

Репозиционирование лекарственных препаратов как подход для поиска потенциальных фармакологических шаперонов глюкоцереброзидазы человека

Емельянов А.К.^{1,2}, Тюрин А.А.², Белых Е.А.¹, Пчелина С.Н.^{1,2}, Рычков Г.Н.^{1,3}

- 1 – Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» 188300, Ленинградская обл., г. Гатчина, Россия, мкр. Орлова роща, д. 1
- 2 – Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8
- 3 – Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого 195251, г. Санкт-Петербург, Россия, ул. Политехническая, д. 29

Наиболее распространенным фактором повышенного риска развития болезни Паркинсона (БП) являются мутации в гене глюкоцереброзидазы (GBA). В гомозиготном, а также в компаундном гетерозиготном состоянии мутации в данном гене приводят к снижению ферментативной активности глюкоцереброзидазы (ГЦ), повышению уровня её субстрата гексозилсфингозина (HexSph) как в клетках мозга, так и периферической крови, и развитию наследственного заболевания, относящегося к классу лизосомных болезней накопления болезни Гоше (БГ). В литературе всё чаще встречается обсуждение использования фармакологических шаперонов (ФС) ГЦ для терапии как GBA-БП, так и нейропатических форм БГ. Целью проводимого исследования являлось выявление среди широкого круга известных лекарственных препаратов потенциальных ФС наиболее распространенной мутантной формы N370S ГЦ, не являющихся конкурентными ингибиторами фермента. Исследования проводили методами молекулярного моделирования в два этапа, используя сконструированную нами ранее атомарную модель мутантной формы ГЦ N370S. Сначала провели виртуальный скрининг 2089 одобренных к применению в клинической практике химических соединений, в результате которого были отобраны 26 соединений, обладающих наименьшей величиной расчётной оценочной функции, характеризующей сродство к белку. Данные препараты принадлежали к различным фармакологическим группам, из которых для дальнейшего исследования выбрали 6, приём которых в клинической практике возможен длительное время. Стабильность шести комплексов ГЦ с отобранными химическими соединениями проверяли методом молекулярной динамики с явным учётом водного окружения. Рассчитанная методом MMGBSA свободная энергия связывания четырёх соединений (олопатадин, флавинмоноклеотид, ребамипид, бенфотиамин) ≤ -35 ккал/моль. Наибольшая вероятность проникновения через гематоэнцефалический барьер, прогнозируемая вэб-сервером ADMET, у препаратов Olopatadine (на уровне 17%) и Benfotiamine (на уровне 12%). Таким образом, в результате проведённого исследования из расширенной базы одобренных к применению лекарственных препаратов были выбраны потенциальные фармакологические шапероны ГЦ, способность которых повышать её ферментативную активность, а также снижать уровень субстрата HexSph требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, ген GBA, глюкоцереброзидаза, фармакологические шапероны, репозиционирование лекарственных средств, молекулярный докинг, молекулярная динамика.

Для цитирования: Емельянов А.К., Тюрин А.А., Белых Е.А., Пчелина С.Н., Рычков Г.Н. Репозиционирование лекарственных препаратов как подход для поиска потенциальных фармакологических шаперонов глюкоцереброзидазы человека. *Медицинская генетика* 2023; 22(7): 21-29.

Автор для корреспонденции: Емельянов А.К.; **e-mail:** Emelyanov_AK@pnpi.nrcki.ru

Финансирование. Работа поддержана грантом РФФИ №22-25-00721.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 02.12.2022

Drug repositioning as an approach to search for potential pharmacological chaperones of human glucocerebrosidase

Emelyanov A.K.^{1,2}, Tyurin A.A.², Belykh E.A.¹, Pchelina S.N.^{1,2}, Rychkov G.N.^{1,3}

1 – Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P.Konstantinov, National Research Centre «Kurchatov Institute»

1, mkr. Orlova roshcha, Gatchina, Leningradskaya Oblast, 188300, Russian Federation

2 – Pavlov First Saint Petersburg State Medical University

6-8, L'va Tolstogo st., Saint Petersburg, 197022, Russian Federation

3 – Peter the Great St.Petersburg Polytechnic University

29, Polytechnicheskaya st., St.Petersburg, 195251, Russian Federation

Mutations in the glucocerebrosidase (*GBA*) gene are the most common risk factor for developing Parkinson's disease (PD). In the homozygous, as well as in the compound heterozygous state, mutations in this gene lead to a decrease in the enzymatic activity of glucocerebrosidase (GC), an increase in the level of its substrate hexosylsphingosine (HexSph) both in brain cells and peripheral blood, and the development of a hereditary disease belonging to the class lysosomal storage disease Gaucher disease (GD). The literature is increasingly discussing the use of GC pharmacological chaperones (PC) for the treatment of both *GBA*-PD and neuropathic forms of GD. The aim of the study was to identify among a wide range of known drugs potential PC of the most common mutant form of N370S GC, which are not competitive inhibitors of the enzyme.

The studies were carried out by molecular modeling methods in two stages, using the atomic model of the N370S GC mutant form that we constructed earlier. First, a virtual screening of 2089 chemical compounds approved for use in clinical practice was carried out, as a result of which 26 compounds were selected that have the smallest value of the calculated evaluation function characterizing protein affinity. These drugs belonged to different pharmacological groups, of which 6 were selected for further study, which can be taken in clinical practice for a long time. The stability of six complexes of GC with selected chemical compounds was checked by the method of molecular dynamics with explicit allowance for the aqueous environment. The free energy of binding of four compounds (flavin mononucleotide, rebamipide, benfotiamine, olopatadine) calculated by the MMGBSA method is less than -35 kcal/mol. The highest probability of penetration through the blood-brain barrier, predicted by the ADMET web server, for the Olopatadine (at 17%) and Benfotiamine (at 12%)

Thus, as a result of the study, potential pharmacological chaperones of GC were selected from an expanded database of approved drugs for use, the ability of which to increase its enzymatic activity, as well as to reduce the level of the HexSph substrate requires further study.

Keywords: Parkinson's disease, *GBA* gene, glucocerebrosidase, pharmacological chaperones, drug repositioning, molecular docking, molecular dynamics.

For citation: Emelyanov A.K., Tyurin A.A., Belykh E.A., Pchelina S.N., Rychkov G.N. Drug repositioning as an approach to search for potential pharmacological chaperones of human glucocerebrosidase. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2023; 22(7): 21-29. (In Russ.)

Corresponding author: Emelyanov A.K.; **e-mail:** Emelyanov_AK@pnpi.nrcki.ru

Funding. The work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-25-00721.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Accepted: 2.12.2022

Введение

В настоящее время показано, что наиболее распространенным фактором повышенного риска развития болезни Паркинсона (БП) для многих популяций являются мутации в гене глюкоцереброзидазы (*GBA*) [1]. Обнаружено, что наличие мутаций в данном гене у жителей европейских стран повышает риск развития БП до 10 раз, а частота случаев *GBA*-БП составляет до 10% от всех случаев БП. В гомозиготном, а также компаундном гетерозиготном состояниях мутации в данном гене приводят к снижению ферментативной активности глюкоцереброзидазы (ГЦ), повышению уровня её субстрата гексозилсфингозина (HexSph) в макрофагах периферической крови и развитию наслед-

ственного заболевания, относящегося к классу лизосомных болезней накопления, болезни Гоше (БГ). В настоящее время в гене *GBA* описано более 400 мутаций [2], из которых наиболее распространенными являются мутации L444P и N370S, приводящие к потере ферментом пространственной структуры и снижению активности до 5 и 20%, соответственно [3].

Следует отметить, что в настоящее время вся терапия БП носит симптоматический характер, а препараты для лечения БГ не проникают через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). В связи с этим всё больше обсуждается использование фармакологических шаперонов (ФС) ГЦ для терапии как *GBA*-БП, так и ней-

ропатических форм БГ [4]. Эта стратегия предполагает применение химических соединений, которые способны проникать через ГЭБ, избирательно связываться и стабилизировать мутантную форму ГЦ, приводя к повышению активности фермента в месте действия — лизосомах — и снижению концентрации его субстрата в клетках. Данный подход имеет большие перспективы, позволяя использовать ФШ в качестве персонализированной терапии носителей мутаций в гене *GBA*, позволяя модифицировать клиническое течение нейропатических форм БГ, а также ГВА-БП.

На сегодняшний день описано всего три потенциальных ФШ (NCGC00188758, NCGC00241607 и LTI291), способных связываться с ферментом вне активного центра (то есть не являющихся конкурентными ингибиторами), и обладающих как подтвержденной эффективностью на различных биологических объектах, включая пациент-специфические клетки, так и низкой токсичностью [4].

Наряду с указанными выше химическими соединениями, наиболее близким для внедрения в клиническую практику (вторая стадия клинических исследований) является известный препарат от кашля амброксол. Показано, что амброксол в зависимости от величины рН проявляет двойственные свойства как конкурентного ингибитора, так и аллостерического активатора. Возможность использовать его в качестве ФШ была обнаружена путём проверки влияния 1040 одобренных к применению лекарственных препаратов на восстановление активности рекомбинантной формы ГЦ при термической денатурации [5] с последующим подтверждением эффективности в восстановлении активности ГЦ на различных клетках пациентов с ГВА-БП и БГ [6]. Данный подход является распространённым и позволяет производить быстрый поиск препаратов для лечения различных заболеваний. К недостаткам такого подхода можно отнести трудоёмкость, большие материальные затраты на проводимые исследования, а также трудности, сопряжённые с исследованиями различных мутантных форм белка. Альтернативой экспериментальным методам репозиционирования и поиска новых лекарственных средств являются методы молекулярного моделирования, обладающие предсказательной силой и позволяющие быстро модифицировать модель белка с известной пространственной структурой (гликозилирование, аминокислотные замены), учитывать физико-химические условия окружающей среды, приближенные к нативному состоянию в клетке, и в относительно короткие сроки проводить скрининг обширных баз данных химических соединений.

В настоящем исследовании мы провели виртуальный скрининг широкого круга известных лекарственных препаратов, оценив их возможность связываться в обнаруженном нами ранее аллостерическом сайте наиболее распространенной мутантной формы ГЦ N370S.

Методы

Молекулярный докинг

Возможные варианты связывания соединений в аллостерическом сайте мутантной формы N370S, обнаруженном нами ранее [6], искали методом молекулярного докинга в программе Molsoft ICM Pro по протоколу, подробно описанному авторами программы [7-9]. Докинг соединений проводили в два этапа. Сначала осуществили крупномасштабный скрининг 2089 соединений из базы ZINC ZDD (<https://zinc.docking.org/>). По результатам скрининга отобрали соединения с наименьшей величиной оценочной функции, характеризующей аффинность связывания. Далее провели докинг этих соединений с расширенным покрытием их конформационного пространства. Из отобранных по результатам докинга поз выбрали по три для каждого из соединений, где они частично были погружены в полость на поверхности фермента, образующуюся при замене остатка аспарагина в положении 370 на меньший по размеру серин.

Молекулярная динамика

Стабильность выбранных комплексов проверяли методом молекулярной динамики по следующему протоколу. Молекулярную динамику проводили в пакете программ Amber [10] с использованием силового поля ff14 для белковой части и gaff2 для химических соединений. Структуры комплексов фермента с химическими соединениями помещали в октаэдрический водный бокс, размеры которого выбирали таким образом, чтобы толщина водного слоя вокруг пептидов была не меньше 12Å. Молекулы воды были представлены моделью TIP3P. В систему добавляли ионы Na⁺, так, чтобы суммарный заряд системы равнялся нулю. Молекулярную динамику проводили по стандартному протоколу, включающему в себя: 1) двухстадийную минимизацию, затрагивающую сначала только молекулы растворителя, а затем и всю моделируемую систему (гликозилированный белок и растворитель); 2) постепенный нагрев системы в течении 100 пс с наложением ограничений на подвижность атомов белка; 3) уравнивание системы в течении 1 нс; 4) запуск

продуктивной молекулярной динамики системы. Шаг интегрирования МД равнялся 2 фс. Для удержания величин длин ковалентных связей и валентных углов использовали алгоритм SHAKE. Температура системы поддерживалась на уровне 300K с помощью динамики Ланжевена. Для поддержания давления в системе, равного 1 атм, использовали баростат Берендсена с константой времени взаимодействия равной 2 пс. Дальнедействующие взаимодействия учитывали методом PME (particle mesh Ewald – суммирование Эвальда по пространственной сетке частиц). Расстояние отсечки невалентных взаимодействий атомов было установлено равным 9 Å.

Длина каждой траектории составила 100 нс. Для визуализации молекулярно-динамических траекторий применяли программу VMD [11], для их обработки и анализа – AmberTools. Для анализа траекторию разбивали на четыре равные части, для каждой из которых рассчитывали свободную энергию связывания химических соединений с ГЦ методом MMGBSA. При расчёте свободной энергии связывания выбрали следующие параметры: обобщённая борновская модель igb5, концентрация соли 0,1M, коэффициент поверхностного натяжения 0,0072 ккал/моль/Å², диэлектрическая проницаемость растворителя 78,3, расстояние отсечки невалентных взаимодействий 25 Å. Для структурного анализа, включающего в себя кластеризацию конформаций соединения в сайте связывания, исполь-

зовали ту из двух последних четвертей траектории, где свободная энергия связывания была наименьшей.

Биоинформатический анализ

Способность соединений проникать через ГЭБ оценивали с помощью вэб-сервера ADMET [12], рассчитывающего с помощью нейронной сети величину $\text{Lg}[C_{\text{мозг}}/C_{\text{кровь}}]$, где $C_{\text{мозг}}$ – прогнозируемая концентрация химического соединения в мозге, $C_{\text{кровь}}$ – прогнозируемая концентрация химического соединения в крови. Для интерпретации полученных данных необходимо учитывать, что величина LogBB равная -1 означает содержание в мозге соединения 10%, а в крови – 90%; LogBB = 0 – распределение соединения в мозге и крови одинаковое, LogBB = 1 – в мозге соединения 90%, а в крови – 10%.

Результаты и обсуждение

ГЦ человека состоит из трёх доменов, самый крупный – каталитический домен, сформированный аминокислотными остатками 76-381 и 415-430, имеющий архитектуру альфа-бета бочонка (TIM-барреля), в состав которого входят восемь параллельных бета-нитей уложенных в форме цилиндра, окружённого восемью альфа-спиралями. Активный центр фермента располагается в раструбе, расположенном с одного из торцов бета-цилиндра (рис. 1).

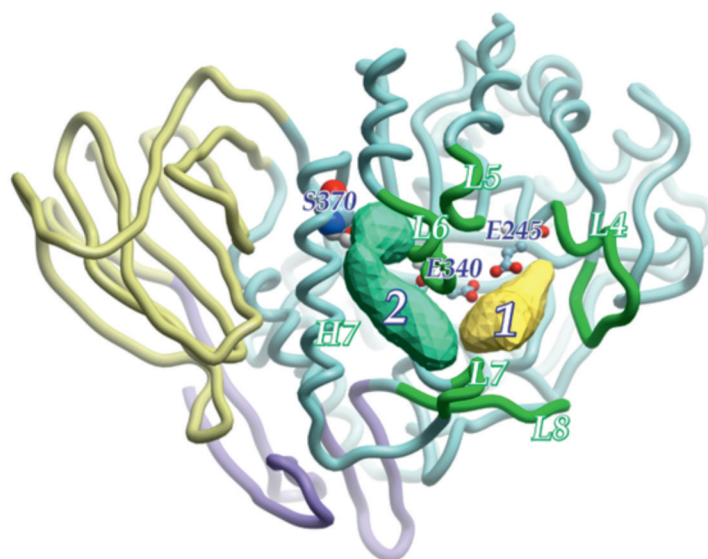


Рисунок 1. Пространственная структура мутантной формы ГЦ N370S. Три домена, формирующие структуру фермента, окрашены разными цветами (синий, сине-зелёный, жёлтый). Каталитические остатки Glu245 и Glu340 представлены в виде скелетной модели. Активный центр обозначен замкнутой поверхностью жёлтого цвета (1). Петли L4-L8, обрамляющие активный центр, окрашены в зелёный цвет. Положение замещённого остатка S370 показано Ван-дер-Ваальсовыми сферами. Альфа-спираль H7 участвует в формировании аллостерического сайта связывания, положение которого отмечено замкнутой поверхностью зелёного цвета (2).

Figure 1. Spatial structure of the N370S GC mutant form. The three domains that form the structure of the enzyme are colored in different colors (blue, blue-green, yellow). Catalytic residues Glu245 and Glu340 are presented as a skeletal model. The active center is indicated by a closed yellow surface (1). Loops L4-L8 framing the active center are colored green. The position of the substituted residue S370 is shown by van der Waals spheres. The H7 alpha helix is involved in the formation of the allosteric binding site, the position of which is marked by a closed green surface (2).

Ранее с использованием методов молекулярного моделирования мы создали атомарную модель мутантной формы ГЦ N370S и обнаружили потенциальный аллостерический сайт связывания с ФШ, располагающийся вблизи активного центра ГЦ (рис. 1), а также показали возможность связывания с ним распространённого препарата от кашля амброксола [6]. Этот сайт формируется петлями 6 (остатки 311–319) и 7 (остатки 343–349), а также альфа-спиралью 7 (остатки 357–371) (рис. 1). Кроме того, было установлено, что амброксол способен восстанавливать ферментативную активность ГЦ и снижать концентрацию ее субстрата HexSph в культивируемых макрофагах и фибробластах пациентов с БГ и GBA-БП [5, 6].

Следует отметить, что несмотря на присутствие в Белковом банке данных (PDB) около 25 пространственных структур нативного фермента ГЦ человека и его мутантных форм как в апо-форме, так и в комплексе с различными конкурентными ингибиторами, мутантная форма ГЦ N370S является наиболее используемой в исследованиях с применением компьютерного моделирования, поскольку мутация в гене *GBA*, приводящая к замене N370S, считается относительно лёгкой и при этом наиболее распространена как при БГ, так и при GBA-БП [3]. Так, с помощью молекулярной динамики были обнаружены возможные структурные перестройки, вызываемые аминокислотной заменой N370S, и выяснена природа стабилизирующего эффекта, создаваемого описанным ранее конкурентным ингибитором дезоксиноджиримицином и его производными, находящимися в активном центре фермента [13, 14]. Кроме того, метод молекулярного докинга позволил выявить ряд конкурентных ингибиторов, в основе которых лежат иминосахара и их производные, способные встраиваться в активный центр ГЦ и повышать активность фермента в фибробластах пациентов с БГ [15, 16].

В настоящем исследовании с использованием методов молекулярного докинга и молекулярной динамики мы впервые провели поиск среди одобренных к применению лекарственных препаратов, депонированных в базу данных ZINC ZDD, потенциальных ФШ, способных связываться в аллостерическом сайте, расположенном вблизи активного центра ГЦ.

На момент проведения исследования в состав базы ZDD входило 4178 соединений, являющихся лекарственными препаратами и биологически активными добавками, одобренными к применению Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug

Administration, FDA) и свободно доступными в продаже в виде чистых соединений. Из них на текущий момент мы исследовали половину, включающую 2089 соединений. По результатам скрининга отобрали 26 соединений (антидепрессанты, гастропротекторы, витамины, антигистаминные препараты, гиполипидемические средства, нестероидные противовоспалительные средства, стимуляторы дыхания, антиоксиданты, миорелаксанты центрального действия и др.), способных образовывать комплекс с ферментом, который характеризуется величиной оценочной функции менее 25,0 ккал/моль. Оценочная функция описывает сродство к белку: чем её величина ниже, тем сродство больше. Для дальнейшего исследования выбрали 6 препаратов, приём которых в клинической практике возможен длительное время: олопатадин (Olopatadine), каппадион (Kappadione), бенфотиамин (Benfotiamine), ребамипид (Rebamipide), глутатион (Glutation), флавиномононуклеотид (flavin mononucleotide). Список отобранных соединений, включающий название, химическую формулу, код базы данных ZINC, а также их химические формулы приведён в **таблице**.

Стабильность комплексов ГЦ с отобранными химическими соединениями проверяли методом молекулярной динамики с явным учётом водного окружения, используя пакет программ AMBER18 [10]. Для каждого из шести соединений проводили три независимых запуска с различных стартовых конформаций соединения. Аффинность соединения к аллостерическому сайту оценивали по величине свободной энергии связывания, рассчитанной методом MMGBSA. В таблице для каждого соединения приведены величины наименьшей свободной энергии связывания, рассчитанной по итогам трёх запусков. Из шести проверенных комплексов свободной энергией связывания $\leq -35,0$ ккал/моль обладало четыре химических соединения: олопатадин, флавиномононуклеотид, ребамипид, бенфотиамин. Для сравнения минимальная свободная энергия связывания амброксола составляет $-51,0 \pm 3,0$ ккал/моль. Сопоставимой энергией связывания обладают ребамипид и бенфотиамин. **Рис. 2** иллюстрирует позы шести перечисленных выше соединений в аллостерическом сайте связывания ГЦ.

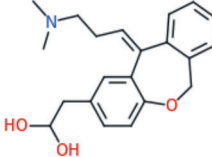
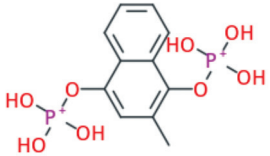
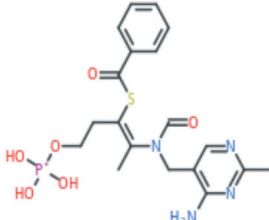
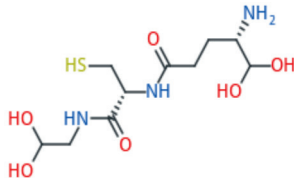
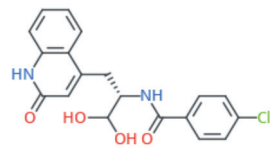
Следует отметить, что подобный поиск потенциальных ФШ нативной ГЦ, способных связываться в активном центре фермента, ранее проводился среди лекарственных препаратов традиционной китайской медицины, в результате которого было обнаружено два соединения (фталид-пирролидиновый алкалоид шихунин (shihunine) и фенэтиламин

N-метилмескалин (N-methylmescaline)) [17]. В других исследованиях по репозиционированию лекарственных средств был обнаружен целый ряд препаратов, способных стабилизировать и повышать активность ряда гидролаз лизосом, нарушенную при различных лизосомных болезнях накопления. Так, было обнаружено, что иминосахара в малых концентрациях могут проявлять себя как ФШ, способствуя

восстановлению активности ГЦ при БГ, а также лизосомной альфа-глюкозидазы при болезни Помпе, хотя ранее они разрабатывались в качестве противовирусных препаратов для лечения инфекции вирусом иммунодефицита человека [18]. Кроме этого, было обнаружено, что антигипертензивный препарат дилтиазем обладает активностью в отношении ГЦ при БГ, муколитическое средство ацетилцисте-

Таблица. Список отобранных по результатам виртуального скрининга химических соединений, способных связываться в аллостерическом сайте ГЦ

Table. List of chemical compounds selected based on the results of virtual screening, capable of binding to the GC allosteric site

№	Коммерческое название	Химическая формула	Код базы данных ZINC ZDD	Свободная энергия связывания, ккаль/моль
1.	Olopatadine		000000001850	-35.04 ± 5.11
2.	Kappadione		000001542933	-20.34 ± 3.57
3.	Benfotiamine		000002015559	-52.73 ± 4.06
4.	Glutathion		000003830891	-26.78 ± 5.35
5.	Flavin mononucleotide		000003831425	-43.03 ± 4.10
6.	Rebamipide		000009330879	-50.63 ± 3.85

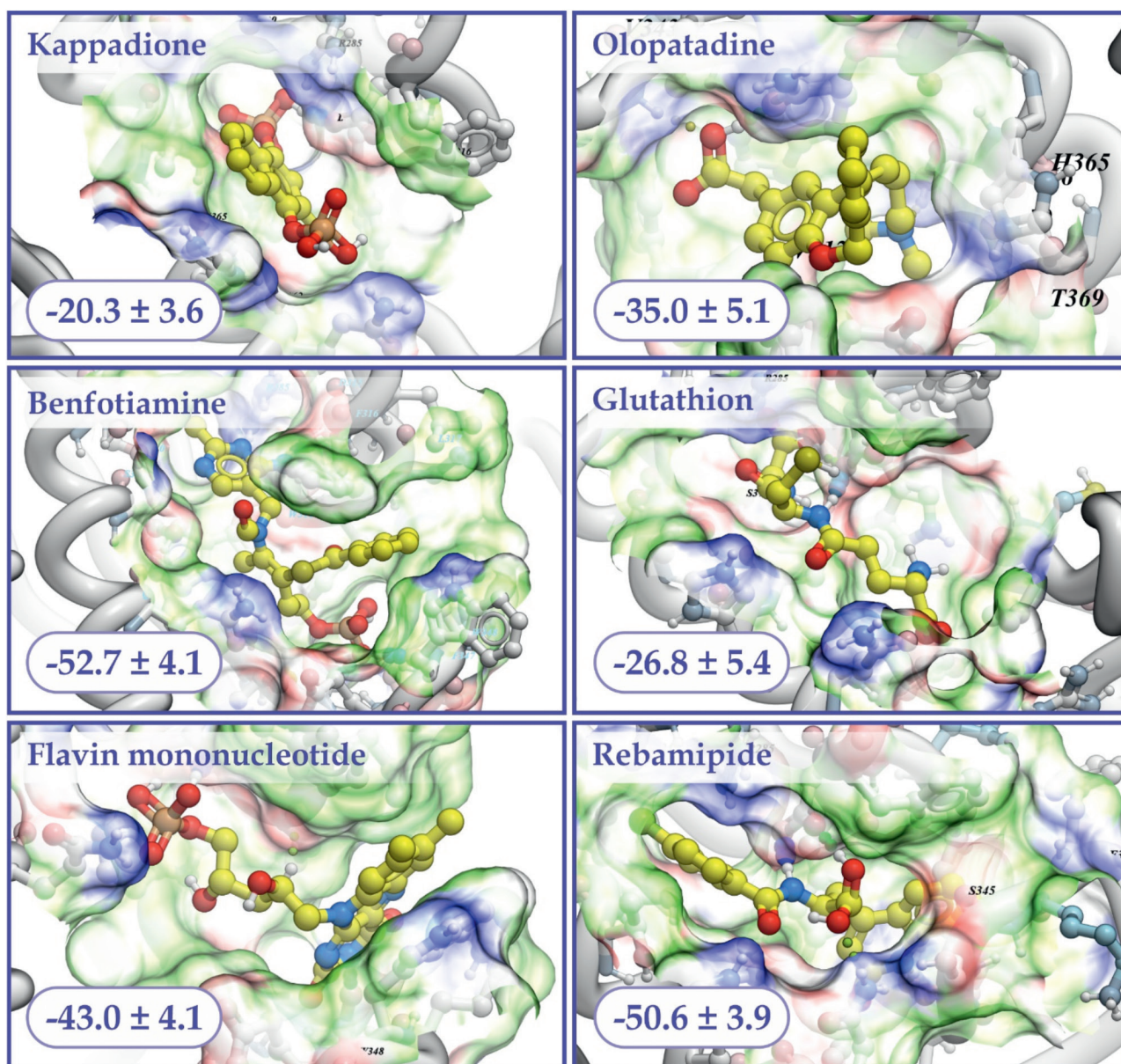


Рисунок 2. Возможные варианты связывания в аллостерическом сайте ГЦ шести отобранных по результатам виртуально скрининга лекарственных препаратов. Поверхность сайта связывания окрашена согласно физико-химическим свойствам образующих её аминокислотных остатков: доноры водородной связи (синий), акцепторы водородной связи (красный) и гидрофобные группы (зеленый). Для каждого химического соединения указаны англоязычное название и вычисленная методом MMGBSA величина свободной энергии связывания, выраженная в ккал/моль.

Figure 2. Possible variants of binding in the GC allosteric site of six drugs selected based on the results of virtual screening. The surface of the binding site is colored according to the physicochemical properties of the amino acid residues that form it: hydrogen bond donors (blue), hydrogen bond acceptors (red), and hydrophobic groups (green). For each chemical compound, the English name and the value of binding free energy calculated by the MMGBSA method, expressed in kcal/mol, are indicated.

ин — в отношении альфа-глюкозидазы при болезни Помпе, а противомаларийное средство пириметамин — в отношении фермента гексозаминидазы при GM2-ганглиозидозе [18]. Также совсем недавно на клеточной культуре было показано, что применение ацетилсалициловой кислоты, препарата с противовоспалительным, анальгезирующим и жаропонижающим действием, а также угнетающим агрегацию тромбоцитов, усиливает действие известного ФШ мигластата, применяемого при болезни Фабри, способного связываться с ферментом альфа-галактозидазой и восстанавливать его активность [19]. Эти исследования ещё раз демонстрируют важность расширения спектра применения известных лекарственных препаратов с использованием различных подходов.

В большинстве исследований по репозиционированию лекарственных средств оценка новых свойств и эффективности препаратов производится в экспериментах *in vitro*, а также на клеточных моделях заболеваний. Так, наиболее перспективные аллостерические ФШ (NCGC00188758, NCGC00241607 и LTI291) были обнаружены в результате высокотехнологичного скрининга 250000 химических соединений на гомогенате селезенки пациента с гомозиготным носительством мутации N370S *GBA* [4]. В то же время известный ФШ амброксол был выявлен путём проверки влияния 1040 соединений на активность рекомбинантной формы ГЦ в экспериментах *in vitro* [5]. Однако такие подходы требуют больших затрат.

Помимо оценки стабильности связывания отобранных шести соединений с ГЦ, мы воспользовались возможностями, предоставляемыми вэб-сервером ADMET и сделали прогноз проникновения соединений через ГЭБ. Оказалось, что наиболее высокая вероятность проникновения из кровотока в мозг у олопатадина (17%) и бенфотиамина (12%). Расчетный коэффициент распределения оцениваемого вещества между мозгом и кровью, вычисленный по формуле $\text{LogBB} = \lg(\text{Смозг}/\text{Скровь})$ для данных соединений составлял -0,67 и -0,86, соответственно. Следует отметить, что данный коэффициент для амброксола составляет +0,21 (62%), а известного аллостерического ФШ NCGC00188758 составляет -0,5 (24%). В связи с этим, можно предположить, что в клинической практике с целью повышения активности ГЦ исследуемые нами препараты будут требовать применения повышенных доз. Введение химических модификаций обнаруженных соединений также может повысить их проницаемость через ГЭБ.

Заключение

Проведённое исследование позволило выбрать из расширенной базы одобренных к применению лекарственных препаратов потенциальные ФШ мутантной формы N370S ГЦ человека, способность которых повышать её ферментативную активность, а также снижать уровень субстрата HexSph требует дальнейшего изучения, в частности, на пациент-специфичных клетках. Также выявленные соединения могут быть подвергнуты химическим модификациям, которые позволят повысить сродство к ГЦ и увеличить их проницаемость через ГЭБ.

Благодарности. Вычисления частично проводились с использованием ресурсов суперкомпьютерного центра СПбПУ Петра Великого.

Литература

1. Migdalska-Richards A., Schapira A.H. The relationship between glucocerebrosidase mutations and Parkinson disease. *J Neurochem.* 2016; 139 Suppl 1(Suppl Suppl 1):77-90.
2. Do J., McKinney C., Sharma P., Sidransky E. Glucocerebrosidase and its relevance to Parkinson disease. *Mol Neurodegener.* 2019;14(1):36.
3. Сенкевич К.А., Копытова А.Э., Усенко Т.С., Емельянов А.К., Пчелина С.Н. Болезнь Паркинсона, ассоциированная с мутациями в гене *GBA*: молекулярные аспекты и возможные подходы к лечению *Acta Naturae* (русскоязычная версия). 2021;13(2): 70-78.
4. Tran M.L., Génisson Y., Ballereau S., Dehoux C. Second-Generation Pharmacological Chaperones: Beyond Inhibitors. *Molecules.* 2020; 25(14):3145.
5. Maegawa G.H., Tropak M.B., Buttner J.D., et al. Identification and characterization of ambroxol as an enzyme enhancement agent for Gaucher disease. *J Biol Chem.* 2009; 284(35):23502-16.
6. Kopytova A.E., Rychkov G.N., Nikolaev M.A., et al. Ambroxol increases glucocerebrosidase (GCase) activity and restores GCase translocation in primary patient-derived macrophages in Gaucher disease and Parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord.* 2021; 84:112-121.
7. Abagyan R., Totrov M., Kuznetsov D. ICM—A new method for protein modeling and design: Applications to docking and structure prediction from the distorted native conformation. *Journal of Computational Chemistry.* 1994; 15 (5): 488-506
8. Fernández-Recio J. Totrov M., Abagyan R. ICM-DISCO docking by global energy optimization with fully flexible side-chains. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics.* 2003; 52 (1): 113-117
9. Totrov M., Abagyan R. Flexible protein-ligand docking by global energy optimization in internal coordinates. *Proteins.* 1997 Suppl 1: 215-220
10. Salomon-Ferrer R., Case D.A., Walker R.C. An overview of the Amber biomolecular simulation package. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science.* 2013; 3 (2): 198-210
11. Humphrey W., Dalke A., Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics.* 1996. 14 (1): 33-38
12. Radchenko E.V., Dyabina A.S., Palyulin V.A. Towards Deep Neural Network Models for the Prediction of the Blood-Brain Barrier

- Permeability for Diverse Organic Compounds. *Molecules*. 2020; 25(24): 5901
13. Offman M.N., Krol M., Silman I., Sussman J.L., Futerman A.H. Molecular basis of reduced glucosylceramidase activity in the most common Gaucher disease mutant, N370S. *J Biol Chem*. 2010 Dec 31;285(53):42105-14.
 14. Pol-Fachin L., Siebert M., Verli H., Saraiva-Pereira M.L. Glycosylation is crucial for a proper catalytic site organization in human glucocerebrosidase. *Glycoconj J*. 2016 Apr;33(2):237-44
 15. Kato A., Nakagome I., Sato K., et al. Docking study and biological evaluation of pyrrolidine-based iminosugars as pharmacological chaperones for Gaucher disease. *Org Biomol Chem*. 2016 Jan 21;14(3):1039-48.
 16. Kato A., Nakagome I., Nakagawa S., et al. Docking and SAR studies of calystegines: binding orientation and influence on pharmacological chaperone effects for Gaucher's disease. *Bioorg Med Chem*. 2014 Apr 15;22(8):2435-41.
 17. Huang H.J., Lee C.C., Chen C.Y. Pharmacological chaperone design for reducing risk factor of Parkinson's disease from traditional chinese medicine. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014; 2014:830490.
 18. Hay Mele B., Citro V., Andreotti G., Cubellis M.V. Drug repositioning can accelerate discovery of pharmacological chaperones. *Orphanet J Rare Dis*. 2015 May 7;10:55.
 19. Monticelli M., Liguori L., Allocca M., et al. Drug Repositioning for Fabry Disease: Acetylsalicylic Acid Potentiates the Stabilization of Lysosomal Alpha-Galactosidase by Pharmacological Chaperones. *Int J Mol Sci*. 2022 May 4;23(9):5105.
 6. Kopytova A.E., Rychkov G.N., Nikolaev M.A., et al. Ambroxol increases glucocerebrosidase (GCase) activity and restores GCase translocation in primary patient-derived macrophages in Gaucher disease and Parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord*. 2021; 84:112-121.
 7. Abagyan R., Totrov M., Kuznetsov D. ICM—A new method for protein modeling and design: Applications to docking and structure prediction from the distorted native conformation. *Journal of Computational Chemistry*. 1994; 15 (5): 488-506
 8. Fernández-Recio J., Totrov M., Abagyan R. ICM-DISCO docking by global energy optimization with fully flexible side-chains. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 2003; 52 (1): 113-117
 9. Totrov M., Abagyan R. Flexible protein-ligand docking by global energy optimization in internal coordinates. *Proteins*. 1997 Suppl 1: 215-220
 10. Salomon-Ferrer R., Case D.A., Walker R.C. An overview of the Amber biomolecular simulation package. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*. 2013; 3 (2): 198-210
 11. Humphrey W., Dalke A., Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics*. 1996. 14 (1): 33-38
 12. Radchenko E.V., Dyabina A.S., Palyulin V.A. Towards Deep Neural Network Models for the Prediction of the Blood-Brain Barrier Permeability for Diverse Organic Compounds. *Molecules*. 2020; 25(24): 5901
 13. Offman M.N., Krol M., Silman I., Sussman J.L., Futerman A.H. Molecular basis of reduced glucosylceramidase activity in the most common Gaucher disease mutant, N370S. *J Biol Chem*. 2010 Dec 31;285(53):42105-14.
 14. Pol-Fachin L., Siebert M., Verli H., Saraiva-Pereira M.L. Glycosylation is crucial for a proper catalytic site organization in human glucocerebrosidase. *Glycoconj J*. 2016 Apr;33(2):237-44
 15. Kato A., Nakagome I., Sato K., et al. Docking study and biological evaluation of pyrrolidine-based iminosugars as pharmacological chaperones for Gaucher disease. *Org Biomol Chem*. 2016 Jan 21;14(3):1039-48.
 16. Kato A., Nakagome I., Nakagawa S., et al. Docking and SAR studies of calystegines: binding orientation and influence on pharmacological chaperone effects for Gaucher's disease. *Bioorg Med Chem*. 2014 Apr 15;22(8):2435-41.
 17. Huang H.J., Lee C.C., Chen C.Y. Pharmacological chaperone design for reducing risk factor of Parkinson's disease from traditional chinese medicine. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014; 2014:830490.
 18. Hay Mele B., Citro V., Andreotti G., Cubellis M.V. Drug repositioning can accelerate discovery of pharmacological chaperones. *Orphanet J Rare Dis*. 2015 May 7;10:55.
 19. Monticelli M., Liguori L., Allocca M., et al. Drug Repositioning for Fabry Disease: Acetylsalicylic Acid Potentiates the Stabilization of Lysosomal Alpha-Galactosidase by Pharmacological Chaperones. *Int J Mol Sci*. 2022 May 4;23(9):5105.

References

1. Migdalska-Richards A., Schapira A.H. The relationship between glucocerebrosidase mutations and Parkinson disease. *J Neurochem*. 2016; 139 Suppl 1(Suppl Suppl 1):77-90.
2. Do J., McKinney C., Sharma P., Sidransky E. Glucocerebrosidase and its relevance to Parkinson disease. *Mol Neurodegener*. 2019;14(1):36.
3. Senkevich K.A., Kopytova A.E., Usenko T.S., Emelyanov A.K., Pchelina S.N.. Bolezn' Parkinsona, assotsirovannaya s mutatsiyami v gene GBA: molekulyarnyye aspekty i vozmozhnyye podkhody k lecheniyu *Acta Naturae (russkoyazychnaya versiya) Parkinson's Disease Associated with GBA Gene Mutations: Molecular Aspects and Potential Treatment Approaches Acta Naturae*. 2021;13(2): 70-78. (In Russ.)
4. Tran M.L., Génisson Y., Ballereau S., Dehoux C. Second-Generation Pharmacological Chaperones: Beyond Inhibitors. *Molecules*. 2020; 25(14):3145.
5. Maegawa G.H., Tropak M.B., Buttner J.D., et al. Identification and characterization of ambroxol as an enzyme enhancement agent for Gaucher disease. *J Biol Chem*. 2009; 284(35):23502-16.