

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2023.04.076>

УДК 57.577

Є.О. Кустовський^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0002-1536-3897>

А.І. Ємець^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-6887-0705>

¹ Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, Київ

² Національний університет «Кієво-Могилянська академія», Київ

E-mail: ykustovskiy@gmail.com, yemets.alla@nas.gov.ua

Визначення патернів алостеричної взаємодії івермектину з глутаматзалежним хлоридним іонним каналом *Caenorhabditis elegans*

Представлено членом-кореспондентом НАН України А.І. Ємець

Визначено структурні патерни алостеричної взаємодії івермектину (речовини з антигельмінтною та інсектицидною дією) з α -гомопентамерним глутаматзалежним хлоридним каналом *Caenorhabditis elegans*. Встановлено, що сайт взаємодії івермектину з GluClA *C. elegans* переважно складається з гідрофобних, аліфатичних, полярних та малих амінокислотних залишків. Макроциклічне лактонне кільце молекули івермектину має високу афінність до патерну V—I—G—A—M, утвореного амінокислотними залишками V278, I280, G281, A282, M284, які належать до M3 (+) субодиниці, та патерну I—V—D—L (залишки I273 M2-M3, D277, V278 M3 (+) субодиниці та L218 M1 (-) субодиниці). Спірокетальна група івермектину взаємодіє з патерном M—T—F—C—M—I (залишки M284, T285, F288, які є частиною M3 (+) субодиниці, та C225, M226, I229 M1 (-) субодиниці). У випадку бензофуранової групи кількісно переважають взаємодії з малими та полярними залишками, а контактів з гідрофобними залишками найменше з усіх груп цієї речовини, що відображається в патерні T—A—S—N—D—I—L—Q—I—P (залишки T257, A258, S260, N264 M2, D277, I280 M3 (+) субодиниці та L218, Q219, I222, P223 M1 (-) субодиниці). Отримані дані можуть бути використані для пошуку нових молекулярних мішеней івермектину, а також для створення нових ефективних лігандів з високою афінністю до ідентифікованих мішеней івермектину в різних еукаріотичних організмів.

Ключові слова: івермектин, *Caenorhabditis elegans*, глутаматзалежні хлоридні канали, моделювання *in silico*.

Репрофілювання речовин з встановленою терапевтичною активністю — це підхід у сучасному драг-дизайні, що передбачає пошук нових потенційних мішеней для відомих лігандів і дає змогу значно знизити фінансові та часові потреби, а також можливі ризики у порівнянні з традиційним дослідженням і виявленням нових агентів [1]. Актуальним є його

Цит у в а н н я: Кустовський Є.О., Ємець А.І. Визначення патернів алостеричної взаємодії івермектину з глутаматзалежним хлоридним іонним каналом *Caenorhabditis elegans*. Допов. Нац. акад. наук Укр. 2023. № 4. С. 76—84. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2023.04.076>

© Видавець ВД «Академперіодика» НАН України, 2023. Стаття опублікована за умовами відкритого доступу за ліцензією CC BY-NC-ND (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

застосування також для біологічних досліджень з метою пошуку ефективних сполук для захисту рослин від біотичних стресів, зокрема нематод, комах, патогенних грибів тощо [2, 3]. Івермектин, який є сумішшю 22,23-дигідроівермектину B1a (IVM) та B1b, — відомий агент з достатньо широким спектром дії, який застосовується переважно для контролю паразитичних безхребетних, оскільки характеризується вираженою антигельмінтною та інсектицидною активністю [4]. Взаємодії івермектину з гомо- та гетеропентамерними глутаматзалежними хлоридними рецепторами нематод (GluCl) добре вивчено, але повне профілювання сайту зв'язування івермектину з цим каналом досі не було здійснено. Визначення груп амінокислотних залишків, що мають найвищий внесок у афінність комплексу білка та ліганду, є типовою процедурою в драг-дизайні за наявності структурної інформації відомих, але еволюційно віддалених мішеней, яка дає можливість встановити спільні властивості сайтів зв'язування ліганду і в такий спосіб спростити його репрофілювання [6]. У зв'язку з цим метою дослідження було виявити та описати залишки, що утворюють сайт алостеричної взаємодії івермектину з GluCl *Caenorhabditis elegans*, їхні фізико-хімічні властивості, а також патерни амінокислотних залишків з високою спорідненістю до функціональних груп івермектину.

Матеріали і методи. Для профілювання було вибрано два комплекси IVM з GluCl *C. elegans*, структури яких раніше отримано R.E. Hibbs і E. Gouaux за допомогою рентгено-структурного аналізу [7], що мають PDB ідентифікатори 3RHW (комплекс лише з IVM) та 3RIF (комплекс з IVM та L-глутаматом). Дослідження сайту зв'язування IVM з GluCl проведено у форматі SeeSAR v. 12.1.0 і передбачало визначення фізико-хімічних властивостей сайту зв'язування після ліганд-білкової адаптації за допомогою алгоритмів режиму Binding Site Mode (структури IVM були попередньо видалені з сайтів) [8]. Залишки, що входять до складу сайту зв'язування IVM з GluCl, було проаналізовано та розподілено між множинами класифікації Тейлора, що ґрунтується на стереохімічних властивостях амінокислот [9]. Взаємозв'язки структури та активність (SAR) комплексів проаналізовано за допомогою функції HYDE режиму Analyzer Mode, що оцінює внесок кожного атома в афінність комплексу на основі процесів десольвації під час зв'язування ліганду з білком та утворення водневих зв'язків між ними [10]. На додаток до оцінювання HYDE проведено ригідний редокінг у GOLD v. 5.1 (скоринг — емпірична функція ChemPLP [11], рескоринг — статистична функція ASP [12]) з подальшими налаштуваннями: для кожної позиції IVM (всього п'ять на комплекс) зроблено 100 ітерацій генетичного алгоритму з точністю 100 %; для кожного з отриманих рішень розраховано середнє квадратичне відхилення (RMSD) від референтної структури; результати скорингу кластерів з 10 найближчих сусідів, що мали найменше RMSD від референтних структур, експортовано для аналізу в Excel.

Результати та їх обговорення. Необхідно зазначити, що GluCl є типовим Cys-петльовим рецептором, який складається з п'яти однакових (гомопентамерний комплекс) чи різних (гетеропентамерний комплекс) субодиниць, кожна з яких містить позамембранний, трансмембранний і внутрішньоклітинний домени. Сайт зв'язування IVM з гомопентамерним GluCl знаходиться між трансмембранними доменами двох субодиниць рецептора і містить залишки, що входять до складу спіралей M2, M2—M3 та M3 (+) субодиниці й спіралі M1 (-) субодиниці [7]. Отже, сайт зв'язування IVM після ліганд-білкової адаптації відтворено в п'яти подібних конформаційних станах кожної структури. Результати аналізу фізико-хімічних властивостей сайту наведено в табл. 1. Зокрема,

було встановлено високий показник гідрофобності, який у середньому становив 0,7 за шкалою від 0 до 1, що узгоджується з відомою ліпофільністю IVM [4], а також середній об'єм сайту — 55,04 нм³.

З огляду на відмінності в якісному та кількісному складі амінокислотних залишків сайту в його різних конформаційних станах було створено консенсусний перелік залишків, який містить кожен залишок, що наявний хоча б в одному конформаційному стані сайту, і нараховує 24 залишки (+) субодиниці та 19 залишків (-) субодиниці. Слід зазначити, що цей перелік ґрунтується на двох статичних структурах рецептора в комплексі з IVM, а тому не може вважатися повним; для створення повного переліку залишків необхідно здійснити конформаційний семплінг рецептора, застосувавши метод молекулярно-динамічних симуляцій, що виходить за межі цього дослідження.

Класифікацію 20 канонічних амінокислот за Тейлором наведено у вигляді діаграми Венна на рис. 1, а, яку було адаптовано з джерела [9]. Відповідно до цієї класифікації амінокислота може мати від однієї (метіонін, глутамін) до п'яти (гістидин) характеристик, відображених на діаграмі у вигляді множин, що перетинаються. У результаті розподілу залишків консенсусного переліку між множинами було встановлено, що у складі сайту переважають гідрофобні, малі, полярні та аліфатичні залишки, а також практично немає заряджених амінокислот (див. рис. 1, б). При цьому серед гідрофобних аліфатичних залишків домінують ізолейцин (I) і лейцин (L), серед ароматичних — фенілаланін (F), а серед малих за розміром — аланін (A). Серед полярних, малих за розміром залишків чисельно превалює серин (S), практично немає цистеїну (C), який у складі сайту наявний лише в редукованій формі C_{S-H}, а також лізину (K), аспарагіну (N) та аспарагінової

Таблиця 1. Фізико-хімічні властивості сайту зв'язування IVM з GluCl_α, визначені за допомогою алгоритмів SeeSAR режиму Binding Site Mode

Структура (PDB id)	Розташування (субодиниці)	Залишки (кількість)			Гідрофобність (0—1)	Об'єм, нм ³
		Загалом	Донори	Акцептори		
3RHW	A—B	20	8	15	0,71	48,90
	B—C	29	16	25	0,65	57,05
	C—D	20	10	15	0,71	48,25
	D—E	27	13	23	0,70	61,58
	E—A	28	17	24	0,68	59,70
	x_{\min}	20	8	15	0,65	48,25
	x_{\max}	29	17	25	0,71	61,58
	\bar{x}	25	13	20	0,69	55,10
3RIF	A—B	28	15	23	0,69	62,36
	B—C	20	9	16	0,71	44,06
	C—D	25	12	22	0,70	62,21
	D—E	19	9	16	0,71	46,90
	E—A	27	13	23	0,70	59,38
	x_{\min}	19	9	16	0,69	44,06
	x_{\max}	28	15	23	0,71	62,36
	\bar{x}	24	12	20	0,70	54,98

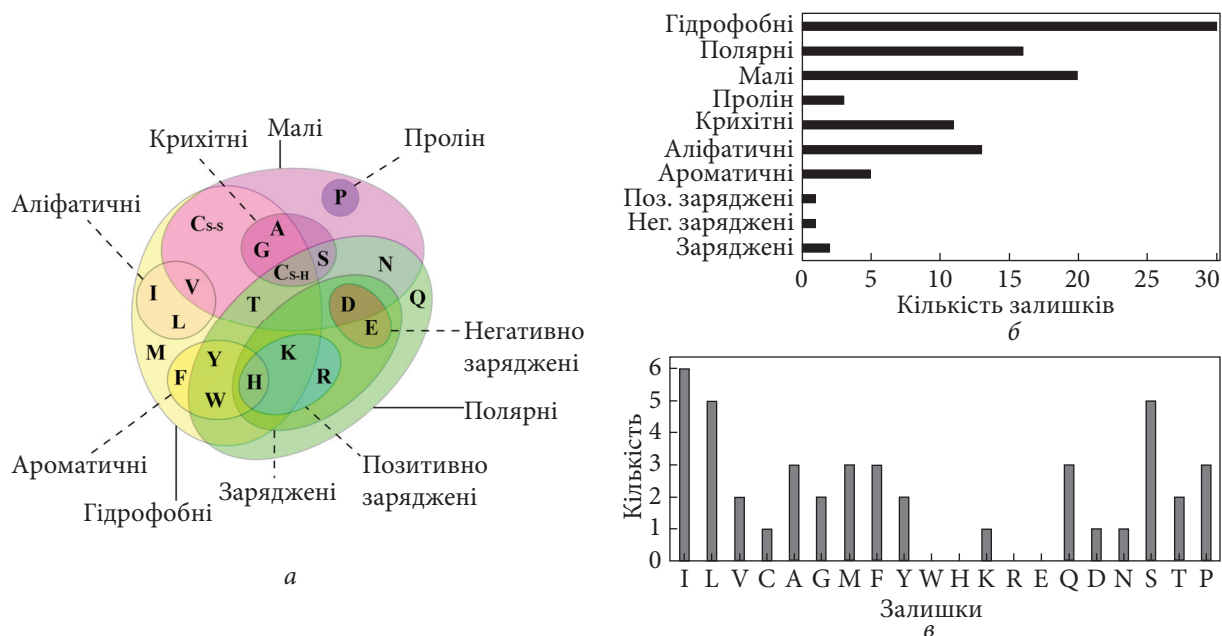


Рис. 1. Кількісне співвідношення залишків, що входять до сайту зв'язування IVM з GluCl α , та їхня класифікація за Тейлором: *а* — діаграма Венна—Тейлора; *б* — розподіл залишків сайту за властивостями між множинами класифікації Тейлора; *в* — кількісне співвідношення залишків сайту

кислоти (D). Зовсім немає триптофану (W), гістидину (H), аргініну (R) та глутамінової кислоти (E). Кількісне співвідношення залишків у складі консенсусного переліку проілюстровано на рис. 1, в.

Як можна бачити на рис. 2, б, молекула IVM складається з відносно жорсткого 16-членного макроциклічного лактонного кільця, стабілізованого за рахунок спільних зв'язків з іншими групами IVM та подвійних зв'язків між sp^2 -гібридизованими атомами вуглецю, яке, за винятком естерного сегмента, є неполярним; до макроциклічного кільця приєднана гнучка та полярна дисахаридна група, жорстка та полярна бензофуранова група, що складається з циклогексену і тетрагідрофуранового кільця, а також спірокетальна група, структура та жорсткість якої може накладати стеричні обмеження під час зв'язування з білками. Положення IVM у сайті і механізм алостеричного відкриття каналу в разі подвійного зв'язування з рецептором IVM та L-глутамату було раніше описано R.E. Hibbs і E. Gozauх [7]. Положення IVM характеризується глибоким зануренням макроциклічного кільця та бензофуранової групи молекули в порожнину, сформовану M3 та M2 (+) субодиниці і M1 (-) субодиниці (див. рис. 2, а, в). При цьому макроциклічне кільце і спірокетальна група контактують переважно із залишками M3 та M1, а бензофуранова група знаходиться в проксимальній частині інтерфейсу в полярному та негативно зарядженому оточенні, що, зважаючи на дві гідроксильні групи, які є донорами, спричиняє виникнення водневих зв'язків з OG S260 M2 та O L218; інший водневий зв'язок встановлюється між атомом кисню першого кільця спірокетальної групи і T285, що контактує із зовнішньою поверхнею сайту. Атоми *сек*-бутилу, приєднаного до другого кільця цієї групи, відповідно до оцінювання HYDE мають позитивний внесок у афінність комплексу, що, ймовірно, зумовлює відмінності в афінності між IVM та мінорною

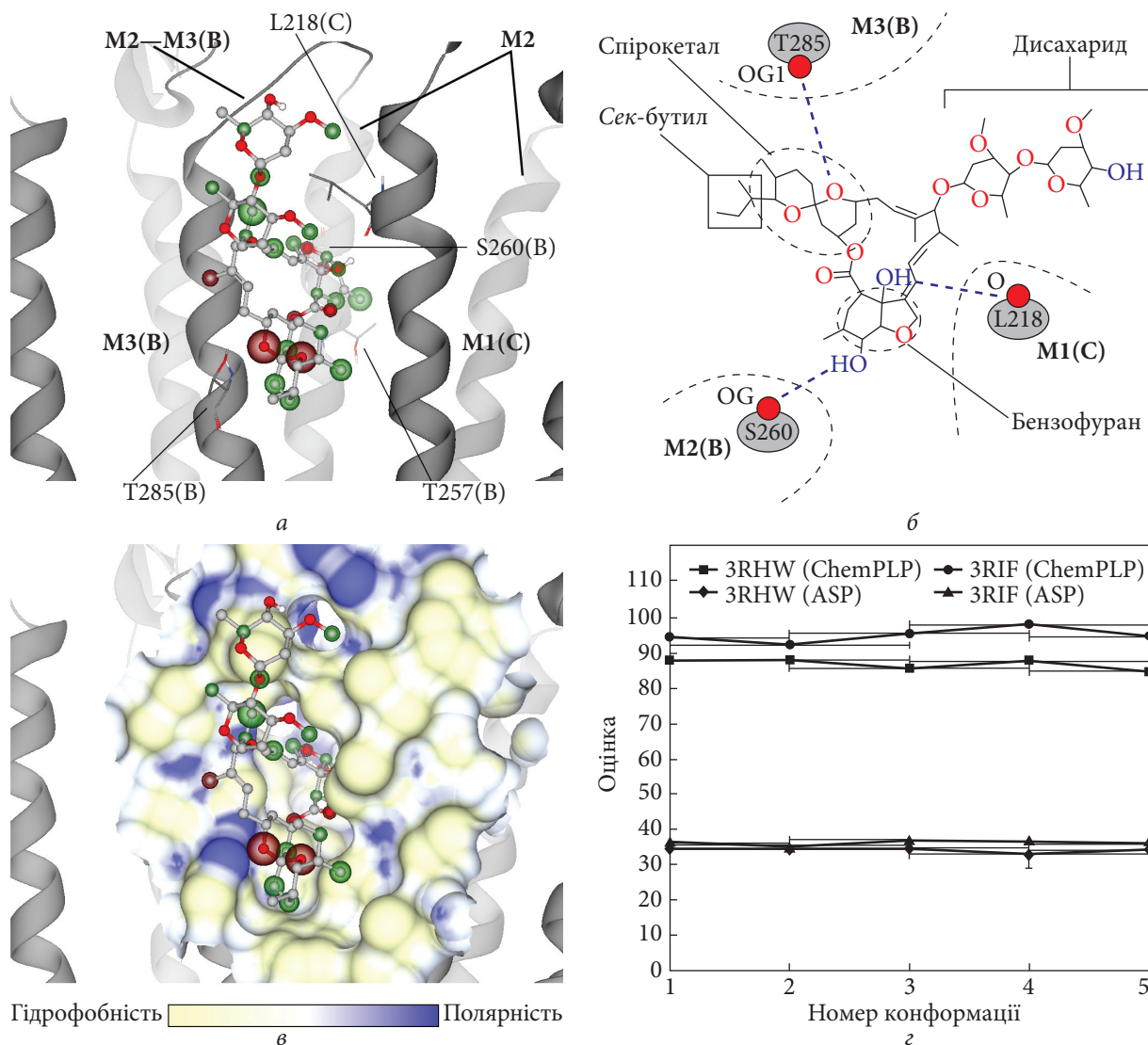


Рис. 2. Особливості зв'язування IVM із сайтом GluCl α : *а* — положення IVM у сайті (на прикладі інтерфейсу В—С субодиниці); *б* — схематичне відображення водневих зв'язків IVM: структурна формула молекули, отримана за допомогою програмного забезпечення ACD/ChemSketch (Freeware); *в* — забарвлення поверхні сайту відповідає шкалі гідрофобності—полярності; *г* — порівняння результатів ригідного редокінгу IVM до сайтів GluCl α

(не більш як 10 %) В1в формою суміші івермектину, яка містить ізопропіл замість сек-бутилу. Дисахаридна група IVM контактує з М2—М3, М3 та М1, проте внаслідок розташування за межами інтерфейсу вона не відіграє важливої ролі у зв'язуванні, що також було з'ясовано раніше [7]. Відповідно до оцінювання HYDE взаємодії IVM з комплексом 3RHW мають мікромольну афінність, тоді як у взаємодіях з комплексом 3RIF афінність більшості конформацій IVM у інтерфейсі сайту оцінюється як перехідна між наномольною та мікромольною. Отже, афінність підвищується внаслідок конформаційних змін, зумовлених подвійним зв'язуванням з рецептором IVM та L-глутамату, що узгоджується

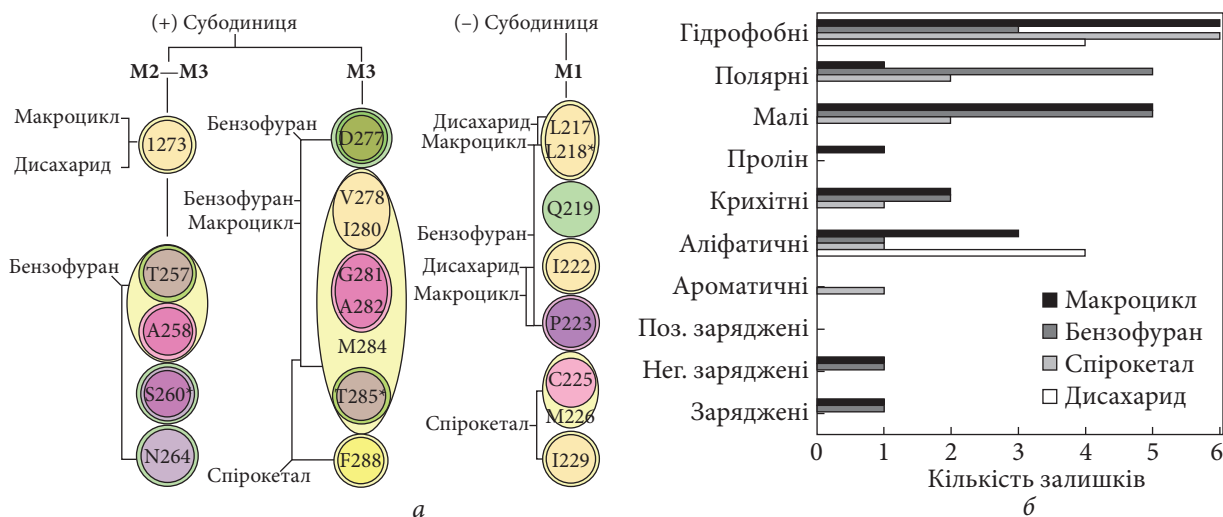


Рис. 3. Класифікація залишків сайту, що взаємодіють з IVM: *а* — ієрархічне відображення на основі властивостей залишків, елементів вторинної, третинної та четвертинної структури білка, до яких вони входять, а також підструктур IVM, з якими вони взаємодіють (зірочкою позначено залишки, що задіяні у водневих зв'язках з IVM); *б* — гістограма, яка відображає кількісне співвідношення властивостей залишків, що взаємодіють з підструктурами IVM

з літературними даними і вказує на відносно високу точність оцінювання HYDE [3, 6]. Аналогічний висновок про відмінності в афінностях можна також зробити на основі результатів ригідного редокінгу в GOLD, що відображені на рис. 2, б. При цьому відмінності більш значні між оцінками комплексів функцією ChemPLP порівняно з ASP: середні значення ChemPLP становлять $86,89 \pm 1,50$ для 3RHW і $95,05 \pm 1,90$ для 3RIF, а середні значення ASP — $34,22 \pm 2,57$ для 3RHW і $36,21 \pm 0,67$ для 3RIF. Потрібно враховувати, що склад залишків сайту, а отже, і показники їхньої афінності до IVM будуть відрізнятися для гомо- та гетеропентамерних Cys-петльових рецепторів, останні з яких не вивчалися в цьому дослідженні.

Структурний патерн — це група залишків, об'єднаних за просторовим розташуванням та фізико-хімічними властивостями. Тоді як порівняння сайтів зв'язування гомологічних білків може бути здійснене за допомогою вирівнювання сайтів, таке вирівнювання не може бути застосоване для еволюційно віддалених мішеней через відмінності в послідовностях. Визначення локальних збігів у групах залишків сайтів (структурних патернів), що мають високу афінність до структур відомих лігандів, дає можливість ідентифікувати ймовірні сайти на негомологічних мішенях. На основі встановлених фізико-хімічних властивостей сайту, якісного та кількісного складу його залишків, результатів оцінювання афінності та аналізу SAR були виявлені структурні патерни, що характеризуються високою спорідненістю з функціональними групами молекули IVM. Отже, для макроциклічного кільця характерні контакти з гідрофобними, малими та аліфатичним залишками, що містить патерн V—I—G—A—M (залишки V278, I280, G281, A282, M284, які належать до M3 (+) субодиноці) і патерн I—V—D—L (залишки I273 M2-M3, D277, V278 M3 (+) субодиноці та L218 M1 (-) субодиноці), відображені на рис. 3, а. Спірокетальна група IVM взаємодіє з гідрофобними, малими та полярними залишками: патерн M—T—F—C—M—I

(залишки M284, T285, F288, які є частиною M3 (+) субодиноці, та C225, M226, I229 M1 (-) субодиноці). У випадку бензофуранової групи кількісно переважають взаємодії з малими та полярним залишками, а контактів з гідрофобними залишками найменше з усіх груп IVM, що відображається у патерні T—A—S—N—D—I—L—Q—I—P (залишки T257, A258, S260, N264 M2, D277, I280, M3 (+) субодиноці та L218, Q219, I222, P223 M1 (-) субодиноці). Дисахаридна група взаємодіє з гідрофобними та аліфатичним залишками I273 M2—M3 (+) субодиноці, L217, L218 та I222 M1 (-) субодиноці, що, ймовірно, структурно обумовлюється її розташуванням поза межами сайту, гнучкістю та довжиною, а також довжиною бічних ланцюгів зазначених залишків. Визначені патерни білка, споріднені з IVM, можуть бути використані для пошуку сайтів зв'язування IVM на інших, еволюційно віддалених мішенях, взаємодії з якими в подальшому можуть бути досліджені за допомогою експериментальних методів. Знання патернів також може бути застосоване для дизайну нових біологічно активних сполук на основі скефолду івермектину, а також пошуку подібних за структурою лігандів для відомих мішеней IVM, що до того ж дасть змогу розширити перелік антипаразитичних агентів.

Висновки. За результатами профілювання сайту алостеричної взаємодії IVM з GluCl α *C. elegans* визначено його фізико-хімічні властивості, обумовлені якісним та кількісним складом залишків послідовності сайту. Встановлено взаємозв'язки між властивостями залишків та їх внеском у афінність, виявлено типові структурні патерни білка, що мають високу спорідненість з функціональними групами IVM. Визначені структурні патерни у подальшому можуть бути відкориговані, а їх перелік розширений з урахуванням SAR інших комплексів з IVM, що наявні у PDB.

Роботу виконано за фінансування НАН України (бюджетна програма КПКВК 6541230).

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

- Mittal N., Mittal R. Repurposing old molecules for new indications: defining pillars of success from lessons in the past. *Eur. J. Pharmacol.* 2021. **912**. 174569. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174569>
- Boudwin R., Magarey R., Jess L. Integrated pest management data for regulation, research, and education: crop profiles and pest management strategic plans. *J. Integr. Pest Manag.* 2022. **13**, № 1. 13. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmac011>
- Habschied K., Krstanović V., Zdunić Z., Babić J., Mastanjević K., Šarić G.K. Mycotoxins biocontrol methods for healthier crops and stored products. *J. Fungi.* 2021. **7**, № 5. 348. <https://doi.org/10.3390/jof7050348>
- Martin R.J., Robertson A.P., Choudhary S. Ivermectin: an anthelmintic, an insecticide, and much more. *Trends Parasitol.* 2021. **37**, № 1. P. 48—64. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.10.005>
- Ashraf S., Beech R.N., Hancock M.A., Prichard R.K. Ivermectin binds to *Haemonchus contortus* tubulins and promotes stability of microtubules. *Int. J. Parasitol.* 2015. **45**, № 9—10. P. 647—654. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.03.010>
- Salentin S., Haupt V.J., Daminelli S., Schroeder M. Polypharmacology rescored: protein–ligand interaction profiles for remote binding site similarity assessment. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2014. **116**, № 2—3. P. 174—186. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2014.05.006>
- Hibbs R.E., Gouaux E. Principles of activation and permeation in an anion-selective Cys-loop receptor. *Nature.* 2011. **474**, № 7349. P. 54—60. <https://doi.org/10.1038/nature10139>
- Volkamer A., Griewel A., Grombacher T., Rarey M. Analyzing the topology of active sites: on the prediction of pockets and subpockets. *J. Chem. Inf. Model.* 2010. **50**, № 11. P. 2041—2052. <https://doi.org/10.1021/ci100241y>
- Valdar W.S.J. Scoring residue conservation. *Proteins.* 2002. **48**, № 2. P. 227—241. <https://doi.org/10.1002/prot.10146>

10. Schneider N., Lange G., Hindle S., Klein R., Rarey M. A consistent description of HYdrogen bond and DEhydration energies in protein–ligand complexes: methods behind the HYDE scoring function. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 2013. **27**, № 1. P. 15–29. <https://doi.org/10.1007/s10822-012-9626-2>
11. Korb O., Stütze T., Exner T.E. Empirical scoring functions for advanced protein–ligand docking with PLANTS. *J. Chem. Inf. Model.* 2009. **49**, № 1. P. 84–96. <https://doi.org/10.1021/ci800298z>
12. Mooij W.T.M., Verdonk M. L. General and targeted statistical potentials for protein–ligand interactions. *Proteins*. 2005. **61**, № 2. P. 272–287. <https://doi.org/10.1002/prot.20588>

Надійшло до редакції 16.03.2023

REFERENCES

1. Mittal, N. & Mittal, R. (2021). Repurposing old molecules for new indications: defining pillars of success from lessons in the past. *Eur. J. Pharmacol.*, 912, 174569. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174569>
2. Boudwin, R., Magarey, R. & Jess, L. (2022). Integrated pest management data for regulation, research, and education: crop profiles and pest management strategic plans. *J. Integr. Pest Manag.*, 13, No. 1, 13. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmac011>
3. Habschied, K., Krstanović, V., Zdunić, Z., Babić, J., Mastanjević, K. & Šarić, G. K. (2021). Mycotoxins biocontrol methods for healthier crops and stored products. *J. Fungi*, 7, No. 5, 348. <https://doi.org/10.3390/jof7050348>
4. Martin, R. J., Robertson, A. P. & Choudhary, S. (2021). Ivermectin: an anthelmintic, an insecticide, and much more. *Trends Parasitol.*, 37, No. 1, pp. 48–64. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.10.005>
5. Ashraf, S., Beech, R. N., Hancock, M. A. & Prichard, R. K. (2015). Ivermectin binds to *Haemonchus contortus* tubulins and promotes stability of microtubules. *Int. J. Parasitol.*, 45, No. 9–10, pp. 647–654. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.03.010>
6. Salentin, S., Haupt, V. J., Daminelli, S. & Schroeder, M. (2014). Polypharmacology rescored: protein–ligand interaction profiles for remote binding site similarity assessment. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 116, No. 2–3, pp. 174–186. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2014.05.006>
7. Hibbs, R. E. & Gouaux, E. (2011). Principles of activation and permeation in an anion-selective Cys-loop receptor. *Nature*, 474, No. 7349, pp. 54–60. <https://doi.org/10.1038/nature10139>
8. Volkamer, A., Griewel, A., Grombacher, T. & Rarey, M. (2010). Analyzing the topology of active sites: on the prediction of pockets and subpockets. *J. Chem. Inf. Model.*, 50, No. 11, pp. 2041–2052. <https://doi.org/10.1021/ci100241y>
9. Valdar, W. S. J. (2001). Scoring residue conservation. *Proteins*, 48, No. 2, pp. 227–241. <https://doi.org/10.1002/prot.10146>
10. Schneider, N., Lange, G., Hindle, S., Klein, R. & Rarey, M. (2013). A consistent description of HYdrogen bond and DEhydration energies in protein–ligand complexes: methods behind the HYDE scoring function. *J. Comput. Aided Mol. Des.*, 27, No. 1, pp. 15–29. <https://doi.org/10.1007/s10822-012-9626-2>
11. Korb, O., Stütze, T. & Exner, T. E. (2009). Empirical scoring functions for advanced protein–ligand docking with PLANTS. *J. Chem. Inf. Model.*, 49, No. 1, pp. 84–96. <https://doi.org/10.1021/ci800298z>
12. Mooij, W. T. M. & Verdonk, M. L. (2005). General and targeted statistical potentials for protein–ligand interactions. *Proteins*, 61, No. 2, pp. 272–287. <https://doi.org/10.1002/prot.20588>

Received 16.03.2023

Y.O.Kustovskiy^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0002-1536-3897>

A.I.Yemets^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-6887-0705>

¹ Institute of Food Biotechnology and Genomics of the NAS of Ukraine, Kyiv

² National University of Kyiv Mohyla Academy, Kyiv

E-mail: ykustovskiy@gmail.com, yemets.alla@nas.gov.ua

DETERMINATION OF IVERMECTIN ALLOSTERIC INTERACTION PATTERNS WITH GLUTAMATE-GATED CHLORIDE CHANNEL OF *CAENORHABDITIS ELEGANS*

This study aimed to determine the structural patterns of ivermectin, a compound with anthelmintic and insecticidal activity, in its allosteric interactions with the α -homopentameric glutamate-gated chloride channel of *Caenorhabditis elegans*. The findings reveal that the binding site primarily consists of hydrophobic, aliphatic, polar, and small residues. The macrocyclic lactone ring exhibits a high affinity for the V—I—G—A—M pattern, involving residues V278, I280, G281, A282, and M284 of the M3 subunit of the (+) configuration, as well as the I—V—D—L pattern, encompassing residues I273 of the M2-M3 region, D277, V278 of the M3 subunit of the (+) configuration, and L218 of the M1 subunit (—) configuration. The spiroketal group interacts with the M—T—F—C—M—I pattern, comprising residues M284, T285, and F288 of the M3 subunit of the (+) configuration, and C225, M226, and I229 of the M1 subunit (—) configuration. Regarding the benzofuran group, it predominantly interacts quantitatively with small and polar residues. However, it exhibits fewer contacts with hydrophobic residues compared to the other groups. This is evident in the T—A—S—N—D—I—L—Q—I—P pattern, involving residues T257, A258, S260, N264, D277, and I280 of the M3 subunit of the (+) configuration, and L218, Q219, I222, and P223 of the M1 subunit (—) configuration. The obtained data can be utilized to identify new molecular targets for ivermectin and facilitate the development of new ligands with high affinity for the identified ivermectin targets in various eukaryotic organisms.

Keywords: ivermectin, *Caenorhabditis elegans*, glutamate-gated chloride channels, *in silico* modelling.