Письма в ЖЭТФ, том 117, вып. 10, с. 783 – 793 © 2023 г. 25 мая

Теория функционала плотности, молекулярная динамика и AlteQ для исследования баймантуолуоамида A и баймантуолуоамида B и выявления потенциальных ингибиторов белков M^{pro} – новой мишени для лечения SARS COVID-19[1)]

К. Гурушанкар[a,b 2), 3)], *С. К. Джеясилан*[c,d 3)], *М. Гришина*[a], *И. Сисванто*[e 3)], *Р. Тивар*[f 3)], *Н. Н. Т. Пуспанингсих*[g 3)]

[a] *Лаборатория компьютерного моделирования лекарственных средств Высшей медико-биологической школы Южно-Уральского государственного университета, 454080 Челябинск, Россия*

[b] *Department of Physics, Kalasalingam Academy of Research and Education, Krishnankoil, 626126 Tamilnadu, India*

[c] *Post Graduate & Research Department of Physics, N.M.S.S.V.N. College, Madurai, 625019 Tamilnadu, India*

[d] *Post Graduate Department of Physics, Mannar Thirumalai Naciker College, Madurai, 625004 Tamilnadu, India*

[e] *Bioinformatic Laboratory, UCoE Research Center for Bio-Molecule Engineering Universitas Airlangga, 60115 Surabaya, Indonesia*

[f] *Department of Physics, Coordinator Research and Development Cell, Dr CV Raman University, Kargi Kota, 495113 Bilaspur CG, India*

[g] *Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, 60115 Surabaya, Indonesia*

Поступила в редакцию 2 января 2023 г.
После переработки 12 апреля 2023 г.
Принята к публикации 13 апреля 2023 г.

COVID-19 привел к эпидемическим условиям во всем мире. Несмотря на усилия ученых всего мира по разработке эффективных лекарств против этого вируса, в настоящее время не существует признанного лекарства от COVID-19. Успешные методы лечения различных заболеваний основаны на использовании натуральных компонентов, содержащихся в лекарственных растениях, что также имеет решающее значение для разработки новых лекарств. Это исследование направлено на то, чтобы понять роль молекул баймантуолуоамида A (baia) и баймантуолуоамида B (baib) в лечении COVID-19. Первоначально теория функционала плотности (DFT) с базисным набором Becke3-Lee-Yang-Parr (B3LYP) 6-311 + $G(d, p)$ использовалась для изучения их электронных потенциалов. Ряд характеристик, в том числе разность между энергиями низшей свободной (НСМО) и высшей занятой (ВЗМО) молекулярными орбиталями, жесткость и мягкость, электроотрицательность и электрофильность также были рассчитаны для обсуждения реакционной способности молекул. С использованием метода NBO (Natural Bond Orbital) исследована биологически активная природа и стабильность указанных соединений. Кроме того, оба соединения являются потенциальными ингибиторами основной протеазы (M^{pro}). Проведено моделирование молекулярной динамикой и методом AlteQ.

DOI: 10.31857/S1234567823100117, EDN: coeqll

1. Введение. Начиная с более ранних стадий этой пандемии, всемирные усилия были направлены на производство вакцин и противовирусных препаратов для борьбы с этим вирусом. Новый коронавирус в первую очередь вызывает тяжелый острый респираторный синдром (SARS), взаимодействуя с рецепторами ACE-2 и корецепторами TMPPRS для праймирования S-белка [1–4]. В дополнение к первичной протеазе (3CL-pro) и папаиноподобной протеазе он также кодирует цистеиновую протеазу, сериновую протеазу (PLpro). Они могут участвовать в расщеплении вирусных полипротеинов [5], что приводит к созданию активных веществ для репликации вируса внутри клетки-хозяина. Одной из наиболее интригующих молекулярных мишеней для разработки препаратов против SARS является главная пептидаза (M^{pro}) коронавируса (CoV), вызы-

[1)] См. дополнительный материал к данной статье на сайте нашего журнала www.jetpletters.ac.ru

[2)] e-mail: gurushankar01051987@gmail.com

[3)] K. Gurushankar, S. Ch. Jeyaseelan, I. Siswanto, R. Tiwari, N. N. T. Puspaningsih.

вающего тяжелый острый респираторный синдром (SARS). В этой ситуации разработка натуральных лекарственных средств может помочь ограничить передачу вируса [6]. По сравнению с традиционными методами поиска лекарств, которые часто занимают много времени, вычислительные подходы обеспечивают удобный и эффективный способ обнаружения новых соединений, особенно важных в условиях нынешней пандемии. Фармакологическая мишень 3CLpro/Mpro (идентификатор PDB: 2GTB) широко исследуется для разработки лекарств для борьбы с COVID-19 и считается одной из наиболее изученных мишеней. На это указывает обилие патентов и потенциальных кандидатов в лекарства [7]. Это протеолитический фермент, необходимый для расщепления вирусного полипротеина на несколько функционально активных белковых единиц. Его выбор в качестве фармакологической мишени в данном исследовании оправдан тем, что его активный сайт полностью консервативен и невосприимчив к мутациям. Основная протеаза 2GTB, обнаруженная в CoV, связанном с тяжелым острым респираторным синдромом (SARS), демонстрирует 96 % сходство с основной протеазой 2019-nCov [8].

Взаимодействие между лекарством и его мишенью является наиболее важным этапом фармакологического действия. На размещение лекарства в рецепторном кармане влияют водородные связи, короткие контакты и ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Предлагаемый подход может быть использован как альтернативный метод определения межмолекулярных взаимодействий металлосодержащих комплексов в различных системах (фермент-лиганд, реагент-субстрат). Молекулярные участки определяются всеми этими взаимодействиями, обеспечивающими комплементарность лиганд-рецептор [9]. Недавно с помощью метода AlteQ были изучены различные фермент-лигандные комплексы (комплексы циклинзависимой протеинкиназы, мышиной ацетилхолинэстеразы, протеазы ВИЧ-1 и EGFR) [10–12]. Кроме того, Palko et al., 2021 предложили использовать метод AlteQ для прогнозирования биологической активности, молекулярного докинга и изучения механизмов действия лекарств [13]. В методе AlteQ использована высококачественная низкотемпературная рентгеновская дифракция с высоким разрешением для описания экспериментально определенных электронных плотностей. AlteQ – отличный инструмент для изучения электронных свойств крупных молекулярных структур [10–13]. Этот метод вычисляет электронную плотность в пространстве между рецептором и лигандом, используя атомные вклады Слейтерого типа, и, поскольку их взаимодействия определяются перекрыванием электронных облаков, взаимодействия должны удовлетворять принципу максимальной комплементарности, можно получить уравнение, описывающее эти взаимодействия. Этот метод также оценивает качество взаимодействия между рецептором и лигандом, насколько комплементарны взаимодействия, и благодаря этому его используют для отбрасывания менее реалистичных структур, полученных методами докинга.

Впоследствии разработка лекарств *de novo* требует очень много времени (обычно от 10 до 15 лет, чтобы вывести новые лекарства на рынок). В связи с этим подходящим подходом считается либо перепрофилирование одобренных FDA лекарств, либо поиск небольших молекул из природных потребляемых источников, которые считаются безопасными или обладают незначительной токсичностью. Вычислительные методы или методы *in silico* представляют собой важный подход к перепрофилированию лекарств. Перепрофилирование лекарств является эффективным подходом к открытию лекарств [14–16]. Недавно сообщалось, что палбоциклиб, ингибитор CDK4/6, был одним из самых популярных препаратов для использования при лечении COVID-19. В качестве рецептора при развитии тяжелого острого респираторного синдрома коронавируса 2 (SARSCoV-2) можно рассматривать ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2), чей уровень экспрессии тесно связан с инфекцией SARS-CoV-2 [17]. Ранее наша группа протестировала алкалоиды baia и baib и пришла к выводу, что baib обладает новыми структурными особенностями и является сильнодействующим ингибитором CDK4 [18]. Однако, насколько нам известно, для этих соединений не сообщалось ни об исследованиях теории функционала плотности (DFT), ни о проведении докинга. Основываясь на этих выводах, кажется важным полностью исследовать эти два соединения с точки зрения их потенциального применения.

Параллельно с этим для эффективного изучения фармакологической активности противовирусных препаратов в отношении ключевых ферментов SARS-CoV-2 применялись вычислительные стратегии, основанные на теории функционала плотности (DFT), молекулярном докинге и скрининге электронных баз данных [19–23]. В этих исследованиях DFT предоставила фундаментальную информацию, основанную на энергиях граничных орбиталей, их пространственном распределении и оптимизированных геометриях. Этот метод помог ученым оценить стабильность лекарств и рассчитать структурные, электронные и термодинамические свойства [24]. Эти свойства были успешно использованы для лучшего понимания поведения лекарств в биологических системах [25, 26]. Энергии граничных молекулярных орбиталей коррелируют с расчетно и экспериментально определенными свойствами органических молекул, отобранных в качестве кандидатов в лекарства [27, 28]. Расул и др. исследовали ингибирующую активность 19 производных тиазолида в отношении M^{pro} и метилтрансфераз. Арафет и др. использовали гибридный метод M06-2X/6-$31+G(d,p)$:AM1/MM для исследования механизмов ингибирования известного ингибитора M^{pro}, N3, и создали энергетические профили для образования ковалентного комплекса с M^{pro}. Хренова и др. провели детальное динамическое исследование фермент-субстратного комплекса M^{pro}. Они оценили особенности электронной плотности комплекса и показали, что траектории QM/MM-MD раскрывают реакционную способность субстрата в M^{pro} и хорошо согласуются с соответствующими экспериментальными данными. M^{pro} является предпочтительной мишенью для терапевтического дизайна SARS-CoV, и для эффективного воздействия на него был разработан широкий спектр лекарственных ингибиторов [29–31]. Предыдущие анализы геномных последовательностей показали, что SARS-CoV-2 взаимодействует с соответствующими вариантами SARS-CoV и MERS-CoV с высокой степенью сходства последовательностей [32]. Поэтому M^{pro} считается очень перспективной биологической мишенью для SARS-CoV-2.

В этой статье исследуется моделирование с помощью DFT, молекулярного докинга, молекулярной динамикой, метода AlteQ для исследования ингибирующего потенциала соединений baia и baib в отношении основной протеазы (M^{pro}) вируса SARS-CoV-2. Сначала мы характеризуем соединения, указанные в заголовке, с точки зрения нескольких параметров реакционной способности, используя расчеты DFT. Затем мы используем молекулярный докинг, моделирование молекулярной динамикой и AlteQ вместе, чтобы исследовать и анализировать связывающее сродство, режимы связывания и стабильность взаимодействия в активном центре SARS-CoV-2 M^{pro}.

2. Материалы и методы. Баймантуолуоамид A (baia) и баймантуолуоамид B (baib) – амидные алкоиды – были выбраны из наших предыдущих отчетов и для дальнейших подробных теоретических расчетов были изучены следующим образом [18]. Используя анализ популяции Малликена, были получены функции Фукуи с использованием базисного набора 6-$311+G(d,p)$ при расчете энергий (*single point*) для состояний молекулы N, N $-$ 1 и N $+$ 1. Программа GaussView 05 использовалась для отображения граничных молекулярных орбиталей молекулы и поверхности молекулярного электростатического потенциала [33]. Спектр плотности состояний (Density of States (DOS)) был подготовлен с использованием алгоритма Gausssum 3 [34].

3. Результаты и их обсуждение.

3.1. Анализ FMO. Химическая реакционная способность, кинетическая стабильность и химическая мягкость соединений baia и baib – все это характеристики, которые можно объяснить молекулярными орбиталями ВЗМО-НСМО молекулы. Графическое изображение ВЗМО, НСМО, ВЗМО-1, НСМО $+\,1$, ВЗМО-2 и НСМО $+\,2$ молекул baia и baib показано на рис. 1. Положительная и отрицательная фазы представлены красным и зеленым цветом соответственно. Графики показывают, что ВЗМО, НСМО, ВЗМО-1, НСМО $+\,1$, ВЗМО-2 и НСМО $+\,2$ прогнозируют изменение распределения электронной плотности вокруг всей молекулы. Это подтверждает наличие межмолекулярного переноса заряда в целевых молекулах. Были определены общая жесткость, химический потенциал, индекс электрофильности и мягкость молекул baia и baib, которые показаны вместе с другими молекулярными параметрами, связанными с FMO (см. дополнительные материалы, табл. S1). Таким образом, молекулярные свойства, связанные с ВЗМО-НСМО, используются для прогнозирования тенденции лекарственного средства к взаимодействию лекарство-акцептор [35]. Значения потенциала ионизации наблюдались выше по сравнению со значениями сродства к электрону, характеризующими лучшую электронодонорную способность исследуемых молекул baia и baib. Было обнаружено, что общее значение жесткости составляет 2.248 и 2.214 для лигандов baia и baib. Общее значение мягкости было рассчитано как 0.445 и 0.452. Значения химической жесткости для baia и baib больше, чем их значения мягкости. Следовательно, более высокая химическая жесткость означает более низкую реакционную способность и более высокую стабильность. Значения химического потенциала baia ($\mu=-3.840$) и baib ($\mu=-3.612$) показывают, что baib более стабилен, чем baia. Значения показали, что лиганд baib является более реакционноспособным и имеет сильную тенденцию к образованию комплексов с различными металлами [33, 34].

3.2. Анализ MEP. Молекулярный электростатический потенциал (MEP) является очень полезным инструментом для анализа участков электронной плотности при рассмотрении электрофильных и нук-

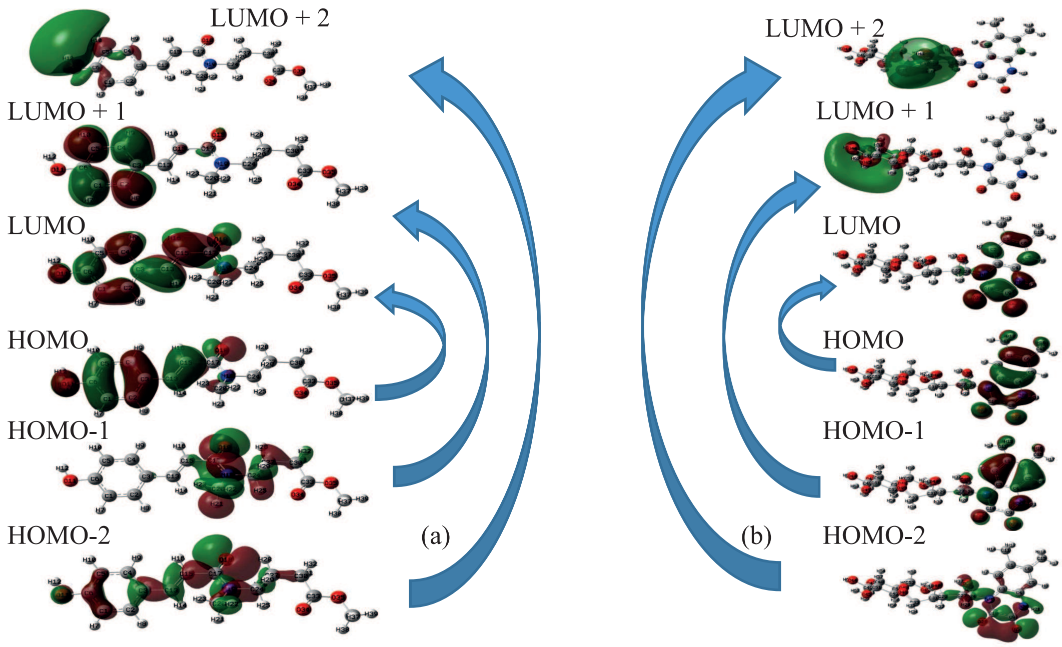

Рис. 1. (Цветной онлайн) Граничные молекулярные орбитали молекулы baia (a) и молекулы baib (b)

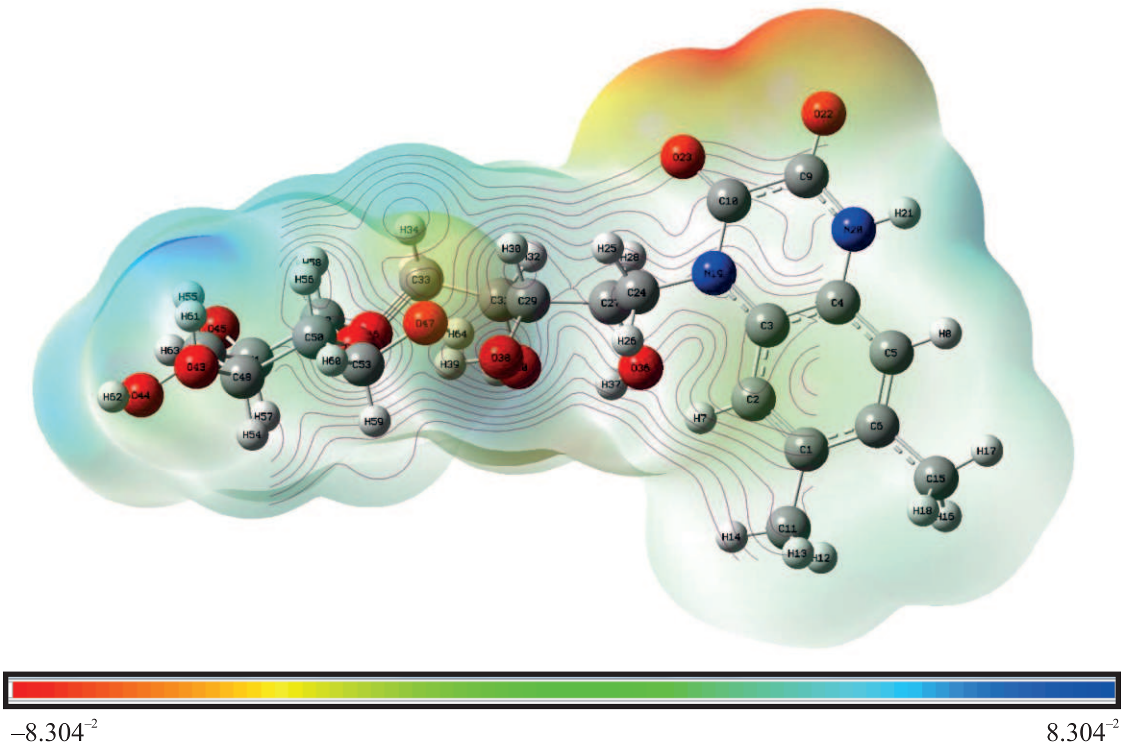

Рис. 2. (Цветной онлайн) Поверхность молекулярного электростатического потенциала молекулы baia

леофильных реакций, особенно для биомолекул и лекарств. Как правило, он предоставляет важную информацию о химической стабильности и реакционной способности органической молекулы для понимания электрофильных и нуклеофильных свойств. Нуклеофильные и электрофильные свойства исследованы и отмечены разными цветами. Синий цвет указывает на более высокий нуклеофильный потенциал, а красный цвет указывает на более высокий электрофильный потенциал. Электростатический потенциал обычно уменьшается в следующем порядке: синий < зеленый < желтый < оранжевый < красный. Электрофильные области в основном представлены вокруг атома O, а нуклеофильные потенциалы – вокруг атомов H и N в соединениях baia и baib, отмеченных на рис. 2 и 3. Эти центры реакционной способности позволяют соединениям связываться с заряженными системами в живых организмах, что подтверждает биоактивность [36].

3.3. Распределение зарядов атомов по Малликену и локальные дескрипторы реакционной способности. Показано рассчитанное по Малликену распределение атомного заряда молекул baia и baib (см. дополнительные материалы, табл. 2 и 3). Атом углерода C17 в молекуле baia имеет наибольший положительный заряд, потому что он соединен с электроотрицательными атомами кислорода (O18) и азота (N19). Предполагается, что гидроксильная группа, связанная с атомом кислорода фенильного кольца (O11), будет иметь наибольшее значение отрицательного заряда. Все атомы водорода имеют положительные значения заряда, в то время как кольцевые атомы углерода имеют как положительные, так и отрицательные значения заряда, что указывает на то, что заместители оказывают значительное влияние на атомы углерода. Вычисление функций Фукуи является эффективным способом определения реакционной способности каждого конкретного атома в молекуле. Он определяет предпочтительные области молекулы для конкретных химических атак [37, 38]. Молекулярная реакционная способность играет важную роль при разработке и синтезе новых фармацевтических соединений и используется для реализации биологической активности молекулы [39, 40]. Наиболее нуклеофильные участки молекулы baia расположены в порядке C20 > C24 > C37 > C3 = C30. Наиболее электрофильные участки молекулы расположены в порядке C24 > C36 > H23 > C37 > C30. Атомы O18 > H14 > C6 > C4 > H32 являются благоприятными атомными позициями для атаки радикалов.

Как и в случае с молекулой baib, атом углерода C9 имеет наибольший положительный заряд, так как присоединен к электроотрицательным атомам кислорода (O22) и азота (N20). Предполагалось, что атом азота будет иметь наибольшее значение отрицательного заряда (N20). Все атомы водорода имеют положительные значения заряда, в то время как кольцевые атомы углерода имеют как положительные, так и отрицательные значения заряда, что указывает на то, что заместители оказывают значительное влияние на атомы углерода. Наиболее нуклеофильные участки молекулы baib расположены в порядке C24 > O43 > O42 > C49 > C52 = C53. Наиболее электрофильные участки молекулы расположены в порядке C24 > O42 = H64 > C27 = C53 > C15. Атомы O23 > O22 > H8 > C9 > C10 являются благоприятными атомными позициями для атаки радикалов.

3.4. Анализ FMO и плотность состояний (DOS). Используя плотность состояний, можно визуализировать состав молекулярных орбиталей (MO) и его влияние на химическую связь. Спектр DOS моделировали путем свертки молекулярных орбиталей с гауссовыми кривыми единичной высоты. В спектре DOS занятые и виртуальные орбитали представлены зеленой и красной линиями соответственно. На рисунке 4 показан смоделированный спектр DOS для baia и baib.

3.5. Анализ NBO. Межмолекулярное и внутримолекулярное взаимодействие, определяемое через энергию стабилизации $E(2)$, изучали с помощью NBO-анализа. Большая величина $E(2)$, а значит более яркая способность к электронодонорным свойствам, т.е. переносу электронов от доноров к акцепторам, демонстрирует возможность взаимодействия между донорами электронов и акцепторами электронов. Донорно-акцепторные взаимодействия и связанные с ними энергии возмущений второго порядка приведены в дополнительных материалах в табл. S4 и S5. Перекрывание между связывающей π (C-C) орбиталью и антисвязывающей π^* (C-C) орбиталью приводит к гиперконъюгативным взаимодействиям. Это стабилизирующее взаимодействие вызывает внутримолекулярный перенос заряда (ICT) молекул baia и baib. Два сильных взаимодействия LP $\to \pi^*$ в молекуле baia возникают за счет неподеленных пар атомов азота и кислорода, которые стабилизируют молекулу через LP (2) O35 $\to \pi^*$C33-O34 и LP (1) N19 $\to \pi^*$C17-O18 с энергиями стабилизации 46.53 кДж/моль и 39.01 ккал/моль соответственно. В молекуле baib сильное LP $\to \sigma^*$ взаимодействие возникает за счет неподеленных пар атомов кислорода, которые стабилизируют молекулу через LP (2) O38 $\to \sigma^*$O42-C52, LP (1) O47 $\to \sigma^*$O42-C52 и LP (1) O47 $\to \sigma^*$C53-H60 с энергиями стабилизации 105.18, 107.49 и 112.04 ккал/моль соответственно. Это стабилизирующее взаимодействие между LP-орбиталями и σ^*-орбиталями является характерной чертой биологической активности молекулы.

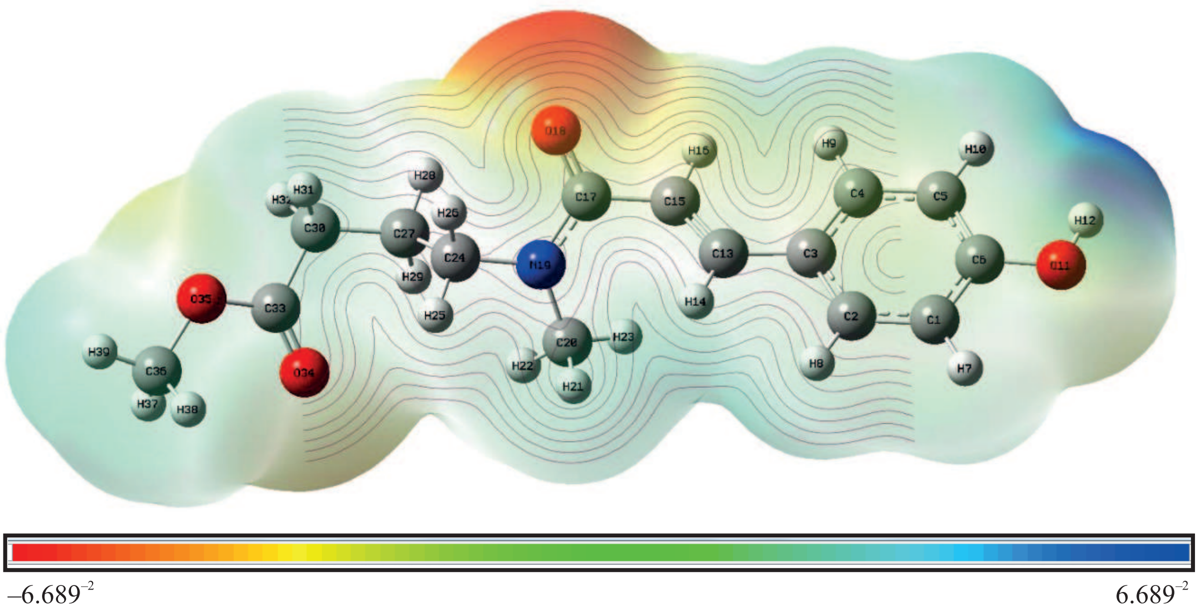

Рис. 3. (Цветной онлайн) Поверхность молекулярного электростатического потенциала молекулы baib

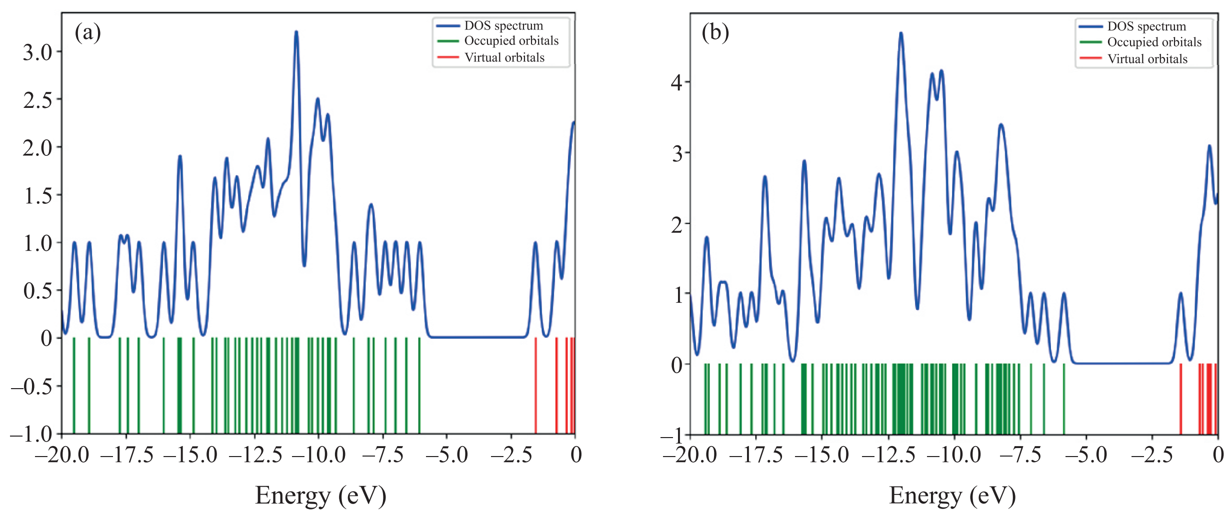

Рис. 4. (Цветной онлайн) Спектр DOS для молекул baia (a) и baib (b)

3.6. Анализ данных Молекулярно-динамического моделирования.

3.6.1. Конформационная динамика каждой системы: стабильность, гибкость и компактность. Конформационная динамика каждой системы оценивается через несколько переменных, таких как стабильность, гибкость и компактность [41, 42]. Анализ устойчивости системы может быть выполнен путем сходимости полной энергии в каждой системе. Результаты показывают, что в каждой системе нет чрезмерных колебаний энергии (см. дополнительные материалы, рис. S3). Кроме того, расчет среднеквадратичного отклонения (RMSD) направлен на определение стабильности каждой системы в виде комплекса, несвязанных пептида и лиганда (см. дополнительные материалы, рис. S4). В частности, RMSD комплекса показывает решающее влияние в стабилизации лиганда и белка [42]. Результаты показали, что RMSD комплекса существенно не колебался во время моделирования в течение 40 нс. Это свидетельствует о том, что с течением времени взаимодействие между лигандом и рецептором носит стабильный ха-

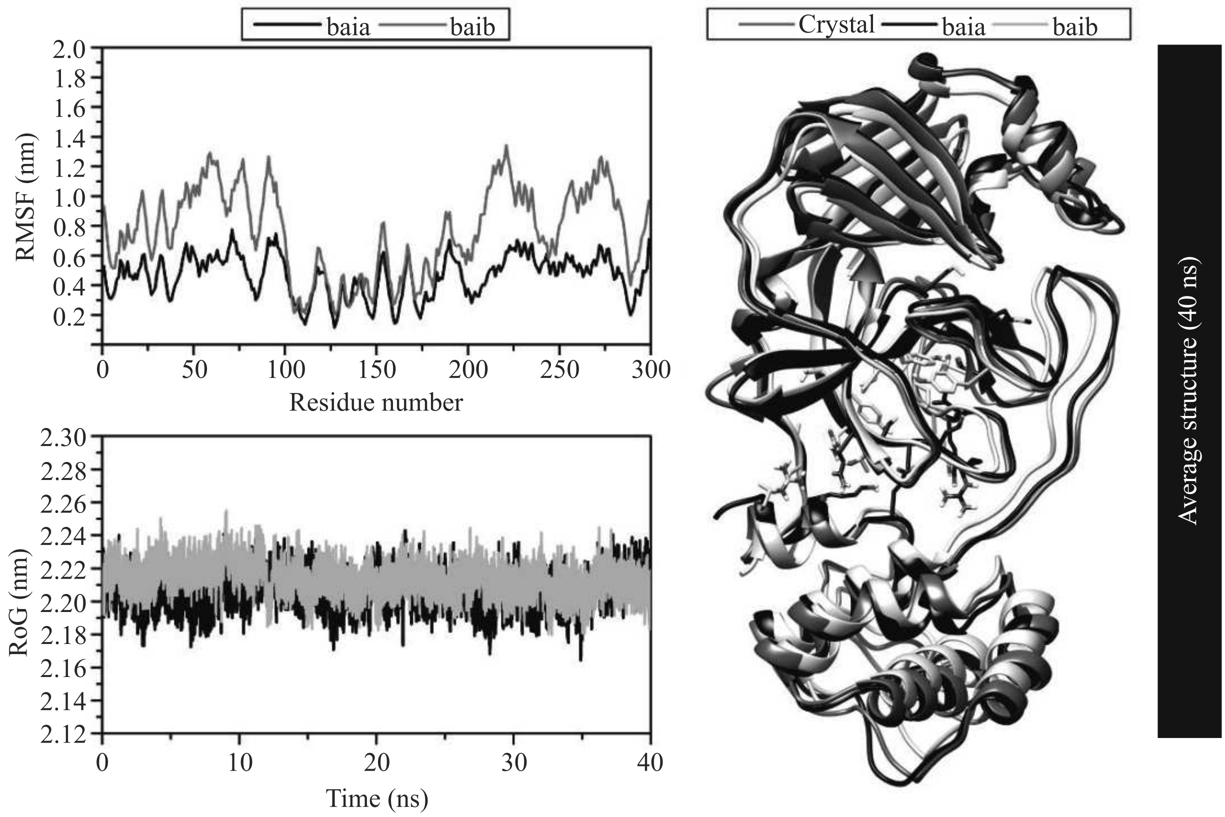

Рис. 5. Среднеквадратичное значение флуктуации и радиуса инерции, построенные по траекториям длительностью 40 нс. Показана суперпозиция средней структурой каждой системы: начальная координата (кристалл) и после моделирования в течение 40 нс (baia и baib)

рактер. Это предположение подтверждается относительно близким средним значением RMSD комплекса baia: 0.24 ± 0.02 нм и baib: 0.27 ± 0.02 нм.

В целом результаты RMSF показали, что мишень лиганда достаточно стабильна, а конформация имеет низкую гибкость. Анализ гибкости системы направлен на то, чтобы увидеть гибкость структуры белка во время моделирования [43]. Эта переменная может быть рассчитана по среднеквадратичной флуктуации (RMSF) (рис. 5). Результаты показывают, что гибкость структуры белка для системы baib больше, чем для системы baia, это видно по среднему значению RMSF каждой системы (табл. 1). Эти результаты показывают, что система baia имеет более жесткую структуру, чем baib, потому что она имеет низкие колебания. В частности, колебания происходили в областях петель (216–221) и α-спирали (256–276). При этом остатки в активном центре (радиус 5 Å от координаты ингибитора) не флуктуируют чрезмерно. Это указывает на то, что область имеет хорошее взаимодействие между ингибитором-аминокислотами и аминокислотами-аминокислотами. Кроме того, результаты показывают, что каждая система имеет относительно компактную структуру с незначительными флуктуациями (~ 2.21 нм) путем расчета радиуса инерции (RoG) (рис. 5). Эти результаты показывают, что в течение времени моделирования 40 нс каждая система имеет хорошо складчатую структуру [44]. Это подтверждается средней структурой за время моделирования 40 нс (рис. 5). Результаты показывают, что обе системы имеют компактные структуры с течением времени по сравнению с кристаллическими структурами. Конформационная динамика каждой системы показывает хорошие требования в процессе моделирования, что становится решающим параметром при оценке других переменных, таких, как свободная энергия связи и водородная связь, которые будут обсуждаться в следующем пункте.

3.6.2. Анализ водородных связей. Водородная связь (Н-связь) играет решающую роль во взаимодействиях ингибитор-белок [45–47]. Анализ Н-связи был рассчитан для траекторий 40 нс во время моделирования для каждой системы (табл. 2). Анализ занятости Н-связи играет важную роль в оценке взаимодействий ингибитор-белок. Результаты показыва-

Таблица 1. Средние значения траекторного анализа за время моделирования

Параметры	baia	baib
Общая энергия (ккал/моль)	-89186.80 ± 200.51	-89076.20 ± 201.11
RMSD-комплекс (нм)	0.24 ± 0.02	0.27 ± 0.02
RMSD-магистраль (нм)	0.16 ± 0.03	0.15 ± 0.02
RMSD-лиганд (нм)	0.20 ± 0.03	0.29 ± 0.07
СКО (нм)	0.46 ± 0.13	0.76 ± 0.28
RoG (нм)	2.20 ± 0.01	2.21 ± 0.00

Таблица 2. Анализ водородных связей с использованием траекторий 40 нс (значение отсечки: расстояние < 3.5 Å и угол $> 120°$)

Контакт	Рамки	Доля (%)	Среднее расстояние	Среднее значение
baia				
O...H-N(Цис144)	3266	16.33	3.15	153.82
(Хие40)O...H-O1	1768	8.84	3.11	154.68
O...H-N(Гли142)	1716	8.58	3.13	135.32
O...H-N2(Глн182)	1152	5.76	3.10	146.29
baib				
(Лиз4)...H-O4	1381	6.905	3.16	142.6

ют, что система baia имеет четыре водородные связи, а система baib имеет только одну водородную связь, зарегистрированную во время моделирования. К сожалению, категория H-связей является слабой категорией, поскольку она имеет очень малую заселенность H-связями, на что указывает процентная доля фракции $< 70\,\%$ [42]. Это связано с тем, что во время моделирования H-связь была записана с самым высоким представлением занятости только в маловлияющей системе (доля: $16.33\,\%$), наблюдаемой в 3266 кадрах из 20000 полных кадров. Однако анализ H-связей дает довольно четкую картину при взгляде на тип взаимодействия между ингибиторами и белками.

3.6.3. Прогноз связывающего сродства. Определение связывающего сродства каждого ингибитора с белком-мишенью рассчитывали на основе 4000 кадров, извлеченных из 40 нс траекторий. В процессе расчета связывающего сродства использовался подход MM-GBSA [48, 49]. Процесс расчета был выполнен для газовой фазы и при сольватации с учетом нескольких энергетических компонентов (табл. 3). Процесс расчета каждого компонента энергии основан на расчете вкладов энергии в свободную энергию связывания (ΔG_{bind}) [50]. Компонент энергии в газовой фазе (ΔG_{Gas}) показывает, что энергия Ван-дер-Ваальса (E_{vdW}) имеет хороший вклад по сравнению с электростатической энергией (E_{ele}). Кроме того, вклад энергии в фазе растворителя (ΔG_{sol}) показывает неблагоприятный вклад в полярную энергию ($\Delta G^{\mathrm{ele}}_{\mathrm{solv}}$) для обобщенной модели Борна. Однако в целом ΔG_{bind} каждого комплекса показала хорошее взаимодействие. На это указывает более высокое отрицательное значение с точки зрения термодинамики. Есть надежда, что ингибиторы с хорошим сродством связывания (более низкое отрицательное значение) могут прочно связываться с активным центром белка. Каждый ингибитор, который связывается с двумя разными активными центрами, показывает относительно схожую величину (разница: ~ 1.06 ккал/моль). Эти результаты дают достаточно четкое представление о способности ингибитора связываться с белком-мишенью.

Таблица 3. Определение энергетической составляющей (ккал/моль) каждого комплекса с использованием метода MM-GBSA. Данные представлены как среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего (SEM)

Энергетическая составляющая	baia	baib
Газовый термин		
E_{vdW}	-28.84 ± 0.06	-27.83 ± 0.08
E_{elec}	-4.50 ± 0.05	0.00 ± 0.00
ΔG_{gas}	-33.34 ± 0.09	-27.83 ± 0.08
Срок решения		
$\Delta G^{\mathrm{ele}}_{\mathrm{solv}}$	12.03 ± 0.05	7.41 ± 0.02
$\Delta G^{\mathrm{nonpolar}}_{\mathrm{solv}}$	-3.90 ± 0.00	-3.73 ± 0.01
ΔG_{sol}	8.13 ± 0.04	3.68 ± 0.01
Связывание свободной энергии		
$\Delta G_{\mathrm{bind(GBSA)}}$	-25.21 ± 0.06	-24.15 ± 0.07

3.7. Интегрирование по атомным бассейнам комплексов ингибитор-белок. Интегрирование по атомным бассейнам комплексов ингибитор-белок проводилось с использованием квантово-

Таблица 4. Интегральные характеристики (S, V, Q, $N_{\rm neigh}$, $N_{\rm on\,neigh}$) лигандов в газовой фазе и в комплексе "рецептор-лиганд", а также их разности (Δ)

Лиганды	Параметры	Лиганд в газовой фазе	Лиганд в комплексе фермент-лиганд	Δ
baia	S, Å^2	319.12	160.30	−158.82
	V, Å^3	360.37	352.34	−8.03
	$N_{\rm neigh}$, e	19.95987	20.34643	0.396555
	$N_{\rm on\,neigh}$, e	19.94987	20.34734	0.397471
	Q, e	0	0.00092	0.00092
baib	S, Å^2	476.83	266.03	−210.80
	V, Å^3	567.59	550.17	−17.42
	$N_{\rm neigh}$, e	32.57773	33.17946	0.601736
	$N_{\rm on\,neigh}$, e	32.57773	33.17544	0.597713
	Q, e	0	−0.00401	−0.00401

химического свободно-орбитального подхода AlteQ. Недавно было показано, что этот метод описывает трехмерные карты электронной плотности, полученные для органических и неорганических соединений с использованием данных низкотемпературной рентгеновской дифракции высокого разрешения с очень хорошим качеством, превосходящим другие широко известные квантово-химические методы [51, 52]. Затем были рассчитаны различные интегральные молекулярные и атомные характеристики с использованием трехмерных карт AlteQ и квантовой теории атомов в молекулах, или QTAIM, предложенной Бейдером [53]. Мы использовали программу "Расчет электронных свойств: интегрирование по атомным бассейнам", доступную на сайте www.chemosophia.com. Применялось радиальное интегрирование по атомным бассейнам, начиная с атомного центра и заканчивая достижением поверхности электронной плотности 0.001 а.е. или когда электронная плотность равна электронной плотности соседнего атома. Более подробно этот метод описан в [54]. Наиболее важные полученные интегральные характеристики (площадь, доступная для молекулярного растворителя (S), объем (V), заряд (Q), количество электронов, которые атомы оттягивают от своих соседей ($N_{\rm neigh}$), количество электронов, которые атомы передают соседям ($N_{\rm on\text{-}neigh}$) для лигандов в газовой фазе и в комплексе "рецептор-лиганд", а также их разности (Δ) приведены в табл. 4.

Интегральные характеристики показывают, что baia незначительно передает электроны ферменту в процессе их взаимодействия ($Q > 0$), а baib незначительно принимает электроны от фермента ($Q < 0$). При этом взаимодействия baib с ферментом более эффективны, что проявляется в более значительных перекрываниях электронных облаков baib с ферментом: при неизменной величине ковалентных перекрываний значительно усиливаются межмолекулярные перекрывания, что отражается в серьезном увеличении числа электронов $N_{\rm neigh}$ и $N_{\rm on\text{-}neigh}$, а также серьезном уменьшении объема и площади поверхности.

В обоих случаях образуются взаимодействия как с переносом электронной плотности от лиганда к ферменту, так и наоборот. Атомные бассейны лигандов в комплексах с ферментом показаны на рис. 6. Действительно, бассейны как атомов кислорода, так и атомов водорода лиганда усечены. Атомы фермента, контактирующие с ними, схематично показаны на рис. 6.

4. Вывод. Альтернативной стратегией, которая позволяет быстро определить потенциальные терапевтические возможности для лечения быстро развивающихся вирусных инфекций, является перепрофилирование уже получивших одобрение фармацевтических продуктов, в том числе перспективных лекарств. ВЗМО и НСМО-орбитали и MEP, исследованные с помощью DFT, открыли межмолекулярные взаимодействия посредством переноса заряда внутри молекулы. Согласно исследованиям DFT, соединения baia и baib являются перспективными для создания лекарств, которые являются селективными, безопасными и эффективными против COVID-19. Исследования интегральных характеристик методом AlteQ показали, что в baia и baib образуются взаимодействия с переносом электронной плотности от лиганда к ферменту, и наоборот. В целом, наши результаты показывают, что baia и baib, обладающие хорошим сродством к связыванию, являются компонентами Datura metel L, что предполагает биологически безопасный профиль этих соединений, что еще больше подтверждает потенциал этих соединений в качестве отправной точки для терапии против COVID-19. Наши исследования были проведены для выявления биоактивных соединений, которые могут

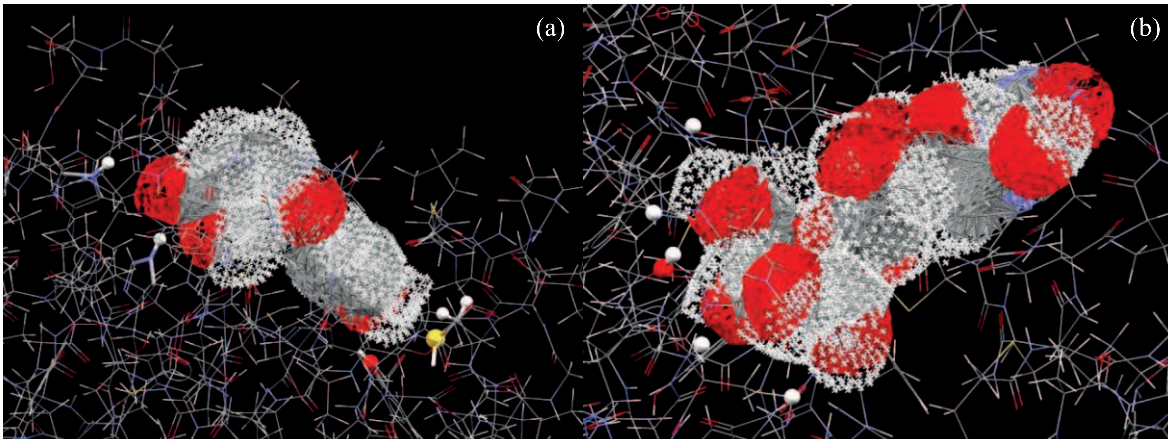

Рис. 6. (Цветной онлайн) Атомные бассейны лигандов в комплексах с ферментом: (a) – baia; (b) – baib

эффективно ингибировать M^{pro} COVID-19, а также для получения полезной информации для будущих исследований. Тем не менее, необходимо провести дальнейшие исследования для проверки этих соединений с использованием моделей *in vitro* и *in vivo*, чтобы проложить путь для этих соединений к их использованию в качестве лекарств.

Работа д-ра К. Гурушанкара и д-ра М. Гришиной выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, Департамента науки и технологий (Индия) и Национального совета по научно-техническому развитию (Бразилия), номер проекта 20-53-80002.

1. S. Boopathi, A. B. Poma, and P. Kolandaivel, J. Biomol. Struct. Dyn. **39**, 3409 (2021).
2. K. Dhama, K. Sharun, R. Tiwari, M. Dadar, Y. S. Malik, K. P. Singh, and W. Chaicumpa, Hum. Vaccin. Immunother. **16**, 1232 (2020).
3. M. Cascella, M. Rajnik, A. Aleem, S. C. Dulebohn, and R. D. Napoli, 2022 Oct. 13. in: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing (2022).
4. S. Beyersted, E. B. Casaro, and E. B. Range, Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. **40**, 905 (2021).
5. R. Razali, H. Asis, and C. Budiman, Microorganisms **9**, 2481 (2021).
6. S. G. Katre, A. J. Asnani, K. Pratyush, N. G. Sakharkar, A. G. Bhope, K. T. Sawarkar, and V. S. Nimbekar, Futur. J. Pharm. Sci. **8**, 36 (2022).
7. C. Liu, Q. Zhou, Y. Li, L. V. Garner, S. P. Watkins, L. J. Carter, J. Smoot, A. C. Gregg, A. D. Daniels, S. Jervey, and D. Albaiu, ACS Cent. Sci. **25**, 315 (2020).
8. Z. Xu, C. Peng, Y. Shi, Z. Zhu, K. Mu, and X. Wang, https://doi.org/10.1101/2020.01.27.921627 (2020).
9. N. Bohr, Dialectica **2**, 312 (1948).
10. H. Rimac, M. A. Grishina, and V. A. Potemkin, Future Med. Chem. **12**, 1387 (2020).
11. S. Kandagalla, H. Rimac, V. A. Potemkin, and M. A. Grishina, Future Med. Chem. **13**, 863 (2021).
12. H. Rimac, M. Grishina, and V. Potemkin, J. Chem. Inf. Model **61**, 1801 (2021).
13. N. Palko, M. Grishina, and V. Potemkin, Molecules **26**, 3960 (2021).
14. M. Akram, I. M. Tahir, S. M. A. Shah, Z. Mahmood, A. Altaf, K. Ahmad, N. Munir, M. Daniyal, S. Nasir, and H. Mehboob, Phytother. Res. **32**, 811 (2018).
15. Y. Zhao, Y. Wu, and M. Wang, in: *Handbook of Food Chemistry*, ed. by P. Cheung and B. Mehta, Springer, Berlin, Heidelberg (2015).
16. V. Kumar, V. Bhatt, and N. Kumar, Studies in Natural Products Chemistry **56**, 287 (2018).
17. Y. Xiao, Y. Yan, L. Chang, H. Ji, H. Sun, S. Song, K. Feng, A. Nuermaimaiti, Z. Lu, and L. Wang, Antiviral Res. **212**, 105558 (2023).
18. K. Gurushankar, H. Rimac, V. Potemkin, and M. Grishina, J. Mol. Struct. **1230**, 129925 (2021).
19. B. R. Beck, B. Shin, Y. Choi, S. Park, and K. Kang, Comput. Struct. Biotechnol. J. **18**, 784 (2020).
20. A. A. Elfiky, Life Sci. **253**, 117592e (2020).
21. A. Belhassan, S. Chtita, H. Zaki, T. Lakhlifi, and M. Bouachrine, Bioinformation **16**, 404 (2020).
22. N. Muralidharan, R. Sakthivel, D. Velmurugan, and M. M. Gromiha, J. Biomol. Struct. Dyn. **39**, 2673 (2021).
23. S. Vardhan and S. K. Sahoo, Comput. Biol. Med. **124**, 103936 (2020).
24. P. Calligari, S. Bobone, G. Ricci, and A. Bocedi, Viruses **12**, 445 (2020).
25. L. S. Braga, D. H. Leal, K. Kuca, and T. C. Ramalho, Curr. Org. Chem. **24**, 314 (2020).

26. R. Sahu, R.K. Mohapatra, S.I. Al-Resayes, D. Das, P.K. Parhi, S. Rahman, L. Pintilie, M. Kumar, M. Azam, and A. Ansari, J. Saudi Chem. Soc. **25**, 101193 (2021).
27. F. Pereira, K. Xiao, D. A. Latino, C. Wu, Q. Zhang, and J. Aires-de-Sousa, J. Chem. Inf. Model **57**, 11 (2017).
28. A. Karuppasamy, K. G. Krishnan, M. P. Velayutham Pillai, and C. Ramalingan, J. Mol. Struct. **1128**, 674 (2017).
29. N. Rasool, F. Yasmin, S. Sahai, W. Hussain, H. Inam, and A. Arshad, Chem. Phys. Lett. **771**, 138463 (2021).
30. M. G. Khrenova, V. G. Tsirelson, and A. V. Nemukhin, Phys. Chem. Chem. Phys. **22**, 19069 (2020).
31. K. Arafet, N. Serrano-Aparicio, A. Lodola, A. J. Mulholland, F. V. González, K. Świderek, and V. Moliner, Chem. Sci. **12**, 1433 (2021).
32. C. M. Coleman, J. M. Sisk, R. M. Mingo, E. A. Nelson, J. M. White, and M. B. Frieman, J. Virol. **90**, 8924 (2016).
33. R. Dennington, T. Keith, and J. Milam, Shawnee Mission KS, 2009. Version 5.
34. N. M. O'Boyle, A. L. Tenderholt, and K. M. Langner, J. Compt. Chem. **29**, 839 (2008).
35. K. Gholivand, F. Mohammadpanah, M. Pooyan, and R. Roohzadeh, Journal of Molecular Structure **1248**, 131481 (2022).
36. H. S. Sumrra, A. U. Hassan, M. Imran, M. Khalid, E. U. Mughal, M. N. Zafar, M. N. Tahir, M. A. Raza, and A. A. C. Braga, Appl. Organomet. Chem. **34**, e5623 (2020).
37. A. Ali, M. Khalid, S. Abid, J. Iqbal, M. N. Tahir, A. R. Raza, J. Zukerman-Schpector, and M. W. Paixao, Appl. Organomet Chem. **34**, e5399 (2020).
38. Y. S. Mary, G. Yalcin, Y. S. Mary, K. S. Resmi, R. Thomas, T. Önkol, E. N. Kasap, and I. Yildiz, Chemical Papers **74**, 1957 (2020).
39. S. Christopher Jeyaseelan and A. Milton Franklin Benial, J. Mol. Recognit. **34**, e2872 (2021).
40. M. Pradeep Kumar, K. Kranthi Raj, D. Ramachandran, M. N. S. Pavan Kumar, Radha Vaddavalli, and P. Jhansi Lakshmi, J. Proteomics Bioinform. **3**, 305 (2010).
41. A. Kumari, V. S. Rajput, P. Nagpal, H. Kukrety, S. Grover, and A. Grover, J. Biomol. Struct. Dyn. **40**, 4987 (2022).
42. B. Nutho, S. Pengthaisong, A. Tankrathok, V. S. Lee, J. R. K. Cairns, T. Rungrotmongkol, and S. Hannongbua, Biomolecules **10**, 1 (2020).
43. A. Bornot, C. Etchebest, and A. G. De Brevern, Proteins Struct. Funct. Bioinforma. **79**, 839 (2011).
44. T. Joshi, T. Joshi, P. Sharma, S. Chandra, and V. Pande, J. Biomol. Struct. Dyn. **39**, 823 (2021).
45. B. Nutho, P. Mahalapbutr, K. Hengphasatporn, N. C. Pattaranggoon, N. Simanon, Y. Shigeta, S. Hannongbua, and T. Rungrotmongkol, Biochemistry **59**, 1769 (2020).
46. R. Suno, S. Lee, S. Maeda, S. Yasuda, K. Yamashita, K. Hirata, S. Horita, M. S. Tawaramoto, H. Tsujimoto, T. Murata, M. Kinoshita, M. Yamamoto, B. K. Kobilka, N. Vaidehi, S. Iwata, and T. Kobayashi, Nat. Chem. Biol. **14**, 1150 (2018).
47. P. Mahalapbutr, N. Darai, W. Panman, A. Opasmahakul, N. Kungwan, S. Hannongbua, and T. Rungrotmongkol, Sci. Rep. **9**, 1 (2019).
48. B. R. Miller, T. D. McGee, J. M. Swails, N. Homeyer, H. Gohlke, and A. E. Roitberg, J. Chem. Theory Comput. **8**, 3314 (2012).
49. C. Wang, D. Greene, L. Xiao, R. Qi, and R. Luo, Front. Mol. Biosci. **4**, 1 (2018).
50. U. Ryde and P. Soderhjelm, Chem. Rev. **116**, 5520 (2016).
51. V. A. Potemkin and M. A. Grishina, J. Comput. Aided Mol. Des. **22**, 489 (2008).
52. M. Grishina, O. Bolshakov, A. Potemkin, and V. Potemkin, Comput. Theor. Chem. **1091**, 122 (2016).
53. R. F. W. Bader, Chem. Rev. **91**, 893 (1991).
54. V. Naumovich, M. Grishina, J. Novak, P. Pathak, V. Potemkin, M. Shahbaaz, and M. H. Abdellattif, J. Biomol. Struct. Dyn. **40**, 4775 (2022).