

УДК 577+57.012

**ДОКИНГ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИДОКСИНА
В АКТИВНОМ ЦЕНТРЕ ХОЛИНЭСТЕРАЗ***Р.Х. Аюпов, Н.И. Акберова, Д.С. Тарасов***Аннотация**

В работе был проведен молекулярный докинг производных пиридоксина в структурах различных холинэстераз мыши и человека. Исследованные производные пиридоксина отличались длиной радикального хвоста (до 11 атомов углерода). В качестве контроля использовали структуры применяемых в медицине ингибиторов ацетилхолинэстераз (АХЭ) – калимина и прозерина. Докинг проводился в программе AutoDockTools. В результате вычислительных экспериментов с 204 различными комбинациями комплексов фермент – ингибитор были определены энергии сродства ингибиторов к холинэстеразам (ХЭ), которые колебались от 6 до 10 ккал/моль. Производные пиридоксина показали большую энергию сродства, чем контрольные ингибиторы. В случае АХЭ мыши наибольшая энергия сродства обнаружена для ингибиторов с длинным радикальным хвостом. В случае ХЭ человека прямой корреляции между длиной радикального хвоста ингибитора и энергией сродства не выявлено, более того, у ингибиторов с радикальным хвостом до двух углеродов энергия сродства выше, чем у остальных ингибиторов. Обнаружено, что значение энергии сродства ингибитора зависит от расположения его радикального хвоста в полости активного центра фермента.

Ключевые слова: ацетилхолинэстераза (АХЭ), ингибиторы АХЭ, производные пиридоксина, молекулярный докинг.

Введение

Ацетилхолинэстераза – фермент из класса холинэстераз, к которому кроме ацетилхолинэстеразы (АХЭ) относится бутирилхолинэстераза (БХЭ). АХЭ – фермент, который содержится в синапсах и катализирует гидролиз нейромедиатора ацетилхолина до холина и остатка уксусной кислоты. Реакция, катализируемая АХЭ, необходима для дезактивации ацетилхолина в синаптической щели и перехода клетки-мишени в состояние покоя (например, для расслабления мышечной клетки). Ингибиторы АХЭ (фосфорорганические инсектициды, зарин, зоман и V-газы, фасцикулин и некоторые другие пептиды змеиных ядов) – мощные токсины, воздействие которых на организм человека обычно приводит к смерти от судорог дыхательной мускулатуры.

Ацетилхолинэстераза – гликопротеин, в котором углеводная часть молекулы составляет около 8% по массе. Фермент из электрического угря или ската и из бычьих эритроцитов состоит из 4 субъединиц, попарно связанных дисульфидными связями. Каждая субъединица (молекулярная масса 70–80 кДа) имеет один активный центр, располагающийся в глубокой узкой выемке в трехмерной

структуре фермента, в котором существенную роль играют остатки серина, гистидина, аспарагиновой и глутаминовой кислот [1].

Интерес к данному классу ферментов главным образом связан с тем, что признаки нарушения холинергических систем проявляются при миастеническом синдроме, при нейродегенеративных заболеваниях, в том числе при болезни Альцгеймера. Болезнь Альцгеймера – сложное нейродегенеративное заболевание с характерными гистологическими изменениями (к которым относятся нейронные бляшки, нейрофибриллярные клубки) и различными нарушениями нейрохимических процессов, влияющими на серотонинергическую, норадренергическую и холинергическую системы [2]. Недостаточность холинергической системы при болезни Альцгеймера убедительно доказана; отмечается гибель значительного количества нейронов в базальных ядрах переднего мозга, которая по материалам аутопсий достигает 75% всей популяции нейронов. В сохранившихся нейронах базального ядра обнаруживается огромное количество нейрофибриллярных клубков [3, 4].

Основными нейрпатологическими признаками болезни Альцгеймера является разрушение холинергической системы регуляции передачи нервного сигнала, в частности при этом происходит снижение концентрации ацетилхолина в синапсах. Световая и электронная микроскопия показала, что происходит накопление в бляшках и клубках АХЭ и БХЭ, которые обладают иными гистохимическими свойствами, чем в здоровых нервных клетках (например, они менее чувствительны к ингибиторам). При ингибировании АХЭ происходит продление действия ацетилхолина на рецептор. Клинические исследования показали, что у части пациентов применение ингибиторов АХЭ способствует стабилизации когнитивных функций. Кроме снижения концентрации ацетилхолина, фактором нарушения регуляции передачи нервного сигнала на тяжелых стадиях болезни Альцгеймера является снижение активности АХЭ, в то же время активность БХЭ повышается, и она частично берет на себя функции АХЭ по гидролизу ацетилхолина. Исходя из этого, помимо ингибиторов, селективных для АХЭ, в качестве перспективных терапевтических агентов рассматриваются ингибиторы, как селективные для БХЭ, так и действующие на обе холинэстеразы [5–14].

В медицине в качестве лекарственных препаратов, ингибирующих активность АХЭ, используют вещества из разных классов: физостигмин, ривастигмин и эптастигмин являются карбаматами, такрин и велнакрин – производные акридина, донепезил – производное пиперидина, метрифонат относится к фосфорорганическим веществам, а галантамин является фенантреновым алкалоидом. Их принципиальное различие заключается в типе связывания с ацетилхолинэстеразой. Такрин, велнакрин, донепезил и гуперзин являются нековалентными ингибиторами с высокой аффинностью, метрифонат образует необратимое ковалентное соединение с субстратом. Такрин и велнакрин – бесконкурентные ингибиторы, донепезил имеет конкурентные и бесконкурентные свойства, галантамин является конкурентным ингибитором [15]. Действие метрифоната начинается с конкурентного ингибирования, но со временем трансформируется в неконкурентное ингибирование [16]. Различия в длительности действия и метаболизме определяют режим дозирования и вероятность лекарственного взаимодействия.

Галантамин является ингибитором ацетилхолинэстеразы и аллостерическим модулятором никотиновых холинорецепторов [17]. Его последнее качество может способствовать высвобождению ацетилхолина путем активирования холинергических рецепторов. Такрин и велнакрин часто оказывают гепатотоксическое действие, а эптостигмин вызывает нейтропению [18].

Несмотря на довольно большое количество препаратов для лечения нейродегенеративных заболеваний, существует острая необходимость в лекарствах, специфически ингибирующих активность холинэстераз и обладающих минимальными побочными эффектами. В связи с этим в настоящей работе изучался механизм ингибирования холинэстераз производными пиридоксина, синтезированными в Химическом институте им. А.М. Бутлерова Казанского университета [19], для чего проведено позиционирование структур ингибиторов в активном центре различных холинэстераз мыши и человека.

Материалы и методы

В работе использовались 10 ферментов АХЭ мыши (табл. 1), 3 фермента АХЭ человека, 4 фермента бутилхолинэстеразы (БХЭ) человека (табл. 2). Структуры белков получены из Protein Data Bank [20].

В настоящей работе использовались 10 синтезированных в Химическом институте им. А.М. Бутлерова производных пиридоксина, кроме того, в качестве контроля – ингибиторы АХЭ: калимин и прозерин (рис. 1, табл. 3).

Табл. 1

Ферменты АХЭ мыши

Код	Название фермента
2JEY	MUS MUSCULUS ACETYLCHOLINESTERASE IN COMPLEX WITH HLO-7
2JEZ	MUS MUSCULUS ACETYLCHOLINESTERASE IN COMPLEX WITH TABUN AND HLO-7
2JFO	MUS MUSCULUS ACETYLCHOLINESTERASE IN COMPLEX WITH TABUN AND ORTHO-7
2WLS	CRYSTAL STRUCTURE OF MUS MUSCULUS ACETYLCHOLINESTERASE IN COMPLEX WITH AMTS13
2WHR	CRYSTAL STRUCTURE OF ACETYLCHOLINESTERASE IN COMPLEX WITH K027
2WHQ	CRYSTAL STRUCTURE OF ACETYLCHOLINESTERASE, PHOSPHONYLATED BY SARIN (AGED) IN COMPLEX WITH HI-6
2JGM	CRYSTAL STRUCTURE OF MOUSE ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITED BY AGED DIISOPROPYL FLUOROPHOSPHATE (DFP)
2JGL	CRYSTAL STRUCTURE OF MOUSE ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITED BY AGED VX AND SARIN
2JGK	CRYSTAL STRUCTURE OF MOUSE ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITED BY AGED FENAMIPHOS
2JGI	CRYSTAL STRUCTURE OF MOUSE ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITED BY NON-AGED DIISOPROPYL FLUOROPHOSPHATE (DFP)

Табл. 2

Ферменты АХЭ и БХЭ человека

Код	Название фермента
1B4I	HUMAN ACETYLCHOLINESTERASE COMPLEXED WITH FASCICULIN-II, GLYCOSYLATED PROTEIN
1F8U	CRYSTAL STRUCTURE OF MUTANT E202Q OF HUMAN ACETYLCHOLINESTERASE COMPLEXED WITH GREEN MAMBA VENOM
3LII	RECOMBINANT HUMAN ACETYLCHOLINESTERASE
1POI	CRYSTAL STRUCTURE OF HUMAN BUTYRYL CHOLINESTERASE
1POP	CRYSTAL STRUCTURE OF SOMAN-AGED HUMAN BUTYRYL CHOLINESTERASE IN COMPLEX WITH THE SUBSTRATE ANALOG BUTYRYLTHIOCHOLINE
1POQ	CRYSTAL STRUCTURE OF SOMAN-AGED HUMAN BUTYRYL CHOLINESTERASE
2PM8	CRYSTAL STRUCTURE OF RECOMBINANT FULL LENGTH HUMAN BUTYRYLCHOLINESTERASE

Табл. 3

Ингибиторы, используемые в работе

Обозначение ингибиторов	Радикал 1	Радикал 2
<i>a</i>	H	H
<i>б</i>	H	CH ₃
<i>в</i>	CH ₃	CH ₃
<i>г</i>	H	CH ₂ CH ₃
<i>д</i>	H	CH ₂ CH ₂ CH ₃
<i>е</i>	H	CH(CH ₃) ₂
<i>жс</i>	H	C(CH ₃) ₃
<i>з</i>	H	C ₇ H ₁₅
<i>и</i>	H	C ₈ H ₁₅
<i>к</i>	H	CH(CH ₃)C ₉ H ₁₉
калимин	—	—
прозерин	—	—

Модели структур ингибиторов строились с помощью программы NanoEngineer [21]. Коррекции в данные структуры вносились с помощью программы Chemcraft [22]. С помощью программы PC GAMESS [23] на базисах AM1 и N31 были оптимизированы структуры ингибиторов. Для работы со структурами в разных форматах использовалась программа OpenBabel [24].

Из Protein Data Banka скачали структуры ферментов. В программе VMD [25] провели очистку фермента от сопутствующих молекул. Вычислили центр активного центра фермента, используя координаты аминокислотных остатков активного центра.

В программе AutoDockTools [26] pdb-файл с ферментом и ингибитором перевели в pdbqt-формат. Используя приложение программы AutoDockTools vina.exe, вычислили энергию связывания комплекса фермент – ингибитор, получили координаты ингибитора в активном центре фермента.

Расположение ингибитора внутри фермента визуализировали с помощью программы VMD.

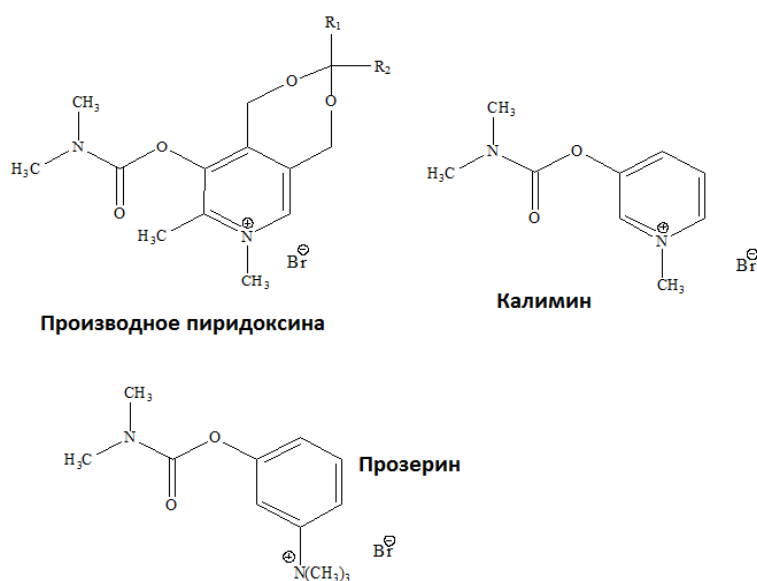


Рис. 1. Ингибиторы

Результаты и обсуждение

Были построены и оптимизированы структуры производных пиридоксина с различающимися радикальными «хвостами» (см. рис. 2–5). Кроме того, были построены и оптимизированы структуры калимина (рис. 6) и прозерина – известных ингибиторов АХЭ.

Установлено, что сродство между ферментами мыши и ингибиторами с более длинным радикальным хвостом сильнее (табл. 4). Так, ингибиторы *к* и *з* имеют наибольшую энергию сродства. Однако среди ингибиторов с коротким радикальным хвостом ингибитор *б* тоже показывает высокую энергию сродства к АХЭ 2JFO и 2WHR, что можно объяснить особенностями индивидуального строения этих ферментов. Полученные результаты свидетельствуют о размерах активного ложа ферментов АХЭ мыши. Ингибиторы с длинным радикальным хвостом имеют больше точек взаимодействия с активным центром, за счет чего и увеличивается энергия сродства. Таким образом, для эффективного блокирования функции АХЭ мыши требуются производные пиридоксина с длинным радикальным хвостом, которые будут полностью занимать ложе активного центра и будут там удерживаться за счет взаимодействия между аминокислотными остатками активного центра и радикальным хвостом.

В случае ферментов АХЭ и БХЭ человека (табл. 5) прямой связи значений энергии сродства ингибиторов с длиной радикального хвоста не обнаружилось. Более того, для АХЭ человека 1B41, 1F8U, 3LII ингибиторы *б*, *в*, *г* показывают наибольшую энергию связывания. Однако для фермента 1F8U энергия сродства больше с ингибиторами *ж* и *з*. Энергия сродства исследованных ферментов человека к ингибиторам с длинными радикальными хвостами не высока, это может быть следствием небольшого размера активного ложа, куда не может поместиться полностью длинный радикальный хвост, и создаваемое напряжение внутри активного центра не способствует устойчивости комплекса ингибитор – фермент.

Табл. 4

Энергии сродства ингибиторов к АХЭ мыши, ккал/моль

Ингибитор	Фермент									
	2JEY	2JEZ	2JFO	2WLS	2WHR	2WHQ	2JGM	2JGL	2JGK	2JGI
<i>a</i>	-8.7	-7.8	-8.3	-7.9	-8.7	-8.4	-8.0	-8.1	-7.8	-7.9
<i>б</i>	-8.6	-8.2	-9.0	-8.3	-9.0	-8.7	-8.5	-8.1	-8.5	-8.3
<i>в</i>	-8.5	-7.1	-8.3	-8.5	-8.7	-9.0	-8.7	-8.7	-8.5	-8.3
<i>г</i>	-7.8	-6.5	-8.6	-8.0	-8.5	-7.8	-8.2	-8.5	-7.9	-8.1
<i>д</i>	-7.6	-6.5	-8.9	-8.1	-8.8	-8.1	-7.9	-8.3	-8.0	-7.7
<i>е</i>	-7.9	-6.8	-8.8	-8.6	-8.7	-8.1	-8.4	-8.8	-8.6	-8.3
<i>жс</i>	-8.1	-7.5	-9.1	-7.9	-8.9	-8.0	-8.4	-8.6	-8.1	-7.8
<i>з</i>	-8.9	-8.3	-9.1	-8.1	-9.3	-8.3	-8.4	-8.1	-8.5	-8.3
<i>и</i>	-9.8	-8.2	-9.1	-8.3	-9.7	-8.7	-8.8	-8.2	-8.7	-8.7
<i>к</i>	-9.2	-8.7	-9.2	-8.4	-10.1	-8.3	-8.9	-8.6	-9.3	-9.0
калимин	-7.2	-7.0	-7.0	-6.2	-6.7	-6.3	-6.2	-6.1	-6.3	-6.1
прозерин	-7.6	-7.6	-7.6	-7.3	-7.2	-6.9	-6.9	-6.9	-7.1	-7.1

Табл. 5

Энергии сродства ингибиторов к АХЭ и БХЭ человека, ккал/моль

Ингибитор	Фермент						
	1B4I	1F8U	3LII	1POI	1POP	1POQ	2PM8
<i>a</i>	-7.3	-7.5	-7.6	-7.8	-7.8	-7.7	-7.7
<i>б</i>	-7.8	-8.4	-7.9	-8.0	-8.2	-7.9	-8.0
<i>в</i>	-7.9	-7.8	-8.5	-8.1	-8.2	-8.2	-8.4
<i>г</i>	-7.8	-8.7	-7.9	-7.9	-8.0	-8.1	-8.0
<i>д</i>	-5.9	-8.7	-7.4	-7.9	-7.8	-7.8	-7.5
<i>е</i>	-6.1	-9.0	-8.2	-8.2	-8.3	-8.1	-7.9
<i>жс</i>	-5.6	-9.1	-7.3	-8.1	-8.1	-7.9	-7.9
<i>з</i>	-7.0	-7.9	-7.7	-8.1	-7.8	-7.6	-7.9
<i>и</i>	-6.7	-7.9	-8.3	-8.1	-7.9	-7.9	-7.7
<i>к</i>	-5.2	-7.4	-8.8	-8.4	-8.1	-8.3	-8.4
калимин	-6.4	-6.4	-6.3	-6.4	-5.7	-5.8	-6.2
прозерин	-6.6	-7.1	-6.8	-7.0	-6.9	-6.9	-7.1

Для исследованных бутилхолинэстераз человека 1POI, 1POP, 1POQ, 2PM8 также не была выявлена зависимость между длиной радикального хвоста и энергией связывания. Это, скорее всего, можно объяснить большими размерами активного центра БХЭ, в котором каждый ингибитор пытается принять энергетически максимально выгодную позицию, и поэтому разница в энергиях сродства между ингибиторами незначительная, что говорит о возможности БХЭ действовать в широком диапазоне.

Всего в вычислительном эксперименте проанализировано 204 различных комбинации комплексов фермент – производное пиридоксина. Полученные значения энергии связывания комплекса ингибитор – фермент колебались от 6 до 10 ккал/моль. По сравнению с калимином и прозеринном исследуемые производные пиридоксина показали большую энергию сродства.

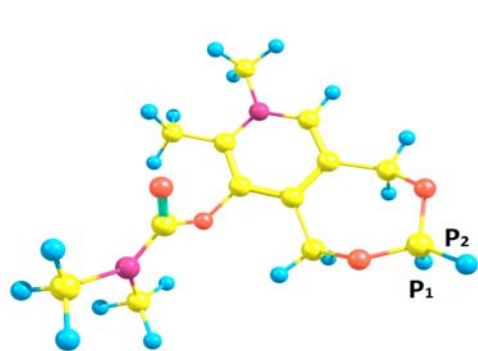


Рис. 2. Структура ингибитора *a* (P_1 и P_2 – места присоединения различных радикалов)



Рис. 3. Оптимизированная структура ингибитора *g*

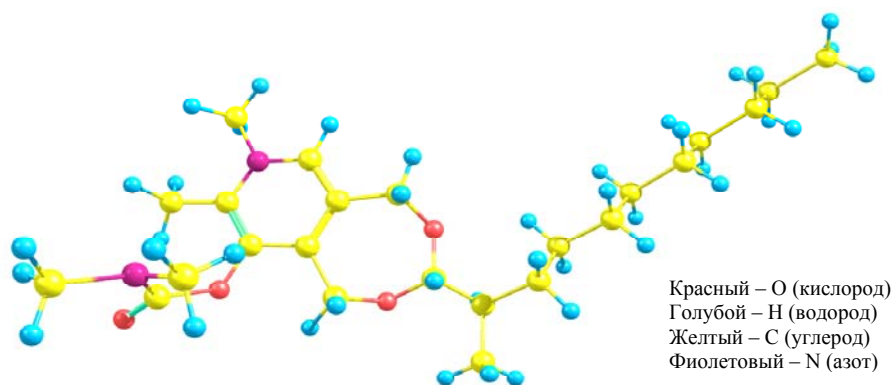


Рис. 4. Оптимизированная структура ингибитора *k*

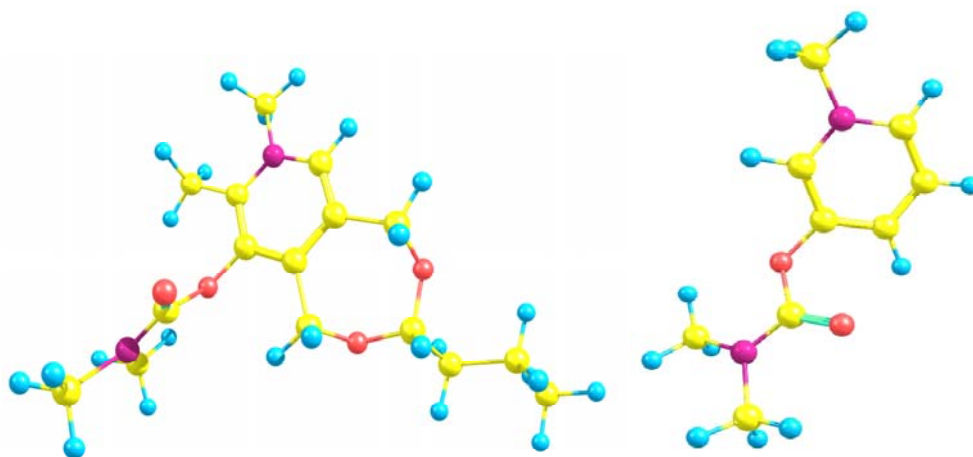


Рис. 5. Оптимизированная структура ингибитора *d*

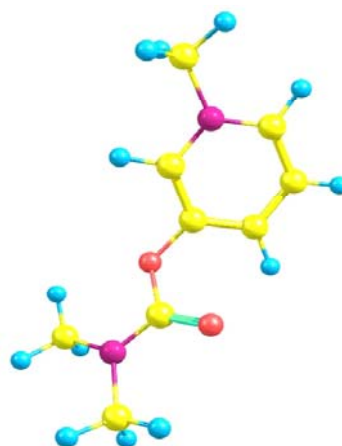


Рис. 6. Оптимизированная структура ингибитора калимин

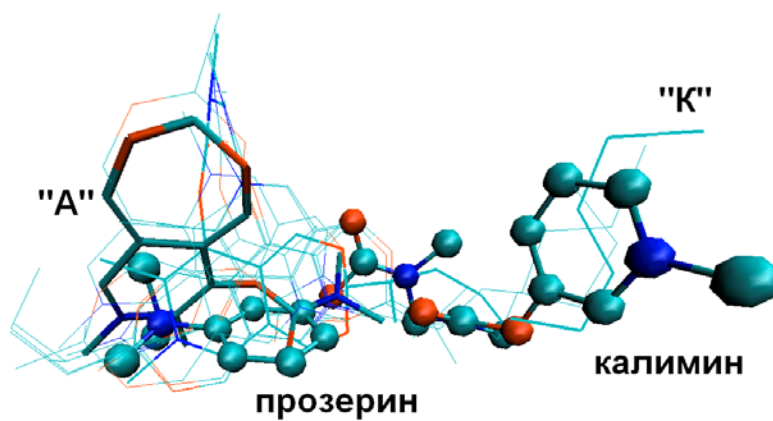
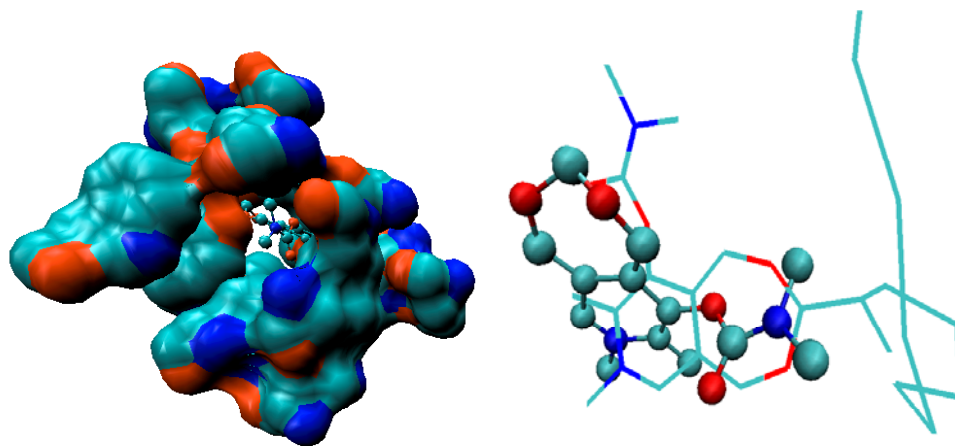
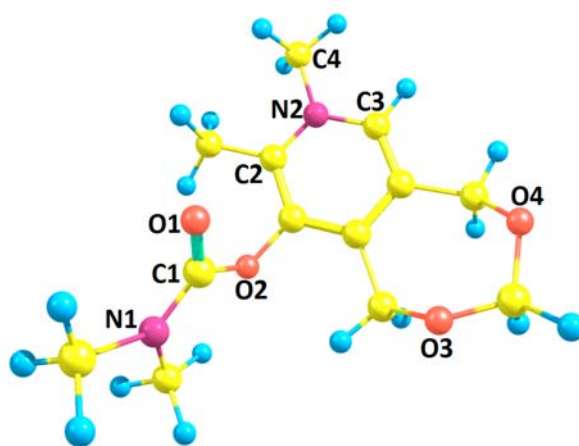


Рис. 7. Положение ингибиторов в активном ложе 2JEY

Рис. 8. Активный центр образует полость, внутри которой расположен ингибитор *a*Рис. 9. Положение ингибиторов *a* и *к* в активном центреРис. 10. Обозначения атомов в ингибиторе *a*

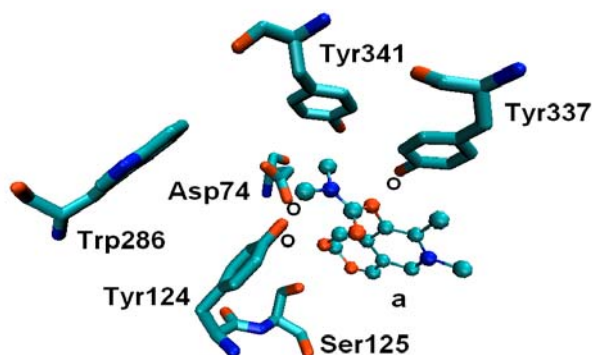


Рис. 11. Периферийный анионный сайт и ингибитор *a*

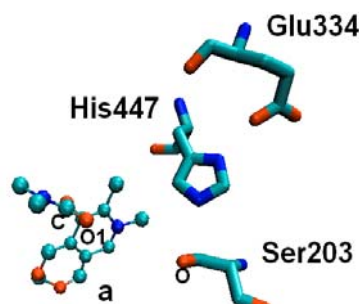


Рис. 12. Каталитическая триада и ингибитор *a*

Проведенное компьютерное моделирование позволяет предположить возможное действие ингибиторов. На рис. 7 представлены положения всех ингибиторов в активном центре фермента 2JEY. Показано, что контрольные ингибиторы калимин и прозерин по-разному располагаются в активном центре АХЭ. Положение производных пиридоксина сходно с положением прозерина, но длинные радикальные хвосты расположены в области калимина. Поскольку прозерин и калимин применяются в медицине как периферические блокаторы АХЭ, можно предположить, что изучаемые в работе производные пиридоксина также могут использоваться в этом качестве. Кроме того, поскольку расположение производных пиридоксина в активном центре различается, возможна разная специфичность их ингибирующего действия. Таким образом, компьютерное моделирование пространственного расположения ингибиторов в полости активного центра фермента позволяет выявить структуры-кандидаты для создания специфичных антихолинэстеразных препаратов без побочных эффектов.

В активном центре фермента АХЭ различают 6 сайтов [27], которые образуют полость (рис. 8): периферийный анионный сайт, анионный сайт, оксианионная дыра, омега-петля, ацильный карман и каталитическая триада, одна из аминокислот, серин в позиции 203 (Ser203) которой ковалентно связывается с ингибитором, в табл. 6 приведены значения расстояния при докинге.

Нами установлено, что положение ингибиторов в активном центре зависит от длины радикального хвоста, в зависимости от нее хвост располагается в одной из полостей активного центра. На рис. 9 показаны два крайних положения, которые занимают исследованные производные пиридоксина в активном центре.

Для каждого сайта активного центра определено расстояние между функционально активными атомами сайтов и ингибиторов. Наименьшее расстояние обнаружено между атомами ингибиторов (рис. 10) и аминокислотных остатков периферийного анионного сайта (рис. 11, табл. 7). Это говорит о том, что эти аминокислотные остатки активно участвуют в процессе ингибирования.

Определенные в ходе вычислительных экспериментов отклонения свидетельствуют о наличии индивидуальных характеристик у каждой АХЭ. Этот факт необходимо учитывать при разработке специфических ингибиторов холинэстераз.

Табл. 6

Расстояние в Å между О-гидроксильной группой Ser203 (2JEY) и атомами карбамолированной группы производных пиридоксина, обозначения см. на рис. 12

Ингибитор	O–C	O–O1
<i>a</i>	6.06	4.95
<i>б</i>	6.29	5.33
<i>в</i>	8.72	8.30
<i>г</i>	8.46	7.76
<i>д</i>	8.49	7.80
<i>е</i>	8.53	7.83
<i>ж</i>	4.83	5.66
<i>з</i>	4.83	5.66
<i>и</i>	4.01	3.58
<i>к</i>	8.52	8.14
калимин	8.75	7.88
прозерин	8.57	9

Табл. 7

Расстояние между атомами периферийного анионного сайта и ингибиторов, обозначения см. на рис. 11

Ингибитор	Атомы ингибиторов											
	C1	N1	O1	O2	O3	C1	N1	O1	O2	C1	N1	O2
<i>a</i>	5.5	5.11	6.3	5.28	3.21	3.66	3.35	4.07	4.17	4.95	5.25	3.65
<i>б</i>	5.34	4.61	6.41	5.09	2.98	3.82	3.15	4.53	4.25	4.36	4.69	3.31
<i>в</i>	3.11	3.21	3.15	3.8	7.2	4.11	5.06	3.63	4.19	4.1	4.14	3.04
<i>г</i>	2.95	2.99	3.14	3.56	7.23	3.63	4.69	3.09	3.93	3.83	3.94	2.79
<i>д</i>	2.93		3.09		7.23	3.69	4.69	3.1	3.94			2.77
<i>е</i>	2.86		3.05		7.1	3.64	4.68	3.05	3.82			2.86
<i>ж</i>	7.24		7.56		6.15	5.97	6.76	6.48	4.65			4.8
<i>з</i>	7.29		7.59		6.26	6.05	6.85	6.54	4.74			4.82
<i>и</i>	7.68		8.33		6.08	6.34	7.1	6.89	5			5.44
<i>к</i>	3.47		3.55		3.84	4.31	5.04	3.95	4.54			3.12
калимин	6.26		5.5			3.97	5	3	4.49			9.66
прозерин	4.6		3.5			3.4	3.96	2.99	4.04			4.99
Атомы аминокислотных остатков	<u>O</u>–C(O)–C–C				<u>O</u>–кольцо				<u>O</u>–кольцо			
Аминокислотные остатки	Asp74				Tyr124				Tyr337			

Заключение

Производные пиридоксина при докинге показали относительно высокую энергию сродства по сравнению с применяемыми в терапии ингибиторами АХЭ: калимином и прозеринном. Они могут быть использованы в дальнейших разработках по созданию лекарственных препаратов, предусматривающих блокирования фермента АХЭ. Однако для специфичного взаимодействия именно с определенной АХЭ требуется дальнейшее изучение механизма взаимодействия активных групп ингибитора с активным центром фермента.

Авторы благодарят сотрудников Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета Ю.Г. Штырлина и А.Д. Стрельника за обсуждение результатов и ценные замечания.

Summary

R.Kh. Ayupov, N.I. Akberova, D.S. Tarasov. Docking of Pyridoxine Derivatives in the Active Site of Cholinesterases.

Molecular docking of pyridoxine derivatives in the structures of various mouse and human cholinesterases was carried out. The studied pyridoxine derivatives differed in tail length (up to 11 carbon atoms). The known acetylcholinesterase (AChE) inhibitors kalimin and proserin were used as control. The docking was conducted with the AutoDockTools program. As a result of numerical experiments with 204 different combinations of enzyme – inhibitor complexes, the affinity energies of the inhibitors to the cholinesterases (ChE), which ranged from 6 to 10 kcal/mol, were determined. The pyridoxine derivatives showed greater electron affinity than the control inhibitors. In the case of mouse AchE, the highest electron affinity was observed for the inhibitors with a long tail. In the case of human ChE, direct correlation between the length of the tail of the inhibitor and the affinity energy was not revealed; moreover, the electron affinity of the inhibitors with a tail up to two carbon atoms was higher than that of other inhibitors. It was found that the affinity energy of an inhibitor depends on the location of its tail in the enzyme's active site cavity.

Key words: acetylcholinesterase (AChE), AChE inhibitors, pyridoxine derivatives, molecular docking.

Литература

1. Ekström F., Hörnberg A., Artursson E., Hammarström L.-G., Schneider G., Pang Y.-P. Structure of HI-6NSarin-Acetylcholinesterase Determined by X-Ray Crystallography and Molecular Dynamics Simulation: Reactivator Mechanism and Design // PLoS ONE. – 2009. – V. 4, No 6. – P. e5957-1–e5957-19.
2. Cummings J.L., Vinters H.V., Cole G.M., Khachaturian Z.S. Alzheimer's disease: etiologies, pathophysiology, cognitive reserve, and treatment opportunities // Neurology. – 1998. – V. 51, Suppl. 1. – P. S2–S17.
3. Whitehouse P.J., Price D.L., Clark A.W., Coyle J.T., DeLong M.R. Alzheimer's disease: evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis // Ann. Neurol. – 1981. – V. 10, No 2. – P. 122–126.
4. Whitehouse P.J., Price D.L., Struble R.G., Clark A.W., Coyle J.T. Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain // Science. – 1982. – V. 215, No 4537. – P. 1237–1239.
5. Giacobini E. Cholinesterases and cholinesterase inhibitors. – Abingdon, UK: Informa Health Care, 2000. – 270 p.
6. Giacobini E. Selective inhibitors of butyrylcholinesterase: a valid alternative for therapy of Alzheimer's disease? // Drugs Aging. – 2001. – V. 18, No 12. – P. 891–898.
7. Giacobini E. Cholinesterases: new roles in brain function and in Alzheimer's disease // Neurochem. Res. – 2003. – V. 28, No 3–4. – P. 515–522.
8. Giacobini E. Cholinergic function and Alzheimer's disease // Int. J. Geriatr. Psychiatry. – 2003. – V. 18, Suppl. 1. – P. S1–S5.
9. Giacobini E. Butyrylcholinesterase, its function and inhibitors. – London; N. Y.: Martin Dunitz Pub, 2003. – 181 p.
10. Giacobini E. Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives // Pharmacolog. Res. – 2004. – V. 50, No 4. – P. 433–440.

11. *Giacobini E., Spiegel R., Enz A., Veroff A.E., Cutler N.R.* Inhibition of acetyl- and butyryl-cholinesterase in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease by rivastigmine: correlation with cognitive benefit // *J. Neural Transmission.* – 2002. – V. 109, No 7–8. – P. 1053–1065.
12. *Махаева Г.Ф., Фетисов В.И., Соколов В.Б., Янковская В.Л., Горева Т.В., Малыгин В.В., Безноско Б.К., Галенко Т.Г., Коломиец А.Ф., Мартынов И.В.* Взаимодействие диалкил(а-карбометокси-*b,b*-трифторэтил)фосфатов с эстеразами млекопитающих // *Биоорг. химия.* – 1987. – Т. 13, № 1. – С. 33–37.
13. *Radchenko E.V., Makhaeva G.F., Malygin V.V., Sokolov V.B., Palyulin V.A., Zefirov N.S.* Modeling of the relationships between the structure of O-phosphorylated oximes and their anticholinesterase activity and selectivity using molecular field topology analysis (MFTA) // *Dokl. Biochem. Biophys.* – 2008. – V. 418, No 1. – P. 47–51.
14. *Makhaeva G.F., Aksinenko A.Y., Sokolov V.B., Serebryakova O.G., Richardson R.J.* Synthesis of organophosphates with fluorine-containing leaving groups as serine esterase inhibitors with potential for Alzheimer disease therapeutics // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2009. – V. 19, No 19. – P. 5528–5530.
15. *Cummings J.L.* Cholinesterase Inhibitors: A New Class of Psychotropic Compounds // *Am. J. Psychiatry.* – 2000. – V. 157, No 1. – P. 4–15.
16. *Taylor P.* Development of acetylcholinesterase inhibitors in the therapy of Alzheimer's disease // *Neurology.* – 1998. – V. 51, Suppl. 1. – P. S30–S35.
17. *Pontecorvo M.J., Parys W.* Clinical development of galantamine: evaluation of a compound with possible acetylcholinesterase inhibiting and nicotinic modulating activity (abstract) // *Neurobiol. Aging.* – 1998. – V. 19, Suppl. 7. – P. 57.
18. *Imbimbo B.P., Martelli P., Troetel W.M., Lucchelli F., Lucca U., Thal L.J.* Efficacy and safety of eptastigmine for the treatment of patients with Alzheimer's disease // *Neurology.* – 1999. – V. 52, No 4. – P. 700–708.
19. *Стрельник А.Д.* Синтез и биологическая активность некоторых производных пиримидина: Дис. ... канд. хим. наук. – Казань, 2010. – 128 с.
20. Protein Data Banka. – URL: <http://www.pdb.org>, свободный.
21. NanoEngineer-1.5. – URL: <http://nanoengineer-1.com/content/index.php>, свободный.
22. Chemcraft 1.5. – URL: <http://www.chemcraftprog.com>, свободный.
23. PC GAMESS (Firefly). Alex A. Granovsky, Firefly version 7.1.G. – URL: <http://classic.chem.msu.su/gran/firefly/index.html>, свободный.
24. OpenBabel. – URL: http://openbabel.org/wiki/Main_Page, свободный.
25. VMD. – URL: <http://www.ks.uiuc.edu>, свободный.
26. AutoDockTools. – URL: <http://autodock.scripps.edu>, свободный.
27. *Яковлев В.А., Волкова Р.И.* Исследование активных центров холинэстераз с помощью фосфорорганических ингибиторов // *Докл. АН СССР.* – 1962. – Т. 146, № 1. – С. 217–220.

Поступила в редакцию
20.06.11

Аюпов Рустам Хасанович – студент кафедры биохимии Казанского (Приволжского) федерального университета.

Акберова Наталья Ивановна – кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии Казанского (Приволжского) федерального университета.
E-mail: nakberov@ksu.ru

Тарасов Денис Станиславович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Казанского филиала Межведомственного суперкомпьютерного центра РАН.