

KOMPLEKSI ZLATA KAO POTENCIJALNI SUPLEMENTI SA ANTIKANCEROGENIM I ANTIVIRUSNIM DELOVANJEM

*Marko Antonijević^{1,2}, Jelena Đorović Jovanović¹, Ana Kesić¹, Dejan
Milenković¹, Zoran Marković¹*

Izvod: Farmakološke karakteristike kompleksa zlata poznate su još od kraja 19. veka. Ova jedinjenja najčešće su korišćena u lečenju reumatoidnog artritisa. Poslednjih decenija kompleksi zlata su ispitivani zbog raznolikosti primene, koja pre svega obuhvata upotrebu kao potencijalnih antikancerogenih i hemioterapeutskih agenasa. Zlato(III) kompleksi, zbog sličnosti sa kompleksima platine, su pokazali obećavajuće antikancerogene, citotoksične i antitumorske karakteristike.

U okviru ovog rada ispitivane su interakcije kompleksa zlata (III), $[\text{Au}(\text{DPP})\text{Cl}_2]^+$ i $[\text{Au}(\text{DMP})\text{Cl}_3]$ kompleks (gde je DPP=4,7-difenil-1,10-fenantrolin i DMP=2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) i SARS-CoV2 proteaze. Dobijeni rezultati ukazuju da kvadratno-planarni $[\text{Au}(\text{DPP})\text{Cl}_2]^+$ kompleks pokazuje dobru inhibitornu aktivnost, u odnosu na FDA odobrene lekove, cinanserin i hlorokin.

Ključne reči: kompleks, zlato (III), sinteza, molekulski doking

Uvod

Uloga teških metala (Ag, Hg, Au, Al, Pb i Cd) u biologiji je bila obično povezane s njihovom toksičnošću za žive organizme. Ali, nakon što smo otkrili da neki kompleksi platine (II), poput cisplatine pokazuju veliki klinički uspeh u lečenju različitim vrstama karcinoma, ispitivanja kompleksa drugih prelaznih metala postaju opravdana. (Bugarčić i sar., 2015)

Zlato se koristilo još u drevnoj arapskoj i kineskoj medicini, a poslednjih godina se koristi za lečenje različitih bolesti, poput reumatoidnog artritisa, malarije ili HIV-a. Poslednjih 20 godina posebno su zanimljivi pojedini kompleksi zlata(II) zbog citotoksičnosti prema nekim karcinomima. Plemeniti metali, posebno Ag i Au, imaju neznatan štetan uticaj na ljudski organizam. Stabilnost ovih kompleksa u fiziološkim uslovima povećava se kompleksiranjem sa aromatičnim helatnim inertnim ligandima.

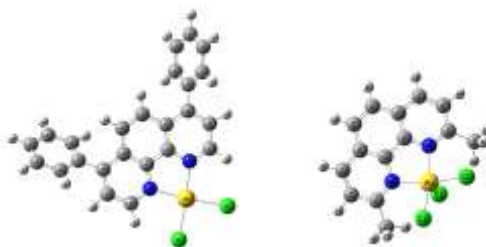
Kompleksi zlata (III) imaju izrazito jak uticaj na inhibiciju enzima. Naime, zbog njihovog jakog afiniteta vezanja za sumpor, različiti enzimi koji sadrže sumpor, kao što su tioredoksin reduktaza, glutation reduktaza i cistein proteaza, su potencijalna meta za biološku aktivnost jedinjenja zlata. (Zou i sar., 2015) Pojavom SARS-CoV-2

¹Univerzitet u Kragujevcu, Institut za Informacione Tehnologije, Jovana Cvijića bb, 34000 Kragujevac, Serbia; e-mail: mantonijevic@uni.kg.ac.rs

²Departman za hemiju, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Kragujevcu, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac

virusne infekcije, stvorila se potreba da se pronađu inhibitori koji će sprečiti delovanje virusa. Novija istraživanja su pokazala da su jedinjenja koja u strukturi poseduju određene funkcionalne grupe efikasna u inhibiciji glavne proteaze ovog virusa. (Macchiagodena i sar., 2020)

U pokušaju definisanja odnosa između strukture kompleksa i aktivnosti sintetisane su nove klase citotoksičnih i potencijalno antitumorskih jedinjenja. Proučavali smo svojstva kvadratno-planarnog $[\text{Au}(\text{DPP})\text{Cl}_2]^+$ i iskrivljenog kvadratpiramidalnog $[\text{Au}(\text{DMP})\text{Cl}_3]$ kompleksa (gde je DPP=4,7-difenil-1,10-fenantrolin i DMP=2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) (slika 1)



Slika 1. Strukturne formule kompleksa zlata **K1** (levo) i **K2** (desno)
 Figure 1. The structures of gold(III) complexes **K1** (left) and **K2** (right)

Materijal i metode rada

Kompleksi **K1** i **K2** su sintetisani po ranije objavljenim procedurama. (Radisavljevic i sar., 2020)

Ravnotežne geometrije ispitivanih jedinjenja optimizovane su pomoću DFT metode M06-2X sa bazisnim skupom 6-311G(d,p), dok je za metalne komplekse korišćen LAN2DZ. (Zhao i Trulhar, 2008; Check i sar., 2001) Optimizacija struktura liganada vršena je pomoću programskog paketa *Gaussian 09* (Frisch i sar., 2010)

AutoDock 4.0 programski paket sa implementovanim AMBER poljem sila korišćen je za predviđanje mesta i energija nekovalentnih interakcija liganada sa proteinom. Monomerna kristalna struktura proteina u PDB formatu (PDB: 6LU7) preuzeta je sa sajta RCSB Protein Data Bank. (Liu i sar., 2020) Za pripremu struktura korišćen je program pod nazivom Discovery Studio 4.0. Ovaj program je takođe korišćen za vizuelizaciju dobijenih rezultata, kao i analizu interakcija između proteina i liganada. Pomoću programa i modula implementiranih u AutoDockTools-u (ADT), dodati su polarni vodonici u proteinu. Pored toga, atomima u proteinu su pripisane parcijalna atomska naelektrisanja korišćenjem Kollmanovog modela, koji se zasniva na kvantnomehničkim proračunima naelektrisanja atoma u okviru aminokiselina. Aktivna mesta vezivanja ispitivanih jedinjenja određena su pomoću AGFR-a.

Kako su za efikasan doking pomoću AutoDock-a neophodne mape za svaki atom liganada, u svrhu njihovih izračunavanja korišćen je AutoGrid. Pomoću Auto Grida određene su koordinate aktivnog mesta koje će u toku dokinga zauzimati

ligand sa koordinatama X=33, Y=57, Z=43 gde se tačke nalaze na udaljenosti od 0.375 Å (grid-point spacing). Da bi se generisala orijentacija liganda unutar aktivnog mesta korišćen Lamarckian Genetic Algorithm (LGA). (Morris i sar., 1998)

Za predviđanje afiniteta vezivanja liganda za protein, AutoDock koristi empirijske funkcije koje su bazirane na slobodnim energijama vezivanja (ΔG_{bind}). (Huey i sar., 2007) Slobodne energije vezivanja uključuju nekoliko različitih komponenti sa različitim uticajem. Ove komponente predstavljaju različite uticaje koje ostvaruju interakcije između proteina i liganada, kao što je prikazano u sledećoj jednačini:

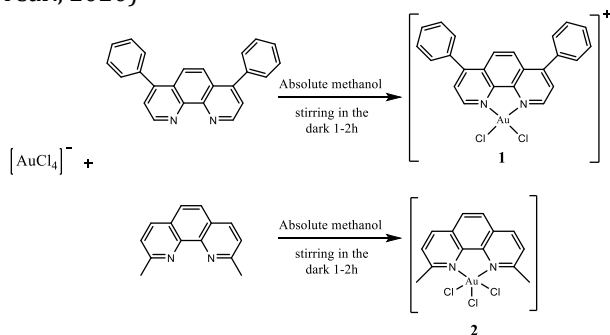
$$\Delta G_{\text{bind}} = \Delta G_{\text{vdw+hbond+desolv}} + \Delta G_{\text{elec}} + \Delta G_{\text{total}} + \Delta G_{\text{tor}} - \Delta G_{\text{unb}} \quad (1)$$

gde ΔG_{total} predstavlja ukupnu energiju sistema, ΔG_{tor} predstavlja torzionu energiju, ΔG_{unb} je enegija nekovalentnih interakcija unutar sistema, ΔG_{elec} predstavlja elektrostatičku energiju i $\Delta G_{\text{vdw+hbond+desolv}}$ predstavlja sumu energija disperzije i repulzije (ΔG_{vdw} je energija Van der Walls interakcija, energija vodoničnih veza predstavljena je sa ΔG_{bond} , a energija desolvatacije sa ΔG_{desolv}). Takođe, suma $\Delta G_{\text{vdw+hbond+desolv}}$ i ΔG_{elec} predstavlja slobodnu energiju intermolekularnih interakcija, ΔG_{inter} . (Morris i sar., 1998)

Rezultati istraživanja i diskusija

Sinteze kompleksa

Kompleksi $[\text{Au}(\text{DPP})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ (**K1**) i $[\text{Au}(\text{DMP})\text{Cl}_3]$ (**K2**) su sintetisani na način kako je prikazano na slici 3. Dobijene strukture su potvrđene elementalnom analizom, spektroskopskim metodama (IR, UV-Vis, ESI-MS; Figs. S1-S5, ESI) (Radisavljevic i sar., 2020)



Slika 2. Šematski prikaz reakcija sinteze **K1** i **K2** (Radisavljevic i sar., 2020)

Figure 2. Schematic presentation of the reactions for the synthesis of **K1** and **K2** (Radisavljevic et al., 2020)

Kompjuterske metode-molekulski doking

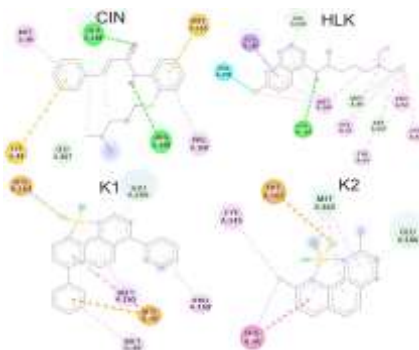
U ovom radu ispitivane su interakcije između nosintetisanih kompleksa zlata i lekova prethodno odobrenih od strane agencije za kontrolu hrane i lekova (FDA) sa SARS-CoV-2 M^{pro} glavnom proteazom. Kompleksi su izabrani na osnovu nekoliko značajnih strukturnih parametara, kao što su postojanje halogenih elemenata i aromatičnih prstenova, jer se pokazalo da jedinjenja sličnih strukturnih karakteristika inhibiraju pomenutu proteazu. (Macchiagodena i sar., 2020) Analiza pomoću AGFR-a pokazala je da se ispitivana kompleksna jedinjenja vezuju u aktivnom mestu koje zauzimaju FDA odobreni lekovi, cinanserin i hlorokin, što omogućuje poređenje njihove inhibitorne aktivnosti.

Tabela 1: Termodinamički podaci dobijeni docking simulacijom ispitivanih jedinjenja sa SARS-CoV-2 M^{pro}

Table 1: Thermodynamic parameters obtained by molecular docking of investigated compounds with SARS-CoV-2 M^{pro}

	ΔG_{bind} (kcal mol ⁻¹)	K _i (nM)	ΔG_{inter} (kcal mol ⁻¹)	$\Delta G_{vdw+hbond+desolv}$ (kcal mol ⁻¹)	ΔG_{elec} (kcal mol ⁻¹)	ΔG_{total} (kcal mol ⁻¹)	ΔG_{tor} (kcal mol ⁻¹)
K1	-9.18	0.18	-9.73	-9.71	-0.02	-0.88	+0.55
K2	-6.13	32.09	-6.40	-6.39	-0.02	+0.84	+0.27
CIN	-7.60	2.70	-9.98	-9.93	-0.06	-1.24	+2.39
HLK	-7.20	5.26	-9.40	-9.40	+0.01	-1.13	+2.20

Posmatrajući rezultate prikazane u Tabeli 1, može se primetiti da su energije vezivanja **K1** značajno niže od energija vezivanja **K2**, ali i od energija vezivanja **CIN** i **HLK**. Pored toga, konstante inhibicije indiciraju da je inhibicija SARS-CoV-2 M^{pro} proteaze najbolja pomoću **K1**. Sa druge strane, **K2** pokazuje značajno nižu energiju vezivanja, odnosno višestruko veću konstantu inhibicije u odnosu na **CIN** i **HLK**. Usled rigidnosti strukture ispitivanih kompleksa, uticaj ΔG_{tor} je niži nego kod **CIN** i **HLK**.



Slika 3. 2D dijagrami nekovalentnih interakcija između proteina i liganada
Figure 3. 2D diagrams of non-covalent interactions between protein and ligand

Razlike u energijama vezivanja između **K1** i **K2** posledica su razlike u ukupnom naelektrisanju kompleksa. Kao što je moguće videti na Slici 3, oba kompleksa preko hlora grade interakcije sa proteinom preko iste amino kiseline (HIS 163). Međutim, ostale interakcije koje ovi kompleksi grade sa proteinom su drugačije. Kod pozitivno naelektrisanog **K1**, pored π - π interakcije sa HIS 41 postoji π -katjon interakcija, dok sa istom amino kiselinom **K2** gradi samo π - π interakciju. Ovakav trend za posledicu ima slabije energije vezivanja, a samim tim i više konstante inhibicije kod **K2** kompleksa.

Zaključak

U ovom radu, primenom metode molekuskog dokinga ispitane se ineterakcije sintetisanih kompleksa zlata, kao i lekova odobrenih od strane FDA, cinanserina i hlorkina sa SARS-CoV-2M^{pro} glavnom proteazom da bi se odredila njihova potencijalna ihibitorna aktivnost. Dobijeni rezultati su pokazali da kvadratno-planarni $[\text{Au}(\text{DPP})\text{Cl}_2]^+$ kompleks pokazuje dobru inhibitornu aktivnost, u odnosu na FDA odobrene lekove, cinaserin i hlorkin.

Napomena

Istraživanje u ovom radu podržano je od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja (Sporazum broj: 451-03-68/2020-14/200378).

Literatura

- Check, C. E., Faust, T. O., Bailey, J. M., Wright, B. J., Gilbert, T. M., & Sunderlin, L. S. (2001). Addition of polarization and diffuse functions to the LANL2DZ basis set for p-block elements. *The Journal of Physical Chemistry A*, 105(34), 8111-8116.
- Dias, R., Macedo Timmers, L. F. S., Caceres, R. A., de Azevedo, J., & Filgueira, W. (2008). Evaluation of molecular docking using polynomial empirical scoring functions. *Current drug targets*, 9(12), 1062-1070.
- Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., et al. (2010). Gaussian 09, Revision C.01, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, USA.
- Huey, R., Morris, G. M., Olson, A. J., & Goodsell, D. S. (2007). A semiempirical free energy force field with charge-based desolvation. *Journal of computational chemistry*, 28(6), 1145-1152.
- Liu, X., Zhang, B., Jin, Z., Yang, H., & Rao, Z. (2020). The crystal structure of COVID-19 main protease in complex with an inhibitor N3. *Protein DataBank*.
- Macchiagodena, M., Pagliai, M., & Procacci, P. (2020). Identification of potential binders of the main protease 3CL^{pro} of the COVID-19 via structure-based ligand design and molecular modeling. *Chemical Physics Letters*, 750, 137489.
- Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K., & Olson, A. J. (1998). Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm

- and an empirical binding free energy function. *Journal of computational chemistry*, 19(14), 1639-1662.
- Radisavljević, S., Kesić, A. Đ., Čočić, D., Puchta, R., Senft, L., Milutinović, M., ... & Petrović, B. (2020). Studies of the stability, nucleophilic substitution reactions, DNA/BSA interactions, cytotoxic activity, DFT and molecular docking of some tetra-and penta-coordinated gold (iii) complexes. *New Journal of Chemistry*, 44(26), 11172-11187.
- Zhao, Y., & Truhlar, D. G. (2008). Density functionals with broad applicability in chemistry. *Accounts of chemical research*, 41(2), 157-167.
- Zou, T., Lum, C. T., Lok, C. N., Zhang, J. J., & Che, C. M. (2015). Chemical biology of anticancer gold (III) and gold (I) complexes. *Chemical Society Reviews*, 44(24), 8786-8801.

GOLD COMPLEXES AS POTENTIAL SUPPLEMENTS WITH ANTICANCER AND ANTIVIRAL ACTION

Marko Antonijević^{1,2}, Jelena Đorović Jovanović¹, Ana Kesić¹, Dejan Milenković¹, Zoran Marković¹

Abstract

The pharmacologic properties of gold compounds have been known since the end of the 19th century. They have been used for different studies, even though they are usually used for the treatment of arthritis. In the last decade, gold complexes have received increased attention due to the variety of their applications. Primary, they have been investigated as potential anticancer and chemotherapeutic agents. It is well known that gold(III) complexes are very similar to platinum(II) compounds, so they could exhibit prospective anticancer, cytotoxic and antitumor properties.

In this paper, we investigated the interactions of the gold(III) complexes, [Au(DPP)Cl₂]⁺ and [Au(DMP)Cl₃] where DPP=4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline and DMP=2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline) with SARS-CoV2 protease. The obtained results indicate that the square-planar [Au(DPP)Cl₂]⁺ complex shows good inhibitory activity, compared to FDA approved drugs, cinanserin and chloroquine.

Ključne reči: complex, gold (III), synthesis, molecular docking

¹University of Kragujevac, Institute for Information Technologies Kragujevac, Jovana Cvijića bb, Kragujevac

²Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac