

И. Р. Гильфанов, Л. Е. Никитина, А. А. Ксенофонтов, П. С. Бочаров,
В. А. Старцева, С. А. Лисовская, Г. Р. Рахматуллина, Е. А. Сарбазян,
Р. Ф. Ахвердиев, О. Т. Шипина, Н. В. Аверьянова, А. С. Симакова

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ПРОТИВОГРИБКОВОГО ДЕЙСТВИЯ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ МОНОТЕРПЕНОИДОВ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКИНГА

Ключевые слова: компьютерное моделирование, серосодержащие монотерпеноиды, молекулярный докинг, противогрибковая активность.

Понимание механизма действия биологически активных молекул – критически важный этап в процессе создания новых лекарственных средств. Наряду с другими методами, в этой области широко применяется молекулярный докинг, представляющий собой компьютерное моделирование, позволяющее прогнозировать и анализировать взаимодействие между исследуемым лигандом и его предполагаемой мишенью – рецептором, что дает ценную информацию для дальнейшей оптимизации структуры препарата. В результате многолетних исследований серии серосодержащих монотерпеноидов нами было установлено, что изоборнилтиоэтанол обладает широким спектром биологической активности, включающим противовоспалительную, антиагрегационную, антикоагуляционную, антиоксидантную и противогрибковую активность. Кроме того, были разработаны синтетические подходы к получению этого соединения в энантиоочином виде. Вместе с тем механизм противогрибкового действия серосодержащих монотерпеноидов до сих пор оставался не изученным. Поскольку изоборнилтиоэтанол способен также подавлять образование псевдомицелия грибами *Candida albicans*, предполагается, что данное вещество оказывает влияние на ряд белков, таких как Sap1-3, 5, Tec1, Als3 и Plb1, которые играют важную роль в процессах инвазии и регуляции факторов вирулентности. Поэтому нами было изучено взаимодействие изоборнилтиоэтанола с предполагаемыми мишенями методом молекулярного докинга. Исследование включало в себя анализ полученных данных по энергиям связывания и определению наиболее стабильных лиганд-белковых комплексов в сравнении с клиническими препаратами флуконазол и тербинафин. Экспериментально установлено, что изоборнилтиоэтанол обладает преобладающим аффинитетом к активатору транскрипции Tec1, что обуславливает гипотезу о его потенциальном ингибирующем действии на этот белок. В то же время, флуконазол и тербинафин проявляют более выраженное сродство к белкам Sap. Данное различие в механизмах действия подчеркивает целесообразность дальнейших изысканий, направленных на изучение антимикотического потенциала и механизмов действия серосодержащих монотерпеноидов.

I. R. Gilfanov, L. E. Nikitina, A. A. Ksenofontov, P. S. Bocharov,
V. A. Startseva, S. A. Lisovskaya, G. R. Rakhmatullina, E. A. Sarbazyan,
R. F. Akhverdiev, O. T. Shipina, N. V. Aver'yanova, A. S. Simakova

MOLECULAR DOCKING STUDY OF THE ANTIFUNGAL MECHANISM OF SULFUR-CONTAINING MONOTERPENOIDS

Keywords: computer modeling, sulfur-containing monoterpenoids, molecular docking, antifungal activity.

Understanding the mechanism of action of biologically active molecules is a critically important step in the process of creating new medicines. Along with other methods, molecular docking is widely used in this field, which is a computer simulation that makes it possible to predict and analyze the interaction between the ligand under study and its intended target, the receptor, which provides valuable information for further optimization of the drug structure. As a result of long-term studies of a series of sulfur-containing monoterpenoids, we have found that isobornylthioethanol has a wide range of biological activity, including anti-inflammatory, antiaggregation, anticoagulation, antioxidant and antifungal activity. In addition, synthetic approaches have been developed to obtain this compound in its enantiopure form. However, the mechanism of antifungal action of sulfur-containing monoterpenoids has not yet been studied. Since isobornylthioethanol is also able to suppress the formation of pseudomycelia by *Candida albicans* fungi, it is assumed that this substance affects a number of proteins, such as Sap1-3, 5, Tec1, Als3 and Plb1, which play an important role in the processes of invasion and regulation of virulence factors. Therefore, we studied the interaction of isobornylthioethanol with the proposed targets by the method of molecular docking. The study included an analysis of the data obtained on binding energies and the determination of the most stable ligand-protein complexes in comparison with the clinical drugs fluconazole and terbinafine. It has been experimentally established that isobornylthioethanol has a predominant affinity for the transcription activator Tec1, which leads to the hypothesis of its potential inhibitory effect on this protein. At the same time, fluconazole and terbinafine exhibit a more pronounced affinity for Sap proteins. This difference in the mechanisms of action highlights the expediency of further research aimed at studying the antimycotic potential and mechanisms of action of sulfur-containing monoterpenoids.

Введение

Определение механизмов функционирования биоактивных соединений обычно включает в себя применение спектра экспериментальных процедур.

Однако в последние годы широкое распространение получил метод молекулярного докинга, позволяющий моделировать и предсказывать структурные и энергетические особенности

взаимодействия анализируемых молекул с предполагаемыми рецепторами-мишенями [1].

Монотерпеноиды, представляющие собой вторичные метаболиты растений с низкой острой и хронической токсичностью, известны своим широким спектром биологической активности. Химическая модификация структуры терпеноидов, в частности введение различных фармакофорных групп, позволяет синтезировать новые соединения с практически полезными свойствами [2]. Ранее нами были получены серосодержащие монотерпеноиды, обладающие противогрибковыми свойствами. Среди изученных соединений наиболее активным оказался изоборнилтиоэтанол **2**, представляющий интерес для дальнейшего практического применения [3].

Было обнаружено, что изоборнилтиоэтанол (**2**) проявляет широкий спектр биологической активности. В частности, он обладает выраженными противовоспалительными, антиагрегационными, антикоагуляционными, антиоксидантными и антимикотическими свойствами. Соединение эффективно против различных видов дрожжевых и плесневых грибов, включая штаммы *Candida albicans*, выделенные как из клинических образцов, так и из музейных коллекций. Дополнительно установлено, что соединение **2** способно ингибировать процесс образования гиф, что является важным фактором, поскольку формирование псевдомицелия играет ключевую роль в вирулентности и лекарственной устойчивости грибов.

На основе полученных результатов мы предположили, что влияние серосодержащих монотерпеноидов может быть направлено на протеины, участвующие в процессах инвазии и регуляции факторов, определяющих вирулентность. С этой целью мы исследовали механизм действия изоборнилтиоэтанола **2** методом молекулярного докинга.

Методика моделирования

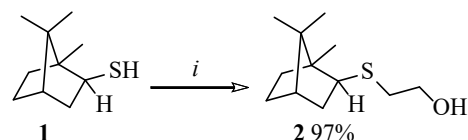
Для моделирования взаимодействия лиганд-рецепторных систем была использована программа Autodock 4.2 [11]. Предварительно, структуры и геометрия всех исследуемых соединений были подвергнуты полной оптимизации с применением функционала CAM-B3LYP [12] и базисного набора aug-cc-pVTZ (для флуконазола и тербинафина) [13].

Информация о пространственной структуре белков Sap1-3, 5 и агглютининоподобного протеина-3 (Als3) была взята из базы данных Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>, коды: 1EAG, 2H6S, 2QZW, 2QZX, 4LE8). В то время как структуры фосфолипазы b1 (Plb1, ProteinBankID: AAC72296.1) и активатора транскрипции Tec1 (ProteinBankID: KAF6072269.1) были получены с использованием метода гомологичного моделирования с помощью Swiss-Model [9, 10]. Для каждой системы строилась сетка силовых полей, в которой происходили дальнейшие расчеты. Для 1EAG была выбрана сетка 80 Å × 90 Å × 126 Å с шагом 0.650 Å, 2H6S 126 Å × 126 Å × 126 Å с шагом 0.500 Å, 2QZW 126 Å × 126 Å

Å × 126 Å с шагом 0.670 Å, 2QZX 81 Å × 81 Å × 90 Å с шагом 0.670 Å, Als3 100 Å × 70 Å × 126 Å с шагом 0.650 Å шаг, Plb1 126 Å × 100 Å × 100 Å с шагом 0.820 Å и Tec1 100 Å × 100 Å × 126 Å с шагом 0.820 Å. Далее был проведен молекулярный докинг, при котором структуры лигандов принимались гибкими, а структуры рецепторов — жесткими, а расчет проводился с использованием генетического алгоритма Ламарка [14]. Лиганд-рецепторные комплексы были рассортированы по группам согласно RMSE.

Результаты и их обсуждение

Впервые изоборнилтиоэтанол **2** был получен в рацемическом виде в реакции камфена с 2-меркаптоэтанолом при катализе $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ [4]. В дальнейшем нами был разработан метод синтеза соединения **2** в энантиоцистном виде (97% выход) с использованием коммерчески доступных реагентов [3]. Для этого промежуточный оптически чистый изоборнантиол **1** был получен по ранее опубликованной методике [5].



Реагенты и условия: *i*: $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 1.2 экв., NaH 1.2 экв., 50°C, EtOH, 48 ч.

Благодаря широкому спектру проявляемой биологической активности серосодержащий монотерпеноид **2** можно рассматривать как перспективное средство для профилактики и лечения грибковых и смешанных инфекций кожи и ее придатков, сопровождающихся нарушением микроциркуляции крови в пораженной ткани. Поэтому следующим этапом нашей работы стало изучение возможного механизма действия соединения **2**.

Поскольку тиотерпеноид **2** способен подавлять образование псевдомицелия [3], в качестве потенциальных мишеней в моделировании нами были выбраны секретируемые аспарагиновые протеазы Sap1-3, 5, агглютинин-подобная последовательность 3 (Als3), фосфолипаза b1 (Plb1) и активатор транскрипции (Tec1), регулирующие определенные этапы инфекционного процесса [6-8] и ранее определенные как предполагаемые мишени для терпеноидов [9,10]. В ходе докинга определяли сайты связывания и энергию взаимодействия белок-лиганд. В качестве препаратов сравнения были использованы известные клинические препараты флуконазол и тербинафин.

Предварительные данные, полученные в результате анализа энергии связывания соединений (см. Рис. 1), свидетельствуют об их значительном сродстве к исследуемым белкам. В частности, было установлено, что тиотерпеноид **2** характеризуется повышенным аффинитетом к белкам Tec1, Als3 и Sap3. Флуконазол и тербинафин, напротив,

продemonстрировали наибольшую связь с Sap3, Sap2, Als3 и Sap2, Sap3, Sap1, соответственно.

В дальнейшем исследовании наше внимание было сосредоточено на детальном изучении структурной организации сайтов связывания в наиболее стабильных лиганд-белковых комплексах, визуализированных на рис. 2.

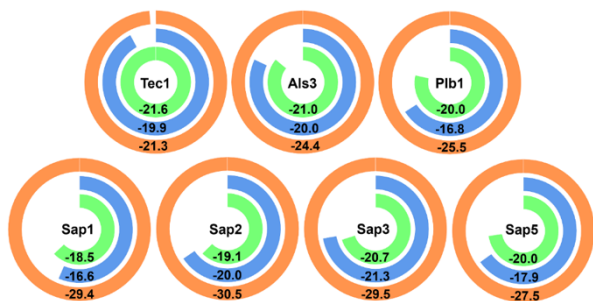


Рис. 1 — Кольцевые диаграммы свободной энергии связывания ΔG (кДж/моль) соединений с белками-мишенями: тиотерпеноид 2 (зеленый), флуконазол (синий) и тербинафин (оранжевый)

Fig. 1 — Ring diagrams of free binding energy ΔG (kJ/mol) of compounds with target proteins: thioterpeneoid 2 (green), fluconazole (blue), and terbinafine (orange)

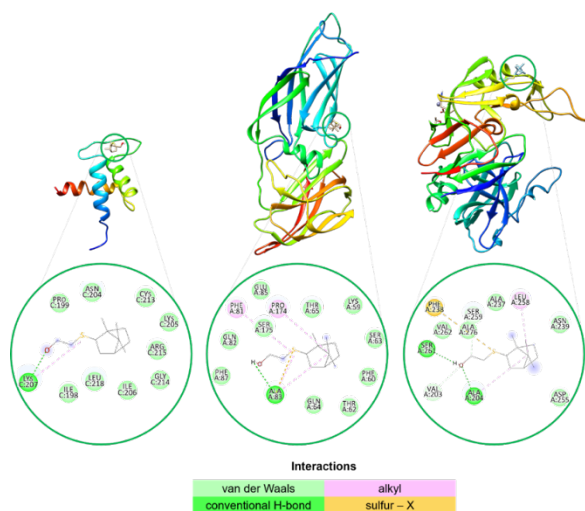


Рис. 2 — Результаты молекулярного докинга соединения 2 с Tec1, Als3 и Sap3

Fig. 2 — Results of molecular docking of compound 2 with Tec1, Als3, and Sap3

В комплексе 2-Tec1 лиганд локализован в белковом кармане около петли L1, образованном из остатков следующих аминокислот: ILE198, PRO199, ASN204, LYS205, ILE206, LYS207, CYS213, GLY214, ARG215, LEU218; в комплексе 2-Als3 — в кармане N-концевого домена белка, образованного LYS59, PHE60, THR62, SER63, GLN64, THR65, PHE81, GLN82, ALA83, GLU85, PHE87, PRO174, SER175; а в случае 2-Sap3 — в кармане возле C-концевой петли состава VAL203, ALA204, ALA237, PHE238, ASN239, ASP255, ASN257, LEU258, SER259, GLY260, SER261, VAL262, ALA276.

Основной вклад в стабилизацию комплексов соединения 2 с Tec1, Als3 и Sap3 вносят ван-дер-ваальсовы взаимодействия и образование водородных связей.

В отличие от изоборнилтиозанола 2, для флуконазола и тербинафина характерны иные сайты связывания с целевыми белками, что позволяет предположить иной механизм противогрибкового действия.

Результаты молекулярного моделирования показали, что изоборнилтиозанол 2 характеризуется наибольшим сродством к транскрипционному фактору Tec1. Это позволяет выдвинуть гипотезу о возможном ингибировании активности фактора вирулентности *Candida albicans* под воздействием данного соединения. В отличие от этого, флуконазол и тербинафин демонстрируют преимущественное связывание с белками Sap, что указывает на кардинально отличающийся механизм их антимикотического действия. Полученные данные подтверждают перспективность продолжения исследований механизма противогрибкового действия серосодержащих монотерпеноидов.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания от 22.04.2025 № 075-00156-25-05 «Природные потенциаторы противомикробных препаратов» (FZSM-2025-0003).

Литература

1. F. Stanzone, I. Giangreco, J.C. Cole, *Prog. Med. Chem.*, 60, 273-343 (2021).
2. L.E. Nikitina, N.P. Artemova, V.A. Startseva, *Chem. Nat. Comp.*, 53, 1-9 (2017).
3. Евр. Пат. № 049920 (2025).
4. Л.Е. Никитина, О.А. Шкуро, В.В. Племенков, *ЖОХ*, 29, 1794-1797 (1993).
5. J.M. Blanco, O. Caamaño, A. Eirín, F. Fernández, L. Medina, *Synth.*, 1990, 584-586 (2002).
6. C. Borelli, E. Ruge, M. Schaller, M. Monod, H.C. Korting, R. Huber, K. Maskos, *Proteins*, 68, 738-748 (2007).
7. C. Borelli, E. Ruge, J.H. Lee, M. Schaller, A. Vogelsang, M. Monod, H.C. Korting, R. Huber, K. Maskos, *Proteins*, 72, 1308-1319 (2008).
8. S.M. Cutfield, E.J. Dodson, B.F. Anderson, P.C. Moody, C.J. Marshall, P.A. Sullivan, J.F. Cutfield, *Structure*, 3, 1261-1271 (1995).
9. V. Uppar, S. Chandrashekarappa, C.P.S. Shivamallu, S.P. Kollur, J. Ortega-Castro, J. Frau, N. Flores-Holguín, A.I. Basarikatti, M. Chougala, M.M. Mohan G. Banuprakash, Jayadev, K.N. Venugopala, B.P. Nandeshwarappa, R. Veerapur, A.A. Al-Kheraif, A.M. Elgorban, A. Syed, K.K. Mudnakudu-Nagaraju, B. Padmashali, D. Glossman-Mitnik, *Molecules*, 26, 2722 (2021).
10. S. Ahmedi, P. Pant, N. Raj, N. Manzoor, *Phytomed. Plus*, 2, 100285 (2022).
11. G.M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M.F. Sanner, R.K. Belew, D.S. Goodsell, A.J. Olson, *J. Comput. Chem.*, 30, 2785-2791 (2009).
12. C. Bannwarth, S. Grimme, *Comp. Theor. Chem.*, 1040, 45-53 (2014).
13. T. Dunning, *J. Chem. Phys.*, 90, 1007-1023 (1989).

14. F.J. Solis, R.J.-B. Wets, *Math. Oper. Res.*, 6, 19-30 (1981).

References

1. F. Stanzione, I. Giangreco, J.C. Cole, *Prog. Med. Chem.*, 60, 273-343 (2021).
2. L.E. Nikitina, N.P. Artemova, V.A. Startseva, *Chem. Nat. Comp.*, 53, 1-9 (2017).
3. European Pat. № 049920 (2025).
4. L.E. Nikitina, O.A. Shkuro, V.V. Plemenkov, *Russian Journal of General Chemistry*, 29, 1794-1797 (1993).
5. J.M. Blanco, O. Caamaño, A. Eirín, F. Fernández, L. Medina, *Synth.*, 1990, 584-586 (2002).
6. C. Borelli, E. Ruge, M. Schaller, M. Monod, H.C. Korting, R. Huber, K. Maskos, *Proteins*, 68, 738-748 (2007).
7. C. Borelli, E. Ruge, J.H. Lee, M. Schaller, A. Vogelsang, M. Monod, H.C. Korting, R. Huber, K. Maskos, *Proteins*, 72, 1308-1319 (2008).
8. S.M. Cutfield, E.J. Dodson, B.F. Anderson, P.C. Moody, C.J. Marshall, P.A. Sullivan, J.F. Cutfield, *Structure*, 3? 1261-1271 (1995).
9. V. Uppar, S. Chandrashekarappa, C.P.S. Shivamallu, S.P. Kollur, J. Ortega-Castro, J. Frau, N. Flores-Holguín, A.I. Basarikatti, M. Chougala, M.M. Mohan G. Banuprakash, Jayadev, K.N. Venugopala, B.P. Nandeshwarappa, R. Veerapur, A.A. Al-Kheraif, A.M. Elgorban, A. Syed, K.K. Mudnakudu-Nagaraju, B. Padmashali, D. Glossman-Mitnik, *Molecules*, 26, 2722 (2021).
10. S. Ahmed, P. Pant, N. Raj, N. Manzoor, *Phytomed. Plus*, 2, 100285 (2022).
11. G.M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M.F. Sanner, R.K. Belew, D.S. Goodsell, A.J. Olson, *J. Comput. Chem.*, 30, 2785-2791 (2009).
12. C. Bannwarth, S. Grimme, *Comp. Theor. Chem.*, 1040, 45-53 (2014).
13. T. Dunning, *J. Chem. Phys.*, 90, 1007-1023 (1989).
14. F.J. Solis, R.J.-B. Wets, *Math. Oper. Res.*, 6, 19-30 (1981).

© **И. Р. Гильфанов** — младший научный сотрудник, НИЛ «Природные антимикробные препараты», Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия, ilmir.gilfanov@gmail.com; **Л. Е. Никитина** — профессор, заведующая кафедрой Общей и органической химии, Казанский государственный медицинский университет (КГМУ), nikitl@mail.ru; **А. А. Ксенофонтов** — старший научный сотрудник лаборатории «Компьютерный синтез химических соединений», лаборатории «Химия и молекулярная фотоника дипиррометеновых красителей и люминофоров», Институт химии растворов им Г.А. Крестова (ИХР им Г.А. Крестова) РАН, Иваново, Россия, kvk@isuct.ru; **П. С. Бочаров** — младший научный сотрудник лаборатории «Компьютерный синтез химических соединений», лаборатории «Химия и молекулярная фотоника дипиррометеновых красителей и люминофоров», ИХР им Г.А. Крестова РАН, bochpavl@gmail.com; **В. А. Старцева** — доцент, кафедра Общей и органической химии, КГМУ, valestar@mail.ru; **С. А. Лисовская** — доцент, кафедра Микробиологии, КГМУ; ведущий научный сотрудник лаборатории микологии, Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии, s_lisovskaya@mail.ru; **Г. Р. Рахматуллина** — доцент, заведующая кафедрой Плазмохимических технологий наноматериалов и покрытий, Казанский национальный исследовательский технологический университет (КНИТУ), gulnazf@yandex.ru; **Е. А. Сарбазян** — аспирант, КНИТУ, sarbazyan@mail.ru; **Р. Ф. Ахвердиев** — доцент, кафедра Высшей математики, кафедра Материалов и технологий легкой промышленности, КНИТУ, rust123@rambler.ru; **О. Т. Шипина** — профессор, кафедра Химии и технологии высокомолекулярных соединений (ХТВМС), КНИТУ, shipina.olga@yandex.ru; **Н. В. Аверьянова** — доцент, кафедра ХТВМС, КНИТУ, averyanovaNV@corp.knrtu.ru; **А.С. Симакова** — студент, медико-биологический факультет, КГМУ, simka.nas2005@gmail.com.

© **I. R. Gilfanov** — Junior Researcher, Laboratory of Natural Antimicrobial Drugs, Kazan Federal University (KFU), Kazan, Russia, ilmir.gilfanov@gmail.com; **L. E. Nikitina** — Professor, Head of the Department of General and Organic Chemistry, Kazan State Medical University (KSMU), nikitl@mail.ru; **A. A. Ksenofontov** — Senior Researcher, Laboratory of Computer Synthesis of Chemical Compounds, Laboratory of Chemistry and Molecular Photonics of Dipyrromethene Dyes and Phosphors, Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences (Krestov ISC RAS), Ivanovo, Russia, kvk@isuct.ru; **P.S. Bocharov** — Junior Researcher, Laboratory of Computer Synthesis of Chemical Compounds, Laboratory of Chemistry and Molecular Photonics of Dipyrromethene Dyes and Phosphors, Krestov ISC RAS, bochpavl@gmail.com; **V. A. Startseva** — Associate Professor, Department of General and Organic Chemistry, KSMU, valestar@mail.ru; **S. A. Lisovskaya** — Associate Professor, Department of Microbiology, KSMU; Leading Researcher, Laboratory of Mycology, Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, s_lisovskaya@mail.ru; **G. R. Rakhmatullina** — Associate Professor, Head of the Department of Plasma Chemical Technologies of Nanomaterials and Coatings, Kazan National Research Technological University, gulnazf@yandex.ru; **E. A. Sarbazyan** — PhD-student, KNRTU, sarbazyan@mail.ru; **R. F. Akhverdiev** — Associate Professor, Department of Higher Mathematics, Department of Materials and Technologies of Light Industry, KNRTU, rust123@rambler.ru; **O. T. Shipina** — Professor, Department of Chemistry and Technology of High-Molecular Compounds, KNRTU, shipina.olga@yandex.ru; **N. V. Aver'yanova** - Associate Professor, Department of Chemistry and Technology of High-Molecular Compounds, KNRTU, averyanovaNV@corp.knrtu.ru; **A. S. Simakova** — Student, Faculty of Medicine and Biology, KSMU, simka.nas2005@gmail.com.

Дата поступления рукописи в редакцию – 28.10.25.

Дата принятия рукописи в печать – 12.01.26.