

УДК 616.357:577.175.53:577.2 https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-136-144

Исследование молекулярных взаимодействий синтетических глюкокортикоидов с TRPM8 методом молекулярного докинга

Тимкин П.Д.¹, Котельников Д.Д.², Тимофеев Э.А.¹, Наумов Д.Е.³, Бородин Е.А.¹

¹ Амурская государственная медицинская академия (ГМА) Россия, 675001, Амурская обл., г. Благовещенск, ул. Горького, 101

² Дальневосточный государственный аграрный университет (ГАУ) Россия, 675000, Амурская обл., г. Благовещенск, ул. Политехническая, 86

³ Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания (ДНЦ ФПД) Россия, 675011, Амурская обл., г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ

Цель: осуществление in silico скрининга взаимодействий синтетических глюкокортикоидов с TRPM8.

Материалы и методы. Информация о структуре лигандов была получена из базы данных химических соединений PubChem в sdf-формате. Модель белка TRPM8 загружена из базы данных AlphaFold Protein Structure Database (AlpahaFold ID: AF-Q7Z2QW). Предсказание молекулярных полостей и координат их центров осуществлялось на веб-сервере PrankWeb. Моделирование молекулярного взаимодействия проводили с использованием двух программ: AutoDock (генерация 100 эпох) и МОЕ (генерация 300 поз).

Результаты. В ходе проведения исследования выяснилось, что лиганды образуют стабильные комплексы с TRPM8, но при этом все, кроме беклометазона дипропионата, не взаимодействуют с аминокислотным остатком Tyr745 (ключевой сайт связывания для активации канала). Таким образом, можно полагать, что глюкокортикоиды, вероятнее всего, являются ингибиторами данного ионного канала. Из всех глюкокортикоидов особое внимание было уделено преднизолону, флунизолиду и будесониду, так как результаты молекулярного докинга этих молекул с использованием AutoDock и MOE демонстрируют сопоставимые данные.

Заключение. Полученные результаты позволяют взглянуть на терапевтический потенциал данных препаратов в аспекте их использования при лечении холод-индуцированной гиперреактивности дыхательных путей, а также расширяют потенциал их персонализированного применения в терапии бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких.

Ключевые слова: TRPM8, молекулярный докинг, глюкокортикоиды, in silico

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: Тимкин П.Д., Котельников Д.Д., Тимофеев Э.А., Наумов Д.Е., Бородин Е.А. Исследование молекулярных взаимодействий синтетических глюкокортикоидов с trpm8 методом молекулярного докинга. Бюллетень сибирской медицины. 2024;23(4):136–144. https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-136-144.

[🖂] Тимкин Павел Дмитриевич, timkin.pasha@mail.ru

Studying molecular interactions of synthetic glucocorticoids with TRPM8 by molecular docking

Timkin P.D.¹, Kotelnikov D.D.², Timofeev E.A.¹, Naumov D.E^{.3}, Borodin E.A^{.1}

¹ Amur State Medical Academy 101, Gorkogo Str., Blagoveshchensk, 675001, Russian Federation

² Far Eastern State Agrarian University 86, Politekhnicheskaya Str., Blagoveshchensk, 675005, Russian Federation

³ Far Eastern Scientific Center for Physiology and Pathology of Respiration 22, Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675011, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To carry out in silico screening of interactions of synthetic glucocorticoids with TRPM8.

Materials and methods. Information on the structure of the ligands was obtained from the PubChem chemical database in sdf format. The TRPM8 protein model was downloaded from the AlphaFold Protein Structure Database (AlpahaFold ID: AF-Q7Z2QW). Prediction of molecular cavities and coordinates of their centers was carried out on the PrankWeb web server. Modeling of molecular interactions was carried out using AutoDock (generation of 100 epochs) and MOE (generation of 300 poses) software.

Results. The study revealed that the ligands formed stable complexes with TRPM8, but all of them, except for beclomethasone dipropionate, did not interact with the Tyr745 amino acid residue (the key binding site for channel activation). Thus, it can be assumed that glucocorticoids are most likely inhibitors of this ion channel. Of all glucocorticoids, special attention was paid to prednisolone, flunisolide, and budesonide, since the results of molecular docking of these molecules using AutoDock and MOE showed comparable data.

Conclusion. The results obtained provide an insight into the therapeutic potential of these drugs in terms of their use in the treatment of cold-induced airway hyperresponsiveness and also expand the potential for their personalized use in the treatment of bronchial asthma and COPD.

Keywords: TRPM8, molecular docking, glucocorticoids, in silico

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

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

For citation: Timkin P.D., Kotelnikov D.D., Timofeev E.A., Naumov D.E., Borodin E.A Studying molecular interactions of synthetic glucocorticoids with TRPM8 by molecular docking. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):136–144. https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-136-144.

введение

TRPM8 представляет собой ионный канал, обеспечивающий ток ионов Ca^{2+} и Na⁺ в клетку. Данный канал является гомотетрамером, каждая субъединица которого содержит шесть трансмембранных доменов (S1–S6) [1].

Известно, что данный канал играет важную роль в ощущении холода. Активация канала происходит при определенных температурах (10–28 °C) или под воздействием химических агентов (например, ментол, ицилин) [2–4]. Ввиду своего функционального назначения TRPM8 экспрессируются в субпопуляции первичных афферентных нейронов, которые иннервируют высокочувствительные к холоду ткани, включая кожу, эпителий полости рта, зубы, слизистую оболочку носа, язык и роговицу. Также имеются данные о наличии данного канала в эпителии легочной ткани и на лейкоцитах, в том числе не контактирующих с внешней средой, что подразумевает наличие эндогенных модуляторов активности TRPM8. Активность ионного канала сочетается с транскрипционной регуляцией важных иммуномодулирующих агентов интерлейкинов IL-6 и IL-8, которые часто экспрессируются при воспалительном процессе в респираторном тракте [5].

Классическими препаратами для купирования бронхиальной астмы являются синтетические глюкокортикоиды (ГКС), которые обладают противовоспалительным действием. Основной механизм действия ГКС опосредуется через связывание с цитозольным глюкокортикоидным рецептором. После этого вновь образованный комплекс, подвергшийся димеризации, транслоцируется в ядро клетки, что приводит к регуляции экспрессии генов. Этот процесс обычно называют транскрипционной активацией, или трансактивацией [6, 7].

Обычно ГКС гормоны не связываются с ионными каналами семейства TRP, по крайней мере, отсутствуют экспериментальные данные, демонстрирующие это. Однако имеются доказательства модуляции рецепторов TRP некоторыми стероидными гормонами, такими как тестостерон, эстрадиол и андрогены [8]. В проведенных ранее нами исследованиях по поиску потенциальных лигандов к TRPM8 методами *in silico* с использованием нейронных сетей было обнаружено, что синтетический ГКС дексаметазон является кандидатом для взаимодействия с рецептором. Данные жесткого молекулярного докинга в области, близкой к аминокислотному остатку Туг745, продемонстрировали гипотетическую возможность образования комплекса [9]. Остаток Туг745 является наиболее важным в реализации функции TRPM8, так как в нативном состоянии именно с ним ментол образует водородную связь, приводящую к активации канала.

Все вышеперечисленные факты дают основания предполагать наличие альтернативного молекулярного пути реализации эффектов ГКС гормонов, опосредованного через взаимодействие с TRPM8.

В качестве модельных ГКС в данной работе были взяты: будесонид, преднизолон, флунизолид, флутиказона пропионат, гидрокортизон, дексаметазон, беклометазона дипропионат, триамцинолона ацетонид как наиболее популярные синтетические ГКС, назначаемые для лечения хронической обструктивной болезни легких, бронхиальной астмы и аллергического ринита в клинической практике [10–16].

Учитывая перспективность подходов молекулярного докинга в изучении лекарственных препаратов, было принято решение сосредоточиться на подробном исследование особенностей связывания глюкокортикостероидов с TRPM8 [17].

Целью данного исследования было проведение *in* silico моделирования методом молекулярного докин-

га взаимодействий представленных синтетических ГКС гормонов с ионным каналом TRPM8 и предположить возможность образования стабильных комплексов для определения потенциальных лигандов на роль агонистов или антагонистов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Информация о структуре лигандов в sdf-формате была получена из базы данных химических соединений PubChem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/, дата доступа: 01.10.2023).

Используемая модель белка TRPM8 была загружена из базы данных AlphaFold Protein Structure Database (https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/Q7Z2W7, дата доступа: 01.10.2023). Поскольку полноразмерная структура рецептора представляет собой гомотетрамер суммарным размером 4,5 тыс. аминокислотных остатков, с целью последующей структурной оптимизации белка и быстрого проведения молекулярного докинга использовалась только одна субъединица (PDB: AF-Q7Z2QW) в pdb-формате.

Моделирование межмолекулярных взаимодействий проводилось с использованием двух различных программ: AutoDock 4.2, в принципе работы которого лежит поиск локального минимума энергии методом генетического алгоритма, и MOE 2022.02 (Molecular Operating Environment) [18], представляющая собой комплексное программное обеспечение, состоящее из различных модулей и позволяющее проводить полноценное исследование в области компьютерного дизайна лекарств любой сложности без использования сторонних сервисов.

Для предсказания потенциальных молекулярных полостей и координат их центров использовался веб-сервер PrankWeb (https://prankweb.cz/, дата доступа: 01.10.2023) [19–21]. Данные координаты использовались для корректной ориентации Grid Box (трехмерная решетка, в пределах которой происходит поиск и анализ взаимодействий между лигандами и белковыми целями). Непосредственно метод моделирования межмолекулярных взаимодействий с последующим расчетом сродства ГКС к TRPM8 осуществляется путем жесткого докинга, т. е. без изменения конформаций боковых цепей аминокислотных остатков в молекулярной полости и самого лиганда. Докинг проходил по стандартному алгоритму с генерацией в 100 эпох.

Первым этапом перед молекулярным докингом стала: загрузка белка-мишени в рабочее поле MGLtools, удаление молекул воды и коррекция степени протонирования (добавление полярных атомов водородов) к белковой цепи в местах потенциальных связей с лигандами. Далее добавляется лиганд в pdbqt-формате. Второй этап заключается в наложении пространственной сетки (Grid Box) по координатам и размерам, полученным в PrankWeb. В работе использовался Grid Box размером: $40 \times 40 \times 40$ с интервалом 0,375 Å (размер и интервал – по умолчанию). Третий этап заключался в поиске возможных конформаций белок-лигандного комплекса, т. е. в проведении самого докинга. После осуществления докинга создается dlg-файл с подробной информацией об образованных комплексах (координаты расположения комплекса, энергия связывания, среднеквадратичное отклонение положений атомов RMSD (root mean square deviation) и др.). Заключительным этапом является анализ и интерпретация полученных данных [22].

Программный конвейер исследования в МОЕ заключался в следующем. Первым этапом осуществлялся импорт скачанного белка в pdb-формате, лигандов – в sdf-формате; для удобства каждое исследование проводилось отдельно. При помощи параметров, заданных по умолчанию в модуле QuickPrep, осуществлялась первичная оптимизация белка, заключающаяся в его протонировании и коррекции структурных ошибок (например, разрывов). Далее происходило наложение частичных зарядов в модуле Partial charges. Финальным этапом структурной оптимизации было осуществление минимизации энергии белка в модуле Energy minimization, протокол General. Параметры протокола сохранены по умолчанию: forcefields - наследуются из настроек силовых полей (описано далее), cell - no periodicity, constraints – выбрана опция rigid water molecules, gradient – 0.1 RMS ккал/моль/Å². Для параметризации атомов, ковалентных и нековалентных взаимодействий использовалось силовое поле Amber14:ЕНТ¹, поведение растворителя (вода) было смоделировано обобщенным методом Борна (Generalized Born).

Перед проведением непосредственно молекулярного докинга был осуществлен поиск сайта связывания с использованием модуля Site Finder со включенной опцией Solvent. В эксперименте был использован 3-й найденный сайт связывания, содержащий Туг745 – критически важную аминокислоту, необходимую для активации канала. Были выбраны опции Select Contact Atoms (выделяет атомы на расстоянии 4,5Å) и Select Residues in SE (выделяет только остатки, входящие в сайт связывания) и выполнена опция Dummies для наложения «фиктивных атомов», присваивающая элемент LP гидрофобным атомам и LPA – гидрофильным, т. е. имеющим свободную пару электронов, а также оптимизирующая температурный фактор атома.

Молекулярный докинг осуществлялся по протоколу General. В качестве рецептора была выбрана опция Receptor and Solvent Atoms, сайт связывания – Dummies, лиганд – загруженная молекула лиганда (Ligand Atoms). Параметры генерации были следующие: Placement – Triangle Matcher (Method), Affinity dG (Score), 300 Poses; Refinement – Induced fit (Method), GBVI/WSA dG (Score), 1 Pose.

Подробное описание используемых алгоритмов генерации конформаций и расчета энергии до и после структурной оптимизации в данной статье не приводится. В качестве результата докинга извлекалась наиболее стабильная конформация, обладающая наименьшей энергией связывания.

Для проведения сравнительного анализа между полученными конформациями лигандов в AutoDock 4.2 и MOE проводился расчет RMSD в веб-сервисе LigRMSD (https://ligrmsd.appsbio.utalca.cl/, Дата доступа: 01.10.2023) [23]. RMSD представляет собой меру среднего расстояния между атомами (основной цепи, без учета атомов Н), наложенных друг на друга молекул. Данный параметр позволяет объективно оценить взаиморасположение лигандов, предсказанных разными методами. Исходя из литературных данных, пороговым значением RMSD выбрано 3Å [24].

Некоторые полученные комплексы были визуализированы с использованием программного обеспечения для визуализации PyMol [25] и встроенного модуля Ligand Interactions для построения 2D-карт взаимодействий лигандов с аминокислотными остатками.

Основной задачей использования в работе алгоритмов AutoDock и МОЕ являлась оценка воспроизводимости результатов молекулярного докинга, проводимого двумя разными методами.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для работы протокола AutoDock и построение Gridbox, были получены координаты восьми предполагаемых молекулярных полостей со значениями Probability score от 0,0003 (соответствует самому низкому качеству прогнозу) до 0,497 (для самого высокого качества прогноза). Была выбрана молекулярная полость с наивысшим значением Probability score ввиду наличия в составе остатка Туг745. Также в данном кармане находится и другой важный оста-

¹ Данное силовое поле представляет собой объединение параметров силового поля Amber ff14SB для белков и нуклеиновых кислот и параметров расширенной теории Хюккеля (Extended Hueckel Theory) для простых органических соединений, реализованное в программном пакете MOE 2022.2.

ток Arg1008. Согласно прогнозу PrankWeb, молекулярная полость образована аминокислотными остатками под номерами: 738, 741, 742, 745, 777, 778, 781, 782, 785, 802, 839, 842, 845, 849, 1004, 1005, 1008, 1013, 1016. Представленные результаты в целом соответствуют литературным данным, за исключением отсутствия в аннотации кармана остатка Ala1009, которая, как и Arg1008, выполняет роль «стабилизаторов» для нативного лиганда – ментола [26].

Из-за отсутствия четкого разграничения между сайтами связывания для агонистов и антагонистов, сложно выбрать для исследования одну молекулярную полость и делать окончательные выводы, основываясь только на *in silico* оценке взаимодействий [27]. Поэтому данное исследование носит скрининговый характер, т. е. нацелено на отбор потенциально подходящих лигандов для последующих экспериментов.

Были получены результаты молекулярного моделирования для каждого из ГКС (табл. 1). Для преднизолона, флунизолида, будесонида, беклометазона дипропионата и гидрокортизона разница минимальной энергии связывания, полученной разными программами, составила менее 1 ккал/моль, что без учета химических связей говорит о приблизительном сходстве результатов, полученных программами AutoDock и МОЕ, которую можно объяснить сходной оценочной функцией.

конформеров, ккал/моль								
Кортикостероид	AutoDock	MOE	RMSD (Å)					
Преднизолон	-7,25	-7,76	0,83					
Флунизолид	-7,76	-8,26	1,62					
Будесонид	-8,65	-8,58	2,54					
Дексаметазон	-9,35	-7,99	4,68					
Флутиказона пропионат	-5,31	-7,93	6,64					
Гидрокортизон	-7,65	-7,94	6,98					
Триамцинолона ацетонид	-11,09	-7,92	42,77					
Беклометазона дипропионат	-8,88	-8,76	43,04					

Энергия связывания комплексов и RMSD полученных

T		~					1
	а.	n	п	14	тт	<u>a</u>	
- 1	а	v	71	11	ц	а	- 1

Примечание. Ранжированы по RMSD, меньшее значение – лучше.

У преднизолона, флунизолида и будесонида RMSD находится в пределах 3Å, что свидетельствует об относительно близком взаиморасположении молекул, несмотря на использование разных подходов к генерации комплексов. Похожесть конформаций свидетельствует о воспроизводимости результатов для данных ГКС при анализе двумя разными программами. Тем не менее информации о положении молекул для достоверного анализа недостаточно, поскольку как лиганды, так и аминокислотные остатки в разных программах интерпретируются с различными силовыми полями и различной pH, что демонстрируется, в свою очередь, различными структурными взаимодействиями лигандов с аминокислотными остатками (рис. 1).

К примеру, МОЕ показало взаимодействие преднизолона с Arg842, тогда как в AutoDock данный ГКС взаимодействует уже с пятью остатками: Leu778, Asp781, Glu782, Ile846, Arg1008. Взаимодействия флунизолида и будесонида происходят практически с теми же аминокислотными остатками, что и для преднизолона, но в различных комбинациях.

По данным результатам можно сделать несколько выводов. Структуры молекул большинства отобранных ГКС очень похожи и отличаются наличием или отсутствием гидроксильных групп в определенных положениях. Следовательно, во-первых, аминокислотные остатки для ранее упомянутых лигандов в сайте связывания похожи и, во-вторых, отличия обусловлены наличием или отсутствием гидроксильных групп в определенном положении, а также разной степенью протонирования. Данные заключения более свойственны результатам, полученным в МОЕ, поскольку в данной программе возможна конформационная изменчивость как сайта связывания, так и самого лиганда.

Отдельного анализа заслуживает конформация беклометазона дипропионата с TRPM8, смоделированная в МОЕ (рис. 2), обладающая двумя ключевыми особенностями, несмотря на высокое RMSD относительно комплекса с AutoDock: взаимодействие с ключевой аминокислотой Tyr745 [27] посредством Н-п (водородной) связи и наименьшую энергию связывания, рассчитанную данным программным обеспечением, демонстрируя самое стабильное сцепление данного ГКС с TRPM8. Интерес к комплексу беклометазону дипропионату с TRPM8 в МОЕ вызван тем, что это единственная конформация, где ГКС образует связь с Туг745. Поскольку молекулярный докинг в AutoDock проходит жестко, т. е. без конформационных изменений лиганда и сайта связывания, а в МОЕ данная «подвижность» при расчетах учитывается (был использован протокол Induced Fit). Поэтому стоит считать ланные результаты более правдоподобными и потенциально подходящими для будущего проведения молекулярно-динамического моделирования с оценкой прочности связывания комплекса во времени, а также с использованием поляризованных силовых полей.



Рис. 1. Взаиморасположение лигандов в сайте связывания TRPM8 и 2D-карта структурных взаимодействий лигандов с остатками сайта: *a* – будесонид, *b* – преднизолон, *c* – флунизолид; слева – AutoDock, справа – MOE; синим показаны положения молекул, полученных в AutoDock 4.2, фиолетовым – в МОЕ



Рис. 2. 3D-визуализация комплекса беклометазона дипропионата с TRPM8, полученная в MOE, с 2D-графиком взаимодействий: стрелками слева и желтым пунктиром продублированы связи, показанные на 2D-графике, единицы измерения длин связей приведены в ангстремах (Å)

Бюллетень сибирской медицины. 2024; 23 (4): 136-144

Данная необходимость обусловлена тем, что большинство алгоритмов молекулярного докинга учитывают только частичные заряды всей молекулы лиганда, игнорируя ее отдельные функциональные группы, в то время как большая часть ГКС имеет полярные сольватные группы (пропионовую, ацетонидную), которые могут играть ключевую роль в положении молекулы.

RMSD положений лигандов (флутиказона пропионата, гидрокортизона, триамцинолона ацетонида, дексаметазона) при сравнительном анализе результатов AutoDock 4.2 и MOE значительно выше. Это делает затруднительным окончательную интерпретацию получившихся взаимодействий для данных ГКС, поэтому для этих лигандов корректным было бы проведение дополнительного анализа методами *ab initio*.

При визуальном анализе всех конформаций, полученных в AutoDock, можно сделать вывод, что жесткая ориентация молекул ГКС шла в основном по стероидному кольцу с минимальными отклонениями друг относительно друга. Что касается конформаций, смоделированных в МОЕ, различия в них более значительны, что обусловлено учетом минорных отличий (функциональных групп, конформационной изомеризации лиганда) в структурах лигандов.

Абсолютные значения энергий, рассчитываемые для различных конформаций, с одной стороны, бывают далеки от реальных значений, однако, с другой – позволяют рассматривать их с относительной точки зрения, т. е. сравнивать энергии связывания различных молекул, ранжируя их степень сродства друг относительно друга. Таким образом, ряд лигандов по степени сродства к TRPM8 (от наибольшего к наименьшему, т. е. от наименьшей энергии к наибольшей) по результатам скоринга в AutoDock имеет следующий вид: триамцинолона ацетонид, дексаметазон, беклометазона дипропионат, будесонид, флунизолид, гидрокортизон, преднизолон и флутиказона пропионат.

По результатам скоринга в МОЕ – беклометазона дипропионат, будесонид, флунизолид, дексаметазон, гидрокортизон, флутиказона пропионат, триамцинолона ацетонид и преднизолон. По данному ряду видно, что беклометазон, будесонид, флунизолид, гидрокортизон и флутиказона пропионат/преднизолон идут в одном порядке, что представляет собой весьма хорошую корреляцию результатов между собой (шесть из восьми). По этому ряду в будущем планируется произвести исследование влияний синтетических ГКС на TRPM8 *in vitro*.

обсуждение

Проведенное исследование демонстрирует общие закономерности в молекулярном взаимодействие различных синтетических ГКС с мишенью, полученных двумя различными методами. Для преднизолона, флунизолида и будесонида значение RMSD было менее 2,5Å (±0,1Å). Это свидетельствует о конформационных сходствах о воспроизводимости результатов как в AutoDock, так и в МОЕ. Стоит отметить, что в молекулярной полости сайтами связывания служили различные аминокислотные остатки, за исключением Tyr745, что может характеризовать антагонистический потенциал преднизолона, флунизолида и будесонида. Для ГКС, чьи конформации существенно различались, также игнорировалось образование водородных связей с аминокислотным остатком Tyr745, что согласуется с остальными результатами.

Исключением из перечня ГКС стал беклометазона дипропионат, который все же образовал водородную связь с Туг745. Исследование позволило отобрать наиболее перспективные ГКС, подходящие для дальнейшего анализа с использованием методов молекулярной динамики, что позволит уточнить стабильность комплексов ГКС с TRPM8. Заключительное подтверждение возможности ГКС не только образовывать комплексы с рецептором TRPM8, но и ингибировать его должно быть получено в ходе экспериментов *in vitro* препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пока для исследовательской группы также остаются большим вопросом детальные механизмы противовоспалительного эффекта ГКС, опосредованных через ионный канал TRPM8. Тем не менее в случае экспериментального подтверждения возможность фармакологической модуляции TRPM8 ГКС позволит с другой стороны взглянуть на терапевтический потенциал данных гормонов, в том числе при лечении хронических обструктивных заболеваний легких, респираторного тракта и патологических холод-индуцированных реакций дыхательных путей, а также оптимизировать подходы к персонализированному применению глюкокортикоидных

список источников

- Bidaux G., Sgobba M., Lemonnier L., Borowiec A.S., Noyer L., Jovanovic S. et al. Functional and modeling studies of the transmembrane region of the TRPM8 channel. *Biophys J.* 2015;109(9):1840–1851. DOI: 10.1016/j.bpj.2015.09.027.
- Andersen H.H., Olsen R.V., Møller H.G., Eskelund P.W., Gazerani P., Arendt-Nielsen L. A review of topical high-concentration l-menthol as a translational model of cold allodyn-

ia and hyperalgesia. *Eur. J. Pain.* 2013;18(3):315–325. DOI: 10.1002/j.1532-2149.2013.00380.x.

- Diver M.M., Cheng Y., Julius D. Structural insights into TRPM8 inhibition and desensitization. *Science*. 2019;365(6460):1434– 1440. DOI: 10.1126/science.aax6672.
- Key F.M., Abdul-Aziz M.A., Mundry R., Peter B.M., Sekar A., D'Amato M. et al. Human local adaptation of the TRPM8 cold receptor along a latitudinal cline. *PLoS Genet*. 2018;14(5);e1007298. DOI: 10.1371/journal.pgen.1007298.
- Sabnis A.S., Shadid M., Yost G.S., Reill C.A. Human lung epithelial cells express a functional cold-sensing TRPM8 variant. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2008;39(4):466–474. DOI: 10.1165/rcmb.2007-0440oc.
- Sevilla L.M., Jiménez-Panizo A., Alegre-Martí A., Estébanez-Perpiñá E., Caelles C., Pérez P. Glucocorticoid resistance: Interference between the glucocorticoid receptor and the MAPK signalling pathways. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(18):10049. DOI: 10.3390/ijms221810049.
- Frank F., Ortlund E.A., Liu X. Structural insights into glucocorticoid receptor function. *Biochem. Soc. Trans.* 2021;49(5):2333–2343. DOI: 10.1042/bst20210419.
- Méndez-Reséndiz K.A., Enciso-Pablo Ó., González-Ramírez R., Juárez-Contreras R., Rosenbaum T., Morales-Lázaro S.L. Steroids and TRP channels: A close relationship. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(11):3819. DOI: 10.3390/ijms21113819.
- Borodin E., Leusova N., Chupalov A., Timkin P., Timofeev E., Kolosov V. et al. The strategy for searching of potential ligands for TRPM8 based on use of deep neural networks and intermolecular docking. *Eur. Respir. J.* 2021;58:PA2383. DOI: 10.1183/13993003.congress-2021.PA2383.
- Latorre M., Novelli F., Vagaggini B., Braido F., Papi A., Sanduzzi A. et al. Differences in the efficacy and safety among inhaled corticosteroids (ics)/long-acting beta2-agonists (LABA) combinations in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease (COPD): Role of ICS. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2015;30:44–50. DOI: 10.1016/j.pupt.2014.10.006.
- Ramakrishnan S. Prednisolone for COPD exacerbations: Time for a rethink. *ERJ Open Res.* 2023;9(5):00464–2023. DOI: 10.1183/23120541.00464-2023.
- Melani A.S. Flunisolide for the treatment of asthma. *Expert Rev. Clin Pharmacol.* 2014;7(3):251–258. DOI: 10.1586/17512433.2014.908117.
- Doymaz S., Ahmed Y.E., Francois D., Pinto R., Gist R., Steinberg M. et al. Methylprednisolone, dexamethasone or hydrocortisone for acute severe pediatric asthma: does it matter? *J. Asthma.* 2021;59(3):590–596. DOI: 10.1080/ 02770903.2020.1870130.
- Sellers A.R., Roddy M.R., Darville K.K., Sanchez-Teppa B., McKinley S.D., Sochet A.A. Dexamethasone for pediatric critical asthma: A multicenter descriptive study. *J. Intensive Care Med.* 2022;37(11):1520–1527. DOI: 10.1177/08850666221082540.
- 15. Kwda A., Gldc P., Baui B., Kasr K., Us H., Wijeratne S. et al. Effect of long term inhaled corticosteroid therapy on adrenal suppression, growth and bone health in children with asthma.

BMC Pediatr. 2019;19(1):411. DOI: 10.1186/s12887-019-1760-8.

- Allen D.B. Inhaled corticosteroids and endocrine effects in childhood. Endocrinology and Metabolism *Endocrinol. Meta.b Clin. North. Am.* 2020;49(4):651–665. DOI: 10.1016/j. ecl.2020.07.003.
- Тальдаев А.Х., Никитин И.Д., Терехов Р.П., Селиванова И.А. Молекулярный докинг: методологические подходы к оценке рисков. *Разработка и регистрация лекарственных средстве*. 2023;12(2):206–210. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-2-206-210.
- Jakubec D., Skoda P., Krivak R., Novotny M., Hoksza D. PrankWeb 3: accelerated ligand-binding site predictions for experimental and modelled protein structures. *Nucleic Acids Res.* 2022;50(W1). DOI: 10.1093/nar/gkac389.
- Jendele L., Krivak R., Skoda P., Novotny M., Hoksza D. PrankWeb: A web server for ligand binding site prediction and visualization. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(W1). DOI: 10.1093/nar/gkz424.
- Krivák R., Hoksza D. P2Rank: Machine learning based tool for rapid and accurate prediction of ligand binding sites from protein structure. *J. Cheminfor.* 2018;10:39. DOI: 10.1186/ s13321-018-0285-8.
- Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S. et al. AUTODOCK4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J. Comput. Chem.* 2009;30(16):2785–2791. DOI: 10.1002/jcc.21256.
- 22. Velázquez-Libera J.L., Durán-Verdugo F., Valdés-Jiménez A., Núñez-Vivanco G., Caballero J. LigRMSD: a web server for automatic structure matching and RMSD calculations among identical and similar compounds in protein-ligand docking. *Bioinformatics*. 2020;36(9):2912–2914. DOI: 10.1093/bioinformatics/btaa018.
- Castro-Alvarez A., Costa A., Vilarrasa J. The performance of several docking programs at reproducing protein–macrolide-like crystal structures. *Molecules*. 2017;22(1):136. DOI: 10.3390/molecules22010136.
- 24. Schrödinger L., DeLano W. PyMOL. 2020. URL: http://www. pymol.org/pymol
- Malkia A., Pertusa M., Fernández-Ballester G., Ferrer-Montiel A., Viana F. Differential role of the menthol-binding residue Y745 in the antagonism of thermally gated TRPM8 channels. *Mol. Pain*. 2009;3(5):62. DOI: 10.1186/1744-8069-5-62.
- 26. Bertamino A., Ostacolo C., Medina A., Di Sarno V., Lauro G., Ciaglia T. et al. Exploration of TRPM8 binding sites by β-carboline-based antagonists and their in vitro characterization and *in vivo* analgesic activities. *J. Med. Chem.* 2020;3(17):9672– 9694. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c00816.
- 27. Beccari A.R., Gemei M., Lo Monte M., Menegatti N., Fanton M., Pedretti A. et al. Novel selective, potent naphthyl TRPM8 antagonists identified through a combined ligandand structure-based virtual screening approach. *Sci. Rep.* 2017;7(1):10999. DOI: 10.1038/s41598-017-11194-0.

Информация об авторах

Тимкин Павел Дмитриевич – аспирант, кафедра химии, Амурская ГМА, г. Благовещенск, timkin.pasha@mail.ru, http://orcid. org/0000-0001-6655-1049

Котельников Данил Дмитриевич – студент 2-го курса, Дальневосточный ГАУ, г. Благовещенск, danil.kotelnikov.02@mail. ru, http://orcid.org/0009-0003-5159-5796

Тимофеев Эдуард Андреевич – студент 5-го курса, Амурская ГМА, г. Благовещенск, smileket@inbox.ru, http://orcid.org/0000-0002-3888-2091

Наумов Денис Евгеньевич – канд. мед. наук, зав. лабораторией молекулярных и трансляционных исследований, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, denn1985@bk.ru, http://orcid.org/0000-0003-3921-8755

Бородин Евгений Александрович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой химии Амурская ГМА, г. Благовещенск, borodin54@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-0983-4541

(🖂) Тимкин Павел Дмитриевич, timkin.pasha@mail.ru

Поступила в редакцию 16.01.2024; одобрена после рецензирования 18.04.2024; принята к публикации 14.05.2024