

**АКТУАЛЬНЫЕ
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ
ПРОБЛЕМЫ АЛКОГОЛЬНОЙ
И ДРУГИХ ХИМИЧЕСКИХ
ЗАВИСИМОСТЕЙ**



НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ

РЕСПУБЛИКАНСКОЕ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ
«ИНСТИТУТ БИОХИМИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ»

**АКТУАЛЬНЫЕ МЕДИКО-
БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ
АЛКОГОЛЬНОЙ И ДРУГИХ
ХИМИЧЕСКИХ ЗАВИСИМОСТЕЙ**

*Сборник статей
международной научно-практической конференции*

3-4 октября, 2019 г.
Гродно, Республика Беларусь

Минск, 2019

В сборнике статей международной научно-практической конференции «Актуальные медико-биологические проблемы алкогольной и других химических зависимостей» представлены работы, посвященные биологическим, медицинским и социальным аспектам этиологии, патогенеза, диагностики, лечения и профилактики химических зависимостей.

Сборник адресован научным работникам, аспирантам, студентам, практическим врачам и другим специалистам, изучающим современные проблемы зависимостей от психоактивных веществ.

Рекомендовано к изданию ученым советом Республиканского научно-исследовательского унитарного предприятия «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси» (протокол №5 от 24.09.2019).

Редакционная коллегия:

доктор медицинских наук, профессор И.Н. Семененя (главный редактор)

заместитель главного редактора Ю.Е. Разводовский

доктор биологических наук, профессор В.У. Буко

доктор медицинских наук, профессор С.М. Зиматкин

доктор медицинских наук, профессор С.А. Игумнов

доктор медицинских наук А.А. Козлов

доктор медицинских наук, профессор А.В. Копытов

доктор медицинских наук, профессор В.В. Лелевич

доктор биологических наук, профессор,

член-корреспондент НАН Беларуси А.Г. Мойсеенок

доктор медицинских наук А.В. Немцов

кандидат биологических наук Т.Л. Степура

Рецензенты:

доктор биологических наук, профессор И.Б. Заводник

доктор медицинских наук, профессор А.А. Кирпиченко

ISBN 978-985-7224-74-6

© Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси», 2019

Марцинкевич А.Ф., Уселёнок Г.О.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НОРЛАУДАНОЗОЛИНА И μ -ОПИОИДНОГО РЕЦЕПТОРА

*УО «Витебский государственный медицинский университет»,
г. Витебск, Республика Беларусь*

Резюме. В настоящей работе проводится исследование возможности взаимодействия норлауданозолина – продукта конденсации дофамина и дофальдегида – с μ -опиоидным рецептором. На основании результатов молекулярного моделирования было показано, что норлауданозолин не только обладает сродством к указанным рецепторам, которое превышает сродство синтетических аналогов, но также может участвовать в их активации.

Введение. Метаболизм алкоголя в организме человека изучен очень подробно: известно, что началом деградации этанола является его окисление при помощи алкогольдегидрогеназы, продукт которого, ацетальдегид, является весьма токсичным соединением, способным вступать в реакции химического взаимодействия с белками, нуклеиновыми кислотами и иными биологически важными соединениями. Следующим этапом является превращение ацетальдегида под действием ацетальдегиддегидрогеназы в уксусную кислоту, а затем в ацетил-КоА, который представляет собой достаточно безопасное соединение и в дальнейшем может поступать в цикл трикарбоновых кислот или же использоваться для синтеза жирных кислот, холестерина или кетоновых тел.

Вместе с тем, механизм развития непосредственно алкогольной зависимости изучен недостаточно. Известны и весьма детально описаны конечные результаты пагубного пристрастия к этанолу, выявлено участие в патологии данного процесса многих нейромедиаторов, таких как дофамин и серотонин, а также эндогенных опиатов. Однако до сих пор первопричиной аддиктивного поведения представляется молекула этанола сама по себе [1]. Эйфория после приема алкоголя таким образом объясняется как результат активирующего действия на дофаминовые и опиоидные рецепторы, а седативный эффект – влиянием на ГАМК-рецепторы. В первом случае воздействие связывают с амфифильностью алкоголя и возможностью «разжижать» биологическую мембрану, оказывая некоторое сенсibiliзирующее действие на рецептор, а во втором – схожестью молекул ГАМК и этилового спирта. Не смотря на хорошую согласованность с клинической картиной алкогольного опьянения, данная гипотеза, на наш взгляд, является достаточно механистической и не учитывает некоторые важные факты.

Так, например, в случае дофаминовых и опиоидных рецепторов не предложено каких-либо конкретных механизмов, объясняющих увеличение их активности при изменении вязкоэластичных свойств липидного бислоя. Кроме того, физико-химические свойства мембран в значительной степени могут изменяться в зависимости от липидного и жирнокислотного состава, а также вследствие присутствия продуктов перекисного окисления липидов или некоторых лекарственных средств. Какие-либо сведения о месте связывания этанола на поверхности целевого рецептора также отсутствуют.

В случае же ГАМК-рецептора, действительно, существует так называемый этанолсвязывающий участок, однако алкоголь выполняет скорее роль стабилизатора [2], а не активатора, и воздействует, вероятно, на несколько участков [3]. К тому же молекула этанола вследствие электронного строения весьма склонна к образованию достаточно стабильных димеров, циклических три- и тетрамеров, а также надмолекулярных кластеров [4], которые должны иметь в значительной степени меньшее сродство к указанным рецепторам.

Так или иначе ацетальдегиду отводится роль побочного продукта, который выполняет скорее положительную функцию, опосредуя синдром похмелья и защищая от повторного употребления алкоголя. Вместе с тем, ацетальдегид является высокоактивным соединением и может вступать в реакции конденсации с биогенными аминами, давая чужеродные организму метаболиты, обладающие нейротропным действием. Кроме того, ацетальдегид в высокой концентрации способен нарушать естественный метаболизм дофамина, конкурентно ингибируя распад продукта его деградации, дофальдегида, с помощью альдегиддегидрогеназы. Сочетание же дофамина и дофальдегида в ходе неферментативной реакции дает норлауданозолин – соединение, структурно схожее с наркотическими анальгетиками опиоидного ряда (рисунок 1).

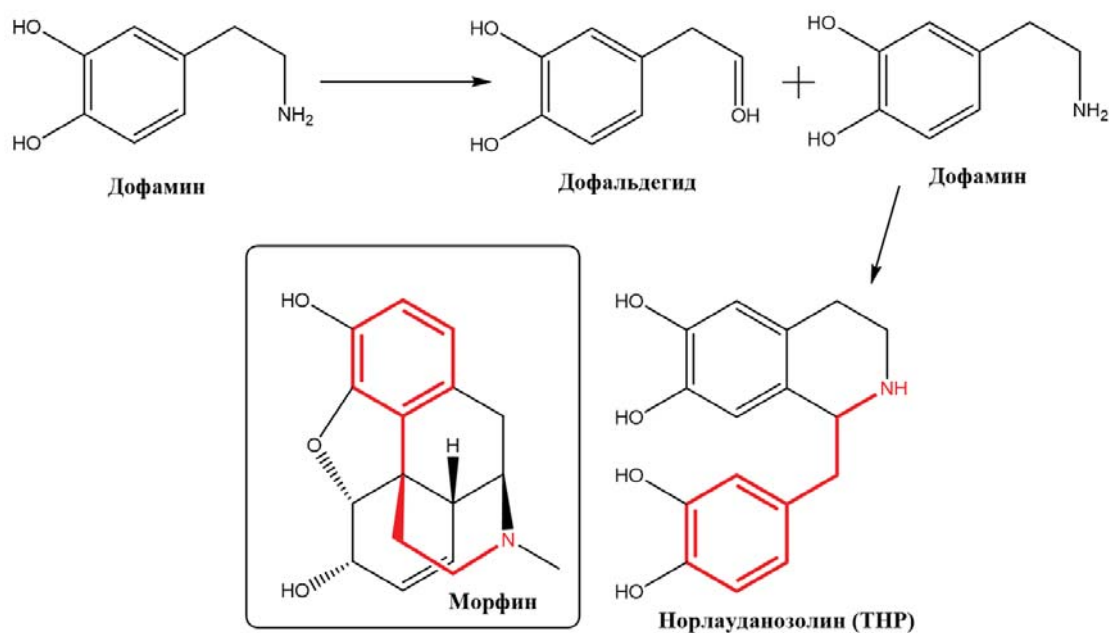


Рисунок 1 – Схема синтеза норлауданозолина и его структурное сходство с молекулой морфина

Предположив участие аддуктов, подобных норлауданозолину, в активации опиоидных рецепторов, мы получаем недостающие эффекторы, объясняющие формирование алкогольной зависимости. Вместе с тем, в доступной научной литературе детальной информации по обозначенному вопросу найдено не было, что и позволило сформулировать цель настоящей работы как молекулярное моделирование взаимодействия норлауданозолина и μ -опиоидного рецептора.

Материалы и методы исследования. В ходе исследования была использована рентгеноструктурная модель μ -опиоидного рецептора, содержащая нативный агонист BU72, полученная из ProteinDataBank [5]. Молекулярное моделирование осуществляли с помощью консольной утилиты AutoDockVina [6], считая энергию связывания лиганда с белком мерой стабильности образовавшегося комплекса. В качестве лигандов использовались норлауданозолин и BU72, в качестве внутренних стандартов также были проанализированы молекулы морфина и дофамина. Анализ повторяли для каждого лиганда 10 раз, заново инициализируя генератор псевдослучайных чисел известным значением. Расчет характеристик фармафора (природа и расположение межмолекулярных связей между лигандом и белком) был произведен в LigandScout [7].

Статистическую обработку полученных результатов выполняли при помощи пакета прикладных программ R [8]. Так как исследуемые признаки имели распределение, отличное от нормального (согласно W-критерия Шапиро-Уилка, значение $p < 0,05$), для множественного сравнения использовался тест Краскела-Уоллиса, а для posthoc-анализа –

критерий Дана в модификации Бенджамин-Йекутелли. Энергия связывания лиганда с рецептором представлена в формате Медиана [Первый квартиль; Третий квартиль]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. В результате молекулярного докинга было показано, что наибольшим сродством к рецептору обладал морфин (-7.5 [-7.70; -6.90] ккал/моль), а наименьшим – дофамин (-4.7 [-4.90; -4.50] ккал/моль). Норлауданозолин и BU72 занимали промежуточное положение и имели аффинитет, равный -7.1 [-7.50; -6.70] и -6.4 [-7.10; -5.50] ккал/моль, соответственно. Вместе с тем, энергия связывания для всех исследованных соединений имела статистически значимые отличия, что позволяет расположить их в следующий ряд по увеличению сродства: дофамин → BU72 → норлауданозолин → морфин.

Кроме стабильности комплекса лиганд-белок важным элементом проявления биологического эффекта является также корректная ориентация молекулы эффектора в активном центре рецептора. Для решения данной задачи было выполнено построение фармакофора для комплекса BU72-рецептор, который выступал в качестве эталона, а затем процедуру повторили для комплекса норлауданозолин-рецептор.

Полученный нами фармакофор согласуется с оригинальными данными [9]. Предполагается, что His54 фиксирует молекулу агониста посредством взаимодействия с аминогруппой, а Ile296, Val300 и Ile322 формируют гидрофобный карман. Активация же рецептора происходит вследствие смещения остатков Asp147 и Met151 за счет третичной аминогруппы и метильного радикала соответственно (рисунок 2А).

Можно заметить, что для молекулы норлауданозолина (рисунок 2В), сохраняется схема фиксации, схожая с фиксацией нативного лиганда, а также присутствуют аналогичные взаимодействия, отвечающие за активацию рецептора.

Таким образом было получено теоретическое подтверждение того, что норлауданозолин обладает высокой энергией связывания с μ -опиоидными рецепторами и способен выполнять роль их активатора.

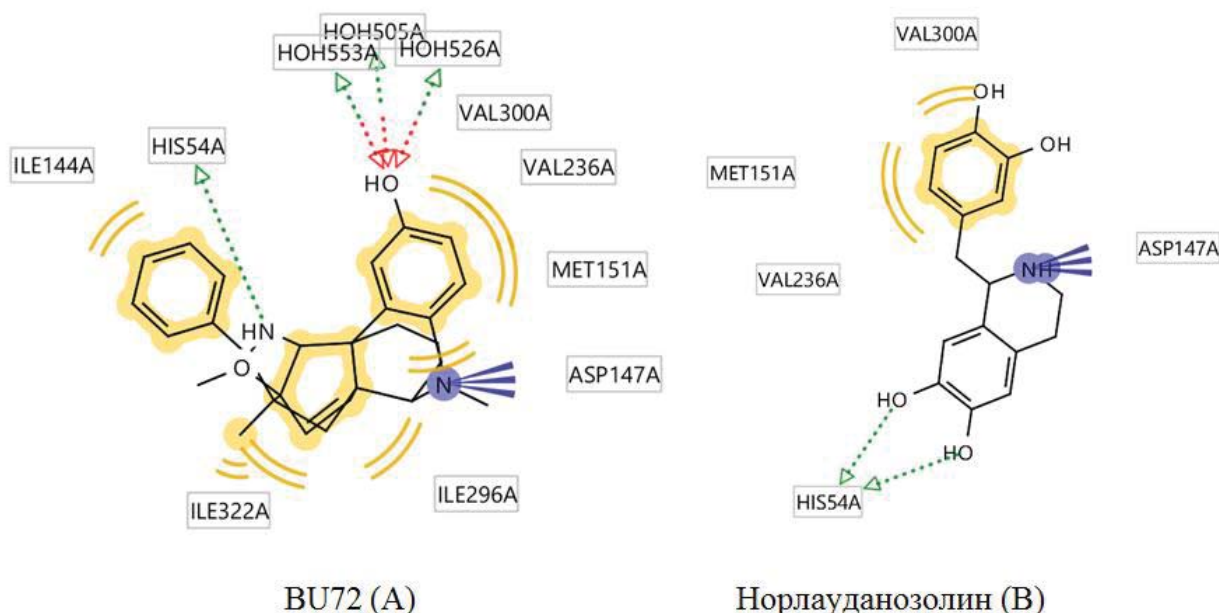


Рисунок 2 – Взаимодействия нативного агониста BU72 (А) и норлауданозолина (В) с активным центром опиоидного рецептора

Заключение. В ходе исследования было показано, что норлауданозолин – вторичный продукт метаболизма этанола в организме человека – способен выполнять функцию агониста μ -опиоидных рецепторов. Полученные результаты, к сожалению, не сопровождались экспериментальным подтверждением, однако дают дополнительную информацию о возможных молекулярно-биологических механизмах, стоящих за формированием алкогольной зависимости.

Список использованных источников:

1. Руководство по психиатрии: в 2-х т. /А.С.Тиганов [и др]. – М.: Медицина, 1999. – Т. 2. – 784 с.
2. Jung, S. Functional and Structural Analysis of the GABAA Receptor α 1 Subunit during Channel Gating and Alcohol Modulation / S. Jung, M. H. Akabas, R. A. Harris // The Journal of Biological Chemistry. – 2005. – № 280. – P. 308-316.
3. Aguayo, L. G. Ethanol modulation of the gamma-aminobutyric acid and glycine-activated Cl⁻ current in cultured mouse neurons / L. G. Aguayo, F. C. Pancetti // J PharmacolExpTher. – 1994. – № 270 (1). – P. 61-69.
4. Provencal, R. A. Hydrogen Bonding in Alcohol Clusters: A Comparative Study by Infrared Cavity Ringdown Laser Absorption Spectroscopy / R. A. Provencal [et al.] // J. Phys. Chem. A. – 2000. – № 104. – P. 1423-1429.
5. Protein Data Bank – 5C1M: Crystal structure of active mu-opioid receptor bound to the agonist BU72 [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.rcsb.org/structure/5C1M>. – Date of access: 01.07.2019.
6. Trott, O. AutoDockVina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading / O. Trott, A. J. Olson // Journal of Computational Chemistry. – 2010. – № 31. – P. 455-461.
7. Ligand Scout – User friendly advanced molecular design [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.inteligand.com/ligandscout>. – Date of access: 01.07.2019.
8. The R Project for Statistical Computing [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.r-project.org>. – Date of access: 01.07.2019.
9. Huang, W. Structural insights into μ -opioid receptor activation / W. Huang [et al.] // Nature. – 2015 – № 524 (7565). – P. 315–321.

Martsinkevich A.F., Uselyonok G.O.

**MOLECULAR MODELING OF INTERACTION OF NORLAUDOSOLINE
AND μ -OPIOID RECEPTOR**

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

Summary. In this paper, we study the possibility of the interaction of norlaudanosoline, a product of the condensation of dopamine and dopaldehyde, with the μ -opioid receptor. Based on the results of molecular modeling, it was shown that norlaudanosoline not only has affinity for these receptors, which exceeds the affinity of synthetic analogs, but also can participate in their activation.