

Оригинальные публикации / Original articles

<https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2025.344>

***In silico* моделирование эффектов взаимодействия молекулы-кандидата SV-1010 с опиоидными рецепторами**

П.А. Галенко-Ярошевский¹, И.Ю. Торшин², К.Ф. Суздалев³, П.В. Васильев⁴, Н.Н. Ишханян¹, А.Н. Громов², И.А. Рейер², О.А. Громова²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ул. Митрофана Седина, д. 4, Краснодар, 350063, Российская Федерация)

² Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской академии наук (ул. Вавилова, д. 44, корп. 2, Москва 119333, Российская Федерация)

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет» (ул. Зорге, д. 7, Ростов-на-Дону 344090, Российская Федерация)

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (пл. Павших Борцов, д. 1, Волгоград, Россия, 400131, Российская Федерация)

Для контактов: Ольга Алексеевна Громова, e-mail: unesco.gromova@gmail.com

Мы предоставляем данную авторскую версию для обеспечения раннего доступа к статье. Эта рукопись была принята к публикации и прошла процесс рецензирования, но не прошла процесс редактирования, верстки, присвоения порядковой нумерации и корректуры, что может привести к различиям между данной версией и окончательной отредактированной версией статьи.

We are providing this an author-produced version to give early visibility of the article. This manuscript has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the final typeset and edited version of the article.

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Поиск перспективных нестериоидных противовоспалительных препаратов (НПВП) направлен, в частности, на выявление молекул с мультитаргетным противовоспалительным и противоболевым действием (в т.ч. через центральные механизмы).

Цель: изучить взаимодействия молекулы-кандидата НПВП (SV-1010) с опиоидными рецепторами и сравнить с эффектами известных молекул-агонистов (буторфанола и U-50488) методами хемореактомного анализа и докинга.

Материал и методы. Хемореактомный анализ механизмов действия НПВП проводился в три этапа: формирование выборок данных, установление списков молекул с известными свойствами, расчет констант связывания Kd и констант активации EC50. Докинг каппа-опиоидных рецепторов выполнен с использованием программ MarvinSketch, MOPAC2012, AutoDock Vina. Проведено сопоставление результатов хемореактомного моделирования и докинга.

Результаты. Хемореактомный анализ взаимодействий исследованных молекул с опиоидными рецепторами показал, что медианные и средние значения констант связывания Kd соединения SV-1010 сопоставимы с оценками значений констант, полученных для буторфанола и U-50488 (75–98 нМ для дельта-рецепторов, 62–81 нМ для каппа-рецепторов, 198–244 нМ для мю-рецепторов). Среди изученных подтипов опиоидных рецепторов у вещества SV-1010 установлены наименьшие значения Kd для каппа-рецепторов ($64,8 \pm 46,3$ нМ; дельта- и мю-рецепторы: $79,9 \pm 77,6$ и $243,8 \pm 246,9$ нМ соответственно). Не обнаружено существенной разницы в связывании молекул соединения SV-1010 опиоидными рецепторами типов каппа-1 и каппа-2 (Kd в диапазоне значений 23,7–54,5 нМ). Докинг изученных молекул в структуру каппа-рецептора человека позволил получить значения Kd и сформулировать механизм связывания соединения SV-1010 с сайтом каппа-опиоидного рецептора (потенциально, ключевыми связывающими аминокислотами сайта каппа-опиоидного рецептора являются ILE730, VAL667, MET579, ILE726, TRP723, ILE460 и TYR464). Сопоставление результатов хемореактомного моделирования и докинга позволило найти корреляцию, выраженную уравнением « $35,8x - 4790$ » с коэффициентом корреляции, близким к единице. Результаты хемореактомного моделирования констант EC50 подтвердили данные анализа констант связывания Kd, в т.ч. и то, что соединение SV-1010 характеризуется большим сродством к каппа-рецепторам, чем к мю-рецепторам.

Заключение. Хемореактомное и докинговое моделирование эффектов молекулы SV-1010 подтверждают гипотезу о том, что данное соединение может являться агонистом каппа-

опиоидных рецепторов, указывая на перспективность экспериментальных и других исследований SV-1010 с акцентом именно на каппа-опиоидные рецепторы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

нестероидные противовоспалительные препараты, взаимодействия с рецепторами, интеллектуальный анализ данных, биофизика, молекула-кандидат SV-1010

Для цитирования

Галенко-Ярошевский П.А., Торшин И.Ю., Суздалев К.Ф., Васильев П.В., Ишханян Н.Н., Громов А.Н., Рейер И.А., Громова О.А. In silico моделирование эффектов взаимодействия молекулы-кандидата SV-1010 с опиоидными рецепторами. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2025; [принятая рукопись]. <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2025.344>.

In silico modeling of the effects of SV-1010 candidate molecule interaction with opioid receptors

P.A. Galenko-Yaroshevsky¹, I.Yu. Torshin², K.F. Suzdalev³, P.M. Vassiliev⁴, N.N. Ishkhanyan¹, A.N. Gromov², I.A. Reyer², O.A. Gromova²

¹ Kuban State Medical University (4 Mitrofan Sedina Str., Krasnodar 350063, Russian Federation)

² Federal Research Center “Computer Science and Control” of the Russian Academy of Sciences (42 Vavilov Str., Moscow 119333, Russian Federation)

³ Southern Federal University (7 Zorge Str., Rostov-on-Don 344090, Russian Federation)

⁴ Volgograd State Medical University (1 Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd 400131, Russian Federation)

Corresponding author: Olga A. Gromova, e-mail: unesco.gromova@gmail.com

ABSTRACT

Background. The search for promising nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) is aimed, in particular, at identifying molecules with multitargeted anti-inflammatory and analgesic effects (including through central mechanisms).

Objective: To study the interactions of a candidate NSAID molecule (SV-1010) with opioid receptors and compare them with the effects of known agonist molecules (butorphanol and U-50488) using chemoreactomic analysis and docking.

Material and methods. Chemoreactomic analysis of NSAID mechanisms of action was conducted in three stages: data sampling, establishment of lists of molecules with known properties, and calculation of Kd binding constants and EC50 activation constants. Docking of kappa opioid receptors was performed using MarvinSketch, MOPAC2012, and AutoDock Vina. A comparison of the results of chemoreactomic modeling and docking was performed.

Results. Chemoreactomic analysis of the interactions of the studied molecules with opioid receptors showed that the median and average values of the binding constants Kd of the SV-1010 compound are comparable with the estimates of the constants obtained for butorphanol and U-50488 (75–98 nM for delta receptors, 62–81 nM for kappa receptors, 198–244 nM for mu receptors). Among the studied opioid receptor subtypes, the lowest Kd values were established for SV-1010 for kappa receptors (64.8 ± 46.3 nM; delta and mu receptors: 79.9 ± 77.6 and 243.8 ± 246.9 nM, respectively). No significant difference in the binding of SV-1010 molecules to kappa-1 and kappa-2 opioid receptors was detected (Kd in the range of 23.7–54.5 nM). Docking of the studied molecules into the structure of the human kappa receptor allowed us to obtain Kd values and formulate the mechanism of binding of SV-1010 to the kappa-opioid receptor site (potentially, the key binding amino acids of the kappa-opioid receptor site are ILE730, VAL667, MET579, ILE726, TRP723, ILE460 and TYR464). A comparison of the results of chemoreactomic modeling and docking made it possible to find a correlation expressed by the equation “ $35.8x - 4790$ ” with a correlation coefficient close to unity. The results of chemoreactome modeling of EC50 constants confirmed the results of the Kd binding constant analysis, including the finding that SV-1010 exhibits greater affinity for kappa receptors than for mu receptors.

Conclusion. Chemoreactomic and docking modeling of the SV-1010 molecule's effects support the hypothesis that this compound may be a kappa-opioid receptor agonist, indicating the potential for experimental and other studies of SV-1010 with a focus on kappa-opioid receptors.

KEYWORDS

nonsteroidal anti-inflammatory drugs, receptor interactions, data mining, biophysics, SV-1010 candidate molecule

For citation

Galenko-Yaroshevsky P.A., Torshin I.Yu., Suzdalev K.F., Vassiliev P.M., Ishkhanyan N.N., Gromov A.N., Reyer I.A., Gromova O.A. In silico modeling of the effects of SV-1010 candidate molecule interaction with opioid receptors. *FARMAKOEKONOMIKA. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologiya / FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2025; [accepted manuscript] (in Russ.). <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2025.344>.

| Основные моменты | Highlights |
|---|---|
| Что уже известно об этой теме? | What is already known about the subject? |
| Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) осуществляют свое фармакологическое действие не только через ингибицию циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2), но и посредством других молекулярных механизмов | Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) exert their pharmacological action not only through cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibition but also through other molecular mechanisms |
| Использование НПВП для лечения воспаления и боли – важная альтернатива опиоидным анальгетикам, применение которых существенно ограничено развитием зависимости | Applying NSAIDs for the treatment of inflammation and pain is an important alternative to opioid analgesics, the use of which is significantly limited by the development of addiction |
| Что нового дает статья? | What are the new findings? |
| Проведен анализ взаимодействий молекулы SV-1010 с опиоидными рецепторами <i>in silico</i> посредством хемореактомного моделирования и процедуры так называемого докинга | An analysis of the interactions of the SV-1010 molecule with opioid receptors was carried out <i>in silico</i> using chemoreactomic modeling and the so-called docking procedure |
| Оценки эффектов взаимодействий молекулы SV-1010 с опиоидными рецепторами различных типов выполнялись в сравнении с буторфанолом (синтетический агонист опиоидных рецепторов морфинового типа и каппа-рецепторов) и соединением U-50488 (агонист каппа-опиоидных рецепторов, не проявляющий antagonизма к мю-опиоидным рецепторам) | The effects of interactions of the SV-1010 molecule with opioid receptors of various types were assessed in comparison with butorphanol (a synthetic agonist of morphine type opioid receptors and kappa-opioid receptors) and with the compound U-50488 (an agonist of kappa-opioid receptors that does not exhibit antagonism to mu-opioid receptors) |
| Степень сродства SV-1010 к опиоидным рецепторам сопоставима со сродством буторфана и U-50488 | The degree of SV-1010 affinity to opioid receptors is comparable to the affinity of butorphan and U-50488 |

| Как это может повлиять на клиническую практику в обозримом будущем? | How might it impact the clinical practice in the foreseeable future? |
|---|--|
| Хемореактомный анализ молекулы-кандидата SV-1010 показал двойное действие – на ЦОГ-2 и на каппа-рецепторы | Chemoreactomic analysis of SV-1010 candidate molecule indicated a dual action – on COX-2 and on kappa receptors |
| Вследствие потенциально значительного взаимодействия с каппа-опиоидным рецепторами молекула-кандидат SV-1010 может являться НПВП с выраженным противоболевым и нормотимическим эффектом | Due to its potentially significant interaction with kappa-opioid receptors, the candidate molecule SV-1010 may be an NSAID with a pronounced analgesic and mood-stabilizing effect |

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) ингибируют циклооксигеназу-2, что снижает синтез провоспалительных простагландинов. Применение НПВП для лечения состояний, сопровождающихся воспалением и болью, – важная альтернатива опиоидным анальгетикам, применение которых существенно ограничено развитием зависимости. Различия между известными НПВП включают [1]:

- центральные механизмы анальгетического действия (напрямую не связанные с модуляцией уровней и активности простагландинов), в частности через рецепторы нейротрансмиттеров);
- мультитаргетное фармакологическое действие (модуляция активности не только ферментов простагландинового метаболизма и нейрорецепторов, но и других таргетных белков протеома человека).

Проведенное ранее хемопротеомное моделирование перспективной молекулы-кандидата SV-1010 в сравнении с известными НПВП (диклофенак, нимесулид, кеторолак) на протеоме крыс показало, что соединение SV-1010 в меньшей степени, чем остальные молекулы, может ингибировать дофаминовые рецепторы типов D1 и D2 и в большей степени – транспортер гамма-аминомасляной кислоты (65 нМ) и рецепторы 1/2b N-метил-D-аспартата (175 нМ). Кроме того, хемопротеомное моделирование продемонстрировало, что SV-1010 может активировать каннабиоидные рецепторы CB2, опиоидные рецепторы, ингибировать ферменты биосинтеза лейкотриенов и СС-рецепторы провоспалительных хемокинов [2].

Потенциальный эффект молекулы-кандидата SV-1010 на опиоидные рецепторы, в частности каппа-опиоидные (КОР), представляет собой важный аспект центрального действия этого перспективного НПВП. Связывая опиоидный пептид динорфин в качестве

основного эндогенного лиганда, КОР участвуют в модуляции ноцицепции, двигательного контроля и настроения [3].

Кроме динорфина КОР связывают различные природные алкалоиды, терпены и синтетические лиганды. Примерами агонистов КОР, используемых в медицине в качестве анальгетиков, являются буторфанол, налбуфин, леворфанол и др. В экспериментальной фармакологии в качестве агонистов КОР используются соединения U-50488, FE-202845, CR665. Изучается терапевтический потенциал агонистов КОР в лечении наркозависимости [4, 5]. Антагонисты КОР находятся на стадии клинической разработки для лечения большого депрессивного расстройства, а также наркозависимости [6]. И агонисты, и антагонисты КОР вызывают побочные эффекты (дисфории, галлюцинации, диссоциации, зависимость), что ограничивает их клиническое применение [7].

На основе исследований связывания рецепторов *in vitro* были охарактеризованы три варианта каппа-рецептора, обычно обозначаемые как κ1, κ2 и κ3 [8]. Однако в реальности идентифицирован единственный ген каппа-рецептора – *OPRK1*, расположенный на 8-й хромосоме (цитогенетическая полоса 8q11.23) [9]. Поэтому указанные выше подтипы каппа-рецепторов, наиболее вероятно, возникают в результате модуляции сродства молекул-лигандов к КОР посредством дополнительных взаимодействий с другими белками [10]. Ген *OPRK1* экспрессируется в головном мозге, спинном мозге и периферических тканях, включая иммунные клетки и эндотелий [11, 12].

Цель – изучить взаимодействия молекулы-кандидата НПВП (SV-1010) с опиоидными рецепторами и сравнить с эффектами известных молекул-агонистов (буторфанола и U-50488) методами хемореактомного анализа и докинга.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIAL AND METHODS

Проведен анализ взаимодействий молекулы SV-1010 с опиоидными рецепторами. Анализ выполнялся *in silico* посредством хемореактомного моделирования и процедуры так называемого докинга – моделирования взаимодействий молекул с конкретной структурой таргетного белка.

Молекулы сравнения / Comparison molecules

Оценку эффектов взаимодействий SV-1010 с опиоидными рецепторами различных типов осуществляли в сравнении с буторфанолом (синтетический агонист опиоидных рецепторов морфинового типа, агонист КОР) и соединением U-50488 (агонист КОР, использующийся в экспериментальной фармакологии и не проявляющий антагонизма к мю-опиоидным рецепторам).

Хемореактомный анализ / Chemoreactomic analysis

Хемореактомный анализ осуществлен посредством конгломерата методов хемоинформационного анализа молекул, развиваемых в научной школе академиков РАН Ю.И. Журавлёва и К.В. Рудакова [3–5].

В рамках постгеномной парадигмы молекула любого лекарственного средства «мимикрирует» под определенные метаболиты и, связываясь с теми или иными белками протеома, производит соответствующие данному лекарству эффекты [13]. Процедура анализа основана на новейших технологиях машинного обучения, разрабатываемых в теории топологического и метрического анализа признаковых описаний [14–16].

Хемореактомный анализ механизмов действия НПВП проводили в три этапа. На первом этапе формировали выборку исходных данных (поиск по ключевым словам “opioid”, “opiate” в базе данных PubChem, затем извлечение выборок данных о фармакологических активностях). Всего было найдено 38 опиат-связанных активностей для 227 молекул. На втором этапе устанавливали список молекул с известными свойствами, наиболее близкими к каждому из исследуемых соединений посредством вычисления метрического химического расстояния $d\chi$ между молекулами. Процедуры вычисления $d\chi$ основаны на комбинаторной теории разрешимости [14]. На третьем этапе для каждой молекулы из баз данных извлекали всю имеющуюся информацию об экспериментальном измерении ее различных биологических свойств и выполняли оценку биологических активностей с вычислением соответствующих констант (констант связывания, констант ингибиования и др.) [17].

Как и в работах [1, 2], для количественной оценки эффектов НПВП проводили вычисление константы связывания (K_d) и константы полумаксимальной эффективной концентрации (англ. half-maximal effective concentration, EC₅₀) соответствующих рецепторов.

Докинг каппа-опиоидных рецепторов / Docking of kappa opioid receptors

Построение 10 конформаций каждого из изученных соединений выполнено в программе MarvinSketch 17.1.23¹ (ChemAxon, США). Эти конформации оптимизированы в программе MOPAC2012² (MOPAC, США), и для каждого соединения отобрана конформация с минимальной энергией молекулы.

¹ <https://chemaxon.com/marvin>.

² <http://openmopac.net>.

Докинг в рентгеноструктурную модель димера КОР человека (PDB-код 4DJH) [18] проводили с помощью программы AutoDock Vina 1.1.1 (Dr. Oleg Trott, Molecular Graphics Lab of Scripps Institute, США) [19]. В процессе докинга каждое соединение по 5 раз «докировалось» в каждый из двух сайтов димера с вычислением минимальной энергии докинга ΔE . Детальное описание процедуры ансамблевого докинга представлено в работе [20].

Расчет по энергии докинга ΔE констант связывания K проводили по формуле:

$$K = e^{-\Delta E/RT},$$

где R – газовая постоянная, равная 8,314 Дж/(моль·К); T – температура (стандартное значение в докинге равно 300 °К).

Анализ механизма связывания соединения SV-1010 с сайтом КОР выполнен с помощью программы LigandScout 4.2.1³ (Inte:Ligand GmbH, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ / RESULTS AND DISCUSSION

Результаты проведенного *in silico* моделирования включили:

- хемореактомный анализ/моделирование значений констант K_d для взаимодействий с опиоидными рецепторами человека при различных условиях эксперимента;
- докинг изученных молекул в структуру каппа-рецептора человека с получением значений энергий связывания и констант K_d ;
- сопоставление результатов хемореактомного и докингового моделирования K_d ;
- хемореактомное моделирование значений EC50 опиоидных рецепторов.

Хемореактомный анализ значений K_d для взаимодействий с опиоидными рецепторами человека / Chemoreactomic analysis of K_d values for interactions with human opioid receptors

Результаты хемореактомного анализа взаимодействий исследованных молекул с опиоидными рецепторами, суммированные в **таблицах 1–3** и на **рисунке 1**, позволяют сделать несколько важных выводов.

³ <http://www.inteligand.com>.

Таблица 1. Хемореактомные оценки связывания изученных молекул с дельта-опиоидными рецепторами человека – значения константы связывания Kd, нМ *

Table 1. Chemoreactomic estimates of the binding of the studied molecules to human delta-opioid receptors – the binding constant Kd values, nM*

| Активность | Молекулы сравнения | | |
|---|--------------------|------------|---------|
| | SV-1010 | Буторфанол | U-50488 |
| Вытеснение [³ H]DPDPE из дельта-опиоидного рецептора | 63,5 | 6,4 | 4,8 |
| Сродство <i>in vitro</i> с опиоидным рецептором дельта-1 | 20,1 | 17,0 | 15,4 |
| Вытеснение [³ H]налтриндола из дельта-опиоидного рецептора в клетках CHO | 21,4 | 152,3 | 142,4 |
| Активность опиоидного рецептора дельта-1 в мембранах клеток CHO, радиолиганд [³ H]налтриндол | 31,6 | 23,7 | 30,9 |
| Вытеснение радиолиганда [³ H]налтриндола из дельта-опиоидного рецептора в клетках CHO через 3 ч | 27,9 | 68,9 | 65,3 |
| Вытеснение [³ H]DPN из дельта-опиоидного рецептора в мембранах клеток CHO | 95,4 | 43,1 | 162,0 |
| Взаимодействие с дельта-опиоидным рецептором по связыванию [³⁵ S]GTPgammaS | 85,0 | 43,4 | 83,2 |
| Вытеснение [³ H]налтриндола из дельта-опиоидного рецептора в клетках CHO через 3 ч | 50,5 | 65,8 | 51,0 |
| Вытеснение [³ H]налтриндола из дельта-опиоидного рецептора | 73,8 | 105,1 | 55,5 |
| Вытеснение [³ H]DADLE из дельта-опиоидного рецептора в мембранах клеток CHO через 2 ч | 119,4 | 63,7 | 144,5 |
| Вытеснение [³ H]дипренорфина из дельта-опиоидного рецептора человека | 63,9 | 99,6 | 88,8 |
| Вытеснение [³ H]брэмазоцина из дельта-опиоидного рецептора при высоком содержании натрия | 67,6 | 119,7 | 112,9 |
| Взаимодействие с дельта-1-опиоидным рецептором с использованием [³ H]дипренорфина | 318,3 | 163,8 | 312,8 |

Примечание. клетки CHO (англ. Chinese hamster ovary cells) – линия эпителиальных клеток, полученная из яичника китайского хомячка, которая часто используется в биологических и медицинских исследованиях. * Значения константы связывания Kd получены при обучении алгоритмов хемореактомного анализа на 13 независимых выборках данных по связыванию дельта-рецепторами различных молекул.

Note. CHO (Chinese hamster ovary cells) – a line of epithelial cells derived from the ovary of Chinese hamster, which is often used in biological and medical research. * The constant Kd values were obtained

by training the chemoreactomic analysis algorithms on 13 independent data sets on the binding of various molecules to delta receptors.

Таблица 2. Хемореактомные оценки связывания изученных молекул с каппа-опиоидными рецепторами человека – значения константы связывания Kd, нМ*

Table 2. Chemoreactome estimates of binding of the studied molecules to human kappa-opioid receptors – the binding constant Kd values, nM*

| Активность | Молекулы сравнения | | |
|---|--------------------|------------|---------|
| | SV-1010 | Буторфанол | U-50488 |
| Вытеснение [³ H]U69593 из каппа-1-опиоидного рецептора в клетках CHO | 24,9 | 2,1 | 4,7 |
| Агонизм каппа-2-опиоидного рецептора | 23,7 | 2,4 | 3,6 |
| Вытеснение [³ H]дипренорфина из каппа-опиоидного рецептора в клетках CHO | 114,7 | 5,2 | 55,3 |
| Вытеснение [³ H]дипренорфина из каппа-опиоидного рецептора в мемbrane клеток CHO через 1 ч | 31,1 | 19,9 | 20,4 |
| Вытеснение [³ H]U69593 из каппа-опиоидного рецептора, экспрессированного в клетках CHO | 29,9 | 41,9 | 29,4 |
| Каппа-1-опиоидный рецептор в гомогенизате клеток HEK293, в анализах с замещением дозы радиолиганда использовали 0,4 нМ [³ H]-U69593 в конечном объеме связывающего буфера 200 мкл (5% ДМСО, 50 mM Trizma-основание, pH 7,4) | 48,9 | 32,4 | 47,6 |
| Вытеснение [³ H]дипренорфина из каппа-опиоидного рецептора в клетках CHO при высоком содержании натрия | 43,2 | 33,2 | 38,7 |
| Каппа-2-опиоидный рецептор, экспрессированный в клетках HEK293, анализ связывания радиолиганда [³ H]-U69593 (0,4–0,8 нМ) с 10–20 мкг мембранных белка, реакции в 96-луночных полипропиленовых планшетах в течение 1 ч | 33,5 | 41,5 | 48,5 |
| Сродство к каппа-опиоидному рецептору <i>in vitro</i> с использованием [³ H]дипренорфина | 39,0 | 48,9 | 35,4 |
| Ингибиование связывания [³ H]дипренорфина с каппа-1-опиоидным рецептором | 51,9 | 76,0 | 88,7 |
| Вытеснение [³ H]дипренорфина из каппа-2-опиоидного рецептора | 54,5 | 91,1 | 71,4 |
| Вытеснение [¹²⁵ I]дипренорфина из каппа-опиоидного рецептора, жидкостная сцинтиляционная регистрация | 97,9 | 91,4 | 156,9 |
| Вытеснение [³ H]U69593 из каппа-опиоидного рецептора через 2 ч | 137,4 | 140,4 | 99,3 |

| | | | |
|---|-------|-------|-------|
| Анализ связывания каппа-опиоидного рецептора <i>in vitro</i> , радиолиганда [³ H]-U69593 (0,4–0,8 нМ) с 10–20 мкг мембранных белка, связывающий буфер 200 мкл (5% ДМСО, 50 мМ Trizma-основание, pH 7,4), реакцию проводили в присутствии 10 мкМ немеченого налоксона или U69593 в 96-луночных полипропиленовых планшетах в течение 1 ч, 25 °C | 129,0 | 200,6 | 146,8 |
| Каппа-опиоидный рецептор, экспрессируемый в клетках HEK293, с радиолигандом [³ H]-U69593 (40 Ки/ммоль) с 10–20 мкг мембранных белка в присутствии 10 мкМ немеченого налоксона или U69,593 | 158,6 | 158,1 | 340,0 |

Примечание. Клетки CHO (англ. Chinese hamster ovary cells) – линия эпителиальных клеток, полученная из яичника китайского хомячка, которая часто используется в биологических и медицинских исследованиях; HEK293 (англ. human embryonic kidney 293) – клеточная линия, полученная из эмбриональных почек человека; ДМСО – диметилсульфоксид. * Значения константы связывания Kd получены при обучении алгоритмов хемореактомного анализа на 16 независимых выборках данных по связыванию дельта-рецепторов.

Note. CHO (Chinese hamster ovary cells) – a line of epithelial cells derived from the ovary of Chinese hamster, which is often used in biological and medical research; HEK293 – human embryonic kidney 293; DMSO – dimethyl sulfoxide. * The constant Kd values were obtained by training the chemoreactomic analysis algorithms on 16 independent delta-receptor binding data sets.

Таблица 3. Хемореактомные оценки связывания изученных молекул с мю-опиоидными рецепторами человека – значения константы связывания Kd, нМ*

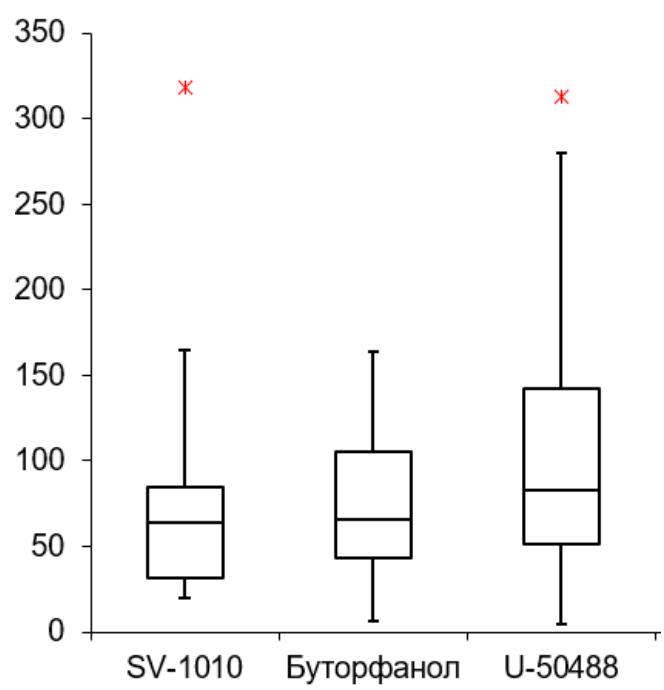
Table 3. Chemoreactome estimates of binding of the studied molecules to human mu-opioid receptors – the binding constant Kd values, nM*

| Активность | Молекулы сравнения | | |
|--|--------------------|------------|---------|
| | SV-1010 | Буторфанол | U-50488 |
| Анализ связывания радиолиганда [³ H]-дипренорфина мю-опиоидными рецепторами в 500 мкл буфера (10 мМ MgCl ₂ , 1 мМ ЭДТА, 5% ДМСО, 50 мМ HEPES, pH 7,4) в 96-луночных планшетах в течение 2 ч при комнатной температуре | 49,9 | 8,0 | 19,6 |
| Сродство связывания с мю-опиоидным рецептором | 21,8 | 70,7 | 8,3 |
| Вытеснение [³ H]-DAMGO из мю-опиоидного рецептора | 21,3 | 16,8 | 20,5 |
| Сродство к мю-1-опиоидным рецепторам | 18,3 | 25,3 | 25,3 |
| Ингибирование связывания [³ H]DAMGO с мю-опиоидным рецептором | 60,7 | 18,5 | 18,6 |
| Вытеснение [³ H]дипренорфина из мю-опиоидного рецептора | 23,9 | 18,8 | 19,4 |

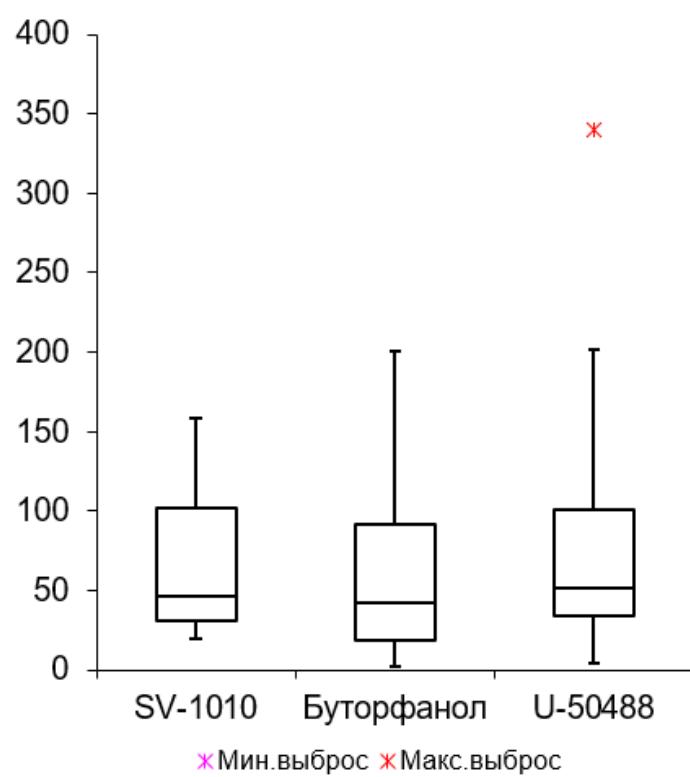
| | | | |
|--|-------|-------|-------|
| Связывание с мю-опиоидным рецептором с использованием радиолиганда [3H]-DAMGO | 54,0 | 50,4 | 19,0 |
| Вытеснение [3H]DAMGO из мю-1-опиоидного рецептора | 40,6 | 36,3 | 23,1 |
| Вытеснение [3H]дипренорфина из мю-опиоидного рецептора через 120 мин | 35,3 | 46,9 | 41,2 |
| Аффинность к мю-опиоидному рецептору с использованием радиолиганда [3H]-дипренорфина | 543,3 | 77,3 | 184,7 |
| Связывание мю-1-опиоидного рецептора с использованием [3H]дипренорфина | 449,9 | 323,9 | 125,4 |
| Вытеснение [3H]DAMGO из мю-опиоидного рецептора, экспрессированного в клетках CHO-K1, через 45 мин | 265,1 | 182,2 | 307,0 |
| Вытеснение [125I]FK33824 из мю-опиоидного рецептора | 477,8 | 192,7 | 194,8 |
| Вытеснение [3H]дипренорфина из мю-опиоидного рецептора, микропланшетный сцинтилляционный счетчик | 326,7 | 584,4 | 566,6 |
| Вытеснение [125]OXY из мю-опиоидного рецептора | 683,1 | 912,8 | 744,5 |

Примечание. ЭДТА – этилендиаминететрауксусная кислота; ДМСО – диметилсульфоксид; НЕПЕС (англ. 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) – 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота; CHO-K1 – клеточный штамм, полученный из яичника китайского хомячка, известный своей неприхотливостью, быстрым ростом и способностью к эффективной экспрессии белков. * Значения константы связывания Kd получены при обучении алгоритмов хемореактомного анализа на 22 независимых выборок данных по связыванию дельта-рецепторов.

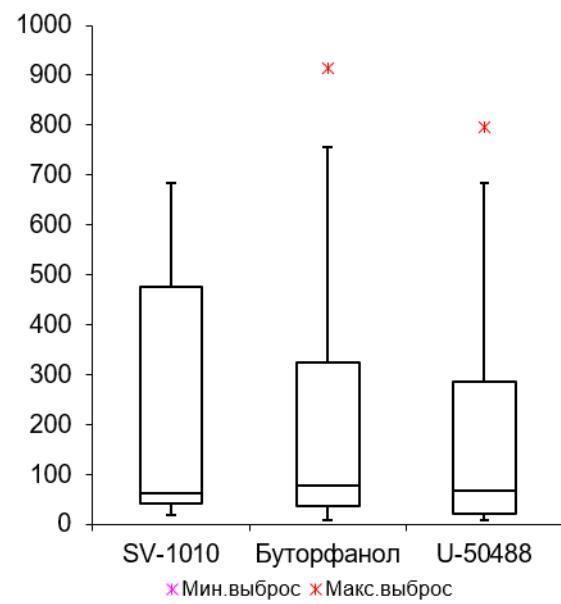
Note. EDTA – ethylenediaminetetraacetic acid; DMSO – dimethyl sulfoxide; HEPES – 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid; CHOK1 – a cell strain derived from the Chinese hamster ovary, known for its unpretentiousness, rapid growth, and ability to efficiently express proteins. * The constant Kd values were obtained by training the chemoreactomic analysis algorithms on for 22 independent delta receptor binding data sets are presented.



a



b



c

Рисунок 1. Анализ распределений значений полученных оценок констант связывания Kd (нМ) для различных типов опиоидных рецепторов человека. Указаны распределение оценок по квартилям (прямоугольники), медианные значения оценок (горизонтальная полоса внутри прямоугольника), и интервалы ошибок («усы» диаграммы):

a – дельта-рецепторы; **b** – каппа-рецепторы; **c** – мю-рецепторы.

* Максимальные выбросы (минимальных выбросов не установлено)

Figure 1. Analysis of the distribution of the obtained estimates of the binding constants Kd (nM) for different types of human opioid receptors. The distribution of estimates by quartiles (rectangles), median values of the estimates (horizontal bar inside the rectangle), and error bars (“whiskers”) are shown:

a – delta receptors; **b** – kappa receptors; **c** – mu receptors.

* Maximum emissions (no minimum emissions were found)

Во-первых, медианные и средние значения констант Kd соединения SV-1010 сопоставимы с оценками значений констант, полученных для известных агонистов опиоидных рецепторов. В частности, средние значения констант связывания лежали в диапазоне 75–98 нМ для дельта-рецепторов, 62–81 нМ для каппа-рецепторов, 198–244 нМ для мю-рецепторов (**табл. 4**). Таким образом, хемореактомное моделирование указывает на степень сродства соединения SV-1010 к опиоидным рецепторам, сопоставимую со сродством буторфана и U-50488.

Таблица 4. Усредненные значения констант связывания (K_d) для изученных подтипов опиоидных рецепторов, нМ

Table 4. Average values of binding constants (K_d) for the studied opioid receptor subtypes, nM

| Рецепторы | Молекулы сравнения | | |
|------------------|--------------------|-------------|-----------|
| | SV-1010 | Буторфанол | U-50488 |
| Дельта-рецепторы | 79,9±77,6 | 74,8±50,3 | 97,7±81,6 |
| Каппа-рецепторы | 64,8±46,3 | 62,4±59,9 | 80,8±82,9 |
| Мю-рецепторы | 243,8±246,9 | 218,7±266,5 | 198,6±245 |

Во-вторых, для вещества SV-1010 среди изученных подтипов опиоидных рецепторов наименьшие средние значения K_d установлены именно для каппа-рецепторов (64,8±46,3 нМ; дельта- и мю-рецепторы: 79,9±77,6 нМ и 243,8±246,9 нМ соответственно) (см. табл. 4). Этот результат указывает на перспективность дальнейших экспериментальных и других исследований соединения SV-1010 с акцентом именно на каппа-опиоидные рецепторы.

В-третьих, более детальный анализ данных результатов индивидуальных хемореактомных экспериментов по каппа-рецепторам (см. табл. 2) указал на отсутствие существенной разницы в связывании молекул соединения SV-1010 опиоидными рецепторами типов каппа-1 и каппа-2. В самом деле, для 6 из 16 использованных выборок данных (и соответствующих хемореактомных экспериментов) были известны конкретные подтипы каппа-рецепторов. В результате хемореактомного моделирования получены значения 24,9 нМ, 48,9 нМ, 51,9 нМ для связывания с каппа-1-опиоидным рецептором и значения 23,7 нМ, 33,5 нМ, 54,5 нМ для связывания с каппа-2 опиоидным рецептором. Очевидно практически полное совпадение интервалом полученных оценок K_d для каппа-1- и каппа-2 рецепторов (24,9–51,9 и 23,7–54,5 нМ соответственно).

Докинг молекул в структуру каппа-рецептора человека / Docking of molecules into the structure of human kappa receptor

Выполнен докинг молекулы-кандидата SV-1010 в специфический сайт связывания КОР, а также агонистов буторфанола и U-50488. Получены оценки энергий связывания, и на основе последних рассчитаны значения констант связывания (табл. 5). В соответствии с расчетными значениями константы связывания аффинность в отношении КОР соединения SV-1010 в 78,6 раза выше, чем парциального каппа-агониста буторфанола и в 6,3 раза выше, чем селективного каппа-агониста U-50488.

Таблица 5. Результаты докинга соединения SV-1010, буторфанола и вещества U-50488 в специфический сайт связывания каппа-опиоидного рецептора

Table 5. Results of docking of the compound SV-1010, butorphanol and substance U-50488 into the specific binding site of the kappa-opioid receptor

| Соединение | Энергия докинга ΔE , ккал/моль | Константа связывания K_d , нМ |
|------------|--|---------------------------------|
| SV-1010 | -10,30 | 31,0 |
| Буторфанол | -7,70 | 2437,3 |
| U-50488 | -9,20 | 196,5 |

Согласно полученным результатам докинга ключевыми аминокислотами сайта KOP, связывающими соединение SV-1010, являются ILE730, VAL667, MET579, ILE726, TRP723, ILE460 и TYR464 (рис. 2а). Таким образом, связывание молекулы-кандидата каппа-рецептором обусловлено тремя гидрофобными взаимодействиями бензольных фрагментов структуры SV-1010 с вышеперечисленными аминокислотами сайта KOP (рис. 2б).

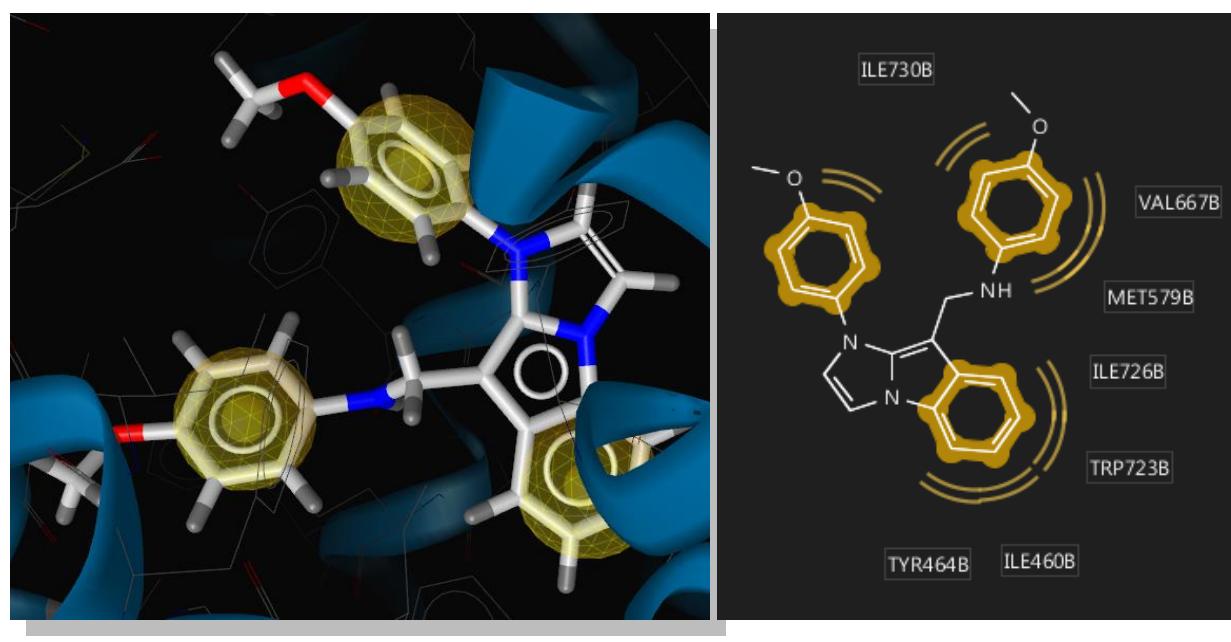


Рисунок 2. Анализ механизма связывания соединения SV-1010 с сайтом каппа-опиоидного рецептора (KOP):

a – расположение 3D-модели соединения SV-1010 в сайте связывания KOP; **b** – ключевые аминокислоты, обеспечивающие связывание SV-1010 с сайтом KOP.

Ile (англ. isoleucine) – изолейцин; Val (англ. valine) – валин; Met (англ. methionine) – метионин; Trp (англ. tryptophan) – триптофан; Tug (англ. tyrosine) – тирозин

Figure 2. Analysis of the binding mechanism of SV-1010 to the kappa-opioid receptor (KOR) binding site:

a – location of the 3D model of SV-1010 at the KOR binding site; **b** – key amino acids that ensure SV-1010 binding to the KOR binding site.

Ile – isoleucine; Val – valine; Met – methionine; Trp – tryptophan; Tyr – tyrosine

Сопоставление результатов хемореактомного моделирования и докинга / Comparison of the results of chemoreactomic modeling and docking

Отдельным вопросом является сопоставление результатов докинга с результатами хемореактомного моделирования взаимодействий каппа-рецепторов с изученными молекулами. При совпадении порядка полученных величин средних значений K_d для SV-1010 и U-50488 (SV-1010: K_d $64,8\pm46,3$ нМ, докинг 31,0 нМ; U-50488: K_d $80,8\pm82,9$ нМ, докинг 197 нМ) очевидно существенное отличие значений для буторфанола – на два порядка (K_d $62,4\pm59,9$ нМ, докинг 2437,0 нМ).

Такие отличия вполне ожидаемы, принимая во внимание, следующие факторы:

- докинг-моделирование проводится для отдельной молекулы белка вне какого-то ни было клеточного контекста;
- хемореактомное моделирование проводится в весьма широком диапазоне условий.

В самом деле, результаты хемореактомного моделирования взаимодействий молекул с каппа-рецепторами получены посредством вытеснения различных радиолигандов ($[^3\text{H}]U69593$, $[^3\text{H}]дипренорфин$), различных типов рецепторов (каппа-1, каппа-2), в различных клетках (гомогенат клеточных мемран, клетки линий СНО, HEK293), в различных буферных растворах (диметилсульфоксид, Trizma-основание), при различных количествах изучаемых веществ и т.д. Поэтому выбор условий, оптимальных для наиболее адекватного сопоставления результатов хемореактомного анализа и докинга, представляет собой нетривиальную исследовательскую задачу.

В настоящей работе мы просто провели корреляционный анализ между значениями K_d , полученными методом докинга, со значениями K_d , полученными в ходе хемореактомного анализа при различных условиях, перечисленных в таблице 2. В результате были отобраны наборы условий, соответствующие максимальным значениям коэффициента корреляции, которые суммированы в **таблице 6**.

Таблица 6. Результаты хемореактомного моделирования, наиболее соответствующие результатам докинг-анализа каппа-опиоидных рецепторов, – значения констант Kd, нМ

Table 6. Chemoreactomic modeling results that best match the kappa-opioid receptor docking analysis results – Kd constant values, nM

| Организм | Активность | Молекулы сравнения | | | r* |
|-----------------|--|--------------------|------------|---------|-----|
| | | SV-1010 | Буторфанол | U-50488 | |
| Homo sapiens | Анализ связывания каппа-опиоидных рецепторов <i>in vitro</i> с замещением радиолиганда [³ H]-U69593. Каппа-опиоидный рецептор экспрессирован в клетках HEK293 в 200 мкл буфера (5% ДМСО, 50 мМ Trizma-основания, pH 7,4). Реакции проводили в 96-луночных полипропиленовых планшетах в течение 1 ч при температуре около 25 °C, 50 мкл сцинтилляционного коктейля (MicroScint20, Packard) на лунку и подсчитывали количество клеток на счетчике Packard Top-Count в течение 1 мин на лунку | 129,0 | 200,6 | 146,8 | 1,0 |
| Homo sapiens | Вытеснение [³ H]-U69593 из каппа-опиоидного рецептора, экспрессированного в мембранах клеток СНО, методом жидкостной сцинтилляционной регистрации | 137,4 | 140,4 | 99,3 | 0,5 |
| Cavia porcellus | Аффинность связывания с каппа-опиоидным рецептором при вытеснении [³ H]-дипренорфина | 1590,8 | 2012,3 | 1359,8 | 0,9 |
| Cavia porcellus | Вытеснение радиоактивно меченного NalBzOH из каппа-3-опиоидного рецептора в мозге морской свинки | 95,3 | 314,5 | 413,5 | 0,3 |

Примечание. HEK293 (англ. human embryonic kidney 293) – клеточная линия, полученная из эмбриональных почек человека; ДМСО – диметилсульфоксид; СНО (англ. Chinese hamster ovary cells) – линия эпителиальных клеток, полученная из яичника китайского хомячка, которая часто используется в биологических и медицинских исследованиях. * Коэффициент корреляции между результатами докинга и хемореактомного анализа.

Note. HEK293 – human embryonic kidney 293; DMSO – dimethyl sulfoxide; CHO (Chinese hamster ovary cells) – a line of epithelial cells derived from the ovary of Chinese hamster, which is often used in biological and medical research. * Correlation coefficient between docking and chemoreactome analysis results.

Таким образом, корреляционный анализ показал, что наилучшим соответствием результатам докинга отличался хемореактомный эксперимент, проведенный на основании данных по связыванию КОР *in vitro* с замещением радиолиганда [³H]-U69593, в клетках HEK293 в соответствующем буфере (5% диметилсульфоксид, 50 мМ Trizma-основания,

pH 7,4) с использованием 96-луночных планшетов. Оценка «х» значения Kd, полученная в результате проведения этого эксперимента, может быть пересчитана в докинговую оценку по формуле « $35,8x - 4790$ » (с коэффициентом корреляции, близким к единице) (рис. 3).

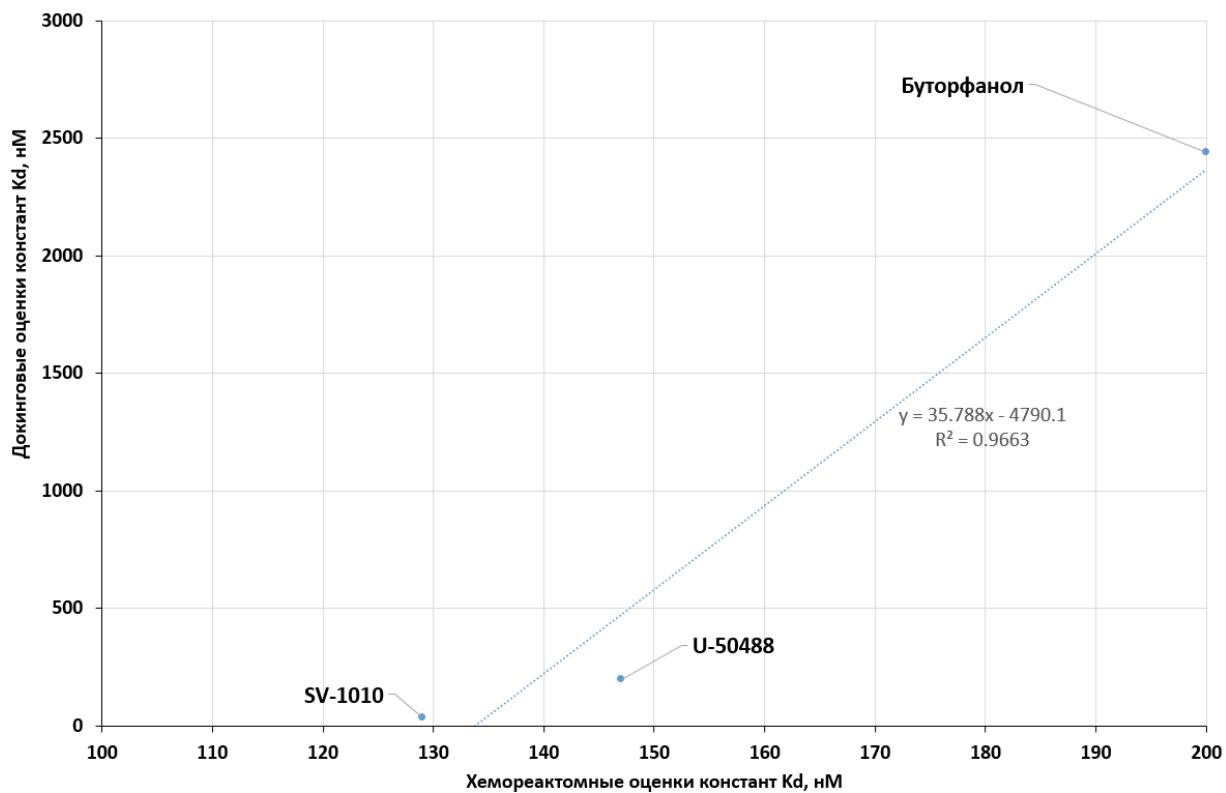


Рисунок 3. Корреляция между значениями Kd, полученными в результате докинга, со значениями хемореактомного анализа (тест *in vitro* с замещением радиолиганда [³H]-U69593). Приведены результаты линейной аппроксимации полученной зависимости (пунктирная линия)

Figure 3. Correlation between the Kd values obtained as a result of docking and the values of chemoreactome analysis (*in vitro* test with displacement of the radioligand [³H]-U69593). The results of the linear approximation of the obtained dependence are shown (dashed line)

Хемореактомное моделирование значений констант EC50 опиоидных рецепторов / Chemoreactome modeling of EC50 constant values of opioid receptors

Выше проанализированы оценки значений констант средства Kd к опиоидным receptorам. Однако само по себе средство к receptorам не означает активации receptorов. Для оценки воздействия на активность receptorа необходимо получение оценок агонистических свойств изучаемых молекул по отношению к receptorам. Поэтому

был проведен хемореактомный анализ констант EC50 опиоидных рецепторов, результаты которого представлены в **таблицах 7, 8**.

Таблица 7. Значения констант полумаксимальной эффективной концентрации (англ. half-maximal effective concentration, EC50) для различных подтипов опиоидных рецепторов человека (по результатам хемореактомного анализа), нМ

Table 7. Half-maximal effective concentration (EC50) constants for different human opioid receptor subtypes (based on chemoreactome analysis), nM

| Активность | Молекулы сравнения | | |
|---|--------------------|------------|---------|
| | SV-1010 | Буторфанол | U-50488 |
| Стимуляция связывания [³⁵ S]GTPγS в клетках СНО с дельта-1-опиоидным рецептором | 21,7 | 31,2 | 26,1 |
| Агонистическая активность к дельта-опиоидному рецептору, стимуляция связывания [³⁵ S]GTPγS | 100,5 | 2,8 | 248,4 |
| Агонизм дельта-опиоидного рецептора как стимуляция связывания [³⁵ S]GTPγS | 17,2 | 57,4 | 19,6 |
| Агонизм дельта-опиоидного рецептора как ингибиование продукции цАМФ, стимулированной форсколином | 18,2 | 68,0 | 26,8 |
| Агонизм дельта-опиоидного рецептора в клетках HN9.10 как связывание [³⁵ S]GTPγS | 17,6 | 23,7 | 25,0 |
| Агонизм дельта-опиоидного рецептора, связывание [³⁵ S]GTPγS | 19,8 | 20,7 | 25,0 |
| Агонистическая активность к каппа-опиоидному рецептору по стимуляции связывания [³³ S]GTPγS | 15,2 | 5,1 | 14,7 |
| Агонизм каппа-опиоидного рецептора, связывание [³⁵ S]GTPγS с помощью сцинтилляционного счетчика | 39,8 | 26,8 | 42,1 |
| Агонизм каппа-опиоидного рецептора человека в клетках COS7 через 60 мин, продукция инозитолфосфата | 121,4 | 9,3 | 6,8 |
| Анализ связывания [³⁵ S]GTPγS каппа-опиоидного рецептора в мемbrane (10 мкг/мл сапонина, 3 мкМ GDP и 0,20 нМ [³⁵ S]GTPgammaS) в буфер для связывания (100 мМ NaCl, 10 мМ MgCl ₂ , 20 мМ HEPES, pH 7,4) | 202,1 | 131,0 | 202,5 |
| Агонизм мю-1-опиоидного рецептора | 57,7 | 21,1 | 24,3 |
| Агонизм мю-опиоидного рецептора в клетках HEK293, активность бета-аррестина | 218,8 | 29,3 | 257,9 |
| Агонизм мю-опиоидного рецептора в клетках HEK293 по ингибиованию стимулированного форсколином накопления цАМФ | 248,4 | 9,1 | 262,4 |

| | | | |
|---|-------|-------|-------|
| Агонизм мю-опиоидных рецепторов в клетках CHO-K1 по индукции внутриклеточного высвобождения кальция | 233,9 | 398,8 | 176,3 |
| Функциональный анализ мю-рецепторов по связыванию [35S]GTPγS в буфере 50 мМ Трис-HCl, pH 7,4, 3 мМ MgCl ₂ , 0,2 мМ EGTA, 3 мкМ GDP и 100 мМ NaCl и с добавлением мембран | 21,8 | 13,6 | 3,8 |
| Агонизм мю-опиоидного рецептора в мембранах клеток CHO по стимуляции связывания [35S]GTPγS через 1 ч | 191,5 | 129,6 | 190,2 |

Примечание. CHO – (англ. Chinese hamster ovary cells) – линия эпителиальных клеток, полученная из яичника китайского хомячка, которая часто используется в биологических и медицинских исследованиях; цАМФ – циклический аденоzinмонофосфат; HN9.10 – эмбриональные клетки гиппокампа; COS7 – клеточная линия фибробластоподобных клеток, полученная из почек африканской зеленой мартышки; GDP - гуанидинифосфат; HEPES (англ. 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) – 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота; HEK293 – (англ. human embryonic kidney 293) – клеточная линия, полученная из эмбриональных почек человека; CHO-K1 – клеточный штамм, полученный из яичника китайского хомячка, известный своей неприхотливостью, быстрым ростом и способностью к эффективной экспрессии белков; ЭГТА – этиленгликольтетрауксусная кислота

Note. CHO (Chinese hamster ovary cells) – a line of epithelial cells derived from the ovary of Chinese hamster, which is often used in biological and medical research; cAMP – cyclic adenosine monophosphate; HN9.10 – embryonic hippocampal cells; COS7 – a fibroblast-like cell line derived from the kidneys of the African green monkey; GDP – guanidine diphosphate; HEPES – 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid); HEK293 – human embryonic kidney 293; CHO-K1 – A cell strain derived from the Chinese hamster ovary, known for its unpretentiousness, rapid growth, and ability to efficiently express proteins; EGTA – ethylene glycol tetraacetic acid

Результаты хемореактомного моделирования констант EC50 подтверждают данные анализа констант связывания Kd. Хемореактомные оценки значений Kd для взаимодействий SV-1010 с каппа-рецепторами лежат в диапазоне десятков наномоль на литр ($64,8 \pm 46,3$ нМ) (см. табл. 4). Аналогично, значения EC50 составляют десятки наномоль на литр ($94,6 \pm 84,8$ нМ) (табл. 8).

Таблица 8. Усредненные значения констант полумаксимальной эффективной концентрации (англ. half-maximal effective concentration, EC50) опиоидных рецепторов человека, нМ

Table 8. Average values of half-maximal effective concentration (EC50) for human opioid receptors, nM

| Рецепторы | Молекулы сравнения | | |
|------------------|--------------------|-------------|-------------|
| | SV-1010 | Буторфанол | U-50488 |
| Дельта-рецепторы | 32,5±33,3 | 34±24,4 | 61,8±91,5 |
| Каппа-рецепторы | 94,6±84,8 | 43,1±59,4 | 66,5±91,9 |
| Мю-рецепторы | 162±97,2 | 100,3±153,1 | 152,5±112,9 |

Соединение SV-1010 характеризуется большим сродством к каппа-рецепторам, чем к мю-рецепторам (K_d 243,8±246,9 нМ), и значение полученных оценок константы EC50 для мю-рецепторов также выше (162,0±97,2 нМ). Заметим, что хемореактомная оценка EC50 для буторфана по отношению к КОР (43,1±59,4 нМ) сопоставима с экспериментальной оценкой частичной агонистической активности буторфана в отношении КОР (EC50 57 нМ) [21]. Таким образом, хемореактомное моделирование EC50 подтверждает гипотезу о том, что соединение SV-1010 может являться агонистом КОР.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ / CONCLUSION

НПВП осуществляют свое фармакологическое действие не только через ингибицию циклооксигеназы-2, но и посредством других молекулярных механизмов. В настоящей работе изучены взаимодействия молекулы-кандидата SV-1010 с опиоидными рецепторами в сравнении с известными агонистами опиоидных рецепторов (буторфанол, U-50488). Анализ проведен двумя взаимодополняющими методами молекулярной фармакологии *in silico*: посредством хемореактомного анализа и докинга.

Среди изученных подтипов опиоидных рецепторов для вещества SV-1010 установлены наименьшие значения K_d для КОР (64,8±46,3 нМ; дельта- и мю-рецепторы: 79,9±77,6 и 243,8±246,9 нМ соответственно). Не обнаружено существенной разницы в связывании молекул соединения SV-1010 опиоидными рецепторами типов каппа-1 и каппа-2. Докинг позволил получить значения K_d и сформулировать механизм связывания соединения SV-1010 с сайтом КОР. Результаты хемореактомного моделирования констант EC50 отчасти подтвердили данные анализа констант связывания K_d (прежде всего, то, что SV-1010 может характеризоваться большим сродством к КОР, чем к мю-рецепторам).

Таким образом, вследствие потенциально значительного взаимодействия с КОР молекула-кандидат SV-1010 может являться НПВП с выраженным противоболевым и нормотимическим эффектом.

| ИНФОРМАЦИЯ О СТАТЬЕ | ARTICLE INFORMATION |
|---|--|
| Поступила: 13.10.2025 В доработанном виде: 19.12.2025 Принята к печати: 22.12.2025 Опубликована онлайн: 23.12.2025 | Received: 13.10.2025 Revision received: 19.12.2025 Accepted: 22.12.2025 Published online: 23.12.2025 |
| Вклад авторов | Authors' contribution |
| Все авторы принимали равное участие в сборе, анализе и интерпретации данных. Все авторы прочитали и утвердили окончательный вариант рукописи | All authors participated equally in the collection, analysis and interpretation of the data. All authors have read and approved the final version of the manuscript |
| Конфликт интересов | Conflict of interests |
| Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов | The authors declare no conflict of interests |
| Финансирование | Funding |
| Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда и Кубанского научного фонда в рамках проекта № 24-25-20079 | The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation and the Kuban Science Foundation, project No. 24-25-20079 |
| Этические аспекты | Ethics declarations |
| Неприменимо | Not applicable |
| Раскрытие данных | Data sharing |
| Первичные данные могут быть предоставлены по обоснованному запросу автору, отвечающему за корреспонденцию | Raw data could be provided upon reasonable request to the corresponding author |
| Комментарий издателя | Publisher's note |
| Содержащиеся в этой публикации утверждения, мнения и данные были созданы ее авторами, а не издательством ИРБИС (ООО «ИРБИС»). Издательство снимает с себя ответственность за любой ущерб, нанесенный людям или имуществу в результате использования любых идей, методов, инструкций или препаратов, упомянутых в публикации | The statements, opinions, and data contained in this publication were generated by the authors and not by IRBIS Publishing (IRBIS LLC). IRBIS LLC disclaims any responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions, or products referred in the content |
| Права и полномочия | Rights and permissions |
| © 2025 Авторы; ООО «ИРБИС» Статья в открытом доступе по лицензии CC BY-NC-SA (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/) | © 2025 The Authors. Publishing services by IRBIS LLC This is an open access article under CC BY-NC-SA license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/) |

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Громова О.А., Торшин И.Ю., Путилина М.В. и др. Хемореактомный анализ центральных механизмов нестероидных противовоспалительных препаратов. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2020; 120 (1): 70–7. <https://doi.org/10.17116/jnevro202012001170>.

Gromova O.A., Torshin I.Iu., Putilina M.V., et al. The chemoreactomic analysis of the central mechanisms of action of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2020; 120 (1): 70–7 (in Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro202012001170>

2. Galenko-Yaroshevsky P.A., Torshin I.Y., Gromov A.N., et al. Chemoproteomic analysis of the promising candidate molecule of the indole derivative with lab code SV-1010 and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Research Results in Pharmacology*. 2024; 10 (3): 1–9. <https://doi.org/10.18413/rrpharmacology.10.497>.
3. Karkhanis A., Holleran K.M., Jones S.R. Dynorphin/kappa opioid receptor signaling in preclinical models of alcohol, drug, and food addiction. *Int Rev Neurobiol*. 2017; 136: 53–88. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2017.08.001>.
4. Hasebe K., Kawai K., Suzuki T., et al. Possible pharmacotherapy of the opioid kappa receptor agonist for drug dependence. *Ann N Y Acad Sci*. 2004; 1025: 404–13. <https://doi.org/10.1196/annals.1316.050>.
5. Frankel P.S., Alburges M.E., Bush L., et al. Striatal and ventral pallidum dynorphin concentrations are markedly increased in human chronic cocaine users. *Neuropharmacology*. 2008; 55 (1): 41–6. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.04.019>.
6. Urbano M., Guerrero M., Rosen H., Roberts E. Antagonists of the kappa opioid receptor. *Bioorg Med Chem Lett*. 2014; 24 (9): 2021–32. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.03.040>.
7. Land B.B., Bruchas M.R., Lemos J.C., et al. The dysphoric component of stress is encoded by activation of the dynorphin kappa-opioid system. *J Neurosci*. 2008; 28 (2): 407–14. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4458-07.2008>.
8. de Costa B.R., Rothman R.B., Bykov V., et al. Selective and enantiospecific acylation of kappa opioid receptors by (1S,2S)-trans-2-isothiocyanato-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidinyl) cyclohexyl] benzeneacetamide. Demonstration of kappa receptor heterogeneity. *J Med Chem*. 1989; 32 (2): 281–3. <https://doi.org/10.1021/jm00122a001>.
9. Mansson E., Bare L., Yang D. Isolation of a human kappa opioid receptor cDNA from placenta. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994; 202 (3): 1431–7. [https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.2091 PMID 8060324](https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.2091).
10. Jordan B.A., Devi L.A. G-protein-coupled receptor heterodimerization modulates receptor function. *Nature*. 1999; 399 (6737): 697–700. <https://doi.org/10.1038/21441>.
11. Szczepaniak A., Machelak W., Fichna J., Zielińska M. The role of kappa opioid receptors in immune system – an overview. *Eur J Pharmacol*. 2022; 933: 175214. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.175214>.
12. Mansour A., Fox C.A., Akil H., Watson S.J. Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. *Trends Neurosci*. 1995; 18 (1): 22–9. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(95\)93946-U](https://doi.org/10.1016/0166-2236(95)93946-U).

13. Torshin I.Yu. Sensing the change: from molecular genetics to personalized medicine. Nova Biomedical Pub. Inc.; 2012: 366 pp.

14. Торшин И.Ю. О применении топологического подхода к анализу плохо формализуемых задач для построения алгоритмов виртуального скрининга квантово-механических свойств органических молекул I: основы проблемно ориентированной теории. *Информатика и ее применения*. 2022; 16 (1): 39–45. <https://doi.org/10.14357/19922264220106>.

Torshin I.Yu. On the application of a topological approach to analysis of poorly formalized problems for constructing algorithms for virtual screening of quantum-mechanical properties of organic molecules I: the basics of the problem-oriented theory. *Informatics and Applications*. 2022; 16 (1): 39–45 (in Russ.). <https://doi.org/10.14357/19922264220106>.

15. Torshin I.Y., Rudakov K.V. On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs: part 2. Local completeness of invariants of chemographs in view of the combinatorial theory of solvability. *Pattern Recognit Image Anal*. 2014; 24: 196–208. <https://link.springer.com/article/10.1134/S1054661814020151>.

16. Torshin I.Yu. On solvability, regularity, and locality of the problem of genome annotation. *Pattern Recognit Image Anal*. 2010; 20: 386–95. <https://doi.org/10.1134/S1054661810030156>

17. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On the procedures of generation of numerical features over partitions of sets of objects in the problem of predicting numerical target variables. *Pattern Recognit Image Anal*. 2019; 29 (4): 654–67. <https://doi.org/10.1134/S1054661819040175>.

18. Wu H., Wacker D., Mileni M., et al. Structure of the human κ-opioid receptor in complex with JDTic. *Nature*. 2012; 485 (7398): 327–32. <https://doi.org/10.1038/nature10939>.

19. Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem*. 2010; 31 (2): 455–61. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.

20. Васильев П.М., Спасов А.А., Кочетков А.Н. и др. Консенсусный подход к поиску *in silico* противодиабетических соединений. В кн.: Спасов А.А., Петров В.И. (ред.) Мишень-ориентированный поиск антидиабетических средств. Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет; 2016: 126–81.

Vasiliev P.M., Spasov A.A., Kochetkov A.N., et al. Consensus approach to *in silico* search for antidiabetic compounds. In: Spasov A.A., Petrov V.I. (Eds) Target-oriented search for antidiabetic agents. Volgograd: Volgograd State Medical University; 2016: 126–81 (in Russ.).

21. Gear R.W., Miaskowski C., Gordon N.C., et al. The kappa opioid nalbuphine produces gender- and dose-dependent analgesia and antianalgesia in patients with postoperative pain. *Pain*. 1999; 83 (2): 339–45. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(99\)00119-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(99)00119-0).

Сведения об авторах / About the authors

Галенко-Ярошевский Павел Александрович, д.м.н., проф., чл.-кор. РАН / Pavel A. Galenko-Yaroshevsky, Dr. Sci. Med., Prof., Corr. Member of RAS – ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3190-1437>. eLibrary SPIN-code: 1575-6129.

Торшин Иван Юрьевич, к.ф-м.н., к.х.н. / Ivan Yu. Torshin, PhD – ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>. WoS ResearcherID: C-7683-2018. Scopus Author ID: 7003300274. eLibrary SPIN-code: 1375-1114.

Суздалев Константин Филиппович, к.х.н., доцент / Konstantin F. Suzdalev, PhD, Assoc. Prof. – ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4879-0577>. Scopus Author ID: 6505813444. eLibrary SPIN-code: 5598-3781.

Васильев Павел Михайлович, д.б.н., доцент / Pavel M. Vassiliev, Dr. Sci. Biol., Assoc. Prof. – ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8188-5052>. WoS ResearcherID: R-9283-2016 Scopus Author ID: 7005832292. eLibrary SPIN-code: 2135-8167.

Ишханян Нарек Норайрович / Narek N. Ishkhanyan – ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-9663-5044>.

Громов Андрей Николаевич / Andrey N. Gromov – ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7507-191X>. WoS ResearcherID: C-7476-2018. Scopus Author ID: 7102053964. eLibrary SPIN-code: 8034-7910 910.

Рейер Иван Александрович, к.т.н. / Ivan A. Reyer, PhD – ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7928-053X>. Scopus Author ID: 14042533700.

Громова Ольга Алексеевна, д.м.н., проф. / Olga A. Gromova, Dr. Sci. Med., Prof. – ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>. WoS ResearcherID: J-4946-2017. Scopus Author ID: 7003589812. eLibrary SPIN-code: 6317-9833. E-mail: unesco.gromova@gmail.com.