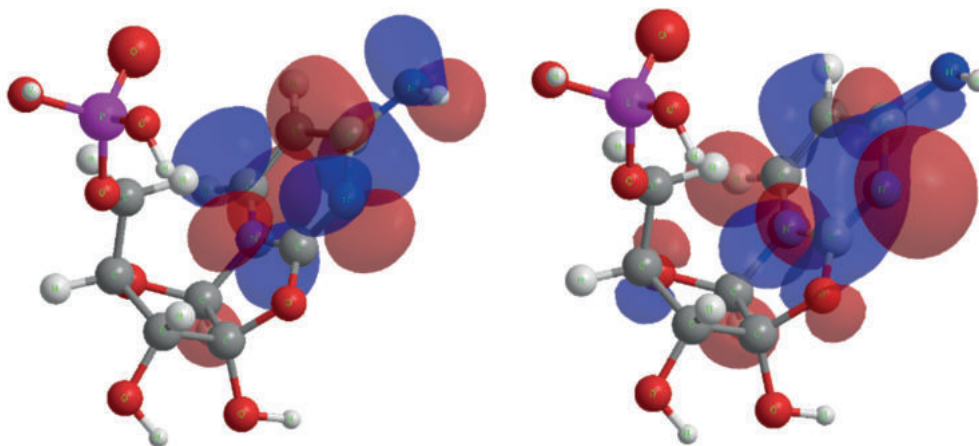




LUMO (N=60) E = 1.979 eV

HOMO (N=59) E = -8.802 eV

Figure 3 – Types of molecular orbitals involved in the formation of the absorption spectrum of a molecule (A) at $\lambda = 253.11$ nm

Conclusion: We used a personal computer with an intel core i7 processor (3.6 GHz CPU) with the Ubuntu 18.04 operating system installed. For calculation of initial geometry of the molecule 5-(4-amino-2-oxopyrimidin-1(2H)-yl)-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl dihydrogen phosphate compound, the method of molecular mechanics (MM+) of the Chem Draw 20.0 software package was chosen. The maximum wavelength with a high oscillator strength was observed at $\lambda = 253.11$ nm and $f = 0.1415$ (Table, Fig. 2,3). The calculation showed that the strongest electron transition is observed at the absorption maximum of 253.11 nm, which refers to the electron transition to the excited singlet state $S_0 \rightarrow S_8$. The remaining transitions have a small value of f and are forbidden by symmetry.

REFERENCES

1. *Shahab, S.* Interaction between new synthesized derivative of (E, E)-azomethines and BN (6,6-7) nanotube for medical applications: Geometry optimization, molecular structure, spectroscopic (NMR, UV/Vis, excited state), FMO, MEP and HOMO-LUMO investigations / S. Shahab [at all] // Journal of Molecular Structure. – 2017. – Vol. 1. – No. 1146. – P. 881–888.
2. *Sheikhi, M., Shahab, S., Filippovich, L., Khaleghian, M., Dikuser, E., Mashayekhi, M.* Interaction between new synthesized derivative of (E,E)-azomethines and BN(6,6-7) nanotube for medical applications: Geometry optimization, molecular structure, spectroscopic (NMR, UV/Vis, excited state), FMO, MEP and HOMO-LUMO investigations // Journal of Molecular Structure. – 2017. – No. 1146. – P. 881–888.

КОМПЬЮТЕРНЫЙ СКРИНИНГ НОВЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ФИБРИЛЛООБРАЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛЫ ИНСУЛИНА COMPUTER SCREENING OF NEW POTENTIAL INHIBITORS OF INSULIN FIBRIL FORMATION

Д. В. Козлович^{1,2}, Н. В. Богданова^{1,2}, С. Н. Шахаб^{1,2}

D. Kozlovich^{1,2}, N. Bogdanova^{1,2}, S. Shahab^{1,2}

¹Белорусский государственный университет, БГУ, г. Минск, Республика Беларусь

²Учреждение образования «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ, г. Минск, Республика Беларусь
kbb@iseu.by, kozlovich.darya01@mail.ru

¹Belarusian State University, BSU, Minsk, Republic of Belarus

²International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

Проведен молекулярный докинг инсулина с потенциальными ингибиторами агрегации цАМФ и Ар⁴А с целью прогнозирования формирования возможных комплексов между ними. Низкомолекулярные соединения оптимизированы методом DFT с функционалом B3LYP/6-31G(d,p). Произведены молекулярно-динамические расчеты для полученных комплексов и определены значения свободных энергий изучаемых комплексов. Проанализированы типы межмолекулярных взаимодействий в комплексах.

Molecular docking of insulin with potential inhibitors of aggregation was carried out in the study in order to predict the formation of possible complexes. Low molecular weight cAMP and Ap₄A compounds were optimized by DFT with the B3LYP/6-31G(d,p) functional, molecular dynamics calculations were performed for the resulting insulin protein complexes with low molecular weight cAMP and Ap₄A compounds, and the free energies of these complexes were determined. The energy values of stable complexes were obtained, and the types of intermolecular interactions in these complexes were analyzed.

Ключевые слова: инсулин, фибриллообразование, фолдинг, сахарный диабет, молекулярный докинг, молекулярная механика, квантово-химическое моделирование.

Keywords: insulin, fibril formation, folding, diabetes mellitus, molecular docking, molecular mechanics method, quantum chemical modeling.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2023-1-344-347>

Как известно [1], в процессе фолдинга белки приобретают уникальную трехмерную структуру, определяющую их биологическую активность. Однако, под воздействием различных внешних факторов при образовании пространственной структуры в процессе биосинтеза белка в клетке могут возникать неправильно свернутые структуры белков или развернутые. Они теряют свою нативную структуру, что приводит к самоассоциации и формированию различных надмолекулярных структур: растворимых олигомеров, аморфных агрегатов и фибрилл. Неправильная укладка некоторых белков является причиной патологических агрегаций и приводит к развитию многих нейродегенеративных заболеваний, таких как диабет второго типа, болезнь Альцгеймера и Паркинсона, Боковой Амиотрофический склероз, фронтотемпоральная дегенерация, болезнь Гентингтона и др.).

Инсулин – гормон поджелудочной железы, который регулирует процессы углеводного обмена и поддерживает нормальный уровень сахара в крови. Молекула инсулина может существовать в трех формах: мономер, димера и гексамера. Основное биологическое значение инсулина – превращение избытка глюкозы в крови в две резервные функции – гликоген (печень и мышцы) и триацилглицеролы (жировая ткань).

Процесс формирования фибриллярных молекул инсулина является нежелательным явлением при использовании инсулина в терапии сахарного диабета. При различных внешних воздействиях, инсулин, используемый для инъекций, способен формировать амилоидные фибриллы. При получении, хранении, транспортировке инсулина может наблюдаться его спонтанная полимеризация. Агрегация инсулина в нерастворимые фибриллы может привести к осложнениям у пациентов с сахарным диабетом, таким как снижение терапевтического эффекта инсулина, закупорка устройств доставки инсулина или потенциально повышенный иммунологический ответ. Образование фибрилл может влиять на гликемический контроль и снижение эффективности лечения [2].

Амилоидные фибриллы представляют собой пучки стабильных высокоупорядоченных протеиновых нитей, обогащенных бета-складчатыми структурами. Во многих случаях белковые агрегаты аморфны, их размеры могут изменяться от нескольких десятков нанометров до преципитатов, видимых невооруженным глазом. Белок способен образовывать различные типы агрегатов, которые могут отличаться по форме и размерам [1].

На данный момент одной из важных задач в науке и медицине является поиск возможных рычагов управления процессом агрегации, чтобы предотвратить развитие патологии и связанные с ним болезни. Одним из таких является молекулярный докинг. Целью молекулярного стыковочного анализа является прогнозирование предпочтительного места связывания молекул лекарственных субстанций и их белковых мишеней. Используя различные многофункциональные возможности широкого спектра программ для квантового моделирования можно решить множество потенциальных проблем медицины. Одной из таких является образование белковых фибрилл инсулина при инъекциях.

Циклическая АМФ является вторичным посредником в действии таких гормонов как глюкагон, адреналин, гистамин, соматостатин, кортикотропин, дофамин, серотонин, меноцитстимулирующий гормон и многие другие. Циклические нуклеотиды являются универсальными регуляторами биохимических процессов в живых клетках. Главная роль циклического нуклеотида в клетке – это стимулирование фосфорилирования белков рибосом, которое катализируется протеинкиназами. Это, в свою очередь, влияет на характер и количество синтезируемых белков в клетке. Повышенная концентрация циклической АМФ в клетке стимулирует распад резервных молекул, усиливает секрецию соляной кислоты в желудке, уменьшает агрегацию тромбоцитов и индуцирует открытие анионных каналов (Рисунок 1).

Диаденозинтетрафосфат (Ap₄A) широко распространен в организме и является многофункциональным соединением. Это позволяет рассматривать данное соединение в качестве потенциального и очень перспективного фармакологического агента для создания новейших лекарственных препаратов [2]. Ap₄A относится к динуклеотидам, которые входят в семейство динуклеозидполифосфатов. Это соединение, широко встречается как у прокариот, так и у эукариот, состоит из двух остатков аденозина, соединенных фосфоэфирным мостиком, состоящем из 2–6 остатков фосфорной кислоты (Рисунок 2).

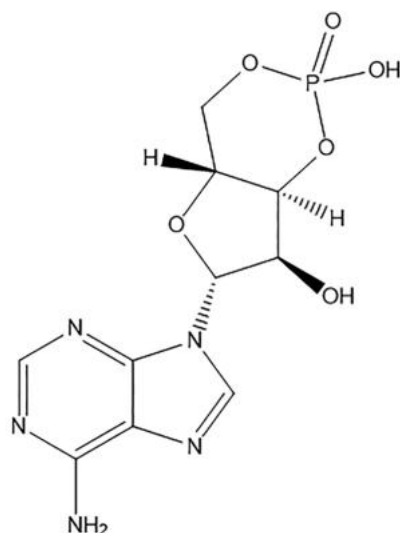


Рисунок 1 – Структурная формула цАМФ

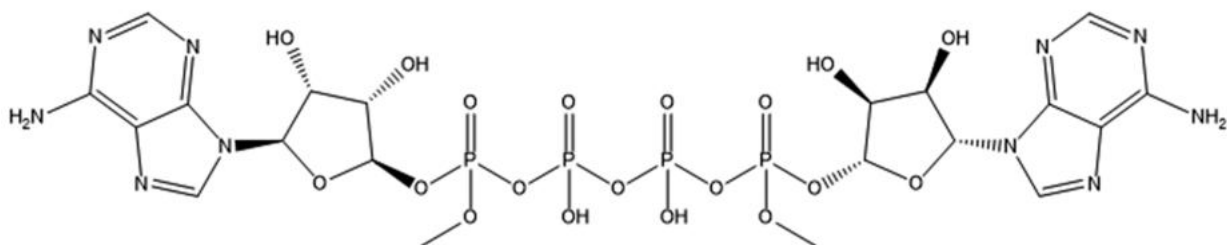


Рисунок 2 – Структурная формула Ap₄A

Цель исследования: методом квантово-химического моделирования оценить антиагрегационную способность соединений цАМФ и Ap₄A в отношении белка инсулина.

Результаты исследования. Молекулярный докинг человеческого инсулина проведен с низкомолекулярными соединениями цАМФ и Ap₄A. Данные соединения выбраны на основании различных исследований влияния этих веществ на процессы агрегации белковых молекул.

Объектом исследования является молекула человеческого инсулина 3I40.

Перед тем как начать исследование требовалось очистить выбранную молекулу инсулина (PDB 3I40) от низкомолекулярных соединений. С помощью программы PyMol молекула человеческого инсулина очищена от низкомолекулярных соединений, в частности от воды (Рисунок 3).

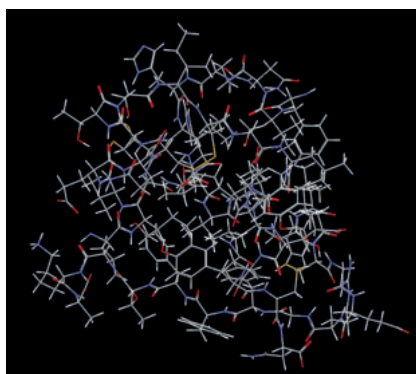


Рисунок 3 – Очищенный от низкомолекулярных соединений человеческий инсулин (PDB 3I40)

Перед тем, как приступить к последующей стыковке молекулы инсулина с низкомолекулярными соединениями цАМФ и Ap₄A, необходимо оптимизировать молекулу инсулина (PDB 3I40). Для этого использован программный комплекс Amber99 пакета UCSF Chimera 15.0.

В программном пакете Gaussian 09W оптимизированы молекулы Ap₄A и цАМФ методом DFT с функционалом B3LYP/6-31G(d,p). С помощью модуля ChemDraw программного пакета ChemOffice Professional 19.0 изображены молекулы, а затем оптимизированы. С помощью метода MM2 получена энергия цАМФ 73,6418 kcal/mol.

Свободная энергия молекулы цАМФ -0,0273 kcal/mol. Энергия Ар⁴А, полученная методом ММ2 145,9676 kcal/mol. Полная энергия молекулы -0,674 kcal/mol.

Далее проведен докинг оптимизированной молекулы инсулина с низкомолекулярными соединениями цАМФ и Ар⁴А. В результате получено 10 оптимальных положений стыковки в сайте связывания (Таблица).

Таблица

Результаты стыковки инсулина с цАМФ и Ар⁴А

Соединение	Свободная энергия Гиббса (kcal/mol)	Водородные связи	Энергия водородных связей (kcal/mol)	Длина водородных связей (Å)
цАМФ	-4.60	LEU 170	-2.50	3.064
		VAL 180	-2.50	3.059
		ARG 220	-2.35	3.130
Ар ⁴ А	-4.60	PHE 240	-1.85	3.150
		TYR 260	-1.25	3.000
			-2.50	2.842
			-1.54	3.293
			-0.29	3.148

С помощью программ Molegro Virtual Docker 2.5 и Discovery Studio 2021 визуализированы оптимальные стыковки инсулина с цАМФ и Ар⁴А (Рисунок 4, 5).

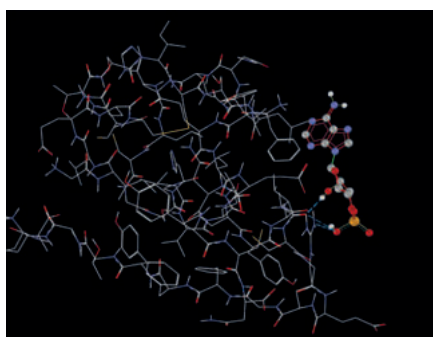


Рисунок 4 – Межмолекулярные взаимодействия в комплексе инсулина с цАМФ

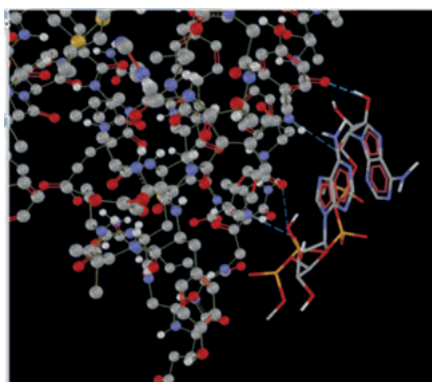
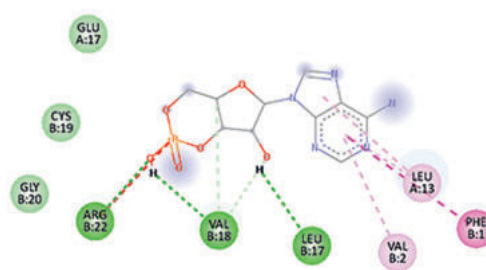
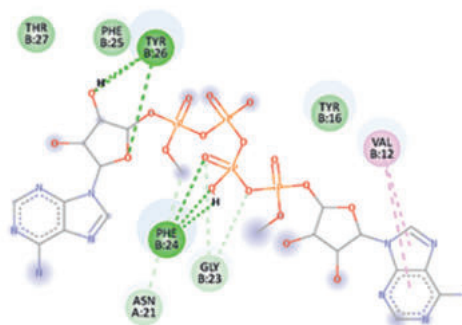


Рисунок 5 – Межмолекулярные взаимодействия в комплексе инсулина с Ар⁴А



Выводы. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что цАМФ и Ар⁴А способны образовывать устойчивые комплексы с человеческим инсулином. В комплексе инсулина с Ар⁴А образуются 4 водородных связи, а в случае с цАМФ – 3, что свидетельствует о том, что комплекс инсулина с Ар⁴А термодинамически более стабильный. Так же можно предположить, что именно Ар⁴А будет образовывать более стабильный комплекс с человеческим инсулином, способный ингибировать агрегацию инсулина и образование белковых фибрилл.

ЛИТЕРАТУРА

- Довидченко, Н. В. Механизмы образования амилоидных фибрилл / Н.В. Довидченко, Е.И. Леонова, О.В. Галзитская // Успехи биологической химии. 2014;54:203–230.
- Богданова, Н. В. Влияние диаденозин тетрафосфата на фибриллообразование молекулы инсулина / Н. В. Богданова [и др.] // Сахаровские чтения 2020 года: экологические проблемы XXI века: материалы 20-й международной научной конференции, 21-22 мая 2020 г., г. Минск, Республика Беларусь: в 2 ч. / Междунар. гос. экол. ин-т им. А. Д. Сахарова Бел. гос. ун-та; редкол.: А. Н. Батын [и др.]; под ред. д-ра ф.-м. н., проф. С. А. Маскевича, к.т.н., доцента М. Г. Герменчук. – Минск: ИВЦ Минфина, 2020. – Ч. 2. – С. 30–32.