УДК: 582.23:576:577+57.04:004

ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТОРІВ НУКЛЕОТИД-ЗВ'ЯЗУЮЧОГО САЙТУ FtsZ БІЛКУ НА ПІДСТАВІ РЕЗУЛЬТАТІВ ХЕМОІНФОРМАЦІЙНОГО І СТРУКТУРНО-БІОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕНЬ

Д.С. ОЖЕРЄДОВ, С.П. ОЖЕРЄДОВ, О.М. ДЕМЧУК, С.І. СПІВАК, Я.Б. БЛЮМ, П.А. КАРПОВ *

Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», вул. Байди-Вишневецького, 2а, Київ, 04123, Україна

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

Зараз існує значна кількість інгібіторів бактеріального FtsZ білку, біологічна активність яких підтверджена біохімічно, однак цільові сайти ліганд-білкової взаємодії у більшості випадків залишаються невідомими. Це значно ускладнює подальший пошук та комбінаторний дизайн інгібіторів FtsZ. В цьому дослідженні представлені результати біоінформатичного аналізу ефекторів бактеріальних FtsZ, взаємодію яких доведено та задокументовано у базі даних біологічно активних молекул ChEMBL. За допомогою комплексного підходу з використанням хемо- і біоінформаційних методів, а також моделювання із залученням штучного інтелекту ідентифіковано 23 інгібітори нуклеотид-зв'язуючого сайту (Nucleotide-Binding Site, NBS), а також 16 нових ефекторів сайту інтердоменної щілини (Inter-Domain Cleft, IDC).

Ключові слова: *FtsZ, нуклеотид-зв'язуючий сайт, сайт інтердоменної щілини, ефектори, ліганд-білкова взаємодія, FragFp, фармакофорний пошук, молекулярний докінг, штучний інтелект.*

Вступ. Вирішальну роль у формуванні Z-кільця під час бінарного поділу бактерій відіграють FtsZ білки (Filamenting temperature-sensitive mu-tant Z), що визначає їх як перспективну молекулярну мішень фармакологічного скринінгу або комбінаторного дизайну антибіотиків (Karpov et al., 2016; Fujimori et al., 2017; Sogawa et al., 2020; Karpov et al., 2024b; Ozheriedov and Karpov, 2023). Саме FtsZ білок першим мігрує до ділянки, де відбувається збирання апарату бінарного поділу (Adams and Errington, 2009), полімеризується у протофіламенти та формує Z-кільце, яке визначає «план» майбутнього поділу клітини (Tripathy and Sahu, 2019; Peters et al., 2007; Thanedar and Margolin, 2004; Walker et al., 2020). Інші білки апарату бінарного поділу рекрутуються до зазначеного домену безпосередньо перед скороченням Z-кільця, формуванням перегородки між дочірніми клітинами і утворенням індивідуальних клітинних стінок (Adams and Errington, 2009; Sogawa et al., 2020).

Аналогічно до тубулінів еукаріот, агрегація FtsZ білків у протофіламенти відбувається за ГТФ-залежним механізмом (Nyporko and Blume, 2001; Demchuk and Blume, 2006; Demchuk et al., 2011). При цьому процес полімеризації має виражену полярність, тобто формування протофіламентів відбувається від головного кінця (першої субодиниці) у напрямку «хвоста» (Li et al., 2007). В свою чергу, латеральні взаємодії забезпечують компактне збирання і пакування дискретних протофіламентів. У полімеризованому стані комплекси FtsZ білка відрізняються за співвідношенням GTP/GDP та здатні дисоціювати через гідроліз GTP (Ramirez-Diaz et al., 2021). Отже, регуляція балансу процесів полімеризації/деполімеризації FtsZ білка детермінується значною мірою концентраціями GTP і GDP (Small and Addinall, 2003). Так, зростання кількості молекул GTP прискорює полімеризацію і гальмує деполімеризацію існуючих протофіламентів (Hou et al., 2012). При цьому, GTP сприяє формуванню прямих протофіламентів, тоді як у комплексі з GDP відбувається відхилення від основної осі, що призводить до формування протофіламентів вигнутої форми (Lu et al., 2000).

Таким чином, саме FtsZ білок є «наріжним каменем» та закладає структурно-функціональний фундамент апарату бінарного поділу бактерій (van Ooij et al., 2008). Таргетний вплив специфічних ефекторів FtsZ білків обумовлює пригнічення або порушення процесів «нормального» зібрання Z-кільця та формування септума (Demchuk et al., 2012; Karpov et al., 2016; Rayevsky et al., 2022). Більшість випадків ліганд-індукованого інгібування FtsZ білків

© ІНСТИТУТ КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ НАН УКРАЇНИ, 2025

призводить до філаментації та загибелі бактеріальних клітин (Ma and Ma, 2012). Вважається, що механізм дії переважної більшості інгібіторів FtsZ білків, здатних індукувати загибель бактеріальної клітини, реалізується через взаємодію з розташованою на N-кінці молекули FtsZ нуклеотид-зв'язуючою кишенею (Nucleotide Binding Site, NBS) або з алостеричним сайтом інтердоменної щілини (Inter-Domain Cleft, IDC), яка утворюється між спіраллю H7 та С-кінцевим фрагментом молекули (Karpov et al., 2024; Ozheriedov et al., 2023; Ozheriedov et al., 2024; Haranahalli et al., 2016; Carro 2019; Tripathy and Sahu, 2019; Fujimori et al., 2017; Sogawa et al., 2020).

Існуючі стратегії лабораторного скринінгу антибіотиків можна диференціювати як: *in vivo*, коли дія речовин перевіряється безпосередньо на штамах бактерій (Gonzalez-Pastor et al., 2023) та *in vitro*, коли за допомогою біохімічних методів відтворюють процеси взаємодії досліджуваних сполук із молекулярною мішенню (Zdrazil, 2025), та структурно-біологічний аналіз, коли доказом утворення ліганд-білкового комплексу є результати, отримані з використанням рентгено-структурного або ЯМР методів досліджень (Berman et al., 2000; Berman et al, 2003). На наш час існує значна група інгібіторів FtsZ білків, біологічну активність яких доведено біохімічно із використанням *in vivo* або *in vitro* методів. Проте, цільові сайти їх взаємодії залишаються невизначеними (Karpov et al., 2024; Mathew et al., 2016). Згідно з даними ресурсу ChEMBL станом на початок 2025 р. кількість таких ефекторів FtsZ наближається до 400 сполук (Zdrazil, 2025). В той же час, за виключенням нативних субстратів – GDP і GTP, кількість речовин, для яких в RCSB Protein Data Bank представлені структури білок-лігандних комплексів з FtsZ, не перевищує 20 сполук (Karpov et al., 2024; Ozheriedov et al., 2024). Таким чином, для багатьох перспективних ефекторів FtsZ, дію яких доведено *in vitro*, механізми взаємодії з мішенню залишаються невизначеними (Ozheriedov et al., 2023). Це значно ускладнює залучення таких ефекторів, як опорних структур для раціонального драг-дизайну. Певною мірою зазначений пробіл можуть компенсувати методи CADD (**C**omputer-**A**ided **D**rug **D**esign) (Karpov et al., 2016). Раніше з використанням методів фармакофорного пошуку та молекулярного докінгу нам вдалося визначити серед депонувань ChEMBL ряд інгібіторів алостеричного типу дії та асоціювати їх із сайтом IDC (Karpov et al., 2024). Метою цього дослідження було визначення за допомогою методів хемоінформаційного ранжування, молекулярного докінгу, фармакофорного пошуку та конкурентного моделювання білок-лігандних комплексів із залученням штучного інтелекту ефекторів FtsZ, дія яких пов'язана із блокуванням сайту NBS (**N**ucleotide-**B**inding **S**ite) через ГТФ-конкурентний механізм.

Матеріали і методи. Цільовою групою дослідження була сукупна бібліотека речовин-ефекторів FtsZ-білків, сформована на підставі результатів ревізії ліганд-білкових комплексів депонованих в RCSB Protein Data Bank (www.rcsb.org) (Berman et al., 2000; Burley et al., 2025), а також речовин з бази даних ChEMBL (www.ebi.ac.uk/chembl/) (Zdrazil et al., 2025), для яких безпосередня взаємодія з молекулою FtsZ доведена біохімічно.

Хемоінформаційна кластеризація і ранжування речовин здійснювались із використанням програми DataWarrior *v.06.04.01.* (Sander et al., 2015) Для ранжування сполук був використаний дескриптор FragFp, де подібність між двома молекулами визначається як кількість спільних фрагментів, поділена на загальну кількість фрагментів, присутніх у обох молекул (Brunst et al., 2021). При цьому був задіяний метод аналізу основних компонент (Principal Component Analysis, PCA), який дозволяє масштабувати численну групу значущо корелюючих показників у меншу кількість дескрипторів та виконувати ранжування сполук за подібністю у 2D і 3D просторах (Osolodkin et al., 2015).

Візуалізація, аналіз молекулярних структур та ліганд-білкових взаємодій виконувались із використанням програмного забезпечення PyMOL *v.3.1.3* (Schrödinger LLC, www.pymol.org) і BIOVIA Discovery Studio 2021 Client (https://discover.3ds.com/).

Фармакофорний пошук здійснювали з використанням інтерактивного мережевого сервісу Pharmit (https://pharmit.csb.pitt.edu/), який дозволяє здійснювати віртуальний скринінг

великих бібліотек речовин на підставі фармакофорних дескрипторів, молекулярних форм і мінімізації енергій (Sunseri and Koes, 2016). Під час конструювання фармакофорів було враховано внесок водневих зав'язків, гідрофобних взаємодій, зарядів, електростатичних взаємодій, доступність розчиннику та результати аналізу 2D-карт ліганд-білкових взаємодій. При виконанні фармакофорного скринінгу, були застосовані стеричні обмеження простору цільової кишені. Радіус дескрипторів дорівнював 1, а максимальна кількість хітів на молекулу обмежувалась найкращою гіпотезою. Останнє обмеження, дозволило скоротити кількість конформомерів індивідуального ліганду до одного найкращого хіта.

Для окремих випадків здійснювали реконструкцію білок-лігандних комплексів за допомогою програми CCDC GOLD 2023.2.0 (Build 382240; www.ccdc.cam.ac.uk) (Jones et al., 1997). Ранжування гіпотез комплексів здійснювали на підставі показників оцінювальних фітнес-функцій ChemPLP, як основної, та ASP (Astex Statistical Potential), як допоміжної. При цьому, до кишені сайту взаємодії включали амінокислоти, що знаходилися на відстані 6 Å від ліганду PDB-структури, який також додавався як ключовий контроль позиціонування і оцінки результатів докінгу. Оцінку внеску водневих зв'язків, Ван-дер-Ваальсових сил та інших факторів формування ліганд-білкового комплексу здійснювали за результатами докінгу в програмі iGEMDOCK v. 2.1 (Yang and Chen, 2004). Метод iGEMDOCK (Generic Evolutionary Method for molecular DOCKing), дозволяє розрахувати кількісні фітнес-показники спорідненості сполук до цільового сайту, на підставі внеску водневих зв'язків (Hbond), сил Ван-дер-Ваальса (vdW) і електростатики (Elec): Fitness = vdW + + Hbond + Elec (Yang and Chen, 2004; Bellaver et al., 2024). Це дозволило отримати додаткові аргументи під час відбору ефекторів специфічних до цільового сайту. Молекулярними мішенями докінгу і фармакофорного пошуку були 15 PDB-структур, депонованих в RCSB Protein Data Bank: 2R75 (ліганд − 01G) з *Aquifex aeolicus* (Ldppchen et al., 2008); 1W5F і 1W58 (ліганд − G2P) з *Thermotoga maritima* (Oliva et al., 2004); 7OMJ, 7OMP (ліганд − GCP) з *Staphylococcus aureus* (Ruiz et al., 2022); 1RQ7 (ліганд − GDP) з *Mycobacterium tuberculosis* (Leung et al., 2004), 2VAW (ліганд − GDP) з *Pseudomonas aeruginosa* (Oliva et al., 2007), 3VOB (ліганд − GDP) з *Staphylococcus aureus* (Matsui et al., 2012); 3WGK, 3WGM (ліганд − GDP) з *S. aureus* subsp. aureus Mu50 (Matsui et al., 2014); 7OJZ (ліганд − GP2) з *S. aureus* (Ruiz et al., 2022); 1RLU (ліганд − GSP) з *M. tuberculosis* (Leung et al., 2004); 2RHO (ліганд − GSP) з *Bacillus subtilis* (Raymond et al., 2009); 5MN5 (ліганд − GTP) з *S. aureus* (Wagstaff et al., 2017); 6UNX (ліганд − GTP) з *Escherichia coli* (Schumacher et al., 2020).

Конкурентне моделювання ліганд-білкових взаємодій виконували із залученням інструментів штучного інтелекту на основі AlphaFold3 (Abramson et al., 2024). Безпосереднє моделювання комплексів було виконано за допомогою сервісу Protenix Server (https://protenix-server.com/add-prediction) (ByteDance AML AI4Science Team, 2025). Оцінка якості та достовірності побудованих моделей комплексів враховувала такі показники, як pTM (predicted Template Modelling) і ipTM (interface predicted Template Modelling), які базуються на канонічному показнику TM (Template Modelling) (Xu and Zhang, 2010), показнику тесту прогнозування відмінностей локальних дистанцій pLDDT (predicted Local Distance Difference Test) (Mariani et al., 2013) та показнику достовірності (похибки) прогнозу PAE (Predicted Aligned Error) (Elfmann and Stülke, 2023).

Математичну обробку і узагальнення скорингових показників фармакофорного пошуку і молекулярного докінгу здійснювали за допомогою аналітичних інструментів програми Microsoft Excel 2016 (www.microsoft.com).

Результати та обговорення. Для хемоінформаційної кластеризації ефекторів бактеріальних FtsZ білків були сформовані дві бібліотеки лігандів. Перша бібліотека слугувала контролем і включала сполуки, для яких комплекси з FtsZ-білком депоновані в RCSB Protein Data Bank. При цьому ефектори сайту NBS були прийняті за позитивний контроль, а ефектори алостеричних сайтів (IDC і сайт зв'язування похідних кумаринового ряду) − за негативний контроль. Друга бібліотека включала сполуки

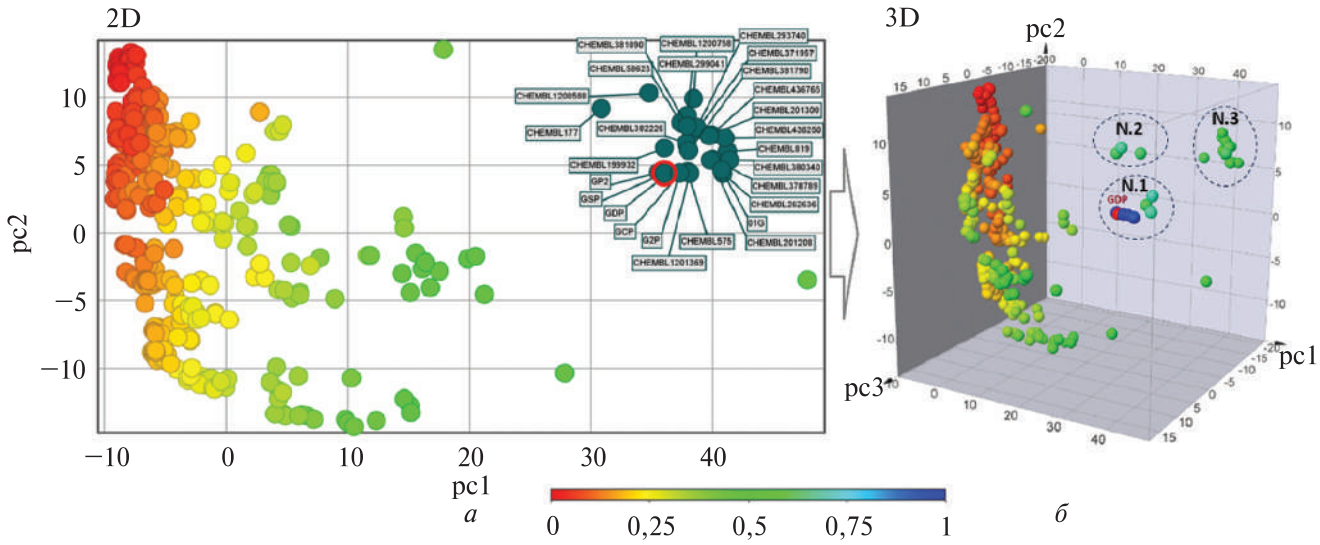

Рис. 1. Результати спільної кластеризації сполук, депонованих в базах даних ChEMBL (цільова бібліотека) і RCSB Protein Data Bank (контрольна бібліотека), за методом PCA (Principal Component Analysis). За допомогою основних компонент (pc1, pc2 і pc3), масштабованих з первинних дескрипторів FragFp, було виконано 2D- (рис. 1, *а*) і 3D- (рис. 1, *б*) кластеризації речовин за подібністю. Визначено спільний кластер ефекторів сайту гідролізу GTP і сполук, для яких безпосередня взаємодія з FtsZ-білком доведена біохімічно. Об'єм спільного кластеру склав 27 індивідуальних сполук

з бази даних ChEMBL, для яких існують біохімічні докази їх безпосередньої взаємодії з FtsZ білком, але відсутні структурно-біологічні дані ліганд-білкової взаємодії. Бібліотеки були збережені у форматах *.mol2 і *.SD/*.sdf, що відповідає вимогам програм CCDC GOLD (Jones et al., 1997) і iGEMDOCK (Yang and Chen, 2004). Використання зазначених бібліотек, дозволило створити об'єднану бібліотеку, яка враховує конформаційну рухливість і ізомерію сполук. На момент дослідження ця бібліотека нараховувала 21270 конформомерів і була інтегрована у персональний кабінет мережевого інструменту Pharmit (IFBG: Public Library «PDB+ChEMBL», доступ за кодом: VBS30O74UAMW00AL8EML).

Для первинного ранжування біохімічно доведених ефекторів FtsZ білку за сайтом зв'язування був застосований комплексний підхід, якій включав хемоінформаційну кластеризацію на підставі хімічної подібності, а також, пошук на підставі векторно-дескрипторної подібності фармакофорів.

Хемоінформаційний пошук. Хемоінформаційну кластеризацію здійснювали на підставі подібності дескрипторів FragFp (Brunst et al., 2021). За допомогою методу PCA (Principal Component Analysis), сукупний масив дескрипторів об'єднаного хімічного простору (PDB+ +ChEMBL) масштабувався до похідних дескрипторів основних компонент (pc1, pc2 і pc3), що дозволило оцінити дисперсію у двовимірному та тривимірному просторах. Така кластеризація визначила ізольований кластер з 27 сполук, з яких 5 (GDP, GCP, GSP, G2P і GP2) є похідними GTP/GDP та відповідають позитивному контролю. При цьому, незважаючи на компактність у двовимірному просторі (рис. 1, *а*), результати 3D-аналізу засвідчили наявність трьох субкластерів (рис. 1, *б*). Узагальнені результати хемоінформаційного ранжування наведено у підсумковій таблиці актуального дослідження (табл. 2, колонка «DataWarrior»).

Фармакофорний пошук. Слід зауважити, що метод ранжування за подібністю бінарних фінгерпринтів визначає, перш за все, сполуки, які збіжні за хімічною природою, будовою і мають подібний набір функціональних груп. При цьому, ефектори, які відрізняються за гетероциклічним скелетом і хімічною природою, можуть залишатись у «мертвsq зоні» віртуального скринінгу (Burcham et al., 2024). Таким чином,

фармакофорний пошук із залученням абстрактної векторно-дескрипторної моделі має певні переваги (Sunseri and Koes, 2016). Для коректного визначення функціонально-важливих дескрипторів, їх радіусів та векторів взаємодій, нами були використані штатні інструменти сервісу Pharmit та результати аналізу ліганд-білкових взаємодій в програмі BIOVIA Discovery Studio 2021 Client.

З використанням 15 комплексів з RCSB PDB були побудовані індивідуальні фармакофори і виконано 15 раундів скринінгу об'єднаної бібліотеки за допомогою мережевого інструменту Pharmit. При цьому кількість хітів індивідуального ліганду скорочувалась до найкращого конформомера. Після завершення скринінгу було застосовано штатні фільтри ранжування і порогового обмеження: MaxScore = 0; Max mRMSD = 1; Single conformer = ON. Узагальнені результати фармакофорного скринінгу представлені у табл. 1 та 2. Загалом, за результатами фармакофорного пошуку було відібрано 32 потенційних ефектора сайту NBS, з яких найкращі показники MaxScore і Max mRMSD мали шість сполук позитивного контролю (табл. 1).

Таблиця 1. **Узагальнені хіти фармакофорного пошуку в програмі Pharmit, ранжовані за показником прогнозованої афінності до сайту NBS**

№ п/п	Сполука	minimizedAffinity	minimizedRMSD
1	**O1G (PDB: 2R75)**	**−11,4774**	**0,80433**
2	**GCP (PDB: 7OMP)**	**−11,1094**	**1,52203**
3	**GSP (PDB: 2Q1Y)**	**−10,7158**	**0,78689**
4	**G2P (PDB: 1W58)**	**−10,5282**	**0,57475**
5	**GP2 (PDB: 7OJZ)**	**−10,4747**	**0,37282**
6	**GDP (PDB: 2RHL)**	**−10,2136**	**0,98036**
7	CHEMBL819	−9,54271	1,96022
8	CHEMBL1201369	−9,46181	1,72362
9	CHEMBL378789	−9,27133	3,19912
10	CHEMBL243602	−8,28417	2,98991
11	CHEMBL262636	−8,27509	3,67215
12	CHEMBL3416818	−7,85229	2,07878
13	CHEMBL293740	−7,68402	2,04865
14	CHEMBL3098798	−7,45358	2,63378
15	CHEMBL1926724	−7,16939	2,67838
16	CHEMBL243601	−6,98333	1,39665
17	CHEMBL436765	−6,96233	3,40443
18	CHEMBL3098797	−6,93033	1,59408
19	CHEMBL575	−6,90134	1,72853
20	CHEMBL242301	−6,88388	2,9231
21	CHEMBL325441	−6,80792	0,78803
22	CHEMBL371957	−6,76997	2,47004
23	CHEMBL242079	−6,42684	3,47442
24	CHEMBL395254	−6,4245	2,69019
25	CHEMBL3416949	−6,37688	3,64464
26	CHEMBL3098682	−5,87003	3,78681
27	CHEMBL1926714	−5,64759	6,44259
28	CHEMBL201208	−4,88513	4,09712
29	CHEMBL1926725	−4,66417	2,82603
30	CHEMBL3416950	−3,8028	5,48322
31	CHEMBL1926715	−3,36585	7,62583
32	CHEMBL299041	−1,54899	2,37137

Примітка. Жирним шрифтом позначені речовини позитивного контролю, для яких є кристалографічне підтвердження взаємодії із сайтом NBS.

Таблиця 2. **Узагальнені результати комплексного пошуку ефекторів сайту IDC**

№ п/п	Compound	Data Warrior	ParmIT	Protenix Server (AI)	NBS (ΔG)	IDC (ΔG)	GOLD NBS	GOLD IDC
1	**01G**	+	+	GDP	−165,9	−145,94	62,62438	56,94118
2	**G2P**	+	+	GDP	−152,88	−123,78	62,67957	48,33263
3	**GCP**	+	+	GDP	−153,21	−125,26	58,31063	50,98863
4	**GDP**	+	+	GDP	−143,13	−128,44	55,26915	49,81115
5	**GP2**	+	+	GDP	−149,17	−129,09	59,20178	51,92092
6	**GSP**	+	+	GDP	−149	−132,35	56,66383	52,78708
7	**CHEMBL177**	+	−	GDP	−160,86	−155,88	72,97135	69,2966
8	CHEMBL575	+	+	IDC	−105,95	−114,04	40,96022	52,45367
9	CHEMBL819	+	+	IDC	−112,73	−118,67	48,66267	58,53325
10	**CHEMBL58623**	+	−	GDP	−148,44	−134,5	71,2857	36,98943
11	**CHEMBL199932**	+	−	GDP	−157,2	−139,31	67,86912	48,52565
12	**CHEMBL201208**	+	+	GDP	−158,23	−142,99	76,99778	34,12268
13	**CHEMBL201300**	+	−	GDP	−155	−133,57	71,22483	50,33367
14	CHEMBL242079*	−	+	IDC	−122,14	−134,24	67,71825	72,13538
15	CHEMBL242301	−	+	IDC	−122,13	−130,39	60,61913	65,72923
16	**CHEMBL243601**	−	+	GDP	−125,3	−123,54	53,39015	53,12803
17	CHEMBL243602	−	+	IDC	−121,45	−136,11	67,85372	71,53073
18	CHEMBL262636	+	+	IDC	−114,15	−106,32	42,12007	56,38972
19	**CHEMBL293740**	+	+	GDP	−150,13	−128,6	57,10455	36,68453
20	**CHEMBL299041**	+	+	GDP	−144,52	−126,43	68,19143	14,04892
21	CHEMBL325441	−	+	IDC	−106,44	−128,52	63,00287	73,90303
22	**CHEMBL371957**	+	+	GDP	−150,81	−135,51	78,12773	62,13673
23	**CHEMBL378789**	+	+	GDP	−155,25	−139	63,10353	56,7432
24	**CHEMBL380340**	+	−	GDP	−162,81	−138,85	69,71417	31,13818
25	**CHEMBL381090**	+	−	GDP	−162,17	−143,66	75,91575	43,64378
26	**CHEMBL381790**	+	−	GDP	−163,21	−143,73	78,19762	26,93655
27	**CHEMBL382226**	+	−	GDP	−157,13	−132,03	63,94587	22,14923
28	CHEMBL395254	−	+	IDC	−120,81	−125,5	60,3615	61,51812
29	**CHEMBL436765**	+	+	GDP	−159,41	−138,72	76,20522	39,97087
30	**CHEMBL438250**	+	−	GDP	−154,28	−125,21	74,38948	35,5114
31	CHEMBL1200588	+	−	IDC	−119,74	−113,93	54,19708	55,33982
32	CHEMBL1200758	+	−	IDC	−99,48	−106,07	49,91407	56,89712
33	**CHEMBL1201369**	+	+	GDP	−156,7	−123,75	52,03902	44,76795
34	**CHEMBL1204628***	+	+	GDP	−153,25	−138,9	53,65598	49,58717
35	CHEMBL1926714	−	+	IDC	−123,36	−127,2	58,70488	68,06048
36	CHEMBL1926715	−	+	IDC	−124,97	−136,07	59,5082	70,1324
37	CHEMBL1926724	−	+	IDC	−131,61	−141,28	63,73713	74,36417
38	CHEMBL1926725	−	+	IDC	−124,26	−135,92	63,70932	79,12368
39	CHEMBL3098682*	−	+	IDC	−115,03	−125,73	73,17993	80,12262
40	CHEMBL3098797*	−	+	IDC	−104,31	−114,71	54,89243	68,56568
41	CHEMBL3098798*	−	+	IDC	−117,2	−120,9	52,34722	65,27942
42	CHEMBL3416818	−	+	IDC	−148,23	−146,44	69,39687	70,28303
43	CHEMBL3416949	−	+	IDC	−117,23	−119,17	44,2318	52,22743
44	CHEMBL3416950	−	+	IDC	−118,6	−131,58	44,17488	59,50153

Примітка. Жирним шрифтом позначені ефектори сайту NBS. * − сполуки, раніше визначені як ефектори сайту IDC.

Загалом, за результатами узагальнення даних хемоінформаційного і фармакофорного пошуку об'єднана бібліотека відібраних сполук склала 44 речовини.

Конкурентне моделювання ліганд-білкових комплексів із залученням інструментів штучного інтелекту. Для прогнозування можливості утворення та просторової структури ліганд-білкових комплексів нами був застосований сервіс Protenix. Ефективність цього підходу підтверджено на прикладі сетів тестових задач: PoseBusters V2, тесту на основі PDB структур з низькою гомологією і набору CASP15 для РНК (Abramson et al., 2024). На момент застосування інструмент пройшов навчання з використанням структур з Protein Data Bank, а також AI-структур, раніше прогнозованих AlphaFold2 (Jumper et al., 2021) і OpenFold (Ahdritz et al., 2024). Окрема увага розробниками надається питанню прогнозування взаємодій білок-ліганд (ByteDance AML AI4Science Team et al., 2025). Слід зауважити, що актуальні оприлюднені результати тестів показали, що навіть у разі відсутності у навчальному сеті гомологічних структур завдяки актуальному рівню тренованості AI-моделі Protenix здатен робити прогнози з високим рівнем достовірності. Завдяки алгоритму внутрішнього ранжування програма ефективно відбирає найкращі гіпотези комплексу і видає їх відповідно рейтингам якості моделей (ByteDance AML AI4Science Team et al., 2025).

Проведене нами тестове моделювання показало ефективність використання Protenix при реконструкції комплексів FtsZ з рядом контрольних ефекторів сайтів IDC і NBS. Також пробні моделювання більш складних взаємодій із залученням пар лігандів (ефектор IDC + + GDP/GTP) дозволило реконструювати комплекси, які коректно відтворили кристалографічно доведені алостеричні зміщення і деформації структур (Ozheredov and Karpov, 2024). При цьому, моделювання за схемою «білок + + ліганд», показало, що посадка частини сполук із зведеної бібліотеки відбувається у сайті IDC (рис. 2).

Враховуючи внутрішній тиск відбору гіпотез комплексів на підставі рейтингів оцінювальних функцій AI-моделювання (pTM, ipTM, тощо), нами були відтворені умови

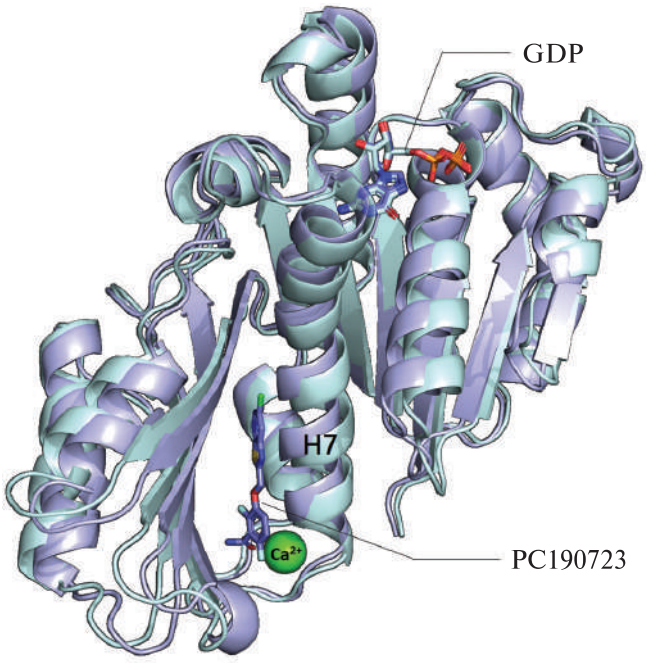

Рис. 2. Приклад результатів тестового моделювання комплексу FtsZ+GDP, а також комплексу FtsZ+GDP+PC190723, де останній є канонічним ефектором алостеричного сайту IDC. Структурне вирівнювання показало наявність зміщень і деформацій, які раніше були показані за допомогою кристалографії

взаємодії лігандів у сайті за наявності ліганда-конкурента. Під час моделювання до системи, яка містила FtsZ *S. aureus* (UniProtKB: P0A029), цільовий ефектор та іон Ca^{2+}, ми також додавали молекулу GDP і IDC-специфічний інгібітор PC190723 (3-((6-chlorothiazolo[5,4-b]pyridin-2-yl)methoxy)-2,6-difluorobenzamide). Отримані результати свідчать про те, що з 44-х раніше відібраних лігандів лише 24 диференціювались як ефектори GTP/GDP-конкурентного типу, а інші 20 взаємодіяли із сайтом IDC (табл. 2).

Ранжування лігандів за цільовим сайтом на підставі результатів молекулярного докінгу. Результати, отримані на попередніх етапах дослідження, свідчать про те, що більшість з відібраних сполук визначаються як ефектори сайту NBS. В той же час, моделювання ліганд-білкових взаємодій із використанням Protenix вказує на те, що 20 з 44-х сполук є потенційними ефекторами сайту IDC. Більш того, до первинної вибірки потрапили п'ять

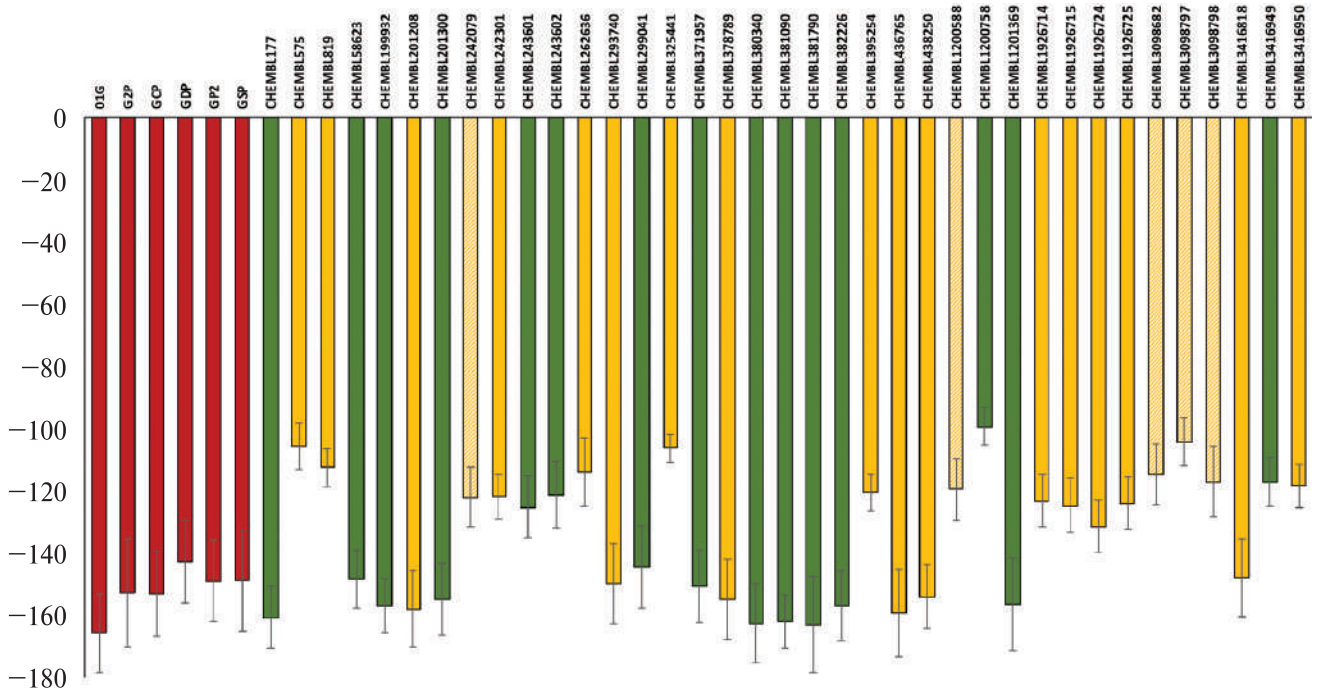

Рис. 3. Середні показники енергій зв'язування лігандів (TotalEnergy, ΔG) з сайтом гідролізу ГТФ. Червоним кольором позначені результати для контрольних лігандів, взаємодія яких з сайтом NBS беззаперечно підтверджується даними RCSB Protein Data Bank. Зеленим кольором – сполуки, для яких AI-прогноз показав можливість зв'язування із сайтом NBS. Жовтим кольором позначені дані сполук, для яких AI-прогноз показав можливе зв'язування із сайтом IDC. Жовто-білий штрих маркує сполуки, для яких AI-реконструкція не дала чіткої відповіді щодо наявності або відсутності їх асоціації з сайтом

сполук, які були раніше ідентифіковані нами як ефектори сайту IDC (CHEMBL242079, CHEMBL1200758, CHEMBL3098682, CHEMBL 3098797 і CHEMBL3098798) (Karpov et al., 2024).

З метою остаточного ранжування лігандів за сайтом зв'язування нами було виконано серію докінгів із використанням програм iGEMDOCK і CCDC GOLD. Остаточну оцінку отриманих результатів здійснювали на підставі емпіричної функції оцінки енергії зв'язування (TotalEnergy = Fitnes ΔG) програми iGEMDOCK (Yang and Chen, 2004) та фітнес-функцій програми CCDC GOLD (ChemPLP і ASP) (Jones et al., 1997). Одночасно, за допомогою програмі PyMOL виконували візуальний контроль коректності положення лігандів в сайті взаємодії. Для докінгу лігандів в сайт GTP за допомогою програми iGEMDOCK були використані 15 структур з репозиторію RCSB PDB (див. Матеріали і методи). Для аналогічного протоколу докінгу в сайт IDC були використані PDB-структури, які розглядалися нами у попередньому дослідженні 4DXD, 3VOB, 6YD1, 6YD5, 6YD6, 5XDU, 5XDV, 8HTB, 6KVP та 6KVQ (Karpov et al., 2024).

Сильною стороною докінгу з використанням iGEMDOCK є комплексна оцінка внеску у формування комплексу водневих зв'язків, електростатики та сил Ван-дер-Ваальса, які, на фінальному етапі консолідуються у фітнес-функцію – TotalEnergy, наближену до канонічного розрахунку показнику ΔG (Hsu et al., 2011). Для оцінки достовірності прогнозу, штатний аналіз програми доповнювали статистичною обробкою (Karpov et al., 2024). Для цього кожну з залучених до дослідження PDB-структур було використано як мішень окремого сету молекулярного докінгу. Результати дискретних сесій зібрались в масив даних, де консолідувались та статистично оброблялися із використанням MS Excel. Отримані узагальнені показники консолідованої функції TotalEnergy (ΔG) були використані як крите-

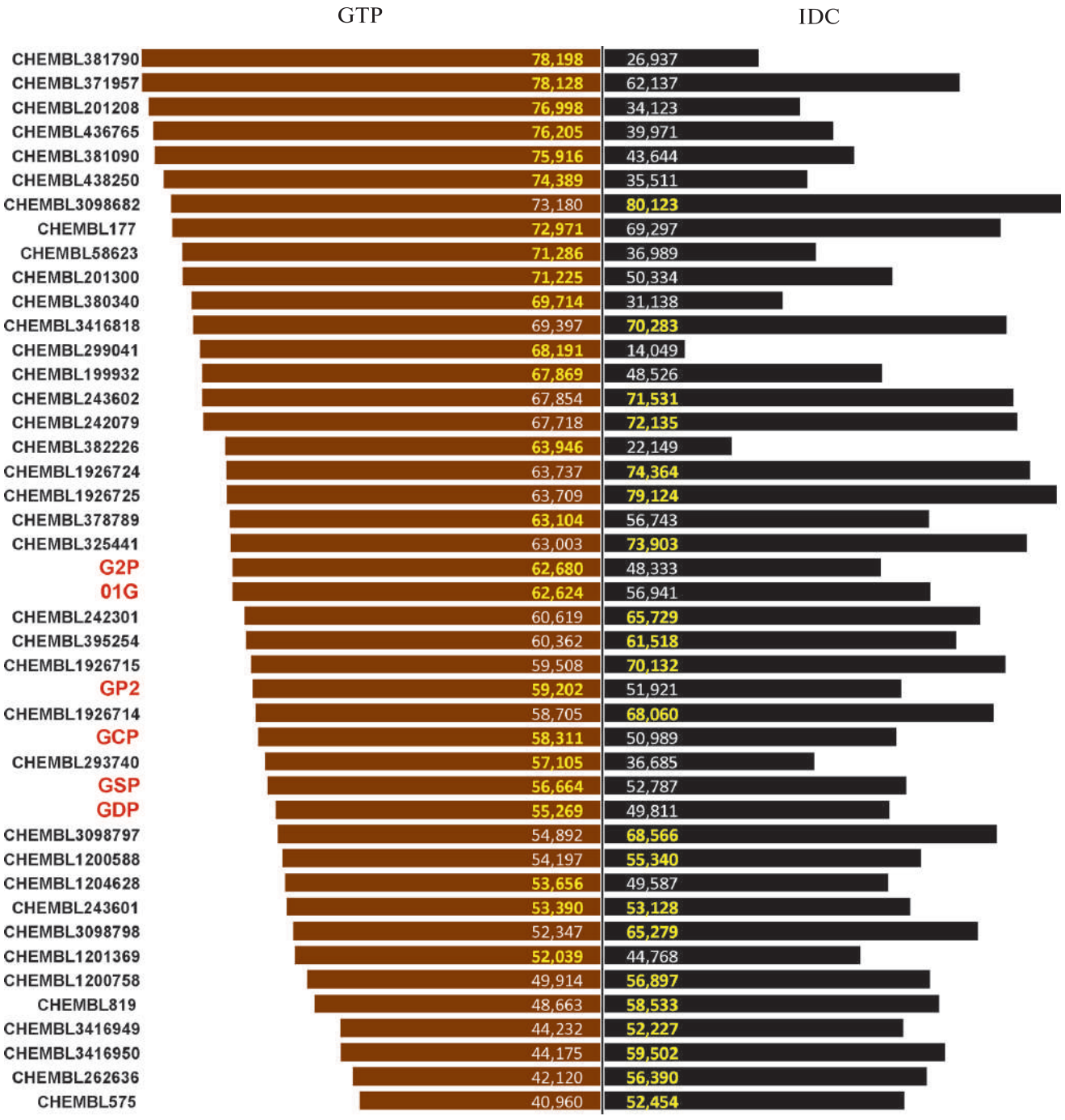

Рис. 4. Ранжування сполук на підставі середнього показника ChemPLP – головної фітнес-функції програми CCDC GOLD. Докінг лігандів виконувався в кишеню сайту гідролізу ГТФ (**GTP**) і кишеню алостеричного сайту інтердоменної щілини (**IDC**). Червоним кольором позначені контрольні ліганди, для яких існує кристалографічне підтвердження зв'язування в сайті гідролізу ГТФ (данні RCSB Protein Data Bank)

рій для ранжування сполуки за сайтами взаємодії (NBS або IDC) (табл. 2, рис. 3).

До досліджень із використанням програмного пакету CCDC GOLD були залучені PDB структури, які раніше були використані для докінгу в програмі iGEMDOCK. Для оцінки використовували штатні фітнес-функції ChemPLP і ASP. При цьому генетичний алгоритм про-

грами налаштовувався на максимально гнучкий докінг із подвійною ефективністю (200 %). На відміну від оцінювальних функцій iGEMDOCK, більш спрямованих на обрахунок біофізичних складових взаємодії, фітнес-функція ChemPLP надає ключову увагу комплексу факторів, які визначають найкращу геометрію конформації та пози ліганду у кишені сайту (Agu et al., 2023). Крім того, ChemPLP враховує внесок водневих зв'язків, а також потенціальний внесок ван-дер-Ваальсових і гідрофобних взаємодій. При цьому також враховуються відхилення RMSD, наявність клеш-конфліктів, а також ансамбль стеричних конфліктів і обмежень, що у сукупності забезпечує акуратність прогнозу комплексу (Korb et al., 2009; Liebeschuetz et al., 2012).

Саме тому вага ChemPLP була обрана як ключовий критерій ранжування сполук за спорідненістю до цільового сайту. Аналогічно даним iGEMDOCK результати дискретних сесій докінгу в CCDC GOLD консолідували і аналізували в MS Excel для отримання усереднених показників оцінювальних функцій. Фінальне ранжування ефекторів FtsZ білку за сайтами зв'язування здійснювалось на підставі найкращих показників середнього значення ChemPLP. Для поліпшення прогнозу разом із ChemPLP був застосований рескорінг із використанням фітнес-функції ASP. Остання дозволяє розрахувати відповідні статистичні потенціали взаємодії (Mooij et al., 2005).

За показником ChemPLP з 44-х лігандів 23 з них показали кращу спорідненість до сайту NBS, а 21 – до сайту IDC (рис. 4). Найкращий показник (62,68) серед контрольних сполук належав гуанілатному естеру фосфометилфосфонової кислоти – G2P (DrugBank ID: DB03532). При цьому 14 з визначених ефекторів сайту мали показники ChemPLP кращі за G2P. Одна сполука (CHEMBL293740) мала показник на рівні контрольної групи (ChemPLP = = 55,269–62,68), а ще три (CHEMBL1204628, CHEMBL243601 і CHEMBL1201369) нижче за контроль (ChemPLP < 55,269).

Слід зауважити, що майже половина сполук, визначених на етапах хемоінформаційного і фармакофорного пошуку показала кращу спорідненість до сайту IDC, що демонструє обмеження хемоінформаційного і фармакофорного скринінгів у разі їх використання як самостійних методів ранжування речовин. Як було зазначено раніше, до бібліотеки первинного скринінгу також потрапили п'ять сполук, які вже були ідентифіковані як ефектори сайту IDC. Фінальні результати аналізу ще раз підтвердили їх належність до інгібіторів алостеричного сайту IDC (Karpov et al., 2024). При цьому, джерелом зазначеної помилки, переважно, був фармакофорний пошук (4 хибних хіта: CHEMBL242079, CHEMBL 3098682, CHEMBL3098797 і CHEMBL3098798), а хемоінформаційне ранжування проявляло помилку лише у випадку сполуки CHEMBL1200758. Слід зазначити, що випадки одночасних похибок обох методів нами не фіксувалися. Це доводить правильність стратегії парного застосування цих методів, де хемоінформаційна кластеризація визначає сполуки, близькі за хімічною структурою до контролю, а дескрипторно-векторна модель фармакофору дозволяє ідентифікувати нові ефектори, які належать до класів сполук, відмінних від контрольних зразків. Схоже поєднання методів частково реалізовано в DataWarrior у більш складних протоколах скринінгу (Sander et al., 2015; Lypez-Lypez et al., 2019).

Також, слід відзначити, досить непоганий результат, який дало конкурентне моделювання в Protenix, із залученням штучного інтелекту. Незважаючи на те, що результати такого *de novo* моделювання не ідеальні, точність прогнозу є вищою за результати хемоінформаційної кластеризації і фармакофорного пошуку. Переважна більшість прогнозів сервісу Protenix співпадає з фінальними результатами нашого ранжування і, зокрема, з результатами докінгу в CCDC GOLD. Так, жодна з раніше відмічених похибок хемоінформаційного і фармакофорного пошуку не була зафіксована під час реконструкції із використанням AI. Таким чином, ми вважаємо, що за умов автоматизації і прискорення подібних обрахунків методи AI здатні не лише кількісно, але і якісно конкурувати та доповнювати методи традиційного віртуального скринінгу (Karpov et al., 2016).

Підводячи підсумки проведеного дослідження, можна констатувати, що завдяки комплексному підходу з 379 біохімічно доведених ефекторів FtsZ лише для 23 з них отримано

підтвердження статусу ефекторів сайту NBS. Водночас, завдяки альтернативному протоколу скринінгу і верифікації, до списку ефекторів сайту інтердоменної щілини (IDC) було віднесено ще 16 нових ефекторів. Разом із результатами попереднього дослідження, де вже було ідентифіковано 88 ефекторів сайту IDC (Karpov et al., 2024), список алостеричних інгібіторів FtsZ-білку було збільшено до 104 речовин. Таким чином, актуальні результати спростовують уявлення, що переважна частина відомих інгібіторів бактеріальних FtsZ – це ефектори ГТФ-конкурентного типу, і надають першість ефекторам алостеричного сайту IDC.

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 PROTEIN NUCLEOTIDE-BINDING SITE EFFECTORS BASED ON CHEMINFORMATICS AND STRUCTURAL BIOLOGICAL ANALYSIS

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

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 is a large group of bacterial FtsZ inhibitors, the biological activity of which has been confirmed biochemically. However, the sites of protein-ligand interaction for most of them remain unknown, significantly complicating the further search and combinatorial design of FtsZ inhibitors. This study presents the results of bioinformatic analysis of bacterial FtsZ effectors, the interaction of which has been proven and documented in the ChEMBL database of biologically active molecules. Using an integrated approach, based on chemo- and bioinformatic methods, and AI-based predictions, 23 inhibitors of Nucleotide-Binding Site (NBS), as well as 16 new effectors of the Inter-Domain Cleft (IDC) site, were identified.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Abramson, J., Adler, J., Dunger, J., et al., Addendum: Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3, Nature, 2024, vol. 636, no. 8042, pp. E4. https://doi.org/10.1038/s41586-024-08416-7

Adams, D.W., and Errington J., Bacterial cell division: assembly, maintenance and disassembly of the Z ring, *Nat. Rev. Microbiol.*, 2009, vol. 7, no. 9, pp. 642–653. https://doi.org/10.1038/nrmicro2198.

Agu, P.C., Afiukwa, C.A., Orji, O.U., et al., Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management, *Sci. Rep.*, 2023, vol. 13, no. 1, pp. 13398. https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2

Ahdritz, G., Bouatta, N., Floristean, C., et al., OpenFold: retraining AlphaFold2 yields new insights into its learning mechanisms and capacity for generalization, *Nat. Methods*, 2024, vol. 21, no. 8, pp. 1514–1524. https://doi.org/10.1038/s41592-024-02272-z

Bellaver, E.H., da Costa, I.M., Redin, E.E., et al., The fermented milk can be a natural ally against obesity? Investigation of bovine milk fermentation by *Lacticaseibacillus casei* LBC 237, Screening, and *in silico* predictions of bioactive peptides for obesity control, *Intelligent Pharmacy*, 2024, PII: S2949-866X(24)00069-8. https://doi.org/10.1016/j.ipha.2024.05.009

Berman, H., Henrick, K., and Nakamura, H., Announcing the worldwide Protein Data Bank. *Nat. Struct. Biol.*, 2003, vol. 10, no. 12, pp. 980. https://doi.org/10.1038/nsb1203-980

Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H., Shindyalov, I.N., and Bourne, P.E., The Protein Data Bank, *Nucleic Acids Res.*, 2000, vol. 28, no. 1, pp. 235–242. https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235

Brunst, S., Kramer, J.S., Kilu, W., Heering, J., Pollinger, J., Hiesinger, K., George, S., Steinhilber, D., Merk, D., and Proschak, E., Systematic assessment of fragment identification for multitarget drug design, *Chem. Med. Chem.*, 2021, vol. 16, no. 7, pp. 1088–1092. https://doi.org/10.1002/cmdc.202000858.

Burcham, C.L., Doherty, M.F., Peters, B.G., et al., Pharmaceutical digital design: from chemical

structure through crystal polymorph to conceptual crystallization process, *Crystal Growth and Design*, 2024, vol. 24, no. 13, pp. 5417–5438. https://doi.org/10.1021/acs.cgd.3c01390

Burley, S.K., Bhatt, R., Bhikadiya, C., et al., Updated resources for exploring experimentally-determined PDB structures and computed structure models at the RCSB Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.*, 2025, vol. 53, no. D1, pp. D564–D574. https://doi.org/10.1093/nar/gkae1091

Carro, L., Recent progress in the development of small-molecule FtsZ inhibitors as chemical tools for the development of novel antibiotics, *Antibiotics*, 2019, vol. 8, no.4, pp. 217. https://doi.org/10.3390/antibiotics8040217

de Boer, P., Crossley, R.E., and Rothfield, L.I., FtsZ is a major component of the division ring in *Escherichia coli*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, vol. 89, no. 24, pp. 10317–10321. https://doi.org/10.1073/pnas.89.24.10317

Demchuk, O., Karpov, P., Raspor, P., et al., Molecular modelling of FtsZ proteins based on their homology in *Escherichia coli* and *Mycobacterium tuberculosis* as the key stage of rational design of new antituberculous compounds, *Acta Biologica Slovenica*, 2011, vol. 54, no. 2, pp. 13–29. https://doi.org/10.14720/abs.54.2.15476

Demchuk, O.M., Karpov, P.A., and Blume, Ya.B., Docking small ligands to molecule of the plant FtsZ protein: Application of the CUDA technology for faster computations, *Cytol. Genet.*, 2012, vol. 46, no. 3, pp. 172–179. https://doi.org/10.3103/S0095452712030048.

Demchuk, O.N., and Blium, Ia.B., Phylogenetic tree of bacterial and eucaryotic FtsZ-proteins based on the homology of their primary sequences, *Tsitol. Genet.*, 2005, vol. 39, no. 4, pp. 3–12. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16396325/

Elfmann, C., and Stьlke, J., PAE viewer: a webserver for the interactive visualization of the predicted aligned error for multimer structure predictions and crosslinks, *Nucleic Acids Res.*, 2023, vol. 51, no. W1, pp. W404–W410. https://doi.org/10.1093/nar/gkad350

Fujimori, M., Sogawa, H., Ota, S., Karpov, P., Shulga, S., Blume, Ya., and Kurita, N., Specific interactions between mycobacterial FtsZ protein and curcumin derivatives: Molecular docking and ab initio molecular simulations, *Chemical Physics Letters*, 2017, vol. 12, pp. 692. https://doi.org/10.1016/j.cplett.2017.12.045

Gonzalez-Pastor, R., Carrera-Pacheco, S.E., Zúciga-Miranda, J., et al., Current landscape of methods to evaluate antimicrobial activity of natural extracts, *Molecules*, 2023, vol. 28, no. 3, pp. 1068. https://doi.org/10.3390/molecules28031068

Haranahalli, K., Tong, S., and Ojima, I., Recent advances in the discovery and development of antibacterial agents targeting the cell-division protein FtsZ, *Bioorg. Med. Chem.*, 2016, vol. 24, no. 24, pp. 6354–6369. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.05.003

Hou, S., Wieczorek, S.A., Kaminski, T.S., Ziebacz, N., Tabaka, M., Sorto, N.A., Foss, M.H., Shaw, J.T., Thanbichler, M., Weibel, D.B., Nieznanski, K., Holyst, R., and Garstecki, P., Characterization of *Caulobacter crescentus* FtsZ protein using dynamic light scattering, *J. Biol. Chem.*, 2012, vol. 287, no. 28, pp. 23878–23886. https://doi.org/10.1074/jbc.M111.309492

Hsu, K.C., Chen, Y.F., Lin, S.R., and Yang, J.M., iGEMDOCK: a graphical environment of enhancing GEMDOCK using pharmacological interactions and post-screening analysis, *BMC Bioinformatics*, 2011, vol. 12, no. 1, pp. S33. https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-S1-S33

Jones, G., Willett, P., Glen, R.C., Leach, A.R., and Taylor, R., Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking, J. Mol. Biol., 1997, vol. 267, no. 3, pp. 727–748. https://doi.org/10.1006/jmbi.1996.0897

Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A. et al., Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold, *Nature*, 2021, vol. 596, no. 7873, pp. 583–589. https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2

Karpov, P.A., Demchuk, O.M., Britsun, V.M., et al., 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.)*, 2016, vol. 12, no. 3, pp. 44–59. https://doi.org/10.15407/scin12.03.044

Karpov, P.A., Ozheriedov, D.S., Ozheredov, S.P., et al., Identification of FtsZ interdomain cleft effectors based on pharmacophore search and molecular docking, *Cytol. Genet.*, 2024, vol. 58, no. 5, pp. 371–384. https://doi.org/10.3103/S0095452724050050

Korb, O., Stützle, T., and Exner, T.E., Empirical scoring functions for advanced protein-ligand docking with PLANTS, *J. Chem. Inf. Model*, 2009, vol. 49, no. 1, pp. 84–96. https://doi.org/10.1021/ci800298z

Läppchen, T., Pinas, V.A., Hartog, A.F., et al., Probing FtsZ and tubulin with C8-substituted GTP analogs reveals differences in their nucleotide binding sites, *Chem. Biol.*, 2008, vol. 15, no. 2, pp. 189–199. https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2007.12.013

Leung, A.K., Lucile, W.E., et al., Structure of *Mycobacterium tuberculosis* FtsZ reveals unexpected, G protein-like conformational switches, *J. Mol.*

Biol., 2004, vol. 342, no. 3, pp. 953–970. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2004.07.061

Li, Z., Trimble, M.J., Brun, Y.V., and Jensen, G.J., The structure of FtsZ filaments *in vivo* suggests a force-generating role in cell division, *EMBO J.*, 2007, vol. 26, no. 22, pp. 4694–4708. https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601895

Liebeschuetz, J.W., Cole, J.C., and Korb, O., Pose prediction and virtual screening performance of GOLD scoring functions in a standardized test, *J. Comput. Aided. Mol. Des.*, 2012, vol. 26, no. 6, pp. 737–748. https://doi.org/10.1007/s10822-012-9551-4

Lypez-Lypez, E., Naveja, J.J., and Medina-Franco, J.L., DataWarrior: an evaluation of the open-source drug discovery tool, *Expert. Opin. Drug. Discov.*, 2019, vol. 14, no. 4, pp. 335–341. https://doi.org/10.1080/17460441.2019.1581170

Lu, C., Reedy, M., and Erickson, H.P., Straight and curved conformations of FtsZ are regulated by GTP hydrolysis. *J. Bacteriol.*, 2000, vol. 182, no. 1, pp. 164–170. https://doi.org/10.1128/JB.182.1.164-170.2000

Ma, S., and Ma, S., The development of FtsZ inhibitors as potential antibacterial agents. *ChemMedChem*, 2012, vol. 7, no. 7, pp. 1161–1172. https://doi.org/10.1002/cmdc.201200156

Mariani, V., Biasini, M., Barbato, A., Schwede, T., lDDT: a local superposition-free score for comparing protein structures and models using distance difference tests, *Bioinformatics*, 2013, vol. 29, no. 21, pp. 2722–2728. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt473

Mathew, B., Hobrath, J.V., and Ross, L., Screening and development of new inhibitors of FtsZ: insights into targeting the cytoskeleton, *J. Med. Chem.*, 2016, vol. 59, no. 24, pp. 10861–10880. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01065

Matsui, T., Han, X., Yu, J., et al., Structural change in FtsZ induced by intermolecular interactions between bound GTP and the T7 loop, *J. Biol. Chem.*, 2014, vol. 289, no. 6, pp. 3501–3509. https://doi.org/10.1074/jbc.M113.514901

Matsui, T., Yamane, J., Mogi, N., et al., Structural reorganization of the bacterial cell-division protein FtsZ from *Staphylococcus aureus*, *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.*, 2012, vol. 68, no. Pt 9, pp. 1175–1188. https://doi.org/10.1107/S0907444912022640

Mooij, W.T., and Verdonk, M.L., General and targeted statistical potentials for protein-ligand interactions. *Proteins*, 2005, vol. 61, no. 2, pp. 272–287. https://doi.org/10.1002/prot.20588

Nyporko, A.Y., and Blume, Y., Comparative analysis of secondary structure of tubulins and FtsZ proteins. *Biopolymers and Cell*, 2001, vol. 17, pp. 61–69. https://doi.org/10.7124/bc.00059E

Oliva, M.A., Cordell, S.C., Löwe, J., Structural insights into FtsZ protofilament formation, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2004, vol. 11, no. 12, pp. 1243–1250. https://doi.org/10.1038/nsmb855

Oliva, M.A., Trambaiolo, D., and Lцwe, J., Structural insights into the conformational variability of FtsZ, *J. Mol. Biol.*, 2007, vol. 373, no. 5, pp. 1229–1242. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.08.056

Osolodkin, D.I., Radchenko, E.V., Orlov, A.A., et al., Progress in visual representations of chemical space, *Expert. Opin. Drug. Discov.*, 2015, vol. 10, no. 9, pp. 959–973. https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1060216

Ozheredov, D.S., and Karpov, P.A., Comparative analysis of allosteric rearrangements in FtsZ protein structure induced by benzamide and 4-hydroxycoumarine compounds. *Faktori eksperimental'noi evolucii organizmiv*, 2024, vol. 35, pp. 164–169. https://doi.org/10.7124/FEEO.v35.1679

Ozheriedov, D.S., and Karpov, P.A., Structural profile of ligand-based inhibition of bacterial FtsZ, *Faktori eksperimental'noi evolucii organizmiv*, 2023, vol. 32, pp. 142–147. https://doi.org/10.7124/FEEO.v32.1551

Ozheriedov, D.S., Ozheredov, S.P., Demchuk, O.M., et al., Ligand-induced variability of the FtsZ protein interdomain site pocket, *Cytol. Genet.*, 2024, vol. 58pp. 275–282. https://doi.org/10.3103/S0095452724040078

Peters, P.C., Migocki, M.D., Thoni, C., and Harry, E.J., A new assembly pathway for the cytokinetic Z ring from a dynamic helical structure in vegetatively growing cells of *Bacillus subtilis*, *Mol. Microbiol.*, 2007, vol. 64, no. 2, pp. 487–499. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05673.x.

Ramirez-Diaz, D.A., Merino-Salomyn, A., Meyer, F., Heymann, M., Rivas, G., Bramkamp, M., and Schwille, P., FtsZ induces membrane deformations via torsional stress upon GTP hydrolysis, *Nat. Commun.*, 2021, vol. 12, no. 1, pp. 3310. https://doi.org/10.1038/s41467-021-23387-3

Rayevsky, A., Samofalova, D., Ishchenko, L., et al., Structure-based virtual screening and biological evaluation of novel inhibitors of mycobacterium Z-ring formation, *J. Cell Biochem.*, 2022, vol. 123, no. 5, pp. 852–862. https://doi.org/10.1002/jcb.30232.

Raymond, A., Lovell, S., Lorimer, D., et al., Combined protein construct and synthetic gene engineering for heterologous protein expression and crystallization using Gene Composer. *BMC Biotechnol.*, 2009, vol. 9, pp. 37. https://doi.org/10.1186/1472-6750-9-37

Ruiz, F.M., Huecas, S., Santos-Aledo, A., et al., FtsZ filament structures in different nucleotide states reveal the mechanism of assembly dynamics, *PLoS*

Biol., 2022, vol. 20, no. 3, pp. e3001497. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001497

Sander T, Freyss J, von Korff M et al., DataWarrior: an open-source program for chemistry aware data visualization and analysis, *J. Chem. Inf. Model.*, 2015, 55(2):460-73. https://doi.org/10.1021/ci500588j

Sander, T., Freyss, J., von Korff, M., and Rufener, C., DataWarrior: an open-source program for chemistry aware data visualization and analysis, *J. Chem. Inf. Model.*, 2015, vol. 55, no. 2, pp. 460–473. https://doi.org/10.1021/ci500588j

Schumacher, M.A., Ohashi, T., Corbin, L., et al., High-resolution crystal structures of *Escherichia coli* FtsZ bound to GDP and GTP, *Acta Crystallogr. F. Struct. Biol. Commun.*, 2020, vol. 76, no. Pt 2, pp. 94–102. https://doi.org/10.1107/S2053230X20001132

Small, E., and Addinall, S.G., Dynamic FtsZ polymerization is sensitive to the GTP to GDP ratio and can be maintained at steady state using a GTP-regeneration system, *Microbiology (Reading)*, 2003, vol. 149, no. 8, pp. 2235–2242. https://doi.org/10.1099/mic.0.26126-0

Sogawa, H., Sato, R., Suzuki, K., Tomioka, S., Shinzato, T., Karpov, P., Shulga, S., Blume, Y., and Kurita, N., Binding sites of Zantrin inhibitors to the bacterial cell division protein FtsZ: molecular docking and *ab initio* molecular orbital calculations, *Chem. Phys.*, 2020, vol. 530, pp. 110603. https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2019.110603

Sunseri, J., and Koes, D.R., Pharmit: interactive exploration of chemical space. *Nucleic Acids Res.*, 2016, vol. 44, no. W1, pp. W442–W448. https://doi.org/10.1093/nar/gkw287

Thanedar, S., and Margolin, W., FtsZ exhibits rapid movement and oscillation waves in helix-like patterns in *Escherichia coli*, *Curr. Biol.*, 2004, vol. 14, no. 13, pp. 1167–1173. https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.06.048

Tripathy, S., and Sahu, S.K., FtsZ inhibitors as a new genera of antibacterial agents, *Bioorg. Chem.*, 2019, vol. 91, pp. 103169. https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103169

van Ooij, C., Z-ring Achilles' heel for MRSA, *Nat. Rev. Microbiol.*, 2008, vol. 6, pp. 799. https://doi.org/10.1038/nrmicro2016

Wagstaff, J.M,, Tsim, M., Oliva, M.A., et al., A polymerization-associated structural switch in FtsZ that enables treadmilling of model filaments, *mBio*, 2017, vol. 8, no. 3, pp. e00254-e003217. https://doi.org/10.1128/mBio.00254-17

Walker, B.E., Männik, J., and Männik, J., Transient membrane-linked FtsZ assemblies precede Z-ring formation in *Escherichia coli*, *Curr. Biol.*, 2020, vol. 30, no. 3, pp. 499–508.e6. https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.12.023

Xinshi, Chen, Yuxuan, Zhang, et al., Protenix – Advancing structure prediction through a comprehensive AlphaFold3 reproduction, *bioRxiv.*, 2025. https://doi.org/10.1101/2025.01.08.631967

Xu, J., and Zhang, Y., How significant is a protein structure similarity with TM-score = 0.5? *Bioinformaticsm*, 2010, vol. 26, no. 7, pp. 889–895. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq066

Yang, J.M., and Chen, C.C., GEMDOCK: a generic evolutionary method for molecular docking, *Proteins*, 2004, vol. 55, no. 2, pp. 288–304. https://doi.org/10.1002/prot.20035

Zdrazil, B., Fifteen years of ChEMBL and its role in cheminformatics and drug discovery. *J. Cheminform.*, 2025, vol. 17, no. 1, pp. 32. https://doi.org/10.1186/s13321-025-00963-z

Надійшла в редакцію 05.02.2025
Після доопрацювання 07.03.2025
Прийнята до друку 18.07.2025