

Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова

Біологічний факультет

Кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти



МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ВЗАЄМОДІЇ ПРОПОКСАЗЕПАМУ З РЕЦЕПТОРАМИ, ЩО ПРИЙМАЮТЬ УЧАСТЬ У НОЦИЦЕПЦІЇ: ДОКІНГ-АНАЛІЗ



Доповідач:

PhD студентка 3-го курсу Акішева Аліна

Робота виконана на базі:

Фізико-хімічного інституту ім. О. В. Богатського НАН України, м.Одеса.,

Лабораторія молекулярної фармакології та медицини.,
під керівництвом зав. лаб. д.б.н. Ларіонов В.Б.

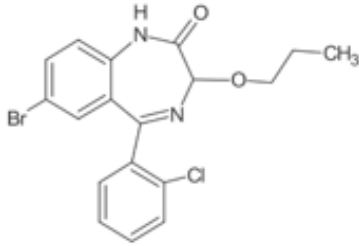
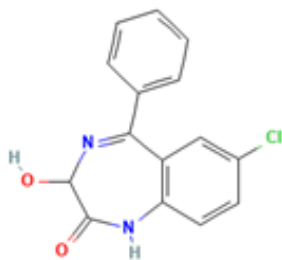
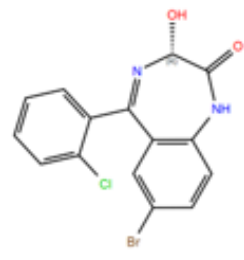
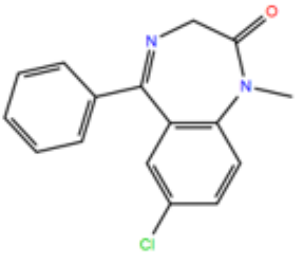
Актуальність теми

- Біль є найнеприємнішим симптомом прояву захворювання. Лікування цього неприємного відчуття є проблемою для клініцистів. Існує ряд ліків, доступних для лікування болю, таких як нестероїдні протизапальні засоби (НПЗП), опіоїди та їх похідні;
- однак, лікування хронічного болю залишається проблемою, оскільки більшість мішеней для сучасних анальгетиків знаходяться в ЦНС і, таким чином, схильні до різних побічних ефектів. Крім того, звикання, толерантність і обмежена ефективність ще більше перешкоджають успішному лікуванню хронічного болю;
- *тому метою проведених досліджень є вивчення взаємодій похідних 1,4-бенздіазепінів з білками, що задіяні в ноцицепції методом молекулярного докінгу та аналіз складових цих взаємодій.*

Матеріали та методи

- Процедуру молекулярного докінгу проведено з використанням програмного забезпечення *AutoDockTools-1.5.7*, *Schrodinger Maestro*, шляхом проведення докінг аналізу з білками, що задіяні у ноцицепції.
- Візуалізацію результатів докінгу виконано із застосуванням ресурсів *LigPlot+*, *Schrodinger Maestro*, молекулярні структури рецепторів та ензимів, отримані з бази даних біологічних макромолекул PDB (<http://www.rcsb.org/>);
- $G\text{-score} = 0,05 * \text{vdW} + 0,15 * \text{Coul} + \text{Lipo} + \text{Hbond} + \text{Metal} + \text{Rewards} + \text{RotB} + \text{Site}$ (1), де vdW був показником Ван-дер-Ваальса енергія, Coul представляє енергію Кулона, термін Lipo пояснює ліпофільність, Rewards описує сприятливі гідрофобні взаємодії, Hbond - водневі зв'язки, Metal надає інформацію про зв'язування металічних елементів, RotB кількість обертальних зв'язків, що використовуються для врахування енергетичних втрат, пов'язаних з обмеженням обертальних рухів молекули, а Site визначає полярні взаємодії в активним сайтом.

Досліджувані сполуки під час докінгу

Пропоксазепам	Оксазепам	3-гідроксо-пропоксазепам	Діазепам
			

Досліджувані білки:

- 7CR2 (KCNQ2 людини в комплексі з ретигабіном),
- 7EU7 (рецептор NMDA людини GluN1-GluN2A в комплексі з S-кетаміном, гліцином і глутаматом),
- 8GFA (TRPV1 людини в комплексі з анальгетиком SB-366791).

Властивості похідних 1,4-бензодіазепіну (структура похідних 1,4-бензодіазепіну)

* бензенові (А) і 1,4-бензодіазепінові (В) ядра;

* Більшість вивчених 1,4-БДЗ мають у положенні 5 циклічний замісник (найчастіше арил). У цьому випадку його позначають як С (рисунок).

* На відміну від більшості хімічних сполук, що використовуються як лікарські засоби, вони мають свої власні рецептори (частина ГАМК-РК), позначені як бензодіазепінові.

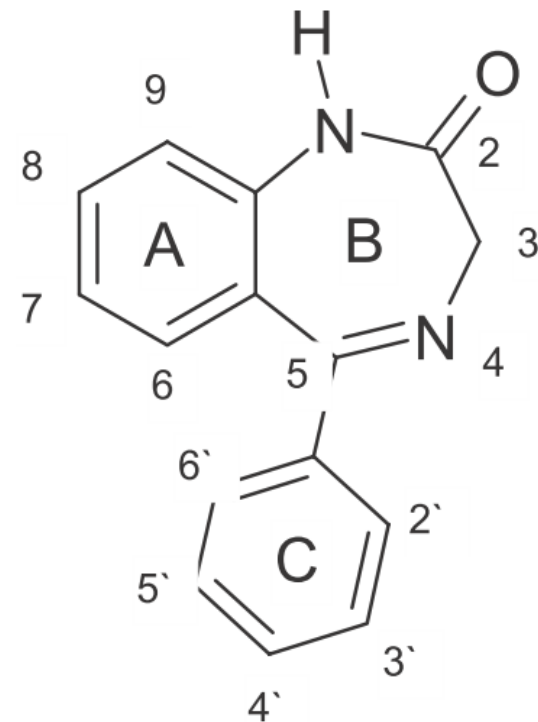


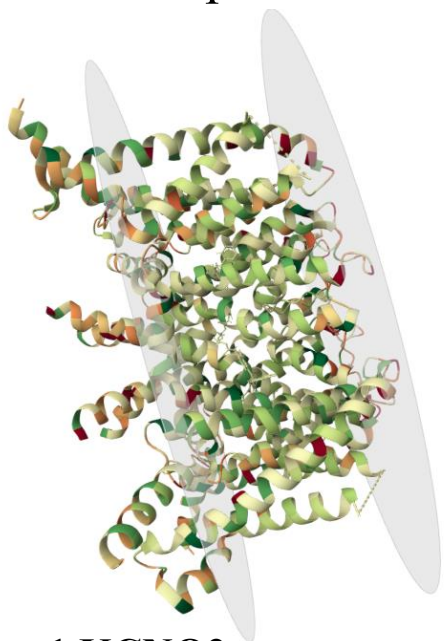
Рисунок. Загальна структура
1,4-бензодіазепінів

Напругозалежні калієві канали людини

KCNQ2

- *Напругозалежні калієві (K⁺) канали* відіграють вирішальну роль у регуляції збудливості нейронів, у тому числі в сигнальних шляхах болю. Тому розуміння їх функції та регуляції є дуже актуальним для розробки методів лікування больового синдрому.
- На даний момент існує кілька препаратів, спрямованих на K⁺ канали, які розробляються для лікування болю. Наприклад, триамінопіридини (ретигабін і флупіртин) — це препарати, які активують певні K⁺-канали і, як було показано, зменшують біль у моделях нейропатичного болю на тваринах.

Таблиця 1 Розрахована енергія взаємодії досліджуваних сполук з *KCNQ2* рецептором



Сполука	Параметри			
	Вільна енергія зв'язування, ккал/моль	Кінцева міжмолекулярна енергія, ккал/моль	Ван-дер-Ваальсова взаємодія, водневий зв'язок, ккал/моль	Електростатична взаємодія, ккал/моль
Ретигабін	-7,67	-9,76	-9,75	-0,01
Флупіртин	-6,51	-8,59	-8,50	-0,09
4-аміно-піридин	-3,92	-4,22	-4,20	-0,02
Пропоксазепам	-8,24	-9,43	-9,46	+0,03
Оксазепам	-5,71	-7,78	-6,30	-8,38

Рис. 1 KCNQ2 людини в комплексі з ретигабіном [посилання](#)

Напругозалежні калієві канали людини

KCNQ2

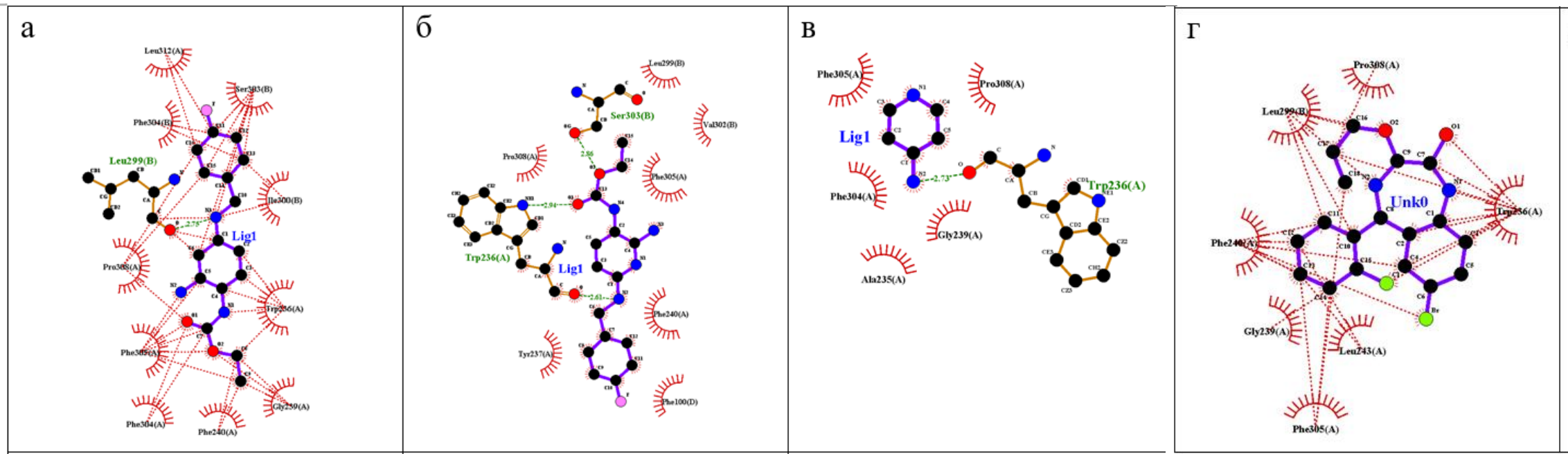


Рис.2 Візуалізація розташування ретигабіну (а), флупіртину (б), 4-амінопіридину (в), пропоксазепаму (г) та у специфічних місцях зв'язування з амінокислотами *KCNQ2* з використання програми DiscoveryStudio2021

N-метил-D-аспартат рецептор

- NMDA-рецептори — кальційпроникні рецептори нейротрансмітерів, модуляція активності яких відбувається під впливом глутамату.
- Їх критична роль в збудливій нейротрансмісії і функціях мозку зробила їх предметом інтересу фармакології та нейробиології.
- NMDAR є тетрамерними білковими комплексами, що містять дві зв'язувальні субодиниці GluN1 з двома субодиницями GluN2 або комбінацію однієї субодиниці GluN2 та однієї субодиниці GluN3.

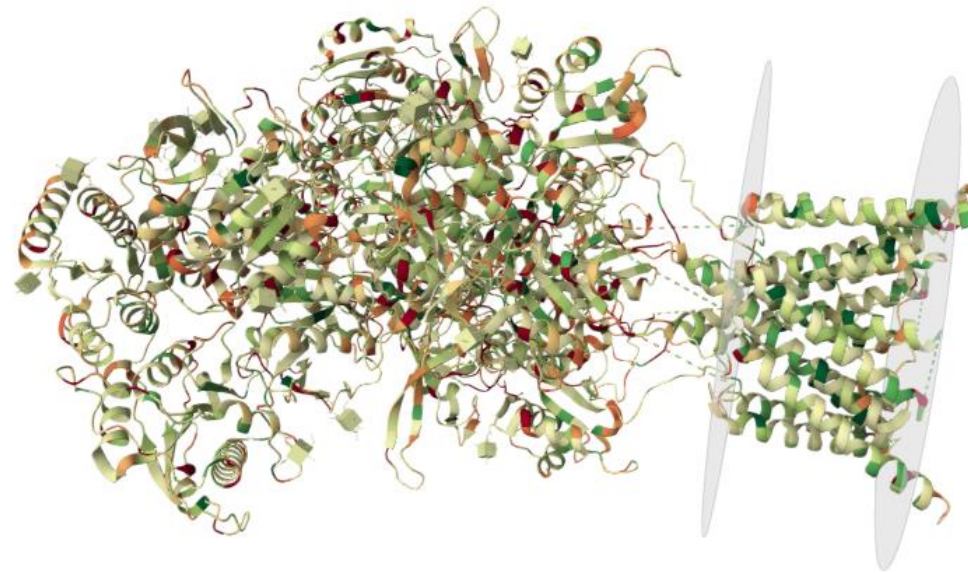


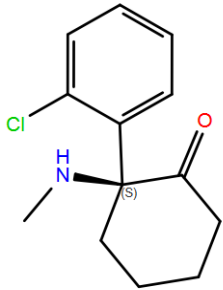
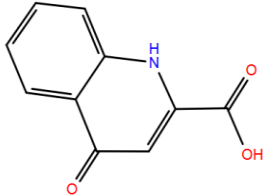
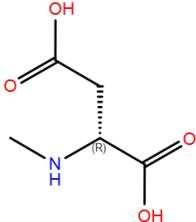
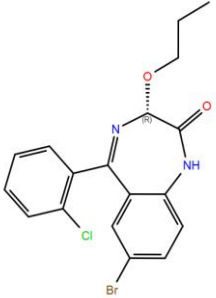
Рис.3 рецептор NMDA людини GluN1-GluN2A в комплексі з S-кетаміном, гліцином і глутаматом

[ПОСИЛАННЯ](#)

N-метил-D-аспартат рецептор

Рецептор N-метил-D-аспартату (NMDA) є рецептором глутамату, основного збуджуючого нейромедіатора в мозку людини. Він відіграє важливу роль у синаптичній пластичності.

Таблиця 2 Оцінки докінгу за допомогою модуля GLIDE та енергії зв'язування комплексу інгібіторів рецепторів, розрахованої за методом Prime MMGBSA

Maestro властивості	Кетамін	Кінуренова кислота	N-метил-D-аспартат	Пропоксазепам
G_score (kcal/mol)	-5.34	-6.60	-4.32	-6.77
MMGBSA dg Bind	-29.45	-32.59	-12.79	-45.82
Структури досліджуваних сполук:				

N-метил-D-аспартат рецептор

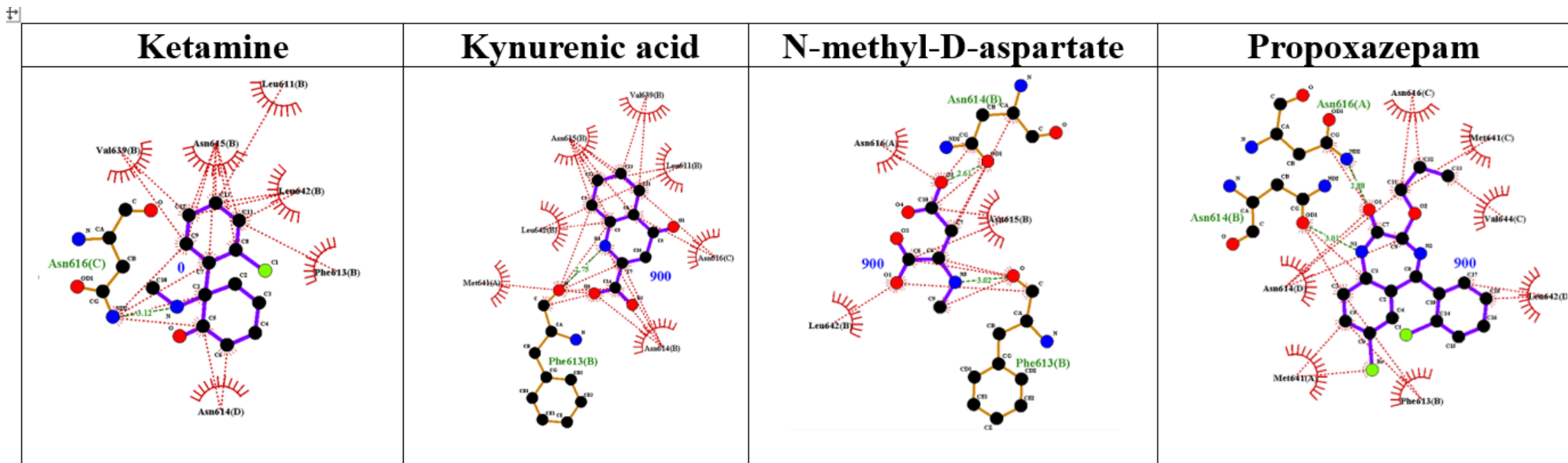


Рис.4 Візуалізація розташування в специфічних сайтах зв'язування кетаміну, кінуренової кислоти, N-метил-D-аспартату та пропоксазепаму з амінокислотами

TRPV1 рецептор

- Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) належить до сімейства ванілоїдних каналів TRP (транзиторного рецепторного потенціалу), родичів напругозалежних калієвих каналів і експресується в центральній нервовій системі та периферичних кровоносних судинах. TRPV1 було визначено як багатообіцяючу терапевтичну мішень для зменшення відчуття болю та свербіжу за патологічних станів.

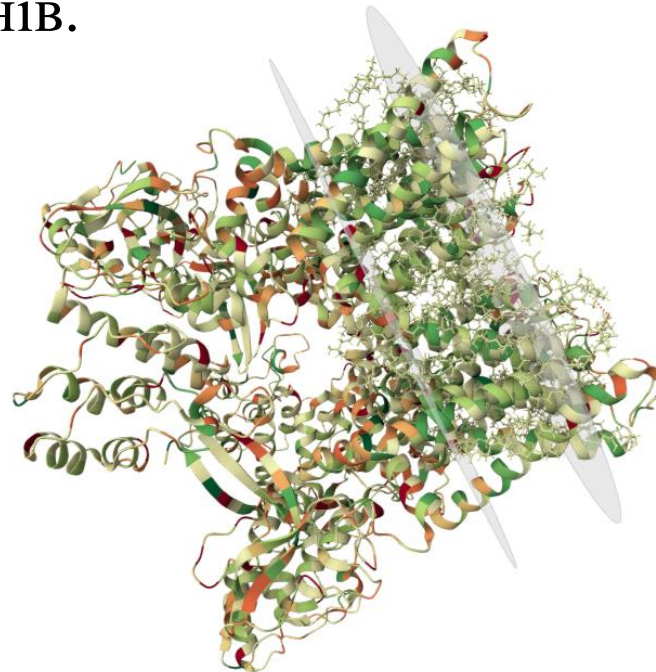
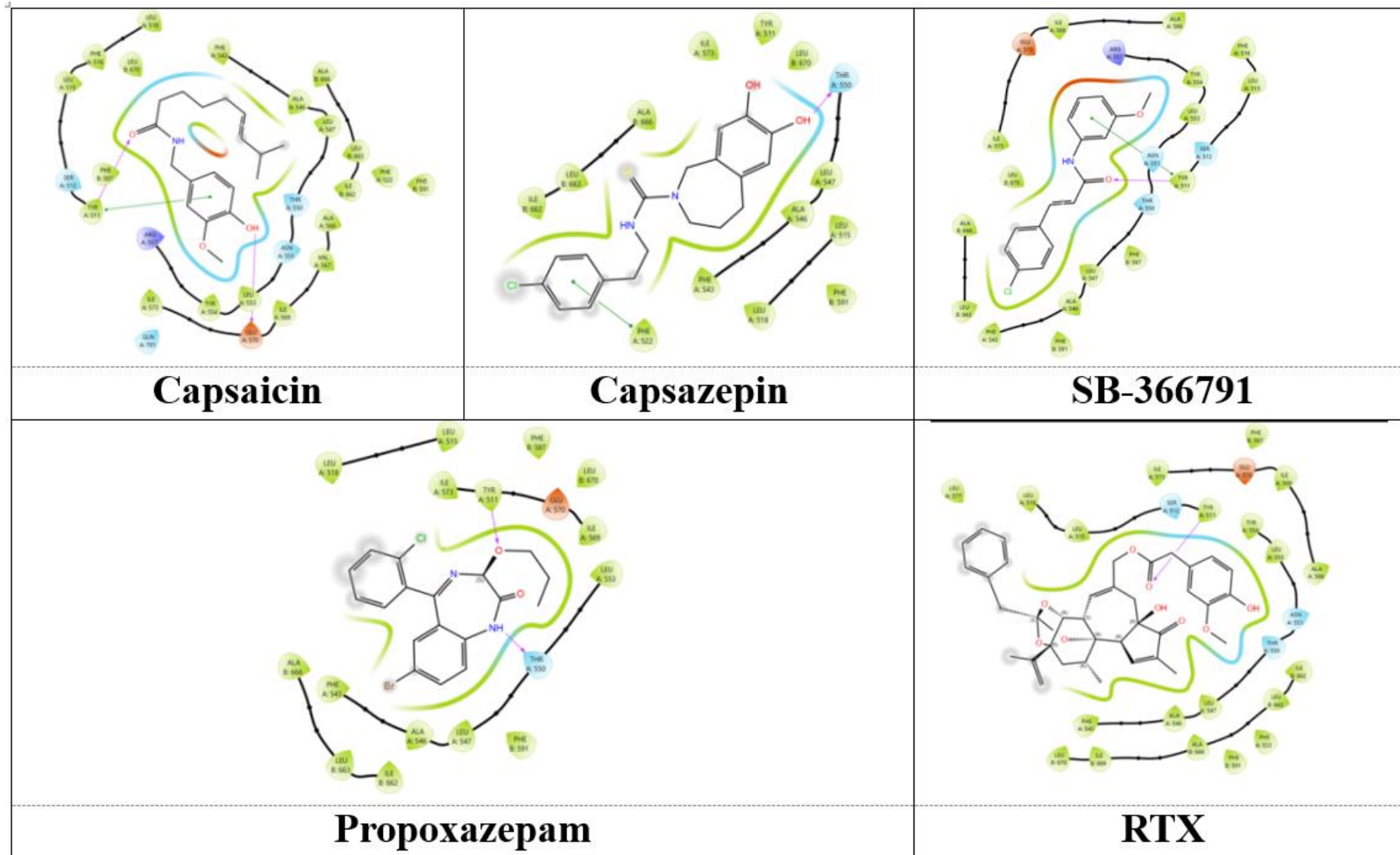


Рис. 5 TRPV1 людини в комплексі з анальгетиком SB-366791 [посилання](#)

TRPV1 рецептор



TRPV1 рецептор

Таблиця 3 Оцінки докінгу за допомогою модуля GLIDE рецептора TRPV1

Ліганд	docking score	lipo ¹	hbond ²	evdw ³	ecoul ⁴	other interaction types ⁵
Капсаїцин	-7.71	-3.73	-0.30	-39.98	-9.01	-0.33
Капсазепін	-6.39	-3.18	0	-32.18	-4.09	-0.99
3-гідроксо-пропоксазепам	-6.49	-2.43	0	-29.38	-6.11	-1.68
Діазепам	-7.66	-3.05	-0.21	-28.39	-4.67	-2.29
Оксозепам	-6.82	-2.60	0	-26.09	-5.17	-2.41
Пропоксазепам	-7.30	-3.15	-0.57	-35.73	-4.52	-1.12
Резініфератоксин (RTX)	-8.23	-4.02	-0.32	-46.03	-4.67	-0.9
SB-366791	-9.54	-4.48	-0.32	-42.82	-6.50	-1.64

¹**lipo** (lipophilic contact), ²**hbond** (hydrogen bond), ³**evdw** (Van der Waals energy), ⁴**ecoul** (Coulomb energy), ⁵**other interaction type** (metal-binding + rewards + penalty for freezing rotatable bonds + polar interactions in the active site)

Висновки:

1. Пропоксазепам демонструє найбільшу серед представлених сполук енергію зв'язування з KCNQ2 -8,24 ккал/моль і навіть перевищує цей показник для референтної сполуки ретигабіну.
2. За результатами молекулярного докінгу пропоксазепам демонструє найвищу енергію зв'язку з NMDA рецептором серед представлених сполук – 6,77 ккал/моль та найвищу вільну енергію зв'язування MMGBSA – 45,82 ккал/моль, а його положення відрізняється утворенням гідрофобних зв'язків з атомом бромю (позиція «7»). Було помічено, що сполуки були здебільшого залучені до водневих зв'язків з Asn 616 і Phe 613. Іншою важливою взаємодією, яку ми спостерігали, були пі-алкільні або ван-дер-ваальсові зв'язки з Leu 642, Val 639, Val 644 і MetC 641.
3. Докінг-аналіз пропоксазепаму з TRPV1 рецептором (-7,30 ккал/моль) вказує на сильнішу взаємодію з рецептором TRPV1 порівняно з оксазепамом (-6,82 ккал/моль), 3-гідроксопропоксазепамом (-6,49 ккал/моль) і капсазепіном (-6,39 ккал/моль). Пропоксазепам створює водневий зв'язок з TYR 511 рецептора TRPV1 як референтний ліганд SB-366791. Пропоксазепам демонструє один з найбільших внесків водневих зв'язків в енергію взаємодії з рецептором.

Дякую за увагу!

