

Структурное моделирование мод связывания НАД⁺ с ПАРП-1

Н.В. Иванисенко^{1, 2}✉, Д.А. Жечев¹, В.А. Иванисенко¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

Ядерный белок поли(АДФ-рибозил) полимеразы-1 (ПАРП-1) играет важную роль в механизмах ответа клетки на повреждения ДНК. ПАРП-1 катализирует ковалентное связывание поли(АДФ-рибозил) полимеров со своей субъединицей, а также с другими акцепторными белками, используя НАД⁺ как донора АДФ-рибозы. Ингибиторы поли(АДФ-рибозил) полимеразы показали высокую эффективность в улучшении радиотерапии и химиотерапии рака в клинических испытаниях. Разработка новых ингибиторов ПАРП-1 на основе производных природных соединений, таких как НАД⁺, представляет новую перспективную стратегию. Наличие структуры поли(АДФ-рибозил) полимеразы-1 человека в комплексе с НАД⁺ может являться отправной точкой для рационального дизайна класса низкомолекулярных ингибиторов ПАРП-1 на основе производных НАД⁺. Однако на сегодняшний день не опубликовано кристаллической структуры комплекса ПАРП-1 в комплексе с никотинамидадениндинуклеотидом (НАД⁺). В данной работе с использованием методов молекулярного моделирования нами проведено предсказание положений связывания НАД⁺ в донорном сайте каталитического домена ПАРП-1. С использованием структуры гомологов ПАРП-1 в комплексе с НАД⁺ предсказаны фармакофорные ограничения связывания НАД⁺ с ПАРП-1. На основе кластеризации конформаций ПАРП-1 в комплексе совместно кристаллизованными ингибиторами и на основе предсказания фармакофорных ограничений предложено несколько возможных моделей связывания НАД⁺ с ПАРП-1 в донорном сайте связывания каталитического домена. Согласно предсказанным моделям, для пирофосфатной группы НАД⁺ в комплексе с ПАРП-1 в донорном сайте связывания возможно наличие двух конформаций. Валидация предложенных моделей связывания НАД⁺ с ПАРП-1 может быть достигнута количественным анализом структура–активность для производных НАД⁺. Дополнительно предложены структуры двух производных НАД⁺, которые могут быть использованы для валидации предсказанных положений связывания НАД⁺.

Ключевые слова: ПАРП-1; НАД⁺; структурное моделирование.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Иванисенко Н.В., Жечев Д.А., Иванисенко В.А. Структурное моделирование мод связывания НАД⁺ с ПАРП-1. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(6):857-862. DOI 10.18699/VJ16.202

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Ivanisenko N.V., Zhechev D.A., Ivanisenko V.A. Structural modeling of NAD⁺ binding modes to PARP-1. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(6):857-862. DOI 10.18699/VJ16.202

Structural modeling of NAD⁺ binding modes to PARP-1

N.V. Ivanisenko^{1, 2}✉, D.A. Zhechev¹, V.A. Ivanisenko¹

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia
² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

The nuclear protein poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) plays an important role in the signaling and repair of DNA. PARP-1 catalyses covalent binding of poly (ADP-ribose) polymers with itself as well as with other acceptor proteins using NAD⁺ as a donor of ADP-ribose. Inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase have been shown to be effective in improvement of radiation therapy and chemotherapy of cancer in clinical testing. Development of new poly (ADP-ribose) polymerase-1 inhibitors based on derivatives of natural compounds such as NAD⁺ represents a novel and promising strategy. The structure of complex of human poly (ADP-ribose) polymerase-1 with NAD⁺ can be a starting point for rational design of small molecule inhibitors based on NAD⁺ derivatives. Indeed there is no crystal structure of complex poly (ADP-ribose) polymerase-1 with nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) available yet. In this work using molecular modeling approaches we have predicted NAD⁺ binding modes with PARP-1 at the donor binding site of the catalytic domain. Using structures of PARP-1 homologs in complex with NAD⁺ we predicted pharmacophore restraints of NAD⁺ binding to PARP-1. Based on clustering of PARP-1 conformations in complex with co-crystallized inhibitors and predicted pharmacophore restraints, we proposed several possible models of NAD⁺ binding to PARP-1 at the donor binding site of the catalytic domain. According to the predicted models, two conformations of pyrophosphate group of NAD⁺ in complex with PARP-1 at the donor binding site are possible. Validation of the proposed models of NAD⁺ binding with PARP-1 can be achieved by quantitative structure-activity analysis of NAD⁺ derivatives. We designed two NAD⁺ derivatives, which can be used for validation of predicted NAD⁺ binding models.

Key words: PARP-1; NAD⁺; structural model.

Поли(АДФ-рибозил) полимеразы-1 (ПАРП-1) – один из наиболее хорошо охарактеризованных членов семейства ядерных ферментов ПАРП (Ferraris, 2010). На сегодняшний день известно более 17 белков с подтвержденной или предполагаемой моно(АДФ-рибозил) и поли(АДФ-рибозил) трансферазной активностью, которые содержат «ПАРП сигнатурный мотив» в гомологичном каталитическом домене (Luo, Kraus, 2012). ПАРП-1 участвует более чем в 90 % случаев АДФ-рибозилирования внутри клетки и высоко эволюционно консервативен во всех высших эукариотах (Ferraris, 2010).

Считается, что каталитическая активность ПАРП-1 в клетках повышается при повреждениях ДНК (Zhu et al., 2013). В случае слабых повреждений ДНК ПАРП-1 участвует в процессе репарации и обеспечивает выживание клеток (Martin et al., 2000). При сильных повреждениях ДНК ПАРП-1 гиперактивируется и индуцирует расход клеточных НАД⁺ и АТФ, приводя к клеточной дисфункции или даже некротической клеточной смерти (Martin et al., 2000). Такие особенности ответа ПАРП-1 на повреждение ДНК и вовлеченность этого белка в процесс регуляции клеточной смерти позволили использовать фармакологическую модуляцию активности ПАРП-1 как эффективный подход для увеличения активности ДНК-связывающих противоопухолевых препаратов (Peralta-Leal et al., 2008). Также ингибиторы ПАРП-1 могут применяться в качестве монотерапии раковых опухолей с несколькими нарушенными механизмами репарации ДНК (Peralta-Leal et al., 2008). В частности, ингибиторы ПАРП-1 могут быть эффективными для лечения рака молочной железы, вызванной делециями в генах *BRCA 1/2* (Hay et al., 2005; Domagala et al., 2011).

ПАРП-1 катализирует ковалентное связывание поли(АДФ-рибозил) (ПАР) полимеров со своей субъединицей и с другими акцепторными белками, включая гистоны, белки репарации ДНК, транскрипционные факторы, модуляторы хроматина, используя НАД⁺ как донора АДФ-рибозы (Luo, Kraus, 2012). Активный сайт каталитического домена формируется последовательностью из 50 аминокислотных остатков и может быть разделен на два сайта: акцепторный и донорный. Акцепторный сайт захватывается АДФ-фрагментом поли(АДФ-рибозил) цепей, в то время как с донорным сайтом связывается НАД⁺. Донорный сайт можно разделить на три сайта: никотинамид-рибозил-связывающий, фосфат-связывающий и аденин-рибоза-связывающий (Kinoshita et al., 2004). Акцепторный сайт формируется спиральным N-терминальным доменом, состоящим из остатков 662–784, а донорный сайт включает C-терминальный домен 785–1010 (Ruf et al., 1996).

Большинство существующих ингибиторов ПАРП-1 содержат никотинамид-подобный фрагмент с модифицированной боковой группой (Basu et al., 2012). Такие ингибиторы связываются с сайтом посадки никотинамида и внешней стороной донорного сайта, осуществляя конкурентное ингибирование взаимодействия НАД⁺ с этим сайтом (Basu et al., 2012). Другим подходом к созданию искусственных низкомолекулярных ингибиторов ПАРП-1 является дизайн малых молекул на основе производных

природных соединений, таких как НАД⁺ (Sherstyuk et al., 2016). В частности, перспективным подходом может являться дизайн нового класса ингибиторов ПАРП-1, способных дополнительно с никотинамид-связывающим сайтом занимать фосфат- и аденин-рибоза-связывающие сайты. Такие соединения могут обладать улучшенными фармакокинетическими и фармакодинамическими свойствами. Однако для компьютерного дизайна ингибиторов этого класса необходима пространственная структура комплекса ПАРП-1 с НАД⁺ в донорном сайте, которая на сегодняшний день отсутствует. Описанные в научной литературе работы по предсказанию пространственной структуры такого комплекса позволили получить только грубую модель, в которой положение НАД⁺ определено с большой долей допущения. Так, в работах (Lin, 2007; Lee et al., 2010; Barkauskaite et al., 2015) положение НАД⁺ определяли путем совмещения пространственных структур белков из суперсемейства АДФ-рибозил трансфераз, кристаллизованных в комплексе с НАД⁺, со структурами ПАРП-1 без НАД⁺.

В настоящей работе проведено молекулярное моделирование мод связывания НАД⁺ с ПАРП-1 с учетом конформационных состояний ПАРП-1, что позволило построить четыре вероятные модели комплексов ПАРП-1/НАД⁺.

Материалы и методы

Выравнивание пространственных структур белков проводилось с помощью программного пакета Binding Site Alignment (Schrodinger Drug Discovery Suit). Минимизация потенциальной энергии моделей пространственных структур осуществлялась с использованием Schrodinger Drug Discovery Suit в силовом поле OPLS3 (Harder et al., 2015). Замены боковых остатков аминокислот и расчет энергии MM-GBSA выполнялись с помощью Prime (Schrodinger Drug Discovery Suit) (Jacobson et al., 2002, 2004). При подготовке пространственной структуры белка для молекулярного моделирования использовался Protein Preparation Wizard.

Результаты и обсуждение

Анализ донорного сайта в структуре ПАРП-1

В базе данных PDB (Protein Data Bank) приведены несколько кристаллических структур комплексов ПАРП-1 с различными конкурентными ингибиторами НАД⁺. В результате анализа пространственного совмещения этих структур были выявлены два кластера конформаций ПАРП-1. Их основными свойствами являлось наличие водородной связи, образуемой между остатками TYR889 и ASP770 (рис. 1). Первый кластер включал все структуры ПАРП-1, в которых данная связь наблюдалась, а в структурах второго кластера эта связь была разорвана, что соответствовало разным конформациям петли 883–893 а.о. В результате анализа были выбраны две пространственные структуры (идентификаторы PDB 4ZZZ и 4R6E), полученные с высоким разрешением, каждая из которых являлась представителем одного из рассмотренных кластеров. Сделано предположение, что при связывании с НАД⁺ ПАРП-1 может принять конформацию, характерную для одного из кластеров.

Для подготовки пространственных структур белка ПАРП-1 с идентификаторами 4ZZZ и 4R6E для дальнейшего анализа и молекулярного моделирования были проведены замены аминокислотных остатков, имеющих высокое значение B-фактора и высокую изменчивость своего положения при структурном выравнивании 3D структур ПАРП-1. Такими остатками оказались ARG878 и ASP766, входящие в сайт связывания аденозина, которые были заменены на аланин. Прием с аминокислотными заменами высокоподвижных остатков часто используется при анализе пространственных структур. Ориентация таких остатков может быть достаточно точно определена уже после предсказания положения лигандов в структуре анализируемых рецепторов, после чего осуществляются обратные замены на исходные аминокислоты.

Как следует из анализа пространственных структур гомологичных АДФ-рибозил трансфераз, связывание НАД+ может сопровождаться образованием водородных связей между молекулами воды в активном сайте и пирофосфатной группы НАД+. Для учета воды при дальнейшем анализе во внимание принимались только те молекулы воды, которые присутствовали более чем в пяти различных структурах ПАРП-1 на расстоянии меньшем 1 Å друг относительно друга после структурного наложения кристаллических структур ПАРП-1. Как видно из рис. 1, в сайте связывания фосфатной группы НАД+ наблюдается два стабильных кластера молекул воды. Интересным может быть положение сульфат-иона в пространственной структуре комплекса ПАРП-1 с низкомолекулярным ингибитором хав939 (PDB 4R5W) в сайте связывания пирофосфатной группы донорного НАД+. В данной кристаллической структуре сульфат-ион замещает положение одной из стабильных молекул воды (см. рис. 1, б). Из анализа ряда кристаллических структур АДФ-связывающих ферментов в аро-форме известно, что сульфат-ионы часто взаимодействуют с сайтами связывания фосфатных групп. В частности, совмещение пространственной структуры ПАРП *Gallus gallus* (PDB 1A26) (Ruf et al., 1996), полученной в комплексе с ак-

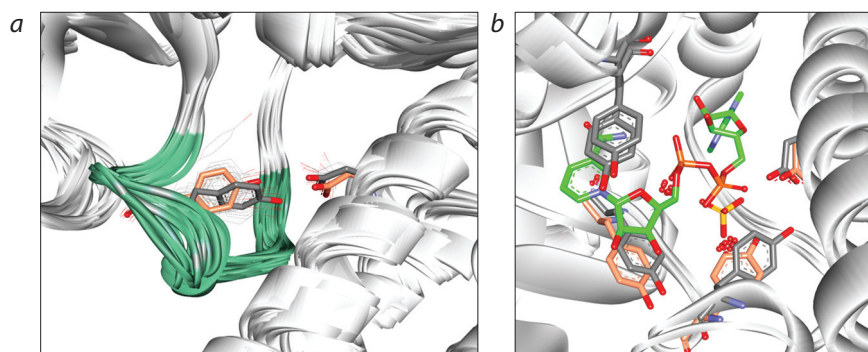


Fig. 1. Conformational states of the PARP-1 donor site.

(a) Structural superimposition of PARP-1 structures available in the PDB database. The mobile loop (883–893 aa) is shown in green, and amino acid residues TYR889 and ASP770, corresponding to PDB structures 4ZZZ and 4R6E, are shown in stick model. (b) Structural superimposition of PARP-1 crystal structures corresponding to PDB ID 4ZZZ and 4R6E, including conservative water molecules (ball-and-stick model, red color), donor NAD+ (stick model, green color) predicted from the eEF2 structure (2ZIT), and sulfate ion from the structure with PDB ID 4R5W (stick model).

цепторным НАД+, и структуры ПАРП-1 человека (PDB 4R5W) показывает, что сульфат-ион находится в акцепторном сайте посадки пирофосфатной группы НАД+.

В результате анализа конформаций донорного сайта ПАРП-1 и предположения о возможном замещении пирофосфатной группой НАД+ одной из молекул воды можно выдвинуть следующие модели по взаимодействию НАД+ с ПАРП-1:

- 1) НАД+ связывается с ПАРП-1 в конформации, соответствующей структуре 4ZZZ; при этом пирофосфатная группа находится в положении, соответствующем сульфат-иону структуры 4R5W;
- 2) НАД+ связывается с ПАРП-1 в конформации, соответствующей структуре 4ZZZ; при этом пирофосфатная группа образует водородные связи с двумя стабильными молекулами воды в донорном сайте связывания;
- 3) НАД+ связывается с ПАРП-1 в конформации, соответствующей структуре 4R6E; при этом пирофосфатная группа находится в положении, соответствующем сульфат-иону структуры 4R5W;
- 4) НАД+ связывается с ПАРП-1 в конформации, соответствующей структуре 4R6E; при этом пирофосфатная группа образует водородные связи с двумя стабильными молекулами воды в донорном сайте связывания.

Предсказание положения НАД+ в донорном сайте ПАРП-1

Прямое решение задачи по предсказанию положения НАД+ в комплексе с ПАРП-1 путем применения молекулярного докинга оказывается неэффективным в связи с тем, что НАД+ имеет большое число вращательных степеней свободы, а рецептор ПАРП-1, в свою очередь, может находиться не в оптимальной конформации для связывания с НАД+. В данной работе для предсказания структур комплексов ПАРП-1 с НАД+ в донорном сайте связывания использовался протокол фармакофор-ограниченного наложения с последующей минимизацией структур комплексов. На первом шаге, для предсказания начального положения НАД+ в донорном сайте ПАРП-1, проводилось структурное выравнивание ПАРП-1 с гомологичным белком – АДФ-рибозил трансферазой eEF2 *Saccharomyces cerevisiae* (PDB 2ZIT), находящейся в комплексе с НАД+ (Jørgensen et al., 2008). Положение НАД+ относительно ПАРП-1, полученное в результате совмещения пространственных структур ПАРП-1 и eEF2, давало наименьшее число стерических затруднений по сравнению с положениями НАД+, предсказанными при структурном выравнивании с другими гомологичными АДФ-рибозил трансферазами, кристаллизованными в комплексе с НАД+.

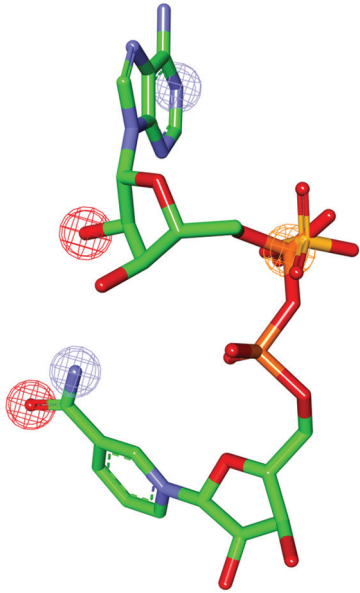


Fig. 2. Pharmacophore restraints used in minimization steps. Spheres represent physical restraints on the mobility of NAD⁺ atoms.

Pharmacophore restraints corresponding to the sulfate ion position were not applied to models 1 or 3.

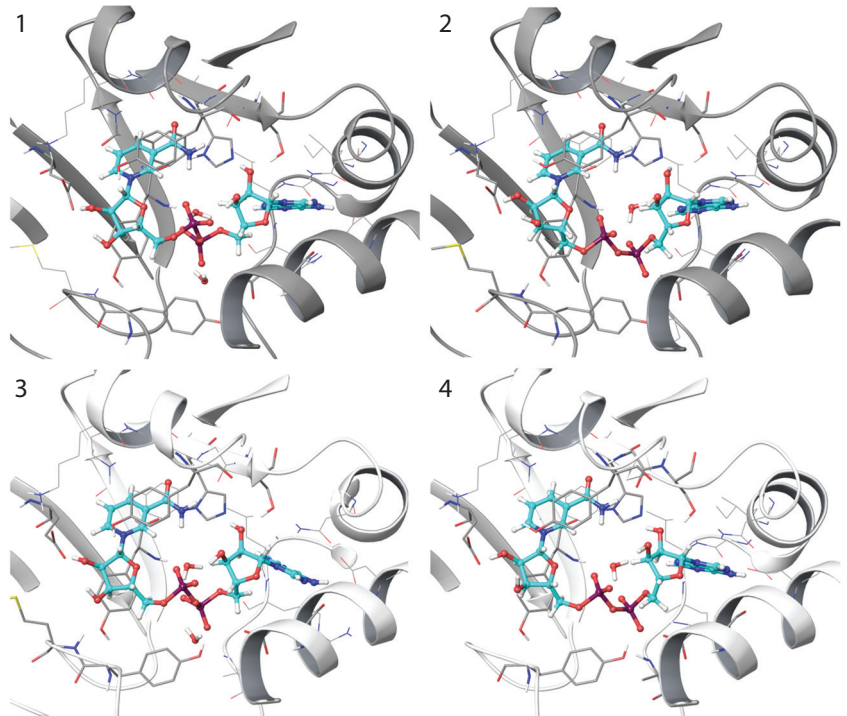


Fig. 3. Spatial structures of the predicted PARP1/NAD⁺ complexes corresponding to models 1–4.

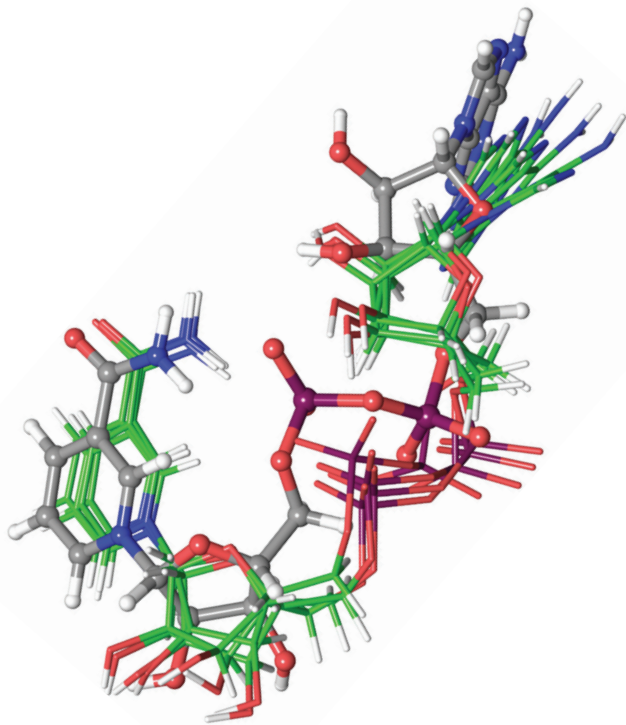


Fig. 4. Structural superimposition of NAD⁺ in conformations corresponding to models 1–4 (green color, stick model) and the NAD⁺ conformation corresponding to the NAD⁺/eEF2 complex (gray color, ball and stick model).

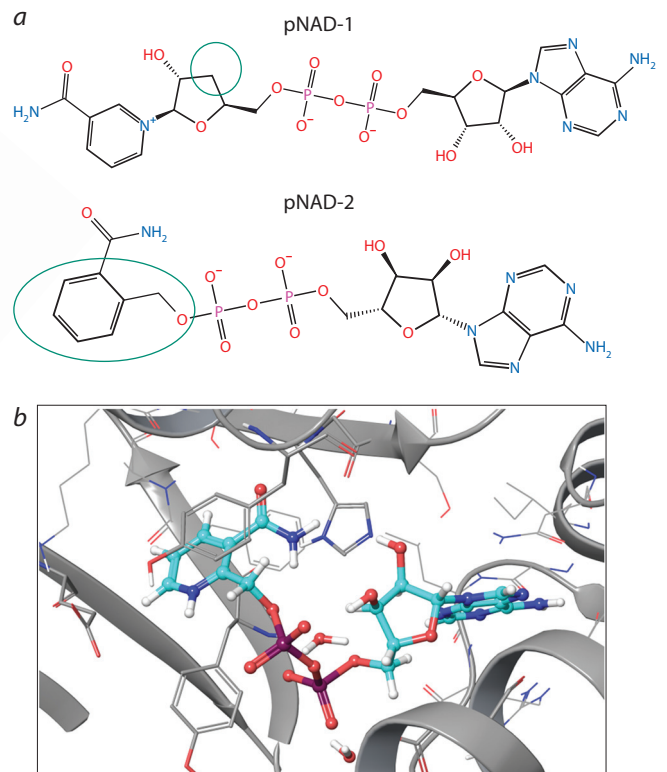


Fig. 5. Chemical structures of NAD⁺ derivatives designed as indicator molecules for functional validation of PARP-1/NAD⁺ binding models. (a) chemical structures of NAD⁺ derivatives; (b) examples of the PARP-1 complex with indicator molecule pNAD-2 designed on the base of model 1.

Expected activities of pNAD-1 and pNAD-2 compounds in the predicted models

Compound	Model 1	Model 2	Model 3	Model 4
pNAD-1	$\Delta\Delta G = 4.6$ kcal/mol	$\Delta\Delta G = 3.5$ kcal/mol	$\Delta\Delta G = 7.18$ kcal/mol	$\Delta\Delta G = 2.87$ kcal/mol
pNAD-2	Activity	No activity	No activity	No activity

$\Delta\Delta G$ is the difference between the free energies of PARP-1 binding to NAD⁺ and pNAD-2 estimated by the MM-GBSA method.

На следующем шаге были получены модели пространственных структур для двух основных конформационных состояний с помощью минимизации потенциальной энергии с применением физических ограничений, соответствующих 3D фармакофорам взаимодействия НАД⁺ с АДФ-рибозил трансферазами. Ограничения на подвижность атомов НАД⁺, полученные при анализе фармакофорной структуры НАД⁺, показаны на рис. 2. Эти ограничения последовали из предположения, что НАД⁺ должен образовывать водородные связи с консервативными аминокислотными остатками, которые могут быть идентифицированы во всех опубликованных комплексах НАД⁺ с АДФ-рибозил трансферазами. Таким образом, во внимание были приняты водородные связи, образуемые между НАД⁺ и HIS862 (1 связь), GLY863 (2 связи), а также NH-группой скелета ARG878. Кроме того, во время минимизации накладывались физические ограничения в виде гармонического потенциала с константой жесткости 100 ккал/(моль · Å²) на все тяжелые атомы белка и молекул воды. В моделях 2 и 4 были дополнительно рассмотрены ограничения на положение сульфатной группы, соответствующей положению сульфат-иона из структуры с идентификатором PDB 4R5W.

После построения всех четырех обсуждаемых выше моделей комплексов ПАРП-1 с донорным НАД⁺ была проведена их дальнейшая минимизация с наложением физических ограничений на смещение всех тяжелых атомов не более 0.3 Å (рис. 3). Согласно полученным моделям, положение пирофосфатной группы НАД⁺ стабилизируется образованием водородных связей с молекулами воды в сайте связывания. Как видно из рис. 3, в моделях пространственных структур 3 и 4, построенных с использованием структуры с идентификатором PDB 4R6E, водородная связь TYR889/ASP766 отсутствует, хотя потенциально TYR889 способен образовывать водородные связи с пирофосфатной группой НАД⁺. В случае же моделей, построенных на основе структуры 4ZZZ (модели 1 и 2), пирофосфатная группа НАД⁺ потенциально образует водородные связи только со стабильными молекулами воды, а также участвует в образовании внутримолекулярных водородных связей.

Одно из существенных отличий моделей с замещением пирофосфатной группой НАД⁺ сульфат-иона (модели 1 и 3) от моделей 2 и 4 состоит в отсутствии водородной связи гидроксильной группы аденин-рибозы с остовом аминокислотного остатка MET890. Конформация НАД⁺ очень схожа для моделей 2, 3 и 4 (рис. 4), однако в модели 1 видна существенная разница в конформации пирофосфатной группы для НАД⁺. В этой модели конформация пирофосфатной группы НАД⁺ позволяет образование

двух внутримолекулярных водородных связей с аденин-рибозой и амидной группой никотинамида.

Для экспериментальной проверки того, какая из четырех предложенных структурных моделей ПАРП-1/НАД⁺ может реально существовать, были предложены два новых соединения, являющихся производными НАД⁺, названные нами пНАД-1 и пНАД-2 (рис. 5).

Первое соединение (пНАД-1) рассчитывалось как индикатор корректности моделей 1 и 3 на основе проверки активности производных НАД⁺ без гидроксильной группы, способных образовывать водородные связи с NH-группой MET890. Второе соединение (пНАД-2) строилось на основе модификаций НАД⁺, при которых данная молекула, с одной стороны, обладала, согласно расчетам, способностью связываться с ПАРП-1, удовлетворяя фармакофорным ограничениям (см. рис. 2), а с другой – имела минимальную длину линкера между пирофосфатной группой и никотинамид-подобной группой. Минимальная длина такого линкера была в модели 1 – одна СН₂-группа, в то время как для моделей 2, 3 и 4 длина линкера была больше. Расчетные оценки методом MM-GBSA разницы свободных энергий взаимодействия производных НАД⁺, которые могут использоваться для экспериментальной проверки рассмотренных выше моделей комплексов ПАРП-1/НАД⁺, приведены в таблице.

Расчеты показали, что пНАД-2 связывается с высокой аффинностью только с ПАРП-1, находящимся в состоянии, соответствующем модели 1. В свою очередь для моделей 1, 2 и 4 наблюдалось малое изменение аффинности связывания пНАД-1 по отношению к НАД⁺, в то время как для модели 3 этот показатель оказался существенно ниже (см. таблицу).

Таким образом, если в эксперименте наблюдается связывание ПАРП-1 с пНАД-2, то этот факт свидетельствует в пользу модели 1. Если же ПАРП-1 связывается с пНАД-1 значительно хуже, чем ПАРП-1 с НАД⁺, то это свидетельствует в пользу модели 3. К сожалению, верификация моделей 2 и 4 требует более сложного анализа связи между структурой и активностью лигандов.

Заключение

Для разработки нового класса НАД⁺-подобных ингибиторов ПАРП-1 чрезвычайно важно иметь корректно предсказанные модели взаимодействия НАД⁺ с ПАРП-1. В настоящей работе с использованием методов молекулярного моделирования были предсказаны структуры комплексов ПАРП-1 с НАД⁺ для двух наблюдаемых конформаций рецептора ПАРП-1. Дополнительно сделано предположение, что пирофосфатная группа может замещать положение сульфат-иона, наблюдаемого в структуре комплекса

ПАРП-1 с хав939. В результате были получены четыре модели связывания ПАРП-1 с НАД⁺, которые различаются по конформации пирофосфатной группы НАД⁺. Валидация моделей взаимодействия может быть проведена на основе проверки активности предложенных производных НАД⁺. Полученные модели доступны по адресу <http://www.bionet.sscs.ru/psd/nivanisenko/vogis2016/> и могут быть использованы для рационального дизайна ингибиторов ПАРП-1 на основе производных НАД⁺.

Acknowledgments

The construction and analysis of models of PARP-1–NAD⁺ complexes were supported by the Russian Science Foundation, project 4-44-00011 «Programmed cell death induced via death receptors: identification of apoptosis-inducing molecular mechanisms by molecular simulation».

The template-based comparison of the prototypes of active sites in NAD⁺-binding proteins was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project 15-04-08065.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Barkauskaite E., Jankevicius G., Ahel I. Structures and mechanisms of enzymes employed in the synthesis and degradation of PARP-dependent protein ADP-ribosylation. *Mol. Cell.* 2015;58(6):935-946. DOI 10.1016/j.molcel.2015.05.007.
- Basu B., Sandhu S.K., de Bono J.S. PARP Inhibitors. *Drugs.* 2012; 72(12):1579-1590.
- Domagala P., Huzarski T., Lubinski J., Gugala K., Domagala W. PARP-1 expression in breast cancer including BRCA1-associated, triple negative and basal-like tumors: possible implications for PARP-1 inhibitor therapy. *Breast Cancer Res. Treatment.* 2011;127(3):861-869. DOI 10.1007/s10549-011-1441-2.
- Ferraris D. Evolution of poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) inhibitors. From concept to clinic. *J. Med. Chemistry.* 2010;53(12): 4561-4584. DOI 10.1021/jm100012m.
- Harder E., Damm W., Maple J., Wu C., Reboul M., Xiang J.Y., Wang L., Lupyan D., Dahlgren M.K., Knight J.L., Kaus J.W., Cerutti D.S., Krilov G., Jorgensen W.L., Abel R., Friesner R.A. OPLS3: a force field providing broad coverage of drug-like small molecules and proteins. *J. Chem. Theory Computation.* 2015;12(1):281-296. DOI 10.1021/acs.jctc.5b00864.
- Hay T., Jenkins H., Sansom O.J., Martin N.M.B., Smith G.C.M., Clarke A.R. Efficient deletion of normal *Brcal2*-deficient intestinal epithelium by poly(ADP-ribose) polymerase inhibition models potential prophylactic therapy. *Cancer Res.* 2005;65:10145-10148. DOI 10.1158/0008-5472.
- Jacobson M.P., Friesner R.A., Xiang Z., Honig B. On the role of crystal packing forces in determining protein side-chain conformations. *J. Mol. Biol.* 2002;320:597-608. DOI 10.1016/S0022-2836(02)00470-9.
- Jacobson M.P., Pincus D.L., Rapp C.S., Day T.J.F., Honig B. Shaw D.E., Friesner R.A. A hierarchical approach to all-atom protein loop prediction. *Proteins: Structure, Function Bioinformatics.* 2004;55:351-367. DOI 10.1002/prot.10613.
- Jørgensen R., Wang Y., Visschedyk D., Merrill A.R. The nature and character of the transition state for the ADP-ribosyltransferase reaction. *EMBO Reports.* 2008;9(8):802-809. DOI 10.1038/embor.2008.90.
- Kinoshita T., Nakanishi I., Warizaya M., Iwashita A., Kido Y., Hattori K., Fujita T. Inhibitor-induced structural change of the active site of human poly(ADP-ribose) polymerase. *FEBS Lett.* 2004;556(1-3): 43-46. DOI 10.1016/S0014-5793(03)01362-0.
- Lee Y.M., Babu C.S., Chen Y.C., Milcic M., Qu Y., Lim C. Conserved structural motif for recognizing nicotinamide adenine dinucleotide in poly(ADP-ribose) polymerases and ADP-ribosylating toxins: implications for structure-based drug design. *J. Med. Chemistry.* 2010;53(10):4038-4049. DOI 10.1021/jm1001106.
- Lin H. Nicotinamide adenine dinucleotide: beyond a redox coenzyme. *Org. Biomol. Chemistry.* 2007;5(16):2541-2554. DOI 10.1039/B706887E.
- Luo X., Kraus W.L. On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly(ADP-ribose) and PARP-1. *Gen. Development.* 2012; 26(5):417-432. DOI 10.1101/gad.183509.111.
- Martin D.S., Bertino J.R., Koutcher J.A. ATP depletion + pyrimidine depletion can markedly enhance cancer therapy: fresh insight for a new approach. *Cancer Res.* 2000;60(24):6776-6783.
- Peralta-Leal A., Rodriguez M.I., Oliver F.J. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) in carcinogenesis: potential role of PARP inhibitors in cancer treatment. *Clin. Transl. Oncol.* 2008;10(6):318-323.
- Ruf A., de Murcia J.M., de Murcia G., Schulz G.E. Structure of the catalytic fragment of poly(AD-ribose) polymerase from chicken. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996;93(15):7481-7485.
- Sherstyuk Y.V., Zakharenko A.L., Kutuzov M.M., Chalova P.V., Sukhanova M.V., Lavrik O.I., Silnikov V.N., Abramova T.V. A versatile strategy for the design and synthesis of novel ADP conjugates and their evaluation as potential poly(ADP-ribose) polymerase 1 inhibitors. *Mol. Diversity.* 2016;1-13. DOI 10.1007/s11030-016-9703-x.
- Zhu Q., Wang X., Chu Z., He G., Dong G., Xu Y. Design, synthesis and biological evaluation of novel imidazo[4, 5-c]pyridinecarboxamide derivatives as PARP-1 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Letters.* 2013;23(7):1993-1996. DOI 10.1016/j.bmcl.2013.02.032.