

**Р.Г. Ефремов:** На слайде 4 указано: «С помощью компьютерного молекулярного моделирования найдены положительные аллостерические модуляторы АМРА-рецепторов...». Как это вообще возможно с помощью моделирования?

**Н.С. Темнякова:** Соединения 1-5 неактивны (100% соответствует контролю). По результатам нескольких измерений на разных нейронах существенных отклонений от 100% не наблюдалось ни в каких концентрациях, поэтому в самой низкой концентрации  $10^{-11}$  моль/л для этих соединений измерения не проводились.

**Р.Г. Ефремов:** Данные для соединений 1-5 в таблице на слайде 10 выглядят странно  $100 \pm x$  (где  $x = 1 \div 4$ ), причем для концентрации 10-11 (в каких единицах?) данных вообще нет. С чем это связано?

**Н.С. Темнякова:** Компьютерное моделирование в сайте связывания положительного аллостерического модулятора (ПАМ) (именно в этот сайт!) позволяет нам предложить различные структуры веществ, являющихся ПАМ. Структуры, найденные таким путём, называют потенциальными ПАМ-рами.

**Р.Г. Ефремов:** Как осуществляли молекулярный докинг: выбор решений, оценочная функция и ее калибровка, кластеризация, ранжирование и пр. Использовали схему «одна конформация мишени - одна конформация лиганда»? Если так, то тот факт, что какие-либо из предложенных соединений «не дали конформаций, которые заполняют два симметричных кармана, где связываются все известные положительные аллостерические модуляторы (ПАМ) с высоким сродством», может просто означать, что не учли пластичность сайтов. Сейчас подобный подход применяют все реже и реже – как правило, создают ансамбли репрезентативных состояний мишени и лиганда (например, полученных в ходе МД), после чего проводят докинг по схеме «все-на-все».

**Н.С. Темнякова:** Докинг проводился в сотрудничестве с Д.С. Карловым. Для докинга использовали программу FRED, которая проводит исчерпывающий докинг предварительно сгенерированных конформаций, компании Openeye (была академическая лицензия), для каждого соединения была сгенерирована библиотека конформеров с использованием программы OMEGA (максимально 5000 конформеров, параметр RMS, регулирующий отбраковку новых конформеров на основании их сходства с уже сгенерированным был выбран равным 0.1). Параметр качества докинга был выбран наивысшим, что включает использования меньшего угла вращения лиганда в сайте связывания в процессе докинга. В качестве оценочной функции использовали ChemGauss4, которая используется по умолчанию. Калибровка оценочной функции не осуществлялась, так как не было цели численно прогнозировать активность.

**Р.Г. Ефремов:** Использовали схему «одна конформация мишени - одна конформация лиганда»?

**Н.С. Темнякова:** Да.

**Р.Г. Ефремов:** Если так, то тот факт, что какие-либо из предложенных соединений «не дали конформаций, которые заполняют два симметричных кармана, где связываются все известные положительные аллостерические модуляторы (ПАМ) с высоким сродством», может просто означать, что не учли пластичность сайтов.

**Н.С. Темнякова:** Исходя из известных кристаллических структур в комплексе с различными ПАМ (их много - больше 30), отсутствует заметная вариация как боковых цепей в сайте связывания, так и основной цепи. Тем не менее, структуры, которые в результате докинга не заполняют вышеупомянутые карманы, оказались неактивны.

Сейчас подобный подход применяют все реже и реже – как правило, создают ансамбли репрезентативных состояний мишени и лиганда (например, полученных в ходе МД), после чего проводят докинг по схеме «все-на-все».

**Р.Г. Ефремов:** Да, в случае достаточно пластичных структур это необходимо делать.

**В.В. Поройков:** Обычно, при исследовании биологической активности каких-либо вновь синтезированных веществ ее сопоставляют с активностью препаратов сравнения. На слайде 10 Вашей презентации такого сравнения не приведено? Почему?

**Н.С. Темнякова:** Наше данные можно сравнить с хорошо известным РАМ АМРА-рецептора циклотиазидом (CTZ), измеренным при тех же условиях. Преимущество наших соединений в том, что они работают в концентрации 1 нМ, а циклотиазид дает такой же эффект при концентрации в 1000 раз более высокой 1 мкМ. И то, что он увеличивает токи настолько сильно в больших концентрациях, тоже не очень хорошо - это может вызвать серьезные побочные эффекты.

**В.В. Поройков:** Насколько я могу судить по данным литературы, одним из наиболее активных модуляторов АМРА рецепторов является 3-(2,4-Dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,2-d]pyrimidin-1-yl)-L-alanine 2(S)-Amino-3-(2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,2-d]pyrimidin-1-yl)propionic acid (Butini S. et al. 1H-cyclopentapyrimidine-2,4(1H,3H)-dione-related ionotropic glutamate receptors ligands. structure-activity relationships and identification of potent and Selective iGluR5 modulators J Med Chem 2008, 51(20): 6614). Какие преимущества у Ваших соединений по сравнению с этим веществом?

**Н.С. Темнякова:** Авторами предложены антагонисты, а не аллостерические модуляторы. Нам же в первую очередь интересуют положительные аллостерические модуляторы, которые, в частности, должны улучшать состояние больных с деменцией. Т.е. в статье речь идет о соединениях с принципиально иным действием.

**В.В. Поройков:** У Вашей презентации 8 соавторов; охарактеризуйте, пожалуйста, Ваш личный вклад в работу.

**Н.С. Темнякова:** Мной выполнялась работа по синтезу: подбор методик и условий проведения синтеза, постановка синтезов, выделение и очистка веществ, подтверждение структур всех соединений физико-химическими методами (ЯМР, HRMS).