

ПОШУК НОВИХ ІНГІБІТОРІВ SGLT2 ЛЮДИНИ НА ОСНОВІ РЕЗУЛЬТАТІВ ВІРТУАЛЬНОГО СКРИНІНГУ І СТРУКТУРНО-БІОЛОГІЧНОГО АНАЛІЗУ

А.П. КАРПОВА, Л.М. ШМАГАЙ, 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

Інгібітори натрійзалежного котранспортеру глюкози SGLT2, відомі як гліфлозини, є одним з найбільш перспективних класів сучасних гіпоглікемічних засобів. Актуальне дослідження підтвердило значну варіабельність кишені цільового сайту у представників родини SLC5 людини і підтвердило можливість селективного інгібування SGLT2. Враховуючи унікальність цільового сайту, віртуальний скринінг хімічної бібліотеки компанії Enamine Ltd визначив 36 перспективних інгібіторів SGLT2. Ранжування за показниками оцінювальних функцій і енергій ліганд-білкових взаємодій визначило 5 лідерів, показники яких наближені до відомих закордонних препаратів, а сполуки Z2195993226 і Z2195993230 були відібрані як нові потенційні інгібітори SGLT2. Ще одна сполука — Z1494829516 (Puerarin), раніше описана як індуктор аутофагії, інгібітор фероптозу, кардіопротектор, антиоксидант, протизапальний та жарознижувальний засіб, вперше позиціонується як потенційний інгібітор SGLT2. Сполука Z2417819595 була виключена зі списку за результатами структурної експертизи, а сполука Z2235801995 ідентифікована як відома діюча речовина препарату NVOKAMET (FDA ID: 4129180), що підтверджує коректність застосованого протоколу віртуального скринінгу.

Ключові слова: діабет, гіперглікемія, гліфлозини, інгібітори, SLC5A2, SGLT2, віртуальний скринінг.

Вступ. Контроль рівню глюкози крові є найважливішим фактором терапії діабету I і II типів. У відсутності належного контролю, хронічна гіперглікемія призводить до комплексного пошкодження систем організму, і провокує патології серця, кровоносних судин, очей, нирок та нейронів. (WHO'2025) Ефективним засобом медикаментозного контролю гіперглікемії є застосовування інгібіторів натрій-глюкозних котранспортерів, також відомих як препарати групи гліфлозинів (Zaayad et al., 2025).

Відомо три родини транспортерів здатних переносити молекули глюкози: полегшені транс-

портери SLC2 (GLUT), деякі «активні» транспортери родини SLC5 і уніпортери SLC50 (SWEET) (Chen et al., 2010). Незважаючи на спільне походження, родина SLC5 об'єднує транспортери різноманітних субстратів, від інозитолів до іонів (йодид, лактат, холін тощо) (Wright, 2013). З фармацевтичної точки зору, особливої уваги заслуговують котранспортери натрію і глюкози, що представлені ізотипами SLC5A1 (SGLT1) і SLC5A2 (SGLT2) (Azizoglu et al., 2023; Levchuk et al., 2023). Перший, SGLT1, кодується геном SLC5A1 і відповідає за «активне» всмоктування глюкози у кишечнику, глюкозо-галактозну мальабсорбцію і є мішенню пероральної регідраційної терапії діареї (Lehmann et al., 2016). Другий, SGLT2, кодується геном SLC5A2 і відповідає за реабсорбцію глюкози в нирках та є перспективною мішенню медикаментозного контролю гіперглікемії (Hiraizumi et al., 2024; Saravana Kumar et al., 2025; Padma et al., 2025; Prybyla et al., 2021; Levchuk et al., 2023). Показано, що максимальна експресія гену SLC5A2 відбувається саме на мембрані щіткової облямівки клітин ранніх проксимальних каналців кори нирок (рис. 1) (Vallon et al., 2011; Niu et al., 2022). Так, пацієнтам із сімейною нирковою глюкозурією (FRG OMIM # 233100) притаманні мутації саме гену SLC5A2, а нокаут зазначеного гену призводить до штучної глюкозурії (Vallon et al., 2011; Wright, 2021).

Відомо декілька природних і синтетичних інгібіторів SGLT2, включаючи природний глюкозид флоретину — флоризин, який належить до класу дигідрохалконів (рис. 2, а, б). Зазначений клас речовин входить до групи флавоноїдів, близьких за структурою до халконів, але з насиченим пропановим фрагментом — α/β (рис. 2, а) (Hiraizumi et al., 2024). Дослідницька група д-ра Ральфа деФронзо (deFron-

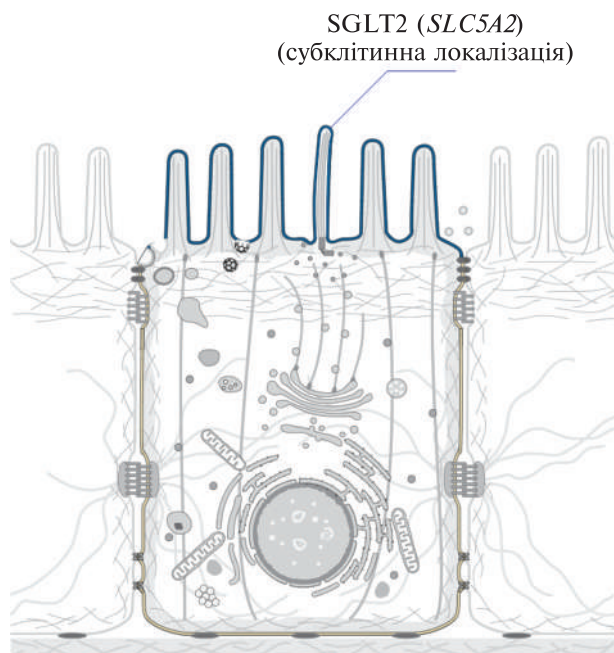


Рис. 1. Максимальна експресія генів SLC5A2 підтверджена в клітинах корі нирок, де переважна кількість зазначених транспортерів SGLT2 локалізована на мембрані щіткової облямівки клітин ранніх проксимальних каналців (позначено блакитним кольором). (Neuen et al., 2019)

zo's group), була першою хто показав, що флоризин нормалізує рівень цукру у моделі діабетичних щурів (Oku et al., 1999). Тривалий час, флоризин вивчався, як потенційний лікарський засіб лікування діабету 2-го типу. Згодом було показано, що при пероральному прийомі гідролітичні ферменти тонкого кишечника майже повністю перетворюють флоризин на неактивну форму – флоретин (Idris and Donnelly, 2009; Crespy et al., 2001). В наслідок цього, зазначена природна сполука була заміщена більш стійкими і специфічними синтетичними аналогами (емпагліфлозин, канагліфлозин, дапагліфлозин, тощо) (рис. 2, б).

Згодом, використовуючи флоризин як опору сполуку, японська фармацевтична компанія Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation (www.mt-pharma.co.jp) синтезувала інгібітор T-1095, який пригнічував SGLT1 та SGLT2 людини з IC_{50} в діапазоні 50–200 нМ (Tsujihara et al., 1996; Oku et al., 1999). У моделі «діабетичних» щурів препарат викликав дозозалежну екскре-

цію глюкози із сечею, зниження рівня глюкози крові і пролонговане зниження рівня глікозильованого гемоглобіну (HbA1C) (Oku et al., 1999). Також було доведено що у плазмі, T-1095 перетворюється на більш активну форму T-1095A. (рис. 2, б)

Відтоді п'ять пероральних інгібіторів SGLT2 були схвалені FDA для клінічного впровадження (рис. 2, б) (Chao and Henry, 2010; Kipnes, 2011; Cai et al., 2015; Meng et al., 2008; Nomura et al., 2010; WHO'2025). Всі зазначені сполуки належать до групи арилглюкозидів і відрізняються характерним С–С лінкером цукрового фрагменту і фенільної групи аглікону, що запобігає розщепленню лактаза-флоризин гідролазою (LPH). Такі сполуки продемонстрували більшу ефективність ($IC_{50} = 1$ нМ) та специфічність (1200 : 1) по відношенню до SGLT2 людини, порівняно із SGLT1 (Meng et al., 2008; Nomura et al., 2010). У здорової людини, дапагліфлозин викликає дозозалежну екскрецію глюкози із сечею, яка досягає 50 % від фільтрованого навантаження, а у пацієнтів із діабетом, призводить до швидкого покращення глікемічного контролю (Komoroski et al., 2009; Ferrannini et al., 2010). Також показано, що дапагліфлозин зменшує гіперглікемію і рівень HbA1C у пацієнтів із лабільними формами діабету (Ferrannini et al., 2010)

Ревізія RCSB Protein Data Bank (www.rcsb.org), показала, що перша структура комплексу SGLT2-інгібітор (емпагліфлозин), була депонована у 2021 році: 7VSI «Structure of human SGLT2-MAP17 complex bound with empagliflozin» (2021-12-15) (Niu et al., 2022). На сьогодні, в RCSB депоновано 8 структур SGLT2 людини: 7VSI, 7YNJ, 7YNK, 8HB0, 8HDH, 8HEZ, 8HG7, 8HIN, з яких лише 6 отримані у комплексі з інгібіторами. Крім того, ревізія бази даних ChEMBL (www.ebi.ac.uk/chembl/) виявила 14 ефекторів SGLT2, які мають статус схвалених препаратів або клінічних кандидатів («Approved Drugs and Clinical Candidates»). За критерієм асоційованої біологічної активності – «Associated Bioactivities», в ChEMBL депоновано 2023 сполуки, з яких 1601 ефекторів SGLT2 визначені на підставі показнику IC_{50} , а для 132-х сполук доведена здатність формувати комплекси із зазначеною молекулярною мішенню («Associated Assays»).

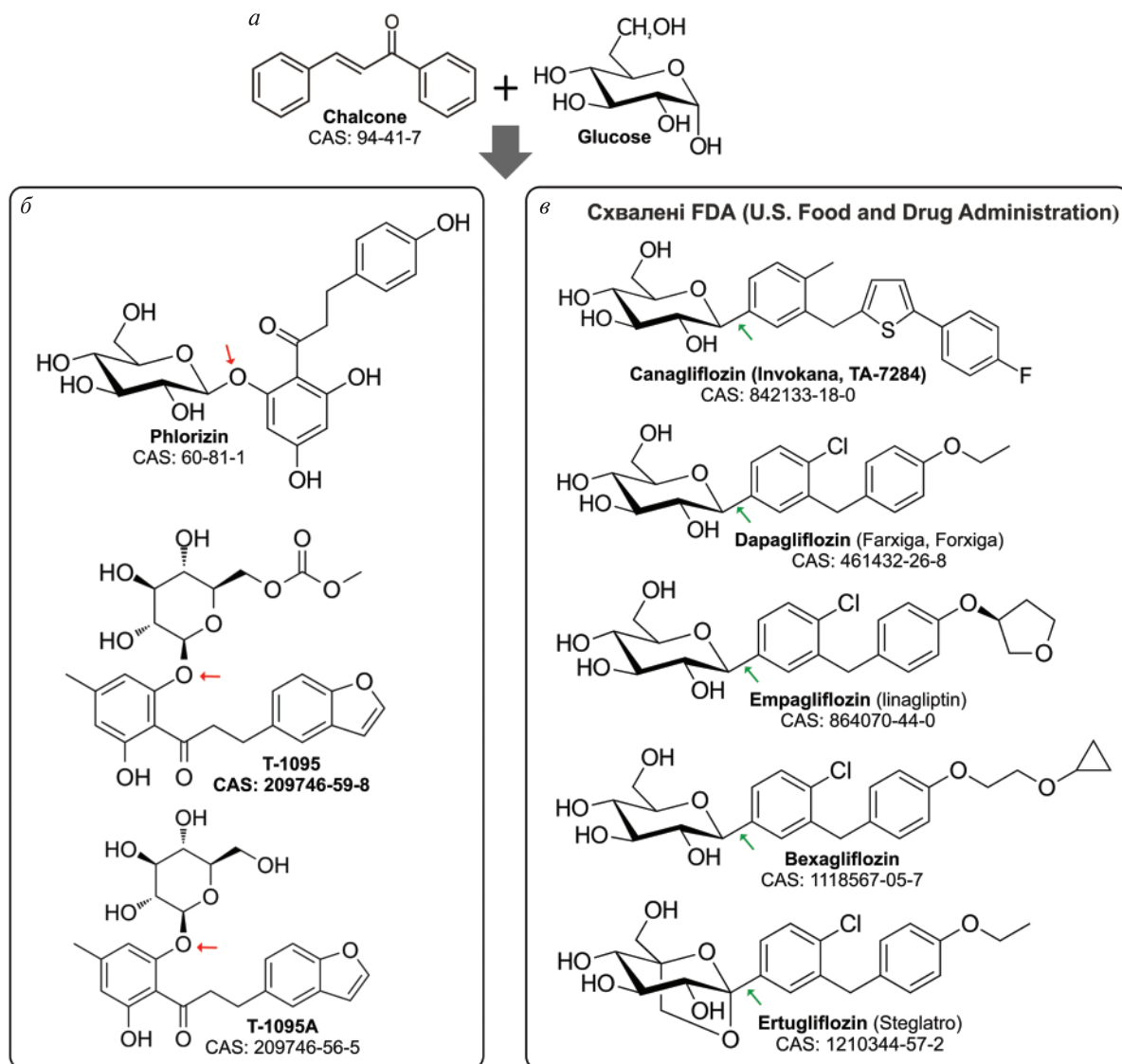


Рис. 2. Відомі природні і синтетичні гліфлозини: *a* – сполуки-попередники: халкон і глюкоза; *б* – природний гліфлозин флоризин, синтетичне похідне T-1095, а також, більш активний метаболіт T-1095A, що формується у плазмі крові з T-1095: Phlorizin = 1-[2,4-dihydroxy-6-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxyphenyl]-3-(4-hydroxyphenyl)propan-1-one; T-1095 = [(2R,3S,4S,5R,6S)-6-[2-[3-(1-benzofuran-5-yl)propanoyl]-3-hydroxy-5-methylphenoxy]-3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl]methyl methyl carbonate; T-1095A = 3-(1-benzofuran-5-yl)-1-[2-hydroxy-4-methyl-6-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxyphenyl]propan-1-one.); *в* – гліфлозини що були схвалені FDA для клінічного впровадження: Canagliflozin = (2S,3R,4R,5S,6R)-2-[3-[[5-(4-fluorophenyl)thiophen-2-yl]methyl]-4-methylphenyl]-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol [39]; Dapagliflozin = (2S,3R,4R,5S,6R)-2-[4-chloro-3-[(4-ethoxyphenyl)methyl]phenyl]-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol [34]; Bexagliflozin (EGT-1442) = (2S,3R,4R,5S,6R)-2-[4-chloro-3-[(4-(2-cyclopropyloxyethoxy)phenyl)methyl]phenyl]-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol; Empagliflozin = (2S,3R,4R,5S,6R)-2-[4-chloro-3-[[4-[(3S)-oxolan-3-yl]oxyphenyl]methyl]phenyl]-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol. Примітка: червона стрілка – сайт гідролізу; зелена стрілка – стійкий C-C зв'язок

Всі комерційно доступні гліфлозини належать виключно закордонним компаніям, що обумовлює їх високу вартість на фармацевтичному ринку України (EMA, 2023; Drugs@FDA, 2025). Вирішенням даної проблеми може бути розробка вітчизняних аналогів, що відповідно вимагає ідентифікації альтернативних діючих речовин. Метою актуального дослідження було визначення перспективних інгібіторів SGLT2 на підставі результатів фармакофорного пошуку, молекулярного докінгу та структурного аналізу сполук, які депоновані в репозиторії української компанії Enamine Ltd. (<https://enamine.net/>)

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження були послідовності, структури і ліганд-білкові комплекси натрій-глюкозного котранспортеру SGLT2. Цільовою групою дослідження була контрольна бібліотека речовин, сформована за результатами ревізії RCSB Protein Data Bank (Berman et al., 2003; Burley et al., 2025), а також бібліотека сполук з репозиторію компанії Enamine Ltd. (<https://enamine.net/>). В роботі використовували структури лігандів, які були завантажені з PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Бібліотеки лігандів зберігались у форматах *.mol2 і *.SD/*.sdf, що відповідає вимогам програм CCDC GOLD (Jones et al., 1997) та iGEMDOCK (Yang and Chen, 2004).

Для візуалізації та аналізу молекулярних структур були використані програми PyMOL v.2.5.5 (Schrödinger LLC, www.pymol.org) і BIOVIA Discovery Studio 2024 Client (<https://discover.3ds.com/>). Реконструкцію 2D-карт ліганд-білкових взаємодій було виконано у програмі BIOVIA Discovery Studio 2024 Client.

У дослідження було залучено кріоелектронні структури з RCSB Protein Data Bank (www.rcsb.org), моделі побудовані із використанням мережевого сервісу Swiss-Model – <https://swissmodel.expasy.org/> (Waterhouse et al., 2018), а також, моделі, побудовані із використанням штучного інтелекту (AI), із залученням програми AlphaFold3 – <https://alphafoldserver.com/> (Thangamalai et al., 2025). Повноатомна AI-модель «AF-P31639-F1-v4» SGLT2 (SC5A2_HUMAN, P31639, GN = SLC5A2) *Homo sapiens* була отримана з репозиторія UniProtKB (депонування Google DeepMind) [<https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/P31639>]. Оптимізація та пе-

ревірка стабільності повноатомних моделей виконувались за методом молекулярної динаміки (MD) в програми Gromacs v. 2024.5 (www.gromacs.org). Симуляції молекулярної динаміки виконувались за умов використання силового поля CHARMM36ff, моделі сольвенту Tip3 і температури 310 K (Abraham et al., 2024). Фізіологічний стан систем відтворювався шляхом заміщення частини молекул води іонами Na⁺(NA) і Cl⁻(CL). Тривалість симуляцій складала 210 ns.

Об'єм і геометрія кишень сайтів зв'язування аналізувались за технологією Catalophore™, яка реалізована у плагіні Innophore CavitOmiX (версія 1.0, 2022, Innophore GmbH – <https://innophore.com/cavtomix>) програми PyMOL (Gruber et al., 2015; Hetmann et al., 2023; Parigger et al., 2024). Гідрофобність порожнин розраховувалась із використанням інтегрованого модуля VASCo (Steinkellner et al., 2009), а об'єм сайтів визначався із використанням модифікованого алгоритму LIGSITE (Hendlich et al., 1997).

Для фармакофорного пошуку застосовували інтерактивний *on-line* сервіс Pharmit (<https://pharmit.csb.pitt.edu/>), який дозволяє виконувати віртуальний скринінг великих бібліотек лігандів на підставі фармакофорних дескрипторів, молекулярних форм та мінімізації енергій (Sunseri and Koes, 2016).

Молекулярний докінг сполук, відібраних за результатами фармакофорного пошуку, здійснювали за допомогою програмного пакету 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, для ранжування гіпотез використовували показники оцінювальних фітнес-функцій: ChemPLP (основана) та ASP (функція рескорингу).

Кількісну оцінку внесків водневих зв'язків, Ван-дер-Ваальсових сил та інших факторів формування ліганд-білкового комплексу здійснювали за результатами повторного докінгу в програмі iGEMDOCK v2.1. (Yang and Chen, 2004) На підставі оригінального методу – «Generic Evolutionary Method for molecular DOCKing», iGEMDOCK дозволяє обрахувати кількісні фітнес-показники спорідненості сполук до цільового сайту (*Fitness/Binding Energy*) за внеском водневих зв'язків (*Hbond*), сил

Ван-дер-Ваальса (*vdW*) і електростатики (*Elec*): $Fitness = vdW + Hbond + Elec$ (Yang and Chen, 2004; Bellaver et al., 2024). Остаточну обробку та аналіз скорингових показників фармакофорного пошуку, молекулярного докінгу і молекулярної динаміки виконували за допомогою програми Microsoft Excel 2016.

Хомогеномну кластеризацію сайтів зв'язування виконували із використанням амінокислотних послідовностей фрагментів кишень цільових сайтів, які були визначені на підставі дистанції 5 Å від кластера референтних лігандів (ліганди з PDB-структур). Відповідні амінокислотні послідовності були отримані з репозиторію UniProtKB (www.uniprot.org). Вирівнювання амінокислотних послідовностей виконувалось в програмі ClustalX2 із залученням вагової матриці Blossum і кластеризації за алгоритмом зв'язування найближчих сусідів (NJ) (Larkin et al., 2007). Візуалізація і аналіз філогенетичних дерев здійснювались в програмі MEGA12 (Kumar et al., 2024).

Результати та обговорення. Першим логічним питанням актуального дослідження було з'ясування наскільки консервативні цільові сайти зв'язування субстратів у різних представників родини SLC5. Для вивчення цього питання було виконано кластеризацію кишень субстрат-з'вязуючих сайтів всіх 12 ізотипів SLC5 людини. Для цього, в програмах Swiss-Model і AlphaFold3, було реконструйовано структурні моделі всіх відомих ізотипів SLC5. Структурне вирівнювання побудованих моделей і структур ліганд-білкових комплексів депонованих в RCSB Protein Data Bank: 7VSI з 7R3 (Empagliflozin), 7YNJ з GYP (methyl alpha-D-glucopyranoside), 8HB0 з KZ3 (інгібітор TA-1887), 8HDH з L3R (Canagliflozin), 8HEZ з LE6 (Dapagliflozin) і 8HG7 з LFL (Sotagliflozin), показало, що зв'язані ліганди демонструють значну подібність поз, ключових субструктур та формують компактний кластер (рис. 3).

За допомогою програми PyMol були відібрані амінокислоти, які знаходяться на дистанції 5 Å від кластеру референтних лігандів і безпосередньо залучені до формування кишень сайту. NJ-кластеризація отриманих фрагментів (рис. 4) засвідчила, що всі ізотипи SLC5 демонструють значні варіації амінокислотного складу цільової кишень, що вказує на можли-

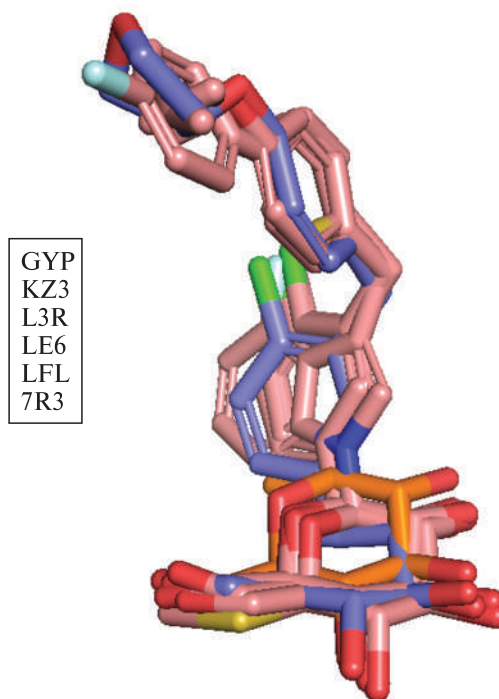


Рис. 3. Кластер лігандів, що формувался при структурному вирівнюванні білкових компонентів комплексів SGLT2 з інгібіторами, що депоновані в RCSB Protein Data Bank. Відмічаються спільні риси у розташуванні циклічних фрагментів, а також донорів і акцепторів водневих зв'язків молекул відомих інгібіторів SGLT2

вість існування селективних інгібіторів натрій-глюкозного котранспортера SLC5A2 (рис. 4, б). Для розуміння рухливості кишень цільового сайту, AI-модель апо-форми SGLT2 (AlphaFold), а також, RMSF-структура отримана за результатами >200 н.с. молекулярної динаміки, були структурно порівняні з ліганд-білковими комплексами депонованими в RCSB: 7YNJ з міметиком глюкози GYP (methyl alpha-D-glucopyranoside) і 7VSI з емпагліфлозином (PDB ID: 7R3) (рис. 5).

Структурне вирівнювання підтвердило подібність моделі побудованої за допомогою AlphaFold та усередненої RMSF-структури що зазнала 210 н.с. молекулярної динаміки (рис. 5, а). Аналогічний результат був отриманий при структурному вирівнюванні зазначених моделей та PDB-структури 7YNK SGLT2 людини що не містить ліганду (рис. 7, б). Це дозволяє визначити зазначену конформацію, як пріо-

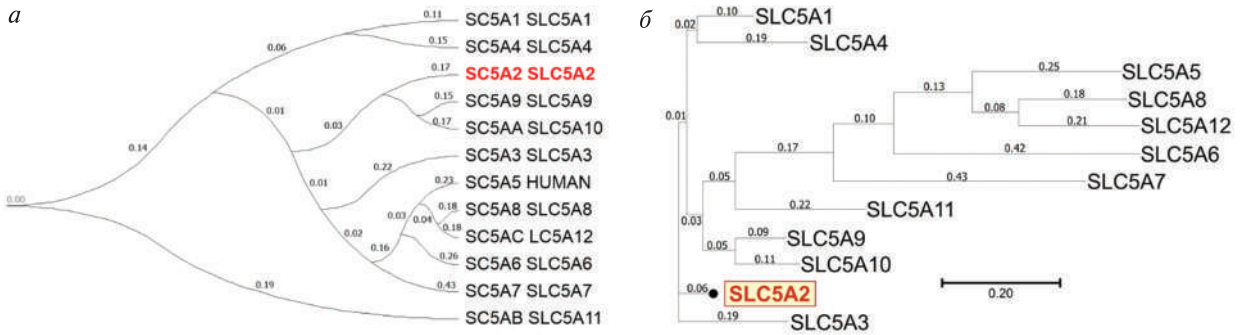


Рис. 4. Результати філогенетичного порівняння повних амінокислотних послідовностей представників родини Na^+ -залежних котранспортерів SLC5 (а), а також хемогеномна кластеризація карманів цільового сайту (б). Підтверджена унікальність амінокислотного складу цільової кишені котранспортеру SLC5A2/ SGLT2, що підтверджує можливість специфічного інгібування зазначеного ізотипу

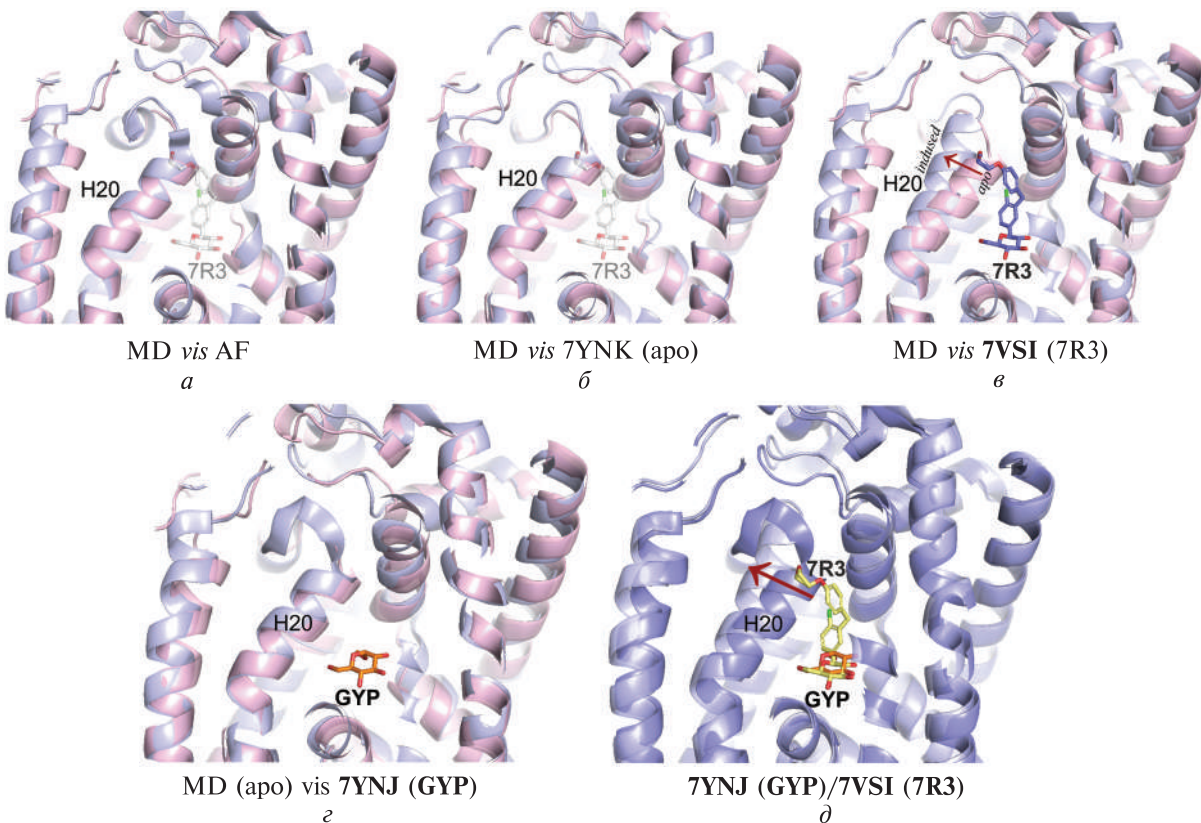


Рис. 5. Визначення структурних перебудов SGLT2, обумовлених взаємодією з 7R3 — емпагліфлозин (Empagliflozin). На рисунках а і б — ліганд 7R3 вказується для позначення положення цільового сайту і він не є частиною наведеної структури. Червона стрілка позначає напрямок структурних змін, що виникають при зв'язуванні інгібітору. (більш докладно у тексті)

ритетну для апо-форми. Крім того, наступне порівняння вищезазначених структур і PDB-комплексу 7YNJ, який складається з SGLT2

людини та метил альфа-D-глюкопіранозиду (PDB: GYP), вказало на відсутність критичних деформацій білкового компоненту комплексу

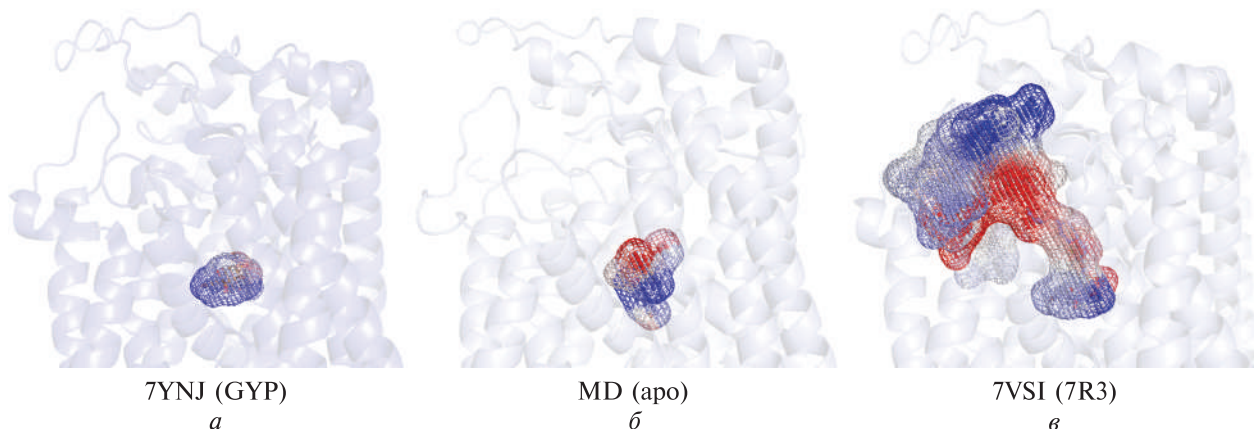


Рис. 6. Аналіз змін об'єму та форми кишені цільового сайту зв'язування виявив значні перебудови ліганд-білкового припасування при формуванні комплексу SGLT2 з відомими інгібіторами. *a* – SGLT2 (SLC5A2) людини з аналогом нативного субстрату – methyl alpha-D-glucopyranoside = GYP (кріоелектронна структура 7YNJ з RCSB Protein Data Bank); *б* – апо-форма SGLT2 людини після 120 н.с. молекулярної динаміки в програмі Gromacs (силове поле Charmm36; модель сольвенту Tip3, фізіологічний рівень Na⁺ і Cl⁻); *в* – кишень, розкриті в результаті формування комплексу з інгібітором. На прикладі моделі комплексу SGLT2 з 7R3 (Empagliflozin) отриманого методом кріоелектронної мікроскопії

(рис. 5, *з*). Що логічне, оскільки альфа-D-глюкопіранозид використовувався як зонд при дослідженні функціонування SGLT2 (Zauyad et al., 2025), і структурно близький до глюкози. Це дозволяє зробити висновок, що функціонування Na⁺-залежного котранспортеру SGLT2 не асоціюється із критичними структурними перебудовами під час транспорту глюкози. Однак, вирівнювання цих структур з PDB-комплексом 7VSI – SGLT2 людини і відомий інгібітор емпагліфлозин (Empagliflozin, PDB ID: 7R3), свідчить про критичні структурні перебудови SGLT2, які, в першу чергу, пов'язані із зміщенням спіралі H20 (рис. 5, *в*, *д*). Аналогічні перебудови також спостерігаються у PDB-структур із іншими інгібіторами SGLT2: 7VSI з 7R3 (Empagliflozin), 8HB0 з KZ3 (інгібітор TA-1887), 8HDH з L3R (Canagliflozin), 8HEZ з LE6 (Dapagliflozin) і 8HG7 з LFL. З метою оцінки потенційних флуктуацій об'єму кишені сайту, які виникають внаслідок формування ліганд-білкових комплексів з інгібітором, був застосований метод каталофорних зліпків із використанням плагіну CavitOmiX, програми PyMOL (Gruber et al., 2015; Hetmann et al., 2023; Parigger et al., 2024). У випадку структури 7YNJ (комплекс SLC5A2 з альфа-D-глюкопіранозидом = GYP) (рис. 6, *a*) і апо-форми

SGLT2 (усереднена RMSF модель побудована за результатами аналізу стабільного фрагменту траєкторії молекулярної динаміки) об'єм кишені майже невідрізнявся (рис. 6, *б*). При цьому, для комплексу SGLT2 з емпагліфлозином (Empagliflozin, PDB ID: 7VSI, ліганд – 7R3) було констатовано що об'єм кишені збільшувався в рази (рис. 6, *в*), що підтверджує попередні висновки, зроблені за результатами аналізу зміщень α -спіралі H20.

Таким чином, було констатовано факт значних ліганд-білкових припасувань, що вказує на необхідність врахування конформаційної гнучкості кишені цільового сайту, і під час віртуального скринінгу може бути вирішено через застосування ансамблю конформацій. (Du et al., 2016) При цьому, використання для наступного скринінгу PDB-структур апо-форми SGLT2, а також 3D-моделей, які були побудовані без врахування присутності ліганду (моделі AlphaFold), було визначено недоречним.

Визначення амінокислот, які формують кишень цільового сайту зв'язування лігандів з SGLT2 людини. Для реалізації наступного молекулярного докінгу в програмі CCDC GOLD був обраний протокол, який передбачав налаштування системи із врахуванням амінокислотного складу цільової кишені та наявності

референтного ліганду. Для отримання списку амінокислот, які формують зазначену кишеню, були використані PDB структури ліганд-білкових комплексів SGLT2: 7VSI з 7R3 (Empagliflozin), 7YNJ з GYP (methyl alpha-D-glucopyranoside), 7YNK (без ліганду = апоформа), 8HB0 з KZ3 (інгібітор TA-1887), 8HDH з L3R (Canagliflozin), 8HEZ з LE6 (Dapagliflozin), 8HG7 з LFL (Sotagliflozin), а також, структура 8HIN (без ліганду = апоформа). Також до дослідження було залучено повноатомну AI-модель апоформи SGLT2 людини, яка була отримана шляхом усереднення (RMSF) стабільних фреймів 210 нс. молекулярної динаміки в Gromacs.

Після 3D-вирівнювання зазначених структур в програмі PyMol була визначена сукупність амінокислот цільового карману сайту, які знаходилися на відстані 5 Å від кластеру сокристалізованих лігандів.

Конструювання фармакофорів. Оскільки SGLT2 людини демонструє значний потенціал ліганд-білкового припасування кишені цільового сайту, нами була обрана стратегія віртуального скринінгу із використанням серії дискретних фармакофорів. Фармакофори були побудовані із використанням шості PDB-структур ліганд-білкових комплексів SGLT2: 7VSI в комплексі з 7R3 (Empagliflozin), 7YNJ в комплексі з GYP (methyl alpha-D-glucopyranoside), 8HB0 в комплексі з KZ3 (інгібітор TA-1887), 8HDH в комплексі з L3R (Canagliflozin), 8HEZ в комплексі з LE6 (Dapagliflozin) і 8HG7 в комплексі з LFL (Sotagliflozin).

При цьому, визначення взаємодій і типів дескрипторів, ґрунтувалось на результатах аналізу ліганд-білкових взаємодій зазначених експериментальних комплексів. Для цього, в програмі BIOVIA Discovery Studio 2024 Client, визначались ключові ліганд-білкові взаємодії на підставі аналізу 3D-моделей експериментальних комплексів, і відповідних 2D-карт взаємодій.

Первинний фармакофор моделювався автоматично, за допомогою *on-line* сервісу Pharmit (<http://pharmit.csb.pitt.edu/>), після чого фармакофорна модель корегувалась із врахуванням визначених взаємодій. При цьому, сфера кожного дескриптора мала радіус (r) = 1 Å. Також в система доповнювалась обмеженнями об'єму простору кишені по поверхні карману молекулярної мішені (Exclusive Shape = «Receptor»),

а толерантність поверхні рецептору складала 1 Å. Напрямок взаємодій визначався як вектори від центрів відповідних сфер дескрипторів, а кількість гіпотез обмежувалась за принципом, 1 гіпотеза на 1 сполуку.

Результати фармакофорного скринінгу бібліотеки сполук компанії Enamine Ltd. Фармакофорний пошук потенційних ефекторів SLC5A2 людини було виконано із використанням бібліотеки української компанії Enamine Ltd. (<https://enamine.net>). Актуальна бібліотека компанії Enamine інтегрована із web-сервісом Pharmit і містить 4.117.328 сполук, які представлені у вигляді 60.516.302 підготовлених конформерів (реліз від 27 жовтня 2023 року). Представлені сполуки доступні для замовлення, що відкриває можливості для подальшого фармацевтичного тестування обраних сполук *in vitro* та *in vivo*.

Налаштування системи скринінгу здійснювалась за раніше описаним протоколом. Кількість хітів скринінгу, скорочувались за допомогою пост-фільтрації: Max Score від -6 до -8 (визначалось по референтної сполуки), Max mRMSD = 1, Single Conformer = 1. Також, застосовувалась візуальна оцінка хіта відносно структури референтного ліганда первинної PDB-структури.

Результати шести скринінгів (по кількості використаних PDB-структур: 7VSI, 7YNJ, 8HB0, 8HDH, 8HEZ і 8HG7) були об'єднані в спільну бібліотеку MS Excel, що дозволило видалити повтори та визначити 36 унікальних сполук (табл. 1). Відібрані сполуки, були ідентифіковані згідно депонування в PubChem, завантажені та збережені у форматах *.sdf і *.mol2, для подальшого молекулярного докінгу в програмах CCDC GOLD і iGEMDOCK.

Результати молекулярного докінгу відібраних лідерів в програмах CCDC GOLD і iGEMDOCK. Молекулярний докінг хітів фармакофорного пошуку здійснювався із використанням білкових фрагментів PDB-структур: 7VSI, 7YNJ, 8HB0, 8HDH, 8HEZ і 8HG7. При цьому, під час докінгу в CCDC GOLD, нами була задана максимальна гнучкість лігандів, а оцінювальні функції програми були представлені фітнес-функціями ChemPLP (основна) та ASP (функція рескорінгу). Позиціонування досліджуваних сполук здійснювали відносно референтного ліганда — Empagliflozin (PDB ID:7R3)

структури 7VSI. Сайт задавався переліком амінокислот цільової кишені. Найкращі докінг-пози лігандів були відібрані на підставі показників ChemPLP, а також результатів оцінки їх поз відносно референтних лігандів (сполуки з комплексів PDB). Найкращі прогнозовані комплекси були збережені у форматі *.pdb, завантажені в програму PyMol і структурно порівняні з експериментальними структурами, для підтвердження коректності посадки (рис. 7)

Для розрахунку енергії зв'язування відібраних сполук із цільовим сайтом SGLT2 людини було застосовано редокінг в програмі iGEMDOCK. Для цього була створена об'єднана бібліотека, яка включала 36 сполук відібраних з бібліотеки Enamine Ltd та контрольні речовини з шості раніше зазначених PDB-структур: 7R3 (Empagliflozin), GYP (methyl alpha-D-glucopyranoside), KZ3 (інгібітор TA-1887), L3R (Canagliflozin), LE6 (Dapagliflozin) і LFL (Sotagliflozin).

Відповідно до умов програми iGEMDOCK бібліотека лігандів була збережена в форматі *.mol2. Молекулярними мішенями докінгу були PDB-структури: 7VSI, 7YNJ, 8HB0, 8HDH, 8HEZ і 8HG7. Відповідно, було виконано шість дискретних сеансів докінгу, що враховувало конформаційні флуктуації цільового карману. Ранжування результатів докінгу здійснювалось

на підставі штатної фітнес функції TotalEnergy програми iGEMDOCK яка є похідною консолідації прогнозів внесків водневих зв'язків (HBond), сил Ван-дер-Ваальса (VDW) та електростатичних взаємодій (Elec): $TotalEnergy = HBond + VDW + Elec$. Для остаточної оцінки, результати дискретних сесій докінгу були перенесені в MS Excel, де було визначено середні значення фітнес-функцій і виконано ранжування за показником енергії зв'язування «TotalEnergy» (рис. 8).

Згідно із результатами ранжування лідерами було визначено дві контрольні сполуки: KZ3 (інгібітор TA-1887) та L3R (Canagliflozin). Гарні результати також показали інші контрольні сполуки. Так, 7R3 (Empagliflozin) зайняв четверте місце, LE6 (Dapagliflozin) – п'яте місце, а LFL (Sotagliflozin) визначився на десятому місці. GYP (methyl alpha-D-glucopyranoside) зайняв 39 місце з 43-х речовин, що пояснюється тим, що зазначена сполука розроблялась не як інгібітор, а як зонд для дослідження роботи ко-транспортерів SGLT1 і SGLT2 (Zaayad et al., 2025). Таким чином, GYP значною мірою імітує поведінку молекули глюкози.

Незважаючи на те, що жодна із сполук з бібліотеки Enamine Ltd. не мала показника TotalEnergy кращого за TA-1887 і Canagliflozin, п'ять сполук визначились на рівні показників

Таблиця 1. Узагальнені результати фармакофорного пошуку інгібіторів SGLT2 із використанням мережевого сервісу PharmIT

	Enamine ID:	PubChem ID:	IUPAC
1.	Z120161882	441477	(2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5,6-tetrahydroxyoxane-2-carboxylic acid
2.	Z125538678	54445	(1S,6S,7R,8R,8aR)-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydroindolizine-1,6,7,8-tetrol
3.	Z142050431	71851105	1-[(2-cyclobutyl-1,3-thiazol-5-yl)methylamino]-3-(3-methylphenoxy)propan-2-ol
4.	Z149482951	5281417	7-hydroxy-6-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-2-one
5.	Z149482951	5281807	7-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-8-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]chromen-4-one
6.	Z151538508	3000540	(2S,4R)-N-[(1R,2R)-2-hydroxy-1-[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-methylsulfanyloxan-2-yl]propyl]-1-methyl-4-propylpyrrolidine-2-carboxamide
7.	Z166564748	6036	(3R,4S,5R,6R)-6-(hydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetrol
8.	Z174198266	656894	(2R,3R,4S,5R,6S)-2-(hydroxymethyl)-6-propan-2-ylsulfanyloxane-3,4,5-triol

Enamine ID:	PubChem ID:	IUPAC
9. Z180131867	151063	(2S,3R,4S,5R,6R)-2-(4-chlorophenoxy)-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol
10. Z180131873	5293140	(2S,3R,4S,5R,6R)-2-(2,4-dichlorophenoxy)-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol
11. Z219599321	119053147	6-(2-hydroxy-2-pyridin-2-ylethyl)-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione
12. Z219599322	119053149	6-[2-hydroxy-2-(4-methylphenyl)ethyl]-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione
13. Z219599322	119053163	6-[2-hydroxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethyl]-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione
14. Z219599323	119053153	6-[2-(1-benzofuran-2-yl)-2-hydroxyethyl]-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione
15. Z219599323	119053167	6-[2-(2,4-difluorophenyl)-2-hydroxyethyl]-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione
16. Z219599324	119053146	6-[2-hydroxy-2-(2-methylphenyl)ethyl]-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione
17. Z219599324	119053154	6-[2-(4-fluorophenyl)-2-hydroxyethyl]-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione
18. Z219599325	119053162	6-[2-(2-fluorophenyl)-2-hydroxyethyl]-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione
19. Z219599326	119053168	6-[2-(2-bromophenyl)-2-hydroxyethyl]-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione
20. Z219599328	119053158	6-[2-(2-chlorophenyl)-2-hydroxyethyl]-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione
21. Z223580199	24812758	(2S,3R,4R,5S,6R)-2-[3-[[5-(4-fluorophenyl)thiophen-2-yl]methyl]-4-methylphenyl]-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol
22. Z237981005	51634	(2R,3R,4R,5S)-1-butyl-2-(hydroxymethyl)piperidine-3,4,5-triol
23. Z238546327	137970000	(1R,2R,3S)-3-[(1-methylbenzimidazol-5-yl)methylamino]-2-(4-methylpyrazol-1-yl)cyclobutan-1-ol
24. Z238546420	167758193	(1R,2R,3S)-3-[(1-tert-butyltriazol-4-yl)methylamino]-2-(4-methylpyrazol-1-yl)cyclobutan-1-ol
25. Z238863906	137880957	(1R,2R,3S)-3-[1-(5-methylfuran-2-yl)ethylamino]-2-(4-methylpyrazol-1-yl)cyclobutan-1-ol
26. Z241781959	7427	(2R,3S,4S,5R,6R)-2-(hydroxymethyl)-6-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxyoxane-3,4,5-triol
27. Z256934543	132327287	3-[[5-[hydroxy(phenyl)methyl]-1,2,4-triazol-1-yl]methyl]oxan-3-ol
28. Z296031426	138023751	N-[(2R,3R)-1,3-dihydroxybutan-2-yl]-6-methylpyrimidine-4-carboxamide
29. Z31336157	45793711	1-(2,6-dimethylphenoxy)-3-[2-(hydroxymethyl)benzimidazol-1-yl]propan-2-ol
30. Z317919377	136575701	2-amino-6-(2-hydroxy-2-phenylethyl)-3,8-dihydropteridine-4,7-dione
31. Z322358875	9859210	(2R,3R,4R,5S,6R)-3-amino-6-(hydroxymethyl)oxane-2,4,5-triol;hydrochloride
32. Z351064262	28773302	2-[(2,4-dioxo-1H-pyrimidine-5-carbonyl)amino]acetic acid
33. Z57040505	1547664	3-(3,4-diamino-5-oxo-1,2,4-triazin-6-yl)propanoic acid
34. Z57728537	3734378	2-(2-chlorophenoxy)-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol
35. Z57728538	3772719	2-(2,4-dichlorophenoxy)-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol
36. Z905052654	79025	(2S,3R,4S,5S,6R)-6-(hydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetrol

контрольної групи. Так, сполука 24812758 (Enamine: Z2235801995) зайняла почесне третє місце, лише трохи поступаючись двом лідерам. Очікувана інгібуюча активність цієї сполуки має не поступатись 7R3 (Empagliflozin) і LE6 (Dapagliflozin). Ще чотири сполуки – 5281807 (Enamine: Z1494829516), 119053163 (Enamine: Z2195993226), 119053153 (Enamine: Z2195993230) і 7427 (Enamine: Z2417819595), зайняли 6, 7, 8 і 9 місця, і за енергією зв'язування позиціонуються між LE6 (Dapagliflozin) і LFL (Sotagliflozin).

Слід зазначити, що згідно прогнозу програми CCDC GOLD, сполуки Z2235801995, Z1494829516 і Z2417819595 проявляють манеру зв'язування подібну до контрольних інгібіторів і несуть подібні функціональні групи (рис. 9). Проте, профілі взаємодії Z2195993226 і Z2195993230 помітно відрізняються (рис. 9).

Аналіз актуального статусу сполук-лідерів.

Для чистоти експерименту на всіх етапах віртуального скринінгу сполуки з бібліотеки Enamine Ltd. розглядались як анонімні. До уваги брались виключно номери депонувань в репозиторії компанії, номер в PubChem ID (CID:), номенклатура IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), а також, хімічна структура (файли *.sdf і *.mol2). Перевірка статусу відібраних п'яти лідерів здійс-

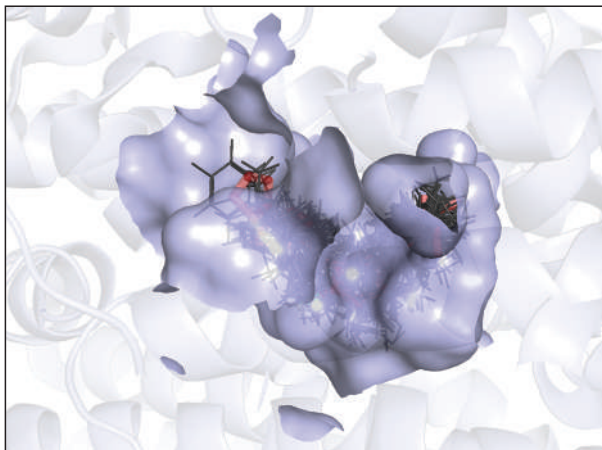


Рис. 7. Пріоритетні пози докінгу лігандів, відібраних з бібліотеки компанії Enamine Ltd., у порівнянні із позою контрольного ліганду – Empagliflozin (PDB ID:7R3) експериментальної структури 7VSI (RCSB Protein Data Bank). Пози докінгу сполук були відібрані за найкращими показниками фітнес-функції ChemPLP. Отримані результати показали коректність посадки всіх 36 сполук лідерів і відсутність відвертих клеш-конфліктів

нювалась виключно на заключному етапі дослідження, на підставі анотацій PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), DrugBank (<https://go.drugbank.com/>) і U.S. FDA (www.fda.gov).

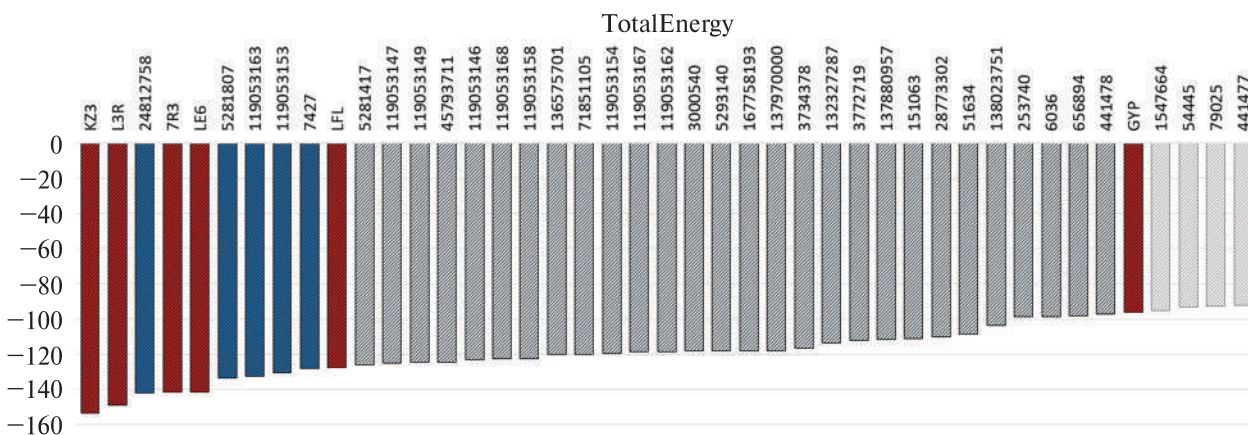
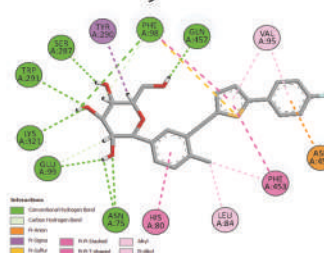
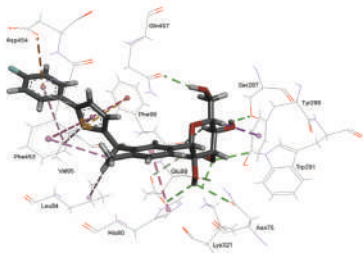
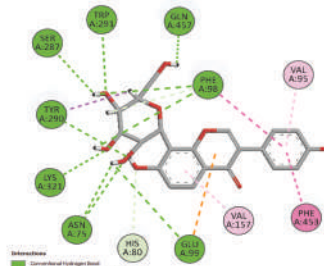
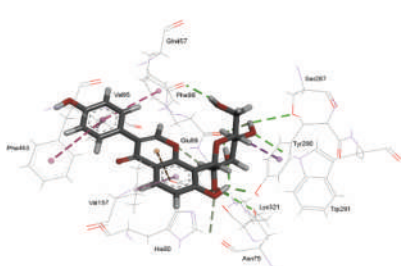


Рис. 8. Результати ранжування спільної групи контрольних інгібіторів SGLT2 (SLC5A2) людини і 36 сполук, що були відібрані з бібліотеки компанії Enamine Ltd. за показником розрахованої енергії ліганд-білкової взаємодії (TotalEnergy). Червоним кольором позначено контрольні інгібітори, для яких існують комплекси з SGLT2 людини, депоновані в RCSB Protein Data Bank. Блакитним кольором позначено лідерів із сполук компанії Enamine Ltd. Світло-сірим кольором позначено чотири аутсайдера, прогнозована активність яких поступається GYP (methyl alpha-D-glucosurpanoside). Інші 28 сполук компанії Enamine Ltd. утворюють «сутінкову зону» актуального скринінгу

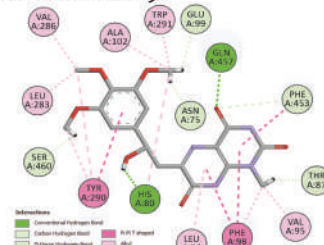
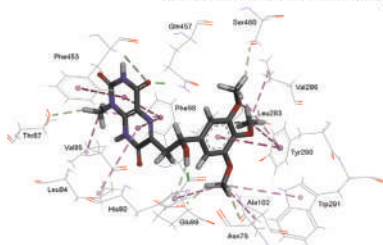
Z2235801995 (PubChem CID: 24812758):



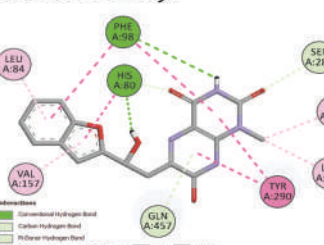
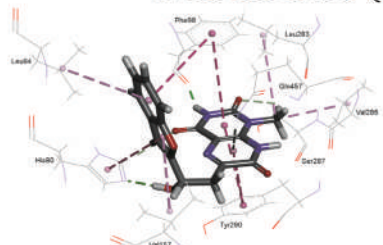
Z1494829516 (PubMed CID: 5281807):



Z2195993226 (PubMed CID: 119053163):



Z2195993230 (PubChem CID: 119053153):



Z2417819595 (PubChem CID: 7427):

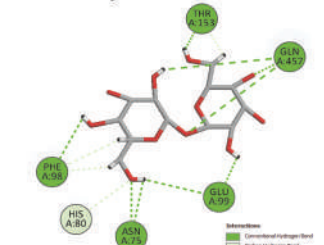
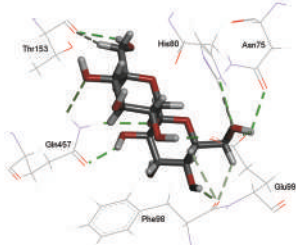
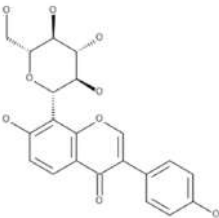
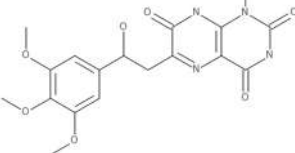
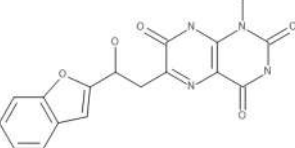


Рис. 9. Структурно-біологічний прогноз ліганд білкових взаємодій п'яти сполук-лідерів обраних з бібліотеки компанії Enamine Ltd. і цільового сайту SGLT2 людини

Таблиця 2. Потенційні інгібітори SGLT2 людини, які були відібрані за результатами актуального дослідження

Enamine ID:	PubChem CID:	2D	IUPAC Name
Z1494829516	5281807		7-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-8-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]chromen-4-one
Z2195993226	119053163		6-[2-hydroxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethyl]-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione
Z2195993230	119053153		6-[2-(1-benzofuran-2-yl)-2-hydroxyethyl]-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione

Перш за все, лідера з репозиторію Enamine – Z2235801995 (PubChem – CID: 24812758) було ідентифіковано, як канагліфлозин (Canagliflozin). Також відомий як Invokana, канагліфлозин був зареєстрований Johnson and Johnson, як діюча речовина препарату NVO-KAMET (TABLET; ORAL; JANSSEN PHARMS 08/23/2024), якій є комбінацією канагліфлозину і метформіну. У 2014 р. NVOKAMET був схвалений FDA [ID: 4129180], як комбінований препарат інгібіторів натрій-глюкозного котранспортера 2 типу (SGLT2) та бігуаніду. Даний препарат рекомендований для покращення глікемічного контролю у дорослих з цукровим діабетом 2 типу, коли доцільне лікування канагліфлозином та метформіном. Слід зазначити, що препарат не рекомендований для лікування цукрового діабету 1 типу або діабетичного кетоацидозу [FDA Reference ID: 4129180], що співпадає з даними стосовно вибіркової дії ряду інгібіторів SGLT2. Таким чином, зазначена сполука не є новим інгібітором SGLT2, проте, підтверджує коректність результатів застосованого сліпого скринінгу і виступає додатковим контролем актуального дослідження.

Z1494829516, також депонований в PubChem, як CID: 5281807, відомий як пуерарин (Puerarin), або каконейн (Kakonein). За структурою, це гідроксиізофлавоон, тобто ізофлавоон із заміщеними гідроксигрупами в положеннях 7 та 4' та бета-D-глюкопіранозильним залишком у положенні 8 через С-глікозидний зв'язок. Це рослинний метаболіт, відомий як індуктор аутофагії, кардіопротектор, антиоксидант, проти-запальний засіб, жарознижувальний засіб та інгібітор залізолежної форми регульованої загибелі клітин (фероптозу). Також, пуерарин досліджувався, як засіб лікування алкогольної залежності. (Ідентифікатор DrugBank: DB08907). В RCSB Protein Data Bank представлено КріоЕМ структуру комплексу пуерарину з рецептором GABA (γ -Aminobutyric acid) людини – PDB: 9EQG (2, 4 Å). Проте можливість взаємодії Z1494829516 з SGLT2 продемонстровано вперше.

Для двох наступних сполук – Z2195993226 (CID: 119053163) і Z2195993230 (CID: 119053153), доступна інформація стосовно біологічної дії відсутня. Таким чином, вони вперше позиціюються, як потенційні інгібітори SGLT2 і перспективні цукорознижуючі агенти.

Остання сполука – Z2417819595 (CID: 7427), показала найнижчу спорідненість до цільового сайту, відома, як α/α -трегалоза або кабалетта (Cabaletta), складається з двох залишків глюкози, що з'єднуються в альфа-конфігурації ефірним зв'язком. Вона відома, як метаболіт людини та інших ссавців, метаболіт *Saccharomyces cerevisiae* та *Escherichia coli*. Також вона позиціонується, як потенційний геропротектор, тобто вважається, що її дія може сповільнювати процеси старіння і сприяти подовженню тривалості життя. Зараз зазначена сполука досліджується, як потенційний засіб лікування окулофарингеальної м'язової дистрофії, а її препарат, зареєстровано в DrugBank: DB12310. Також, препарат Z2417819595 представлено в FDA, як потенційний лікарський засіб профілактики катаракти, синдрому сухого ока (DES), що завершив 4 стадію клінічних випробувань (<https://www.fda.gov/media/153916/download>). Як можливий інгібітор SGLT2, зазначена сполука не досліджувалась. Проте, враховуючи особливості хімічної структури, яка являє собою дві молекули глюкози (R-O-R), що будуть скоріш за все гідролізуватись до мономерів під час травлення (кислотний гідроліз у шлунку, ферментативне розщеплення), подальше дослідження Z2417819595, як потенційного перорального цукрознижуючого агенту, не має сенсу.

Таким чином, із врахуванням хімічної структури і актуального статусу анотації біологічної активності, доцільними об'єктами подальшого дослідження гліфлозинового потенціалу є три сполуки з актуального репозиторію компанії Enamine Ltd. (табл. 2): Z1494829516 (7-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-8-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]chromen-4-one), Z2195993226 (6-[2-hydroxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethyl]-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione) і Z2195993230 (6-[2-(1-benzofuran-2-yl)-2-hydroxyethyl]-1-methyl-8H-pteridine-2,4,7-trione).

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. / The molecular docking study was compiled using CCDC GOLD software, kindly provided by the Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC) as part of a grant from the Frank H. Allen International Research and Illumination Program. 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. Це дослідження не отримувало будь-якого конкретного гранту від фінансуючих установ у державному, комерційному або некомерційному секторах.

SEARCH FOR NEW INHIBITORS OF SGLT2 BASED ON VIRTUAL SCREENING AND STRUCTURAL ANALYSIS

A.P. Karpova, L.M. Shmagai, 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

Sodium-GLucose Cotransporter 2 (SGLT2) inhibitors, known as gliflozins, are the new effective class of hypoglycemic drugs. This study has revealed the major variability in the pockets of target site for all human SLC5 family members and confirmed possibility for SGLT2 selective inhibition. Considering uniqueness of the site, the virtual screening of Enamine Ltd chemical space identifies 36 perspective inhibitors of SGLT2. The ranking of selected compounds based on docking scoring and binding energies identified 5 leaders with predicted activity comparable with known approved drugs. For the first time, the compounds Z2195993226 and Z2195993230 were identified as potential gliflozins. One more compound, Z1494829516 (Puerarin), previously known as an autophagy inducer, ferroptosis inhibitor, cardioprotector, antioxidant, anti-inflammatory and antipyretic, was proposed as potential gliflozin. Compound Z2417819595 was excluded from the list of possible SGLT2 inhibitors based on structural consideration. Furthermore, Z2235801995 was identified as the active compound of FDA approved gliflozin NVOKAMET (FDA ID: 4129180), confirming correctness of screening protocol.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Abraham, M., Alekseenko, A., Basov, V., et al., GROMACS 2024.5 Manual, 2024, <https://doi.org/10.5281/zenodo.14732060>
- Azizoglu, A.R., Vitti, M.R., Mishra, R., et al., Comparison of SGLT1, SGLT2, and Dual Inhibitor biological activity in treating Type 2 Diabetes Mellitus, *Adv. Ther. (Weinh)*, 2023, vol. 6, no. 12, pp. 2300143, <https://doi.org/10.1002/adtp.202300143>
- 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 *Lactocaseibacillus casei* LBC 237, Screening, and In Silico Predictions of Bioactive Peptides for Obesity Control, *Intelligent Pharmacy*, 2024, vol. 2, no. 4, pp. 467–484. <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>
- 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, D564–D574. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae1091>
- Cai, W., Jiang, L., Xie, Y., et al., Design of SGLT2 Inhibitors for the Treatment of Type 2 Diabetes: A History Driven by Biology to Chemistry, *Med. Chem.*, 2015, vol. 11, no. 4, pp. 317–328. <https://doi.org/10.2174/1573406411666150105105529>
- Chao, E.C., and Henry, R.R., SGLT2 inhibition – a novel strategy for diabetes treatment, 2010, vol. 9, no. 7, pp. 551–559. <https://doi.org/10.1038/nrd3180>
- Chen, L.Q., Hou, B.H., Lalonde, S., et al., Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens, *Nature*, 2010, vol. 468, no. 7323, pp. 527–532. <https://doi.org/10.1038/nature09606>
- Crespy, V., Aprikian, O., Morand, C., et al., Bioavailability of phloretin and phloridzin in rats. *J. Nutr.*, 2001, vol. 131, no. 12, pp. 3227–3230. <https://doi.org/10.1093/jn/131.12.3227>
- Drugs@FDA: FDA-Approved Drugs, 2025, FARXIGA. New Drug Application (NDA): 202293; Company: ASTRAZENECA AB; NDA 202293.Action Date: 06/12/2024. Submission: SUPPL-31. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2024/202293s031lbl.pdf
- Du, X., Li, Y., Xia, Y.L., et al., Insights into Protein-Ligand Interactions: Mechanisms, Models, and Methods, *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, vol. 17, no. 2, pp. 144. <https://doi.org/10.3390/ijms17020144>
- EMA (European Medicines Agency), 2023, Forxiga: EPAR – Medicine overview. EMA/12370/2023; EMEA/H/C/002322. https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/forxiga-epar-medicine-overview_en.pdf
- Ferrannini, E., Ramos, S.J., Salsali, A., et al., Dapagliflozin monotherapy in type 2 diabetic patients with inadequate glycemic control by diet and exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial, *Diabetes Care*, 2010, vol. 33, no. 10, pp. 2217–2224. <https://doi.org/10.2337/dc10-0612>
- Gruber, K., Steinkellner, G., and Gruber C., Determining novel enzymatic functionalities using three-dimensional point clouds representing physico chemical properties of protein cavities, Application filed by Karl Franzens Universitaet Graz, ACIB GmbH. 2015. US 20150302142A1
- Hendlich, M., Rippmann, F., and Barnickel, G., LIGSITE: automatic and efficient detection of potential small molecule-binding sites in proteins, *J. Mol. Graph. Model.*, 1997, vol. 15, no. 6, pp. 359–363, 389. [https://doi.org/10.1016/s1093-3263\(98\)00002-3](https://doi.org/10.1016/s1093-3263(98)00002-3)
- Hetmann, M., Langner, C., Durmaz, V., et al., Identification and validation of fusidic acid and flufenamic acid as inhibitors of SARS-CoV-2 replication using DrugSolver CavitomiX, *Sci. Rep.*, 2023, vol. 13, no. 1, pp. 11783. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39071-z>
- Hiraizumi, M., Akashi, T., Murasaki, K., et al., Transport and inhibition mechanism of the human SGLT2-MAP17 glucose transporter, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2024, vol. 31, no. 1, pp. 159–169. <https://doi.org/10.1038/s41594-023-01134-0>
- Idris, I., and Donnelly, R., Sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors: an emerging new class of oral antidiabetic drug, *Diabetes Obes. Metab.*, 2009, vol. 11, no. 2, pp. 79–88. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2008.00982.x>
- Jones, G., Willett, P., Glen, R.C., et al., 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>
- Kipnes, M.S., Sodium–glucose cotransporter 2 inhibitors in the treatment of Type 2 diabetes: a review of Phase II and III trials, *Clin. Invest.*, 2011, vol. 1, no. 1, pp. 145–156. <https://doi.org/10.4155/CLI.10.12>
- Komorowski, B., Vachharajani, N., Boulton, D., et al., Dapagliflozin, a novel SGLT2 inhibitor, induces dose-dependent glucosuria in healthy subjects, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2009, vol. 85, no. 5, pp. 520–526. <https://doi.org/10.1038/clpt.2008.251>
- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., et al., MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis Version 12 for Adaptive and Green Computing, *Mol. Biol. Evol.*, 2024, vol. 41, no. 12, pp. msae263. <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., et al., Clustal W and Clustal X version 2.0, *Bioinformatics*, 2007, vol. 23, no. 21, pp. 2947–2948. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>

- Lehmann, A., Hornby, P.J., Intestinal SGLT1 in metabolic health and disease, *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.*, 2016, vol. 310, no. 11, G887–898. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00068.2016>
- Levchuk, N.I., Kovzun, O.I., Pushkarev, V.M., and Tronko, M.D., Effect of sodium-dependent glucose cotransporter type 2 inhibitors on lipid metabolism in patients with diabetes mellitus (literature review), *J. Nat. Acad. Med. Sci. Ukraine*, 2023, vol. 29, no. 1–2, pp. 95–108. <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2023.4.10>
- Meng, W., Ellsworth, B.A., Nirschl, A.A., et al., Discovery of dapagliflozin: a potent, selective renal sodium-dependent glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor for the treatment of type 2 diabetes, *J. Med. Chem.*, 2008, vol. 51, no. 5, pp. 1145–1149. <https://doi.org/10.1021/jm701272q>
- Neuen, B.L., Young, T., Heerspink, H.J.L., et al., SGLT2 inhibitors for the prevention of kidney failure in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis, *Lancet Diabetes Endocrinol.*, 2019, vol. 7, no. 11, pp. 845–854. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(19\)30256-6](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(19)30256-6)
- Niu, Y., Liu, R., Guan, C., et al., Structural basis of inhibition of the human SGLT2-MAP17 glucose transporter, *Nature*, 2022, vol. 601, no. 7892, pp. 280–284. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04212-9>
- Nomura, S., Sakamaki, S., Hongu, M., et al., Discovery of canagliflozin, a novel C-glucoside with thiophene ring, as sodium-dependent glucose cotransporter 2 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes mellitus, *J. Med. Chem.*, 2010, vol. 53, no. 17, pp. 6355–6360. <https://doi.org/10.1021/jm100332n>
- Oku, A., Ueta, K., Arakawa, K., et al., T1095, an inhibitor of renal Na⁺-glucose cotransporters, may provide a novel approach to treating diabetes, *Diabetes*, 1999, vol. 48, no. 9, pp. 1794–1800. <https://doi.org/10.2337/diabetes.48.9.1794>
- Padda, I.S., Mahtani, A.U., Parmar, M., Sodium-Glucose Transport Protein 2 (SGLT2) Inhibitors. [Updated 2023 Jun 3]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK576405/>
- Parigger, L., Krassnigg, A., Hetmann, M., et al., Cav-OmiX drug discovery: engineering antivirals with enhanced spectrum and reduced side effects for arboviral diseases, *Viruses*, 2024, vol. 16, no. 8, pp. 1186. <https://doi.org/10.3390/v16081186>
- Prybyla, O.V., Pharmacokinetic characteristics and morphometric effects of sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors in men and women with type 2 diabetes mellitus (literature review and own results), *Inter. J. Endocrinol. (Ukraine)*, 2021, vol. 17, no. 4 pp. 293–303. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.17.4.2021.237342>
- Saravana Kumar, P., Chidambaram, Y., Shree Devi, G., et al., Genomic insights about the effect of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors: a systematic review, *Front. Genet.*, 2025, vol. 16, pp. 1571032. <https://doi.org/10.3389/fgene.2025.1571032>
- Steinkellner, G., Rader, R., and Thallinger, G.G., VASCo: computation and visualization of annotated protein surface contacts, *BMC Bioinformatics*, 2009, vol. 10, no. 32. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-32>
- 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>
- Thangamalai, M.S., Desai, D., and Selvaraj, C., Revolutionizing structural biology: AI-driven protein structure prediction from AlphaFold to next-generation innovations, *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.*, 2025, vol. 147, pp. 1–19. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2025.04.002>
- Tsujihara, K., Hongu, M., Saito, K., et al., Na(+)-glucose cotransporter inhibitors as antidiabetics. I. Synthesis and pharmacological properties of 40-dehydroxyphlorizin derivatives based on a new concept, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 1996, vol. 44, no. 6, pp. 1174–1180. <https://doi.org/10.1248/cpb.44.1174>
- Vallon, V., Platt, K.A., Cunard, R., et al., SGLT2 mediates glucose reabsorption in the early proximal tubule, *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2011, vol. 22, no. 1, pp. 104–112. <https://doi.org/10.1681/ASN.2010030246>
- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., et al., SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes, *Nucleic Acids Res.*, 2018, vol. 46, no. W1, pp. W296–W303. <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>
- WHO 2025, World Health Organisation, Diabetes Fact Sheets, 2025, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Wright, E.M., Glucose transport families SLC5 and SLC50, *Mol. Aspects Med.*, 2013, vol. 34, no. 2–3, pp. 183–196. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.11.002>
- Wright, E.M., SGLT2 Inhibitors: Physiology and Pharmacology, *Kidney360*, 2021, vol. 2, no. 12, pp. 2027–2037. <https://doi.org/10.34067/KID.0002772021>
- 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>
- Zayyad, Z.A., Gupta, N., Roy, A., et al., Hitting the Sweet Spot: A Review of SGLT2i in Cardiovascular Medicine, *Cardiol. Ther.*, 2025, vol. 14, pp. 531–553. <https://doi.org/10.1007/s40119-025-00436-2>

Надійшла в редакцію 08.12.2025
Після доопрацювання 05.01.2026
Прийнята до друку 18.05.2026