

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623415>

# Положительный аллостерический модулятор TRPC6 способствует нейропротекторным эффектам *in vitro*

Н.И. Зернов<sup>1\*</sup>, Д.М. Мелентьева<sup>1</sup>, В.С. Камарян<sup>2</sup>, А.Т. Макичян<sup>2</sup>, Л.С. Унанян<sup>1,2</sup>,  
Е.А. Попугаева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

<sup>2</sup> Российско-Армянский университет, Ереван, Армения

## АННОТАЦИЯ

Болезнь Альцгеймера — нейродегенеративное заболевание, являющееся основной причиной деменции у пожилых людей. Лекарства от болезни Альцгеймера не существует. Недавно обнаруженный транзиторный рецепторный потенциалный канал канонического типа 6 (TRPC6) через внутриклеточный сигнальный путь регулирует стабильность дендритных шипиков и играет роль в формировании памяти. Было обнаружено, что нокдаун экспрессии TRPC6 препятствует поступлению нейронального депо-управляемого входа кальция. Гиперэкспрессия TRPC6 или его фармакологическая активация восстанавливает депо-управляемый вход кальция в нейронах гиппокампа при болезни Альцгеймера [1, 2]. Было показано, что гиперэкспрессия TRPC6 предотвращает потерю грибовидных шипиков на мышинных моделях болезни Альцгеймера [1], а также защищает нейроны от ишемического повреждения головного мозга. Мыши, которые сверхэкспрессируют TRPC6 в головном мозге, демонстрируют улучшение когнитивных способностей и увеличение образования возбуждающих синапсов. Таким образом, TRPC6 является перспективной молекулярной мишенью для разработки средств для лечения синаптической недостаточности. Недавно мы показали, что производное пиперазина, соединение 51164 (N-(2-хлорфенил)-2-(4-фенилпиперазин-1-ил)ацетамид) взаимодействует с каналами TRPC6, вызывает увеличение нейронального депо-управляемого входа кальция, увеличивает процент грибовидных шипов и восстанавливает синаптическую пластичность в амилоидогенных мышинных моделях болезни Альцгеймера [2]. Однако дальнейшие исследования 51164 установили, что соединение нестабильно в плазме и не проникает через гематоэнцефалический барьер (неопубликованные данные).

**Цель исследования.** Найти новое производное пиперазина, которое действует как позитивный модулятор, специфичный для TRPC6, и демонстрирует нейропротекторные свойства.

В текущем исследовании мы представляем исследования *in silico* и *in vitro* нового модулятора, специфичного для TRPC6. В результате исследований *in silico* мы отобрали лучшие из 14 соединений на основе производного пиперазина 51164, отвечающих всем критериям сходства с лекарственным препаратом и проявляющих высокое сродство к активному центру TRPC6. С помощью метода визуализации кальция мы определили, что соединение z12\_30 активирует TRPC6, но не структурно родственный канал TRPC3. Более того, используя подход молекулярной динамики, мы обнаружили, что z12\_30 образует устойчивый комплекс с активным центром TRPC6. Таким образом, мы выбрали z12\_30 в качестве ведущего соединения для дальнейшего исследования. Мы продемонстрировали, что z12\_30 защищает грибовидные шипики гиппокампа от амилоидной токсичности *in vitro* и эффективно восстанавливает синаптическую пластичность в срезах мозга старых мышей 5xFAD. В доклинических исследованиях мы наблюдали, что z12\_30 стабилен в образцах плазмы человека и мыши.

Мы предполагаем, что z12\_30 является перспективным прототипом TRPC6-селективного препарата, подходящего для лечения синаптической недостаточности в пораженных болезнью Альцгеймера нейронах гиппокампа.

**Ключевые слова:** TRPC6; синапс; болезнь Альцгеймера; трансляционная нейробиология.

## Как цитировать:

Зернов Н.И., Мелентьева Д.М., Камарян В.С., Макичян А.Т., Унанян Л.С., Попугаева Е.А. Положительный аллостерический модулятор TRPC6 способствует нейропротекторным эффектам *in vitro* // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 694–696. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623415>

Рукопись получена: 02.05.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источник финансирования.** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 20-75-10026.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhang H., Sun S., Wu L., et al. Store-Operated Calcium Channel Complex in Postsynaptic Spines: A New Therapeutic Target for Alzheimer's Disease Treatment // *Journal of Neuroscience*. 2016. Vol. 36, N 47. P. 11837–11850. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1188-16.2016
2. Popugaeva E., Chernyuk D., Zhang H., et al. Derivatives of Piperazines as Potential Therapeutic Agents for Alzheimer's Disease // *Molecular Pharmacology*. 2019. Vol. 95, N 4. P. 337–348. doi: 10.1124/mol.118.114348

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

\* Н.И. Зернов; адрес: Российская Федерация, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29; e-mail: quakenbush97@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623415>

# A positive allosteric modulator of TRPC6 promotes neuroprotective effects *in vitro*

N.I. Zernov<sup>1</sup>\*, D.M. Melentjeva<sup>1</sup>, V.S. Ghamaryan<sup>2</sup>, A.T. Makichyan<sup>2</sup>, L.S. Hunanyan<sup>1,2</sup>, E.A. Popugaeva<sup>1</sup><sup>1</sup> Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russian Federation;<sup>2</sup> Russian-Armenian University, Yerevan, Armenia

## ABSTRACT

Alzheimer's disease is a neurodegenerative disorder and the primary cause of dementia among elderly individuals. Unfortunately, there is no known cure for Alzheimer's disease. Recently, a TRPC6-mediated intracellular signaling pathway was discovered, which plays a vital role in memory formation by regulating dendritic spine stability. Knockdown of TRPC6 expression was found to prevent store-operated calcium entry. The overexpression of TRPC6 or its pharmacological activation restores store-operated calcium entry in hippocampal neurons affected by Alzheimer's disease [1, 2]. TRPC6 overexpression rescues mushroom spine loss in presenilin and APP knock-in mouse models of Alzheimer's disease [1] and protects neurons from ischemic brain damage. Mice that overexpress TRPC6 in the brain exhibit improved cognitive function and increased excitatory synapse formation. These findings propose TRPC6 as a promising molecular target for the treatment of synaptic deficiency. We recently demonstrated that compound 51164 (N-(2-chlorophenyl)-2-(4-phenylpiperazine-1-yl) acetamide), a piperazine derivative, enhances TRPC6 channels and induces an upregulation of postsynaptic neuronal store-operated calcium entry. Furthermore, it increases mushroom spine percentage and recovers synaptic plasticity in mouse models of Alzheimer's disease that have an amyloidogenic nature [2]. However, additional investigations of 51164 have demonstrated that the compound is unstable in plasma and cannot penetrate the blood-brain barrier (unpublished data). As such, the aim of this study is to discover a new piperazine derivative that functions as a positive modulator for TRPC6-specific and showcases neuroprotective qualities.

In this study, we present *in silico* and *in vitro* investigations of a novel TRPC6 specific modulator. Based on our *in silico* research, we narrowed down the selection to 14 compounds through the piperazine derivative 51164 that met all drug-lead likeness criteria and showed a high affinity for the active center of TRPC6. Calcium imaging technique was used to establish that the compound z12\_30 triggered the activation of TRPC6 but not the structurally linked TRPC3 channel. In addition, a molecular dynamics approach revealed that z12\_30 forms a stable complex with the TRPC6 active site. As a result, z12\_30 was selected as the lead compound for further investigation. Studies showed that z12\_30 safeguards hippocampal mushroom spines from amyloid toxicity *in vitro* and effectively restores synaptic plasticity in brain slices from aged 5xFAD mice. Preclinical trials demonstrate that z12\_30 remains stable in both human and mouse plasma samples.

We suggest that z12\_30 is a promising prototype of a TRPC6-selective drug suitable for treating synaptic deficiency in hippocampal neurons affected by Alzheimer's disease.

**Keywords:** TRPC6; synapse; Alzheimer's disease; translational neuroscience.

## To cite this article:

Zernov NI, Melentjeva DM, Ghamaryan VS, Makichyan AT, Hunanyan LS, Popugaeva EA. A positive allosteric modulator of TRPC6 promotes neuroprotective effects *in vitro*. *Genes & Cells*. 2023;18(4):694–696. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623415>

## ADDITIONAL INFORMATION

**Funding sources.** This research was funded by the Russian Science Foundation, grant No. 20-75-10026.

## REFERENCES

1. Zhang H, Sun S, Wu L, et al. Store-Operated Calcium Channel Complex in Postsynaptic Spines: A New Therapeutic Target for Alzheimer's Disease Treatment. *Journal of Neuroscience*. 2016;36(47):11837–11850. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1188-16.2016
2. Popugaeva E, Chernyuk D, Zhang H, et al. Derivatives of Piperazines as Potential Therapeutic Agents for Alzheimer's Disease. *Molecular Pharmacology*. 2019;95(4):337–348. doi: 10.1124/mol.118.114348

## AUTHORS' CONTACT INFO

\* N.I. Zernov; address: 29 Polytechnicheskaya street, 195251 Saint Petersburg, Russian Federation; e-mail: [quakenbush97@gmail.com](mailto:quakenbush97@gmail.com)

**Received:** 02.05.2023

**Accepted:** 26.11.2023

**Published online:** 20.01.2024