

Л. С. Бобкова, Т. А. Бухтіарова, З. С. Суворова, О. Є. Ядловський

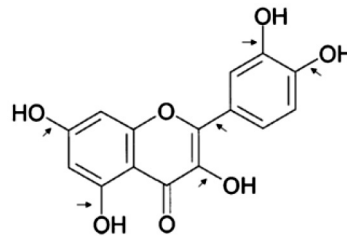
In silico аналіз молекулярних механізмів фармакологічної дії кверцетину

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: кверцетин, фармакологічна дія, молекулярні механізми, докінг-аналіз

Останнім часом у світі суттєво зріс інтерес до досліджень потенційного терапевтичного потенціалу фітохімічних речовин, орієнтованих на «молекулярні мішені» [1]. Сьогодні дослідження механізмів біологічної дії фітохімічних речовин, таких як флавоноїди – кверцетин, рутин, гесперитин, лютеолін та інших, їхніх фармакологічних властивостей, досить актуальні [1–11]. У реалізації цього напрямку важливе місце має теоретичне передбачення фармакологічних властивостей, а саме *in silico* молекулярний докінг [12–15]. Флавоноїди є малотоксичними сполуками, виконують низку функцій у клітинах рослин і здатні регулювати біологічні процеси в організмі людини, зокрема за патологічних станів. Для розробки ефективних, безпечних, мішень-орієнтованих, зокрема мультитаргетних препаратів увагу науковців привертає флавоноїд кверцетин. Це значною мірою пов'язано з широким спектром його фармакологічної дії (антиоксидантної, протизапальної, протипухлинної, протимікробної, протівірусної тощо [16]) та з іншими властивостями, обумовленими структурними особливостями молекули. Важливими є фармакокінетичні/токсикологічні (ADME/T) характеристики кверцетину, в основі яких є відповідність усім п'яти правилам

Ліпінські та відсутність мутагенних і канцерогенних властивостей. До структурних особливостей молекули кверцетину, що важливі для міжмолекулярної взаємодії з макромолекулою білка-мішені, належать полярність молекули (дипольний момент 5.97 D) та шість ротаційних ступенів свободи, які забезпечують молекулі кверцетину певну конформаційну гнучкість, і таким чином сприяють необхідному її розташуванню в сайті зв'язування білка-мішені (поворотні зв'язки в молекулі кверцетину відмічені стрілкою):



Завдяки наявності електронегативних атомів кисню та ароматичної пі-електронної системи в структурі молекули кверцетин має здатність утворювати з амінокислотними залишками білка-мішені міжмолекулярні зв'язки електростатичної взаємодії (водневі, ван-дер-Ваальсові), а також пі-пі зв'язки (π - π bond), пі-сигма (π -sigma bond) зв'язки тощо. З іншого боку, досліджують взаємодію ліганду з макромолекулою цільового білка на такій його ділянці (сайт зв'язування), де внесок у вільну енергію зв'язування є основним (згідно з концепцією «гарячих точок» [17–19]), і, як наслідок, такий сайт зв'язування є основною мішенню для розробки лікарських засобів.

Мета дослідження – огляд *in silico* досліджень з молекулярних механізмів фармакологічної дії кверцетину як потенційного мультитаргетного препарату.

Матеріали та методи. Білки-мішені для фармакологічної дії кверцетину (1). Дослідження вибіркової дії кверцетину на окремі одиничні мішені. Докінг-аналіз взаємодії кверцетину з одиничними мішенями був використаний у пошуку речовин різної спрямованості дії [20–22]. У цих дослідженнях як цільові мішені були обрані регулятор апоптозу (apoptosis regulator) BAX протеїн (Bcl-2-associated X, PDB ID: 1F16) [20], індукцибельна нітрогеноксидсинтаза (ензим iNOS, human inducible nitric oxide synthase, PDB ID: 4NOS) [21], циклопропансинтаза міколової кислоти (mycolic acid cyclopropane synthase, PDB id: 1KPI), плазмепсин II (plasmepsin II, PDB id: 1SME), циклооксигеназа I (COX-1, cyclooxygenase-1, PDB id: 2OYE), пов'язаний з ожирінням протеїн (mass and obesity-associated (FTO) protein, PDB id: 3LFM), естрогеновий рецептор альфа (human estrogen receptor alpha, PDBid: 3ERT) та низка інших [22]. Для оцінки лікарської здатності кверцетину активні сайти цільових білків були вибрані з використанням сервера RockDrug, а докінг кверцетину в цільові мішені був спрямований на прогнозування найпоширеніших мод зв'язування з білком [22].

Білки-мішені для фармакологічної дії кверцетину (2). Дослідження кверцетину як мультицільового ліганду до взаємопов'язаних мішеней. Потенційні білки-мішені протипухлинної та протизапальної дії кверцетину – (SGK-1) та (MAPK14). Були досліджені білки-мішені протизапальної (білкові молекули MSX2, NOXA10, NOXA5 та MAPK14) та протипухлин-

ної (білкові молекули SGK-1, BAX, ZnF26 та ADM) дії [23]. Також були проведені дослідження лігандів (зокрема й кверцетину) як дуальних COX-2 інгібіторів у контексті впливу на протипухлинну терапію [24]. Низка речовин з протизапальною активністю, включаючи катехін, дигідромірицетин, діосметин, були вивчені як дуальні COX – LOX інгібітори [2].

Аналіз комплексу «протеїн – ліганд» та активні сайти зв'язування білків. Алгоритми пошуку та скорингові функції. Загальна стратегія методу молекулярного докінгу призначена генерувати можливі позиції (конформацію й орієнтацію – разом згадується як «поза/позиція») молекул-лігандів у місцях зв'язування макромолекулярної мішені, які ранжуються за допомогою скорингових функцій [25]. Програми для молекулярного докінгу вирізняються за алгоритмом пошуку режиму зв'язування (binding mode) та за скоринговою функцією (SF). При цьому алгоритм пошуку передбачає аналіз і генерацію позиції ліганду в місці зв'язування мішені, враховуючи обернено-трансляційний і внутрішній ступінь свободи ліганду.

Алгоритми. Стратегії пошуку часто класифікують як систематичні, стохастичні або детерміновані [25]. Алгоритми систематичного пошуку поступово досліджують ступінь свободи ліганду. Наприклад, FlexX використовує підходи на основі фрагментів із систематичними алгоритмами (поступова побудова та добір діаграм). За алгоритмом стохастичного пошуку AutoDock Vina застосовує випадкові зміни ступенів свободи ліганду, однак такий алгоритм не гарантує збіжності до найкращого рішення (щоб покращити його виконують ітераційний процес).

Скорингові функції. Скорингові функції (scoring function, SF) згруповані в три основні типи: силове поле, емпіричні та засновані на знаннях. Функції на основі силового поля складаються з суми енергетичних членів. Емпіричні оцінювальні функції виводяться з кількісних зв'язків структура-активність і передбачають афінність зв'язування з високою точністю, використовуючи відомі експериментальні дані про афінність зв'язування. Функції, які засновані на знаннях, базуються на частоті взаємодій пар атомів, які спостерігаються в експериментально визначених 3D-структурах комплексів ліганд-мішень. Прикладом функції, заснованої на знаннях, є DrugScore (програма Flex X) [25].

Не зважаючи на бурхливий розвиток апаратного та програмного забезпечення досліджень, прогнозування афінності зв'язування рецептора з лігандами все ще є серйозною проблемою для програм стикування, і частина підходів покладається на схеми консенсусної оцінки та звертається до повторної оцінки [26, 27]. Консенсусна оцінка покращує точність молекулярного докінгу, використовуючи стратегії стикування, які поєднують дві або більше SF, зокрема, оцінку реранжування (Rerank score), оцінку суми загальної енергії зовнішньої та внутрішньої взаємодії ліганду (MolDock score) [21].

Молекулярний докінг кверцетину в цільові білки-мішені виконано з використанням кількох програм (Molecular docking software), серед яких є добре відомі, такі як AutoDock Vina [20], FlexX [24], Molegro Virtual Docker [21], а також Schrödinger Maestro (v11.1) [22]. Оцінювання міжмолекулярної взаємодії кверцетину та стандартних лікарських засобів з визначеними мішенями здійснено за

пакетом програм Schrodinger Maestro (v11.1) [22]. Міжмолекулярну взаємодію COX-2 з природними флавоноїдами (12 сполук) і целекоксибом вивчали за двома програмами FlexX (+LeadIT) та ArgusLab 4.0.1. [24], а ВАХ протеїну з кількома фенольними сполуками за програмою AutoDock Vina [20]. Молекулярний докінг кверцетину в iNOS виконали з використанням Molegro Virtual Docker, MVD 5.0 (Molegro 2011) [21]. Основні характеристики використаного авторами програмного забезпечення за алгоритмом пошуку режиму зв'язування (binding mode) та за скоринговою функцією (SF) наведено в таблиці 1.

Зазвичай розташування сайту зв'язування, на якому зосереджені обчислення стикування, відоме. Однак, якщо інформація про область зв'язування відсутня, то застосовують прогнозовані найімовірніші сайти зв'язування або виконується моделювання «сліпого докінгу» [26]. Дослідження активного сайту зв'язування є невід'ємною частиною докінгових досліджень, тому що воно визначає зв'язування ліганду на рецепторі. Як зазначають М. М. Nasan і співавт., активний сайт зв'язування – це певне місце на поверхні рецептора, де сполуки мають тенденцію зв'язуватися та спричиняють конформаційні зміни, які здатні індукувати фармакологічну дію [22]. Оцінюючи конформуючі сили за участю кверцетину та цільового білка-мішені, автори вивчали міжмолекулярні водневі зв'язки та гідрофобні взаємодії, зазначаючи залишок амінокислоти та віддалі між атомами рецептора та ліганду [21, 22, 24].

Результати та їх обговорення. Прогноз молекулярних механізмів фармакологічної дії кверцетину методом *in silico* здійснюють за схемою: від «протеїну-мішені» та ліганду через

Алгоритми пошуку позицій ліганду та скорингові функції (SF), що використані для молекулярного докінгу кверцетину

Програмне забезпечення (Software)	Алгоритм (Posing)	Скоринг (Scoring)	Джерело
Vina	Ітерований локальний пошук + локальний оптимізатор BFGS (Iterated Local Search + BFGS Local Optimiser)	Емпіричний/ На основі знань	[26, 20]
AutoDock4	Генетичний алгоритм Ламарка, Генетичний алгоритм або імітований відпал (Lamarckian Genetic Algorithm, Genetic Algorithm or Simulated Annealing)	Напівемпіричний	[26, 20]
Molegro/ MolDock	Диференціальна еволюція (альтернативна симплексна еволюція та ітерований симплекс) (Differential Evolution (Alternatively Simplex Evolution and Iterated Simplex))	Напівемпіричний	[26, 21]
FlexX	Розпізнавання образів на основі фрагментів (кластеризація поз) + поступове зростання (Fragment-Based Pattern-recognition (Pose Clustering) + Incremental Growth)	Емпіричний	[26, 24]
ArgusLab	Генетичний алгоритм Ламарка (Lamarckian Genetic Algorithm)	Напівемпіричний	[24]

процедуру молекулярного докінгу до «протеїн-лігандового» комплексу та його аналізу.

Зазвичай можна визначити кілька найпоширеніших напрямів досліджень механізму дії сполук, зокрема кверцетину, за методом *in silico*. Так, вивчають міжмолекулярні взаємодії досліджуваної молекули (однієї молекули або кількох її похідних) з однією мішенню. Такий підхід спрямований на прогнозування можливого механізму дії досліджуваної молекули або визначення сполук-хітів з мішень-орієнтованим механізмом дії [20, 21]. Іноді за результатами докінгу досліджувану молекулу порівнюють з молекулами відомих препаратів, що визначає необхідність подальшого дизайну вибраної структури. Крім того, за іншим підходом, вивчають

міжмолекулярні взаємодії однієї молекули з кількома мішенями поряд з докінгом кількох молекул (відомих препаратів або нових молекул) з тими самими вибраними мішенями. Це дозволяє дослідникам визначити як спектр фармакологічної дії такої молекули, так і пріоритетні напрями пошуку кандидата в лікарські засоби (ЛЗ) зі заданим молекулярним механізмом фармакологічної дії [22].

Міжмолекулярні комплекси низки фенольних сполук – кверцетину (1), галової кислоти (2), р-кумарової кислоти (3) та 4-гідрокси-3-метокси-коричної кислоти (4), – з BAX протеїном (*The Bcl-2-associated X, apoptosis regulator, PDBID: 1F16*) [20]. Міжмолекулярні комплекси низки фенольних сполук наведено на рисунку 1, де скорочення наступні: TYR – тирозин,

HIS – гістидин, GLY – гліцин, ARG – аргінін, ASP – аспарагінова кислота, THR – треонін, SER – серин, ILE – ізо-лейцин, LEU – лейцин, GLU – глутамінова кислота, ALA – аланін, MET – метіонін, GLN – глутамін, VAL – валін, PRO – пролін, TRP – триптофан, PHE – фенілаланін.

За отриманими результатами кверцетин характеризується кращою міжмолекулярною взаємодією порівняно з іншими досліджуваними молекулами (докінг енергія (-7.8) ккал/моль). Ліганд-протеїнові комплекси всіх чотирьох молекул охарактеризовані відповідним оточенням амінокислотних залишків, водневими та гідрофобними взаємодіями. Три гідроксильні групи кверцетину з *Gln190*, *Asp99*, *Glu259* утворюють три водневі зв'язки з віддалами 2.46 Å, 2.30 Å та 2.54 Å відповідно. Чотири водневі зв'язки галлової кислоти сформовані за участю замісників карбоксилу (два водневих зв'язки з *Asp98*, *Asp99* з віддалами 2.13 Å та 2.61 Å відповідно) та мета-, пара-гідроксилів (два водневих зв'язки з *Phe64*, *Thr263* з віддалами 3.00 Å та 2.21 Å відповідно). Два водневих зв'язки 4-гідрокси-3-метокси-

коричної кислоти з *Glu259* та *Ile257* з віддалами 2.45 Å та 2.50 Å відповідно. Гідроксильні групи пара-кумарової кислоти віддалені від *Leu62* та *Pro63* на 5.32 Å та 5.42 Å відповідно (дві гідрофобні взаємодії).

За результатами докінгу всі чотири досліджені сполуки були розміщені всередині однієї й тієї самої кишені ВАХ протеїну (сайту зв'язування) (рис. 2). Згідно з даними аналізу докінгових комплексів, в оточенні досліджених лігандів (1–4) є спільні амінокислотні залишки: *Phe36*, *Pro63* (1–4), *Asp98*, *Ile100*, *Gln256*, *Ser260*, *Thr263* (1, 2, 4), *Asp99*, *Gly258* (1, 2), *Gln190* (1, 3), які характеризують сайт зв'язування ВАХ протеїну (рис. 1, 2).

У дослідях *in vitro* вивчали життєздатність ракових клітин лінії *hela* за впливу екстрактів *Moringa oleifera*, що містять кверцетин (розчинники – н-гексан, хлороформ, етилацетат, бутанол, вода), і виявили її пригнічення до 50 %, що демонструє потенційну протиракову активність досліджених фенольних сполук.

Міжмолекулярні комплекси кверцетину та відомих препаратів з білками-мішенями (PDBID: 1KPI, 1SME,

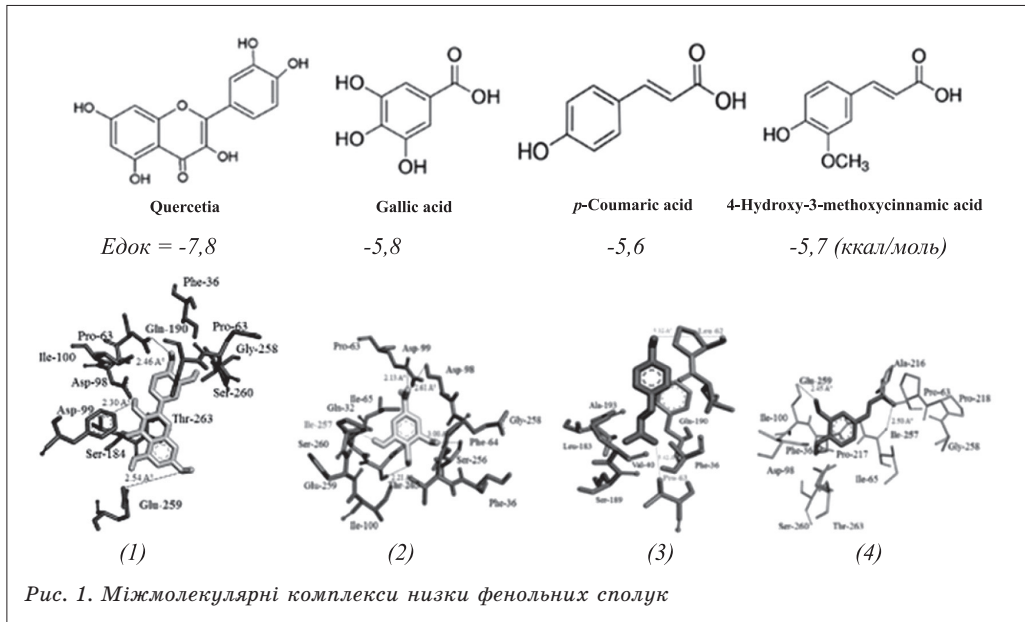
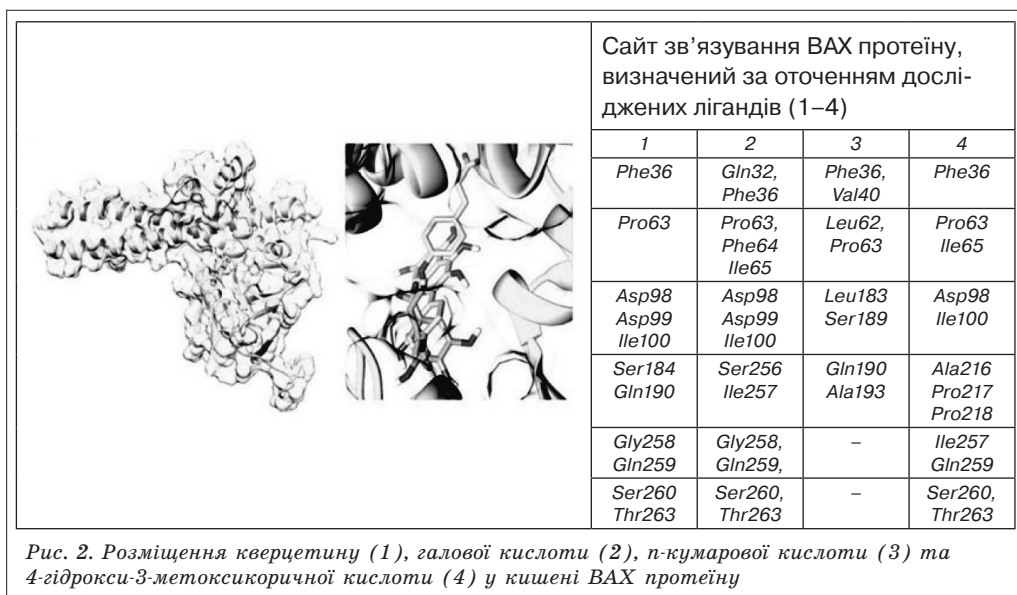


Рис. 1. Міжмолекулярні комплекси низки фенольних сполук



2OYE, 3LFM, 3ERT, 4IVT) для оцінювання лікарської здатності кверцетину [22]. Результати *in silico* дослідження міжмолекулярних комплексів лігандів (кверцетину та відомих препаратів) з шістьма різними білками-мішенями показали переваги кверцетину за величиною енергії докінгу [22]:

Білок-мішень (захворювання), енергія докінгу, kcal/mol	Білок-мішень (захворювання), енергія докінгу, kcal/mol
1KRI (туберкульоз), -9,00	1KRI (туберкульоз), -6,89
1SME (малярія), -6,36	1SME (малярія), -4,18
2OYE (запалення), -8,52	2OYE (запалення), -6,02
3ERT (рак легень), -7,28	3ERT (рак легень), -4,81
3LFM (ожиріння), -7,89	3LFM (ожиріння), -3,47
4IVT (хвороба Альцгеймера), -6,68	4IVT (хвороба Альцгеймера), -4,56
Кверцетин	Препарати порівняння

Крім визначення енергії докінгу (G score/Schrödinger Docking score, kcal/mol) автори зверталися до повторної оцінки міжмолекулярних комплексів [27] шляхом ММ/GBSA аналізу (Molecular Mechanics/Generalized Born Surface Area – молекулярна механіка/узагальнена площа поверхні Борна), за яким розраховують енергію зв'язування (ММ/GBSA dG Binding energy, kcal/mol) [22]. За величиною енергії зв'язування (ММ/GBSA) комплекси кверцетину з 1KPI, 3LFM, 4IVT є також більш енергетично вигідними при порівнянні їх з відповідними комплексами препаратів (Тіацетазон, Піразинамід, Ізоніазид; Орлістат, Кетилістат, Лоркасерин; Галантамін, Доперезил, Ривастигмін). Проте комплекси кверцетину і Тафенохіну з 1SME та кверцетину і Аспіріну з 2OYE характеризуються енергіями зв'язування (ММ/GBSA) -41,73 і -47,00 ккал/моль відповідно, та -19,46 і -30,90 ккал/моль відповідно). Загальну тенденцію переваг за енергією докінгу комплексу кверцетину з 3ERT порівняно з відповідними комплексами досліджених препаратів також порушують результати

ММ/GBSA аналізу: -39,03 ккал/моль у Кверцетину порівняно з -40,62, -51,69, -70,34 ккал/моль у Тамоксифену, Тореміфену, Ралоксифену відповідно). Оскільки повторна оцінка фармакологічного потенціалу кверцетину за ММ/GBSA аналізом не завжди співпадає з результатами оцінки за первинним докінг-аналізом видається доцільним використання ще одного варіанту оцінки міжмолекулярних комплексів, що порівнюються.

Усі досліджені ліганд-протеїнові комплекси кверцетину охарактеризовані водневими, Ван-дер-Ваальсовими та гідروفобними взаємодіями, аналіз яких було виконано за графічними даними за умови їхнього максимального збільшення (зауважимо, що в оригінальній статті таблиця

містить деякі невідповідності з рисунком через певний зсув даних). Як визначили автори, довжина водневого зв'язку між протоном кверцетину або препарату порівняння та відповідним гетероатомом амінокислотного залишку від 3,07 Å до 6,0 Å (проте зазвичай довжина водневого зв'язку в межах 2,5–3,0 Å), й у водневих зв'язках беруть участь дві, три або чотири гідроксильні групи кверцетину (табл. 2).

Отримані результати характеристик докінгових комплексів за оточенням досліджених лігандів (табличні дані скориговані з графічними) дозволяють певною мірою визначити сайт зв'язування відповідного протеїну (табл. 3).

Як стверджують автори дослідження, молекулярний докінг з різними

Таблиця 2

Особливості водневого зв'язку в міжмолекулярних комплексах білка-мішені з кверцетином або препаратом порівняння

Білок-мішень: PDBID	Ліганд	Довжина водневого зв'язку: Å (амінокислотний залишок, положення гідроксигрупи для кверцетину)
1KPI	Кверцетин (1)	3,07 (Tyr41; 5-OH); 4,92 (His149; 7-OH); 3,73 (Gly145; 7-OH); 4,22 (Thr293; 3'-OH)
1KPI	Тіацетазон (2)	4,55 Glu148; 3,55 Gly145; 4,30 Tyr41; 6,54 Tyr24
1SME	Кверцетин	6,00 (Tyr192; 3-OH); 3,73 (Thr217; 5-OH); 3,19 (Gly216; 7-OH); (3,40 (Leu131; 3'-OH)
1SME	Примахін (3)	4,34 Asp34
2OYE	Кверцетин	3,53 (Met522; 3'-OH); 3,88 (Ser530; 3-OH)
2OYE	Аспірин (4)	–
3LFM	Кверцетин	4,44 Asp351; 3'-OH); 5,04 (Glu353; 7-OH); 3,68 (Arg394; 7-OH)
3LFM	Тамоксифен (5)	4,81 Leu530
3ERT	Кверцетин	5,45 (Ala227; 7-OH); 5,81 (Tyr106; 4'-OH); 3,56 (Glu234; 4'-OH)
3ERT	Орлістат (6)	4,16 Ser229
4IVT	Кверцетин	3,87 (Ile126; 4'-OH); 5,50 (Tyr198; 3-OH); 4,59 (Asp228; 5-OH); 4,12 (Asp32; 7-OH)
4IVT	Галантамін (7)	4,16 Arg235; 4,16 Tyr72

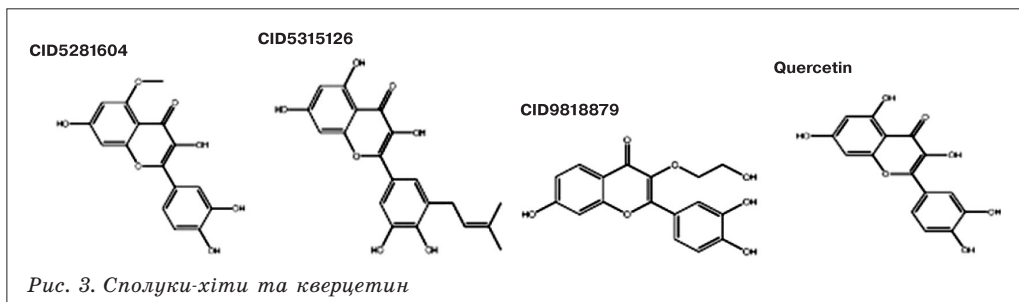
Оточення кверцетину (1) та препаратів порівняння (2–7) амінокислотними залишками в кишені відповідного протейну

1KPI		1SME			2OYE		3LFM			3ERT			4IVT		
1	2	1	3	1	4	1	1	5	1	1	6	1	1	7	
Tyr41	Tyr41	Asp34	Asp34	Val349	Tyr385	Tyr106	Ile85	Ile85	Ala350	Leu354	Leu354	Asp32	Asp32	Asp32	
Gly145	Gly145	Tyr77	Tyr77	Leu352	Gly526	Tyr108	Tyr108	Tyr108	Asp351	Glu380	Glu380	Gly34	Gly34	Gly34	
His149	Glu148	Val78	Val78	Tyr385	Ala527	Leu109	Tyr214	Tyr214	Glu353	Leu525	Leu525	Ser35	Ser35	Pro70	
Ile184	Ile184	Leu131	Asp214	Met522		Ala227	Trp230	Trp230	Leu384	Pro535	Pro535	Tyr71	Tyr71	Tyr71(72)	
Ile210	Phe215	Tyr192	Gly216	Ile523		Val228			Leu387	Leu536	Leu536	Gln73	Gln73	Gln73(71)	
Phe215	Leu220	Asp214		Gly526		His231			Leu391			Ile126	Ile126	Asp228	
Thr293		Gly216		Ala527		Glu234			Arg394			Tyr198	Tyr198	Arg235	
		Thr217		Ser530					Leu525			Asp228	Asp228	Val332	

білками-мішенями був застосований для вивчення потенційної фармакологічної активності кверцетину та показав хороші результати міжмолекулярної взаємодії. Результати докінгової оцінки, як зазначають автори, вказують на потужніший інгібуючий потенціал кверцетину щодо окремих захворювань, ніж у стандартних препаратів, доступних на ринку. Таким чином, кверцетин слід розглядати як ефективний кандидат у препарати для лікування деяких зі зазначених захворювань [22].

Результати молекулярного докінгу кверцетину та його аналогів у ензим *iNOS* (human inducible nitric oxide synthase) [21]. Через свою важливість у спричиненні пухлинної хвороби, фермент *iNOS* став новою мішенню в пошуку протипухлинних агентів. Підвищений рівень експресії *iNOS* та його активності були виявлені в різних злоякісних пухлинах. Оскільки раніше в деяких експериментах показана протиракова дія кверцетину як інгібітора *iNOS* і в зв'язку зі застереженнями щодо його біодоступності, важливою була його молекулярна модифікація. У цьому напрямі автори Singh та Konwar [21] вибрали для дослідження флавоноїди з базовим скелетом дифенілпропану (C6-C3-C6) – кверцетин та його аналоги (CID: 5281604, 5315126, 9818879, 5481966, 5282154, 13964550, 5281691, 11834044, 6477685). Результати докінгу цих сполук дозволили виділити три сполуки-хіти, які показали найкращу взаємодію з ензимом *iNOS* (рис. 3, табл. 4).

Використання стратегії докінгу, що поєднує кілька скорингових функцій (зокрема, MolDock score, Rerank score, total interaction energy), дозволяє однозначно підтвердити загальну тенденцію переваг міжмолекулярної взаємодії трьох сполук-хітів з ензи-



Таблиця 4

Результати докінгу сполук-хітів і кверцетину в ензим iNOS, kJ/mol [21]

№ з/п	Ligand (CID)	MolDock ^a	Rerank ^b	Inter-action ^c	Internal ^d	HBond ^e	LE1 ^f	LE3 ^g
1	5281604	-129,14	-104,75	-148,27	19,14	-11,81	-5,61	-4,55
2	5315126	-122,90	-102,63	-146,11	23,21	-15,38	-4,55	-3,80
3	9818879	-131,99	-95,04	-150,44	16,46	-9,33	-5,58	-3,96
4	Кверцетин	-77,29	-65,79	-97,17	19,88	-8,42	-3,51	-2,99

Примітка. ^aОцінка MolDock (MolDock score) отримана з оціночних функцій PLP з новим членом водневого зв'язку та новими схемами заряду, ^bоцінка реранжування (Rerank) є лінійною комбінацією E-inter (стеричний, Ван-дер-Ваальсовий, водневий, електростатичний зв'язок) між лігандом і білком, а також E-intra (кручення, sp²-sp², водневий, ван-дер-ваальсовий, електростатичний зв'язок) ліганду, зваженого за попередньо визначеними коефіцієнтами, ^cзагальна енергія взаємодії між позою та білком (кДж моль⁻¹), ^dвнутрішня енергія пози, ^eенергія водневого зв'язку (кДж моль⁻¹), ^fефективність ліганду 1: показник MolDock поділений на кількість важких атомів, ^gефективність ліганду 3: оцінка реранжування, поділена на кількість важких атомів.

мом iNOS у відповідному порівнянні з кверцетином.

Ліганд-протеїнові комплекси всіх чотирьох молекул (топ три докінг-хіти та кверцетин) охарактеризовані відповідним оточенням амінокислотних залишків. Ці досліджені сполуки були розміщені всередині однієї й тієї самої кишені ензиму iNOS (сайту зв'язування). Згідно з характеристиками докінгових комплексів, в оточенні досліджених лігандів (1–4) є спільні амінокислотні залишки: Asp382 (1–4), Tyr347 (1–3), Pro350 (2, 3, 4), Trp346, Tyr373 (1, 2), Arg388 (2, 4), які характеризують сайт зв'язування ензиму iNOS (табл. 5).

Аналіз міжмолекулярної взаємодії для ліганд-протеїнового комплексу показав, що віддаль між парами відповідних взаємодіючих атомів (interaction dist., Å) та енергія їхньої взаємодії (interaction Energy, kJ/mol)

знаходяться в межах від 2,35 до 3,54 Å та від -0,02 до -2,5 кДж/моль відповідно. Водночас відповідні атоми кисню ліганду та атоми кисню та азоту НЕМ молекули iNOS знаходяться на віддалі від 2,60 до 3,39 Å, а енергія їхньої взаємодії знаходиться в межах від -1,3 до -2,5 кДж/моль.

Крім того, автори додатково провели порівняльний аналіз ймовірного впливу на здоров'я досліджених флавоноїдів порівняно з кверцетином. За допомогою ACD/I-Lab 2.0 (Advanced Chemistry Development, Inc., 1994 p.) показано, що досліджені сполуки мають прогнозовано низьку токсичність і меншу ймовірність токсичного впливу на здоров'я. Також зазначено, що сполуки-хіти чинять більш-менш подібні до кверцетину прогнозовані впливи на систему крові, серцево-судинну систему, шлунково-кишковий тракт, нирки, печінку та легені.

Оточення сполук-хітів (1–3) і кверцетину (4) амінокислотними залишками в кишені ензиму iNOS

1	2	3	4
Trp346	Trp346	Tyr347	Pro350,
Tyr347	Tyr347	Pro350	Gln263
Val352	Pro350	Asp382	Gly371
Phe369	Gly371		Asp382
Tyr373	Tyr373		Arg388
Asp382	Asp382		
	Arg388		

Отже, визначені аналоги кверцетину – інгібітори iNOS, які, знаходячись у порожнині активного центру iNOS, виявили кращу за кверцетин міжмолекулярну взаємодію ліганд-білок.

Як відомо, кверцетин виявляє протиракові властивості та пригнічує фермент iNOS. Автори Singh та Konwar зазначили, що для аналогів кверцетину, які в сайті зв'язування ферменту iNOS виявили переваги перед кверцетином, також вірогідні певні протиракові властивості [21].

Кверцетин як інгібітор COX-2 при запальних процесах нормальних та ракових клітин. Raju Dash та співавт. [24] вивчали міжмолекулярну взаємодію ензиму COX-2 з флавоноїдами (12 сполук), для яких була відома протипухлинна дія. Характеристики міжмолекулярних комплексів ліганд-протеїн були отримані за двома програмами (FlexX, LeadIT 2.1.6 та ArgusLab 4.0.1). Визначено значення афінності зв'язування з межею до -10 кДж/моль (FlexX) та до -8 ккал/моль (ArgusLab). Енергія зв'язку була в межах від -8,25 ккал/моль (ізорамнетин) до -10,72 ккал/моль (лютеолін) (ArgusLab). Міжмолекулярна взаємодія кверцетину з COX-2 охарактеризована енергією зв'язку -8,94 ккал/моль (ArgusLab), що вказує на енергетичну

вигідність утворення міжмолекулярного комплексу. Аналіз результатів докінгу, виконаних за ArgusLab, показав, що целекоксиб, 4',6,7-тригідроксиізофлавоон, кверцетин, кверцетин-3-метиловий етер, кемпферол, лютеолін утворюють водневі зв'язки з залишком серину (S530). Інші флавоноїди, зокрема, еріодиктіол, мірицетол мають водневий зв'язок з Arg120 (R120), а для 5-деоксикемферолу характерним є водневий зв'язок з Tyr385 (Y385). Усім сполукам притаманні гідрофобні взаємодії з Val523 (V523) та в більшості випадків пі-алкіл (π -alkyl) і пі-сигма (π - σ) зв'язування, за винятком сполуки дельфінідину. Дельфінідин формує пі-катионну (π -cation) взаємодію зі залишком Arg120 (R120) і гідрофобну взаємодію зі залишком Val523 (V523) (табл. 6).

Згідно з характеристиками докінгових комплексів (*FlexX molecular simulation*), в оточенні досліджених лігандів (1–13) є спільні амінокислотні залишки, зокрема Leu352, Phe518, Val523, Ser353, Gly526, Ala527 для більшості лігандів (табл. 7).

Згідно з характеристиками міжмолекулярних комплексів, вивчених за обома програмами, усі досліджені ліганди (2–13) були розміщені всередині однієї й тієї самої кишені протеїну COX-2 та показали високу вірогід-

Результати докінгу досліджених лігандів і кверцетину в протеїн СОХ-2 [24]

№ за/п	Ліганд	Е _{зв'язку} ['] ккал/моль	Сайти зв'язування білка СОХ-2 з лігандами (типи взаємодії)
1	Целекоксиб	-9,35	Q192, R120, L531, S530 (h-bonding), V523, A527, L352, F198 (π-alk bonding), V349, Y348 (π-σ bonding)
2	Ізорамнетин	-8,25	V349, L352, V523 (π-alk bonding), S353, A527, V523 (π-σ bonding)
3	5-Деокси-кемпферол	-9,14	V523, I517, A516 (π-alk bonding), Y355 (π-π bonding), V349 (π-σ bonding)
4	Екол	-9,92	Q192, F518 (h-bonding), V523, V349, L352, L531, A527 (π-alk bonding)
5	4',6,7-Тригідрокси-ізофлавонон	-9,89	S530 (h-bonding), V523, A527, L352, L531 (π-alk bonding), V349 (π-σ bonding)
6	Еріодиктіол	-9,50	F518, R120 (h-bonding), A527, V349, V523 (π-σ bonding)
7	Кверцетин	-8,94	R513, R120, Q192 (h-bonding), V523, V349, L352 (π-alk bonding), V523, A527 (π-σ bonding)
8	Мірицетин	-8,91	R120 (h-bonding), V349, V523 (π-alk bonding), A527, V523 (π-σ bonding)
9	7,3',4'-Тригідрокси-ізофлавонон	-9,86	A527, V523, L531, L352 (π-alk bonding), S353, V349 (π-σ bonding)
10	Кверцетин-3-метиловий етер	-8,26	H90, S530 (h-bonding), A527, V349, L352 (π-alk bonding), V349, V523 (π-σ bonding)
11	Кемпферол	-10,64	W385, S530 (h-bonding), V349, L352 (π-alk bonding), L352, V523, A516 (π-σ bonding)
12	Делфінідин	-8,94	E524 (h-bonding), V89, V116, I112 (π-alk bonding), Y355 (π-π bonding), L93 (π-σ bonding), R120 (π-cation bonding)
13	Лютеолін	-10,72	S530 (h-bonding), A516, L352, V349 (π-alk bonding), V523 (π-σ bonding)

ність його інгібування. Проте певна відмінність відповідних характеристик міжмолекулярних комплексів за різними програмами (амінокислотне оточення лігандів, типи взаємодії) свідчить про різну позу лігандів у кишені СОХ-2, що призводить у кінцевому результаті до змін рейтингу лігандів. Але важливо, що отримані результати докінгових досліджень

показують високу вірогідність впливу досліджених сполук на СОХ-2, що може бути важливим механізмом їхньої протипухлинної дії.

Результати виконаних досліджень щодо здатності досліджених флавоноїдів чинити протипухлинну дію (сполуки 2–4, 6–13 за раку шкіри, сполуки 2, 5, 11, 13 за раку товстої кишки, сполуки 4, 13 за раку простати,

Оточення целекоксибу (1) та похідних кверцетину (2–6, 8–13) амінокислотними залишками в кишені COX-2 (FlexX molecular simulation)

Сайт зв'язування протеїну COX-2 [24]	Амінокислотні залишки в оточенні целекоксибу (1)	Ліганди зі спільними амінокислотними залишками в кишені COX-2
H90	His90	2, 4, 5, 6, 8, 10, 11, 12, 13
R120	Arg120	3, 8, 9
Q192	Gln192	5, 6, 8, 9, 10, 13
V349	Val349	3, 5, 6, 9, 10, 12
L352	Leu352	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13
S353	Ser353	2, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13
Y355	Tyr355	2, 3, 5, 9
L359	Leu359	2
Y385	–	2, 6, 11, 12
W387	–	2, 3, 6, 8, 11
R513	–	–
A516	–	–
F518	Phe518	2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13
–	Met522	2, 3, 6, 8, 13
V523	Val523	2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13
G526	Gly526	2, 3, 4, 6, 8, 10, 11, 12, 13
A527	Ala527	3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13
–	Ser530	2, 5, 6, 11, 12
L531	–	3

Примітка. 1 – celecoxib, 2 – isorhamnetin, 3 – 5-deoxykaempferol, 4 – equol, 5 – 4', 6, 7-trihydroxyisoflavone, 6 – eriodictyol, 7 – quercetin (дані відсутні), 8 – myricetin, 9 – 7, 3, 4'-trihydroxyisoflavone, 10 – quercetin-3-methyl ether, 11 – kaempferol, 12 – delphinidin, 13 – luteolin.

сполуки 4, 6, 10 за раку молочної залози, сполука 10 за раку легенів і лейкемії, сполука 2 за колоректального раку) можуть бути основою подальшого з'ясування їхньої участі як інгібіторів COX-2 у складному біохімічному механізмі регулювання життєдіяльності ракових клітин, що сприятиме їхньому використанню в ад'ювантній хімотерапії.

Міжмолекулярні комплекси кверцетину з взаємопов'язаними мішенями. Автори Парамесварі та Девіка [23]

здійснили докінг молекули кверцетину в протизапальні протеїни MSX2, HOXA10, HOXA5, MAPK14, а також в протеїни SGK-1, BAX, ZnF26, ADM, які пов'язують з протипухлинною дією.

За отриманими результатами енергетично найвигідніша міжмолекулярна взаємодія кверцетину була з протеїнами SGK-1 та MAPK14 (-9,5 і -9,7 ккал/моль відповідно) – потенційними мішенями протипухлинної та протизапальної дії кверцетину (табл. 8).

Енергія зв'язку кверцетину з білками – потенційними мішенями протипухлинної та протизапальної дії [23]

Білки-мішені протизапальної дії		Білки-мішені протипухлинної дії	
Рецептор	Енергія зв'язку, ккал/моль	Рецептор	Енергія зв'язку, ккал/моль
MSX2	-7,9	SGK-1	-9,5
NOXA10	-7,8	BAX	-8,9
NOXA5	-7,6	ZnF26	-6,6
MAPK14	-9,7	ADM	-7,9

Отже, для кверцетину як мульти-цільового ліганду були визначені потенційні мішені протипухлинної (SGK-1) та протизапальної дії (MAPK14). Загалом отримані результати вказують, що кверцетин може здійснювати протизапальну та протипухлинну дію, впливаючи на сигнальний шлях NF-κB. Такий самий висновок впливає з досліджень інших авторів, які вивчали особливості впливу флавоноїдів на сигнальний шлях NF-κB [28–33].

Інгібуючий вплив кверцетину на окиснювальні ендогенні ферменти. Досліджено здатність кверцетину пригнічувати активність деяких ендогенних окиснювальних ферментів, які причетні до кількох запальних патологій [34]. Це NOX (2CDU.PDB), XO (3NVY.PDB), 5-LOX (6NCF.PDB), 5-MPO (5FIW.PDB) та MAO-A (2Z5Y.PDB). Дослідження за методом молекулярного докінгу виявило, що кверцетин має найкращі результати за енергією зв'язування (Езв, ккал/моль) з XO (-8,87), далі йдуть MAO-A (-8,14), 5-LOX (-5,94), NOX (-5,35), MPO (-4,91).

Молекула кверцетину для побудови гомологічної моделі M. tuberculosis urease (MTU). Через відсутність експериментальної структури MTU автори Ю. В. Лізняк і А. В. Мартинов [19] вибрали флавоноїд кверцетин для

побудови гомологічної моделі MTU (Mapping of protein surface by FTSite method), важливої для подальшої розробки нових інгібіторів MTU на її основі. Модель зв'язування кверцетину з MTU відповідає результатам дослідження щодо зв'язування кверцетину з *Helicobacter pylori* та *Klebsiella aerogenes ureases*. Міжмолекулярна взаємодія кверцетину з MTU відбувається за рахунок ван-дер-ваальсових (А) і водневих зв'язків (В) (рис. 7).

Отже, була побудована модель гомології MTU, яка може бути використана в подальших дослідженнях міжмолекулярних взаємодій ліганд-уреаза та розробці нових MTU-інгібіторів. На окрему увагу заслуговують мішені-спрямовані дослідження флавоноїдів (зокрема, кверцетину) щодо протимікробної та противірусної дії [35–38].

Висновки

Флавоноїд кверцетин та його похідні є перспективним класом сполук з широким спектром фармакологічних властивостей.

У дослідженнях механізмів біологічної дії кверцетину широко використовують методи *in silico* за схемою: від «білка-мішені» та ліганду через процедуру молекулярного докінгу до комплексу «білок-ліганд» та його аналізу.

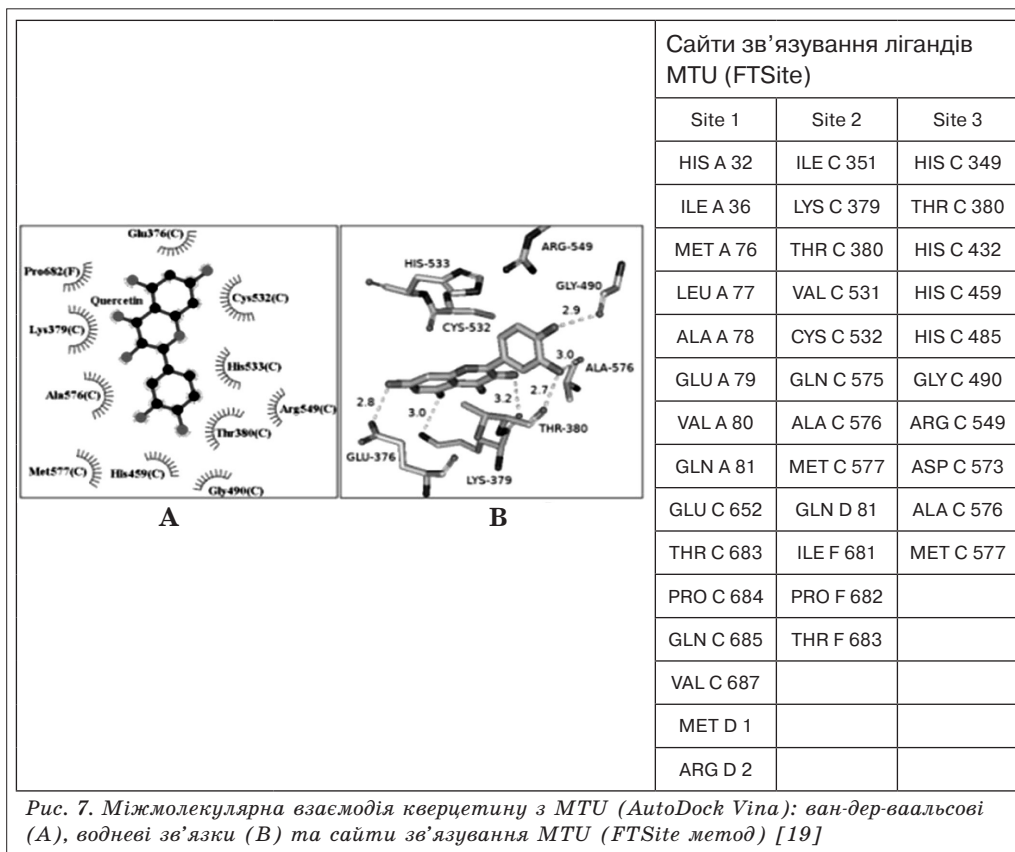


Рис. 7. Міжмолекулярна взаємодія кверцетину з MTU (AutoDock Vina): ван-дер-ваальсові (А), водневі зв'язки (В) та сайти зв'язування MTU (FTSite метод) [19]

Доведено, що кверцетин та його похідні ефективно взаємодіють з різноманітними білками-мішенями, зокрема, iNOS, SGK-1, MAPK14, COX-1 та COX-2, що дозволяє розглянути їх як перспективні структури щодо розробки препаратів для лікування низки інфекційних, запальних, онкологічних та інших захворювань.

1. Antioxidant and anti-inflammatory properties of phytochemicals found in the Yucca Genus (review). E. Bahena Culhuac, A. Maggiolino, M. M. M. Y. Elghandour et al. *Antioxidants*, (MDPI), review. 2023. 45 p. URL: <https://www.mdpi.com/journal/antioxidants>.
2. Natural product – driven dual COX – LOX inhibitors: overview of recent studies on the development of novel anti-inflammatory agents. Nobarum Mukhopedhyay at al. *J. Holiyon*. 2023. V. 9. P. el 4569. <https://doi.org/10.1016/J. hellion.2023.el 4569>.
3. Hajizadeh A., Azizi S. Effects of naringenin on experimentally induced rheumatoid arthritis in Wistar rats. *Arch. Razi. Inst.* 2021. V. 76. P. 903.
4. Hesperetin confers neuroprotection by regulating Nrf2/TLR4/NF-KB signaling in an Aβ mouse model. M. Ikram, T. Muhammad, S. U. Rehman et al. *Mol. Neurobiol.* 2019. V. 56. P. 6293–6309.
5. Hesperetin inhibits neuroinflammation on microglia by suppressing inflammatory cytokines and MAPK pathways. S. H. Jo, M. E. Kim, J. H. Cho et al. *Arch. Pharm. Res.* 2019. V. 42. P. 695–703.
6. Ameliorative potential of rutin in combination with nimesulide in STZ model of diabetic neuropathy: targeting Nrf2/HO-1/NF-KB and COX signalling pathway. R. Mittal, A. Kumar, D. P. Singh et al. *Inflammopharmacology*. 2018. V. 26. P. 755–768.
7. Quercetin reduces the transcriptional activity of NF-KB in stable coronary artery disease. N. Chekalina, Y. Burmak, Y. Petrov et al. *Indian Heart J.* 2018. V. 70. P. 593–597.
8. Synergistic anti-inflammatory effects of quercetin and catechin via inhibiting activation of TLR4–MyD88-mediated NF-κB and MAPK signaling pathways. T. Li, F. Li, X. Liu et al. *Phytother. Res.* 2019. V. 33. P. 756–767.

9. Попадинець П. І., Яцишин Р. І. Клінічна ефективність застосування кверцетину у хворих на бронхіальну астму з супутньою гастроєзофагенальною рефлюксною хворобою. *Галицький лікарський вісник*. 2013. Т. 20, № 2. С. 91–94.
10. Роговский В. С., Матюшин А. И. Перспективы применения препаратов кверцетина для профилактики и лечения атеросклероза. *Международный медицинский журнал*. 2011. № 3. С. 114–118.
11. Зупанець І. А., Усенко В. Ф., Шаламай А. С. Дослідження впливу нового вуглевод модифікованого препарату кверцетину на перебіг колаген індукованого артриту у щурів. *Ревматологічний журнал*. 2011. № 46 (4).
12. Zimmermann G. R., Lehar J., Keith C. T. Multi-target therapeutics: when the whole is greater than the sum of the parts. *Drug Discovery Today*. 2007. V. 12. P. 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2006.11.008>.
13. Medina-Franco J. L., Giulianotti M. A., Welmaker G. S. Shifting from the single to the multitarget paradigm in drug discovery. *Drug Discovery Today*. 2013. V. 18. P. 495–501. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.01.008>.
14. Meirer K., Steinhilber D., Proschak E. Inhibitors of the arachidonic acid cascade: interfering with multiple pathways. *Basic and clinical pharmacology and toxicology*. 2014. V. 114. P. 83–91. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12134>.
15. Mathew G., Unnikrishnan M. Multi-target drugs to address multiple checkpoints in complex inflammatory pathologies: evolutionary cues for novel «first-in-class» anti-inflammatory drug candidates: a reviewer's perspective. *Inflammation Research*. 2015. V. 64. P. 747–752. <https://doi.org/10.1007/s00011-015-0851-8>.
16. Quercetin suppresses cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis through inactivation of p300 signaling. X. Xiao, D. Shi, L. Liu et al. *PLoS One*. 2011. V. 6 (8). P.e22934.
17. The FTMap family of web servers for determining and characterizing ligand-binding hot spots of proteins. D. Kozakov, L. E. Grove, D. R. Hall et al. *Nature Protocols*. 2015. V. 10, No. 15. P. 733–755.
18. Identification of hot spots within druggable binding sites of proteins by computational solvent mapping. M. R. Landon, D. R. Lancia Jr, J. Yu et al. *J. Med. Chem*. 2007. V. 50. P. 1231–124018.
19. Lisnyak Yu. V., Martynov A. V. Docking study of molecular mechanism behind the quercetin inhibition of mycobacterium tuberculosis urease. *Annals of Mechnikov Institute*. 2018. No. 4. P. 54. <https://doi.org/10.5281/zenodo.2547472>.
20. Anticancer activities of phenolic compounds from *Moringa oleifera* leaves: *in vitro* and *in silico* mechanistic study. M. Z. Mumtaz, F. Kausar, M. Hassan et al. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 2021. V. 10, No. 12. P. 1–11. <https://doi.org/10.1186/s43088-021-00101-2>.
21. Singh, Konwar. Molecular docking studies of quercetin and its analogues against human inducible nitric oxide synthase. *SpringerPlus*. 2012. V. 1, No. 69. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-1-69>.
22. *In silico* molecular docking and ADME/T analysis of quercetin compound with its evaluation of broad-spectrum therapeutic potential against particular diseases. Md M. Hasan, Z. Khan, M. S. Chowdhury et al. *Informatics in Medicine Unlocked*. 2022. V. 29. P. 100894. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2022.100894>.
23. Parameswari P., Devika R. *In silico* molecular docking studies of quercetin compound against anti-inflammatory and anticancer proteins. *Res. J. Pharm. Technol*. 2019. V. 12 (11). P. 5305–5309.
24. Molecular docking analysis of known flavonoids as dual COX-2 inhibitors in the context of cancer. Raju Dash, Mir Muhammad Nasir Uddin, S. M. Zahid Hosen et al. *Bioinformation*. 2015. V. 11 (12). P. 543–549.
25. Trott O. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J. Comput. Chem*. 2010.
26. Key topics in molecular docking for drug design. Pedro H. M. Torres, Ana C. R. Sodero Paula Jofily, Floriano P. Silva-Jr. *Int. J. Mol. Sci*. 2019. V. 20 (18). P. 4574.
27. Ritica Sahu, Surendra Jain, Deepti Jain. *In silico* molecular docking studies and MM/GBSA analysis of apigenin derivatives by using different proteins to get antidiabetic potential against type-II Diabetes mellitus. *Eur. Chem. Bull*. 2023. V. 12, special Issue 1. P. 728–742.
28. Iftikhar H., Rashid S. Molecular docking studies of flavonoids for their inhibition pattern beta-catenin and pharmacophore model generation from experimentally known flavonoids to fabricate more potent inhibitors for Wnt signaling pathway. *Pharmacogn. Mag*. 2014. V. 10, suppl 2. P. 264–271. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.133269>.
29. *In vitro* and molecular docking analysis of quercetin as an anti-inflammatory and antioxidant. A. Basatin, M. Teimeuri, S. Faramarz et al. *Curr. Pharm. Des*. 2023. V. 29 (11). P. 883–892. <https://doi.org/10.2174/1381612829666230330084043>.
30. Quercetin ameliorates LPS-induced inflammation in human peripheral blood mononuclear cell by inhibition of the TLR2-NF-κB pathway. M. Zhang et al. *Genet. Mol. Res*. 2016.
31. Quercetin inhibits inflammatory response induced by LPS from porphyromonas gingivalis in human gingival fibroblast via suppressing NF-κB signaling pathway. G. Xiong, Ji. W. Wang F., F. Zhang et al. *Biomed. Res. Int*. 2019. P. 6282635. <https://doi.org/10.2255/2019/6282635>.

32. Panche A. N., Divan A. D., Chandra S. R. Quercetin all eviates lipopolysaccharide - induced cell oxidative stress and inflammatory responses via regulation of the TLR4-NF-kB signaling pathway in bovine rumen epithelial cells. *Journal of nutritional science*. 2016. V. 5. P. 1–15. E47.
33. Maharani M. G., Lestary S. R., Lukiafi B. Molecular docking studies flavonoids (quercetin, isoquercetin, and kaempferol) of single bulb garlic (*allium sativum*) to inhibit lanosterol synthase anti-hypercholesterol therapeutic strategies. *AIP Conf. Proc.* 2232, 040021. 2020. <https://doi.org/10.1063/5.0002531>.
34. Inhibitory effect of quercetin on oxidative endogen enzymes: a focus on putative binding modes. S. Olla, Ch. Siguri, A. Fais et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24. P. 15391. <https://doi.org/10.3390/ijms242015391>.
35. Angurai Moulishankar, Karthikeyan Lakshmanan. Data on molecular docking of naturally occurring flavonoids with biological important targets. *Elsevier*. 2020. P. 105243. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105243>.
36. Docking and molecular dynamics simulations of flavonoids as Inhibitors of infectious agents: rutin as a coronavirus protease Inhibitor. N. Salerizadeh, M. R. Aallael, Zarei Ali et al. *Chemistry Select.* V. 7, Is. 37. P. e202202043. <https://doi.org/10.1022/select.202202043>.
37. Evaluation of flavonoids as 2019-nCoV cell entry inhibitor through molecular docking and pharmacological analysis. Bhowmik Deep, Rajat Naoli, Amresh Prakash, Diwakar Kumar. *Heliyon*. 2021. V. 7 (3). P. E06515. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06515>.
38. *In silico* evaluation of natural flavonoids as a potential inhibitor of coronavirus disease. P. Rashyp, M. Thakur, N. Singh et al. *J. Molecules*. 2022. V. 24, is.19. <https://doi.org/10.3390/molecules27196374>.

Л. С. Бобкова, Т. А. Бухтіарова, З. С. Суворова, О. Є. Ядловський
***In silico* аналіз молекулярних механізмів фармакологічної дії кверцетину**

Сьогодні дослідження механізмів біологічної дії флавоноїдів, таких як кверцетин, рутин, гесперитин, лютеолін та інших, їхніх фармакологічних властивостей є актуальними. У реалізації цього напрямку важливе місце має *in silico* молекулярний докінг, який дає можливість теоретичного передбачення механізму та спектра фармакологічної дії як окремої сполуки, так і ряду сполук, визначити мішень-орієнтовані сполуки-хіти, означити пріоритети цільового пошуку мультитаргетних препаратів тощо.

Мета дослідження – огляд *in silico* досліджень з молекулярних механізмів фармакологічної дії кверцетину як потенційного мультитаргетного препарату.

В огляді наведено сучасні дані щодо найпоширеніших *in silico* досліджень кверцетину – його міжмолекулярних комплексів з різними білками-мішенями. Означено терапевтичний потенціал кверцетину як протитуберкульозного, протималарійного, протизапального, протипухлинного засобу, а також засобу проти ожиріння та для лікування хвороби Альцгеймера порівняно зі стандартними лікарськими засобами. Представлено результати молекулярного докінгу кверцетину та його аналогів як інгібіторів протеїнів BAX, iNOS, SGK-1, ZnF26, ADM (протипухлинна дія), а також протеїнів COX-2, MSX2, HOXA10, HOXA5, MAPK14 (протизапальна дія). Спрямований пошук потенційних інгібіторів COX-2 в ряду похідних кверцетину є новим напрямом у розробці протизапальних речовин, які важливі при запальних процесах нормальних, а також ракових клітин, здатних модулювати відповідь на хіміотерапію. Фермент iNOS став новою мішенню в пошуку інгібіторів серед деяких протипухлинних речовин (зокрема, кверцетину та його похідних) через свою важливість у спричиненні пухлинної хвороби. Так, підвищений рівень експресії iNOS був виявлений у різних злоякісних пухлинах. У результаті докінгу похідних кверцетину (з відомою протипухлинною дією) було виділено три сполуки – хіти, які показали найкращу взаємодію з ензимом iNOS порівняно з кверцетином. Для кверцетину як мультицільового ліганду були визначені потенційні мішені протипухлинної (SGK-1) та протизапальної дії (MAPK14). У цілому отримані результати вказують, що кверцетин може здійснювати протизапальну та протипухлинну дію шляхом впливу на сигнальний шлях NF-kB.

Ключові слова: кверцетин, фармакологічна дія, молекулярні механізми, докінг-аналіз

L. S. Bobkova, T. A. Burhtiarova, Z. S. Suvorova, O. E. Yadlovskyi
***In silico* analysis of molecular mechanism of pharmacological action of quercetin**

The purpose of the study was to review *in silico* methods of studying the molecular mechanisms of the pharmacological action of quercetin as a potential multitarget drug. The data on the most common *in silico* studies of quercetin intermolecular complexes with various target proteins are provided in the review.

Therapeutic potential of quercetin for its anti-tuberculosis, anti-malarial, anti-inflammatory, anticancer, anti-obesity properties and for Alzheimer's disease treatment was compared with standard drugs by means of Molecular Docking Simulation analysis. An interactions with mycolic acid cyclopropane synthase (PDB id: 1KPI), plasmepsin II (PDB id: 1SME), cyclooxygenase-1 (PDB id: 2OYE), human estrogen receptor alpha (PDB id: 3ERT), fat mass and obesity associated (FTO) protein (PDB id: 3LFM), and with BACE1 (PDB id: 4IVT) were studied. Quercetin possessed higher scores (–9.00, –6.36, –8.53, –7.28,

-7.89, -6.68 kcal/mol) as anti-tuberculosis, anti-malarial, anti-inflammatory, antineoplastic (breast – cancer), anti-obesity and anti-Alzheimer's drugs respectively.

The results of molecular docking of quercetin and its derivatives in anticancer proteins (BAX, iNOS, SGK-1, ZnF26, ADM) and anti-inflammatory proteins (COX-2, MSX2, HOXA10, HOXA5 MAPK14) are presented. Targeted search for potential inhibitors is a new direction in the development of anti-inflammatory substances, which are important in the inflammatory processes of normal cells and cancer cells, capable of modulating the response to chemotherapy.

The intermolecular interactions of COX-2 with flavonoids (12 compounds) were studied using two programs (FlexX, ArgusLab). The binding energy of quercetin with COX-2 were -8,94 kkal/mol, which indicates the energetic benefit of complex formation.

The iNOS enzyme has become a new target for search of inhibitors (in particular, quercetin and its derivatives) because of its involvement in malignant growth. It is important, that increased expression of iNOS has been found in various malignant tumors. As a result of the docking analysis of quercetin derivatives, three hit compounds were isolated, and they showed the best interaction with the iNOS enzyme compared to quercetin.

The intermolecular interactions of the quercetin with MSX2, HOXA10, HOXA5 and MAPK14 (anti-inflammatory proteins), SGK-1, BAX, ZnF26 and ADM (anti-cancer proteins) were studied. The binding energies ranged from -7,6 to -9,7 kkal/mol, and from -6,6 to -9,5 kkal/mol, respectively. The results obtained indicate that anti-inflammatory and anti-cancer effects of quercetin may be through its influence on NF- κ B signaling pathway.

Key words: quercetin, pharmacological action, molecular mechanism, docking analysis

Надійшла: 13 листопада 2023 р.

Прийнята до друку: 21 грудня 2023 р.

Контактна особа: Бухтіарова Т. А., член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.