

А. М. НАУМЕНКО¹, Л. М. ШАПОВАЛ², О. Ю. НИПОРКО¹, І. С. ВОЙТЕШЕНКО¹, О. В. ЦИМБАЛЮК¹,
В. Ф. САГАЧ², Т. Л. ДАВИДОВСЬКА¹

МОДЕЛЮВАННЯ МОЛЕКУЛЯРНОЇ ВЗАЄМОДІЇ БАКЛОФЕНУ І ГАМК_B-РЕЦЕПТОРА

Надійшла 28.08.15

У попередньому дослідженні ми провели реконструкцію просторової організації повнорозмірного ГАМК_B-рецептора за допомогою комп'ютерного моделювання [1]. Зважаючи на те, що селективним агоністом зазначених рецепторів є баклофен, у даній роботі ми здійснили пошук сайтів зв'язування молекул цього агента з екстрацелюлярною частиною ГАМК_{B1}-субодиниці згаданого рецептора, проаналізували молекулярну динаміку їх взаємодії і розрахували енергії невалентних взаємодій молекул досліджуваних рецептора та агоніста. Аналіз процесу докінга баклофену з екстрацелюлярною частиною ГАМК_B-рецептора за величиною та знаком енергії дозволив встановити три можливі сайти зв'язування вказаного агоніста з рецептором. З використанням методу молекулярної динаміки було ідентифіковано два сайти, здатні до стабільного утримання молекули баклофену ГАМК_B-рецептором.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: баклофен, ГАМК_B-рецептор, моделювання, докінг, молекулярна динаміка.

ВСТУП

ГАМК_B-рецептори належать до родини метаболічних рецепторів, поєднаних з G-протеїнами; в межах цієї родини ГАМК_B-рецептори є структурно найближчими до ГАМК_C-рецепторів. Функціональні ГАМК_B-рецептори існують у вигляді димерів, розташованих у плазматичній мембрані [2]. Ендогенним агоністом ГАМК_B-рецепторів є гамма-аміномасляна кислота (ГАМК) – основний гальмівний трансмітер у нервовій системі ссавців. На сьогодні ідентифіковано дві субодиниці, що формують ГАМК_B-рецептор, – R1 та R2. Як вважають, функціональні властивості ГАМК_B-рецепторів залежать від утворення гетероолігомерних комплексів, що включають у себе обидві субодиниці – R1 та R2 (ГАМК_{B1} і ГАМК_{B2}) [3–5]. Ці субодиниці приблизно на 35 % співпадають за своєю первинною структурою (послідовністю амінокислотних залишків). Субодиниця R1 зв'язує молекулу агоніста (ГАМК), а субодиниця R2 є відповідальною за активацію трьох шляхів передачі сигналу через комплекси G-протеїнів (Gαβγ) [3].

Завдяки активації ГАМК_B-рецепторів регулюються декілька складних процесів у нервовій системі, а саме інгібується активність аденілілциклази, зменшується агоністстимульований синтез інозитол-1,4,5-трифосфату, інгібуються активність потенціалкерованих кальцієвих каналів та активація калієвих каналів. Передача сигналу від ГАМК_B-рецепторів до аденілілциклази відбувається через комплекс протеїнів Gα1 та Gαo. Агоністзалежне зв'язування молекули G-протеїну забезпечується завдяки взаємодії з внутрішньоклітинним доменом (або декількома доменами) молекули субодиниці R2 (можливо, це відбувається з другою та третьою внутрішньоклітинними петлями її молекули). Калієві іонні канали, дія яких регулюється ГАМК_B-рецепторами, зазнають у даному випадку впливу через активацію βγ-комплексу G-протеїнів (Gβγ). Цей G-протеїновий комплекс також функціонально поєднує ГАМК_B-рецептори з пресинаптичними кальцієвими каналами N-, P- та T-типів. З використанням імуногістохімічних методів було встановлено, що R1- і R2-субодиниці коекспресуються практично в усіх регіонах мозку, хоча в просторовому розподілі вказаних функціональних субодиниць і спостерігаються деякі розбіжності. Кожна із субодиниць ГАМК_B-рецептора має велику зовнішню N-термінальну ділянку, за якою послі-

¹ Національний університет ім. Тараса Шевченка, Київ (Україна).

² Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).

Ел. пошта: ganna.naumenko@gmail.com (А. М. Науменко);
shapoval@biph.kiev.ua (Л. М. Шаповал).

довно розташовані сім трансмембранних доменів та внутрішньоклітинний С-термінал, функціонуючий як інструмент гетеродимеризації. Рецептори даного виду звичайно розрізняють за рівнем їх потреби в субодиниці R1 або R2 для гетеродимеризації. Вважають, що тільки після гетеродимеризації ГАМК_B-рецептор стає повністю функціональним [5]. Більш того, якщо вказані субодиниці експресуються роздільно, субодиниця R1 не здатна досягати зовнішньої поверхні клітинної мембрани, утримуючись на ендоплазматичному ретикулумі, а субодиниця R2 без R1 не здатна зв'язувати молекулу ГАМК. У стані спокою обидві субодиниці рецептора знаходяться у відкритій конформації, і тільки субодиниця ГАМК_{B1} закривається при агоністіндукованій активації рецептора. Молекули агоністів і антагоністів інjektуються в міждоменну щілину ГАМК_{B1}-субодиниці завдяки перекриванню позицій певних амінокислотних залишків останньої. Молекула антагоніста унеможливує перехід субодиниці ГАМК_{B1} до закритої конформації активного стану, в той час як молекула агоніста зумовлює замикання її домену для активації [6].

Нещодавно ми провели реконструкцію просторової організації повнорозмірного ГАМК_B-рецептора з використанням комп'ютерного моделювання [1]. Розрахунки молекулярної динаміки рецептора показали, що через 18 нс після початку обрахунків відбуваються компактизація інтрацелюлярних сегментів субодиниць рецептора та зближення їх трансмембранних частин, а після 36 нс реалізується взаємодія екстрацелюлярних частин. Для подальшого аналізу структурної організації ГАМК_B-рецептора та його перебудов, викликаних взаємодією із сигнальними молекулами, важливими є дослідження сайтів його взаємодії з агоністами.

Одним із селективних агоністів цих рецепторів є баклофен (β -(4-хлорофеніл)- γ -аміномасляна кислота); зараз він вважається найефективнішим серед таких агоністів. Ми намагалися за допомогою комп'ютерного моделювання провести пошук сайтів зв'язування молекули баклофену із екстрацелюлярною частиною V₁-субодиниці ГАМК_B-рецептора.

МЕТОДИКА

Для роботи із просторовою структурою агоніста та ГАМК_B-рецептора баклофену використовували базу даних хімічних сполук та сумішей PubChem

[7, 8]. Квантовомеханічний розрахунок зарядів атомів ізольованої молекули баклофену проводили за допомогою програмного пакета «GAUSSIAN03» для платформи Win32 [9]. Було використано веб-сервіс SwissParam, який надає топологічні дані та координати невеликих органічних молекул, сумісних із силовим полем CHARMM, для їх використання з «CHARMM» і «GROMACS» [10]. Для проведення пошуку сайтів взаємодії було використано SwissDock-веб-сервіс для прогнозування молекулярних взаємодій, що можуть реалізуватися між білком-мішенню та тією або іншою невеликою молекулою (на базі технології EADock DSS, наданої групою молекулярного моделювання Швейцарського інституту біоінформатики [11, 12]). Візуалізацію та аналіз характеристик контактних поверхонь здійснювали з використанням настільного програмного забезпечення «Discovery Studio Visualizer» (версії 2.0 та 2.5; «Accelrys Software Inc.», США; <http://accelrys.com/>). Стабільність обраного комплексу екстрацелюлярної частини ГАМК_B-рецептора з його агоністом (баклофеном) оцінювали за допомогою визначення довготривалої молекулярної динаміки в межах інтервалу 100 нс після початку взаємодії; використовували програмний пакет «GROMACS» (версія 4.6.3) [13]. Візуалізацію поведінки комплексу під час молекулярної динаміки здійснювали за допомогою програмного забезпечення «Visual Molecular Dynamics 1.6.1» [14].

Для розрахунків молекулярної динаміки в програмі «GROMACS» було одержано файли координат (*.gro) та топології (*.itp) молекули баклофену (веб-сервіс SwissParam). Файли координат та топології для екстрацелюлярної частини ГАМК_B-рецептора було отримано за допомогою модуля «pdb2gmx» з використанням силового поля CHARMM27 (all-atom force field). Структуру частини рецептора з приєднаною молекулою баклофену розміщували в боксі (модуль «editconf») з мінімальною відстанню від стінок боксу до атомів рецептора (10 Å, тобто 1.0 нм). Розрахунки молекулярної динаміки проводили у водному оточенні (модель SPC216, модуль «solvate»). Для нейтралізації системи додавали іони Na⁺ і Cl⁻. Оптимізації енергії моделей досягали за рахунок мінімізації вільної енергії з використанням обчислювальних модулів «grompp» та «mdrun». Розрахунки молекулярної динаміки проводили при температурі 300 °K; тривалість розрахунків складала 100 нс.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Комп'ютерна симуляція взаємодії молекули баклофену з ГАМК_B-рецептором. Просторову структуру субодиниці ГАМК_{B1a} (амінокислотні залишки 15–592 у первинній послідовності білка) було одержано завдяки молекулярному моделюванню повнорозмірного рецептора в наших попередніх дослідженнях (рис. 1, А; див. стор. 9) [1].

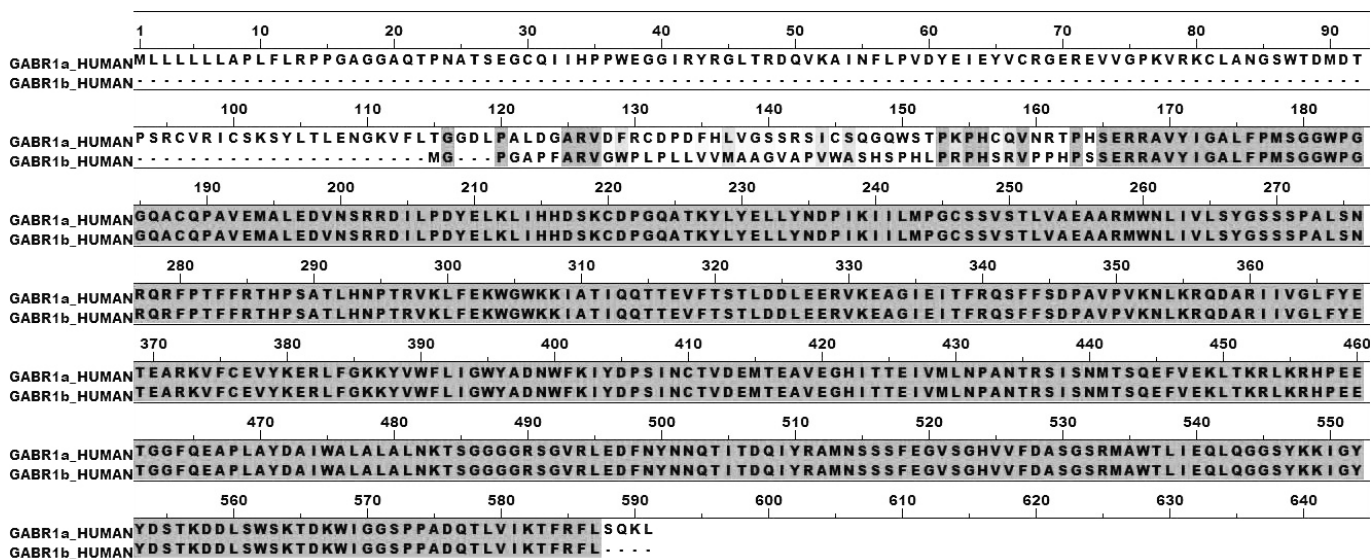
З використанням бази даних хімічних сполук та сумішей PubChem (рис. 1, Б) було отримано просторову структуру молекули баклофену (PubChem CID: 2284, молекулярна формула C₁₀H₁₂ClNO₂, молекулярна маса 213.66078 Д). За допомогою квантовомеханічних методів розрахунку в представленій роботі було оцінено, за Маллікеном [15], заряди на атомах ізольованої молекули баклофену (Б). Розрахунки виконували з використанням програмного пакета «GAUSSIAN03» для платформи Win32 [9] без структурних обмежень на рівні теорії DFT B3LYP/6-311++g(d,p). Було також розраховано коливальний спектр у гармонічному наближенні, та показано, що конформація молекули баклофену в реакційній кишені знаходиться в перехідному стані з уявною частотою $\nu_i = 96.64i \text{ см}^{-1}$.

Пошук сайтів взаємодії молекули баклофену з екстрацелюлярною частиною ГАМК_{B1}-субодиниці рецептора `nf yfcnegybq fyfksr nfrb[cfqnsd` проводили за допомогою веб-сервісу SwissDock, результати якого оцінювалися за параметрами FullFitness та вільної енергії зв'язування (ΔG) ліганду з рецептором. SwissDock виявив сім потенційних сайтів зв'язування агоніста з рецепторною частиною. Серед можливих варіантів зв'язування молекули баклофену з ГАМК_B-рецептором, запропонованих програмою «SwissDock», було обрано сайт зв'язування з агоністом (перший сайт), до якого увійшли такі амінокислотні залишки: Lys154, Pro155, His156, Cys157, Lys483, Thr484, Gly487, Gln508, Arg511, Ala512 та Ser515 (FullFitness: –3552.4094 ккал/моль; $\Delta G = -6.67$ ккал/моль) (рис. 2, А; див. стор. 9). Розрахунки молекулярної динаміки першого сайту зв'язування баклофену з екстрацелюлярною частиною ГАМК_{B1}-субодиниці рецептора показали, що в даній точці молекула баклофену утримувалася впродовж 100 нс (Б). Згідно з розрахунками коливань енергій невалентних взаємодій, даний комплекс є досить стабільним у часі (В). Розрахунки вільної енергії взаємодії ліганду та рецептора в даному сайті дали величину –91.5005 кДж/моль.

До другого сайту зв'язування з агоністом увійшли такі амінокислоти: Trp182, Ser247, Gly268, Ser270, Val318, Phe319, Tyr367, Ile393 та Trp395 (FullFitness: –3554.47 ккал/моль; $\Delta G = -6.95$ ккал/моль) (рис. 3, А; див. стор. 9). Після проведення процедури молекулярної динаміки виявилось, що в даному сайті баклофен утримувався впродовж усього часу розрахунків (Б). Розрахунки коливань енергій невалентних взаємодій показали, що даний комплекс також є стабільним у часі (В). Значення вільної енергії взаємодії ліганду та рецептора в даному сайті становило –45.2525 кДж/моль.

Як свідчили результати проведених досліджень, сайт зв'язування селективного агоніста ГАМК_B-рецептора баклофену, розташований під “клешнями”, є структурованим у три групи зі щільно розташованими амінокислотними залишками. Групи віддалені одна від одної на 326 та 79 амінокислотних залишків. У двох перших групах є амінокислотні залишки, які створюють неупорядковані щодо спіралізації ділянки поліпептидного ланцюга. Це гідрофобні амінокислоти Pro155, розташований у першій групі, з потенціалом спіралізації $\Delta G = (+3)$ кДж/моль та Gly487, розташований у другій групі, із $\Delta G = (0)$ кДж/моль. Загальновідомо [14], що амінокислота пролін є єдиною циклічною амінокислотою, в якій відсутня аміногрупа. Через таку особливість залишок даної амінокислоти не бере участі у формуванні водневих зв'язків; завдяки цьому утворюється чіткий вигин білкового ланцюга. Згідно зі значенням, якого набуває стандартна вільна енергія Гіббса, гліцин також є однією з найменш здатних до утворення α -спіралі амінокислот. Залишки гліцину, як і проліну, зустрічаються в тих ділянках поліпептидного ланцюга, які для досягнення найбільш щільної конформації повинні мати максимальний вигин. До складу першої та другої згаданих вище груп входять також полярні заряджені амінокислоти (Lys154, His156 та Lys483). Їх радикали несуть позитивний заряд та, як можна припустити, беруть участь в утворенні електростатичних зв'язків з молекулою баклофену. Крім того, відомо [19], що зазначені амінокислоти в поліпептидному ланцюзі функціонують як основи; вони здатні до депротонування.

Під “клешнями”, як відмічалось вище, розташовується третя група амінокислотних залишків, що входить до сайту зв'язування баклофену. Вона має високий ступінь спіралізації; в цій групі відсутні такі амінокислотні залишки, як пролін та гліцин.



Р и с. 4. Парне вирівнювання амінокислотних послідовностей екстрацелюлярних частин ГАМК_{B1a} - (GABR1a_Human) та ГАМК_{B1b} - (GABR1b_Human) субодиниць ГАМК_B-рецептора людини за допомогою програми «Clustal X (2.1)».

Усі амінокислоти даної групи мають негативне значення потенціалу спіралізації; зокрема, потенціали спіралізації Arg511 та Ala512 становлять -0.77 та -0.68 кДж/моль, що відповідає найбільшим значенням ΔG серед відомих 20 амінокислот. До складу цієї самої групи входить також залишок кеппінгової амінокислоти серину Ser515. Бічний ланцюг вказаної кислоти є здатним утворювати водневий зв'язок з поліпептидним остовом, чим полегшує формування межі між його спіральним та клубковим відрізками. Відомо також [14], що бічний ланцюг серину за присутності амінокислотного залишку поліпептидного ланцюга (в третій групі це може бути Arg511), функціонуючий як основа, може депротонуватися з утворенням оксианіона з високою реакційною здатністю. Можна думати, що цей оксианіон здатний утворювати зв'язок із баклофеном. До кеппінгових амінокислот сайту зв'язування, що розглядається, відноситься також залишок Thr484 (входить до складу другої групи амінокислот). У межах групи депротонування гідроксильної групи бічного ланцюга вказаного залишку може відбуватися за участі Lys484. Що ж до сайту зв'язування баклофену, розташованого в “клевнях” ГАМК_B-рецептора, то амінокислоти, що входять до його складу (Trp 182, Ser247, Gly268, Ser270, Val318, Phe319, Tyr367, Ile393 та Trp395), на відміну від таких сайту, розміщеного під “клевнями”, не утво-

рюють груп (більше двох) із близько розташованими амінокислотними залишками. Цей сайт не вміщує полярних заряджених амінокислотних залишків. До його складу входять гідрофобні, а також полярні незаряджені амінокислоти, а амінокислотний залишок Gly268 характеризується дуже низькою, як зазначалося вище, здатністю до спіралізації ($\Delta G = 0$ кДж/моль). Відомо [19], наприклад, що у білків-рецепторів амінокислотні залишки, до складу яких входить ароматичне кільце (на сайті зв'язування це Trp182, Phe319, Tyr367 та Trp395), можуть утворювати катіон- π -електрон-взаємодії з бічними позитивно зарядженими групами лігандів (сила ж катіон- π -електрон-взаємодій у три-чотири рази менша сили водневих зв'язків).

Таким чином, аналіз сайтів зв'язування баклофену з ГАМК_B-рецептором показав, що взаємодія цього селективного агоніста із сайтом зв'язування, розташованим під “клевнями”, вірогідно, відбувається переважно за рахунок електростатичних взаємодій, тоді як у “клевнях” – переважно за рахунок катіон- π -електрон-взаємодій. Враховуючи зазначене вище, можна думати, що стабілізація комплексу баклофен-сайт зв'язування ГАМК_B-рецептора, розташований під “клевнями”, вірогідно, відбувається переважно за рахунок електростатичних взаємодій бічних радикалів полярних заряджених амінокислот, що несуть виключно позитивний заряд, із не-

гатино зарядженою групою баклофену. В клешнях же це реалізується переважно за рахунок катіон-π-електрон-взаємодій, які, згідно з літературними джерелами [20], також мають електростатичну природу.

За даними літератури [6] щодо зв'язування екстрацелюлярної частини ГАМК_{B1a}-субодиниці ГАМК_B-рецептора з баклофеном, у щілині між "клешнями" молекула останнього може взаємодіяти з такими амінокислотними залишками, як Ser130, Ser153, His170 та Glu349, утворюючи водневі зв'язки. Також реалізуються екстенсивні ван-дер-ваальсові взаємодії молекули баклофену та Trp65 і Trp278. Trp278 і Tyr250, задіяних у кільце-стекинг-взаємодії з цим агентом.

Ідентичність амінокислотної послідовності екстрацелюлярної частини ГАМК_{B1a}-субодиниці ГАМК_B-рецептора та екстрацелюлярної частини ГАМК_{B1b}-субодиниці рецептора становить 73.8, а подібність – 74.8 % (рис. 4). Це пояснюється тим, що більша частина послідовностей є тотожною (амінокислотні залишки 165–587 для ГАМК_{B1a} та 48–470 для ГАМК_{B1b}). Інша частина послідовностей (амінокислотні залишки 115–164 для ГАМК_{B1a} та 1–47 для ГАМК_{B1b}) кардинально розрізняються між собою (ідентичність даного фрагмента послідовності становить 20, а подібність – 32 %). Також слід взяти до уваги, що екстрацелюлярна частина ГАМК_{B1a}-субодиниці рецептора, на відміну такої від ГАМК_{B1b}, має велику N-кінцеву ділянку.

Враховуючи зазначене, можна припустити, що в даному сайті баклофен зв'язується з такими амінокислотними залишками триптофану, як Trp182 та Trp395, утворюючи екстенсивні ван-дер-ваальсові зв'язки. Взаємодія баклофену з амінокислотними залишками серину Ser247 та Ser270 стабілізується за допомогою водневих зв'язків [6, 16], а з тирозином Tyr367 і, крім того, з триптофаном Trp395 формуються кільце-стекинг-взаємодії. Індольне кільце Tyr367 повертається на ~170° для розміщення β-хлорфенілового замісника баклофену. Це відрізняє даний етап від зв'язування рецептора з ГАМК та має вирішальне значення для визначення фармакологічного профілю баклофену [17].

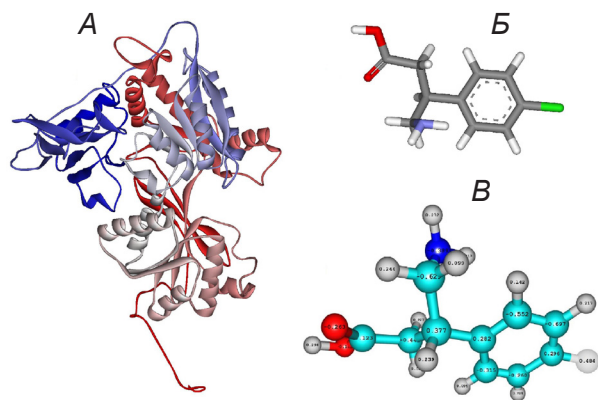
Дана робота не була пов'язана з будь-якими дослідженнями на людях або тваринах, і формальне підтвердження відповідності існуючим етичним нормам не було потрібно.

Автори роботи – А. М. Науменко, Л. М. Шаповал, О. Ю. Нипорко, І. С. Войтешенко, О. В. Цимбалюк, В. Ф. Сагач та Т. Л. Давидовська – підтверджують відсутність будь-яких конфліктів щодо комерційних або фінансових відносин, відносин з організаціями або особами, котрі будь-яким чином могли бути пов'язані з дослідженням, а також взаємовідносин співавторів статті.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

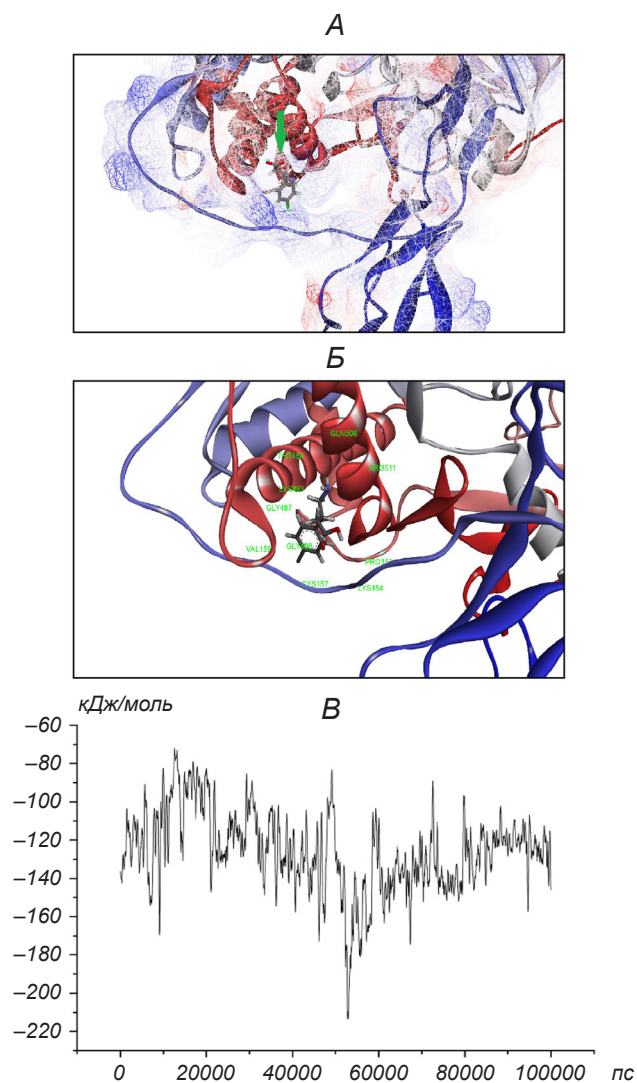
1. A. Yu. Nyporko, A. M. Naumenko, A. Golius, et al., "3D reconstruction of a full-size GABAB receptors," *Neurophysiology/Нейрофизиология*, **47**, 364-375 (2015).
2. N. G. Bowery and G. D. Pratt, "GABAB receptors as targets for drug action," *Arzneimittelforschung*, **42**, 215-223 (1992).
3. K. A. Jones, B. Borowsky, J. A. Tamm, et al., "GABA_B receptors function as a heteromeric assembly of the subunits GABA_BR1 and GABA_BR2," *Nature*, **396**, 674-679 (1992).
4. K. Kaupmann, B. Malitschek, V. Schuler, et al., "GABAB-receptor subtypes assemble into functional heteromeric complexes," *Nature*, **396**, 683-687 (1998).
5. J. H. White, A. Wise, M. J. Pain, et al., "Heterodimerization is required for the formation of a functional GABA_B receptors," *Nature*, **396**, 679-682 (1998).
6. Y. Geng, M. Bush, L. Mosyak, et al., "Structural mechanism of ligand activation in human GABA(B) receptors," *Nature*, **7479**, No. 504, 254-259 (2013).
7. S. Kim, P. A. Thiessen, E. E. Bolton, et al., "PubChem substance and compound databases," *Nucl. Acids Res.*, **44**, No. 1, 1202-1213 (2016).
8. Y. Wang, T. Suzek, J. Zhang, et al., "PubChem BioAssay: 2014 update," *Nucl. Acids Res.*, **42**, No. 1, 1075-1082 (2014).
9. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, et al., *Gaussian Revision*, Wallingford, CT (2004).
10. V. Zoete, M. A. Cuendet, A. Grosdidier, and O. Michielin, "SwissParam, a fast force field generation tool for small organic molecules," *J. Comput. Chem.*, **11**, No. 32, 2359-2368 (2011).
11. A. Grosdidier, V. Zoete, and O. Michielin, "SwissDock, a protein-small molecule docking web service based on EADock DSS," *Nucl. Acids Res.*, **39** (Web Server issue), W270-W277 (2011).
12. A. Grosdidier, V. Zoete, and O. Michielin, "Fast docking using the CHARMM force field with EADock DSS," *J. Comput. Chem.*, **32**, No. 10, 2149-2159 (2011).
13. S. Pronk, S. Pall, R. Schulz, et al., "GROMACS 45: a high throughput and highly parallel open source molecular simulation toolkit," *Bioinformatics*, **29**, 845-854 (2013).
14. K. T. O'Neil and W. F. DeGrado, "A thermodynamic scale for the helix-forming tendencies of the commonly occurring amino acids," *Science*, **250**, 646-665 (1990).
15. R. S. Mulliken, "Electronic population analysis on LCAO-MO molecular wave functions," *J. Chem. Phys.*, **23**, 1833-1840 (1955).
16. R. Costantino, A. Macchiarulo, A.-E. Guadix, and R. Pellicciari, "QSAR and molecular modeling studies of baclofen analogues as GABAB agonists. Insights into the role

- of the aromatic moiety in GABAB binding and activation,” *J. Med. Chem.*, **44**, 1827-1832 (2001).
17. T. C. Galvez, L. Prezeau, G. Milioti, et al., “Mapping the agonist binding site of GABAB type 1 subunit sheds light on the activation process of GABAB receptors,” *J. Biol. Chem.*, **275**, 411666-411674 (2000).
18. C. S. Cassidy, J. Lin, and P. A. Frey, “A new concept for the mechanisms of action of chymotrypsin: the role of the low-barrier hydrogen bond,” *Biochemistry*, **36**, 4576-4584 (1997).
19. J. P. Gallivan and D. A. Dougherty, “A computational study of cation- π interactions vs salt bridges in aqueous median. Implications for protein engineering,” *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 870-874 (2000).
20. R. Wintjens, J. Lievin, M. Rooman, and E. Buisine, “Contribution of cation- π interactions to the stability of protein-DNA complexes,” *Mol. Biol.*, **302**, No. 2, 395-410 (2000).



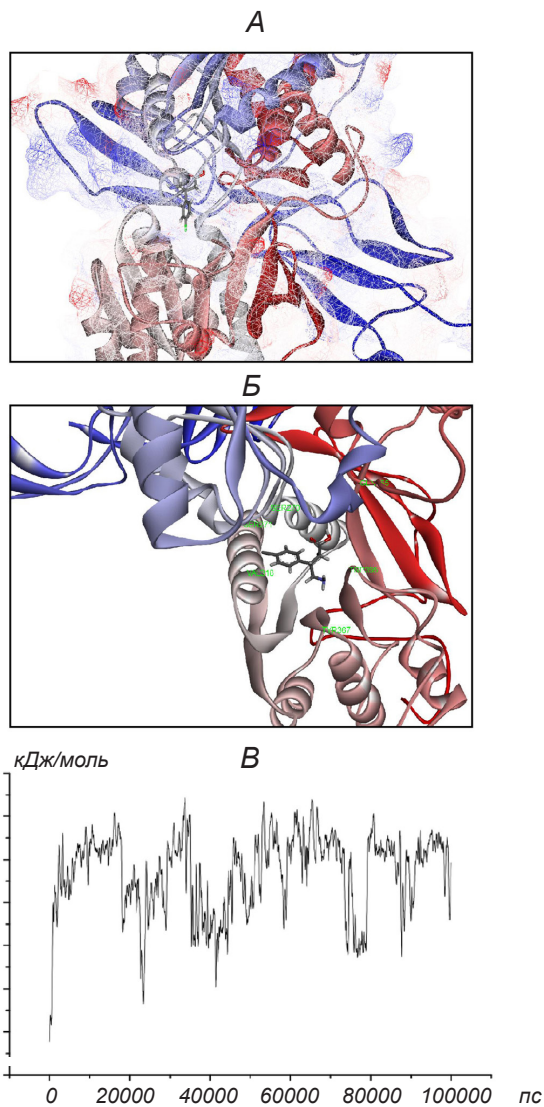
Р и с. 1. Комп'ютерна модель ГАМК_B-рецептора і молекули його специфічного агоніста баклофену.

A – просторова структура екстрацелюлярної частини ГАМК_B-субодиниці ГАМК_B-рецептора; *Б* – тривимірна модель молекули баклофену, одержана з бази даних хімічних сполук та сумішей PubChem (PubChem CID: 2284); *В* – розподіл зарядів на атомах молекули баклофену, за Маллікеном [15].



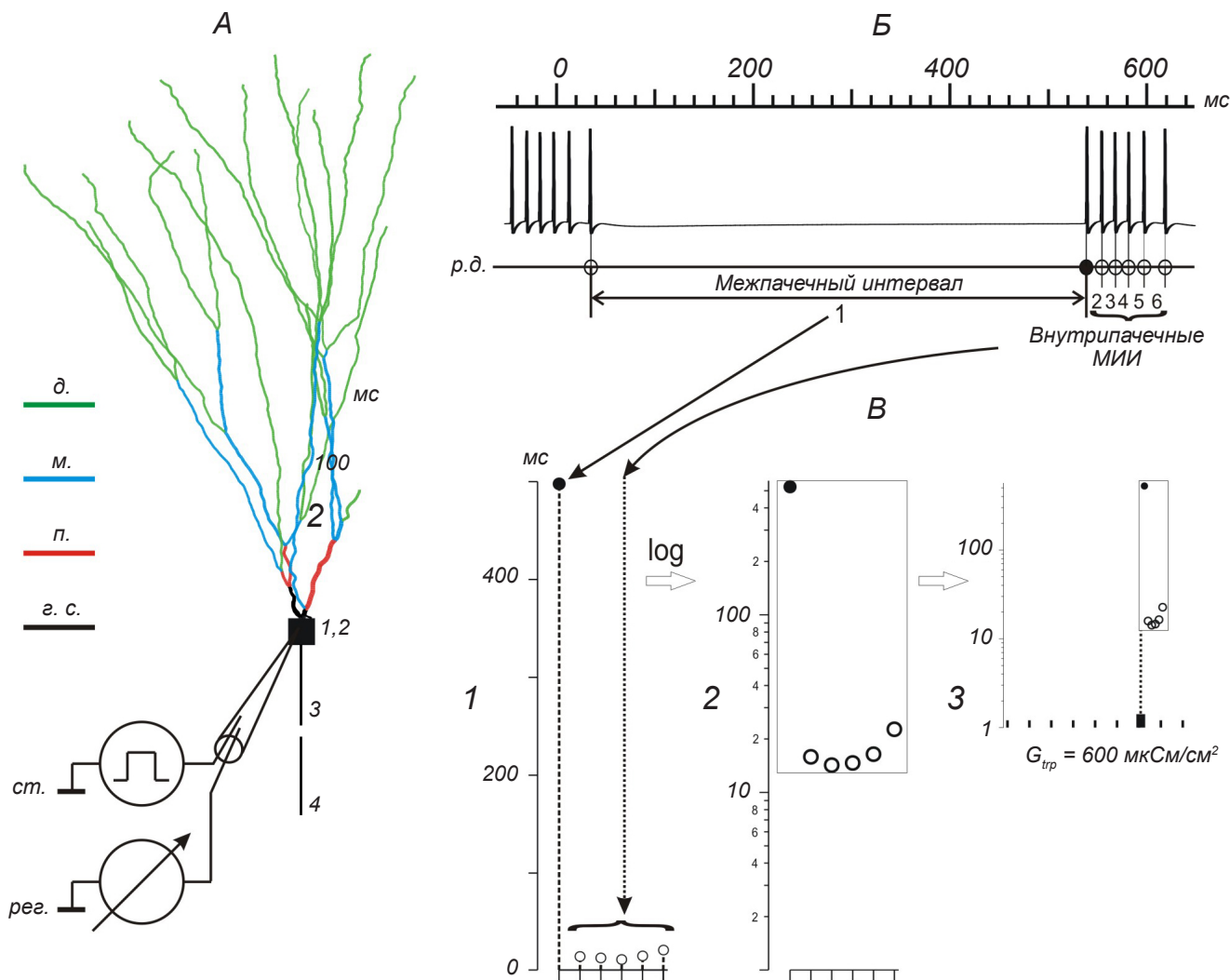
Р и с. 2. Положення молекули баклофену в першому сайті зв'язування з ГАМК_B-рецептором.

A – молекулярний докінг; *Б* – взаємодії молекули баклофену після 100 нс молекулярної динаміки; *В* – розрахунки коливань енергій невалентних взаємодій екстрацелюлярної частини ГАМК_B-субодиниці рецептора з баклофеном під час процедури молекулярної динаміки протягом 100 нс.



Р и с. 3. Положення молекули баклофену в другому сайті зв'язування з ГАМК_B-рецептором.

A – молекулярний докінг; *Б* – взаємодії молекули баклофену після 100 нс процедури молекулярної динаміки; *В* – розрахунки коливань енергій невалентних взаємодій екстрацелюлярної частини ГАМК_B-субодиниці рецептора з баклофеном під час процедури молекулярної динаміки протягом 100 нс.



Р и с. 1. Модель гранулярного нейрона (ГН) и схема анализа его импульсной активности.

A – структура модели ГН, включающей в себя цилиндрические сому и аксон, а также реконструированное дендритное дерево; ветви последнего объединены в четыре группы: лежащие в гранулярном слое (*г. с.*), проксимальные (*п.*), медиальные (*м.*) и дистальные (*д.*) – цветная шкала слева. Аксон состоит из четырех секций, соответствующих аксонному холмику (секции 1 и 2), начальному сегменту (секция 3) и основному стволу (секция 4, на схеме усечена). Местом приложения электрических стимулов (*ст.*) и регистрации (*рег.*) ответов является сома, представленная одной секцией. *Б*, *Б* – схема анализа импульсной активности: *Б* – импульсная активность в виде периодически повторяющихся пачек потенциалов действия (ПД) и ее растровая диаграмма (*р.д.*); *В* – схема анализа межимпульсных интервалов (МИИ): 1 – интервалограмма; межпачечные и внутрипачечные МИИ (1 и 2–6 соответственно) представлены соответственно черным и белыми кружками в линейном (*Б*, 1) и логарифмическом (*Б*, 2) масштабах; *В*, 3 – та же интервалограмма, сопоставленная со сравнительной диаграммой (см. рис. 5, *A*, 2); указана проводимость TRP-каналов, при которой была получена запись (*Б*).

Р и с. 1. Модель гранулярного нейрона і схема аналізу його імпульсної активності.