

УДК 547.1 : 615.246

ВЛИЯНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА СВЯЗЫВАЮЩУЮ И ЭСТЕРАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ АЛЬБУМИНА ПО ОТНОШЕНИЮ К ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМ СОЕДИНЕНИЯМ ПО ДАННЫМ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Д.А. Белинская¹, А.А. Баталова¹,
Н.В. Гончаров^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, 194223, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Федеральное государственное унитарное предприятие «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства, 188663, г.п. Кузьмолковский, Ленинградская область, Российская Федерация

Одна из актуальных задач клинической токсикологии – разработка терапии, направленной на стехиометрическую и/или каталитическую детоксикацию фосфорорганических соединений (ФОС) в кровеносном русле, что предотвратит попадание яда в нервно-мышечные и нейрональные синапсы и поможет избежать необратимых последствий отравления. Вспомогательным вариантом детоксикации ФОС в кровеносном русле может стать направленное воздействие на альбумин, основной транспортный белок крови, с помощью молекул, модулирующих его связывающие и/или эстеразные свойства. Цель представленного исследования – методами молекулярного моделирования на примере параоксона и олеиновой кислоты оценить влияние жирных кислот на связывающую и эстеразную активность альбумина человека по отношению к ФОС. Согласно полученным данным, повышенная концентрация жирных кислот в крови будет снижать вероятность связывания параоксона с альбумином и уменьшать вероятность псевдоэстеразной реакции.

Ключевые слова: сывороточный альбумин человека, фосфорорганические соединения, жирные кислоты, молекулярное моделирование.

Введение. Отравления фосфорорганическими соединениями (ФОС) занимают в общем числе экзотоксикозов одно из ведущих мест [1]. Поскольку механизм токсического действия ФОС на организм обусловлен главным образом ингибированием ацетилхолинэстеразы (АХЭ), существующие принципы терапии острых отравлений сводятся к предотвращению и ликвидации последствий воздействия ФОС на АХЭ [2]. Среди различных вариантов терапии – стехиометрическая и/или каталитическая детоксикация ФОС в кровеносном русле, что предотвратит попадание яда в нервно-мышечные и нейро-

нальные синапсы с последующим ингибированием АХЭ.

Сывороточный альбумин является мажорным белком сыворотки крови. Установлено, что альбумин может участвовать в детоксикации ФОС посредством их связывания и/или гидролиза [3-5]. В молекуле альбумина существуют два основных сайта связывания лекарственных средств и ксенобиотиков: Садлоу I и Садлоу II. Предполагается, что сайт Садлоу I с каталитическим тирозином Tyr150 отвечает за истинную эстеразную активность белка, а сайт Садлоу II – за псевдоэстеразную. Способом детоксикации ФОС в кровеносном

Белинская Дарья Александровна (Belinskaya Daria Alexandrovna), кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории сравнительной физиологии сенсорных систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, d_belinskaya@mail.ru

Баталова Анастасия Александровна (Batalova Anastasia Alexandrovna), аспирант, младший научный сотрудник лаборатории сравнительной биохимии ферментов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, batalova.phys@gmail.com

Гончаров Николай Васильевич (Goncharov Nikolay Vasil'evich), доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник Федерального государственного унитарного предприятия «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» федерального медико-биологического агентства России; заведующий лабораторией сравнительной биохимии ферментов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, ngoncharov@gmail.com

русле может стать направленное воздействие на альбумин с помощью молекул, модулирующих его связывающие и/или эстеразные свойства [5-6]. Основным кандидатом в модуляторы являются мажорные жирные кислоты (ЖК): олеиновая, пальмитиновая, стеариновая и линолевая. Концентрация каждой из них в норме составляет десятки или даже сотни мкМ [7]. Известно, что альбумин человека при взаимодействии с ЖК в растворе обладает высокой пластичностью и гибкостью [8]. Во многих работах показано влияние ЖК на сродство альбумина к различным лигандам [9-11]. Поэтому нельзя исключать влияния связывания ЖК с альбумином на эффективность его взаимодействия с ФОС.

Методом рентгеноструктурного анализа (РСА) было показано, что в молекуле альбумина существует семь сайтов связывания ЖК: FA1 (возле Ala158), FA2 (возле Leu22), FA3 (возле Asn391), FA4 (возле Tyr411), FA5 (возле Ala528), FA6 (возле Ala213), FA7 (возле Tyr150) [12]. Окружение сайта FA4 соответствует сайту Садлоу II, а сайта FA7 – сайту Садлоу I. Согласно литературным данным, олеиновая кислота обладает максимальным сродством к сайту FA5, и чуть меньшим сродством к сайту FA2 [13]. *Цель представленного исследования* – методами *in silico* на примере олеиновой кислоты и параоксона изучить влияние жирных кислот на связывающую и эстеразную активность альбумина человека (ЧСА) по отношению к ФОС. Для этого методом молекулярной динамики были изучены геометрические характеристики комплексов параоксона с сайтами Садлоу I и Садлоу II ЧСА в отсутствие и в присутствии молекул олеиновой кислоты в сайтах FA5 и FA2. Были оценены значения свободной энергии образования этих комплексов.

Материалы и методы исследования. Конформационные изменения комплексов альбумина с лигандами во времени были рассчитаны методом молекулярной динамики с помощью программного пакета Gromacs 5.0.4 [14]. Каждый комплекс виртуально был помещен в периодическую кубическую ячейку, заполненную молекулами воды. Для описания молекул воды использовали модельный потенциал SPC (single point charge), приведенный в работе в [15]. Для нейтрализации заряда в систему были добавлены ионы натрия. Для поддержания в расчетном эксперименте постоянной температуры 300 К и постоянного давления 1 бар применяли термостат с масштабируемыми скоростями «V-rescale» [16] и баростат Берендсена [17] с временными константами 0,1 пс и 1 пс, соответственно. Дальние электростатические взаимо-

действия рассчитывали методом Эвальда [18]. Взаимодействия Леннард-Джонса не учитывались при межатомном расстоянии больше 1 нм. Длины связей в молекулах альбумина и лигандов поддерживались постоянными с помощью алгоритма LINCS [19]. Расчету конформационных изменений комплексов белок-лиганд предшествовала релаксация системы длиной 100 пс. Время симуляции конформационных изменений комплексов методом молекулярной динамики (длина траектории) составило 10 нс с шагом интегрирования 0.002 пс.

Расчет свободной энергии связывания лигандов с альбумином проводили методом, сочетающим использование молекулярной механики и решение уравнения Пуассона-Больцмана (molecular mechanics – Poisson Boltzmann surface area, MM-PBSA) [20] с помощью модуля g_mmpbsa [21], встроенного в программный пакет Gromacs. Метод MM-PBSA позволяет оценить энергию образования комплекса белок-лиганд из траекторий молекулярной динамики. Предыдущие исследования выявили, что в течение симуляции молекулярной динамикой происходят очень большие колебания энтропии [21]. Было показано, что расчет только энтальпийного компонента лучше коррелирует с экспериментальными данными, чем расчет полной свободной энергии. Поэтому в данной работе рассчитывали только энтальпийную составляющую свободной энергии образования комплекса. В данной работе значение свободной энергии образования комплекса рассчитывали каждые 10 пс в течение симуляции. Таким образом, результатом запуска модуля g_mmpbsa для одной траектории молекулярной динамики было 1000 значений свободной энергии. Итоговое значение рассчитывали из полученных 1000 значений как среднее $\pm$ стандартное среднее отклонение.

Результаты и обсуждение. Структуры комплексов ЧСА с молекулой параоксона в сайтах Садлоу I и Садлоу II и комплексов ЧСА с молекулой олеиновой кислоты в сайтах FA5 и FA2 были получены нами ранее методом молекулярного докинга [5, 22-23]. Путём объединения координат атомов были получены модели тройных комплексов альбумина, параоксона и олеиновой кислоты (модели 1-4).

Модель 1: Олеиновая кислота в сайте FA5, параоксон в сайте Садлоу I (рис. 1А)

Модель 2: Олеиновая кислота в сайте FA5, параоксон в сайте Садлоу II (рис. 1Б)

Модель 3: Олеиновая кислота в сайте FA2, параоксон в сайте Садлоу I (рис. 1В)

Модель 4: Олеиновая кислота в сайте FA2, параоксон в сайте Садлоу II (рис. 1Г)

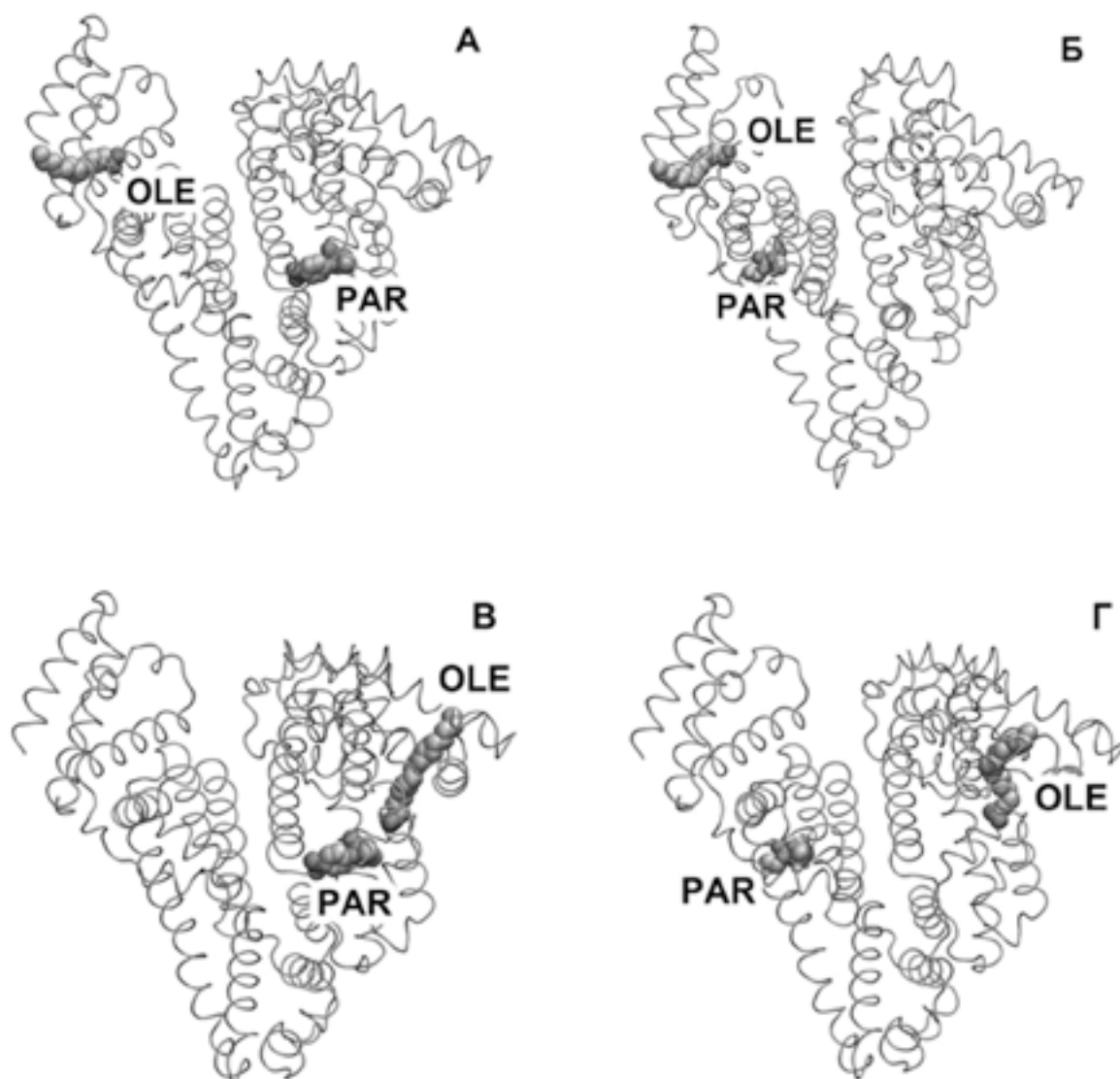


Рис. 1. Комплексы альбумина с параоксоном (PAR) в сайте Садлоу I (А, В) и Садлоу II (Б, Г) и олеиновой кислотой (OLE) в сайте FA5 (А, Б) и FA2 (В, Г) по данным молекулярного докинга.

На следующем этапе конформационные изменения полученных комплексов были рассчитаны методом молекулярной динамики. По полученным траекториям движений атомов для каждого комплекса была рассчитана зависимость от времени значения расстояния между атомом фосфора параоксона и гидроксильным атомом кислорода каталитического тирозина (distO-P) (рис. 2). Известно, что для образования новой ковалентной связи между параоксоном и тирозином это расстояние не должно превышать 0.4 нм [24]. Ранее такая зависимость уже была изучена нами для комплексов параоксона с альбумином в отсутствие жирных кислот [23] (рис. 2А,Б). Было выявлено, что комплекс альбу-

мина человека со связанной молекулой параоксона в сайте Садлоу I нестабилен (рис. 2А). Значение distO-P первые 2000 пс симуляции колеблется в промежутке 0.4-1.0 нм, затем оставшиеся 8000 пс симуляции остаются неизменным и колеблется незначительно на уровне 0.6 нм. В случае комплекса параоксона с сайтом Садлоу II, динамика этой зависимости выглядит следующим образом (рис. 2Б): участки, на которых расстояние колеблется в пределах 0.37-0.40 нм (что достаточно близко для образования ковалентной связи между лигандом и белком), чередуются с участками, на которых молекула параоксона отдаляется от каталитического тирозина.

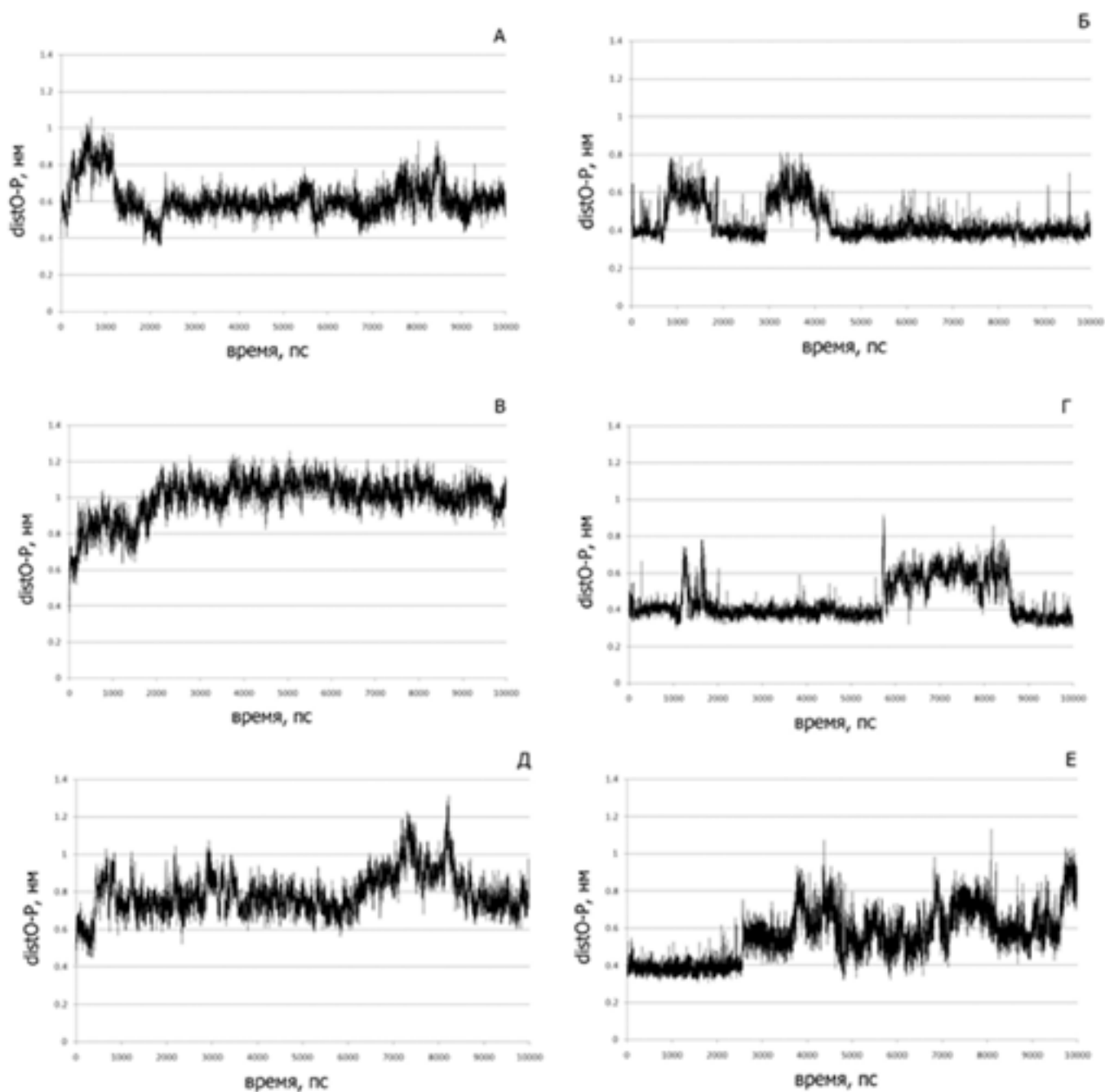


Рис. 2. Зависимость от времени значения расстояния (distO-P) между атомом фосфора параоксона и гидроксильным атомом кислорода каталитического тирозина Ty150 для сайта Садлоу I (А, В, Д) и Tyr411 для сайта Садлоу II (Б, Г, Е). А, Б – комплекс альбумина с параоксоном в отсутствие жирных кислот; В, Г – комплекс альбумина с параоксоном в присутствии молекулы олеиновой кислоты в сайте FA5; Д, Е – комплекс альбумина с параоксоном в присутствии молекулы олеиновой кислоты в сайте FA2.

Связывание молекулы олеиновой кислоты в сайте FA5 влияет на геометрию связывания параоксона в сайте Садлоу I (рис. 2В). Расстояние между атомом фосфора параоксона и гидроксильным атомом кислорода каталитического тирозина быстро увеличивается

в первые 2000 пс симуляции, затем остается неизменным на протяжении почти всей симуляции и колеблется вблизи значения 1 нм, то есть в этом случае устойчивая конформация параоксона в сайте Садлоу I отличается от устойчивой конформации параоксона в сво-

Таблица

Значения свободных энергий (ΔG , ккал/моль) образования комплексов альбумина с параоксоном в отсутствие и присутствии олеиновой кислоты

параоксон	Олеиновая кислота		
	отсутствует	в сайте FA5	в сайте FA2
в сайте Садлоу I	-20.8±2.5	-21.8±2.8	-17.7±2.4
в сайте Садлоу II	-25.2±2.8	-23.0±2.9	-24.9±2.6

бодном от ЖК белке. Примечательно, что, даже находясь в другом домене альбумина (рис. 2А), молекула олеиновой кислоты влияет на положение параоксона в сайте Садлоу I.

Связывание молекулы олеата в сайте FA2, который находится в непосредственной близости от сайта Садлоу I (рис. 1В), ожидаемо повлиял на положение молекулы параоксона в сайте Садлоу I. Конформация параоксона в сайте также стабилизируется за 2000 пс симуляции, затем расстояние между атомом фосфора параоксона и гидроксильным атомом кислорода каталитического тирозина остается практически неизменным и колеблется незначительно в районе величины 0.8 нм. И снова устойчивая конформация параоксона в сайте Садлоу I отличается от устойчивой конформации параоксона в свободном от ЖК белке и в белке со связанной в сайте FA5 молекулой олеиновой кислоты. Таким образом, связывание олеиновой кислоты в сайтах FA5 и FA2 влияет на геометрию комплекса альбумин-параоксон, но не влияет на вероятность образования ковалентной связи между параоксоном и каталитическим Tyr150, то есть на эстеразную активность альбумина.

Связывание молекулы олеиновой кислоты в сайте FA5 практически не изменяет геометрию связывания параоксона в сайте Садлоу II (рис. 2Г). Как и в случае отсутствия олеиновой кислоты, участки, на которых расстояние distO-P колеблется в пределах 0.37-0.40 нм, чередуются с участками, на которых молекула параоксона отдалается от каталитического тирозина. В целом, связывание олеиновой кислоты в сайте FA5 не влияет на вероятность образования новой ковалентной связи в сайте Садлоу II, то есть не влияет на псевдоэстеразную активность альбумина по отношению к параоксону.

Связывание молекулы олеиновой кислоты в сайте FA2 существенно влияет на геометрию связывания параоксона в сайте Садлоу

II (рис. 2Е). Значение distO-P остается стабильным только первые 2000 пс симуляции, затем молекула параоксона отдалается от каталитического тирозина и не возвращается в продуктивную конформацию на протяжении оставшихся 8000 пс. Таким образом, связывание молекулы олеиновой кислоты в сайте FA2 уменьшает вероятность образования новой ковалентной связи, а значит, должен снижать псевдоэстеразную активность альбумина по отношению к параоксону.

На следующем этапе на основе полученных методом молекулярной динамики траекторий движения атомов были рассчитаны значения свободных энергий (ΔG) образования исследуемых комплексов альбумина с параоксоном (табл.). Как видно из таблицы, связывание молекулы олеиновой кислоты в сайте FA5 практически не влияет на эффективность взаимодействия параоксона с альбумином в сайте Садлоу I, тогда как связывание в сайте FA2 ухудшает эффективность взаимодействия. И наоборот, связывание олеиновой кислоты в сайте FA5 альбумина снижает эффективность взаимодействия с параоксоном в сайте Садлоу II, а связывание в сайте FA2 – не влияет. Такой эффект закономерен, поскольку сайт FA5 находится вблизи сайта Садлоу II, а сайт FA2 – вблизи сайта Садлоу I.

По всей видимости, основной вклад в изменение связывающей способности альбумина вносит отрицательный заряд молекулы олеиновой кислоты. Появление дополнительного отрицательного заряда приводит к перераспределению зарядов на поверхности альбумина и конформационным изменениям сайтов связывания, что, в свою очередь, влияет на эффективность взаимодействия альбумина с параоксоном.

В работе [25] методами равновесного диализа, кругового дихроизма и молекулярного моделирования изучали влияние олеиновой кислоты на взаимодействие альбумина чело-

века с дансил-L-аспарагином (DNSA, лигандом сайта Садлоу I) и ибупрофеном (лигандом сайта Садлоу II). Согласно полученным данным, увеличение концентрации олеиновой кислоты приводило к увеличению аффинности сайта Садлоу I к DNSA (по нашим же данным аффинность к параоксону уменьшалась) и уменьшению аффинности сайта Садлоу II к ибупрофену (как и аффинность к параоксону). Авторы показали, что связывание олеиновой кислоты приводит к изменению конформации сайта Садлоу I и изменению положения молекулы DNSA в этом сайте. В нашем случае мы получили схожий результат: связывание олеиновой кислоты в сайтах FA5 и FA2 влияет на положение параоксона в сайте Садлоу I. Возможно, разная направленность изменения аффинности объясняется различиями в структуре параоксона и DNSA: в молекуле DNSA содержится положительно заряженная гуанидиновая группа, «откликающаяся» на появление отрицательного заряда при связывании молекул олеиновой кислоты.

Заключение. Согласно полученным данным, связывание олеиновой кислоты в сайте FA5 не влияет на эстеразную активность альбумина по отношению к параоксону, не влияет на связывающую активность в сайте Садлоу I, не влияет на псевдоэстеразную активность альбумина, но уменьшает связывающую активность в сайте Садлоу II. Связывание олеиновой кислоты в сайте FA2 не влияет

на эстеразную активность белка, уменьшает связывающую активность в сайте Садлоу I, не влияет на псевдоэстеразную активность альбумина, а также не влияет на связывающую активность в сайте Садлоу II. В реальных условиях олеиновая кислота будет связываться и в сайте FA5, и в сайте FA2. Поэтому можно ожидать, что повышенная концентрация ЖК в крови, даже без учета конкуренции за связывание с альбумином в сайтах Садлоу I (FA7) и Садлоу II (FA4), будет снижать вероятность связывания параоксона с альбумином и уменьшать вероятность псевдоэстеразной реакции. Из-за уменьшения связывающей способности альбумина по отношению к ФОС молекулы параоксона с меньшей эффективностью будут транспортироваться к нервно-мышечным и нейрональным синапсам. Полученный результат дополняет данные, представленные в работе [26], согласно которым омега-3 жирные кислоты проявляют защитное действие при отравлении ФОС. Новые данные о возможности биологически активных соединений разных классов модулировать связывающую и эстеразную активность альбумина по отношению к ФОС помогут в дальнейшем выработать рекомендации для усовершенствования антидотной терапии.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 18-015-00304) и в рамках госзадания АААА-А18-118012290142-9.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Peter J.V., Jerobin J., Nair A., Bennett A., Samuel P., Chrispal A. et al. Clinical profile and outcome of patients hospitalized with dimethyl and diethyl organophosphate poisoning. *Clin. Toxicol. (Phila)* 2010; 48: 916-23.
2. King A.M., Aaron C.K. Organophosphate and carbamate poisoning. *Emerg. Med. Clin. North Am.* 2015; 33: 133-151.
3. Sogorb M.A., Garcia-Argüelles S., Carrera V., Vilanova E. Serum albumin is as efficient as paraxonase in the detoxication of paraoxon at toxicologically relevant concentrations. *Chem. Res. Toxicol.* 2008; 21: 1524-9.
4. Li B., Nachon F., Froment M.T., Verdier L., Debouzy J.C., Brasme B. et al. Binding and hydrolysis of soman by human serum albumin. *Chem. Res. Toxicol.* 2008; 21: 421-31.
5. Goncharov N.V., Belinskaia D.A., Shmurak V.I., Terpilowski M.A., Jenkins R.O., Avdonin P.V. Serum albumin binding and esterase activity: mechanistic interactions with organophosphates. *Molecules* 2017; 22: E1201.
6. Гончаров Н.В., Белинская Д.А., Разыграев А.В., Уколов А.И. О ферментативной активности альбумина. *Биоорг. химия* 2015; 41: 131-44.
7. Duran M. Disorders of Mitochondrial Fatty Acid Oxidation and Ketone Body Handling. In: Blau N., Duran M., Blaskovics M.E., Gibson K.M., eds. *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2003: 309-34.
8. Reichenwallner J., Hinderberger D. Using bound fatty acids to disclose the functional structure of serum albumin. *Biochim. Biophys. Acta.* 2013; 1830(12): 5382-93.
9. Dasgupta A., Crossey M.J. Elevated free fatty acid concentrations in lipemic sera reduce protein binding of valproic acid significantly more than phenytoin. *Am. J. Med. Sci.* 1997; 313: 75-9.
10. Takamura N., Shinozawa S., Maruyama T., Suenaga A., Otagiri M. Effects of fatty acids on serum binding between furosemide and valproic acid. *Biol. Pharm. Bull.* 1998; 21: 174-6.
11. Vorum H., Honore B. Influence of fatty acids on the binding of warfarin and phenprocoumon to human serum albumin with relation to anticoagulant therapy. *J. Pharm. Pharmacol.* 1996; 48: 870-5.
12. van der Vusse G.J. Albumin as fatty acid transporter. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2009; 24(4): 300-7.
13. Rizzuti B., Bartucci R., Sportelli L., Guzzi R. Fatty acid binding into the highest affinity site of human serum albumin observed in molecular dynamics simulation. *Arch. Biochem. Biophys.* 2015; 579: 18-25.
14. Abraham M.J., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J.C., Hess B. et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX.* 2015; 1-2: 19-25.
15. Berendsen H.J.C., Postma J.P.M., van Gunsteren W.F., Hermans J. Interaction models for water in relation to protein hydration. In: Pullman B., ed. *Intermolecular forces*. Dordrecht: Reidel D. Publishing Company; 1981: 331-42.
16. Bussi G., Donadio D., Parrinello M. Canonical sampling through velocity rescaling. *J. Chem. Phys.* 2007; 126: 014101.
17. Berendsen H.J.C., Postma J.P.M., di Nola A., van Gunsteren W.F., Haak J.R. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *J. Chem. Phys.* 1984; 81: 3684-90.
18. Darden T., York D., Pedersen L. Particle mesh Ewald: An N-log(N) method for Ewald sums in large systems. *J. Chem. Phys.* 1993; 3: 10089-92.
19. Hess B., Bekker H., Berendsen H.J.C., Fraaije J.G.E.M. LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. *J. Comp. Chem.* 1997; 8: 1463-73.
20. Genheden S., Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert Opin. Drug Discov.* 2015; 10: 449-61.
21. Kumari R., Kumar R. Open Source Drug Discovery Consortium, Lynn A. g_mmpbsa - a GROMACS tool for high-throughput MM-PBSA calculations. *J. Chem. Inf. Model.* 2014; 54: 1951-62.
22. Белинская Д.А., Таборская К.И., Авдонин П.В., Гончаров Н.В. Модуляция жирными кислотами сайтов взаимодействия альбумина с параоксоном: анализ методами молекулярного моделирования. *Биоорг. химия* 2017; 43: 347-56.
23. Белинская Д.А., Шмурак В.И., Таборская К.И., Авдонин П.П., Авдонин П.В., Гончаров Н.В. Сравнительный анализ in silico связывания параоксона сывороточным альбумином человека и быка. *ЖЭБФ* 2017; 53: 170-7.
24. Jacob R.B., Michaels K.C., Anderson C.J., Fay J.M., Dokholyan N.V. Harnessing Nature's Diversity: Discovering organophosphate bioscavenger characteristics among low molecular weight proteins. *Sci. Rep.* 2016; 6: 37175.
25. Yamasaki K., Hyodo S., Taguchi K., Nishi K., Yamatsu N., Hirono S. et al. Long chain fatty acids alter the interactive binding of ligands to the two principal drug binding sites of human serum albumin. *PLoS One* 2017; 12(6): e0180404.
26. Avci B., Bilge S.S., Arslan G., Alici O., Darakci O., Baratzada T. et al. Protective effects of dietary omega-3 fatty acid supplementation on organophosphate poisoning. *Toxicol. Ind. Health.* 2018; 34(2): 69-82.

REFERENCES:

1. Peter J.V., Jerobin J., Nair A., Bennett A., Samuel P., Chrispal A. et al. Clinical profile and outcome of patients hospitalized with dimethyl and diethyl organophosphate poisoning. *Clin. Toxicol. (Phila)* 2010; 48: 916-23.
2. King A.M., Aaron C.K. Organophosphate and carbamate poisoning. *Emerg. Med. Clin. North Am.* 2015; 33: 133-151.
3. Sogorb M.A., García-Arquelles S., Carrera V., Vilanova E. Serum albumin is as efficient as paraxonase in the detoxication of paraxon at toxicologically relevant concentrations. *Chem. Res. Toxicol.* 2008; 21: 1524-9.
4. Li B., Nachon F., Froment M.T., Verdier L., Debouzy J.C., Brasme B. et al. Binding and hydrolysis of soman by human serum albumin. *Chem. Res. Toxicol.* 2008; 21: 421-31.
5. Goncharov N.V., Belinskaia D.A., Shmurak V.I., Terpilowski M.A., Jenkins R.O., Avdonin P.V. Serum albumin binding and esterase activity: mechanistic interactions with organophosphates. *Molecules* 2017; 22: E1201.
6. Goncharov N.V., Belinskaia D.A., Ukolov A.I., Razygraev A.V. On the enzymatic activity of albumin. *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2015; 41: 131-44 (in Russian).
7. Duran M. Disorders of Mitochondrial Fatty Acid Oxidation and Ketone Body Handling. In: Blau N., Duran M., Blaskovics M.E., Gibson K.M., eds. *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2003: 309-34.
8. Reichenwallner J., Hinderberger D. Using bound fatty acids to disclose the functional structure of serum albumin. *Biochim. Biophys. Acta* 2013; 1830(12): 5382-93.
9. Dasgupta A., Crossey M.J. Elevated free fatty acid concentrations in lipemic sera reduce protein binding of valproic acid significantly more than phenytoin. *Am. J. Med. Sci.* 1997; 313: 75-9.
10. Takamura N., Shinozawa S., Maruyama T., Suenaga A., Otagiri M. Effects of fatty acids on serum binding between furosemide and valproic acid. *Biol. Pharm. Bull.* 1998; 21: 174-6.
11. Vorum H., Honore B. Influence of fatty acids on the binding of warfarin and phenprocoumon to human serum albumin with relation to anticoagulant therapy. *J. Pharm. Pharmacol.* 1996; 48: 870-5.
12. van der Vusse G.J. Albumin as fatty acid transporter. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2009; 24(4): 300-7.
13. Rizzuti B., Bartucci R., Sportelli L., Guzzi R. Fatty acid binding into the highest affinity site of human serum albumin observed in molecular dynamics simulation. *Arch. Biochem. Biophys.* 2015; 579: 18-25.
14. Abraham M.J., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J.C., Hess B. et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX* 2015; 1-2: 19-25.
15. Berendsen H.J.C., Postma J.P.M., van Gunsteren W.F., Hermans J. Interaction models for water in relation to protein hydration. In: Pullman B., ed. *Intermolecular forces*. Dordrecht: Reidel D. Publishing Company; 1981: 331-42.
16. Bussi G., Donadio D., Parrinello M. Canonical sampling through velocity rescaling. *J. Chem. Phys.* 2007; 126: 014101.
17. Berendsen H.J.C., Postma J.P.M., di Nola A., van Gunsteren W.F., Haak J.R. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *J. Chem. Phys.* 1984; 81: 3684-90.
18. Darden T., York D., Pedersen L. Particle mesh Ewald: An N³-log(N) method for Ewald sums in large systems. *J. Chem. Phys.* 1993; 3: 10089-92.
19. Hess B., Bekker H., Berendsen H.J.C., Fraaije J.G.E.M. LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. *J. Comp. Chem.* 1997; 8: 1463-73.
20. Genheden S., Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert Opin. Drug Discov.* 2015; 10: 449-61.
21. Kumari R., Kumar R. Open Source Drug Discovery Consortium, Lynn A. g_mmpbsa – a GROMACS tool for high-throughput MM-PBSA calculations. *J. Chem. Inf. Model.* 2014; 54: 1951-62.
22. Belinskaia D.A., Taborskaya K.I., Goncharov N.V., Avdonin P.V. Modulation of the albumin-paraoxon interaction sites by fatty acids: analysis by the molecular modeling methods. *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2017; 43: 359-67.
23. Belinskaia D.A., Taborskaya K.I., Goncharov N.V., Shmurak V.I., Avdonin P.P., Avdonin P.V. In silico analysis of paraoxon binding by human and bovine serum albumin. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2017; 53: 191-9. (in Russian)
24. Jacob R.B., Michaels K.C., Anderson C.J., Fay J.M., Dokholyan N.V. Harnessing Nature's Diversity: Discovering organophosphate bioscavenger characteristics among low molecular weight proteins. *Sci. Rep.* 2016; 6: 37175.
25. Yamasaki K., Hyodo S., Taguchi K., Nishi K., Yamaotsu N., Hirono S. et al. Long chain fatty acids alter the interactive binding of ligands to the two principal drug binding sites of human serum albumin. *PLoS One* 2017; 12(6): e0180404.
26. Avci B., Bilge S.S., Arslan G., Alici O., Darakci O., Baratzada T. et al. Protective effects of dietary omega-3 fatty acid supplementation on organophosphate poisoning. *Toxicol. Ind. Health.* 2018; 34(2): 69-82.

D.A. Belinskaya¹, A.A. Batalova¹, N.V. Goncharov^{1,2}

EFFECTS OF FATTY ACIDS ON BINDING AND ESTERASE ACTIVITY OF ALBUMIN TOWARDS ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS ACCORDING TO MOLECULAR MODELING APPROACH

¹I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Science, 194223, Saint Petersburg, Russian Federation

²Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, 188663, p.o. Kuz'molovskiy, Leningrad Region, Russian Federation

One of the urgent tasks of clinical toxicology is the development of therapy aimed at stoichiometric and/or catalytic detoxification of organophosphorus compounds in the bloodstream, which will prevent the poison's entering the neuromuscular and neuronal synapses and help to avoid irreversible consequences of poisoning. An auxiliary option for the detoxification of organophosphorus compounds in the bloodstream may be a directed effect on albumin, the main transport protein of the blood, by means of molecules modulating its binding and/or esterase properties. The aim of the present study is to evaluate the effect of fatty acids on the binding and esterase activity of human albumin to organophosphorus compounds by molecular modeling methods on the example of paroxone and oleic acid. According to the data obtained, an increased concentration of fatty acids in the blood reduces the likelihood of paraoxon binding to albumin and pseudo-esterase reaction.

Keywords: human serum albumin, organophosphorus compounds, fatty acids, molecular modeling.

Материал поступил в редакцию 23.04.2019 г.