

Поиск потенциальных сайтов связывания полифенольных соединений в структуре рибонуклеотидредуктазы вируса герпеса человека 1 типа

Дубинкина Е.С.^{1, 3*}, Галицкая А.А.¹, Анашкина А.А.^{2, 3}

¹ Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

² Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

³ Цифровая кафедра Института цифровой медицины Сеченовского университета, Москва, Россия

* kometa.ed@gmail.com

Ключевые слова: герпес-вирусная инфекция; ВПГ1; полифенольные соединения; рибонуклеотидредуктаза; молекулярный докинг; сайты связывания

Мотивация и цель: Герпетическая инфекция, вызываемая ДНК-содержащими вирусами семейства *Herpesviridae*, несмотря на бесчисленное количество попыток установления ее молекулярных патогенетических механизмов, остается объектом активных научных исследований и по сей день. Попадая однажды в организм, инфекция сохраняется в нем навсегда и может латентно персистировать на протяжении всей жизни в нейронах инфицированных людей [1]. Наиболее распространенным из девяти видов [2] считается вирус простого герпеса 1 типа (ВПГ1), который находится в неактивном состоянии, а при активации становится причиной орального и генитального герпеса, конъюнктивита, вторичного бесплодия, неонатальной гибели ребенка [3]. Прорывом в лечении этих инфекций стало создание в 1980-х гг. первого противовирусного препарата «Ацикловир», синтетического ациклического аналога гуанозина, который является одним из самых частых концевых и внутренних нуклеозидов ДНК герпес-вирусов, что обусловило очень высокую терапевтическую активность этого препарата. Однако сегодня рост числа резистентных к ацикловиру штаммов ВПГ1 указывает на необходимость разработки новых противовирусных средств для борьбы с герпес-вирусами. 1976-й год стал датой, когда было проведено одно из первых исследований, продемонстрировавших противовирусную активность полифенольных соединений [4]. На сегодняшний день уже существуют доказательства выраженного действия полифенолов против различных вирусов: гриппа, Зика, гепатита В и С, лихорадки западного Нила, кори [5], а также против вируса герпеса [1, 6]. Поэтому направление поиска новых соединений для терапии и профилактики ВПГ1, которые бы эффективно влияли на факторы патогенеза ВПГ1, обладая при этом профилем безопасности, и, более того, объяснение механизмов действия этих соединений являются актуальной задачей данной области науки, требующей усилий химиков, биологов, фармацевтов и медиков. Целью настоящей работы был поиск потенциальных сайтов связывания полифенольных соединений в структуре рибонуклеотидредуктазы ВПГ1.

Методы и алгоритмы: Выбор рибонуклеотидредуктазы в качестве мишени был обусловлен тем, что данный белок ответственен за реактивацию ВПГ1 из латентного состояния в покоящихся нейронах посредством синтеза дезоксипиримидинов

из рибопиримидинов [2]. Полноатомная 3D модель вирусной рибонуклеотид-редуктазы была получена путем построения гомологичных моделей на основе структуры человеческого белка р53R2 (3HF1) и последовательности вирусной рибонуклеотидредуктазы (P06474) в программе МОЕ. В качестве исследуемых полифенольных соединений были выбраны следующие вещества: цис-ресвератрол, транс-ресвератрол, кверцетин, пицеатанол, куркумин, подофилотоксин, ладанеин, хонокиол, пеларгонидин, розинидин, трицетинидин [5]. Для выбранных полифенольных соединений к полученной модели вирусной рибонуклеотид-редуктазы была проведена процедура молекулярного докинга.

Результаты: Полифенольные соединения показали наличие 14 возможных сайтов связывания в структуре рибонуклеотидредуктазы ВПГ1 (рис. 1).

Наилучшую афинность связывания (–6.5 ккал/моль) продемонстрировал куркумин, потенциально взаимодействующий с аминокислотными остатками Glu187, Gly188, Phe190, Phe191, Ala192, Phe195, Ala196, Ser218, Glu221, Ala222, Thr225, Thr226, Tyr284, Ser288, Arg291, Leu292, Leu295, Phe311 (табл. 1 и 2).

Таблица 1. Потенциальные сайты связывания в структуре рибонуклеотидредуктазы ВПГ1

№	Size	PLB	Hyd	Side	Residue
2	16	–0.36	8	10	Glu77, Gly78, Ser81, Phe82, Phe85, Gln265, Ala266, Pro267, Leu273
4	29	0.09	22	34	Glu77, Ser81, Phe82, Arg84, Phe85, Arg146, Tyr149, Val150, Thr153, Gln265, Ala266, Pro267, Leu273
5	20	–0.94	6	8	Leu8, Pro10, Gly17, His18, Ser19, Leu236, Gly237, Gly238
8	62	2.20	17	37	1 цепь: Pro34, Glu35, Arg36, Tyr37, Gly102, Ser105, Gly106, Leu107, Phe108, Glu109, Lys111, Leu114 2 цепь: Ser91, Ala92, Ala93, Asp95, Leu96, Thr98, Glu99, Gly102, Glu121, Asn132
9	25	–0.5	6	14	1 цепь: Val97, Glu99, Gly102, Gly103, Glu121 2 цепь: Gly102, Ser105, Gly106, Leu114
10	24	–0.19	7	13	Pro306, Pro307, Asp308, Ala309, Leu313, Ser314, Leu315, Met316, Ser317, Lys320
11	76	2.85	26	41	Glu187, Gly188, Phe190, Phe191, Ala192, Phe195, Ala196, Ser218, Glu221, Ala222, Thr225, Thr226, Tyr284, Ser288, Arg291, Leu292, Leu295, Phe311
12	11	–0.74	3	11	Ala199, Arg202, Thr203, Asp215, Ser310

Примечание. № – номер сайта связывания; Size – количество α -субъединиц, составляющих сайт; PLB – показатель склонности к связыванию лиганда [7], Hyd – количество гидрофобных контактных атомов в рецепторе, Side – количество контактных атомов боковой цепи в рецепторе, Residue – аминокислотные остатки.

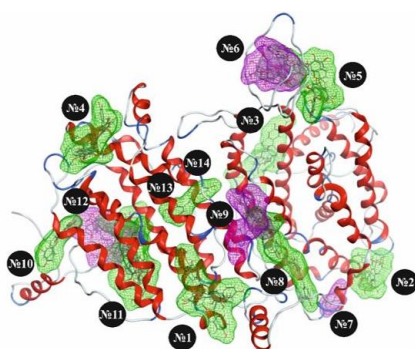


Рис. 1. Потенциальные сайты связывания полифенольных соединений в структуре рибонуклеотидредуктазы ВПП1

Следующий по афинности результат (–5.9 ккал/моль) показал подофилотоксин, потенциально взаимодействующий с аминокислотами Glu77, Gly78, Ser81, Phe82, Phe85, Gln265, Ala266, Pro267, Leu273. Третий по афинности результат показал хонокиол (–5.7 ккал/моль), взаимодействуя в том же сайте, что и куркумин (см. табл. 1 и 2).

Таблица 2. Взаимодействие полифенольных соединений с потенциальными сайтами связывания и значение энергии связи

Название соединения	Номер сайта связывания	Энергия связи, ккал/моль
Цис-ресвератрол	12	–4.4
Транс-ресвератрол	2	–5.1
Кверцетин	4	–5.2
Пицеатанол	9	–5.1
Куркумин	11	–6.6
Подофилотоксин	2	–5.9
Хонокиол	11	–5.8
Ладанеин	11	–5.4
Пеларгонидин	8	–5.3
Розинидин	5	–5.5
Трицетинидин	10	–5.2

Выводы: Предложены потенциальные сайты связывания полифенольных соединений куркумина, подофилотоксина и хонокиола с белком рибонуклеотидредуктазой ВПП1 для последующей экспериментальной проверки.
Финансирование: Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 24-24-00563 на тему «Разработка цифровых образовательных программ в биомедицине».

Search for potential binding sites for polyphenolic compounds in the structure of human herpes virus type 1 ribonucleotide reductase

Dubinkina E.S.^{1, 3*}, Galitskaya A.A.¹, Anashkina A.A.^{2, 3}

¹ *Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov, Russia*

² *Institute of Molecular Biology named after. V.A. Engelhardt, RAS, Moscow, Russia*

³ *Digital Department, Institute of Digital Medicine, Sechenov University, Moscow, Russia*

* *kometa.ed@gmail.com*

Key words: herpes viral infection; HSV1; polyphenolic compounds; ribonucleotide reductase; molecular docking; binding sites

Motivation and Aim: Herpes infection, caused by DNA-containing viruses of the Herpesviridae family, despite countless attempts to establish its molecular pathogenetic mechanisms, remains the object of active scientific research to this day. Once the infection enters the body, it remains there forever and can persist latently throughout life in the neurons of infected people [1]. The most common of the nine types of this virus [2] is considered to be herpes simplex virus type 1 (HSV1), which is in an inactive state, and when activated becomes the cause of oral and genital herpes, conjunctivitis, secondary infertility, neonatal death of a child [3]. A breakthrough in the treatment of these infections was the creation in the 1980s of the first antiviral drug “Acyclovir”, a synthetic acyclic analogue of guanosine, which is one of the most common terminal and internal nucleosides of the DNA of herpes viruses, which led to the very high therapeutic activity of this drug. However, today, the increase in the number of acyclovir-resistant HSV1 strains indicates the need for the development of new antiviral agents to combat herpes viruses. 1976 was the date when one of the first studies was conducted to demonstrate the antiviral activity of polyphenolic compounds [4]. Today, there is already evidence of a pronounced effect of polyphenols against various viruses: influenza, Zika, hepatitis B and C, West Nile fever, measles [5], as well as against the herpes virus [1, 6]. Therefore, the search for new compounds for the treatment and prevention of HSV1, which would effectively influence the factors of HSV1 pathogenesis, while having a safety profile, and, moreover, explaining the mechanisms of action of these compounds is a very urgent task in this area of science and requires the efforts of chemists, biologists, pharmacists and doctors. The purpose of this work was to search for potential binding sites for polyphenolic compounds in the structure of HSV1 ribonucleotide reductase.

Methods and Algorithms: The choice of ribonucleotide reductase as a target was due to the fact that this protein is responsible for the reactivation of HSV1 from a latent state in resting neurons through the synthesis of deoxypyrimidines from ribopyrimidines [2]. An all-atomic 3D model of viral ribonucleotide reductase was obtained by constructing homology models based on the structure of the human p53R2 (3HF1) protein and the sequence of viral ribonucleotide reductase (P06474) in the MOE program. Cis-resveratrol, trans-resveratrol, quercetin, piceatanol, curcumin, podophyllotoxin, honokiol, ladanein, pelargonidin, rosinidin, tricetinidin [5] were selected from all the polyphenolic compounds as study compounds. For selected polyphenolic compounds, a molecular docking procedure to the resulting model of viral ribonucleotide reductase was carried out.

Results: Polyphenolic compounds showed the presence of 14 possible binding sites in the structure of HSV1 ribonucleotide reductase (Fig. 1).

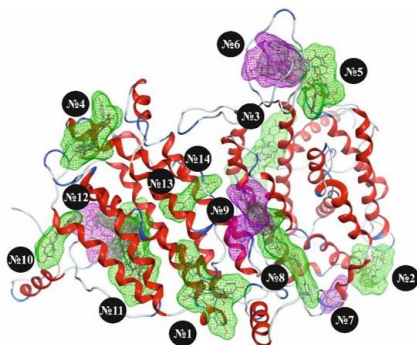


Fig. 1. Potential binding sites for polyphenolic compounds in the structure of HSV1 ribonucleotide reductase

The best binding affinity (–6.5 kcal/mol) was demonstrated by curcumin, which potentially interacts with amino acid residues Glu187, Gly188, Phe190, Phe191, Ala192, Phe195, Ala196, Ser218, Glu221, Ala222, Thr225, Thr226, Tyr284, Ser288, Arg291, Leu292, Leu295, Phe311 (Table 1, Table 2).

Table 1. Potential binding sites in the structure of HSV1 ribonucleotide reductase

No.	Size	PLB	Hyd	Side	Residue
2	16	–0.36	8	10	Glu77, Gly78, Ser81, Phe82, Phe85, Gln265, Ala266, Pro267, Leu273
4	29	0.09	22	34	Glu77, Ser81, Phe82, Arg84, Phe85, Arg146, Tyr149, Val150, Thr153, Gln265, Ala266, Pro267, Leu273
5	20	–0.94	6	8	Leu8, Pro10, Gly17, His18, Ser19, Leu236, Gly237, Gly238
8	62	2.20	17	37	1 chain: Pro34, Glu35, Arg36, Tyr37, Gly102, Ser105, Gly106, Leu107, Phe108, Glu109, Lys111, Leu114 2 chain: Ser91, Ala92, Ala93, Asp95, Leu96, Thr98, Glu99, Gly102, Glu121, Asn132
9	25	–0.5	6	14	1 chain: Val97, Glu99, Gly102, Gly103, Glu121 2 chain: Gly102, Ser105, Gly106, Leu114
10	24	–0.19	7	13	Pro306, Pro307, Asp308, Ala309, Leu313, Ser314, Leu315, Met316, Ser317, Lys320
11	76	2.85	26	41	Glu187, Gly188, Phe190, Phe191, Ala192, Phe195, Ala196, Ser218, Glu221, Ala222, Thr225, Thr226, Tyr284, Ser288, Arg291, Leu292, Leu295, Phe311
12	11	–0.74	3	11	Ala199, Arg202, Thr203, Asp215, Ser310

Note. No. – binding site number; Size – number of α -subunits making up the site; PLB is an indicator of the propensity to bind a ligand [7], Hyd is the number of hydrophobic contact atoms in the receptor, Side is the number of contact atoms of the side chain in the receptor, Residue is amino acid residues.

The next highest affinity result (–5.9 kcal/mol) was shown by podophyllotoxin, potentially interacting with the amino acids Glu77, Gly78, Ser81, Phe82, Phe85, Gln265,

Ala266, Pro267, Leu273. The third highest affinity result was shown by honokiol (–5.7 kcal/mol), interacting at the same site as curcumin (Table 1, Table 2).

Table 2. Interaction of polyphenolic compounds with potential binding sites and binding energy values

Compound's name	Binding site number	Binding energy, kcal/mol
Cis-resverantrol	12	–4.4
Trans-resverantrol	2	–5.1
Quercetin	4	–5.2
Piceataanol	9	–5.1
Curcumin	11	–6.6
Podophyllotoxin	2	–5.9
Honokiol	11	–5.8
Ladanein	11	–5.4
Pelargonidin	8	–5.3
Rosinidin	5	–5.5
Tricetinidin	10	–5.2

Conclusion: Potential binding sites for the polyphenolic compounds curcumin, podophyllotoxin and honokiol with the HSV1 ribonucleotide reductase protein were proposed for subsequent experimental testing.

Funding: The research was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 24-24-00563 on the topic “Development of digital educational programs in biomedicine”.

Список литературы/References

1. Annunziata G., Maisto M., Schisano C., Ciampaglia R., Narciso V., Tenore G.C., Novellino E. Resveratrol as a Novel Anti-Herpes Simplex Virus Nutraceutical Agent: An Overview. *Viruses*. 2018;10(9):473. doi 10.3390/v10090473
2. Куханова М.К., Коровина А.Н., Кочетков С.Н. Вирус простого герпеса человека: жизненный цикл и поиск ингибиторов. *Успехи биологической химии*. 2014;54:457-494
3. Викулов Г.Х. Иммунологические аспекты герпес-вирусных инфекций. *Клиническая дерматология и венерология*. 2015;14(5):104-116
4. Лопатина А.В., Кукушкина А.Д., Мельников М.В., Роговский В.С. Перспективы применения полифенолов при рассеянном склерозе. *Журнал неврологии и психиатрии*. 2022;122(7/2):36-43
5. Яшин А.Я., Веденин А.Н., Яшин Я.И., Василевич Н.И. Антивирусные полифенолы – антиоксиданты: структура, пищевые источники и механизм действия. *Лаборатория и производство*. 2020;5(14):76-86
6. El-Toumy S.A., Salib J.Y., El-Kashak W.A. et al. Antiviral effect of polyphenol rich plant extracts on herpes simplex virus type 1. *Food Sci Hum Wellness*. 2018;7:91-101
7. Soga S., Shirai H., Kobori M., Hirayama N. Use of Amino Acid Composition to Predict Ligand-Binding Sites. *J Chem Inf Model*. 2007;47(2):400-406