

Новые ферментные мишени для фосфорорганических соединений

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022
УДК 615.355; 623.459; 577.152.411
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-4-342-354>
<https://elibrary.ru/dmkjoe>



Е.Н. Ефременко, А.Г. Асланлы, И.В. Лягин

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3

Поступила 12 июля 2022 г. Принята к публикации 27 сентября 2022 г.

Декарбоксилаза ароматических аминокислот (ДАА), гистидиндекарбоксилаза (ГД) и глутаматдекарбоксилазы (ГлД) с разной молекулярной массой катализируют наиболее важные реакции биосинтеза нейротрансмиттеров и нейромодуляторов. Пиридоксальфосфат, который служит для этих ферментов кофактором, является фосфорорганическим соединением (ФОС), имеющим структуру, сходную с такими высокотоксичными отравляющими веществами (ОВ), как зарин, зоман, Vx, вещество типа Vx, табун и так называемыми «Новичками» (A230, A232, A234), а также с пестицидами, широко применяемыми в сельском хозяйстве (хлорпирифосом, малатионом, глифосатом, мипафоксом, диазиноном, параоксоном), исходя из их ингибирующего воздействия на холинэстеразы (ХЭ). Цель работы – с помощью методов компьютерного моделирования оценить возможность связывания различных ФОС с каталитическими центрами указанных ферментов вместо кофактора, а также аналогичные взаимодействия декарбоксилаз (ДК) с ФОС, когда активные центры ДК уже содержат встроенный кофактор. Молекулярный докинг показал, что целый ряд из указанных ФОС может конкурировать с кофактором за связывание с активными центрами ДК, причем все исследованные ФОС (пестициды и ОВ) создают препятствия для встраивания кофактора в активный центр ДАА и ГД. Подобные взаимодействия будут приводить к снижению уровня образования продуктов соответствующих каталитических реакций (дофамина, серотонина, фенилэтиламина, серотонина, γ -аминомасляной кислоты) и проявлению ими своих физиологических функций. Установлено, что при наличии кофактора в активном центре исследованных ДК, взаимодействие ряда ФОС с поверхностью этих ферментов возле активного центра усиливается и превышает силу взаимодействия этих же ферментов с их типичными субстратами. При этом максимальное взаимодействие, которое может приводить к существенной инактивации всех исследованных ДК, было выявлено для пестицидов, тогда как для ОВ эффект от их присутствия был ниже. Один из высоких уровней возможного влияния на активность ДК был выявлен для хлорпирифоса и диазинона. Суммарно, для ДК более опасными веществами с высокой потенциальной нейротоксичностью оказались вовсе не ОВ, включая «Новички», а именно пестициды, которые по их известному воздействию на ХЭ, считаются малотоксичными ФОС. Проведенные новые теоретические исследования свидетельствуют о том, что, во-первых, требуются прямые экспериментальные исследования, которые подтвердят произведенные биоинформационные расчеты; во-вторых, необходим пересмотр давно существующих подходов к оценке нейротоксичности различных ФОС, основанных преимущественно на использовании ХЭ для этих целей; в-третьих, возможно следует сформулировать задачи по разработке и применению новых систем определения потенциально нейротоксичных веществ, действие которых будет основано на применении разных ДК; в четвертых, изучить возможность применения ДК в качестве основы для разработки новых каталитических ферментных детоксификаторов (антидотов) и регенераторов ЦНС.

Ключевые слова: фосфорорганические соединения; отравляющие вещества; пестициды; ингибиторы; декарбоксилазы; компьютерное моделирование; пиридоксальфосфат; нейродегенеративные заболевания; химическая безопасность.

Библиографическое описание: Ефременко Е.Н., Асланлы А.Г., Лягин И.В. Новые ферментные мишени для фосфорорганических соединений // Вестник РХБ защиты. 2022. Т. 6. № 4. С. 342–354. EDN: DMKJOE. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-4-342-354>

Необходимость обеспечения химической безопасности населения требует особое внимание к вопросам, связанным с контролем присутствия синтетических токсичных фосфорорганических соединений (ФОС) в различных объектах окружающей среды, продуктах питания, источниках воды. При этом в качестве веществ, которые в современном мире могут формировать угрозу химической безопасности, упоминаются не только отравляющие вещества (ОВ), но и традиционно применяемые в сельском хозяйстве фосфорорганические пестициды (ФОП) [1, 2], производство и применение которых в качестве средств защиты растений и животных в мире не снижается. Проблема ФОП состоит в том, что по своей химической структуре они подобны ОВ (таблица 1), хотя, согласно используемым системам детекции, основанным на определении ингибирующего воздействия на холинэстеразы [3], ФОП обладают существенно сниженной или малой токсичностью, что и позволяет их широко применять на практике. Однако для многих ФОС (как ОВ, так и ФОП) показано их проникновение через гематоэнце-

фалический барьер (ГЭБ), негативное влияние на функционирование центральной нервной системы [2, 4, 5]. Это проявляется в том, что Всемирная организация здравоохранения официально признает ежегодную регистрацию порядка 3 млн доказанных случаев отравления пестицидами, из которых 250 тыс. заканчиваются летальным исходом [1]. В качестве мишеней для определения токсичности ФОС чаще всего используется ацетилхолинэстераза (АХЭ), однако известны попытки адаптации для тех же целей других ферментов: различных эстераз, фосфолипаз, пептидаз и ферментов общего метаболизма [1, 6–9].

В связи с множественными сообщениями в последнее время в научной литературе о том, что именно активное применение ФОП в ЕС и США приводит к развитию нейродегенеративных заболеваний у взрослых и аутизма у детей [9, 10] наше внимание привлекли к себе декарбоксилазы (ДК).

Эти ферменты из класса лигаз осуществляют декарбоксилирование аминокислот, альфа- и бета-кетокислот [11] (рисунок 1).

Таблица 1 – Химические структуры кофактора декарбоксилаз (пиридоксальфосфата) и молекул ФОС (отравляющих веществ и сельскохозяйственных пестицидов)

Вещество	Структура	Вещество	Структура
Пиридоксальфосфат – кофермент декарбоксилаз			
A-230		Глифосат	
A-232		Хлорпирифос	
A-234		Хлорпирифос-оксон	
Зарин		Зоман	
Табун		Мипафокс	
Вещество VX		Диизопропилфтор-фосфат (ДФФ)	
Вещество типа VX		Параоксон	
Диазинон		Малатион	

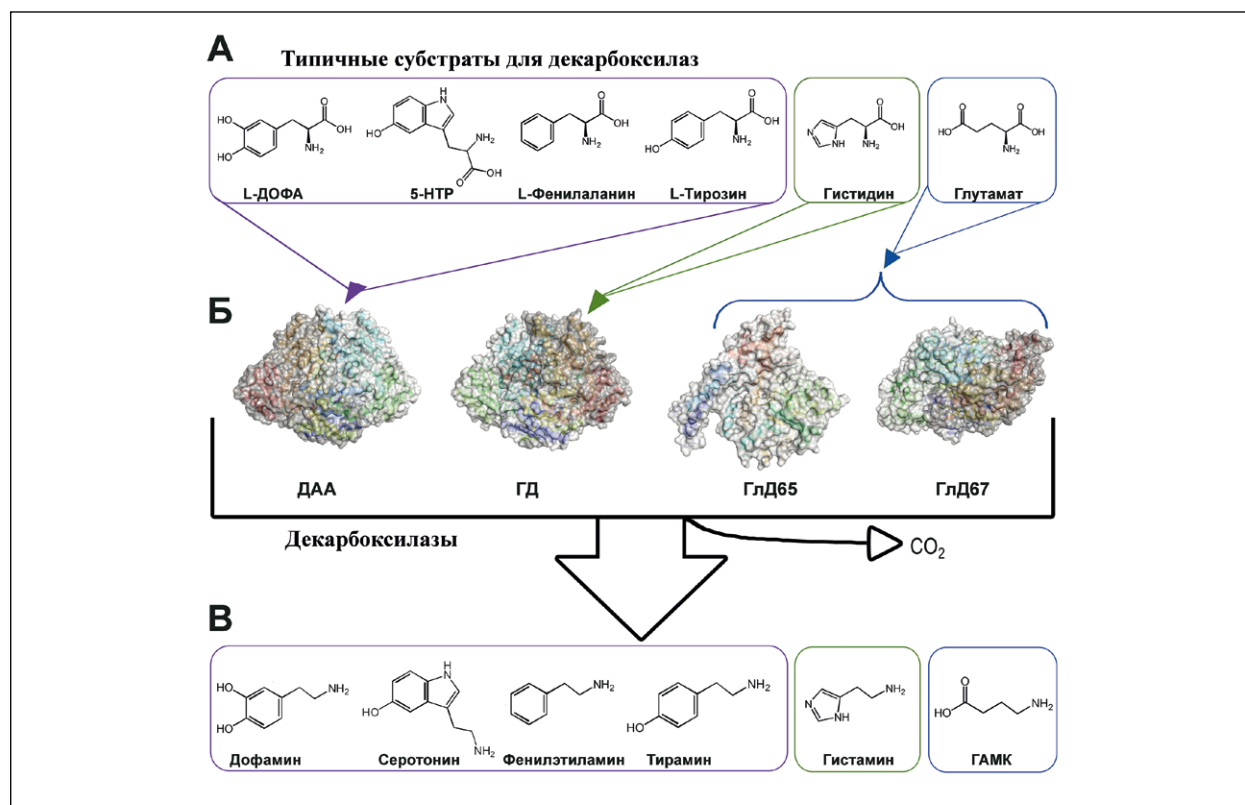


Рисунок 1 – Типичные субстраты (А) и ферменты (Б) в реакциях декарбоксилирования основных аминокислот под действием декарбоксилазы ароматических аминокислот (ДАА), гистидина под действием гистидиндекарбоксилазы (ГД) и глутамата под действием двух изоформ глутаматдекарбоксилазы с молекулярными массами 65 кДа (ГлД65) и 67 кДа (ГлД67), приводящих к биосинтезу важнейших нейротрансмиттеров и нейромодуляторов (В), где L-ДОФА – L-3, 4-гидроксифенилаланин, 5-НТР – 5-гидрокситриптофан, ГАМК – γ -аминомасляная кислота [11]

Продуктами каталитических реакций трех наиболее важных ДК, а именно, декарбоксилазы ароматических аминокислот (ДАА), гистидиндекарбоксилазы (ГД) и глутаматдекарбоксилазы (ГлД), являются нейротрансмиттеры, играющие важнейшую роль в функционировании центральной нервной системы (ЦНС). Сбои в функционировании именно этих ферментов приводят к дефициту или избытку соответствующих нейромедиаторов, что приводит к развитию серьезных нейродегенеративных патологий [12, 13]. Пиридоксальфосфат (ПФ) является коферментом для всех этих ДК (таблица 1) и имеет структурную аналогию с антропогенными ФОС. В этой связи возникает теоретическая вероятность ингибирования ДК путем замены этого кофермента в молекулах указанных ферментов на молекулы ФОС, особенно если учесть, что связывание ПФ в активном центре ДК может быть, условно говоря, «рыхлым» [11, 14–16].

Предсказательная способность современных методов биоинформатики очень высока, и она, как показывают различные исследования, позволяет достаточно релевантно

моделировать взаимодействие ферментов-мишеней не только с низкомолекулярными, но и с высокомолекулярными соединениями [17–19]. В свою очередь, эти методы существенно облегчают и способствуют прогрессу в области молекулярной токсикологии, поскольку часто физически невозможно выделить и исследовать *in vitro* все потенциальные биохимические мишени.

Именно современный уровень развития химии и биоинформатики позволяет использовать методы компьютерного моделирования для проведения теоретических экспериментов с различными ферментами. В данном случае речь идет о ДК, которые катализируют наиболее важные реакции биосинтеза нейротрансмиттеров и нейромодуляторов (рисунок 1), чтобы выявить их вероятностное взаимодействие с молекулами различных ФОС (таблица 1), среди которых могут быть как пестициды, так и фосфорорганические ОВ, включая ОВ, называемые на Западе «Новичками» [19–22]. Результатом таких взаимодействий может быть ингибирование ферментов, вероятность и степень которого можно научно обоснованно предсказать.

Цель работы – с помощью методов компьютерного моделирования оценить возможность связывания различных ФОС с каталитическими центрами указанных ферментов вместо кофактора, а также аналогичные взаимодействия ДК с ФОС, когда активные центры ДК уже содержат встроенный кофактор.

Материалы и методы

Структуры ФОС и других соединений были созданы с использованием программного обеспечения ChemBioDraw (версия 12.0, CambridgeSoft, Кембриджшир, Великобритания). После этого была применена минимизация энергии с использованием ChemBio3D с силовым полем MM2. Структуры в формате банка данных белка (.PDB) были преобразованы в формат PDBQT (формат PDB с частичными зарядами и типами атомов) с использованием AutoDockTools (как часть MGLTools версии 1.5.6, доступного <http://mgltools.scripps.edu/>) с атомными зарядами, рассчитанными с помощью Метода Гастейгера-Марсили. Кристаллографические структуры ДК были получены из Банка данных белков¹.

Чтобы рассчитать распределение поверхностного заряда ферментов при физиологическом значении pH, адаптивный решатель Пуассона-Больцмана (APBS) и серверы PDB2PQR (версии 1.4.2.1 и 2.1.1 соответственно², с использованием настроек по умолчанию). После этого структуры в формате PQR были преобразованы в формат PDBQT с помощью AutoDockTools.

Комплексы «молекула фермент/молекула ФОС» рассчитывали с использованием AutoDock Vina (версия 1.1.2³) [23]. Вычисления выполнялись с использованием параметров программы по умолчанию. Структура молекулы фермента была предложена как «жесткий», а «лиганд» (т.е. молекула ФОС) – как полностью гибкий элемент. Были отобраны 12 лучших моделей с минимальной затратой энергии. Расстояния между атомами каталитических групп в активном центре ферментов и ближайшими атомами лигандов, а также занимаемые площади измеряли и визуализировали с помощью системы молекулярной графики

RyMOL (версия 1.7.6, schrodinger's, LLC, Нью-Йорк, Нью-Йорк, США).

Статистический анализ проводился с использованием SigmaPlot (версия 12.5, Systat Software Inc., Сан-Хосе, Калифорния, США), и данные представлены в виде средних \pm стандартное отклонение (\pm SD), если не указано иное. Односторонний дисперсионный анализ (ANOVA) был реализован для обработки выборочных групп значений аффинности ($N = 12$) с множественными сравнениями по методу Холма-Сидака. Прямоугольную диаграмму средних квадратичных колебаний остатков AADC ($N = 931$) и GAD65 ($N = 485$) визуализировали с помощью OriginPro (версия 9.4, OriginLab Corp., Нортгемптон, Массачусетс, США).

Структуры молекул «Новичков», использованные для проведения молекулярного моделирования, представлены в таблице 1 (A-230, A-232, A-234) в соответствии с Перечнями химических веществ Конвенции о химическом оружии с номерами CAS⁴ 2387496-12-8, 2387496-04-8, 2387496-040 [CWC-2020] как ОБ нервно-паралитического действия, как указано ранее [20]. Следует отметить, что среди них только A-232 имеет известный номер CAS 2387496-04-8.

Результаты и обсуждение

Локализация молекул ФОС на поверхности молекул декарбоксилаз

Был проведен молекулярный докинг всех ФОС, выбранных для компьютерного моделирования (таблица 1), к поверхности четырех ДК (рисунок 1) в присутствии и в отсутствие кофактора в активном центре ферментов. На примере молекулы глифосата, который является широко применяемым сегодня во всем мире, особенно в странах ЕС, гербицидом, на рисунке 2 показано, как именно это было сделано.

Для сравнительного анализа аналогичные модели были получены для тех же ферментов с кофактором, а также с соответствующими им субстратами.

Особое внимание было уделено предпочтительной локализации молекул ФОС на поверхности ДК, в частности, в области активного центра, определяющего успешность катализа.

¹ URL: <https://www.rcsb.org> (дата обращения: 10.06.2022).

² URL: <http://www.poissonboltzmann.org/> (дата обращения: 10.06.2022).

³ URL: <http://vina.scripps.edu/> (дата обращения: 10.06.2022).

⁴ Уникальный идентификатор CAS присваивается Химической реферативной службой (Chemical Abstracts Service, CAS) – подразделением Американского химического общества (American Chemical Society; <https://www.cas.org/>), которое издает с 1907 г. реферативный журнал «Chemical Abstracts». Это уникальный численный идентификатор химических соединений, полимеров, биологических последовательностей нуклеотидов или аминокислот, смесей и сплавов, внесенных в реестр CAS. Используется для однозначной идентификации химического соединения. Кроме индекса, каждое вещество также получает уникальное название, как правило, сконструированное по жестким правилам номенклатуры Химической реферативной службы.

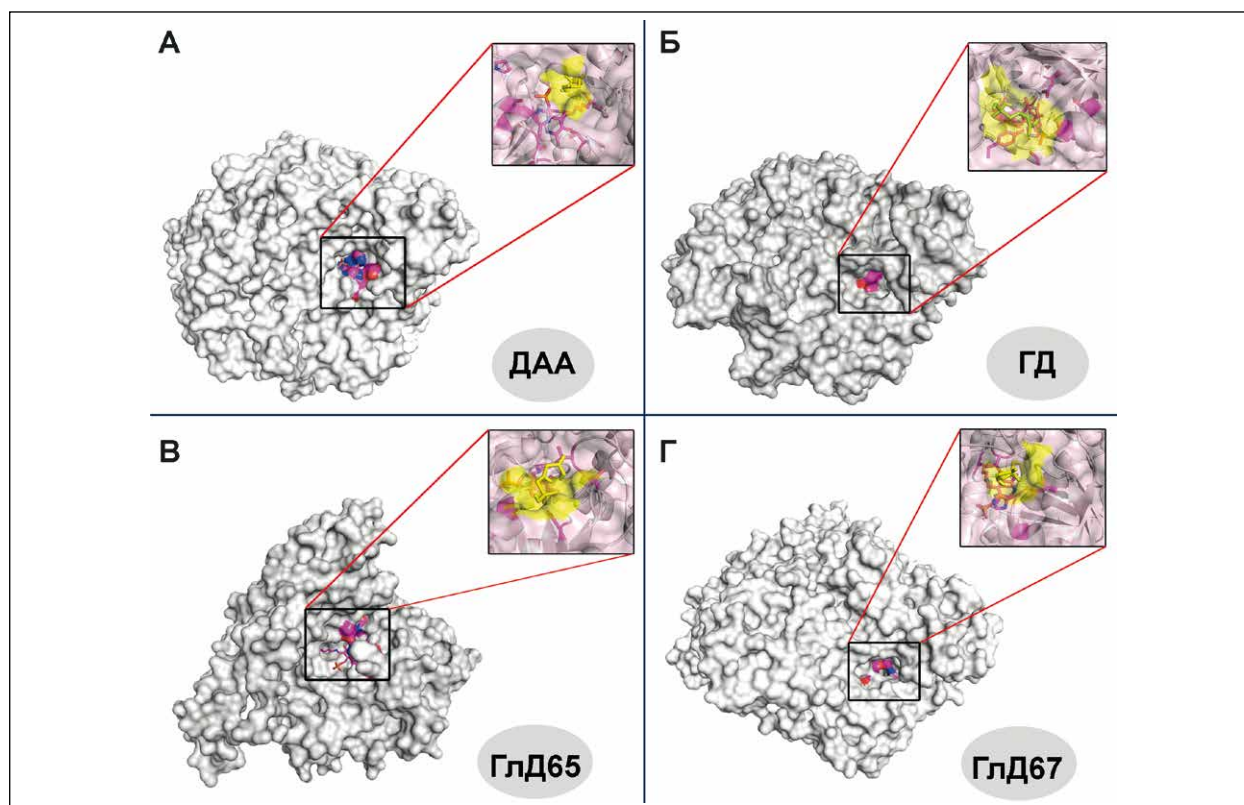


Рисунок 2 – Локализация молекулы глифосата в активном центре (А) декарбоксилазы ароматических аминокислот (ДАА), Б – гистидиндекарбоксилазы (ГД), В – глутаматдекарбоксилазы-65 (ГлД65) и Г – глутаматдекарбоксилазы-67 (ГлД67) в присутствии кофермента (пиридоксальфосфата). Аминокислотные остатки в активных центрах ферментов и молекулы кофактора окрашены в малиновый цвет. Молекула глифосата и область, занимаемая ею на поверхности ферментов, показаны желтым цветом, а место локализации активного центра каждого фермента, где происходят взаимодействия, выделены квадратом (данные авторов)

Полученные данные были обработаны и представлены в таблице 2. Для всех ДК большое количество молекул ФОС оказалось локализовано рядом с активным центром фермента независимо от того был встроен кофактор в активный центр ДК или нет. При этом молекулы ФОС перекрывали собой входы в каталитические центры ферментов для их типичных субстратов.

На практике это обязательно будет проявляться в снижении скоростей реакций, катализируемых ДК, и, как следствие, в снижении уровня накопления продуктов реакций, катализируемых ДК, и локальных увеличениях концентраций субстратов. Оба эти последствия (избыток субстратов ДК и недостаток их продуктов) являются негативными для здоровья человека.

Самая высокая вероятность ингибирования ферментов молекулами ФОС была обнаружена для ферментов ДАА и ГлД67, для которых было отмечено блокирование их активных центров при докинге абсолютно всеми молекулами ФОС, не зависимо от того, были ли это ОВ или ФОП. При этом для остальных ДК

было показано, что отсутствие ПФ в активном центре приводит к тому, что ФОС тоже не приближается к нему, и наоборот – заполнение активного центра фермента кофактором способствует тому, что ФОС также локализуется возле активного центра. Наиболее ярко это было продемонстрировано на примере фермента ГлД65.

Интересно, что зоман, вещество Vx, а также глифосат и малатион не зависимо от типа ДК и состояния фермента (встроен или нет в него кофактор) однозначно перекрывали каталитические центры всех ДК, представляя максимальную угрозу, с точки зрения ингибирующего воздействия, для них (таблица 2).

Помимо локализации молекул ФОС и перекрытия ими активных центров ДК была проведена еще и оценка площадей, которые ФОС занимают в этих областях фермента. Оказалось, что среди всех ДК максимальная площадь, занимаемая ФОС вблизи активного центра, наблюдается для ГлД65 (почти в 2 раза выше, чем для других ферментов). Значительное увеличение площади, занимаемой ФОС вблизи ак

Таблица 2 – Перекрытие входов в каталитические центры декарбоксилаз молекулами ФОС в полученных компьютерных моделях отмечены красным цветом (зеленым цветом отмечены «доступные» для взаимодействия активные центры ферментов)*

Фермент	ФОС	A-230	A-232	A-234	Зарин	Зоман	Табун	Вещество VX	Вещество типа VX	Глифосат	Хлорпиррифос-оксон	Хлорпиррифос	Диазинон	Мипафокс	Малатион	Параоксон	ДФФ	
		ДАА	*А	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red
ГД	Б	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red
	А	Red	Green	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Green	Green	Red	Red	Red	Red	Red	Green
ГлД65	А	Red	Red	Red	Red	Green	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red
	Б	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Green	Red	Red	Red	Red	Red
ГлД67	А	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red
	Б	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red

Примечание:
 *А и Б - декарбоксилазы без кофактора и с кофактором в активном центре соответственно.
 **Активные центры ферментов считались перекрытыми в присутствии ФОС, если молекулы ФОС затрудняли вход субстратов в активные центры декарбоксилаз (данные авторов)

тивных центров ГлД65, было отмечено для ОВ после перехода фермента из неактивной в активную форму (т.е. после встраивания кофермента в его центр). И напротив, величина этого обсуждаемого параметра не сильно менялись во время такого же перехода для ГлД67.

Сравнение отношений площадей, занятых различными ФОС вблизи активных центров ДК, с общими площадями, занимаемыми ОВ и ФОП на поверхности ферментов, показало, что молекула фермента ДАА характеризуется максимально заполненной поверхностью любыми молекулами ФОС. Получается, что молекулы ФОС не только физически препятствуют катализу с участием этого фермента, но и, очевидно могут влиять на активность этого фермента, изменяя его активную конфигурацию за счет своего массового присутствия на молекуле ДАА в местах, отличных от активного центра. Интересно, что присутствие ПФ в активном центре ферментов не только не защищало ДК от присутствия молекул ФОС на поверхности ферментов, что прогнозировало их ингибирование, но и наоборот, приводило к ухудшению ситуации и увеличению числа молекул ФОС, связывающихся с поверхностью ДК.

Оценка энергии связывания молекул ФОС с молекулами декарбоксилаз

Необходимо отметить, что не каждое происходящее взаимодействие ФОС с молекулой фермента может привести к неизбежному ин-

гибированию ферментативной активности. Наиболее важными показателями, которые следует учитывать при предсказании негативного воздействия отдельных соединений на фермент, являются:

- локализация связывания (очевидно, что попадание молекулы ФОС непосредственно в активный центр приведет к конкуренции с субстратом за него),
- энергия/сила связывания (аффинность, т.е. термодинамический эффект),
- скорость (не)связывания (т.е. кинетический эффект).

Молекулярный докинг, как правило, дает возможность получить данные по первым двум показателям, а вот значение третьего показателя может быть найдено с помощью метода молекулярной динамики, используемого для моделирования взаимодействий сближения и взаимодействия веществ. Вместе с тем, понимание места локализации контакта ФОС и фермента (активный центр) и силы связывания часто предопределяет отсутствие необходимости применения указанного метода, который только уточняет, но не изменяет общего понимания результатов.

В этой связи далее был оценен термодинамический эффект от взаимодействия молекул ФОС с молекулами ДК и рассчитаны величины аффинности (энергии связывания) (рисунок 3) для всех исследуемых вариантов.

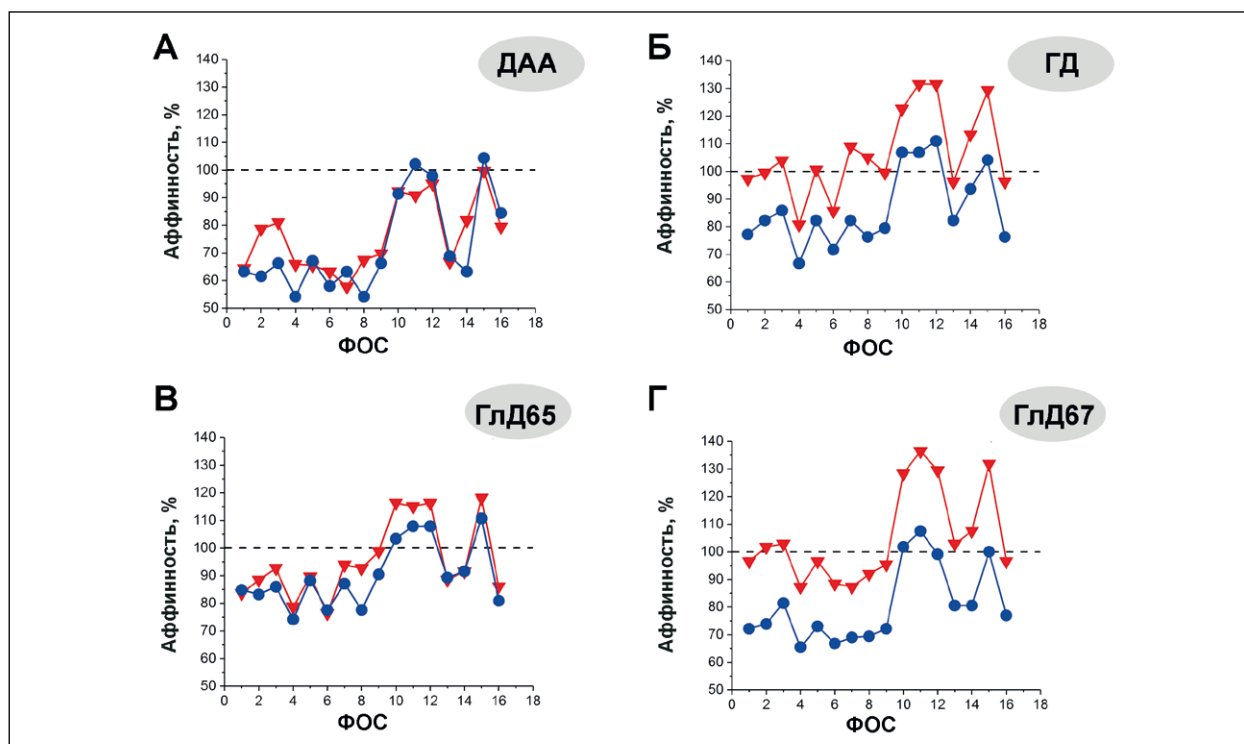


Рисунок 3 – Аффинность (энергия связывания) молекул ФОС (1 – А-230, 2 – А-232, 3 – А-234, 4 – зарин, 5 – зоман, 6 – табун, 7 – вещество VX (США), 8 – вещество VX (РФ), 9 – глифосат, 10 – хлорпирифос, 11 – хлорпирифос-оксон, 12 – диазинон, 13 – мипафокс, 14 – малатион, 15 – параоксон, 16 – ДФФ) (▼) кофермента (пиридоксальфосфата) в их активных центрах. Значения энергии связывания приведены в процентном отношении от 100 %, где за 100 % (отмечен пунктирной линией) в отсутствие кофермента – принята величина энергии связывания ферментов с кофактором, а в присутствии кофермента – величина энергии связывания ферментов с их типичными субстратами (L-ДОФА, гистидин и глутамат для ДАА, ГД и обеих изоформ ГлД соответственно) (данные авторов)

Следует отметить, что величины энергии связывания ФОС с молекулами ДК были приведены на рисунке 3 в процентном выражении от 100 %, при этом за 100 % принималась:

- величина энергии связывания каждого фермента с кофактором, если он исходно отсутствовал в активном центре ДК,

- величина энергии связывания ДК с их типичными субстратами (L-ДОФА, гистидин и глутамат для ДАА, ГД и обеих изоформ ГлД соответственно, рисунок 1).

Точки, лежащие на рисунке 3 выше уровня 100%, который отмечен пунктирной линией, соответствуют тем взаимодействиям ДК с молекулами ФОС, которые будут преобладать над типичными взаимодействиями этих ферментов либо с их кофактором, либо, соответственно, с их типичными субстратами.

Анализ полученных результатов оказался крайне интересным. Так, для всех ферментов все величины энергии взаимодействия с ОВ, за исключением только веществ А-232, А-234 и зомана, лежали существенно ниже тех уровней, которые характерны для энергии взаимодей-

ствия этих же ферментов с их кофакторами и специфичными субстратами. Вещества А-232, А-234 и зоман в случае ферментов ГД и ГлД67 практически имеют тот же уровень взаимодействия с активными центрами ДК, что и их кофакторы или субстраты. Это значит, что конкуренция между ними и ингибирующий эффект указанных веществ на отмеченные ферменты неизбежны. Присутствие кофактора только будет усугублять возникающее ингибирование.

И совсем иная ситуация наблюдалась с пестицидами, среди которых хлорпирифос, его оксон, а также диазинон и параоксон являются главными претендентами на мощное негативное воздействие на ЦНС в виде ингибирования сразу нескольких важнейших ДК. Так, взаимодействие молекул этих пестицидов превышают на 20 % все вышеуказанные «стандартные» взаимодействия для ГлД65, а в случае ГД и ГлД67 – на 35–40 %, причем наличие ПФ в активном центре ферментов лишь ухудшает ситуацию по возможному сильному и скорее всего (из-за величины энергии взаимодействия) необратимому ингибированию ферментов.

При этом получается, что эти пестициды оказываются существенно более опасными для ряда ДК и проявляемых этими ферментами функций, чем даже пресловутые токсичные «Новички». И если про параоксон известно, что этот пестицид является высоко токсичным, исходя из его ингибирующего воздействия на АХЭ, и потому он запрещен к применению в сельском хозяйстве, но используется сегодня как модельное ФОС для изучения отравлений животных ОВ и разработки антидотов [24, 25], то хлорпирифос и диазинон не только не ограничены сегодня в применении, но и широко ежедневно используются в сельском хозяйстве.

Полученные данные, хорошо согласуются с теми научными работами, которые сегодня появляются по хлорпирифосу [26], и в которых обсуждается крайне важный высокотоксичный аспект воздействия этого вещества на ЦНС, хотя описываются другие возможные механизмы воздействия, и про влияние хлорпирифоса на ДК в них пока речи не идет. В этом плане данная статья является, очевидно, одной из первых.

При анализе взаимодействий ФОС с молекулами ДК были определены аминокислотные остатки, которые являются ключевыми для каталитических реакций, и были идентифицированы потенциально критические взаимодействия. Оказалось, что все молекулы ФОС могут взаимодействовать с определенными аминокислотными остатками активного центра ДАА. Самая высокая частота взаимодействий ФОС во всех ДК наблюдалась с остатками гистидина и треонина, т.е. донорами водорода для образования водородных связей [23]. И в этой части исследований оказалось, что именно глифосат имеет наибольшее количество водородных связей, особенно с ферментом ГлД65, в активном центре которого присутствовал кофактор.

Здесь следует отметить, что, согласно полученным данным, ФОП представляют большую угрозу, чем ОВ, поскольку, в отличие от последних, они регулярно и интенсивно используются в сельском хозяйстве для обработки различных сельскохозяйственных культур, присутствуют в водных ресурсах, сырье и продукции сельского хозяйства, сохраняются в ней без разложения. ФОП обладают устойчивостью к разложению в условиях окружающей среды. Многие из этих ФОП, в частности, глифосат [27], считаются малотоксичными в соответствии с принятой градацией, основанной на их пониженном ингибирующем действии на АХЭ. Однако полученные в этой работе данные полностью согласуются с тем, что было установлено в ряде последних работ, а именно, что глифосат проникает в ГЭБ, и вследствие его

воздействия на астроциты наблюдается нарушение метаболизма глутамата [28]. Последнее как раз напрямую связано с проявлением ингибирования активности фермента ГлД65 (рисунки 1).

Следует отметить, что на основании полученных результатов пока невозможно сделать окончательный вывод о типе ингибирования ДК исследованными ФОС. Поскольку было обнаружено связывание ФОС не только в активном центре ДК, но и вне каталитического домена, что свидетельствует о том, что возможен не только конкурентный тип ингибирования. В целом, наиболее вероятен смешанный тип торможения ферментных реакций с различным сочетанием конкурентных и неконкурентоспособных типов ингибирования ДК. Однако фактически независимо от типа ингибирования ДК обнаруживаемым результатом таких взаимодействий ФОС с мишенями в виде ДК несомненно будет развитие нейродегенеративных процессов.

Возвращаясь к тому, что образование водородных связей вносит наибольший вклад в стабилизацию комплексов ФОС с ДК, следует подчеркнуть, что присутствие доступных аминокислотных остатков, которые могут выступать в качестве доноров (например, гистидина) или акцепторов протонов в полости активного центра, может быть дополнительным контрольным доказательством при исследовании других ферментов. С этой точки зрения ПФ как кофактор является акцептором/донором протонов как со стороны фосфатной группы, так и со стороны пиридиниевого азота. Тот факт, что определенные молекулы ФОС могут взаимодействовать с ДК более сильно, чем известные ингибиторы этих ферментов [23], указывает на то, что связывание ФОС является предпочтительным в конкуренции между ФОС и ингибиторами. Поскольку ингибиторы в этом случае не теряют своей эффективности и будут продолжать выполнять свою функцию в организме, существует высокая вероятность ингибирования большего количества ДК, чем это было изначально необходимо и предполагалось, например, для лечения нейродегенеративных заболеваний. В то же время очевидно, что молекулы ФОС могут конкурировать не только с ингибиторами ДК, применяемыми в терапевтических целях, но и с самим кофактором. Такая конкуренция может привести к ингибированию значительного числа молекул ДК, которые должны быть активированы кофактором для получения активных форм этих ферментов и участия в катализе, но они не смогут этого сделать. Конкуренция как с кофактором, так и с ингибиторами, вероятно, приведет к недостатку каталитически

активных форм ДК в организме, что выльется в функциональные нарушения в тех процессах и каталитических системах, которые связаны и/или регулируются теми нейротрансмиттерами, которые синтезируются этими ДК.

Поскольку считается, что многие неврологические и психические расстройства у людей вызваны дисбалансом концентраций нейромедиаторов, то на основании установленных данных можно предположить, что снижение каталитической активности рассмотренных ДК под действием ФОС может приводить к следующим последствиям:

- в результате частичной инактивации ДАА будет наблюдаться увеличение концентрации L-ДОФА (рисунок 1) из-за снижения скорости его превращения в дофамин, который, как известно, индуцирует развитие окислительного стресса в клетках ЦНС и приводит к проявлению симптомов, связанных с возбуждением нервной системы (агрессивность, раздражительность, переедание, приводящее к ожирению), а также проявлению состояний, связанных с шизофренией [30]. С другой стороны, известно, что снижение уровня дофамина в базальных ганглиях головного мозга приводит к проявлению симптомов болезни Паркинсона, депрессии, социальной изоляции (аутизм) и хронической усталости [31]. В то же время, как избыток субстрата (L-ДОФА), так и ограничение продукта реакции (дофамина) будут вызывать ухудшение памяти у людей;

- в результате снижения активности ферментов ГлД65 и ГлД67, которые участвуют в превращении глутамата в ГАМК (основной тормозящий нейромедиатор в ЦНС млекопитающих), в межклеточном пространстве нейроглии может образовываться избыток глутамата (возбуждающего нейромедиатора) и приводить к повреждению/гибели клеток ЦНС из-за его токсичности, а также проявляться в развитии аутизма [10] и болезни Альцгеймера;

- в результате частичной инактивации фермента ГД уровень образования гистамина будет снижен. В свою очередь, гистамин участвует в аутоиммунных реакциях (аллергия), секреции желудочной кислоты, контроле сна и приема пищи, накоплении костной массы, развитии шизофрении [32].

Таким образом, ФОС будут действовать не только на АХЭ, но и на ДК, которые важны для синтеза нейротрансмиттеров. Современные антидоты предназначены для защиты мускариновых рецепторов и АХЭ, но при этом никакие классические антидоты не подходят для защиты ДК в ЦНС. Проблема, связанная с возникновением такого ингибирования, заключается в том, что большинство антидотов, используемых сегодня для лечения отравлений

ФОС, не способны проникать через ГЭБ [29] и, следовательно, не могут защитить ферменты ЦНС от токсического воздействия ФОС.

Чтобы решить эту проблему, можно использовать современные ферментные антидоты, которые могут детоксицировать ФОС на уровне системы кровообращения, в том числе в результате продолжительной циркуляции в крови [19–21, 25] и катализа их гидролиза, приводящего к снижению тех концентраций ФОС, которые будут поступать в ЦНС. Потенциал таких антидотов высок и был продемонстрирован *in silico*, *in vitro* и *in vivo*. Вместе с тем полученные в данной работе результаты ориентированы на то, чтобы привлечь внимание к ДК, к их активности и инактивации ФОС как объектам и процессам, которые могут быть перспективными мишенями при разработке:

- принципиально новых, основанных не на ингибировании ХЭ, а на ингибировании других ферментов, методов определения ФОС с использованием биосенсоров,

- биочувствительных элементов–маркеров для выявления веществ и сред с нейротоксичностью и для оценки уровня их химической опасности,

- новых типов антидотов, защищающих ДК от ингибирующего воздействия ФОС, или средств, компенсирующих активность ДК,

- разработку процессов регенерации ДК или заместительной терапии по ДК, крайне важных для функционирования ЦНС.

При этом важно отметить, что в мире сегодня очень активно ведется скрининг источников получения ДК для их практического применения [33]. Установлено, что в качестве источников выделения этих ферментов могут использоваться клетки разных микроорганизмов, растений, животных, при этом в отдельных случаях подобные ферменты могут проявлять субстратную специфичность в своем каталитическом действии, аналогичную той, которую проявляют ДК человека. Интересно, что ДК молочнокислых бактерий [34], в том числе присутствующих в кишечнике человека, сегодня выходят на первый план обширных лабораторных исследований для биомедицинских применений, но, очевидно, что их использование можно рассматривать и с ориентиром на вышеуказанные цели (детекция, скрининг ФОС, антидотные средства). При этом сегодня в мире активно развиваются биотехнологические подходы, которые смогут обеспечить высокий уровень экспрессии рекомбинантных форм этих ДК в растворимой форме [35,36], гарантируя, таким образом, доступность ДК для научно-прикладных исследований и создания новых систем детекции и средств индивидуальной защиты.

Заключение

Таким образом, с помощью методов молекулярного моделирования была теоретически подтверждена возможность взаимодействия молекул различных ФОС с ДК. Существует необходимость использования анализа активностей более широкого спектра ферментов, значимых для человека, помимо рассмотрения степени ингибирования веществами АХЭ при изучении причин развития различных нейродегенеративных расстройств и для предотвращения токсического воздействия ФОС на организм человека.

Согласно результатам этой работы, ДК, после прямых лабораторных подтверждений их ингибирования молекулами ФОС, должны быть включены в список ферментов, которые применяются для анализа ФОС в дополнение к использованию АХЭ. Это важно, поскольку те ФОС, которые проявляют максимальную токсичность

по отношению к АХЭ, как оказалось проявляют себя иначе по отношению к ДК. В частности, те вещества, например, как глифосат, диазином, хлорпирифос, которые считаются безопасными в сравнении с ОБ из-за существенно более низких уровней ингибирования АХЭ, и широко используются на практике, они, вероятно, могут обладать свойствами, которые чрезвычайно опасны для здоровья человека. Результаты по ДК, полученные в этой работе, могут позволить рассматривать эти ферменты как новые мишени для воздействия ФОС, а их ингибирование - как причину потенциальной нейродегенерации. Это должно быть принято во внимание и глубоко исследовано специалистами по химической безопасности, если действительно есть интерес к развитию новых подходов к сбережению здоровья человека или восстановлению его у тех, кто подвергся острому или кумулятивному воздействию ФОС.

Вклад авторов/Authors Contribution

Все авторы внесли свой вклад в концепцию рукописи, участвовали в обсуждении и написании этой рукописи, одобрили окончательную версию. Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукописи. / All authors contributed to the conception of the manuscript, the discussion, and writing of this manuscript, approved the final version. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе.

Финансирование. Работа подготовлена при выполнении Госзадания МГУ имени М.В. Ломоносова №121041500039-8.

Список источников/References

1. Фосфорорганические нейротоксины / Под ред. Варфоломеева С.Д., Ефременко Е.Н. М.: РИОР, 2020. 380 с. <https://doi.org/10.29039/02026-5>

Organophosphorus neurotoxins / Eds. Varfolomeev S.D., Efremenko E.N. 1st ed.; Moscow: RIOR, 2020. 380 p. <https://doi.org/10.29039/02026-5> (in Russian).

2. Mukherjee S., Gupta R.D. Organophosphorus nerve agents: types, toxicity, and treatments // J. Toxicology. 2020. Article ID 3007984. <https://doi.org/10.1155/2020/3007984>

3. Лягин И.В., Ефременко Е.Н. Ферменты и их формы, используемые для обнаружения фосфорорганических соединений // Вестник войск РХБ защиты. 2021. Т. 5, № 1. С. 22–41. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-5-1-22-41>

Lyagin I.V., Efremenko E.N. Enzymes and

their forms used in detection of organophosphorus compounds // Journal of NBC Protection Corps. 2021. V. 5. № 1. P. 22–41. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-5-1-22-41> (in Russian).

4. Greer J.B., Magnuson J.T., Hester K. et al. Effects of chlorpyrifos on cholinesterase and serine lipase activities and lipid metabolism in brains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Toxicol. Sci. 2019. V. 172. P. 146–154. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfz167>

5. Liu L., Koo Y., Akwitti C. et al. Three-dimensional (3D) brain microphysiological system for organophosphates and neurochemical agent toxicity screening // PLoS ONE. 2019. V. 14. P. e0224657. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224657>

6. Brenet A., Somkhit J., Hassan-Abdi R. et al. Organophosphorus diisopropylfluorophosphate (DFP) intoxication in zebrafish larvae causes behavioral

defects, neuronal hyperexcitation and neuronal death // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. P. e19228. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76056-8>

7. Hogberg H.T., de Cássia da Silveira E Sá R., Kleinsang A. et al. Organophosphorus flame retardants are developmental neurotoxicants in a rat primary brainsphere in vitro model // *Arch. Toxicol.* 2021. V. 95. P. 207–228. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02903-2>

8. Carr R.L., Alugubelly N., de Leon K. et al. Inhibition of fatty acid amide hydrolase by chlorpyrifos in juvenile rats results in altered exploratory and social behavior as adolescents // *Neurotoxicology.* 2020. V. 77. P. 127–136. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2020.01.002>

9. Супотницкий М.В. Химическое оружие в ирано-иракской войне 1980–1988 годов. 6. Накопленный опыт лечения поражений отравляющими веществами нервно-паралитического действия // *Вестник войск РХБ защиты.* 2022. Т. 6. № 1. С. 65–82. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-1-65-82>

Supotnitskiy M.V. Chemical weapons in the Iran-Iraq war (1980–1988). 6. Accumulated experience in the treatment of lesions with poisonous nerve agents // *Journal of NBC Protection Corps.* 2022. V. 6. № 1. P. 65–82. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-1-65-82> (in Russian).

10. Quak I., Brouns M.R., van de Bor M. The dynamics of autism spectrum disorders: how neurotoxic compounds and neurotransmitters interact // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2013. V. 10. P. 3384–3408. <https://doi.org/10.3390/ijerph10083384>

11. Han, S.W., Shin, J.S. Aromatic L-amino acid decarboxylases: mechanistic features and microbial applications // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2022. V. 106. P. 4445–4458. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12028-4>

12. Bertoldi, M. Mammalian dopa decarboxylase: structure, catalytic activity and inhibition // *Arch. Biochem. Biophys.* 2014. V. 546. P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2013.12.020>

13. Shan L., Bao A.M., Swaab D.F. Changes in histidine decarboxylase, histamine N-methyltransferase and histamine receptors in neuropsychiatric disorders // In: *Histamine and Histamine Receptors in Health and Disease. Handbook of Experiment. Pharmacology.* V. 241 / Eds. Hattori Y., Seifert R. Cham, Switzerland: Springer, 2017. P. 259–276. https://doi.org/10.1007/164_2016_125

14. Dade M., Berzero G., Izquierdo C. et al. Neurological syndromes associated with Anti-GAD antibodies // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. P. e3701. <https://doi.org/10.3390/ijms21103701>

15. Martin D.L., Martin S.B., Wu S.J., Espina N. Cofactor interactions and the regulation of glutamate decarboxylase activity // *Neurochem. Res.* 1991. V. 16. № 3. P. 243–249. <https://doi.org/10.1007/BF00966087>

16. Giardina G., Montioli R., Gianni S. et al. Open conformation of human DOPA decarboxylase reveals the mechanism of PLP addition to Group II decarboxylases // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2011. V. 108. P. 20514–20519. <https://doi.org/10.1073/pnas.1111456108>

17. Aslanli A., Lyagin I., Stepanov N. et al. Bacterial cellulose containing combinations of antimicrobial peptides with various QQ enzymes as a prototype of an ‘enhanced antibacterial’ dressing: In silico and in vitro data // *Pharmaceutics.* 2020. V. 12. P. e1155. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12121155>

18. Aslanli A., Lyagin I., Efremenko E. Charges’ interaction in polyelectrolyte (nano)complexing of His6-OPH with peptides: Unpredictable results due to imperfect or useless concept? // *Int. J. Biol. Macromol.* 2019. V. 140. P. 368–376. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.137>

19. Lyagin I., Efremenko E. Theoretical evaluation of suspected enzymatic hydrolysis of Novichok agents // *Catal. Commun.* 2019. V. 120. P. 91–94. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2018.11.019>

20. Harvey S.P., McMahon L.R., Berg F.J. Hydrolysis and enzymatic degradation of Novichok nerve agents // *Heliyon.* 2020. V. 6. P. e03153. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03153>

21. Nepovimova E., Kuca K. Chemical warfare agent NOVICHOK – mini-review of available data // *Food Chem. Toxicol.* 2018. V. 121. P. 343–350. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.09.015>

22. Hrvat N.M., Kovarik Z. Counteracting poisoning with chemical warfare nerve agents // *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* 2020. V. 71. P. 266–284. <https://doi.org/10.2478/aiht-2020-71-3459>

23. Aslanli A., Lyagin I., Efremenko E. Decarboxylases as hypothetical targets for actions of organophosphates: Molecular modeling for prediction of hidden and unexpected health threats // *Food Chem. Toxicol.* 2022. V. 161. P. 112856. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.112856>

24. Lyagin I., Efremenko E. Enzymes, reacting with organophosphorus compounds as detoxifiers: Diversity and functions // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. P. e1761. <https://doi.org/10.3390/ijms22041761>

25. Efremenko E.N., Lyagin I.V., Klyachko N.L. et al. A simple and highly effective catalytic nanozyme scavenger for organophosphorus neurotoxins // *J. Control Release.* 2017. V. 247. P. 175–181. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.12.037>

26. Nandi N.K., Vyas A., Akhtar Md. J., Kumar B. The growing concern of chlorpyrifos exposures on human and environmental health // *Pesticide Biochem. Physiol.* 2022. V. 185. P. 105138. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105138>

27. Tarazona J., Court M.D., Tiramani M. et al. Glyphosate toxicity and carcinogenicity: a review of the scientific basis of the European Union assessment and its differences with IARC // *Arch. Toxicol.* 2017. V. 91. P. 2723–2743. <https://doi.org/10.1007/s00204-017-1962-5>

28. Costas-Ferreira C., Durán R., Faro L. Toxic effects of glyphosate on the nervous system: a systematic review // *Intern. J. Molec. Sci.* 2022. V. 23. P. 4605. <https://doi.org/10.3390/ijms23094605>

29. Norrrahim M.N.F., Razak M.A.I.A., Shah N.A.A. et al. Recent developments on oximes to improve the

blood brain barrier penetration for the treatment of organophosphorus poisoning: a review // RSC Adv. 2020. V. 10. P. 4465–4489. <https://doi.org/10.1039/c9ra08599h>

30. Kaur S., Singh S., Jaiswal G. et al. Pharmacology of dopamine and its receptors // In: *Frontiers in Pharmacology of Neurotransmitters* / Eds. Kumar P., Deb P.K. Singapore: Springer, 2020. Chapter 5, P. 143–182. https://doi.org/10.1007/978-981-15-3556-7_5

31. Speranza L., di Porzio U., Viggiano D. et al. Dopamine: the neuromodulator of long-term synaptic plasticity, reward and movement control // *Cells*. 2021. V. 10. P. e735. <https://doi.org/10.3390/cells10040735>

32. Moya-García A.A., Pino-Ángeles A., Gil-Redondo R. et al. Structural features of mammalian histidine decarboxylase reveal the basis for specific inhibition // *Br. J. Pharmacol.* 2009. V. 157. P. 4–13. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00219.x>

33. Han, SW., Shin, JS. Aromatic L-amino acid

decarboxylases: mechanistic features and microbial applications // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2022. V. 106. P. 4445–4458. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12028-4>

34. Jiang M, Xu G, Ni J. et al. Improving soluble expression of tyrosine decarboxylase from *Lactobacillus brevis* for tyramine synthesis with high total turnover number // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2019. V. 188. P. 436–449. <https://doi.org/10.1007/s12010-018-2925-x>

35. Choi Y., Han S.-W., Kim J.-S. et al. Biochemical characterization and synthetic application of aromatic L-amino acid decarboxylase from *Bacillus atrophaeus* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2021. V. 105. P. 2775–2785. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11122-3>

36. Nakagawa A., Nakamura S., Matsumura E. et al. Selection of the optimal tyrosine hydroxylation enzyme for (S)-reticuline production in *Escherichia coli* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2021. V. 105. P. 5433–5447. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11401-z>

Об авторах

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3.

Ефременко Елена Николаевна. Зав. лабораторией, доктор биол. наук, профессор, заведующий лабораторией эковиокатализа, выполняющей госзадание.

Асланлы Айсель Гюльхан. Научный сотрудник, канд. хим. наук, сотрудник лаборатории эковиокатализа, выполняющей госзадание.

Лягин Илья Владимирович. Старший научный сотрудник, канд. хим. наук, сотрудник лаборатории эковиокатализа, выполняющей госзадание.

Контактная информация для всех авторов: elena_efremenko@list.ru

Контактное лицо: Ефременко Елена Николаевна, elena_efremenko@list.ru

New Enzymatic Targets for Organophosphorus Compounds

E.N. Efremenko, A.G. Aslanli, I.V. Lyagin

Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry. Lenin Hills 1-3, Moscow 119991, Russian Federation

Received 12 July 2022. Accepted 27 September 2022.

It is known that several decarboxylases (aromatic amino acid decarboxylase (AAD), histidine decarboxylase (HD) and glutamate decarboxylase (GD) with different molecular weights catalyze the most important reactions of neurotransmitter and neuromodulator biosynthesis. Pyridoxal phosphate, which serves as a cofactor for these enzymes, is one of organophosphorus compounds (OPC) having a structure similar to highly toxic substances such as warfare agents (WA) sarin, soman, Vx, a substance of type Vx, tabun and the so-called «Novichoks» (A230, A232, A234), as well as pesticides, widely used in agriculture (chlorpyrifos, malathion, glyphosate, mipafox, diazinon, paraoxon), based on their inhibitory effect on cholinesterases (ChE). *The purpose of this work* was to use computer modeling methods to evaluate the possible binding of various OPC to the catalytic centers of these enzymes instead of a cofactor, as well as similar interactions of decarboxylases (DC) with OPC when the active centers of DC already contain a built-in cofactor. Molecular docking has shown that a number of these OPC can compete with the cofactor for binding to the active centers of DC, and absolutely all the studied OPC (pesticides and WA) create obstacles to embedding the cofactor in the active center of AAD and HD. Such interactions will lead to a decrease in the level of formation of products of the corresponding catalytic reactions (dopamine, serotonin,

phenylethylamine, serotonin, γ -aminobutyric acid) and the manifestation of their physiological functions. It was found that in the presence of a cofactor in the active center of the studied DC, the interaction of a number of OPC with the surface of these enzymes near the active center increases and exceeds the strength of the interaction of same enzymes with their typical substrates. At the same time, the maximum interaction that can lead to a significant inactivation of all the studied DC was revealed for the pesticides, while the effect of their presence was lower for WA. One of the highest levels of possible influence on the activity of DC was revealed for chlorpyrifos and diazinon. In total, for DC, the more dangerous substances with high potential neurotoxicity turned out to be not WA at all, including «Novichoks», namely pesticides, which, according to their known effect on ChE, are considered as low-toxic OPC. The conducted new theoretical studies indicate that, firstly, direct experimental studies are required that will confirm the bioinformatics calculations made; secondly, a revision of long-standing approaches to assessing the neurotoxicity of various OPC, based mainly on the use of ChE for these purposes, is necessary; thirdly, it may be necessary to formulate tasks for the development and the use of new systems for the determination of potentially neurotoxic substances, the effect of which will be based on the use of different DC; fourth, to study the possible using DC as a basis for the development of new catalytic enzymatic detoxifiers (antidotes) and CNS regenerators.

Keywords: *chemical safety; computer modeling; decarboxylases; inhibitors; neurodegenerative diseases; organophosphorus compounds; pesticides; pyridoxal phosphate; warfare agents.*

For citation: *Efremenko E.N., Aslanli A.G., Lyagin I.V. New Enzymatic Targets for Organophosphorus Compounds // Journal of NBC Protection Corps. 2022. V. 6. No 4. P. 342–354. EDN: DMKJOE. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-4-342-354>*

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Funding. The work was prepared in the performance of the State Assignment of Lomonosov Moscow State University No. 121041500039-8.

References

See P. 351–353.

Authors

Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry. Lenin Hills 1-3, Moscow 119991, Russian Federation.

Elena Nikolayevna Efremenko. Chief of the laboratory of ecobiocatalysis. Doctor of Biological Sciences, Professor. Carrying out the state task.

Ajsel' Gjul'han Aslanly. Researcher. Candidate of Chemical Sciences. Employee of the laboratory of ecobiocatalysis, performing a state assignment.

Ilya Vladimirovich Lyagin. Senior Researcher. Candidate of Chemical Sciences. Employee of the laboratory of ecobiocatalysis, performing a state assignment.

Contact information for all authors: elena_efremenko@list.ru

Contact person: Elena Nikolayevna Efremenko; elena_efremenko@list.ru