

Роль электростатических взаимодействий в связывании психотропных препаратов с NMDA-рецептором по данным компьютерного моделирования

Шестакова Н.Н., Барыгин О.И., Белинская Д.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

n_shestakova@list.ru

Некоторые психотропные препараты являются потенциал-зависимыми каналоблокаторами глутаматных NMDA-рецепторов. Этим определяются их побочные (позитивные и негативные) эффекты, в том числе способность управлять синдромом нейропатической боли. Цель представленного исследования – методами компьютерного моделирования изучить связывание психотропных препаратов в канале NMDA-рецептора, определить вклад различных взаимодействий в этот процесс и выявить структурные особенности препаратов, определяющих их антиглутаматергическую активность. Поиск геометрических и электростатических характеристик препарата, определяющих его способность блокировать NMDA-рецептор, был проведен методом анализа структурно-функциональных отношений. Методом молекулярного докинга с последующей минимизацией энергии были определены аминокислоты канала NMDA-рецептора, взаимодействие с которыми определяет ингибиторную эффективность психотропных препаратов, рассчитаны энергетические характеристики лиганд-рецепторных комплексов. Было выявлено, что электростатические взаимодействия играют определяющую роль в связывании антидепрессантов, антиконвульсантов и антипсихотиков в канале NMDA-рецептора. Способность психотропного препарата ингибировать рецептор по потенциал-зависимому механизму определяется наличием в молекуле соединения протонированной аминогруппы, которая внутри поры канала рецептора взаимодействует с аминокислотным остатком Asn608. Наличие в гетероциклической группе препарата атомов азота и кислорода, взаимодействующих внутри канала рецептора с аминокислотным остатком Thr646, усиливает силу связывания и антиглутаматергическую активность препарата.

Ключевые слова: психотропные препараты, NMDA-рецептор, компьютерное моделирование, анализ структурно-функциональных отношений, молекулярный докинг.

The role of electrostatic interactions in the binding of psychotropic drugs to NMDA receptor according to computer simulation

Shestakova N.N., Barygin O.I., Belinskaia D.A.

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences

Some psychotropic drugs are capable of blocking NMDA glutamate receptors by voltage-dependent mechanism. It determines their side effects (positive and negative), including the ability to manage the syndrome of neuropathic pain. The purpose of the present work is to study the binding of psychotropic drugs to NMDA receptor by computer simulation methods, to determine the contribution of various interactions to this process, and to reveal the structural features of the drugs that determine their antiglutamatergic activity. The search for the geometric and electrostatic characteristics of the drugs determining their ability to block NMDA receptor was carried out by the analysis of structural-activity relationships. The amino acids of NMDA receptor that interaction of psychotropic drugs with determines their inhibitory effectiveness were determined by molecular docking and further energy minimization. The energy characteristics of the obtained ligand-receptor complexes were calculated. It has been revealed that electrostatic interactions play the main role in the binding of antidepressants, anticonvulsants and antipsychotics in the channel of NMDA receptor. The ability of psychotropic drug to inhibit the receptor by voltage-dependent mechanism is determined by the presence of protonated amino group in its structure, which interacts with the amino acid residue Asn608 within the pore of the

receptor channel. The presence of nitrogen or oxygen atoms in the heterocyclic group of psychotropic drug, which interact with the amino acid residue Thr646 within the receptor channel, enhances the binding efficiency and antiproliferative activity.

Key words: psychotropic drugs, NMDA receptors, computer simulation, structure-activity relationship, molecular docking simulation.

1. Введение

Некоторые психотропные препараты (антидепрессанты, антиконвульсанты и антипсихотики) способны потенциал-зависимо блокировать глутаматные NMDA-рецепторы [1–2]. Этим определяются их побочные (позитивные и негативные) эффекты, в том числе способность управлять синдромом нейропатической боли. Проведенный нами ранее теоретический конформационный анализ выявил, что препараты, способные блокировать NMDA-рецептор, содержат в своей структуре систему ароматических колец, расположенных под углом 100–160 градусов (V-образная группа) [3–4]. Но наличие V-образной группы является необходимым, но не достаточным условием антиглутаматергической эффективности препарата. Так, оказалось, что антиконвульсант карбамазепин и антидепрессант миансерин, содержащие в своей структуре V-образную группу и эффективные для лечения нейропатической боли, не блокируют NMDA-рецептор.

Цель представленного исследования – методами компьютерного моделирования изучить связывание психотропных препаратов с NMDA-рецептором, определить вклад различных взаимодействий в этот процесс и выявить структурные особенности препаратов, определяющих их антиглутаматергическую активность. Полученные данные помогут проводить отбор эффективных противоболевых препаратов среди клинически одобренных антидепрессантов, антиконвульсантов и антипсихотиков.

2. Методы

В исследование были включены следующие психотропные препараты: трициклические антидепрессанты amitriptyline, clomipramine, desipramine, imipramine, nortriptyline, протриптилин, ингибитор обратного захвата норадреналина atomoxetine, антипсихотики chlorpromazine и thioridazine. Структуры соединений представлены на рисунке 1.

Трехмерные модели молекул препаратов были построены и затем минимизированы методом скорейшего спуска [5] с помощью программы HyperChem 8.0.8 [6]. Заряды на атомах были рассчитаны полуэмпирическим методом MNDO. Константы диссоциации кислоты и процентное содержание различных типов состояний протонирования были рассчитаны с помощью программы MarvinView 17.3.13.0 [7]. Для анализа

структурно-функциональных отношений в качестве функциональных характеристик использовались значения IC_{50} (концентрация полумаксимального ингибирования NMDA-рецептора) amitriptyline, chlorpromazine, clomipramine, desipramine, imipramine, nortriptyline, протриптилина, тиоридазина из работы [1] (табл.). Наши исследования показали, что независимо от условий эксперимента desipramine и atomoxetine обладают одинаковой антиглутаматергической активностью [2]. Поэтому atomoxetine был также включен в выборку со значением IC_{50} равным значению IC_{50} desipramine (табл.).

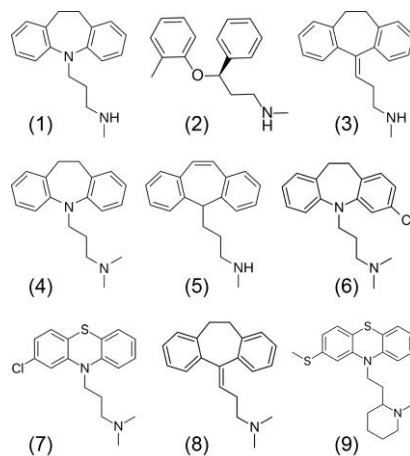


Рис. 1. Структуры психотропных препаратов: (1) дезипрамин; (2) атомоксетин; (3) нортриптилин; (4) имипрамин; (5) протриптилин; (6) кломипрамин; (7) хлорпромазин; (8) амитриптилин; (9) тиоридазин.

Для статистического анализа значения IC_{50} были переведены в логарифмическую шкалу: $pIC_{50} = -\lg(IC_{50})$. В качестве структурных характеристик использовались молекулярные дескрипторы, рассчитанные с помощью онлайн сервиса ChemDes [8]. Были рассчитаны 1135 дескрипторов из библиотеки ChemoPy [9] и 1875 дескрипторов из библиотеки PaDel [10]. Для поиска зависимости между антиглутаматергической активностью препаратов и рассчитанными молекулярными дескрипторами вычислялся квадрат линейного коэффициента корреляции r^2 .

В качестве трехмерной модели рецептора была использована модель NMDA-рецептора гладкой шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*, код структуры 5uow [11]. Для процедуры докинга мы использовали лишь те фрагменты субъединиц рецептора, которые образуют пору канала. Недостающие боковые радикалы аминокислот были достроены с помощью

программы VMD [12], затем с помощью программы NAMD [13] структура была оптимизирована методом минимизации энергии в вакууме. Молекулярный докинг проводился с помощью программного пакета Autodock 4.2 [14]. Для поиска оптимальной конформации комплекса рецептор-лиганд был использован ламарковский генетический алгоритм [14] с числом запусков равным 100. В каждой паре белок-препарат из полученных 100 возможных конформаций отбиралась конформация с наименьшей энергией для последующей оптимизации полученной структуры путем минимизации энергии методом сопряженных градиентов в силовом поле CHARMM [15] с помощью программы NAMD [13].

3. Результаты и обсуждение

На первом этапе для препаратов были рассчитаны константы диссоциации кислоты (рКа) аминогруппы и процентное содержание протонированной формы при физиологическом значении рН = 7.2. Результаты представлены в таблице. Как видно из полученных значений, для всех препаратов, кроме тиоридазина, 99 % процентов молекул находятся в протонированной форме, в случае тиоридазина – 89 % молекул протонированы. Поэтому для дальнейших расчетов для всех соединений использовалась протонированная форма, то есть суммарный заряд всех молекул был равен +1. Помимо процентного содержания протонированной формы для всех соединений были рассчитаны основные физико-химические характеристики, такие как объем молекулы и коэффициент липофильности (LogP) (табл.). Как видно из представленных значений, способность препаратов ингибировать NMDA-рецептор не связана с такими его характеристиками как гидрофобность молекулы или её стерические размеры.

На следующем этапе был проведен анализ структурно-функциональных отношений исследуемых соединений. Малочисленная выборка препаратов (9 соединений) не позволяет провести полноценное QSAR-моделирование и составить математическое уравнение зависимости антиглутаматергической активности препарата от его структурных характеристик. Тем не менее, полученная информация может быть использована для дальнейшего уточнения роли отдельных групп препарата и вкладе различных типов взаимодействий в эффективность ингибирующей способности психотропов. Максимальное значение квадрата коэффициента корреляции $r^2 = 0.87$ (достоверная корреляция для уровня значимости $p < 0.05$) было найдено для дескриптора MATS5e, который описывается следующей формулой [16]:

$$MATS5e = \frac{\frac{1}{\Delta} \cdot \sum_{i=1}^A \sum_{j=1}^A \delta_{ij} \cdot (e_i - \bar{e})(e_j - \bar{e})}{\frac{1}{A} \sum_{i=1}^A (e_i - \bar{e})^2}, \quad (1)$$

где A – число атомов в молекуле, e – электроотрицательность атомов, \bar{e} – среднее значение электроотрицательности атомов в молекуле, Δ – число атомов в молекуле, расположенных через 5 связей друг от друга, δ_{ij} – оператор Кронеберга, который равен 1, если атомы i и j расположены через 5 связей друг от друга, и равен 0 в противном случае. Этот дескриптор можно интерпретировать как степень разброса значений электроотрицательностей атомов на заданном расстоянии. Для всех соединений 5 связей – это расстояние между основанием гетероциклической части молекул и атомов углерода и водорода аминной группы. Дезипрамин, атомоксетин, нортриптилин и протриптилин – вторичные амины, их антиглутаматергическая активность выше (табл.). Кломипрамин, хлорпромазин, амитриптилин и тиоридазин – третичные амины, их активность ниже. Исключение составляет третичный амин имипрамина, эффективность которого выше, чем у вторичного амина промипрамина. С другой стороны, среди вторичных аминов дезипрамин и атомоксетин эффективнее нортриптилина и протриптилина. В гетероциклической части молекул дезипрамина и атомоксетина, в отличие от нортриптилина и протриптилина, присутствуют электроотрицательные атомы – азот и кислород соответственно. Схожая зависимость наблюдается и для третичных аминов: имипрамин, кломипрамин и хлопромазин эффективнее амитриптилина. Исключением является тиоридазин, содержащий в своей гетероциклической части атомы азота и серы, но обладающего меньшей антиглутаматергической эффективностью, чем амитриптилин. По всей видимости, это может быть связано со стерическими размерами молекулы тиоридазина (табл.). Тот факт, что ингибирующая эффективность данного ряда препаратов не зависит от общей липофильности молекулы, а зависит от распределения атомов лишь на определенном расстоянии друг от друга, указывает на то, что, по всей видимости, заряженные группы соединения взаимодействуют с определенными аминокислотами внутри канала NMDA-рецептора.

На следующем этапе был проведен молекулярный докинг исследуемых психотропных препаратов внутрь поры канала NMDA рецептора. Структуры полученных моделей были оптимизированы методом минимизации энергии, были рассчитаны значения энергии электростатических ($E_{эл}$) и невалентных взаимодействий (E_{vdw}) атомов в полученных комплексах (табл.).

Таблица. Антиглутаматергические, геометрические и электростатические характеристики психотропных препаратов

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
IC₅₀, мкМ [1]	7.41	7.41*	20.98	22.52	24.9	44.87	45.87	57.25	92.45
pIC₅₀	5.13	5.13	4.68	4.65	4.6	4.35	4.34	4.24	4.03
протон., %	99.8	99.8	99.9	99	99.9	99	99	99.7	89.5
объем, Å³	893	884	890	942	890	986	942	937	1102
LogP	0.03	0.09	1.4	0.28	1.57	0.05	-1.5	0.53	-1.14
MAT5e	-0.061	-0.072	-0.005	-0.025	-0.009	0.03	0.052	0.01	0.043
заряд N	-0.046	-0.047	-0.046	-0.1	-0.046	-0.101	-0.101	-0.101	-0.09
заряд цикл.	-0.343	-0.294	0.091	-0.344	0.077	-0.348	-0.326	0.087	-0.33
E_{эл}, ккал/моль	-4125	-4122	-4115	-4095	-4089	-4081	-4106	-4063	-4095
E_{vdw}, ккал/моль	-731	-761	-742	-751	-764	-734	-732	-766	-758

(1) – дезипрамин, (2) – атомоксетин, (3) – нортриптилин, (4) – имипрамин, (5) – протриптилин, (6) – кломипрамин, (7) – хлорпромазин, (8) – амитриптилин, (9) – тиоридазин, IC₅₀ – константа ингибирования NMDA-рецептора, pIC₅₀ – константа ингибирования NMDA-рецептора в логарифмической шкале, протон. – процент протонированной формы препарата при pH=7.2, объем – объем молекулы препарата, LogP – коэффициент липофильности, MAT5e – значение молекулярного дескриптора MAT5e (см. уравнение 1), заряд N – заряд на атоме азота аминогруппы препарата, заряд цикл. – заряд на атоме в основании гетероциклической группы препарата, E_{эл} – электростатическая энергия комплекса препарата с NMDA-рецептором, E_{vdw} – энергия невалентных взаимодействий в комплексе препарата с NMDA-рецептором.

Как видно из рассчитанных значений, эффективность психотропов не связана с величиной E_{vdw}. В случае E_{эл}, в целом ингибирующая эффективность препарата уменьшается с уменьшением величины E_{эл} системы. Исключение составляют лишь хлорпромазин и тиоридазин, для них ингибирующая эффективность меньше, чем можно было бы ожидать по величине E_{эл}. Эти два препарата отличаются от остальных наличием атомов серы в составе их трициклических групп, которые, возможно, влияют на процесс проникновения молекулы препарата внутрь канала рецептора. В случае тиоридазина большие стерические размеры и более низкий процент протонированной формы также может уменьшать эффективность взаимодействия с рецептором.

Графический анализ полученных лиганд-рецепторных комплексов показал, что атомы водородов аминогрупп всех препаратов взаимодействуют с атомом кислорода OD1 аминокислотного остатка Asn608 субъединицы GluN2B рецептора, расстояния между атомами варьируются от 1.7 до 2.0 ангстремов. Такое взаимодействие объясняет тот факт, что трициклический антидепрессант миансерин и антиконвульсант карбамазепин не способны ингибировать NMDA-рецептор по потенциал-зависимому механизму: лишь 30 % молекул миансерина и 0 % молекул карбамазепина протонированы при pH = 7.2. Полученные нами данные согласуются с работой [17], авторы которой показали, что эффективность блокады NMDA-рецептора производными дексоксадролы зависит от аффинности соединения к атому водорода. Препараты, содержащие в своей гетероциклической

группе электроотрицательный атом (азот в случае дезипрамина, имипрамина, кломипрамина и кислород в случае атомоксетина), взаимодействуют с OH-группой аминокислотного остатка Thr646 субъединицы GluN1, расстояние варьируется от 4.2 до 4.9 ангстремов. На рисунке 2 на примере молекулы дезипрамина представлены описанные взаимодействия. В случае хлорпромазина и тиоридазина, атом серы трициклической группы препаратов взаимодействует с остатком Thr640 субъединицы GluN2B и остатком Met639 субъединицы GluN1 соответственно.

Таким образом, электростатические взаимодействия играют определяющую роль в связывании антидепрессантов, антиконвульсантов и антипсихотиков в канале NMDA-рецептора. Способность психотропного препарата ингибировать рецептор по потенциал-зависимому механизму определяется наличием в молекуле соединения протонированной аминогруппы, которая внутри поры канала рецептора взаимодействует с аминокислотным остатком Asn608. Сила ингибирующего эффекта зависит в первую очередь от числа замещённых атомов водорода аминогруппы, а во вторую – от состава трициклической группы препарата. Атомы трициклической группы, несущие большой отрицательный заряд (азот и кислород), взаимодействуют с гидроксильной группой аминокислотного остатка Thr646 внутри канала рецептора, усиливая силу связывания и антиглутаматергическую активность препарата. Атом серы в трициклической группе, по всей видимости, затрудняет процесс связывания молекулы психотропа с рецептором и ослабляет эффективность ингибирования.

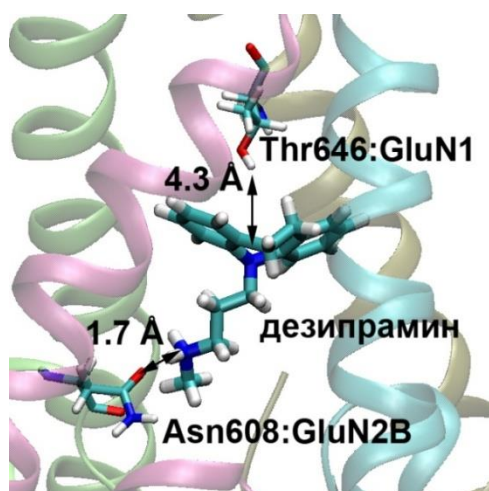


Рис. 2. Молекула дезипрамина, связанная внутри канала NMDA-рецептора.

Поскольку препараты, способные блокировать NMDA-рецептор по потенциал-зависимому механизму, эффективны для управления синдромом нейропатической боли, полученную информацию о роли электростатических взаимодействий в процессе ингибирования NMDA-рецептора психотропными препаратами можно применить для отбора эффективных противоболевых средств среди уже клинически одобренных антидепрессантов, антиконвульсантов и антипсихотиков.

4. Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания № АААА-А18-118012290142-9 и при частичной поддержке гранта РФФИ №18-015-00023.

5. Список литературы

1. Reynolds I.J., Miller R.J. Tricyclic antidepressants block N-methyl-D-aspartate receptors: similarities to the action of zinc. *British Journal of Pharmacology*. 1988. V. 95. P. 95–102.
2. Barygin O.I., Nagaeva E.I., Tikhonov D.B., Belinskaya D.A., Vanchakova N.P., Shestakova N.N. Inhibition of the NMDA and AMPA receptor channels by antidepressants and antipsychotics. *Brain Res*. 2017. V. 1660. P. 58–66. doi: [10.1016/j.brainres.2017.01.028](https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.01.028).
3. Shestakova N.N.; Vanchakova N.P. Theoretical conformational analysis of antidepressant as a way for evaluation of their efficiency for pain and itch syndrome management in patients with end-stage renal disease under chronic hemodialysis. *Dokl. Biochem. Biophys.* 2006. V. 409. P. 203–205.
4. Barygin O.I., Gmiro V.E., Kim K.K., Magazanik L.G., Tikhonov D.B. Blockade of NMDA receptor channels by 9-aminoacridine and its derivatives. *Neurosci. Lett.* 2009. V. 451. P. 29–33. doi: [10.1016/j.neulet.2008.12.036](https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.12.036).
5. Jensen J.H. *Molecular Modeling Basics*. CRC Press: Boca Raton, 2010.

6. Froimowitz M. HyperChem: a software package for computational chemistry and molecular modeling. *Biotechniques*. 1993. V. 14. P. 1010–1013.
7. ChemAxon Ltd. MarvinView (17.3.13.0). URL: <https://chemaxon.com/products/marvin> (дата обращения: 14. 08. 2018).
8. Dong J., Cao D.S., Miao H.Y., Liu S., Deng B.C., Yun Y.H., Wang N.N., Lu A.P., Zeng W.B., Chen A.F. ChemDes: an integrated web-based platform for molecular descriptor and fingerprint computation. *J. Cheminform.* 2015. V. 7. №. 60. doi: [10.1186/s13321-015-0109-z](https://doi.org/10.1186/s13321-015-0109-z).
9. Cao D.S., Xu Q.S., Hu Q.N., Liang Y.Z. ChemoPy: freely available python package for computational biology and chemoinformatics. *Bioinformatics*. 2013. V. 29. P. 1092–1094. doi: [10.1093/bioinformatics/btt105](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt105).
10. Yap C.W. PaDEL-descriptor: An open source software to calculate molecular descriptors and fingerprints. *J. Comput. Chem.* 2011. V. 32. P. 1466–1474. doi: [10.1002/jcc.21707](https://doi.org/10.1002/jcc.21707).
11. Lu W., Du J., Goehring A., Gouaux E. Triheteromeric NMDA receptor GluN1/GluN2A/GluN2B in complex with glycine, glutamate, MK-801 and a GluN2B-specific Fab, at pH 6.5 [EMD-8579]. 2017. doi: [10.2210/pdb5uow/pdb](https://doi.org/10.2210/pdb5uow/pdb).
12. Humphrey W., Dalke A., Schulten K. VMD – Visual Molecular Dynamics. *J. Mol. Graph.* 1996. V. 14. P. 33–38.
13. Phillips J.C., Braun R., Wang W., Gumbart J., Tajkhorshid E., Villa E., Chipot C., Skeel R.D., Kalé L., Schulten K. Scalable molecular dynamics with NAMD. *J. Comput. Chem.* 2005. V. 26. P. 1781–1802. doi: [10.1002/jcc.20289](https://doi.org/10.1002/jcc.20289).
14. Morris G.M., Goodsell D.S., Halliday R.S., Huey R., Hart W.E., Belew R.K., Olson A.J. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J. Comput. Chem.* 1998. V. 19. P. 1639–1662.
15. Zhu X., Lopes P.E., Mackerell A.D.Jr. Recent developments and applications of the CHARMM force fields. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* 2012. V. 2. P. 167–185. doi: [10.1002/wcms.74](https://doi.org/10.1002/wcms.74).
16. Moran P.A. Notes on continuous stochastic phenomena. *Biometrika*. 1950. V. 37. № 1–2. P. 17–23. doi: [10.1093/biomet/37.1-2.17](https://doi.org/10.1093/biomet/37.1-2.17).
17. Banerjee A., Schepmann D., Köhler J., Würthwein E.U., Wunsch B. Synthesis and SAR studies of chiral non-racemic dexoxadrol analogues as uncompetitive NMDA receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem.* 2010. V. 18. P. 7855–7867. doi: [10.1016/j.bmc.2010.09.047](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.09.047).