

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ БЕЛКОВ АДГЕЗИИ БИОПЛЕНКИ *CANDIDA TROPICALIS* ДЛЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ *HUMULUS LUPULUS* И *ARTEMISIA ABSINTHIUM*

И. С. ЧЕРНЕЙ¹⁾, Я. В. ДИЧЕНКО²⁾, В. Т. ЧЕЩЕВИК¹⁾

¹⁾Полесский государственный университет,
ул. Днепровской флотилии, 23, 225710, г. Пинск, Беларусь

²⁾Институт биоорганической химии НАН Беларуси,
ул. Академика Купревича, 5, корп. 2, 220084, г. Минск, Беларусь

Аннотация. Методом молекулярного докинга определены потенциальные молекулярные мишени белков адгезии биопленки *Candida tropicalis* при действии компонентов эфирных масел *Humulus lupulus* и *Artemisia absinthium*. Наиболее высокой аффинностью к белкам адгезии биопленки *C. tropicalis* обладали следующие компоненты: мирцен, линалоол, гумуленоксид, 4-деценвая кислота, изоамилбутират, метил-6-гептеноат, 2-нонанон, метилизооктаноат, метилоктаноат, метилнонаноат, геранилизобутират (*H. lupulus*), а также α - и β -туйон, сабинен, 2,4-туйондиен, геранилпропионат, терпинен-4-ол, *транс*-соберол, формиат геранила (*A. absinthium*). Выявленные соединения демонстрировали сходные с флуконазолом типы взаимодействий с белками адгезии биопленки, но отличались вовлечением разных ключевых аминокислотных остатков, специфичных для каждого белка. Физико-химические параметры и ADME-свойства этих соединений, в сравнении с таковыми флуконазола, указывают на их перспективность в качестве основы для разработки новых противогрибковых препаратов с антибиопленочной активностью в отношении клеток *C. tropicalis*.

Ключевые слова: белки адгезии; биопленка; *Candida*; эфирное масло; *Humulus lupulus*; *Artemisia absinthium*; молекулярный докинг; ADME-свойства.

Образец цитирования:

Черней ИС, Диченко ЯВ, Чещевик ВТ. Молекулярные мишени белков адгезии биопленки *Candida tropicalis* для эфирных масел *Humulus lupulus* и *Artemisia absinthium*. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;1:12–23.
EDN: YPNXDO

For citation:

Chernei IS, Dzichenka YU, Cheshchevik VT. Molecular targets of *Candida tropicalis* biofilm adhesion proteins for *Humulus lupulus* and *Artemisia absinthium* essential oils. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;1:12–23. Russian.
EDN: YPNXDO

Авторы:

Ирина Сергеевна Черней – ассистент кафедры биохимии и биоинформатики биотехнологического факультета.

Ярослав Владимирович Диченко – кандидат химических наук, доцент; ведущий научный сотрудник лаборатории белковой инженерии.

Виталий Тадеушевич Чещевик – кандидат биологических наук, доцент; декан биотехнологического факультета.

Authors:

Iryna S. Chernei, assistant at the department of biochemistry and bioinformatics, faculty of biotechnology.

semitko.i@polessu.by

<https://orcid.org/0000-0002-6626-7651>

Yaroslav U. Dzichenka, PhD (chemistry), docent; leading researcher at the laboratory of protein engineering.

dichenko@iboch.by

<https://orcid.org/0000-0002-8655-8704>

Vitali T. Cheshchevik, PhD (biology), docent; dean of the faculty of biotechnology.

cheshchevik.v@polessu.by

<https://orcid.org/0000-0002-1457-8570>

MOLECULAR TARGETS OF *CANDIDA TROPICALIS* BIOFILM ADHESION PROTEINS FOR *HUMULUS LUPULUS* AND *ARTEMISIA ABSINTHIUM* ESSENTIAL OILS

I. S. CHERNEI^a, Y. U. DZICHENKA^b, V. T. CHESHCHJEVIK^a

^aPolessky State University, 23 Dniaprowskaj flacilii Street, Pinsk 225710, Belarus

^bInstitute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus,
5 Akademika Kuprevicha Street, 2 building, Minsk 220084, Belarus

Corresponding author: I. S. Chernei (semitko.i@polessu.by)

Abstract. Molecular docking was employed to identify potential molecular targets of *Candida tropicalis* biofilm adhesion proteins interacting with essential oil components from *Humulus lupulus* and *Artemisia absinthium*. The following components exhibited the highest affinity for *C. tropicalis* biofilm adhesion proteins: myrcene, linalool, humulene oxide, 4-decenoic acid, isoamyl butyrate, methyl-6-heptenoate, 2-nonanone, methyl isooctanoate, methyl octanoate, methyl nonanoate, geranyl isobutyrate (*H. lupulus*), as well as α - and β -thujone, sabinene, 2,4-thujadiene, geranyl propionate, terpinene-4-ol, *trans*-sobrerol, geranyl formate (*A. absinthium*). The identified compounds demonstrated interaction types with biofilm adhesion proteins similar to those of fluconazole but differed in the involvement of various key amino acid residues specific to each protein. Comparison of physico-chemical parameters and ADME properties of these compounds with those of fluconazole suggests their potential as a basis for developing novel antifungal agents with antibiofilm activity against *C. tropicalis*.

Keywords: adhesion proteins; biofilm; *Candida*; essential oil; *Humulus lupulus*; *Artemisia absinthium*; molecular docking; ADME properties.

Введение

Виды рода *Candida* принадлежат к нормальной микрофлоре человека. В основном они колонизируют полость рта, желудочно-кишечный и мочеполовой тракты здоровых людей. Однако чрезмерное использование антибиотиков широкого спектра действия и иммуносупрессивной терапии часто приводит к иммунному дисбалансу, что, в свою очередь, обуславливает изменение в нормальной микрофлоре человека и способствует избыточному росту *Candida* spp., вызывая широкий спектр инфекций – от поверхностных слизистых до гематогенно-диссеминированных кандидозов [1].

Опубликованный в 2022 г. документ Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) содержит список важных патогенных грибов, которые представляют угрозу для здоровья людей. Среди 19 видов грибов, упомянутых в документе, *Candida albicans* и *C. tropicalis* выделены как патогены критического и высокого приоритета из-за риска высокой противогрибковой устойчивости и смертности. Также в документе ВОЗ отмечается положительная тенденция к росту заболеваний, вызванных *C. tropicalis*, в течение последних 10 лет [2]. Недавние исследования различных групп ученых и публикация ВОЗ свидетельствуют о повышении устойчивости представителей рода *Candida* (в особенности *C. tropicalis*) к стандартным противогрибковым препаратам, при этом следует отметить, что некоторые виды (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*) способны образовывать биопленки, клетки которых по свойствам отличаются от планктонных форм [3; 4].

Биопленки *Candida* spp. являются сложноструктурированными, пространственно ориентированными и состоят из различных морфологических форм (дрожжей, псевдогиф и гиф), которые заключены во внеклеточный матрикс и прикреплены к субстрату. Образование биопленок усиливает патогенность грибов рода *Candida* за счет снижения их чувствительности к противогрибковым препаратам и защиты клеток биопленки от иммунной системы организма-хозяина. Исследования показывают, что устойчивость клеток биопленки к флуконазолу в 4000 раз выше, чем устойчивость к нему планктонных форм *Candida* spp. [5]. Снижение эффективности противогрибковых препаратов и, следовательно, противогрибковой терапии в отношении биопленки связано с развитием резистентности в результате сверхэкспрессии генов *ERG11*, *UPC2*, *CDR1* и *MDR1* [6], а также со слабым проникновением лекарственных средств в структуру биопленки за счет образования внеклеточного матрикса. В итоге возникают нежелательные побочные эффекты противогрибковой терапии из-за применения повышенных доз препаратов [7].

Процесс образования биопленки условно разделяют на три этапа: адгезию, созревание и диссеминацию (рассеивание) [8; 9]. В каждом из этапов участвуют определенные регуляторы транскрипции и задействуются различные белки. На этапе адгезии происходит прикрепление клеток к субстрату за счет работы белков-адгезинов. Данный этап имеет решающее значение для образования биопленки

Candida spp., так как от начального прикрепления клеток к субстрату зависят дальнейшие рост и развитие биопленки. Эта стадия необходима для персистенции и выживания клеток *Candida* spp., что определяет их патогенность и вирулентность. Эффективная адгезия способствует последующим этапам развития биопленки, таким как созревание и диссеминация, что важно для патогенеза инфекции и ее устойчивости к внешним стрессорам и противогрибковой терапии [3; 10]. Среди белков, индуцирующих адгезию клеток к субстрату, наиболее часто встречаются представители семейства ALS. У *C. tropicalis* было идентифицировано 16 видов белков ALS, роль которых в развитии биопленки еще не установлена [10]. Помимо белков семейства ALS, прикреплению клеток *Candida* spp. к субстрату способствует белок HWP1 (белок гифальной стенки) – маннопротеин клеточной стенки грибов, обнаруженный в биопленках *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* [11]. Белки SAP2 и SAP5, выявленные у *C. albicans* и *C. tropicalis*, отвечают за правильное формирование биопленки и играют важную роль в проникновении гиф клеток в более глубокие слои ткани. Они относятся к секретируемым аспарагиновым пептидазам (SAP), которые считаются ключевыми факторами вирулентности. Эти ферменты обеспечивают клетки биопленки аминокислотами, а также могут разрушать белки организма-хозяина, участвующие в иммунной защите [12]. Белок EFG1 играет важную роль в регулировании образования биопленки *C. tropicalis* путем изменения морфологии клеток и стимуляции их филаментации [13; 14]. Белок RON1 определяет способность клеток *C. tropicalis* переходить от дрожжевой к гифальной форме. Этот процесс имеет решающее значение для инвазии тканей и распространения инфекции в организме-хозяине. Отсутствие белка RON1 приводит к нарушению роста гифы, что указывает на его регулирующую роль в морфологических изменениях [15]. Таким образом, способность грибов рода *Candida* образовывать биопленки и гифы напрямую коррелирует с вирулентностью микроорганизма, что делает белки адгезии критическим фактором патогенного профиля.

Растущая резистентность биопленок *Candida* spp. к противогрибковым препаратам требует поиска новых терапевтических подходов. Природные соединения, в частности эфирные масла лекарственных растений, представляют собой перспективный источник противогрибковых средств благодаря биологической активности их вторичных метаболитов. Отсутствие долгосрочной геноотоксичности является значительным преимуществом использования эфирных масел [9].

Несмотря на известное противогрибковое действие эфирных масел и описание его механизмов (инактивация факторов персистенции грибов рода *Candida*, повреждение цитоплазматической мембраны клеток, увеличение ее проницаемости, повреждение мембранных белков, что приводит к утечке содержимого клетки, снижению синтеза АТФ с уменьшением внутриклеточного пула АТФ), данных для полного объяснения их биологического действия пока недостаточно [16]. Эфирное масло *Humulus lupulus* содержит противогрибковые компоненты, такие как десметилксантогумол, когумулон и терпены, оказывающие влияние на метаболизм клеток. Эфирное масло *Artemisia absinthium* также демонстрирует противогрибковое действие в отношении *Candida* spp. и, кроме того, антибиопленочную активность в отношении *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus faecalis* [17; 18]. Взаимодействие компонентов эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium* с белками биопленки *C. tropicalis* ранее не исследовалось. В основном это обусловлено многокомпонентностью эфирных масел и, как следствие, трудоемкостью экспериментальной проверки на биологическую активность всех входящих в их состав соединений. В связи с этим более эффективным подходом к изучению взаимодействия компонентов эфирных масел с белками биопленки является применение современных методов *in silico*, в частности метода молекулярного докинга. Молекулярный докинг в исследованиях эфирных масел предполагает использование специальных программ и параметров, разработанных для анализа взаимодействия между компонентами эфирного масла и белковыми молекулами-мишенями клетки. Данный метод значительно упрощает поиск новых этно-медицинских лекарств на основе идентификации, выделения и характеристики молекул-мишеней [16].

В связи с вышеизложенным целью настоящей работы было определение потенциальных сайтов-мишеней в молекулах белков адгезии биопленки *C. tropicalis* при воздействии компонентов эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium* методом молекулярного докинга.

Материалы и методы исследования

Для оценки фармакокинетических свойств потенциальных лигандов использовали веб-ресурс *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch/>), который на основе молекулярной структуры исследуемых соединений предсказывает их ADME-свойства (абсорбцию, распределение, метаболизм, экскрецию).

Составление базы лигандов осуществляли исходя из ранее проведенных исследований компонентного состава эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium*, культивируемых на территории Беларуси [19; 20]. Для получения молекулярной структуры лигандов – компонентов исследуемых эфирных масел использовали базу данных химических соединений и смесей PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Конвертацию молекулярной структуры лигандов в формат 3D осуществляли с помощью веб-сервиса *OpenBabel*

(<https://www.cheminfo.org/chemistry/cheminformatics/formatconverter/index.html>). Для минимизации энергии молекул лигандов применяли программный пакет *UCSF Chimera* (версия 1.11).

Поиск белковых молекул-мишеней проводили на основании литературных данных с использованием веб-сервера для анализа сети функциональных белковых ассоциаций *STRING* (<https://string-db.org/>) и открытой базы данных последовательностей белков UniProt (<https://www.uniprot.org/>). Кристаллические структуры белка ALS3 в комплексе с гептатреонином (ID: 4LEB) и белка SAP5 в комплексе с пепстатином A (ID: 2QZX), классическим ингибитором аспарагиновой протеиназы, загружены из базы данных Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>) в формате PDB. Разрешение, с которым были получены структуры, составило 1,4 и 2,5 Å. Далее из этих структур были удалены молекулы воды и сокристаллизованные лиганды, а вместо них добавлены атомы водорода. Другие белки-мишени (ALS1, ALS2, SAP2, HWP1, EFG1, RON1) сконструированы с использованием веб-ресурса *Swiss-Model* (<https://swissmodel.expasy.org/>) и программы *AlphaFold* (<https://www.alphafold.com/>).

Для проведения молекулярного докинга белковых молекул-мишеней с лигандами – компонентами исследуемых эфирных масел применяли расширение AutoDock Vina программы *UCSF Chimera* (версия 1.11). В процессе молекулярного докинга было сгенерировано 20 различных положений лиганда в активном центре соответствующего белка-мишени, при этом заданный параметр разницы в величине энергии связывания составлял –5 ккал/моль. Остальные параметры молекулярного докинга использовались по умолчанию.

По результатам молекулярного докинга выбиралось положение лиганда с наименьшей энергией связывания. Оно использовалось для дальнейшего анализа. Визуализация после докинга проводилась с помощью программного пакета *UCSF Chimera* (версия 1.11). Для каждого белка-мишени подбирался свой размер области докинга с учетом положения активного центра связывания, рассчитанного программным обеспечением *AutoDockTools* (версия 1.5.7) (табл. 1).

Таблица 1

Размер области молекулярного докинга

Table 1

Molecular docking space size

Белок-мишень	Центр связывания (x; y; z)
ALS1	21,357; 0,705; 51,536
ALS2	–3,11; 17,844; –16,053
ALS3	–5,869; 2,932; –14,114
SAP2	–19,354; 6,194; –18,920
SAP5	10,764; 25,463; 25,401
HWP1	133,899; 20,653; 40,298
EFG1	12,386; –8,373; 9,727
RON1	2,874; 17,081; 65,154

Результаты и их обсуждение

Определение биодоступности изучаемых соединений является начальным и крайне важным этапом их скрининга, позволяющим выбрать для дальнейшего исследования только те соединения, которые будут обладать оптимальными ADME-свойствами [21]. Для отбора перспективных кандидатов с оптимальными ADME-свойствами применялось правило пяти Липинского, учитывающее ключевые физико-химические параметры: липофильность ($\log P$), число доноров и акцепторов водородных связей, молекулярную массу (M_r), топологическую площадь полярной поверхности (TPSA) и растворимость ($\log S$) (табл. 2).

Липофильность – одна из ключевых характеристик биологически активных веществ. Зная ее, можно успешно предсказывать фармакокинетику и фармакодинамику поведения вещества в организме, его способность проникать в клетки через фосфолипидные мембранные барьеры. По этой причине, чтобы лучше понять поведение биологически активных соединений, важно определить логарифм коэффициента распределения незаряженных форм субстрата, обозначаемый как $\log P$. Молекула обычно является липофильной, если $\log P > 0$. Значение $\log P$ от 1 до 3 считается оптимальным для обеспечения свойств, подобных свойствам лекарственных препаратов, поскольку оно предполагает баланс между гидрофильностью и липофильностью, что важно для абсорбции препарата и его распределения в организме [22].

Из данных табл. 2 следует, что все молекулы, входящие в состав исследованных эфирных масел, являются липофильными. На основе установленного критерия отбора (значение $\log P$ составляет от 1 до 3) в качестве перспективных соединений были выбраны формиат геранила ($\log P = 3,06$), 2,4-туйондиен ($\log P = 2,89$), 2-нонанон ($\log P = 2,75$), метилоктаноат ($\log P = 2,70$), 4-деценвая кислота ($\log P = 2,69$), линалоол ($\log P = 2,66$), терпинен-4-ол ($\log P = 2,60$), метилизооктаноат ($\log P = 2,59$), изоамилбутират ($\log P = 2,41$), β -туйон ($\log P = 2,35$), диэтилфталат ($\log P = 2,30$), метил-6-гептеноат ($\log P = 2,14$), *транс*-соберол ($\log P = 1,63$). Липофильные вещества, как правило, легче проникают через клеточные мембраны и мигрируют в богатые липидами ткани, что может влиять на их распределение в организме.

В молекулах гумулена, β -пинена, мирцена, кариофиллена, фарнезена, δ -, γ - и α -кадинена, β -фарнезена, α - и β -селинена, α -оцимена, α -копанена, гермакрена, аромадендрена, азулена, валентена, α -бисаболен, сабинена, α -туйона, 2,4-туйондиена не было групп, которые могут являться донорами или акцепторами водородных связей. У остальных молекул число акцепторов водородных связей (в частности, атомов кислорода и азота) и число доноров водородных связей соответствовали правилу пяти Липинского (меньше 10 доноров и 5 акцепторов водородных связей) [22].

Молекулярная масса всех исследованных соединений не превышала 300 г/моль (находилась в диапазоне 130–300 г/моль), т. е. удовлетворяла принятому критерию (<450 г/моль). Соединения с более низкой молекулярной массой обычно лучше проникают через клеточные мембраны, а соединения с более высокой молекулярной массой не только обладают плохой проницаемостью, но и могут быть сильнее подвержены метаболическому распаду, что влияет на их стабильность и период полувыведения из организма [23].

Такой параметр, как топологическая площадь полярной поверхности, используется для прогнозирования способности препарата проникать через биологические мембраны, что имеет решающее значение для его абсорбции и биодоступности. Данный показатель отражает сумму площадей поверхности всех полярных атомов, в первую очередь кислорода и азота, включая присоединенные к ним атомы водорода. В связи с этим молекулы, которые имеют атомы – доноры и акцепторы водородных связей, обладают разными значениями параметра TPSA. Более низкие значения параметра TPSA обычно указывают на лучшую проницаемость, а более высокие – на потенциальные трудности при пересечении клеточных мембран. Считается, что молекулы с показателем TPSA от 20 до 130 Å² обладают хорошей биодоступностью при пероральном приеме, поскольку они легче проникают через клеточные мембраны [24]. Для большинства исследованных компонентов (линалоол, 4-деценвая кислота, изоамилбутират, метил-6-гептеноат, метилизооктаноат, метилоктаноат, метилнонаноат, метиллиноленат, геранилизобутират, диэтилфталат, геранилпропионат, терпинен-4-ол, *транс*-соберол, формиат геранила, линалилизвалерат) значения параметра TPSA находятся в оптимальном диапазоне. Исключение составляют гумуленоксид, кариофилленоксид, 2-ундеканон, 2-нонанон, 2-тридеканон и β -туйон, для которых параметр TPSA меньше 20 Å². Для остальных исследованных соединений он равен 0 Å².

Параметр растворимости выступает важным фактором при оценке биодоступности молекул. Плохая растворимость может привести к недостаточной абсорбции и снижению терапевтической эффективности препаратов [22]. Все исследованные молекулы являются растворимыми в разной степени. Наибольшей растворимостью в воде характеризуются метил-6-гептеноат ($\log S = -1,92$) и *транс*-соберол ($\log S = -1,97$), а наименьшей – α -бисаболен ($\log S = -4,92$), гермакрен ($\log S = -4,74$), метиллиноленат ($\log S = -4,69$), фарнезен ($\log S = -4,57$), β -селинен ($\log S = -4,47$), β -фарнезен ($\log S = -4,44$), азулен ($\log S = -4,36$), валентен ($\log S = -4,34$), α -селинен ($\log S = -4,32$), аромадендрен ($\log S = -4,07$) и линалилизвалерат ($\log S = -4,06$).

Таблица 2

Физико-химические параметры компонентов эфирных масел *H. lupulus*
и *A. absinthium*, определяющие ADME-свойства молекул

Table 2

Physico-chemical parameters of *H. lupulus*
and *A. absinthium* essential oil components, determining ADME properties of molecules

Компонент	Липофильность ($\log P$)	Число доноров/акцепторов водородных связей	Молекулярная масса (M_r), г/моль	Топологическая площадь полярной поверхности (TPSA), Å ²	Растворимость ($\log S$)*
Гумулен	4,26	0	204,35	0	–3,97
β -Пинен	3,42	0	136,23	0	–3,31
Мирцен	3,43	0	136,23	0	–3,05
Кариофиллен	4,24	0	204,35	0	–3,87

Окончание табл. 2
Ending of the table 2

Компонент	Липофильность (log P)	Число доноров/акцепторов водородных связей	Молекулярная масса (M_r), г/моль	Топологическая площадь полярной поверхности (TPSA), Å ²	Растворимость (log S)*
Фарнезен	4,96	0	204,35	0	-4,57
δ-Кадинен	4,12	0	204,35	0	-3,43
γ-Кадинен	4,18	0	204,35	0	-3,76
α-Кадинен	4,08	0	204,35	0	-3,61
Линалоол	2,66	1/1	154,25	20,23	-2,40
Гумуленоксид	3,71	0/1	220,35	12,53	-3,63
Кариофилленоксид	3,68	0/1	220,35	12,53	-3,45
β-Фарнезен	4,97	0	204,35	0	-4,44
2-Ундеканон	3,48	0/1	170,29	17,07	-2,94
4-Деценная кислота	2,69	1/2	170,25	37,30	-2,40
α-Селинен	4,40	0	204,35	0	-4,32
β-Селинен	4,51	0	204,35	0	-4,47
Изоамилбутират	2,41	0/2	158,24	26,30	-2,29
Метил-6-гептеноат	2,14	0/2	142,2	26,30	-1,92
α-Оцимен	3,45	0	136,23	0	-3,15
2-Нонанон	2,75	0/1	142,24	17,07	-2,30
Метилизооктаноат	2,59	0/2	158,24	26,30	-2,50
Метилоктаноат	2,70	0/2	158,24	26,30	-2,74
Метилнонаноат	3,13	0/2	172,26	26,30	-3,10
Метиллиноленат	5,55	0/2	292,46	26,30	-4,69
α-Копанен	4,30	0	204,35	0	-3,86
Гермакрен	4,60	0	204,35	0	-4,74
Аромадендрен	4,34	0	204,35	0	-4,07
Азулен	4,33	0	204,35	0	-4,36
2-Тридеканон	4,25	0/1	198,34	17,07	-3,67
Геранилизобутират	3,97	0/2	224,34	26,30	-3,97
Валентен	4,41	0	204,35	0	-4,34
Диэтилфталат	2,30	0/4	222,24	52,60	-2,62
α-Бисаболен	4,77	0	204,35	0	-4,92
Сабинен	3,25	0	136,23	0	-2,57
α-Туйон	3,15	0	136,23	0	-2,41
β-Туйон	2,35	0/1	152,23	17,07	-2,15
2,4-Туйондиен	2,89	0	134,22	0	-2,51
Геранилпропионат	3,67	0/2	210,31	26,30	-3,52
Терпинен-4-ол	2,60	1/1	154,25	20,23	-2,78
транс-Собрерол	1,63	2/2	170,25	40,46	-1,97
Формиат геранила	3,06	0/2	182,26	26,30	-3,19
Линалилизовалерат	4,23	0/2	238,37	26,30	-4,06

*Шкала растворимости компонентов: до 0 (высокорастворимые), от 0 до -2 (хорошо растворимые), от -2 до -4 (растворимые), от -4 до -6 (умеренно растворимые), от -6 до -10 (слаборастворимые), от -10 (нерастворимые).

Помимо физико-химических свойств, были изучены фармакодинамические свойства компонентов эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium*. Фармакодинамический анализ включал в себя оценку следующих параметров: коэффициента проницаемости кожи (K_p), взаимодействия молекул с цитохромами P450 (CYP), абсорбции в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), взаимодействия с Р-гликопротеином (белком лекарственной устойчивости), проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и синтетической доступности (SA). Результаты этого исследования представлены в табл. 3.

Параметр $\log K_p$, который представляет собой логарифм коэффициента проницаемости кожи, используется для оценки способности молекулы проходить через кожные барьеры. Чем более отрицательное значение имеет параметр $\log K_p$, тем меньшей проницаемостью кожи обладает молекула. Исследование проницаемости кожи для различных молекул показало, что наименьшей проницаемостью характеризуется *транс*-соберол ($\log K_p = -6,05$). Близки по этому показателю диэтилфталат ($\log K_p = -5,94$) и β -гуйон ($\log K_p = -5,62$). Наибольшую проницаемость кожи демонстрируют α -бисаболен ($\log K_p = -3,03$), фарнезен ($\log K_p = -3,20$), β -фарнезен ($\log K_p = -3,27$) и гермакрен ($\log K_p = -3,45$). Данные значения параметра $\log K_p$ свидетельствуют о существенных различиях в способности этих молекул проходить через кожные барьеры.

Далее было проанализировано взаимодействие исследуемых молекул с CYP, которые играют ключевую роль в элиминации лекарств посредством метаболической биотрансформации. Ингибирование этих изоферментов приводит к токсическим и нежелательным побочным эффектам из-за накопления лекарственного средства или его метаболитов. По этой причине для разработки лекарств очень важно предсказать степень их влияния на организм в результате ингибирования CYP и определить, какие изоформы CYP затронуты [22]. В исследованных эфирных маслах 45,2 % компонентов не являются ингибиторами изоформ CYP, а 19,0 % компонентов ингибируют только одну изоформу. Ни один из выбранных компонентов не является ингибитором CYP2D6 и CYP3A4 – ферментов, участвующих в метаболизме ксенобиотиков, но многие из них ингибируют CYP2C9 и CYP2C19, которые также участвуют в метаболизме лекарств (см. табл. 3).

Такие параметры, как абсорбция в ЖКТ, взаимодействие с Р-гликопротеином и проницаемость ГЭБ, необходимы для понимания того, как лекарство всасывается, распределяется, метаболизируется и выводится из организма [25]. Основываясь на данных параметрах, можно оценить воздействие исследуемых соединений и потенциальную эффективность их попадания в целевую зону в организме. Все изученные компоненты эфирных масел не являются субстратами Р-гликопротеина. Результаты анализа показали, что 50 % исследованных молекул демонстрируют высокую степень абсорбции в ЖКТ. Помимо этого, 69 % молекул обладают проницаемостью ГЭБ (см. табл. 3).

Синтетическая доступность является основным параметром при выборе наиболее перспективных виртуальных молекул, которые будут синтезированы и подвергнуты биологическим анализам. Оценка данного параметра варьируется от 1 до 10 (от очень легкой до очень сложной синтетической доступности) [10]. Из 42 исследованных молекул 9 молекул демонстрируют легкую синтетическую доступность. К ним относятся изоамилбутират (SA = 1,51), 2-нонанон (SA = 1,52), метил-6-гептеноат (SA = 1,59), метилизооктаноат (SA = 1,68), метилоктаноат (SA = 1,68), 2-ундеканон (SA = 1,72), метилнонаноат (SA = 1,78), 2-тридеканон (SA = 1,93) и диэтилфталат (SA = 1,93). Остальные молекулы характеризуются нижесредней синтетической доступностью (см. табл. 3).

Таблица 3

**Фармакодинамические свойства
компонентов эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium***

Table 3

**Pharmacodynamic properties
of *H. lupulus* and *A. absinthium* essential oil components**

Компонент	Логарифм коэффициента проницаемости кожи ($\log K_p$)	Ингибирование CYP	Абсорбция в ЖКТ	Проницаемость ГЭБ	Синтетическая доступность (SA)
Гумулен	–4,32	2C9	Низкая	–	3,66
β -Пинен	–4,18	2C9	Низкая	+	3,73
Мирцен	–4,17	–	Низкая	+	2,85
Кариофиллен	–4,44	2C19, 2C9	Низкая	–	4,51
Фарнезен	–3,20	1A2, 2C9	Низкая	–	3,72

Окончание табл. 3
Ending of the table 3

Компонент	Логарифм коэффициента проницаемости кожи ($\log K_p$)	Ингибирование СУР	Абсорбция в ЖКТ	Проницаемость ГЭБ	Синтетическая доступность (SA)
δ -Кадинен	-4,85	2C19, 2C9	Низкая	—	4,14
γ -Кадинен	-4,49	2C19, 2C9	Низкая	—	4,35
α -Кадинен	-4,65	2C19, 2C9	Низкая	—	4,35
Линалоол	-5,13	—	Высокая	+	2,74
Гумуленоксид	-4,91	2C9	Высокая	+	4,44
Кариофилленоксид	-5,12	2C19, 2C9	Высокая	+	4,35
β -Фарнезен	-3,27	1A2, 2C9	Низкая	—	3,42
2-Ундеканон	-4,43	1A2	Высокая	+	1,72
4-Деценная кислота	-5,12	—	Высокая	+	2,45
α -Селинен	-3,85	2C19, 2C9	Низкая	—	4,22
β -Селинен	-3,68	2C19, 2C9	Низкая	—	3,42
Изоамилбутират	-5,24	—	Высокая	+	1,51
Метил-6-гептеноат	-5,37	—	Высокая	+	1,59
α -Оцимен	-4,06	—	Низкая	+	3,17
2-Нонанон	-4,94	—	Высокая	+	1,52
Метилизооктаноат	-4,92	—	Высокая	+	1,68
Метилоктаноат	-4,58	—	Высокая	+	1,68
Метилнонаноат	-4,28	—	Высокая	+	1,78
Метиллиноленат	-3,62	1A2, 2C9	Высокая	+	3,10
α -Копанен	-4,37	1A2, 2C19, 2C9	Низкая	+	4,62
Гермакрен	-3,45	2C9	Низкая	—	3,65
Аромандендрен	-4,20	1A2, 2C19, 2C9	Низкая	+	3,70
Азулен	-3,80	2C19, 2C9	Низкая	—	4,53
2-Тридеканон	-3,84	1A2	Высокая	+	1,93
Геранилизобутират	-4,06	—	Высокая	+	2,91
Валентен	-3,83	2C19, 2C9	Низкая	—	4,22
Диэтилфталат	-5,94	1A2	Высокая	+	1,93
α -Бисаболен	-3,03	2C9	Низкая	—	3,90
Сабинен	-4,94	—	Низкая	+	2,87
α -Туйон	-5,11	—	Низкая	+	3,99
β -Туйон	-5,62	—	Высокая	+	2,79
2,4-Туйондиен	-4,97	—	Низкая	+	4,28
Геранилпропионат	-4,38	—	Высокая	+	2,80
Терпинен-4-ол	-4,93	—	Высокая	+	3,28
<i>транс</i> -Собрерол	-6,05	—	Высокая	+	3,68
Формиат геранила	-4,47	—	Высокая	+	2,58
Линалилизовалерат	-4,07	2C19, 2C9	Высокая	+	3,16

Таким образом, исследование фармакокинетики и фармакодинамики компонентов эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium* с использованием правила пяти Липинского показало, что большая часть изученных соединений характеризуются высокой биодоступностью. Все молекулы демонстрируют высокую липофильность, что позволяет им легко проникать через клеточные мембраны и мигрировать в богатые липидами ткани. Большинство молекул соответствуют требованиям вышеупомянутого правила к количеству акцепторов и доноров водородных связей, а также к молекулярной массе. Это указывает на их потенциально высокую проницаемость мембран и минимизирует риск метаболического распада. Однако анализ растворимости в воде показал значительные различия между молекулами. Так, наибольшей растворимостью обладают метил-6-гептеноат и *транс*-соберерол, что может указывать на их высокую биодоступность при пероральном приеме. В то же время α -бисаболен, гермакрен, метиллиноленат, фарнезен, β -селинен, β -фарнезен, азулен, валентен, α -селинен, аромадендрен и линалилизовалерат демонстрируют низкую растворимость, что может затруднять их всасывание в организме. При оценке фармакодинамических свойств молекул определено, что *транс*-соберерол, диэтилфталат и β -туйон отличаются низкой проницаемостью кожи, тогда как α -бисаболен, фарнезен, β -фарнезен и гермакрен обладают высокой проницаемостью. Большинство исследованных компонентов не являются ингибиторами CYP, что положительно сказывается на безопасности их потенциального применения. Результаты анализа абсорбции в ЖКТ, взаимодействия с Р-гликопротеином и проницаемости ГЭБ показали, что значительная часть молекул характеризуются высокой абсорбцией в ЖКТ и проницаемостью ГЭБ (50 и 69 % молекул соответственно). Важно отметить, что ни одна из исследованных молекул не продемонстрировала субстратной активности к Р-гликопротеину. Также установлено, что все молекулы имеют легкую и низесреднюю синтетическую доступность.

Поскольку все изученные соединения соответствовали требованиям к фармакокинетическим и фармакодинамическим свойствам, они использовались для дальнейшего исследования потенциальных молекулярных мишеней белков адгезии (ALS1, ALS2, ALS3, SAP2, SAP5, HWP1, EFG1, RON1), участвующих в формировании биопленки *C. tropicalis*. В результате проведенного молекулярного докинга было установлено, что рассчитанная с помощью оценочной функции расширения AutoDock Vina программы UCSF Chimera (версия 1.11) энергия связывания всех исследованных компонентов эфирных масел с белками адгезии биопленки *C. tropicalis* имеет отрицательные значения. Это свидетельствует о возможности образования данными соединениями стабильных комплексов с белками. Для сравнения полученных результатов была проведена аналогичная оценка энергии связывания флуконазола, известного противогрибкового средства, с теми же белками.

Молекулярный докинг показал, что флуконазол обладает хорошей способностью связываться с белками семейства ALS. Энергия связывания флуконазола с белками ALS1, ALS2 и ALS3 составила –6,3; –7,2 и –6,4 ккал/моль соответственно. Кроме того, было установлено, что высокой энергией связывания характеризуются взаимодействия следующих компонентов эфирных масел с белками семейства ALS: α -кадинена и аромадендрена с белком ALS1 (–6,9 ккал/моль); гумуленоксида и азулена с белком ALS2 (–6,8 ккал/моль); гумулена, кариофилленоксида, аромадендрена и валентена с белком ALS3 (–6,4 ккал/моль). Отличия энергии связывания изученных соединений с белками семейства ALS от энергии связывания с ними флуконазола незначительны, так как разница <2,75 ккал/моль является граничной ошибкой для скоринговой функции расширения AutoDock Vina программы UCSF Chimera (версия 1.11). Основным типом связи исследованных компонентов эфирных масел с белками семейства ALS выступают гидрофобные взаимодействия. Аминокислоты тирозин и аланин, располагающиеся в различных участках белков семейства ALS, взаимодействуют с компонентами эфирных масел.

Помимо соединений, обладающих способностью к гидрофобным взаимодействиям, были выявлены компоненты эфирных масел, имеющие либо донорные, либо акцепторные свойства и формирующие водородные связи с белками семейства ALS. В зависимости от структуры молекулы компоненты эфирных масел, способные образовывать водородные связи, разделены на следующие группы:

- терпены – гумуленоксид, кариофилленоксид, β -туйон, терпинен-4-ол, *транс*-соберерол и линалоол;
- кетоны – 2-ундеканон, 2-нонанон, 2-тридеканон;
- сложные эфиры – изоамилбутират, метил-6-гептеноат, геранилизобутират, метилизооктаноат, метилоктаноат, метиллиноленат, геранилпропионат, линалилизовалерат, формиат геранила, диэтилфталат.

Для каждой из групп были выявлены общие свойства при образовании водородных связей с белками-мишенями биопленки *C. tropicalis* (табл. 4).

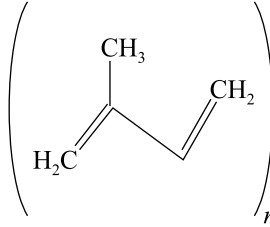
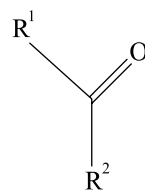
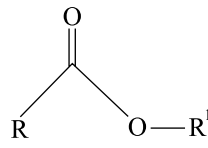
Установлено, что для компонентов эфирных масел, входящих в группу терпенов, ключевой аминокислотой для образования водородных связей в составе белков ALS1 и ALS2 является SER100, а в составе белка ALS3 – SER170.

Таблица 4

Водородные связи между ключевыми аминокислотами
белков адгезии биопленки *C. tropicalis* и компонентами эфирных масел

Table 4

Hydrogen bonds between key amino acids
of *C. tropicalis* biofilm adhesin proteins and essential oil components

Группа компонентов	Структура молекулы	Белок/аминокислота
Терпены		ALS1/SER100 ALS2/SER100 ALS3/SER170 SAP2/THR64 SAP5/ASN304 HWP1/THR216, THR220 EFG1, RON1/LYS
Кетоны		ALS1/THR313 ALS2/ARG312, SER187 ALS3/ALA83, SER230 SAP2/THR130, THR222 SAP5/GLY85, ASP86, ARG120 HWP1/THR211 RON1/LYS229
Сложные эфиры		ALS1/THR313 ALS2/SER187, LEU189, ARG312 ALS3/ALA83 SAP2/ASP120, THR222, LYS129 SAP5/ASP86 HWP1/THR232 EFG1/SER228, ARG264 RON1/LEU149, LYS229

Для группы соединений эфирных масел, относящихся к кетонам, ключевой аминокислотой для формирования водородных связей в активном центре белка ALS1 выступает THR313, в случае с белком ALS2 таковыми выступают аминокислоты ARG312 и SER187, а в случае с белком ALS3 – ALA83 и SER230.

В центре связывания белка ALS1 ключевой аминокислотой для группы сложных эфиров, как и для группы кетонов, является THR313. При анализе сложных эфиров, взаимодействующих с белком ALS2, ключевые аминокислоты варьировались в зависимости от природы спирта, входящего в состав эфира. Для подгруппы эфиров с гераниолом (геранилизобутират, геранилпропионат, формиат геранила) ключевыми аминокислотами оказались SER187 и LEU189. Остальные подгруппы сложных эфиров взаимодействовали с SER187, LEU189 и ARG312. В составе белка ALS3 для всех молекул независимо от подгруппы ключевой аминокислотой была ALA83.

Установлено, что для флуконазола ключевыми аминокислотами для образования водородных связей в случае с белками ALS1 и ALS2 являются THR313, SER100, LEU189, SER187 и ARG312, а в случае с белком ALS3 – VAL172 и SER170. Они частично совпадают с ключевыми аминокислотами для исследованных групп компонентов эфирных масел.

Результаты молекулярного докинга показывают высокое сродство флуконазола к остальным белкам адгезии биопленки *C. tropicalis* (HWP1, EFG1, RON1, SAP2 и SAP5). Энергия связывания флуконазола с ними составила –4,5 ккал/моль (для HWP1), –5,4 ккал/моль (для EFG1), –6,5 ккал/моль (для RON1 и SAP2) и –6,7 ккал/моль (для SAP5). В составе исследованных эфирных масел также были определены компоненты, которые обладают высокой энергией связывания с этими белками. Гумуленоксид продемонстрировал энергию связывания –5,7 и –7,1 ккал/моль с белками HWP1 и SAP5 соответственно. Валентен и азулен связались с белком EFG1 с энергией –5,7 ккал/моль, а валентен взаимодействовал с белком SAP2 с энергией –6,8 ккал/моль. Наиболее сильное связывание продемонстрировал α -копанен с белком RON1 (–7,7 ккал/моль). Сравнение энергии связывания флуконазола и энергии связывания компонентов эфирных

масел показало незначительные различия для белков EFG1, SAP2 и SAP5. Однако в случае с белком HWP1 энергия связывания флуконазола была в 1,3 раза меньше, а в случае с белком RON1 – в 1,2 раза меньше, чем энергия связывания более активных соединений эфирных масел.

Анализ взаимодействия изученных молекул с белками HWP1, EFG1, RON1, SAP2, SAP5 биопленки *C. tropicalis* выявил преобладание гидрофобных связей. Была установлена избирательность взаимодействия: все исследованные молекулы преимущественно связывались с тирозинами TYR84 (в белках семейства SAP) и TYR261 (в белках HWP1 и EFG1). В случае с белком RON1 гидрофобные связи отсутствовали, однако наблюдались нековалентные взаимодействия ионного типа (солевые мостики). В частности, метил-6-гептеноат, геранилизобутират, изоамилбутират и метилизооктаноат образовывали солевые мостики с LYS229, а диэтилфталат образовывал солевые мостики с ARG78.

Также был проведен анализ на наличие водородных взаимодействий у белков по предложенной выше систематизации. Установлено, что для компонентов эфирных масел, входящих в группу терпенов, ключевой аминокислотой для формирования водородных связей в составе белка SAP2 является THR64, в составе белка SAP5 – ASN304, а в составе белков EFG1 и RON1 – LYS в различных положениях, в активном центре связывания белка HWP1 таковыми оказались аминокислоты THR216 и THR220. Для группы соединений эфирных масел, относящихся к кетонам, ключевыми аминокислотами для образования водородных связей в белке SAP2 выступают THR130 и THR222, в белке SAP5 – GLY85, ASP86 и ARG120, в белке HWP1 ключевой аминокислотой является THR211, а в белке RON1 – LYS229. Для белка EFG1 выделить общую ключевую аминокислоту не представляется возможным.

Взаимодействие сложных эфиров с белком SAP2 определялось аминокислотами ASP120 и THR222, а также LYS129 (для диэтилфталата и изоамилбутирата). Связывание с белком SAP5, как и в случае с кетонами, обеспечивала аминокислота ASP86. В составе белка HWP1 ключевыми аминокислотами оказались треонины (THR), наиболее часто находившиеся в положении 232. Взаимодействие сложных эфиров с белками EFG1 и RON1 демонстрировало зависимость от спиртового компонента эфира. В белке RON1 для подгруппы эфиров с метанолом (метил-6-гептеноат, метилизооктаноат, метилоктаноат, метилнонаноат, метиллиноленат) ключевой аминокислотой была LEU149, для остальных подгрупп – LYS229. В активном центре связывания белка EFG1 сложные эфиры с гераниолом взаимодействовали с SER228, а сложные эфиры с метанолом – с ARG264.

Сравнительный анализ выявил, что флуконазол и исследованные компоненты эфирных масел образуют водородные связи с одинаковыми аминокислотами в сайтах связывания белков HWP1, RON1, SAP2, SAP5 биопленки, но в разных положениях. Исключение составляет белок EFG1, где ключевой аминокислотой для флуконазола является ASN в положении 245, которая также выступает ключевой аминокислотой для метилизооктаноата, но только в положении 226.

Заключение

Результаты исследования компонентов эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium* показали, что наиболее перспективными в качестве противогрибковых средств являются мирцен, линалоол, гумуленоксид, 4-деценовая кислота, изоамилбутират, метил-6-гептеноат, 2-нонанон, метилизооктаноат, метилоктаноат, метилнонаноат, геранилизобутират (в эфирном масле *H. lupulus*), а также α - и β -туйон, сабинен, 2,4-туйондиен, геранилпропионат, терпинен-4-ол, *транс*-соберерол, формиат геранила (в эфирном масле *A. absinthium*).

В процессе молекулярного докинга было установлено, что величина энергии связывания всех изученных соединений с белками адгезии биопленки *C. tropicalis* имеет отрицательное значение. Это свидетельствует о возможности образования этими соединениями стабильных комплексов с белками. Взаимодействие флуконазола с белками адгезии биопленки *C. tropicalis* включает как гидрофобные, так и водородные связи с выявлением ключевых аминокислот (например, TYR, ALA, SER, THR), которые варьируются в зависимости от белка. Также все исследованные компоненты эфирных масел образуют гидрофобные связи с изученными белками адгезии, за исключением белка RON1, для которого вместо гидрофобных связей обнаружены нековалентные взаимодействия ионного типа (солевые мостики). В частности, метил-6-гептеноат, геранилизобутират, изоамилбутират и метилизооктаноат образовывали солевые мостики с LYS229, а диэтилфталат образовывал солевые мостики с ARG78.

Применение метода молекулярного докинга позволило идентифицировать молекулы эфирных масел, образующие водородные связи со специфическими аминокислотами в центрах связывания белков адгезии биопленки *C. tropicalis*, что дает возможность более точно предсказать их взаимодействие с целевыми белками и оптимизировать выбор соединений для дальнейших исследований. Полученные результаты открывают перспективы для разработки на основе этих молекул новых лекарственных препаратов, обладающих противогрибковой и антибиопленочной активностью.

Библиографические ссылки

1. Silva JPB, Peres ARMN, Paixão TP, Silva ASB, Baetas AC, Barbosa WLR, et al. Antifungal activity of hydroalcoholic extract of *Chrysobalanus icaco* against oral clinical isolates of *Candida* species. *Pharmacognosy Research*. 2017;9(1):96–100. DOI: 10.4103/0974-8490.199772.
2. World Health Organization. *WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action*. Geneva: World Health Organization; 2022. VIII, 33 p.
3. Atencia-Carrera MB, Cabezas-Mera FS, Vizuete K, Debut A, Tejera E, Machado A. Evaluation of the biofilm life cycle between *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022;12:953168. DOI: 10.3389/fcimb.2022.953168.
4. de Barros PP, Rossoni RD, de Souza CM, Scorzoni L, de Camargo Fenley J, Junqueira JC. *Candida* biofilms: an update on developmental mechanisms and therapeutic challenges. *Mycopathologia*. 2020;185(3):415–424. DOI: 10.1007/s11046-020-00445-w.
5. Sasani E, Khodavaisy S, Rezaie S, Salehi M, Yadegari MH. The relationship between biofilm formation and mortality in patients with *Candida tropicalis* candidemia. *Microbial Pathogenesis*. 2021;155:104889. DOI: 10.1016/j.micpath.2021.104889.
6. Jiang C, Ni Q, Dong D, Zhang L, Li Z, Tian Y, et al. The role of *UPC2* gene in azole-resistant *Candida tropicalis*. *Mycopathologia*. 2016;181(11–12):833–838. DOI: 10.1007/s11046-016-0050-3.
7. Jafri H, Ahmad I. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol inhibit biofilms and interact synergistically with antifungal drugs against drug-resistant strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *Journal de Mycologie Médicale*. 2020;30(1):100911. DOI: 10.1016/j.mycmed.2019.100911.
8. Lohse MB, Gulati M, Johnson AD, Nobile CJ. Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans* biofilms. *Nature Reviews Microbiology*. 2018;16(1):19–31. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.107.
9. Черней ИС. Антибиопленочная активность природных соединений в отношении *Candida* spp. *Вестник Брэсцкага ўніверсітэта. Серыя 5, Біялогія. Навукі аб зямлі*. 2023;2:70–80.
10. Araújo D, Henriques M, Silva S. Portrait of *Candida* species biofilm regulatory network genes. *Trends in Microbiology*. 2017;25(1):62–75. DOI: 10.1016/j.tim.2016.09.004.
11. Wan Harun WHA, Jamil NA, Jamaludin NH, Nordin MAF. Effect of *Piper betle* and *Brucea javanica* on the differential expression of hyphal wall protein (HWP1) in non-*Candida albicans* *Candida* (NCAC) species. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013:397268. DOI: 10.1155/2013/397268.
12. da Silva CR, Damaciera Moura FL, Almeida Alves Filho AL, de Sousa Campos R, de Farias Cabral VP, do Amaral Valente Sá LG, et al. Evaluation of interactions of silibinin with the proteins ALS3 and SAP5 against *Candida albicans*. *Journal of Health and Biological Sciences*. 2022;10(1):1–6. DOI: 10.12662/2317-3076jhbs.v10i1.4239.p1-6.2022.
13. Mancera E, Porman AM, Cuomo CA, Bennett RJ, Johnson AD. Finding a missing gene: *EFG1* regulates morphogenesis in *Candida tropicalis*. *G3: Genes. Genomes. Genetics*. 2015;5(5):849–856. DOI: 10.1534/g3.115.017566.
14. de Souza CM, Moralez ATP, dos Santos MM, Mantovani MS, Furlaneto-Maia L, Furlaneto MC. Deciphering colonies of phenotypic switching-derived morphotypes of the pathogenic yeast *Candida tropicalis*. *Mycopathologia*. 2022;187(5–6):509–516. DOI: 10.1007/s11046-022-00663-4.
15. Song Y-D, Hsu C-C, Lew SQ, Lin C-H. *Candida tropicalis* RON1 is required for hyphal formation, biofilm development, and virulence but is dispensable for N-acetylglucosamine catabolism. *Medical Mycology*. 2021;59(4):379–391. DOI: 10.1093/mmy/myaa063.
16. Martínez-Reyes I, Diebold LP, Kong H, Schieber M, Huang H, Hensley CT, et al. TCA cycle and mitochondrial membrane potential are necessary for diverse biological functions. *Molecular Cell*. 2016;61(2):199–209. DOI: 10.1016/j.molcel.2015.12.002.
17. Bocquet L, Rivière C, Dermont C, Samaillie J, Hilbert J-L, Halama P, et al. Antifungal activity of hop extracts and compounds against the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. *Industrial Crops and Products*. 2018;122:290–297. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.05.061.
18. Ivanov M, Gašić U, Stojković D, Kostić M, Mišić D, Soković M. New evidence for *Artemisia absinthium* L. application in gastrointestinal ailments: ethnopharmacology, antimicrobial capacity, cytotoxicity, and phenolic profile. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021;2021:9961089. DOI: 10.1155/2021/9961089.
19. Черней ИС, Чешевик ВТ, Орлов ИМ. Компонентный состав эфирного масла различных сортов *Humulus lupulus*, культивируемых в Беларуси. *Труды БГТУ. Серия 2, Химические технологии, биотехнологии, геоэкология*. 2023;2:65–72. DOI: 10.52065/2520-2669-2023-271-2-9.
20. Черней ИС, Чешевик ВТ. Антиоксидантная активность эфирного масла *Artemisia absinthium*. В: Дунай ВИ, Золотарева ОА, Штепа ВН, редакторы. *Пинские чтения. Материалы 1-й Международной научно-практической конференции, приуроченной к 925-летию основания города Пинска; 15–16 сентября 2022 г.; Пинск, Беларусь*. Пинск: Полесский государственный университет; 2022. с. 265–268.
21. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*. 2017;7:42717. DOI: 10.1038/srep42717.
22. Klimoszek D, Jeleń M, Dołowy M, Morak-Młodawska B. Study of the lipophilicity and ADMET parameters of new anticancer diquinothiazines with pharmacophore substituents. *Pharmaceuticals*. 2024;17(6):725. DOI: 10.3390/ph17060725.
23. Nizamuddin ND, Roopa D, Pramodini A, Afshin SS, Vamshi KAP, Sudhakar RK. *In silico* biological evaluation of anticancer drugs – SwissADME. *Future Journal of Pharmaceuticals and Health Sciences*. 2024;4(2):39–55. DOI: 10.26452/fjphs.v4i2.604.
24. Черней ИС, Лисовская АИ, Чешевик ВТ. Биоинформационный анализ взаимодействия компонентов *Filipendula ulmaria* с белком биопленки TasA микроорганизма *Bacillus subtilis*. *Вестник Палескага дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаўчых навук*. 2024;1:38–45.
25. Mealey KL, Burke NS. Assessment of verdinexor as a canine P-glycoprotein substrate. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2023;46(4):264–267. DOI: 10.1111/jvp.13123.

Получена 10.12.2024 / исправлена 20.12.2024 / принята 10.02.2025.
Received 10.12.2024 / revised 20.12.2024 / accepted 10.02.2025.