

## Молекулярное моделирование взаимодействия дигидрокверцетина и его метаболитов с циклооксигеназой-2

Терехов Р.П.<sup>1,2</sup>, Селиванова И.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Первый Московский государственный медицинский университет (МГМУ) им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)  
Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2

<sup>2</sup> Институт клеточной терапии и иммунологии им. Фраунгофера  
Германия, 04103, г. Лейпциг, ул. Перликштрассе, 1

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Дигидрокверцетин (ДКВ) – природный флавоноид с широким спектром фармакологических свойств, в том числе противовоспалительных. Отсутствие достоверной информации о биохимических путях реализации терапевтической активности замедляет разработку лекарственных препаратов на его основе. Молекулярное моделирование призвано способствовать трансляции исследований из области фундаментальной науки в область реальной клинической практики.

**Цель работы** – оценить возможность применения ДКВ как ингибитора циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) методом *in silico*.

**Материалы и методы.** Информация о структуре ЦОГ-2 получена из базы данных Protein Data Bank (код структуры: 5KIR). 3D-модели лигандов сгенерированы в программе ChemBioDraw Ultra. Докинг осуществляли в программе GOLD после соответствующей валидации алгоритмов молекулярного моделирования на основе экспериментальных данных рентгеноструктурного анализа.

**Результаты.** Дизайн исследования базировался на рациональном подходе к выбору виртуальных структур лигандов, что позволило существенно сократить количество моделей, направленных на квантово-механический расчет. Посредством анализа *in silico* продемонстрирована способность ДКВ и некоторых его метаболитов селективно связываться с ЦОГ-2 в циклооксигеназном сайте, образуя водородные связи с SER353, SER530 и ARG513.

**Заключение.** В ходе данного исследования выявлены возможные  $\alpha$ -аминокислоты, которые играют существенную роль при взаимодействии ДКВ и его метаболитов с ЦОГ-2. Полученные данные могут быть использованы для разработки противовоспалительных лекарственных препаратов на основе ДКВ.

**Ключевые слова:** молекулярное моделирование, докинг, дигидрокверцетин, активные метаболиты, циклооксигеназа-2, противовоспалительная активность.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Терехов Р.П., Селиванова И.А. Молекулярное моделирование взаимодействия дигидрокверцетина и его метаболитов с циклооксигеназой-2. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 101–106. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-101-106>.

✉ Терехов Роман Петрович, e-mail: r.p.terekhov@yandex.ru.

УДК 57.052:577.352.334: 547.972.35

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-101-106>

## Molecular modeling of the interaction of the dihydroquercetin and its metabolites with cyclooxygenase-2

Terekhov R.P.<sup>1,2</sup>, Selivanova I.A.<sup>1</sup><sup>1</sup> Sechenov University

8/2 Bolshaya Pirogovskaya Str., Moscow, 119991, Russian Federation

<sup>2</sup> Fraunhofer Institute for Cell Therapy and Immunology

1 Perlickstraße, Leipzig, 04103, Germany

### ABSTRACT

**Background.** Dihydroquercetin (DHQ) is a natural flavonoid. It has a wide range of pharmacological effects, which includes anti-inflammatory activity. There is a gap in our knowledge about the biochemical mechanisms of the therapeutic potency implementation of this compound. This fact slows down the process of the drug development using DHQ. Molecular modeling is designed to further translate the research from the fundamental experimentation to the real clinical practice.

**Purpose.** The study objective was to estimate DHQ as a cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor by using *in silico* analysis.

**Materials and methods.** The information about the COX-2 structure was obtained from the Protein Data Bank (code 5KIR). The 3D-models of DHQ were generated by using the ChemBioDraw Ultra software. Docking was carried out in the GOLD program after the corresponding validation of molecular modeling algorithms based on experimental data of X-ray diffraction analysis.

**Results.** The design of this study is based on the rational selecting of the virtual ligand structures. It gives an opportunity to optimize the quantum-mechanical calculation. By using *in silico* analysis, it was shown that DHQ and some of its metabolites demonstrate ability of binding to SER353, SER530, and ARG513 of COX-2 at the catalytic site.

**Conclusion.** Important  $\alpha$ -amino acids for intermolecular interaction of DHQ and its metabolites with COX-2 were determined during this study. Our data can be used for the development of new anti-inflammatory drugs on the base of DHQ.

**Key words:** molecular modeling, docking, dihydroquercetin, active metabolites, cyclooxygenase-2, anti-inflammatory activity.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that there is no funding for the study.

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the local ethics committee under SSMU (Protocol No. 4346 of 16.11.2015).

**For citation:** Terekhov R.P., Selivanova I.A. Molecular modeling of the interaction of the dihydroquercetin and its metabolites with cyclooxygenase-2. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 101–106. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-101-106>.

## ВВЕДЕНИЕ

Фармакологические эффекты нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) ассоциированы с ингибированием циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) [1]. В результате снижения активности

этого фермента уменьшается синтез простагландинов из арахидоновой кислоты в циклооксигеназном сайте, благодаря чему достигается противовоспалительное, анальгезирующее и жаропонижающее действие. На данный момент на фармацевтическом рынке России имеется

широкий ассортимент НПВС, однако селективные ингибиторы ЦОГ-2 характеризуются более приемлемым профилем безопасности [1]. При этом важно отметить, что среди НПВС практически отсутствуют монопрепараты соединений растительного происхождения, хотя отмечено, что значительная доля пациентов предпочитает лекарственные препараты с действующим веществом, полученным из растительного сырья [2].

Дигидрокверцетин (ДКВ), известный в зарубежной литературе как таксифолин, является природным биологически активным флавоноидом, который получается в промышленных масштабах из комлевой части древесины лиственницы. Мажорным компонентом коммерчески доступной субстанции (ФС № 000388-270812) является (2*R*,3*R*)-изомер [3]. ДКВ проявляет широкий спектр фармакологических эффектов, в том числе противовоспалительный [4]. В последнее время накапливается все больше данных о селективном взаимодействии ДКВ с биологическими мишенями [5, 6]. Насыщенные связи в кольце С (рис. 1) обуславливают гибкость пространственной структуры ДКВ, позволяя закрепляться в сайтах связывания, недоступных для других флавоноидов.

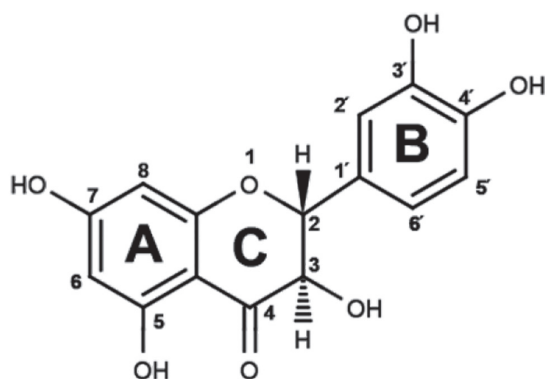


Рис. 1. Структура дигидрокверцетина  
Fig. 1. The structure of dihydroquercetin

Вместе с тем при попадании в организм ДКВ подвергается химическому превращению с образованием более чем 190 различных метаболитов [7]. Это обстоятельство затрудняет вопрос выявления биологических мишеней и установления фармакофорных структурных элементов для данного соединения, что, в свою очередь, замедляет разработку новых лекарственных препаратов.

Применение компьютерных методов для молекулярного моделирования призвано способствовать трансляции фундаментальных исследований в область практических опытно-конструкторских разработок [8]. Одним из наиболее быстрых и экономичных подходов в компьютерном анализе

(*in silico*), особенно актуальных для виртуального скрининга фармакологической активности, является докинг-метод, основанный на расчетах квантово-механических супрамолекулярных взаимодействий между лигандом и биологической мишенью [9].

Цель исследования – оценить возможность применения дигидрокверцетина как ингибитора циклооксигеназы-2, используя методы молекулярного моделирования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Из 51 трехмерной модели ЦОГ-2, представленной в базе данных виртуальных структур биополимеров Protein Data Bank (дата обращения 7.02.2017, Research Collaboratory for Structural Bioinformatics, Сан-Диего, США), был выбран объект с кодом 5KIR, полученный методом рентгеноструктурного анализа (РСА) и опубликованная B.J. Orlando, M.G. Malkowski [10]. Отбор проводился по таким признакам, как видоспецифичность и разрешение виртуальной модели.

В качестве генератора трехмерных структур лигандов использовали конструктор виртуальных моделей ChemBioDraw Ultra (v. 13.0, PerkinElmer, г. Уолтем, США). Информация о структуре метаболитов была получена на основе контент-анализа научной литературы [7].

Докинг проводили в виртуальном пространстве программы для молекулярного моделирования GOLD (v. 5.4, CCDC, г. Кембридж, Великобритания). Данная программа позволяет проводить расчет несколькими генетическими алгоритмами, которые применяются с целью найти оптимальные супрамолекулярные комплексы посредством последовательных преобразований структуры лиганда с сохранением наиболее выгодных решений. Докинг запускали по 10 раз для каждого лиганда.

Для выбора наиболее приемлемого генетического алгоритма выполнили валидацию методов расчета с использованием виртуальных моделей рофекоксиба и данных РСА (код в базе данных Protein Data Bank: 5KIR). Анализу подвергли два алгоритма. Один из них, называемый ChemScore, включает расчет энергии образования супрамолекулярной структуры с учетом базовой энергии молекул, энергии ротации связи, липофильности соединений и водородных межмолекулярных связей. Другой метод, GoldScore, предполагает квантово-механический расчет на основе энергий водородных связей, ван-дер-ваальсовых взаимодействий и энергии напряжения торсионных углов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Модель 5KIR содержит информацию о структуре белка, полученного от представителя *Homo sapiens*. Разрешение 5KIR – 2,7 Е, что меньше 3,0 Е и, таким образом, данная модель приемлема для проведения молекулярного моделирования и получения достоверных результатов.

Для оптимизации дизайна исследования необходимо было выявить и локализовать сайт связывания лигандов с биологической мишенью (рис. 2), в пределах которого проводилось дальнейшее моделирование. В результате анализа данных было установлено, что к циклооксигеназному сайту ведет сравнительно небольшой канал диаметром около 5,5 Е. Данная особенность биологической мишени позволяет исключить из анализа крупные димеры ДКВ, образующиеся в результате его метаболизма.

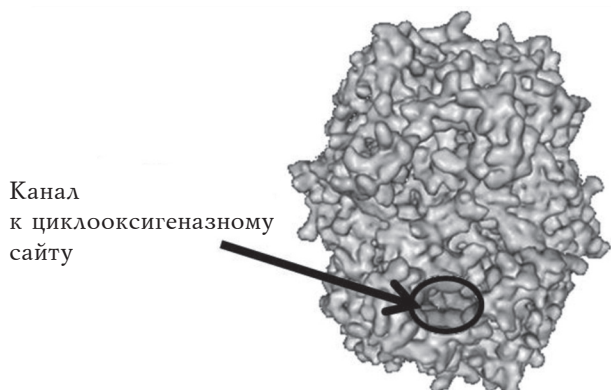


Рис. 2. Виртуальная модель поверхности Ван-дер-Ваальса циклооксигеназы-2

Fig. 2. Virtual surface model of van der Waals cyclooxygenase-2

В ходе валидации методов молекулярного моделирования установлено, что расчеты с использованием GoldScore лучше согласуются с экспериментальными данными (рис. 3). Также отмечено, что наиболее важные фармакофорные группы, к которым следует отнести фенольную гидроксильную группу в положении 5 и вторичную спиртовую гидроксильную группу в положении 3, содержат электроотрицательные атомы. С ними образуют водородные связи аминокислотные остатки серина, находящиеся на 353 (SER353) и 530 (SER530) позициях первичной структуры белка. Селективность по отношению к ЦОГ-2 достигается за счет образования водородной связи между фармакофором (фенольной гидроксильной группой в положении 4) и аргинином в позиции 513 (ARG513) в обход валину в положении 523 (важно отметить, что аминокислоты в 523-м положении неодинаковы для различных циклооксигеназ).

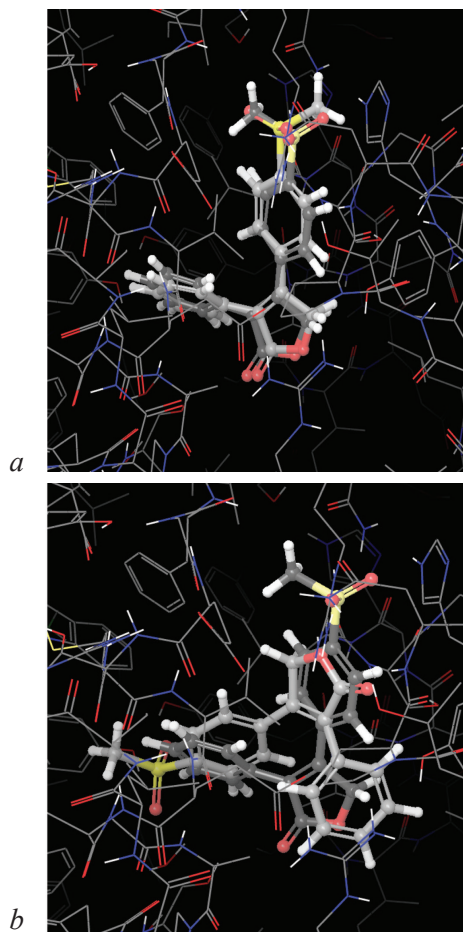


Рис. 3. Суперпозиция виртуальных моделей по данным рентгеноструктурного анализа (темно-серый цвет) и результатов валидации (светло-серый цвет): *a* – валидация алгоритма GoldScore; *b* – валидация алгоритма ChemScore

Fig. 3. Superposition of virtual models by X-ray diffraction data (dark gray color) and validation results (light gray color): *a* – validation of the GoldScore algorithm; *b* – ChemScore algorithm validation

Была сформирована база виртуальных структур ДКВ и его оставшихся, отобранных по размеру, метаболитов с учетом различных возможных конформаций, которая включала 214 различных 3D-моделей. В общей сложности проведено более 2 000 квантово-механических расчетов.

## ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам анализа *in silico*, все исследуемые виртуальные структуры можно условно разделить на три группы. Стереоизомеры ДКВ и те метаболиты, структура которых содержит три кольца (А, В и С), способны связываться с биологической мишенью по трем наиболее важным аминокислотным остаткам: SER353, SER530 и ARG513 (рис. 4, *a*). Метаболиты, сохраняющие



элементы двух колец (А и С или В и С), способны закрепляться в циклооксигеназном сайте, однако при этом не образуется связь с ARG513 (рис. 4, *b*).

Таким образом, у данной группы лигандов можно предполагать отсутствие селективности к

ЦОГ-2. К третьей группе можно отнести метаболиты, сохранившие лишь одно кольцо, модели таких соединений обладали слабой способностью к закреплению в сайте связывания исследуемой биологической мишени (рис. 4, *c*).

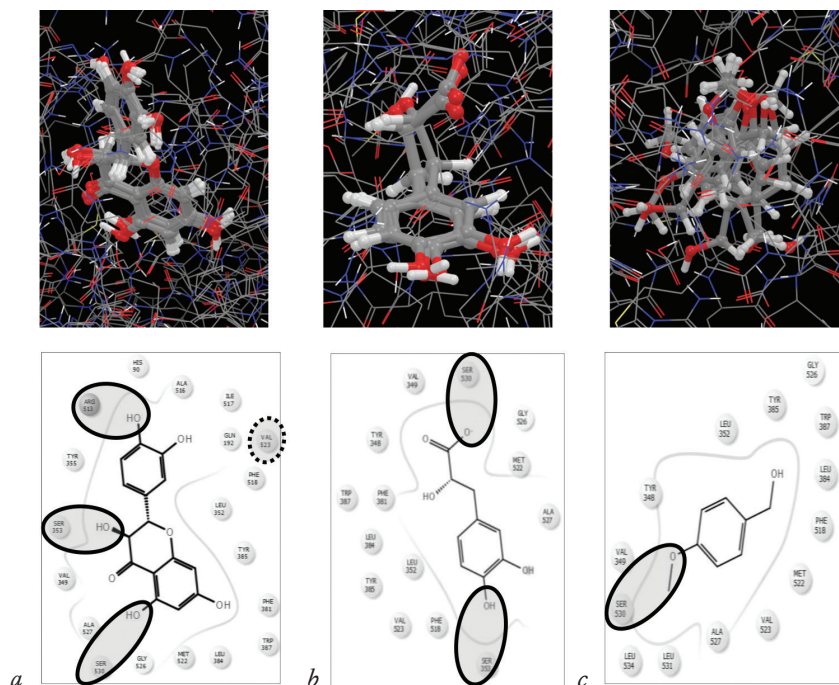


Рис. 4. Влияние структуры на способность лигандов связываться с ЦОГ-2: *a* – лиганды, содержащие в структуре кольца А, В и С; *b* – лиганды, содержащие группы АС или ВС; *c* – лиганды, сохранившие только одно из колец  
 ——— аминокислотные остатки активного центра циклооксигеназы-2, взаимодействующие с лигандом  
 - - - аминокислотный остаток активного центра, отличающий циклооксигеназу-2 от циклооксигеназы-1

Fig. 4. The effect of the structure on the ability of ligands to bind to COX-2: *a* – ligands containing rings A, B and C in the structure; *b* – ligands containing AC or BC groups; *c* – ligands that retained only one of the rings

——— amino acid residues of the active center of cyclooxygenase-2 interacting with ligand

- - - amino acid residue of the active center that distinguishes cyclooxygenase-2 from cyclooxygenase-1

Посредством проведенных расчетов было показано, что различные стереоизомеры ДКВ и многие его метаболиты способны селективно связываться с ЦОГ-2 в циклооксигеназном сайте. Полученный результат позволяет предположить, что противовоспалительный фармакологический эффект ДКВ реализуется, в том числе и за счет ингибирования ЦОГ-2. Вместе с тем многие метаболиты этого соединения не проявляли активности по отношению к структурным элементам биологической мишени, которое характерно для селективных ингибиторов ЦОГ-2, поэтому нельзя исключать вероятности связывания и других циклооксигеназ. Кроме того, в литературе нередко отмечают способность флавоноидов снижать активность киназ, которые также участвуют в регуляции воспалительного процесса [6]. Таким образом, можно предположить, что ДКВ имеет «зонтичный» эффект, оказывая комплексное

воздействие на его патогенез. Полученные данные позволяют рассматривать ДКВ как возможную молекулу для разработки новых противовоспалительных препаратов.

Представляется перспективным проведение более сложных вариантов компьютерного моделирования с применением молекулярной динамики для выявления наиболее фармакологически активных стереоизомеров и метаболитов ДКВ. Также интересно сопоставление его активности с уже имеющимися на данный момент лекарственными препаратами на фармацевтическом рынке. Наконец, необходимо продолжать скрининг фармакологической активности ДКВ и, возможно, открытие новых биологических мишеней.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследован один из вероятных путей реализации противовоспалительного фармакологического

го эффекта ДКВ методом *in silico*. Продемонстрирована возможность взаимодействия ДКВ и его метаболитов с SER353, SER530 и ARG513 в активном центре ЦОГ-2. Полученные результаты могут быть использованы для создания противовоспалительных лекарственных препаратов на базе ДКВ.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Журавлева М.В., Кукес В.Г., Прокофьев А.Б., Сереброва С.Ю., Городецкая Г.И., Бердникова Н.Г. Рациональное применение НПВП – баланс эффективности и безопасности (обзор литературы). *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016; 6 (4): 687–696. [Zhuravleva M.V., Kukes V.G., Prokofiev A.B., Serebrova S.Yu., Gorodeckaya G.I., Berdnikova N.G. Rational Use of NSAIDs – Balance of Efficiency and Safety (Review). *International Journal of Applied and Basic Research*. 2016; 6 (4): 687–696 (in Russ.)].
2. Дремова Н.Б., Соломка С.В. Социологическое исследование отношения современных пациентов к назначенной фармакотерапии. В кн.: «Эффективная клиническая практика: проблемы и возможности современного врача»; под ред. Н.К. Горшуновой. Курск: Курский государственный медицинский университет, 2017: 189–202. [Dremova N.B., Solomka S.V. Sociological research of the relation of modern patients to the appointed pharmacotherapy. In book: “Effetive clinical practice: challenges and opportunities for a modern doctor”; N.K. Gorshunova, editor. Kursk: Kursk State Medical University Publ., 2017: 189–202 (in Russ.)].
3. Терехов Р.П., Селиванова И.А., Тюкавкина Н.А., Фенин А.А. Исследование аморфной модификации дигидрокверцетина методом хромато-масс-спектрометрии: труды конференции «Лекарственные растения ботанического сада», 21–22 сентября 2016, г. Москва, Россия. М.: Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 2016: 131. [Terekhov R.P., Selivanova I.A., Tyukavkina N.A., Fenin A.A. Analysis of dihydroquercetin amorphous form by chromato-mass-spectrometry: works of the conference “Medical plants of the botanic garden”, 2016 Sept. 21–22, Moscow, Russia. Moscow: Sechenov First Moscow State Medical University Publ., 2016: 131 (in Russ.)].
4. Плотников М.Б., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе диквертина. Томск: Издательство Томского университета, 2005: 228. [Plotnikov M.B., Tyukavkina N.A., Plotnikova T.M. Medicaments on the base of Dikvetin. Tomsk: Tomsk University Publ., 2005: 228 (in Russ.)].
5. Raj U., Varadwaj P.K. Flavonoids as multi-target inhibitors for proteins associated with Ebola virus: *in silico* discovery using virtual screening and molecular docking studies. *Interdisciplinary Sciences Computational Life Sciences*. 2016; 8 (2): 132–141. DOI: 10.1007/s12539-015-0109-8.
6. Verma Sh., Singh A., Mishra A. Taxifolin acts as type I inhibitor for VEGFR-2 kinase: Stability evaluation by molecular dynamic simulation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2012; 2 (1): 41–46.
7. Yang P., Xu F., Li H.F., Wang Y., Li F.C., Schang M.Y., Liu G.X., Wang X., Cail S.Q. Detection of 191 taxifolin metabolites and their distribution in rats using HPLC-ESI-IT-TOF-MS(n). *Molecules*. 2016; 21 (9): 1209–1234. DOI: 10.3390/molecules21091209.
8. Острикова О.И. Компьютерное моделирование взаимодействия гликофорина А и 4-метил-2,6-диизоборнилфенола в программах Autodock и Hexserver. *Бюллетень сибирской медицины*. 2014; 13 (5): 62–66. [Ostrikova O.I. Computer simulation of glicophorin A and 4-methyl-2.6-diisobornilfenol interaction by autodock and hexserver programs. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2014; 13 (5): 62–66 (in Russ.)].
9. Хельте Х.-Д., Зипль В., Роньян Д., Фолькерс Г. Молекулярное моделирование: теория и практика. М.: БИНОМ, 2015: 319. [Holtje H.-D., Zippl V., Ronyan D., Volkiers G. Molecular modeling: theory and practice. Moscow: BINOM Publ., 2015: 319 (in Russ.)].
10. Orlando B.J., Malkowski M.G. Crystal structure of rofecoxib bound to human cyclooxygenase-2. *Acta Crystallographica F. Struct Biol Commun*. 2016; 72 (10): 772–776. DOI: 10.1107/S2053230X16014230.

#### Сведения об авторах

Селиванова Ирина Анатольевна, д-р фарм. наук, профессор, кафедра химии, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), г. Москва.

Терехов Роман Петрович, студент, Институт фармации, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), г. Москва, Россия; стажер-исследователь, лаборатория разработки лекарственных препаратов и аналитической химии, Институт клеточной терапии и иммунологии им. Фраунгофера, г. Лейпциг, Германия.

✉ Терехов Роман Петрович, e-mail: r.p.terekhov@yandex.ru.

Поступила в редакцию 27.02.2019  
Подписана в печать 11.06.2019

#### Authors information

Selivanova Irina A., DPhSc, Professor, Department of Chemistry, Institute of Pharmacy, Sechenov University, Moscow, Russian Federation.

Terekhov Roman P., Student, Institute of Pharmacy, Sechenov University, Moscow, Russian Federation; Fraunhofer Institute for Cell Therapy and Immunology, Leipzig, Germany.

✉ Terekhov Roman P., e-mail: r.p.terekhov@yandex.ru.

Received 27.02.2019  
Accepted 11.06.2019