

К 40-летию Института физиологически активных веществ РАН**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ****КОМПЬЮТЕРНАЯ ОЦЕНКА СЕЛЕКТИВНОСТИ ИНГИБИРОВАНИЯ МУСКАРИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ M1-M4**А.В. Микурова^{1,2*}, В.С. Скворцов^{1,2}, О.А. Раевский¹¹Институт физиологически активных веществ Российской академии наук, 142432, Черноголовка Московской обл., Северный проезд, 1; *эл. почта: a.v.mikurova@ibmc.msk.ru²Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, 119121, Москва, Погодинская ул. 10

Разработан набор моделей для предварительной оценки значения константы ингибирования (K_i) потенциальных лигандов к четырем ацетилхолиновым мускариновым рецепторам M1-M4. В работе использованы сведения о трёхмерной структуре рецепторов человека M1, M2 и M4, а также модель рецептора M3, построенная по гомологии на основе структуры крысиного рецептора M3. Значения K_i для 42 соединений взяты из литературных источников. Для моделирования комплексов “белок-лиганд” использовали процедуры молекулярного докинга и последующей молекулярной динамики. На основании данных, полученных в ходе симуляции молекулярной динамики с использованием методов MM-PBSA/MM-GBSA, рассчитаны покомпонентно энергетические характеристики комплексов, которые были использованы в качестве независимых переменных для построения уравнений линейной регрессии с целью предсказания величины pK_i . Уравнения, полученные для отдельных рецепторов, позволяют предсказывать pK_i со средней точностью 0.65 логарифмической единицы.

Ключевые слова: мускариновые ацетилхолиновые рецепторы; ингибиторы; конкурентное ингибирование; докинг; вычислительные методы; молекулярная динамика; QSAR

DOI: 10.18097/BMCRM00072

ВВЕДЕНИЕ

Ацетилхолиновые мускариновые рецепторы представляют собой группу белков, которые вовлечены в самые разные физиологические процессы. Например, они принимают участие в регуляции когнитивных процессов; оказывают влияние на работу желез внутренней секреции; управляют работой гладкой мускулатуры; а также контролируют двигательную активность [1]. Причём, разные варианты рецепторов имеют различную локализацию в тканях организма. Таким образом, мускариновые рецепторы являются важными биомишенями, ингибиторы которых рассматриваются как лекарственные средства для лечения целого спектра патологических состояний [2]. В этой связи становится особенно важным фактор селективности связывания того или иного соединения, для минимизации возможных побочных реакций в организме [3].

В настоящее время вычислительные методы широко используются для поиска молекулярных структур, обладающих биологической активностью по отношению к заданным рецепторам. Одним из ключевых направлений в этой области является предсказание различных характеристических параметров для молекулы на основании данных молекулярного докинга и молекулярной динамики. Данный подход продемонстрировал высокую эффективность в более ранних работах [4]. Очевидно, что предсказание набора констант ингибирования (K_i) для определённого лиганда относительно максимально полного набора белков как потенциальных мишеней может стать инструментом, который, с одной стороны, может помочь найти высокоселективные структуры как прототипы для будущих лекарственных средств,

а с другой – отбросить на ранних стадиях разработки структуры с потенциально широким спектром побочных явлений.

Основной задачей данной работы было создание набора моделей для оценки параметров конкурентного ингибирования относительно метилскополамина произвольного лиганда к набору ацетилхолиновых мускариновых рецепторов M1, M2, M3 и M4. К сожалению, на момент выполнения работы 3D-структура рецептора M5 (или гомолога достаточно близкого для успешного моделирования) была неизвестна.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ*3D-структуры рецепторов и подготовка данных*

Из 5 ацетилхолиновых мускариновых рецепторов человека 3 (M1, M2 и M4) имеют известную 3D-структуру, доступную в PDB [5, 6] (табл. 1).

Кроме того, ещё один рецептор (M3) имеет известную структуру для рецептора крысы [7]. В настоящей работе мы будем рассматривать только эти 4 рецептора. Несмотря на то, что идентичность рецептора M5 в случае сравнения с M1 достигает 60% при минимальном пороге для успешного моделирования по гомологии в 35% [8], модель данного рецептора может вызвать много вопросов. Дело в том, что трёхмерная структура, строго говоря, получена для химерных, а не реальных рецепторов; в таком варианте внеклеточная часть рецептора заменена на фрагмент другого белка, который, в свою очередь, позволяет сохранить архитектуру мембранной части рецептора [5-7]. В нашем случае при моделировании комплексов рецепторов



Таблица 1. Структуры ацетилхолиновых мускариновых рецепторов, представленные в PDB

Receptor	M1	M2	M3	M4	M5
PDB	5CXV	3UON, 4MQS, 4MQT	4DAJ, 4U14, 4U15, 4U16	5DSG	---
Organism	<i>H. sapiens</i>	<i>H. sapiens</i>	<i>R. norvegicus</i>	<i>H. sapiens</i>	
Insert part/ proper part/ total	160/291/451	160/278/438	118/273/391	185/207/392	
Identity with M1 (%)	100	52.0	58.6	53.4	60.8
Identity with M2 (%)	52.0	100	48.4	62.4	48.9
Identity with M3 (%)	58.6	48.4	100	47.6	52.8
Identity with M4 (%)	53.4	62.4	47.6	100	49.6
Identity with M5 (%)	60.8	48.9	52.8	49.6	100
Ligand with crystal	Tiotropium	Iperoxo; (3R)-1-azabicyclo [2.2.2]oct-3-yl hydroxy(diphenyl)acetate	Tiotropium; N-methyl scopolamine	Tiotropium	

с ингибиторами это не имеет значения, так как место связывания ингибитора существенно удалено от химерной части, и при моделировании она не влияет на ингибитор (рис. 1).

Только структура рецепторов M1 и M2 (использован файл 3UON из Protein Data Bank [9]) пригодна для молекулярного моделирования без модификаций структур. В случае рецептора M4 последовательность разрешена не полностью, в зонах петель, соединяющих основные альфа-спирали, имеются разрывы. Они были заделаны простым подбором петель, подходящих по конфигурации, средствами программы SYBYL-X [10]. Аминокислотные остатки, входящие в состав данных петель, также находятся далеко от места связывания, и их восстановление обеспечивает восстановление целостности структуры, что является необходимым условием для проведения молекулярной динамики, которая играет большую роль в нашей работе. Структура рецептора M3 (файл 4DAJ) была подвергнута виртуальному мутагенезу с целью восстановить на её основе последовательность (и структуру) рецептора человека. Следует отметить, что реальных аминокислотных замен меняющих, например, заряд или локальную гидрофобность (рис. 2), не так уж много, к тому же существенная их часть локализуется в зоне, заменённой на химерную часть, которая, естественно не модифицировалась.

Так как все имеющиеся структуры представляют из себя комплексы с известными ингибиторами, то подготовка включала в себя простую минимизацию в поле сил TRIPOS [10] для расчёта электростатических взаимодействий для рецептора. Для низкомолекулярных ингибиторов использовалась схема частичных зарядов из мерковского поля сил [11].

Данные по ингибиторам с известными значениями K_i

В настоящей работе используются 2 набора данных (табл. 2), отличительной особенностью которых является то, что значения K_i как минимум



Рисунок 1. Внешний вид ацетилхолинового мускаринового рецептора человека M2. Красным выделена структура химерной вставки. Место связывания лиганда (структура лиганда окрашена по типу атомов) расположено на существенном удалении от химерной вставки.

	1					50
Rat	MTLHNSSTTS	PLFFPNISSSW	VHSPSEAGLP	LGTVTQLGSY	NISQETGNFS	
Human	MTLHNSSTTS	PLFFPNISSSW	IHSPSDAGLP	PGTVTHFGSY	NVSKAAGNFS	
	51					100
Rat	SND-TSSDPL	GGHTLWQVVF	IAFLTGFLLAL	VTIIGNILVI	VAFKVNKQLK	
Human	SPDGTDDPL	GGHTVWQVVF	IAFLTGFLLAL	VTIIGNILVI	VAFKVNKQLK	
	101					150
Rat	TVNNYFLLSL	ACADLIIGVI	SMNLFTTYII	MNRWALGNLA	CDLWLSIDYV	
Human	TVNNYFLLSL	ACADLIIGVI	SMNLFTTYII	MNRWALGNLA	CDLWLAIIDYV	
	151					200
Rat	ASNASVMNLL	VISFDRYFSI	TRPLTYRAKR	TTKRAGVMIG	LAWVISFVLW	
Human	ASNASVMNLL	VISFDRYFSI	TRPLTYRAKR	TTKRAGVMIG	LAWVISFVLW	
	201					250
Rat	APAILFWQYF	VGKRTVPPGE	CFIQFLSEPT	ITFGTAIAAF	YMPVTIMTIL	
Human	APAILFWQYF	VGKRTVPPGE	CFIQFLSEPT	ITFGTAIAAF	YMPVTIMTIL	
	251					300
Rat	YWRIYKETEK	RTKELAGLQA	SGTEAETENF	VHPTGSSRSC	SSYELQQQSV	
Human	YWRIYKETEK	RTKELAGLQA	SGTEAETENF	VHPTGSSRSC	SSYELQQQSM	
	301					350
Rat	KRSSRRKYGR	CHFWFTTKSW	KPSAEQMDQD	HSSSDSWNNN	DAAASLENSA	
Human	KRSNRRKYGR	CHFWFTTKSW	KPSSEQMDQD	HSSSDSWNNN	DAAASLENSA	
	351					400
Rat	SSDEEDIGSE	TRAIYSIVLK	LPGHSSILNS	TKLPSSDNLQ	VSNEDLGTVD	
Human	SSDEEDIGSE	TRAIYSIVLK	LPGHSTILNS	TKLPSSDNLQ	VPEEELGMVD	
	401					450
Rat	VERNAEKLQA	QKSMGDGDNQ	QKDFTKLPIQ	LESAVDTCKT	SDTNSSADKT	
Human	LERKADKLQA	QKSVDGGSF	EKSFSKLPIQ	LESAVDTAKT	SDVNSSVGKS	
	451					500
Rat	TATLPLSFKE	ATLAKRFALK	TRSQITKRKR	MSLVKEKAA	QTLSAILLAF	
Human	TATLPLSFKE	ATLAKRFALK	TRSQITKRKR	MSLVKEKAA	QTLSAILLAF	
	501					550
Rat	IITWTPYNIM	VLVNTFCDSC	IPKTYWNLGY	WLCYINSTVN	PVCYALCNKT	
Human	IITWTPYNIM	VLVNTFCDSC	IPKTEWNLGY	WLCYINSTVN	PVCYALCNKT	
	551					600
Rat	FRTTFKMLLL	CQCDKRRRK	QQYQQRQSVI	FHKRVPEQAL		
Human	FRTTFKMLLL	CQCDKRRRK	QQYQQRQSVI	FHKRAPEQAL		

Рисунок 2. Сравнение последовательностей ацетилхолинового мускаринового рецептора крысы и человека. Красным выделены различия в последовательности. Часть последовательности, заменённая в химерном белке, подчёркнута.

в 2/3 выборки доступны для всей линейки ацетилхолиновых мускариновых рецепторов человека. Кроме того, обе выборки были получены на одном и том же наборе клеточных линий, и величина K_i оценивалась одним методом [12] по конкуренции с меченым метилскополоамином. Выборка 1 [13] представляет собой коллекцию данных из различных источников, однако, оценка K_i , насколько можно судить по анализу источников, проводилась единообразно. Её достоинством также является относительно широкий диапазон данных – более 4-х логарифмических единиц. К сожалению, основной недостаток выборки 2 [14] – узкий диапазон значений K_i (меньше 2-х логарифмических единиц).

В то же время, данные для второй выборки были получены одной группой в ходе выполнения единого проекта. Общим недостатком выборок являются их небольшие размеры.

Процедура моделирования комплексов и расчёта параметров для создания предсказательных моделей.

Комплексы ингибиторов с рецепторами моделировались по единой схеме:

1. Докирование программой Dock 6.4 [15] с использованием встроенной оценочной функции и отбором 3 лучших вариантов после кластеризации результатов (RMS=2.0 Å).

Таблица 2. Структуры ацетилхолиновых мускариновых рецепторов, представленные в PDB

№	ChEMBL ID	Compound name	M1			M2			M3			M4			Result of docking and primary selection				
			pK _i	pK _d	pIC ₅₀	pK _i	pK _d	pIC ₅₀	pK _i	pK _d	pIC ₅₀	pK _i	pK _d	pIC ₅₀	Reference	M1	M2	M3	M4
1	CHEMBL168067	4-DAMP	9.2			8.3			9.3			8.9			[9]	1	1	1	1
2	CHEMBL1194325	acridinium						9.8							[9]	1	1	N/D	1
3	<unknown>	AE9C90CB	9.7			8.6			9.9			9.5			[9]	1	1	1	1
4	<unknown>	AFDX384	7.5			8.2			7.2			8.0			[9]	1	1	1	1
5	CHEMBL43383	AQ-RA 741	7.2			8.4			7.2			7.8			[9]	1	WRONG	1	N/D
6	CHEMBL517712	atropine	8.5			7.8			8.9						[9]	1	1	1	1
7	CHEMBL1101	biperiden		9.3				8.2			8.4		8.6		[9]	1	1	1	N/D
8	CHEMBL620	clidinium							9.6						[9]	1	1	1	1
9	CHEMBL1346	darifenacin	7.5			7.0			8.6			7.3			[9]	N.D	1	1	1
10	CHEMBL1123	dicyclomine	9.1						9.0						[9]	1	1	1	1
11	CHEMBL1201335	glycopyrrolate			9.9					9.3				9.8	[9]	1	1	1	N/D
12	<unknown>	guanylpirenzepine	7.3			5.3			6.2			6.2			[9]	1	WRONG	1	1
13	CHEMBL277642	himbacine	6.7			7.9			6.9			7.9			[9]	1	WRONG	1	WRONG
14	CHEMBL1621597	ipratropium							9.3						[9]	N/D	1	1	1
15	<unknown>	ML381													[9]	N/D	1	N/D	N/D
16	CHEMBL17045	otenzepad		6.2		6.7			6.1				7.0		[9]	N/D	WRONG	1	1
17	CHEMBL1231	oxybutynin	8.6			7.7			8.8			8.7			[9]	1	1	1	1
18	CHEMBL9967	pirenzepine	7.8			6.0			6.5			7.0			[9]	1	1	1	1
19	CHEMBL1180725	propranetheline	9.7			9.5			10.0						[9]	1	WRONG	1	1
20	CHEMBL1187846	scopolamine	9.0												[9]	1	1	N/D	N/D
21	CHEMBL1734	solifenacin	7.6			6.9			7.7			6.8			[9]	1	1	1	1

Примечание: N/D - докинг не нашёл решения; WRONG - найденное докингом решение противоречит укладке аналогов, либо ложит, в основном, не в общем месте связывания.

Таблица 2. Структуры ацетилхолиновых мускариновых рецепторов, представленные в PDB (продолжение)

№	ChEMBL ID	Compound name	M1			M2			M3			M4			Result of docking and primary selection			
			pK _i	pK _d	pIC ₅₀	pK _i	pK _d	pIC ₅₀	pK _i	pK _d	pIC ₅₀	pK _i	pK _d	pIC ₅₀	Reference	M1	M2	M3
22	ChEMBL1900528	tiotropium	9.6			9.9			9.5					[9]	1	1	1	1
23	ChEMBL1382	tolterodine	8.5			8.4			8.4			8.3		[9]	1	1	1	1
24	ChEMBL1490	trihexyphenidyl	8.9											[9]	1	1	N/D	1
25	ChEMBL1200604	tropicamide							7.5					[9]	1	1	1	1
26	<unknown>	UH-AH 37	8.6			7.3			8.1			8.3		[9]	1	WRONG	1	WRONG
27	ChEMBL1187833	umeclidinium	9.8			9.8			10.2			10.3		[9]	1	1	1	1
28	ChEMBL1628667	VU0255035	7.8			6.2			6.1			5.9		[9]	1	1	1	1
29	ChEMBL45454		8.1			8.1			8.8			8.2		[10]	1	1	1	1
30	ChEMBL220393		8.8			8.8			8.3			8.7		[10]	1	1	1	1
31	ChEMBL222259		9.1			9.1			9.0			9.2		[10]	1	1	1	1
32	ChEMBL375851		8.5			8.5			8.3			8.5		[10]	1	1	1	1
33	ChEMBL376057		9.1			9.1			9.2			9.1		[10]	1	1	1	1
34	ChEMBL219786		9.0			9.0			9.5			9.1		[10]	1	1	1	1
35	ChEMBL375969		9.3			9.3			9.1			9.3		[10]	1	1	1	1
36	ChEMBL376897		9.8			9.0			9.9			9.8		[10]	1	1	1	1
37	ChEMBL376870		9.0			9.8			8.7			9.0		[10]	1	1	1	1
38	ChEMBL219825		8.3			8.3			8.8			8.9		[10]	1	1	1	1
39	ChEMBL375073		8.6			8.6			8.6			8.7		[10]	1	1	1	1
40	ChEMBL376255		8.4			8.4			8.8			8.9		[10]	1	1	1	1
41	ChEMBL385328		8.6			8.6			9.0			8.6		[10]	1	1	1	1
42	ChEMBL373515		8.3			8.3			8.3			8.5		[10]	1	1	1	1

Примечание: N/D - докинг не нашёл решения; WRONG - найденное докингом решение противоречит укладке аналогов, либо лежит, в основном, не в общем месте связывания.

2. Каждый из 3-х полученных вариантов оптимизировался при помощи программы Amber16 [16] многостадийной процедурой:

a. формирование бокса водного окружения (модель воды TIP3);

b. оптимизация свободной энергии комплекса минимизацией в поле сил “Amber 02” до 1000 итераций в периодические граничных условиях;

c. симуляция молекулярной динамики с последовательным разогревом системы (100 пс, с шагом в 2 фс), выравниванием давления (100 пс), уравнивания системы (0.5 нс), симуляция продуктивной динамики (1 нс).

3. На последнем этапе молекулярной динамики на основании полученной траектории модулем MMPBSA были рассчитаны параметры для 25 последовательных состояний с использованием методов MMPBSA и MMGBSA, включая расчёт энтропийных вкладов.

4. Параметры, рассчитанные модулем MMPBSA, были использованы в качестве независимых переменных для создания уравнений предсказывающих $pK_i = -\log(K_i)$. Сольватационную составляющую вычисляли как методом Poisson-Boltzmann (PB), так и методом Generalized Born (GB) [17]. При этом в уравнениях использовали оба набора данных (по 4 компонента из каждого метода). Оба варианта дополняют друг друга и, в среднем, часто дают лучший результат. В работе использованы: молекулярный вес, изменение величины электростатического взаимодействия (ELE); величины ван-дер-ваальсовых взаимодействий (VDW); рассчитанные модулем NMODE [17] значения трансляционного (TSTRA), ротационного (TSROT) и колебательного (TSVIB) энтропийных вкладов. При этом последний параметр в силу своей вариативности оказался бесполезен. Возможно, это связано с недостаточной продолжительностью вычислений, установленных в модуле MMPBSA по умолчанию. Однако, увеличивать продолжительность вычислений в данном случае сильно затратно по времени. Расчёт этого параметра занимает более половины всего вычислительного времени для каждого конкретного комплекса.

Для построения предсказательных моделей использовались простые уравнения линейной регрессии. Так как в результате для таких уравнений

было использовано 9 независимых переменных, то малые размеры выборок были серьёзным препятствием. Эту проблему преодолели, используя в качестве наблюдений все 25 состояний для любого из ингибиторов, полученных при динамике. Каждому из этих 25 состояний соответствовало одно и то же значение pK_i .

Для выполнения расчетов был использован гибридный высокопроизводительный вычислительный комплекс ФИЦ ИУ РАН [18] IBM Minsky (2× Power8, 4× Tesla P100). Так как часть вычислений не могла быть выполнена на GPU, был написан набор макросов для балансировки нагрузки сервера. Среднее время расчётов на 1 комплекс составило 46 мин для вычислений на GPU и 4 часа на CPU.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основной проблемой при анализе результатов докирования стала проблема выбора “правильного” комплекса. Достоверного на 100% способа отбора не существует, к тому же, в ряде случаев процедура докирования вообще не нашла решения (табл. 2). Выбор по оценочной функции докинга или последующей оценке энергетических параметров, полученных методом MMPBSA, в данном случае не помогает из-за больших размеров белка, плотной упаковки в районе места связывания и имеющихся полостей по соседству. Единственный возможный путь в данном случае – применить отбор вариантов по подобию: имеется группа похожих по структуре лигандов из одного химического ряда, следовательно, структуры их комплексов должны быть относительно похожи. Учитывая, что в нашем случае структура комплекса подвергается длительной процедуре оптимизации, нас, в основном, интересовало, чтобы положение молекулы, полученное в результате докирования, занимало соответствующее место, а молекулы в пределах одного гомологического ряда располагали общую часть относительно похоже, в надежде на то, что оптимизация потом “дотянет” лиганд до нужной конформации. В результате (табл. 3) были отброшены ещё несколько вариантов.

В таблице 3 приведены параметры построенных корреляционных уравнений.

Уравнения “обучались” на наборе из 25 состояний для каждой из молекул выборки (общий вариант).

Таблица 3. Показатели обучения моделей линейной регрессии по отдельным рецепторам

Показатель	M1	M2	M3	M4
Выборка 1, R ² обучения (общий)	0.62	0.59	0.49	0.76
Выборка 1, R ² обучения (усреднённый)	0.68	0.74	0.59	0.92
Выборка 2, R ² обучения (общий)	0.49	0.55	0.42	0.47
Выборка 2, R ² обучения (усреднённый)	0.64	0.61	0.55	0.53
Объединённая, R ² обучения (общий)	0.60	0.34	0.42	0.58
Объединённая, R ² обучения (усреднённый)	0.68	0.39	0.49	0.68

Таким образом, даже при самом минимальном наборе молекул в выборке формально число наблюдений многократно превышало число независимых переменных (9). В то же время, как при оценке качества обучения, так и при использовании тестовых выборок для каждой молекулы получали набор из 25 предсказаний, на основе которых вычисляли среднее значение. Предсказательную силу моделей оценивали путём перекрёстного предсказания между выборками 1 и 2. Сравнение зон предсказания (на рисунке 3 для рецептора М3) показывает правильность сделанного предсказания. Та же картина характерна для всех рецепторов.

Было проведено также сравнение предсказательной силы уравнений при кросс-рецепторном предсказании (табл. 4).

Однако удовлетворительного результата получено не было. Несмотря на то, что даже в этом случае можно различить слабые и сильные ингибиторы (рис. 4), достоверность таких предсказаний невысока.

Создание же объединённой выборки даже при использовании индикаторных переменных,

характеризующих к какому рецептору относятся данные, не даёт при обучении удовлетворительного результата.

Тем не менее, использование данных уравнений, рассчитанных для каждого из рецепторов, позволяет при некоторых априорных ограничениях предсказать pK_i со средней точностью 0.65 логарифмической единицы. И таким образом возможно построить профиль действия любого соединения на ацетилхолиновые мускариновые рецепторы человека. При наличии же предполагаемого профиля действия становится возможным более эффективное планирование экспериментов по тестированию новых соединений и выявлению возможных побочных явлений на ранней стадии разработки лекарственных средств.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках государственного задания на 2018 год (тема № 0090-2017-0020). Подготовка и отладка программного обеспечения выполнялась при поддержке гранта РФФИ № 18-29-03100.

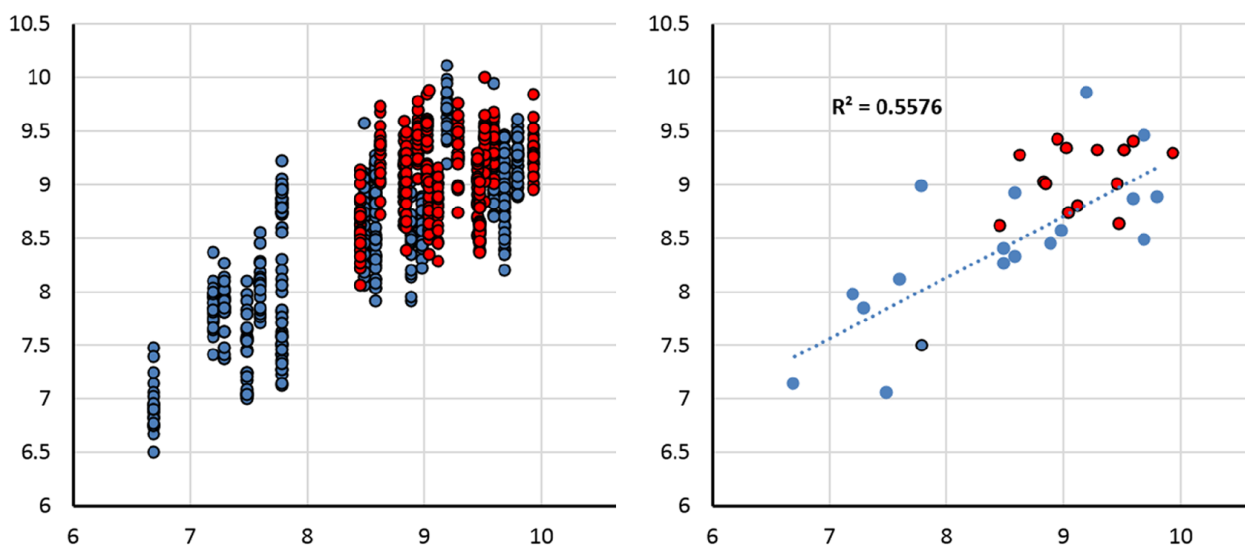


Рисунок 3. Предсказание выборки 2 (красный) по модели, обученной на выборке 1 (синий). Рецептор М3.

Таблица 4. Предсказательная способность моделей при кросс-рецепторном предсказании (R^2)

Обучающая выборка	Предсказываемая выборка			
	M1	M2	M3	M4
M1 (общий)	-	0.24	0.49	0.28
M1 (усреднённый)	-	0.26	0.56	0.30
M2 (общий)	0.15	-	0.12	0.21
M2 (усреднённый)	0.19	-	0.14	0.23
M3 (общий)	0.31	0.12	-	0.26
M3 (усреднённый)	0.36	0.13	-	0.29
M4 (общий)	0.25	0.21	0.35	-
M4 (усреднённый)	0.30	0.26	0.40	-

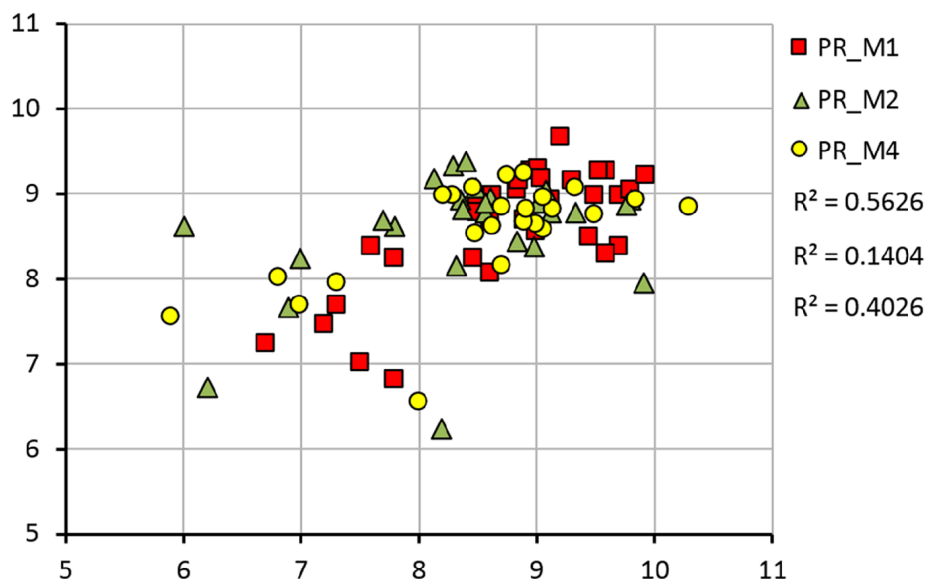


Рисунок 4. Предсказание для выборок по рецепторам M1, M2 и M4 по модели, обученной на выборке рецептора M3.

ЛИТЕРАТУРА

- Eglen, R.M. (2006) Muscarinic receptor subtypes in neuronal and non-neuronal cholinergic function. *Autonomic and Autacoid Pharmacology*, 26(3), 219-233. DOI: 10.1111/j.1474-8673.2006.00368.x
- Langmead, C.J., Watson, J., & Reavill, C. (2008) Muscarinic acetylcholine receptors as CNS drug targets. *Pharmacology & therapeutics*, 117(2), 232-243. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2007.09.009
- Freedman, S.B., Dawson, G.R., Iversen, L.L., Baker, R., & Hargreaves, R.J. (1993) The design of novel muscarinic partial agonists that have functional selectivity in pharmacological preparations *in vitro* and reduced side-effect profile *in vivo*. *Life sciences*, 52(5-6), 489-495. DOI: 10.1016/0024-3205(93)90306-N
- Mikurova, A.V., Rybina, A.V., & Skvortsov, V.S. (2016) Prediction of selective inhibition of neuraminidase from various influenza virus strains by potential inhibitors. *Biomeditsinskaya khimiya*, 62(6), 691-703. DOI: 10.18097/PBMC20166206691
- Thal, D.M., Sun, B., Feng, D., Nawaratne, V., Leach, K., Felder, C.C., ... & Kobilka, T. S. (2016) Crystal structures of the M1 and M4 muscarinic acetylcholine receptors. *Nature*, 531(7594), 335.
- Haga, K., Kruse, A.C., Asada, H., Yurugi-Kobayashi, T., Shiroishi, M., Zhang, C., ... & Kobayashi, T. (2012) Structure of the human M2 muscarinic acetylcholine receptor bound to an antagonist. *Nature*, 482(7386), 547.
- Kruse, A.C., Hu, J., Pan, A.C., Arlow, D.H., Rosenbaum, D.M., Rosemond, E., ... & Shaw, D.E. (2012) Structure and dynamics of the M3 muscarinic acetylcholine receptor. *Nature*, 482(7386), 552.
- Blundell, T., Carney, D., Gardner, S., Hayes, F., Howlin, B., Hubbard, T., ... & Sutcliffe, M. (1988) Knowledge-based protein modelling and design. *European Journal of Biochemistry*, 172(3), 513-520. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1988.tb13917.x
- Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H., ... & Bourne, P.E. (2000) The protein data bank. *Nucleic acids research*, 28(1), 235-242. DOI: 10.1093/nar/28.1.235
- SYBYL-X 2.1. Certara, Princeton, NJ, USA.
- Halgren, T.A. (1996) Merck molecular force field. II. MMFF94 van der Waals and electrostatic parameters for intermolecular interactions. *Journal of Computational Chemistry*, 17(5/6), 520-552. DOI: 10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6%3C520::AID-JCC2%3E3.0.CO;2-W
- Scapecchi, S., Marucci, G., Matucci, R., Angeli, P., Bellucci, C., Buccioni, M., ... & Teodori, E. (2001) Structure-activity relationships in 2, 2-diphenyl-2-ethylthioacetic acid esters: unexpected agonistic activity in a series of muscarinic antagonists. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 9(5), 1165-1174. DOI: 10.1016/S0968-0896(00)00332-1
- Alexander, S.P., Christopoulos, A., Davenport, A.P., Kelly, E., Marrion, N.V., Peters, J.A., ... & Southan, C. (2017) The Concise Guide to PHARMACOLOGY 2017/18: G protein-coupled receptors. *British journal of pharmacology*, 174(S1). DOI: <https://doi.org/10.1111/bph.13878>
- Dei, S., Bellucci, C., Buccioni, M., Ferraroni, M., Guandalini, L., Manetti, D., ... & Romanelli, M.N. (2007) Synthesis, affinity profile, and functional activity of muscarinic antagonists with a 1-methyl-2-(2,2-alkylaryl-1,3-oxathiolan-5-yl) pyrrolidine structure. *Journal of medicinal chemistry*, 50(6), 1409-1413. DOI: 10.1021/jm061374r
- Kuntz, I.D., Blaney, J.M., Oatley, S.J., Langridge, R., & Ferrin, T.E. (1982) A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of molecular biology*, 161(2), 269-288. DOI: 10.1016/0022-2836(82)90153-X
- Case, D.A., Cheatham, T.E., Darden, T., Gohlke, H., Luo, R., Merz, K.M., ... & Woods, R.J. (2005) The Amber biomolecular simulation programs. *Journal of computational chemistry*, 26(16), 1668-1688. DOI: 10.1002/jcc.20290
- Massova, I., & Kollman, P.A. (2000) Combined molecular mechanical and continuum solvent approach (MM-PBSA/GBSA) to predict ligand binding. *Perspectives in drug discovery and design*, 18(1), 113-135. DOI: 10.1023/A:1008763014207
- Federal Research Center Computer Science and Control of Russian Academy of Sciences [Electronic resource] : site. - Moscow: FRC CS RAS. - URL: <http://hhpcc.frcsc.ru> (application date: 09/12/2018)

Поступила: 24. 08. 2018.
Принята к публикации: 07. 09. 2018.

COMPUTATIONAL EVALUATION OF SELECTIVITY OF INHIBITION OF MUSCARINIC RECEPTORS M1-M4

A.V. Mikurova^{1,2}, V.S. Skvortsov^{1,2}, O.A. Raevsky¹*

¹Institute of Physiologically Active Compounds of the Russian Academy of Sciences,
1 Severny proezd, Moscow region, Chernogolovka, 142432 Russia; *e-mail: a.v.mikurova@ibmc.msk.ru

²Institute of Biomedical Chemistry, 10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia

A set of models for preliminary estimation of the inhibition constant values of potential ligands for the 4 acetylcholine muscarinic receptors M1-M4 was developed. The study uses an information about three-dimensional structure of human M1, M2 and M4 receptors, as well as the M3 receptor model, constructed by homology based on the structure of the rat M3 receptor. The K_i values for 42 compounds were obtained from the sources. Modeling of “protein-ligand” complexes was performed using molecular docking and molecular dynamics procedures. The component energy characteristics of the complexes were calculated from data obtained from simulation of molecular dynamics by the MM-PBSA/MM-GBSA methods. These characteristics were used as independent variables to construct the linear regression equations for pK_i value predicting. The equations obtained for each receptors allow us to predict pK_i with an average accuracy of 0.65 logarithmic units.

Key words: acetylcholine muscarinic receptors; inhibitors; comparative inhibition; docking; computational methods; molecular dynamics; QSAR

ACKNOWLEDGMENTS

The work was carried out within the framework of the state task for 2018 (topic number 0090-2017-0020). The software tuning on hybrid cluster was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project 18-29-03100).