

## НЕЙРОХИМИЯ

УДК 615.213:615.214

Л. С. Унанян, Р. Г. Пароникян, В. С. Камарян, Е. Г. Пароникян

### Молекулярное моделирование некоторых новых нейротропных азотсодержащих препаратов гетероциклического ряда

(Представлено чл.-кор. НАН РА В. О. Топузяном 11/III 2021)

**Ключевые слова:** молекулярный докинг, конформационный анализ, нейротропные вещества.

**Введение.** Современная фармакотерапия эпилепсий и эпилептических синдромов осуществляется за счет противосудорожных и противоэпилептических (ПЭП) препаратов с инновационными механизмами действия на «мишени» патологической эпилептической системы. При этом учитываются факторы фармакорезистентных эпилепсий, терапия которых во многих случаях является неэффективной при лечении базовыми ПЭП на ранних стадиях патогенеза [1]. С точки зрения механизма действия фармакотерапия направлена на регуляцию нейротрансмиттерных белков-мишеней, обеспечивающих процесс переноса анионов и катионов, приводящий к снижению электроактивности клеток. Одним из таких механизмов является коразоловый путь действия, приводящий к угнетению нейротрансмиттера GABA<sub>A</sub>, играющего важную роль в процессах сигналинга [2]. С другой стороны, SERT транспортер и рецептор 5-HT<sub>1A</sub> вовлечены в моноаминогенный путь эпилептогенеза [3].

Ранее было показано, что новые нейротропные азотсодержащие препараты гетероциклического ряда – пуфемид, пиратидин и соединение №3212 проявляют выраженную противосудорожную активность на различных моделях эпилепсии. Особенно надо отметить специфическую активность по коразоловым (минимальный и максимальный судорожный припадок), камфорным, тиосемикарбазидным, пикротоксиновым, пенициллиновым судорожным тестам в *in vivo* исследованиях [4-8]. Выявлено, что производные бензотиенопиримидина – соединения с Н (№3212-1) и СН<sub>3</sub> (№3212-2) радикалами в *in vitro* проявляют антимоноаминоксидазные свойства, приводя к антидепрессантному действию. При этом особенности

взаимодействия на молекулярном уровне с вышеупомянутыми белками-мишенями не до конца изучены.

Для выявления особенностей взаимодействия пуфемиды, пиратидина и соединения №3212 с ключевыми белками-мишенями, вовлеченными в процесс патогенеза эпилепсии, были проведены серии *in silico* исследований с использованием методов молекулярного моделирования и компьютерного анализа.

**Материал и методы.** Молекулярные модели исследуемых соединений были получены с использованием программного пакета Chem Office [9]. Энергетическая минимизация трехмерных моделей проводилась с использованием силового поля MM2, которое используется для оптимизации моделей малых молекул [10]. Стандартизация молекулярных моделей осуществлялась путем получения CanonicalSMILES и форматов \*.mol2 и \*.pdb.

Молекулярные модели исследуемых мишеней были взяты из базы данных RCSB [11] с идентификационными номерами SERT транспортер (PDBID:5I6X), GABA<sub>A</sub> receptor (PDBID:4COF), 5-HT<sub>1A</sub> receptor (PDBID:3NYA). Были использованы программные пакеты AutoDock Vina и AutoDock Tools [12]. Достоверность результатов докинга обеспечивалась 5-кратной повторяемостью 20 начальных конформаций с объемом виртуального бокса, не превышающим 27.000 Å<sup>3</sup> с континуумом в 200 вычислений. Выбор лучших конформеров осуществлялся на основе значений среднеквадратических отклонений при комплексообразовании RMSD ≤ 2Å.

Для определения константы связывания исследуемых комплексов были использованы следующие уравнения:

$$\Delta G_{\text{exp}} = -RT \ln\left(\frac{1}{K}\right); \quad K = \exp\left(\frac{-\Delta G_{\text{average}}}{RT}\right) \quad (1)$$

где  $\Delta G_{\text{average}}$  – энергия взаимодействия, R – газовая постоянная, T – абсолютная температура, K – константа связывания.

Конформационный анализ результатов комплексообразования и визуализация трехмерных пространственных параметров проводились с использованием Discovery Studio Visualizer [13]. Расчетные критерии радиуса взаимодействия рассчитывались по стандарту: длина водородных связей 3.60Å, кулоновские взаимодействия – 9.00 Å, ван-дер-ваальсовы взаимодействия – 14.00 Å, гидрофобные взаимодействия – 6.00Å.

Карта комплексообразования лиганд-мишень была получена на основе теории графов с использованием матриц смежности [14].

Статистический анализ результатов исследования проводился на основе применения стандартных статистических методов, включающих вычисления стандартных отклонений, средних значений, стандартных средних ошибок.

**Результаты и обсуждение.** Полученные результаты молекулярного докинга свидетельствуют о том, что все исследуемые соединения, кроме №3212-1, взаимодействуют с 5HT<sub>1A</sub>, при этом места связывания лигандов отличаются (рис.1).

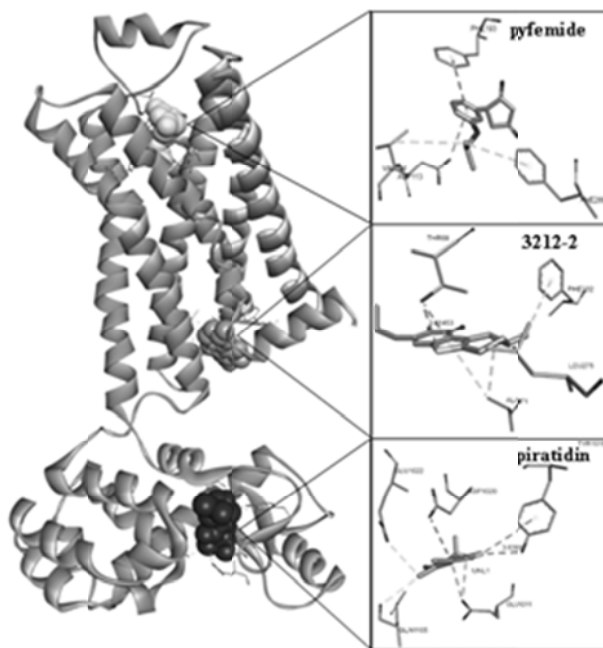


Рис. 1. Визуализация пространственной локализации пуфемиды, 3212-2 и пиратидина при комплексообразовании с 5HT<sub>1A</sub>.

Пуфемид связывается в лиганд-связывающем кармане, образованном межспиральными внеклеточными петлями, формирующими EC2 (внеклеточный луп) [15] с ключевыми аминокислотными остатками Asp113, Val114, Phe193, Phe289. Конформационный анализ результатов комплексообразования свидетельствует о том, что наблюдается исключительно гидрофобный тип связывания. Вовлечение вышеуказанных аминокислотных остатков, тип связывания и результаты пространственной ориентации в лиганд-связывающем кармане характерны для активаторов 5HT<sub>1A</sub> [16].

Представляет интерес местоположение №3212-2 при связывании с 5HT<sub>1A</sub>. Установлено, что комплексообразование осуществляется в аллостерическом сайте связывающего G-белок кармана, образованного петлями TM3 и TM6 ICL3 (внутриклеточный луп) [17]. Взаимодействие осуществляется за счет гидрофобных сил водородной связи с дистанцией 3.6 Å между серой пентозного кольца №3212-2 и Thr68. Наблюдается также π-стекинг, что является показателем для лигандов-активаторов при взаимодействии с данным сайтом связывания [18]. В комплексообразовании вовлечены аминокислотные остатки Thr68; Ala271; Leu275 и Phe332.

Исследованием комплекса пиратидин – 5HT<sub>1A</sub> выявлено, что взаи-

модействие осуществляется с аминокислотными остатками Glu1011; Tyr1018; Asp1020; Glu1022; Gln1105, образующими карман T4L домена [19]. Необходимо отметить, что взаимодействие носит смешанный характер. Присутствие двух сульфидных мостиков с аминокислотными остатками Glu1011 и Asp1020 и наблюдаемая водородная связь с дистанцией 3.6 Å с Tyr1018 присущи нейротропным агентам [20].

Взаимодействие с GABA<sub>A</sub> наблюдается только у пуфемиды с бензамидиновым сайтом субсайта 1 интерфейса ECD (внеклеточный домен). Этот участок образован из аминокислотных остатков, включенных в цепи В и С [21] (рис.2).

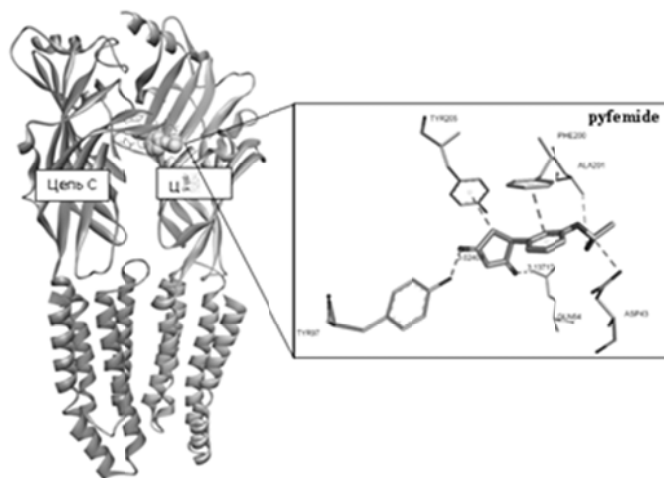


Рис. 2. Визуализация пространственной локализации пуфемиды при комплексообразовании с GABA<sub>A</sub>.

Взаимодействие пуфемиды происходит за счет как гидрофобных, так и водородных связей. Наблюдаются две водородные связи с Gln64 и Tyr97 с дистанциями 3.1 и 3.0 Å, соответственно. Гидрофобные взаимодействия наблюдаются с аминокислотными остатками Phe200; Ala201; Tyr205.

Из исследуемых соединений с SERT транспортером взаимодействуют два соединения – пуфемид и № 3212-1 (рис. 3, А), которые связываются в центральном сайте активного центра мишени [22]. При этом типы взаимодействия отличаются.

При взаимодействии 3212-1 наблюдаются как гидрофобные, так и электростатические типы связей. Интересно, что водородных связей при построении конформационных карт не обнаружено. Наблюдается также образование сульфидного мостика с Phe341, который является одним из ключевых аминокислотных остатков активного центра SERT. В процесс комплексообразования вовлечены аминокислотные остатки Tyr95; Ala169; Ile172; Ala173; Phe341; Ser438; Ser439; Leu443. Нужно отметить, что перечисленные аминокислотные остатки являются ключевыми в образовании активного центра и № 3212-1 практически связывается со всеми

остатками при комплексообразовании. По сравнению с 3212-1 у пуфемиды наблюдается одинарная водородная связь с Asn177 с дистанцией 3.3 Å. Вовлечение аминокислотных остатков у пуфемиды меньше по сравнению с 3212-1. Преобладает гидрофобный тип связывания с остатками Ile172, Ala173, Phe341. Пространственное расположение пуфемиды по отношению к 3212-1 отклонено на 36.2° по оси X от центрального кольца (рис. 3, В).

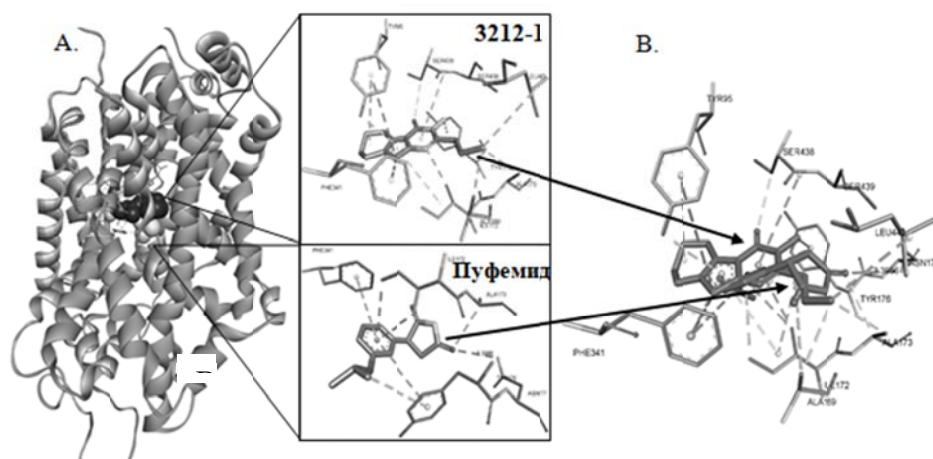


Рис. 3. Визуализация взаимодействия 3212-1, пуфемиды при комплексообразовании с SERT транспортером: А – пространственная локализация в активном центре; В – суперпозиционирование пространственной ориентации 3212-1 и пуфемиды в активном центре SERT транспортера.

На основе полученных результатов молекулярного докинга были рассчитаны энергии и константы связывания взаимодействия (табл. 1). Построена также карта комплексообразования лиганд-мишень для исследуемых комплексов (рис. 4).

**Таблица 1**  
**Биофизические показатели комплексообразования исследуемых лигандов с мишенями**

Лиганд \ Мишень	5HT <sub>1A</sub>		GABA-A		SERT	
	энергия, ккал/моль	константа связывания	энергия, ккал/моль	константа связывания	энергия, ккал/моль	константа связывания
3212-1	-	-	-	-	-7.5±0.37	2.63 x 10 <sup>5</sup>
3212-2	-6.6±0.33	5.88 x 10 <sup>4</sup>	-	-	-	-
Piratidin	-6.9±0.34	9.68 x 10 <sup>4</sup>	-	-	-	-
Pufemide	-7.4±0.37	2.22 x 10 <sup>5</sup>	-7.7±0.38	3.66 x 10 <sup>5</sup>	-7.4±0.37	2.22 x 10 <sup>5</sup>

Таким образом, можно констатировать, что с 5HT<sub>1A</sub> взаимодействуют 3212-2, пиратидин и пуфемид. У пиратидина и № 3212-2 наблюдается избирательный характер взаимодействия по отношению к 5HT<sub>1A</sub>, при этом в случае пиратидина отмечается высокое значение константы связывания.

Взаимодействие с GABA<sub>A</sub> наблюдается у пуфемиды, при этом значение константы связывания с данной мишенью является наивысшим по сравнению с другими мишенями. С SERT транспортером взаимодействует только 3212-1 с константой связывания  $2.63 \times 10^5$ . По сути №3212-1 также проявляет селективный тип действия, так как с другими исследуемыми мишенями взаимодействия не наблюдается.

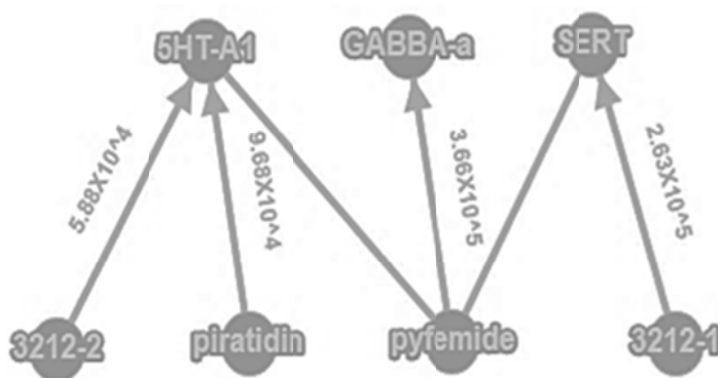


Рис. 4. Карта комплексообразования лиганд-мишень для исследуемых соединений.

**Выводы.** Пуфемид может привести к ингибированию GABA<sub>A</sub>, связываясь при этом также с исследуемыми мишенями, вовлеченными в моноаминогенный путь патогенеза эпилепсии. С другой стороны, соединения пиратидин, № 3212-2 и №3212-1 проявляют активность при взаимодействии с 5HT<sub>1A</sub> и с SERT транспортером, которые регулируют моноаминогенный путь в патогенезе. С этой точки зрения выявленная нейротропная активность исследуемых соединений указывает на некоторое совпадение результатов *in silico* исследований с ранее полученными данными *in vitro* и *in vivo*.

This work was made possible in part by a research grant from the Yervand Terzian Armenian National Science and Education Fund (ANSEF) based in New York, USA.

Институт тонкой органической химии НТЦОФХ НАН РА  
e-mail: paronikyan.ruzanna@mail.ru

Լ. Ս. Սանյան, Ր. Գ. Սարոնյան, Վ. Ս. Կամարյան, Ե. Գ. Սարոնյան

### Молекулярное моделирование некоторых новых нейротропных азотсодержащих препаратов гетероциклического ряда

Проведено молекулярное моделирование новых нейротропных азотсодержащих препаратов гетероциклического ряда – пуфемид, пиратидин и соединения №3212 (3212-1 и 3212-2). Молекулярный докинг был проведен с применением различных мишеней, вовлеченных в процесс патогенеза эпилепсии - GABA<sub>A</sub>, 5HT<sub>1A</sub> и SERT транспортер. Можно констатировать, что с 5HT<sub>1A</sub> взаимодействуют 3212-2, пиратидин и пуфемид. У пиратидина и 3212-2 наблюдается избирательный характер взаимодействия по отношению к 5HT<sub>1A</sub>. Взаимодействие с GABA<sub>A</sub> наблюдается у пуфемид, при этом значение константы связывания с данной мишенью наивысшее по сравнению с другими мишенями. С SERT взаимодействует только 3212-1. Фактически докинг и конформационный анализ комплексообразования с 5HT<sub>1A</sub>, GABA<sub>A</sub> и SERT транспортером показали, что из всех препаратов высокое сродство наблюдается у пуфемид при взаимодействии с GABA<sub>A</sub>, а остальные препараты оказывают более избирательный аффинитет. Выявлено, что действие пуфемид в первую очередь обусловлено взаимодействием через GABA<sub>A</sub>, а два других препарата скорее всего действуют путем угнетения 5HT<sub>1A</sub> и SERT транспортера, что указывает на некоторое совпадение *in silico* исследований с результатами *in vitro* и *in vivo* экспериментов. –

Լ. Ս. Սանյան, Ր. Գ. Սարոնյան, Վ. Ս. Կամարյան,  
Ե. Գ. Սարոնյան

### Որոշ նոր ներոտրոպ ազոտ պարունակող հետերոցիկլիկ դեղամիջոցների մոլեկուլային մոդելավորումը

Իրականացվել է նոր ներոտրոպ դեղամիջոցների՝ պուֆեմիդի, պիրատիդինի և №3212 (3212-1 և 3212-2) միացության մոլեկուլային մոդելավորում: Մոլեկուլային մոդելավորումն իրականացվել է տարբեր թիրախների՝ GABA<sub>A</sub>, 5HT<sub>1A</sub> և SERT փոխադրիչի միջոցով, որոնք ներառված են էպիլեպսիայի պաթոգենեզում: Պետք է փաստել, որ պիրատիդինը, պուֆեմիդը և №3212-2-ը փոխազդում են 5HT<sub>1A</sub>-ի հետ: Պիրատիդինը և 3212-2-ը ցուցադրում են ընտրողական փոխազդեցություն 5HT<sub>1A</sub>-ի հետ: GABA<sub>A</sub>-ի հետ փոխազդեցություն նկատվում է պուֆեմիդի դեպքում, և այդ թիրախի համար նրա կապման հաստատունի արժեքը ամենաբարձրն է՝ համեմատած այլ թիրախների հետ: Միայն №3212-1-ն է համազործակցում SERT փոխադրիչի հետ: Փաստորեն 5HT<sub>1A</sub>, GABA<sub>A</sub> և SERT-ի հետ դոկինգի և կոնֆորմացիոնալ անալիզի արդյունքները ցույց տվեց, որ բոլոր պրեպարատներից ամենաբարձր խնամակցություն GABA<sub>A</sub>-ի հետ դիտվում է պուֆեմիդի մոտ, իսկ մնացած դեղերն ավելի ընտրողական խնամակցություն ունեն տարբեր ընկալիչների նկատմամբ: Ամփոփելով՝ կարելի է նշել, որ պուֆեմիդի ազդեցությունն առաջին հերթին պայմանավորված է GABA<sub>A</sub>-ով, իսկ մյուս երկու պրեպարատները գործում են 5HT<sub>1A</sub> և SERT փոխադրիչի ընկճման ճանապարհով, որը ցույց է տալիս *in silico* հետազոտությունների արդյունքների որոշակի համընկնում *in vivo* և *in vitro* էքսպերիմենտների հետ:

L. S. Hunanyan, R. G. Paronikyan, V. S. Ghamaryan,  
E. G. Paronikyan

### Molecular Modeling of Some New Neurotropic Nitrogen-Containing Drugs of the Heterocyclic Series

Molecular modeling of new neurotropic nitrogen-containing drugs of the heterocyclic series pufemid, pyratidine and compound No. 3212 (3212-1 and 3212-2) was carried out. Molecular docking was performed using various targets involved in the pathogenesis of epilepsy - GABA<sub>A</sub>, 5HT<sub>1A</sub>, and SERT transporter. It can be stated that 3212-2, pyratidine and pufemid interact with 5HT<sub>1A</sub>. Piratidine and 3212-2 exhibit a selective interaction with respect to 5HT<sub>1A</sub>. Interaction with GABA<sub>A</sub> is observed in pufemid, while the value of the constant of binding to this target is the highest in comparison with other targets. Only 3212-1 interacts with SERT. In fact, docking and conformational analysis of complexation with 5HT<sub>1A</sub>, GABA<sub>A</sub>, and SERT transporter showed that of all drugs, pufemid has a high affinity when interacting with GABA<sub>A</sub>, while the rest of the drugs have a more selective affinity. Summarizing the above, we can state that the action of pufemid is primarily due to the interaction through GABA<sub>A</sub>, while the other two most likely act by inhibiting the 5HT<sub>1A</sub> and SERT transporter, which indicates some coincidence of *in silico* studies with the results of *in vitro* and *in vivo* experiments.

### Литература

1. Авакян Г. Н. – Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2014. № 4. С. 46-49.
2. Treiman D. M. – Epilepsia. 2001. V. 42. P. 8-12.
3. Svob Strac D., Pivac N., Smolders I. J. et al. – Frontiers in neuroscience. 2016. № 10. P. 492.
4. Мнджоян О. Л., Аветисян С. А., Акопян Н. Е. и др. – Хим. фарм. журнал. 1983. № 6. С. 757-761.
5. Джагацянцян И. А., Пароникян Р. Г., Назарян И. М. и др. – Мед. наука Армении. 1998. Т. 38. № 1-2. С. 37-43.
6. Պարոնիկյան Ռ., Ջաղաճաչանյան Բ., Պարոնիկյան Ե., Նազարյան Բ., Հակոբյան Հ. ՀՀ Մտավոր սեփականության գործակալություն՝ որոշում գյուտի արտոնագիր տալու մասին: Արտոնագիր № 3007 А: 2016թ., Հայաստան:
7. Пароникян Р. Г. – Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2017. Т. 9. № 3. С. 40-46.
8. Paronikyan R.G., Avagyan M.N., Harutyunyan A.A. et al. – Epilepsy and paroxysmal conditions. 2019. V. 11(3). P. 244-254.
9. Anurag T. K. Baidya, Kalyan Ghosh, Sk. Abdul Amin et al. – New J. Chem. 2020. V. 44. P. 4129-4143.
10. Rackers J. A., Wang Z., Lu C et al. – Journal of chemical theory and computation. 2018. V. 14(10). P. 5273-5289.
11. Casewit C. J., Colwell K. S., Rappe A. K. – Journal of the American chemical society. 1992. V. 114(25). P. 10035-10046.
12. Rose P. W., Bi C., Bluhm W. F. et al. – Nucleic acids research. 2012. V. 41(D1). P. D475-D482.



13. *Trott O., Olson A. J.* – Journal of computational chemistry. 2010. V. 31(2). P. 455-461.
14. Biovia DS. 2017. Discovery studio modeling environment.
15. *Bollobás B.* Modern graph theory (V. 184). Springer Science & Business Media. 2013.
16. *Ostrowska K., Grzeszczuk D., Gluch-Lutwin et al.* MedChemComm. 2017. V. 8(8) P. 1690-1696.
17. *Yuan S., Peng Q., Palczewski K. et al.* – Angewandte Chemie International Edition. 2016. V. 55(30). P. 8661-8665.
18. *Chan H. S., Li Y., Dahoun T. et al.* –Trends in biochemical sciences. 2019. V. 44(4). P. 312-330.
19. *Xu L., Zhou S., Yu K. et al.* – Journal of chemical information and modeling. 2013. V. 53(12). P. 3202-3211.
20. *Thorsen T. S., Matt. R., Weis W. I. et al.* – Structure. 2014. V. 22(11). P. 1657-1664.
21. *Bang I., Choi H. J.* – Molecules and cells. 2015. V. 38(2). P. 105.
22. *Puthenkalam R., Hieckel M., Simeone X. et al.* – Frontiers in molecular neuroscience. 2016. V. 9. P. 44.
23. *Andersen J., Taboureau O., Hansen K. et al.* – Journal of Biological Chemistry. 2009. V. 284(15). P. 10276-10284.