	45,53	52,46
42	CHEMBL3098792	59402713	+	83,85	-80,90	46,81	54,51
43	CHEMBL3098793	59402953	+	94,87	-91,60	43,66	52,00
44	CHEMBL3098796	72946294	+	82,63	-79,78	39,74	50,17
45	CHEMBL3098797	72946469	+	94,42	-92,34	45,26	54,08
46	CHEMBL3098798	72946470	+	79,47	-77,32	43,71	57,19
47	CHEMBL3098804	72946673	+	98,53	-94,40	43,17	54,50
48	CHEMBL4066282	137632995	+	69,13	-68,54	35,09	39,26
49	CHEMBL4066482	137633583	+	65,97	-61,86	26,55	30,78
50	CHEMBL4068471	66548710	+	67,07	-64,53	26,56	31,26
51	CHEMBL4069189	137634017	+	67,85	-64,71	26,02	31,50
52	CHEMBL4070966	74762762	+	69,50	-64,62	34,94	46,02
53	CHEMBL4071289	137638354	+	73,76	-73,32	32,39	37,73
54	CHEMBL4079385	137651549	+	67,90	-68,04	28,34	33,36
55	CHEMBL4080788	137647127	+	74,31	-75,15	31,08	36,21
56	CHEMBL4086219	66546027	+	66,41	-62,16	26,53	31,30
57	CHEMBL4086284	137643844	+	78,27	-79,91	31,87	37,05
58	CHEMBL4087184	137644599	+	71,88	-70,99	26,56	31,41
59	CHEMBL4093857	137654481	+	69,09	-66,22	42,10	50,50

Продовження таблиці

N	Сполука (PDB + ChEMBL)	PubChem ID:	Коректність по- садки відносно референтної сполуки (+/-)	PLP. Fitness	PLP.PLP	ASP. Fitness	ASP.ASP
60	CHEMBL4094865	66548708	+	64,62	-60,65	25,68	30,80
61	CHEMBL4095585	137654075	+	82,60	-79,31	40,67	46,27
62	CHEMBL4096436	137655753	+	65,95	-62,69	25,83	31,12
63	CHEMBL4097421	137661086	+	93,75	-86,45	39,87	46,46
64	CHEMBL4098327	137658758	+	72,19	-69,63	37,36	50,92
65	CHEMBL4104165	66546026	+	86,53	-80,63	17,04	30,23
66	CHEMBL4104199	137658012	+	67,83	-67,67	36,39	47,63
67	CHEMBL4105027	66546028	+	67,24	-64,58	26,67	31,67
68	CHEMBL4281701	145981065	+	98,05	-92,01	44,31	49,62
69	CHEMBL4282358	145980206	+	91,30	-86,06	40,31	46,11
70	CHEMBL4459453	155527102	+	95,06	-92,22	41,39	47,81
71	CHEMBL4513993	155539112	+	96,45	-93,02	45,24	51,17
72	CHEMBL4569747	155552112	+	70,30	-70,67	23,60	37,72
73	CHEMBL503648	17999360	+	54,35	-50,46	22,02	25,97
<i>Оксазол-бензаміди</i>							
74	CHEMBL3098683	66574575	+	82,40	-80,64	42,52	52,50
75	CHEMBL3098777	72947090	+	89,47	-84,27	30,47	39,51
<i>1,3-бензотіазол-5-карбоксилати</i>							
76	CHEMBL1097433	46237136	+	102,25	-96,80	29,32	43,46
77	CHEMBL1097442	46236761	+	76,31	-73,79	35,69	50,12
78	CHEMBL1097443	46236616	+	72,90	-69,86	40,59	47,73
<i>S-глікозильні похідні</i>							
79	CHEMBL1200588	446598	+	54,22	-56,23	15,93	23,28
<i>Похідні гідрохінону (бензол-1,3-іоли)</i>							
80	CHEMBL2418096	60164930	+	68,37	-66,84	26,92	34,58
<i>Похідні хлорпурин-амінів</i>							
81	CHEMBL242079	44428643	+	80,91	-77,40	33,80	43,62
<i>Карбамоїл-дифторфеноксіацетати</i>							
82	CHEMBL4084055	137648670	+	61,74	-62,56	32,52	30,48
83	CHEMBL4089418	137641881	+	60,48	-61,71	24,04	30,62
<i>2,6-дифторбензолсульфонаміди</i>							
84	CHEMBL4091815	74762761	+	73,80	-68,79	35,53	46,83
<i>Похідні 3-метоксибензаміду (3-MBA) (Bi et al, 2018)</i>							
85	CHEMBL4207571	145977194	+	73,06	-65,81	29,43	33,46
<i>Алкілбензаміди</i>							
86	CHEMBL459965	44581343	+	72,63	-71,70	18,55	23,29
87	CHEMBL461450	44581341	+	77,25	-74,97	24,59	30,46

Закінчення таблиці

N	Сполука (PDB + ChEMBL)	PubChem ID:	Коректність по- садки відносно референтної сполуки (+/-)	PLP. Fitness	PLP.PLP	ASP. Fitness	ASP.ASP
Поліфеноли (куркумініди)							
88	CHEMBL140	969516	+	80,84	-71,68	29,37	35,39
89	CHEMBL116438	103340697	+	-21,3	30,96	-20,06	17,43

достатній збіг фармакофорних дескрипторів і результатів докінгу (таблиця, див. п.п. 89).

Для перевірки відібраних ефекторів сайту IDC, а також кількісного оцінювання енергії взаємодії та внеску водневих зв'язків (H-Bond), Ван-дер-Ваальсових сил (VDW) та електростатики (Elec) у формування комплексів з FtsZ білком, нами було здійснено редокінг бібліотеки лігандів за допомогою програми iGEMDOCK v2.1 (Yang and Chen, 2004; Bellaver et al, 2024), в якій використовується емпірична функція підрахунку балів і еволюційний метод (Bellaver et al, 2024; Yang, 2004; Wang et al, 2024). Оригінальна узагальнююча енергетична функція GEMDOCK (TotalEnergy) складається з потенціалів внеску електростатики, стеричного потенціалу і потенціалу водневих зв'язків (рис. 5, а). Стеричні потенціали та потенціали водневих зв'язків використовують лінійну модель, яка ідентифікує перспективні комплекси (Yang and Chen, 2004). Особливість алгоритму GEMDOCK полягає в використанні ансамблю операторів, які співпрацюють, використовуючи парадигму родинної конкуренції, за аналогією до алгоритмів локального пошуку (Bellaver et al, 2024). Також слід зазначити, що штатна функція iGEMDOCK – «AverConPair» дозволяє кількісно оцінити локальну конформаційну гнучкість взаємодії ліганд-білок у кишені цільового сайту (Bellaver et al, 2024). Це оптимально підходить як кількісний критерій оцінки ефективності ліганд-білкової взаємодії у сайті IDC (Ozheriedov et al, 2024).

Загалом результати редокінгу свідчать про те, що вирішальний внесок у зв'язування ефекторів кишені IDC вносять водневі зв'язки (рис. 5, б) і сили Ван-дер-Ваальса (рис. 5, в). При цьому, внесок електростатики є міні-

мальним або відсутній (рис. 5, г). Так, жодного внеску електростатичних сил не відбувалось у випадку будь якої контрольної сполуки. Це погоджується з результатами аналізу властивостей кишені IDC експериментальних комплексів з RCSB Protein Data Bank (рис. 3). Загалом отримані результати, виглядають максимально коректними і скорингові компоненти підсумкової оцінювальної функції «TotalEnergy» чітко корелюють з даними аналізу структур з RCSB Protein Data Bank. Так, найменший контрольний ліганд OLQ (2,6-дифтор-3-метоксибензамід) є мінімально можливою сполукою цього хімічного ряду.

У результаті наших попередніх досліджень встановлено, що саме цей фрагмент є спільним для всіх відомих ефекторів кишені IDC (Ozheriedov et al, 2024). На прикладі аналізу PDB-структур було показано, що лише 2,6-дифтор-3-метоксибензамідний фрагмент формує водневі зв'язки і має консервативну локалізацію прив'язану до заглибленої частини кишені. Саме цей фрагмент формує консервативні водневі зв'язки з амінокислотними залишками кишені (Val207, Leu209 і Asn263, див. PDB-структуру 6YD1), а також консервативний металевий зв'язок з кофактором (іон K^+ або Ca^{2+}). З іншого боку, всі інші функціональні групи контрольних лігандів взаємодіють з дистальними доменами кишені через різноманітні Ван-дер-Ваальсові взаємодії, що також позначено на рис. 1, г і рис. 3, в. Відповідно, серед контрольних ефекторів сайту IDC OLQ показує найкращі показники «H-Bonds» (рис. 5, б) і найгірші показники «vdW» (рис. 5, в). В той же час контрольні ліганди, з великими дистальними групами, особливо ті що несуть циклічні фрагменти схильні до π - π та інших Ван-дер-Ваальсових взаємодій були лі-

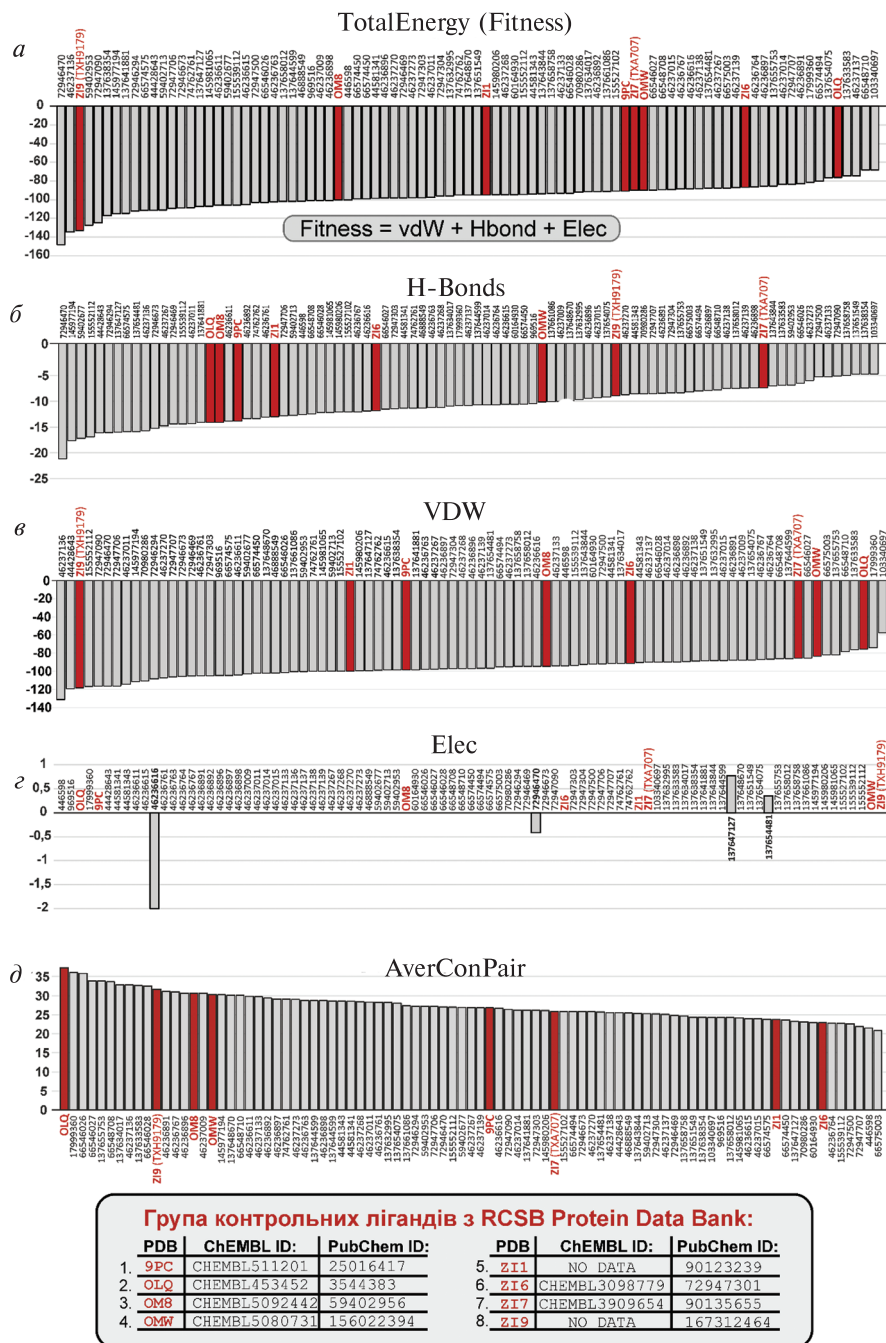


Рис. 5. Результати докінгу сполук-лідерів в програмі iGEMDOCK. Представлений розподіл показників оцінювальних функцій відображає середні значення незалежних сеансів докінгу, виконаних з використанням білкових компонентів чотирьох PDB-структур: 3VOB, 5XDT, 6YD1 та 5XDU. *а* – узагальнююча оцінювальна функція ліганд-білкової взаємодії (TotalEnergy), яка складається з трьох показників: *б* – внеску водневих зв'язків (H-Bonds), *в* – внеску сил Ван дер Ваальса (vdW), *г* – внеску електростатички (Elec), *д* – «AverConPair», або середня енергія конформаційної пари, визначає ступень взаємної конформаційної мінливості ліганду і кишені сайту, що математично відображає потенціал ліганд-білкового пізнання

дерами саме за показником «vdW». Так, лідерами за показником «vdW» серед сполук контролю визначились зантрини ZI9 і ZI1, а також канонічний ефектор IDC – 9PC (PC190723) (рис. 5, в). Ці сполуки мають відповідні великі дистальні групи, схильні до різноманітних Ван-дер-Ваальсових взаємодій (рис. 2).

На нашу думку, слід також звернути увагу на показник середньої енергії конформаційної пари – «AverConPar» (рис. 5, д). Зазначений показник вважається індикатором рухливості кишені сайту зв'язування (Bellaver et al, 2024; Yang and Chen, 2004), а значні позитивні показники «AverConPar» повністю корелюють із результатами наших досліджень флуктуації об'ємів і форми сайту IDC, що виникають внаслідок ліганд-білкового пізнання (Ozheriedov et al, 2024). Водночас, форма кишені сайту при зв'язуванні ліганду є досить консервативною, що обумовлюється стабілізацією коливань кишені у комплексі (Hirano et al, 2021). Це вписується в отримані результати, що проявляється у максимальному показнику «AverConPar» для комплексу з найменшим представником ряду 2,6-дифтор-3-метоксибензамідів – OLQ. Ми вважаємо, що саме внаслідок розмірів OLQ і його сильної прив'язки до домену кофактору більша частина кишені сайту IDC зберігає рухливість. Відповідно це повністю корелює з найвищим показником функції «AverConPar» для OLQ (рис. 5, д).

Таким чином, показники контрольних сполук корелювали з їх властивостями і мали логічне пояснення з позиції структур референсних лігандів і їх комплексів з FtsZ білком. Це дозволяє обґрунтовано екстраполювати дані кореляції на всю тестову групу. Загалом, підводячи підсумки дослідження, ми вважаємо, що на підставі результатів фармакофорного пошуку і двох протоколів молекулярного докінгу нам вдалося відібрати з 379 біохімічно доведених ефекторів FtsZ білку 89 сполук, які зв'язуються з алостеричним сайтом міждоменної щілини (Inter-Domain Cleft = IDC). Із зазначених сполук 88 повністю відповідають дескрипторам, фітнес функціям, умовам і обмеженням застосованого протоколу скринінгу. Ще одна сполука – куркумінонд CHEMBL116438 (PubChem ID: 103340697, (1E,4Z,6E)-5-hydroxy-1,7-bis(4-hydroxy-3-

methoxy-phenyl)hepta-1,4,6-trien-3-one) продемонструвала аномальні показники фітнес функцій CCDC GOLD, найгірші показники водневих зв'язків і vdW-взаємодій (рис. 5, а, б і в). Проте слід зазначити, що показники іншого куркумінонду – CHEMBL140 (PubChem ID:969516, (1E,6E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)hepta-1,6-diene-3,5-dione)) були достатньо великі, і за загальним рейтингом iGEMDOCK зазначена сполука займає положення між лідерами контрольних сполук – ZI9 і OM8 (рис. 5, а). Тому на сьогодні слід визначити куркумінонд CHEMBL116438 як можливий ефектор сайту IDC, але ця взаємодія має бути досліджена окремо.

Дослідження з молекулярного докінгу було виконано за допомогою програмного забезпечення CCDC GOLD, люб'язно наданого Кембриджським центром кристалографічних даних (CCDC) у рамках гранту Міжнародної програми Френка Аллена для підтримки досліджень і освіти (Frank Allen International Research and Education Program, FAIRE) – ID: 21554.

Дотримання етичних стандартів. Стаття не містить жодних досліджень, які були виконані із використанням лабораторних препаратів, клітинних ліній або інтактних організмів тварин чи людини.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність будь-якого конфлікту інтересів.

Фінансування. Робота виконана в рамках бюджетної теми Національної академії наук України (номер державної реєстрації 0120U100937, 2020-24).

IDENTIFICATION OF FtsZ INTERDOMAIN CLEFT EFFECTORS BASED ON PHARMACOPHORE SEARCH AND MOLECULAR DOCKING

*P.A. Karpov, D.S. Ozheriedov,
S.P. Ozheredov, O.M. Demchuk, Ya.B. Blume*

Institute of Food Biotechnology and Genomics
NAS of Ukraine,
Baidy-Vyshnevetskoho str., 2A, Kyiv, 04123, Ukraine
E-mail: karpov@nas.gov.ua; karpov@ifbg.org.ua

There are a significant number of inhibitors of the bacterial FtsZ protein, the biological activity of which has been confirmed biochemically, but their binding sites remain unclear. This significantly complicates further

combinatorial design, and in the current study we present the results of a computational search for effectors of the Inter-Domain Cleft (IDC) site. The actual research was based on the results of pharmacophore screening using the Pharmit service and molecular docking with CCDC GOLD and iGEMDOCK programs. The objective group was a combined library of 379 compounds, which was designed based on revision of the structural database of the RCSB Protein Data Bank and compounds from the ChEMBL database, for which direct interaction with FtsZ has been proven biochemically. According to the results of pharmacophore search, docking and structural analysis, 88 effectors of the IDC site were identified. One more curcumin compound has been identified as a potential IDC site effector.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Adams DW, Wu LJ, Czaplewski LG et al (2011) Multiple effects of benzamide antibiotics on FtsZ function. *Mol Microbiol* 80:68–84. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2011.07559.x>
- Alnami A, Norton RS, Pena HP et al (2021) Conformational flexibility of a highly conserved helix controls cryptic pocket formation in FtsZ *J Mol Biol* 433(15):167061. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2021.167061>
- Andreu JM, Huecas S, Araújo-Bazán L et al (2022b) The search for antibacterial inhibitors targeting cell division protein FtsZ at its nucleotide and allosteric binding sites. *Biomedicines* 10(8):1825. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10081825>
- Andreu JM, Schaffner-Barbero C, Huecas S (2010) The antibacterial cell division inhibitor PC190723 is an FtsZ polymer-stabilizing agent that induces filament assembly and condensation. *J Biol Chem* 285(19):14239–14246. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.094722>
- Bellaver EH, da Costa IM, Redin EE et al (2024) The fermented milk can be a natural ally against obesity? Investigation of Bovine Milk Fermentation by *Lactocaseibacillus casei* LBC 237, Screening, and In Silico Predictions of Bioactive Peptides for Obesity Control. *Intelligent Pharmacy*. PII: S2949-866X(24)00069-8. Reference: IPHA 125. <https://doi.org/10.1016/j.ipha.2024.05.009>
- Bryan E, Ferrer-González E, Sagong HY et al (2023) Structural and antibacterial characterization of a new benzamide FtsZ inhibitor with superior bactericidal activity and *in vivo* efficacy against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *ACS Chem Biol* 18(3):629–642. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.2c00934>
- Cramer P (2021) AlphaFold2 and the future of structural biology. *Nat Struct Mol Biol* 28(9):704–705. <https://doi.org/10.1038/s41594-021-00650-1>
- Ferrer-González E, Fujita J, Yoshizawa T et al (2019) Structure-guided design of a fluorescent probe for the visualization of FtsZ in clinically important gram-positive and gram-negative bacterial pathogens. *Sci Rep* 9(1):20092. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56557-x>
- Fujita J, Harada R, Maeda Y et al (2017a) Identification of the key interactions in structural transition pathway of FtsZ from *Staphylococcus aureus*. *J Struct Biol* 198(2):65–73. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2017.04.008>
- Fujita J, Maeda Y, Mizohata E et al (2017) Structural flexibility of an inhibitor overcomes drug resistance mutations in *Staphylococcus aureus* FtsZ. *ACS Chem Biol* 12(7):1947–1955. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.7b00323>
- Gurnani M, Rath P, Chauhan A et al (2022) Inhibition of Filamentous thermosensitive mutant-Z protein in *Bacillus subtilis* by cyanobacterial bioactive compounds. *Molecules* 27(6):1907. <https://doi.org/10.3390/molecules27061907>
- Han H, Wang Z, Li T et al (2021) Recent progress of bacterial FtsZ inhibitors with a focus on peptides. *FEBS J* 288(4):1091–1106. <https://doi.org/10.1111/febs.15489>
- Haydon DJ, Stokes NR, Ure R et al (2008) An inhibitor of FtsZ with potent and selective anti-staphylococcal activity. *Science* 321(5896):1673–1675. <https://doi.org/10.1126/science.1159961>
- Hendlich M, Rippmann F, Barnickel G (1997) LIG-SITE: automatic and efficient detection of potential small molecule-binding sites in proteins. *J Mol Graph Model* 15(6):359–363. [https://doi.org/10.1016/s1093-3263\(98\)00002-3](https://doi.org/10.1016/s1093-3263(98)00002-3)
- Hirano Y, Okimoto N, Fujita S et al (2021) Molecular dynamics study of conformational changes of Tankyrase 2 binding subsites upon ligand binding. *ACS Omega* 6(27):17609–17620. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c02159>
- Huecas S, Araújo-Bazán L, Ruiz FM et al (2021) Targeting the FtsZ allosteric binding site with a novel fluorescence polarization screen, cytological and structural approaches for antibacterial discovery. *J Med Chem* 64(9):5730–5745. <https://doi.org/10.1021/acscimedchem.0c02207>
- Jones G, Willett P, Glen RC et al (1997) Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J Mol Biol* 267(3):727–748. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1996.0897>
- Jumper J, Evans R, Pritzel A et al (2021) Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature* 596(7873):583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
- Karpov PA, Demchuk OM, Britsun VM et al (2016) New imidazole inhibitors of *Mycobacterial* FtsZ: the way from high-throughput molecular screening

- in Grid up to *in vitro* verification. Science and Innovation (Nauka innov.)12(3):44–59. <https://doi.org/10.15407/scin12.03.044>
- Kifayat S, Yele V, Ashames A et al (2023) Filamentous temperature sensitive mutant Z: a putative target to combat antibacterial resistance. RSC Adv 13(17): 11368–11384. <https://doi.org/10.1039/d3ra00013c>
- Liwe J, Amos LA (1998) Crystal structure of the bacterial cell-division protein FtsZ. Nature 391(6663):203–206. <https://doi.org/10.1038/34472>
- Matsui T, Yamane J, Mogi N et al (2012) Structural reorganization of the bacterial cell-division protein FtsZ from *Staphylococcus aureus*. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 68(Pt 9):1175–1188. <https://doi.org/10.1107/S0907444912022640>
- Ozheriedov DS, Ozheriedov SP, Demchuk OM, Blume YaB, Karpov PA (2024) Ligand-induced variability of the FtsZ protein InterDomain Cleft site pocket. Cyt Genet 58(4):275–282. <https://doi.org/10.3103/S0095452724040078>
- Pradhan P, Margolin W, Beuria TK (2021) Targeting the achilles heel of FtsZ: the interdomain cleft. Front Microbiol 12:732796. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.732796>
- Ramirez-Aportela E, Lypez-Blanco JR, Andreu JM et al (2014) Understanding nucleotide-regulated FtsZ filament dynamics and the monomer assembly switch with large-scale atomistic simulations. Biophys J 107(9): 2164–2176. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.09.033>
- Sharma AK, Poddar SM, Chakraborty J et al (2023) A mechanism of salt bridge-mediated resistance to FtsZ inhibitor PC190723 revealed by a cell-based screen. Mol Biol Cell 34(3):ar16. <https://doi.org/10.1091/mbc.E22-12-0538>
- Steinkellner G, Rader R, Thallinger GG (2009) VASCo: computation and visualization of annotated protein surface contacts. BMC Bioinformatics 10:32. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-32>
- Stokes NR, Baker N, Bennett JM et al (2013) An improved small-molecule inhibitor of FtsZ with superior *in vitro* potency, drug-like properties, and *in vivo* efficacy. Antimicrob Agents Chemother 57(1):317–325. <https://doi.org/10.1128/AAC.01580-12>
- Sunseri J, Koes DR (2016) Pharmit: interactive exploration of chemical space. Nucl Acids Res 44(W1): W442–W448. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw287>
- Tan CM, Therien AG, Lu J, Lee SH et al (2012) Restoring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* susceptibility to β -lactam antibiotics. Sci Transl Med 4(126):126ra35. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003592>
- UniProt Consortium (2023) UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. Nucl Acids Res 51(D1):D523–D531. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1052>
- Wagstaff JM, Tsim M, Oliva MA et al (2017) Polymerization-Associated Structural Switch in FtsZ That Enables Treadmilling of Model Filaments. MBio 8(3):e00254–17. <https://doi.org/10.1128/mBio.00254-17>
- Wang M, Wu Z, Wang J et al (2024) Genetic algorithm-based receptor ligand: A genetic algorithm-guided generative model to boost the novelty and drug-likeness of molecules in a sampling chemical space. J Chem Inf Model 64(4):1213–1228. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c01964>
- Wang M, Fang C, Ma B et al (2020) Regulation of cytokinesis: FtsZ and its accessory proteins. Curr Genet 66(1):43–49. <https://doi.org/10.1007/s00294-019-01005-6>
- Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S et al (2018) SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. Nucl Acids Res 46(W1):W296–W303. <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>
- Yang JM, Chen CC (2004) GEMDOCK: a generic evolutionary method for molecular docking. Proteins 55(2):288–304. <https://doi.org/10.1002/prot.20035>
- Yang JM (2004) Development and evaluation of a generic evolutionary method for protein-ligand docking. J Comput Chem 25(6):843–857. <https://doi.org/10.1002/jcc.20013>

Надійшла в редакцію 3.06.2024
Після доопрацювання 17.06.2024
Прийнята до друку 18.09.2024