

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И СВОЙСТВ ДИПЕПТИДА КАРНОЗИНА МЕТОДОМ DFT

Демухамедова С.Д.

Институт физических проблем, Бакинский государственный университет
ул. З. Халилова, 23, AZ 1148, г. Баку, Азербайджан; e-mail: svetlanabest@mail.ru
Поступила в редакцию 20.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0509

Аннотация. В работе квантовохимическим методом в рамках теории функционала электронной плотности DFT с гибридным трехпараметрическим функционалом B3LYP исследовано пространственное и электронное строение природного дипептида карнозина в таутомерной форме N³H его имидазольного кольца в газовой и в водной средах. Для расчета использовался достаточно надежный и экономичный по времени расчет расширенный базисный набор с учетом поляризационных и диффузных функций 6-31+G (d, p). Все вычисления выполнены с использованием пакета прикладных компьютерных программ Gaussian 09. Для визуализации полученных результатов использована программа GaussView 6.0.16. Получены геометрические параметры, значения электронной энергии, энергии НОМО и LUMO орбиталей и энергетический зазор между ними, дескрипторы реакционной способности, значения дипольных моментов, величины парциальных зарядов на атомах и теоретические ИК спектры для газовой и водной сред. Расчеты показывают, что предложенная модель молекулы образует стабильную структуру. Стабилизация полученной структуры обеспечена за счет образования нековалентных взаимодействий в дипептиде. Карты молекулярного электростатического потенциала MEP построены для определения потенциальных сайтов связывания. Для исследования переноса заряда и внутримолекулярных взаимодействий, определяющих стабильность молекулы, был проведен анализ орбиталей естественных связей (NBO). Проанализированы структурные перестройки и изменения различных параметров в зависимости от диэлектрической проницаемости среды.

Ключевые слова: карнозин, структура, дескрипторы реактивности, НБО анализ, ИК спектры.

Природный дипептид карнозин (β -аланил-L-гистидин), его производные-анзерин, гомокарнозин, а также их комплексы с переходными металлами являлись объектами наших исследований на протяжении последних лет. Интерес к этим молекулам связан с широким спектром их функциональной активности, связанный, прежде всего, с антиоксидантными свойствами карнозина и его производных. Было установлено, что карнозин защищает клетки и ткани организма от окисления активными формами кислорода и азота [1,2], что обеспечивают его успешное применение при лечении различных воспалительных процессов, протекающих на фоне повреждения клеточных мембран [1,3-5]. Особенно высокие концентрации карнозина обнаружены в скелетных и сердечной мышцах и мозге [6], в почках, коже и слизистой желудка [7,8], и играет решающую роль для сохранения оптимальной структуры и биологических функций этих органов.

За последнее десятилетие выявлено много новых свойств карнозина, пригодных для терапевтического применения, расширены доказательства его положительной роли в замедлении процессов старения. Карнозин успешно применяется в качестве терапевтического средства для лечения пациентов после острого ишемического инсульта [9], защищает сердечные миоциты от перекисного окисления липидов [10], препятствует образованию нейродегенеративных патологических субстанций, разрушающих мозг при болезнях Паркинсона и Альцгеймера [11-13]. В обзоре [14] сообщается о результатах исследований, касающихся роли карнозина при острой почечной недостаточности. Особенно большое внимание уделяется карнозину, как нетоксичному препарату в борьбе с диабетом, защищает организм от осложнений диабета на почки [15,16], сосуды и сетчатку глаз [17], помогающий предотвратить атеросклероз [18] и стеатоз печени [19]. Благодаря своей способности связывать протоны карнозин противодействует процессу старения организма [20]. В работе [21] обсуждаются возможные механизмы антивозрастной активности карнозина, а в обзоре [22] приводятся некоторые доказательства клинических и фундаментальных исследований использования карнозина в качестве лекарственной терапии для возрастных заболеваний человека. Карнозин успешно применяется для профилактики и лечения старческого слабоумия [23]. Изучая влияние карнозина на теломеры ДНК культивируемых фибробластных клеток легких плода человека [24], в присутствии карнозина наблюдалось снижение скорости укорочения теломер и уменьшение повреждений в них, что говорит о важном вкладе карнозина в эффект продления жизни. В настоящее время имеются сведения об использовании карнозина в терапии онкологических заболеваний и нарушений иммунной системы. Карнозин может снижать гликозилирование, пролиферацию и миграцию клеток [25]. В работе [26] обсуждается возможное применение карнозина в качестве противоопухолевого терапевтического средства для лечения злокачественных опухолей головного мозга таких, как глиобластома. Карнозин ингибирует метастазирование клеток [27-29]. Последние исследования показали, что карнозин ингибирует пролиферацию клеток рака желудка человека [30,31] и может снижать жизнеспособность и пролиферацию клеток колоректального рака человека [32,33]. Карнозин и анзерин за счет усиления метаболизма и функций моноцитов, макрофагов и других клеток иммунной системы могут способствовать иммунологической защите человека от инфекций, вызываемых бактериями, грибами, паразитами

и вирусами, включая коронавирус [34]. Препараты, созданные на основе карнозина и его аналогов являются натуральными, нетоксичными и при длительном применении не накапливаются в тканях. Это подтверждает необходимость дальнейшего исследования карнозина, его аналогов и комплексов на их основе с целью получения новых высокоэффективных натуральных препаратов.

Наша работа посвящена молекулярному моделированию карнозина и его аналогов методами квантовой химии. Молекулярное моделирование является важным инструментом, помогающим понять физико-химические свойства соединений и фундаментальные концепции взаимосвязи структура-активность, имеющие большое значение в современной химии, биохимии, молекулярной биологии, биофизике, медицине и фармакологии. Современные вычислительные методы компьютерного моделирования позволяют решать задачи, недоступные экспериментальным методам исследования и широко используются в исследовании биологических молекул и поиске новых лекарств на их основе. Квантово-химические расчеты являются источником новых молекулярных дескрипторов, которые, в принципе, могут выражать все геометрические и электронные свойства молекул и их взаимодействие. Значимость таких расчетов приобретает все большую популярность в различных областях научных исследований.

В более ранних наших работах нами были изучены пространственные и электронные структуры карнозина в двух таутомерных формах N^1H и N^3H его имидазольного кольца и различных их комплексов с атомами цинка, меди и кобальта [35-40] полуэмпирическим методом квантовой химии PM3 в газовой фазе, используя программный комплекс NucleonChem. В работе [41] изучено конформационное состояние дипептида карнозина в цвиттерионной форме для обоих его таутомерных форм. В литературе есть работы, посвященные исследованию структуры карнозина методами теории функционала плотности [42,43]. В данной работе проведено исследование пространственной и электронной структуры нейтральной молекулы карнозина в таутомерной форме N^3H , наблюдающаяся у карнозина в чистом виде [44], в газовой фазе и в наиболее естественной для функционирования пептидных молекул водной среде. Все расчеты выполнены квантово-химическим методом теории функционала электронной плотности DFT. В работе использовали трехпараметрический гибридный функционал B3LYP, хорошо зарекомендовавший себя при исследованиях биологических молекул и расширенный базисный набор 6-31+G(d,p) с учетом поляризационных функций для всех атомов и диффузных функций для неводородных атомов. Все вычисления проводились с использованием программы Gaussian 09 [45] и программы визуализатора GaussView 6.0.16 [46].

Молекула карнозина состоит из β -аланильного остатка (N_{13} , C_{21} , C_{11} , C_{10}), пептидной группы $C_{10}O_{16}-N_9H_{23}$, карбоксильной группы $C_6O_{14}O_{15}H_{30}$ и группы имидазольного кольца – пятичленного цикла с двумя атомами азота (N_1 , N_3) и тремя атомами углерода (C_2 , C_4 , C_5). На рисунке 1 представлены оптимизированные структуры молекулы карнозина с таутомерной формой N^3H его имидазольного кольца, полученные для газовой (слева) и водной (справа) сред.

На основе проведенного квантовохимического расчета методом DFT/B3LYP /6-31+G(d,p) получены геометрические, энергетические и электронные параметры молекулы карнозина в таутомерной форме N^3H в газовой и водной среде. Полученная структура является глобальным минимумом на поверхности потенциальной энергии, что подтверждается отсутствием мнимых частот при решении колебательной задачи.

В таблицах 1 и 2 приведены оптимизированные геометрические параметры – длины связей молекулы (табл. 1), валентные и двугранные углы (табл. 2) и для сравнения экспериментальные данные [47].

Значения длин связей в основном соответствуют стандартным значениям. Все связи $NH=1,01$ Å, связь $OH=0,97$ Å, все связи $CH\sim 1,08$ в кольце и $1,09$ в цепи, кроме связи $C_{12}H_{27}$, которая удлиняется до $1,1$ Å. Водная среда практически не оказывает влияние на значения длин связей, наибольшие изменения $\sim 0,01$ Å. Отклонения с экспериментальными значениями наблюдаются для длин связей основной цепи β -аланина N_9C_{10} , $C_{10}C_{11}$ и $C_{11}C_{12}$. Различия в длинах связей CO в карбоксильной группе, связи C_3N_3 в имидазольном кольце и связи $C_{11}N_{12}$ вблизи аминной группы связаны с цвиттерионной формой карнозина в работе [47].

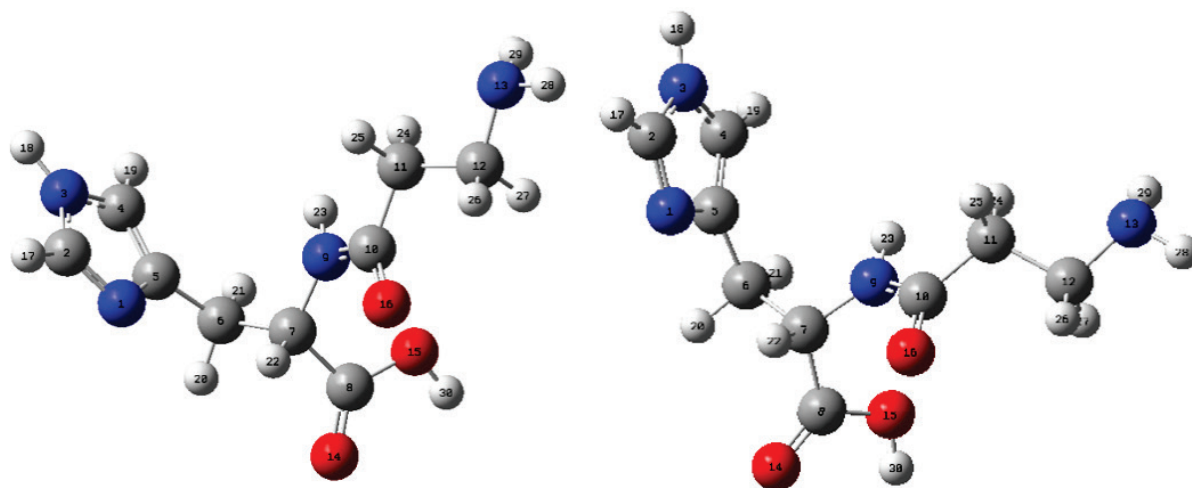


Рисунок 1. Оптимизированные модели молекулы карнозина N^3H в газовой (слева) и водной (справа) средах

По результатам наших расчетов, молекула находится в вытянутой конформации, почти все торсионные углы основной цепи карнозина C₆C₇N₉C₁₀, C₇N₉C₁₀C₁₁, N₉C₁₀C₁₁C₁₂ и C₁₀C₁₁C₁₂N₁₃ близки к транс расположению (табл. 2), что соответствует экспериментальным данным [47]. Однако угол C₅C₆C₇N₉ находится в гош-конформации, а угол C₄C₅C₆C₇ ~ 120°, благодаря которым имидазольное кольцо выводится из плоскости развернутой конфигурации. Водная среда наибольшее влияние оказывает на уменьшение на 16° торсионного угла N₉C₁₀C₁₁C₁₂, приближая его к экспериментальному значению. Двугранные углы C₆C₇C₈O₁₅ и C₆C₇C₈O₁₄ соответственно уменьшается и увеличивается на 8°, угол C₁₁C₁₂N₁₃H₂₈ увеличивается на 5°. Практически все валентные углы полученной конфигурации молекулы карнозина в таутомерной форме N³H соответствуют экспериментальным данным [47]. Только валентный угол C₆C₇N₉ больше на 3,5°. Небольшие расхождения с экспериментом в значениях валентных углов карбоксильной группы - угол C₇C₈O₁₅ меньше на 5°, а угол C₇C₈O₁₄ больше на 6,7° связаны с рассмотрением в работе [47] молекулы карнозина в цвиттерионной форме. Остальные изменения в значениях валентных углов не превышают 1°.

Взаимодействие водородов с атомами кислорода и азотов приводят к образованию нековалентных внутримолекулярных взаимодействий несвязанных атомов. В таблице 3 приводятся некоторые взаимодействия, которые можно отнести к слабым водородным связям для исследуемой молекулы.

Таблица 1. Длины связей оптимизированной молекулы карнозина в таутомерной форме N³H

Атом	Газовая фаза	Водная среда	Эксп.	Атом	Газовая фаза	Водная среда	Эксп.
N1C2	1,31529	1,32211	1,325	C11C12	1,53036	1,53311	1,490
C2N3	1,36639	1,36062	1,331	C12N13	1,46843	1,47055	1,475
N3C4	1,38228	1,37848	1,377	C2H17	1,08106	1,08073	
C4C5	1,37676	1,37687	1,356	N3H18	1,00907	1,01080	
N1C5	1,38071	1,38453	1,383	C4H19	1,07961	1,07923	
C5C6	1,49893	1,49928	1,487	C6H20	1,09477	1,09508	
C6C7	1,54878	1,55068	1,539	C6H21	1,09770	1,09548	
C7C8	1,53076	1,52969	1,535	C7H22	1,09338	1,09298	
C8O14	1,21199	1,21774	1,250	N9H23	1,00945	1,01085	
C8O15	1,35452	1,34355	1,256	C11H24	1,09854	1,09580	
O15H30	0,97252	0,97398		C11H25	1,09752	1,09719	
C7N9	1,44805	1,43310	1,454	C12H26	1,09278	1,09343	
N9C10	1,36910	1,35860	1,334	C12H27	1,10207	1,10159	
C10C11	1,53424	1,52007	1,499	N13H28	1,01586	1,01731	
C10O16	1,22816	1,23910	1,233	N13H29	1,01711	1,01833	

Таблица 2. Валентные и двугранные углы молекулы карнозина в таутомерной форме N³H

	Газ. среда	Водн. среда	Эксп.		Газ. среда	Водн. среда	Эксп.
Валентные углы							
N1C5C6	121,15113	121,66279	121,9	C7N9C10	122,07256	122,29235	123,1
C4C5C6	128,85372	128,49398	128,6	N9C10C11	115,46373	116,21661	115,7
C5C6C7	112,92033	112,81517	114,1	N9C10H16	121,82788	121,52213	122,9
C6C7N9	111,22292	111,02598	107,7	O14C8O15	122,679337	123,14562	124,5
C6C7C8	108,87289	109,32456	110,6	C10C11C12	112,38395	112,35745	113,2
C7C8O14	123,42817	122,85199	116,7	C11C12N13	110,02626	110,10243	111,0
C7C8O15	113,84256	113,96218	118,9	C12N13H28	110,82903	109,82577	
C8O15H30	106,50862	108,26435		C12N13H29	111,31502	110,23477	
N1C2N3	111,52795	111,40724	112,1	C4C5N1	109,99121	109,84159	109,5
C2N3C4	107,14653	107,52459	107,2	C5N1C2	105,88811	105,68071	105,0
N3C4C5	105,44597	105,54572	106,2	C8C7N9	114,07376	113,77119	110,4
				O16C10C11	122,67653	122,24913	121,4
Двугранные углы							
C4C5C6C7	121,77971	118,35026		C7N9C10C11	-178,56532	-176,94908	174,8
C5C6C7C8	171,29295	170,6309		C7N9C10O16	-0,56682	1,81103	
C6C7C8O15	106,88309	98,98073		N9C10C11C12	-150,13323	-133,76480	130,5
C6C7C8O14	-70,60609	-78,77764		C10C11C12N13	-174,40139	-175,60792	-178,7
C5C6C7N9	-62,17990	-63,04052		C11C12N13H28	169,25250	174,70378	
C6C7N9C10	158,89258	161,30787	141,4	C11C12N13H29	-71,65186	-68,69514	

В таблице 4 приводятся полученные нами в результате оптимизации методом DFT/B3LYP/6-31+G(d,p) заряды Малликена на атомах молекулы карнозина в таутомерной форме N³H в газовой и водной средах. Заряды Малликена, как известно, не отражают реальное распределение электрического заряда между атомами и довольно чувствительны к выбору базисного набора. Однако они удобны для качественной оценки распределения зарядов и определения электрофильных и нуклеофильных центров возможных атак.

В газовой фазе у атомов азота самый большой отрицательный заряд наблюдается на атоме азота N₁₃ амина (-0,612 ед.заряда). В имидазольном кольце на атоме аминогруппы N₃ наблюдается более сильный отрицательный заряд (-0,324), на атомах N₁ имидазольного кольца (-0,234) и атоме азота N₉ пептидной связи (-0,245) заряды близки. На атомах кислорода более отрицательным является кислород пептидной группы O₁₆ (-0,486), в карбоксильной группе на атомах O₁₄ (-0,412) и O₁₅ (-0,419) заряды одинаковые. Отрицательные значения зарядов наблюдаются на атомах углерода основной цепи молекулы C₆ (-2,205), C₇ (-0,165), C₁₁ (-0,165) и C₁₂ (-0,292). Самый большой отрицательный заряд на атоме C₆, а самый большой положительный заряд на атоме углерода имидазольного кольца C₅ (0,490), которые соединены валентной связью. Наибольший положительный заряд локализуется на атомах водорода карбоксильной группы H₃₀ (0,382), водороде H₁₈ (0,309) имидазольного кольца, водороде пептидной связи H₂₃ (0,294), и водородах H₂₈ и H₂₉ аминогруппы (0,287 и 0,271 ед. заряда соответственно). Водная среда способствует увеличению электроотрицательности атомов азота и кислорода и уменьшает отрицательный заряд на всех атомах углерода, кроме атомов C₇ и C₆. Больше всего увеличивается отрицательный заряд на атоме азота N₁ имидазольного кольца (на 0,125 ед. заряда) и атоме кислорода O₁₆ пептидной связи (на 0,099 ед. заряда). Водная среда в основном незначительно увеличивает положительный заряд на атомах водорода, наибольшие изменения наблюдаются на атомах H₁₈ (на 0,038 ед. заряда) и H₂₁ и H₂₃ (~0,03 ед. заряда).

В таблице 5 приведены основные энергетические и электронные характеристики молекулы карнозина, полученные в результате проведенного исследования. Это значения полной энергии, дипольного момента молекулы, поляризуемости и энергии пограничных молекулярных орбиталей – HOMO (высшая занятая молекулярная орбиталь) и LUMO (низшая вакантная молекулярная орбиталь). По данным нашего расчета полная электронная энергия для молекулы карнозина в водной среде по сравнению с газовой средой понижается всего на 0,837 эВ.

Анализ граничных молекулярных орбиталей, ввиду их наибольшей доступности соответственно для электрофилов и нуклеофилов, позволяет изучить химические свойства молекул. По знаку энергии нижней вакантной молекулярной орбитали (LUMO) молекулы можно определить к каким реагентам -электрофильным или нуклеофильным она относится. Если энергия LUMO орбитали положительна, то молекула относится к нуклеофилам, если отрицательна – к электрофилам. По результатам нашего расчета молекула карнозина условно

Таблица 3. Нековалентные взаимодействия молекулы карнозина N³H

DH...A		DH	H...A	D...A	∠DHA
C7H22 N1	Газовая фаза	1,09338	2,78643	3,10283	96,29275
	Водная среда	1,09298	2,82098	3,13889	96,51880
C7H22 O16	Газовая фаза	1,09338	2,54635	2,79176	91,17897
	Водная среда	1,09298	2,58229	2,78641	88,99749
C6H20 O14	Газовая фаза	1,09477	2,73046	3,07787	97,87747
	Водная среда	1,09508	2,82346	3,14860	96,89637
C12H26 O16	Газовая фаза	1,09278	2,61716	2,87408	92,17069
	Водная среда	1,09343	2,69097	2,95603	92,93430

Таблица 4. Заряды Малликена на атомах молекулы карнозина N³H

атом	Газовая фаза	Водная фаза	атом	Газовая фаза	Водная фаза
1 N	-0,233600	-0,358658	16 O	-0,486318	-0,585116
2 C	0,336935	0,335240	17 H	0,140038	0,162882
3 N	-0,323742	-0,307931	18 H	0,308639	0,346963
4 C	0,059319	0,075421	19 H	0,143434	0,173401
5 C	0,490062	0,503831	20 H	0,197361	0,187580
6 C	-1,104567	-1,119636	21 H	0,142446	0,175493
7 C	-0,164879	-0,214832	22 H	0,221015	0,197274
8 C	0,312038	0,314951	23 H	0,293865	0,331031
9 N	-0,245424	-0,230483	24 H	0,120529	0,149990
10 C	0,217057	0,245242	25 H	0,189474	0,186588
11 C	-0,119776	-0,085834	26 H	0,169109	0,159610
12 C	-0,292317	-0,229304	27 H	0,132280	0,141792
13 N	-0,611857	-0,673997	28 H	0,286990	0,306772
14 O	-0,412400	-0,472178	29 H	0,271430	0,297682
15 O	-0,419067	-0,421209	30 H	0,381926	0,407434

относится к электрофилам. Энергетический зазор между орбиталями основного (НОМО) и возбужденного (LUMO) состояний дает информацию о стабильности структуры. Чем меньше энергетическая щель, тем более высокой химической и биологической активностью обладает исследуемое соединение. Наши расчеты показывают, что биологическая активность карнозина увеличивается в водной среде, энергетический зазор НОМО-LUMO уменьшается на 0,273 эВ.

Математически из значений энергий пограничных орбиталей можно получить глобальные дескрипторы, дающие всестороннюю химическую информацию о молекулярной структуре, коррелирующую с конкретными свойствами молекул и оказывающуюся полезной при решении различных фармакологических, химических и токсикологических задач. Согласно теореме Купманса [48] первая энергия ионизации равна отрицательному значению НОМО орбитали: $I = -E_{\text{НОМО}}$. А сродство к электрону определяется как отрицательное значение LUMO орбитали: $A = -E_{\text{LUMO}}$. На основе этих величин можно вычислить такие важные индексы для предсказания активности молекулы, как электроотрицательность $\chi = (I+A)/2$, химический потенциал $\mu = -(I+A)/2$, химическая твердость $\eta = (I-A)/2$ и мягкость $S = 1/2\eta$. Индекс электрофильности $\omega = \mu^2/2\eta$ указывает на способность молекулы принимать электроны от реагента, обратная ей величина – индекс нуклеофильности $\nu = 1/\omega$. Важным глобальным дескриптором является максимальный перенос заряда $\Delta N = -\mu/\eta$, который может принять электрофильная система.

Наши расчеты показывают (табл. 5), что в водной среде потенциал ионизации карнозина уменьшается на 0,106 эВ, а сродство к электрону увеличивается на 0,167 эВ. В водной среде химический потенциал становится на 0,030 эВ более отрицательным, энергетическая щель уменьшается на 0,273 эВ, твердость уменьшается на 0,137 эВ, что свидетельствует о увеличении реакционной способности карнозина в водной среде. Уменьшение химического потенциала и твердости говорит об увеличении электрофильных свойств у карнозина в водной среде. Карнозин становится мягче на 0,015 эВ, электроотрицательность и электрофильность увеличиваются на 0,030 эВ и 0,129 эВ соответственно, а следовательно, на 0,030 эВ уменьшается его нуклеофильность. Такие изменения вполне характерны для среды растворителя, в которой увеличивается способность молекул принимать электроны (ΔN для карнозина в водной среде увеличивается на 0,063 эВ). Поляризуемость характеризует деформацию электронной плотности, для карнозина в водной среде она увеличивается на 1173,518 эВ, что свидетельствует об увеличении его химической активности. Дипольный момент – важный параметр, характеризующий электронное поведение молекулы. В водной среде дипольный момент карнозина увеличивается практически на 4 Дебая, что свидетельствует о сильном взаимодействии и готовности к комплексообразованию.

С помощью программ молекулярного моделирования можно получить удобную для анализа наглядную трехмерную визуализацию электронных свойств исследуемых соединений. На рис. 2 показаны НОМО – LUMO орбитали и их разность для молекулы карнозина в таутомерной форме N³H для газовой и водной среды, рассчитанные на том же уровне теории. Можно увидеть те области молекулярных орбиталей, где между ними произошли электронные переходы. Красный цвет на рисунке указывает на присутствие электронов (отрицательный заряд), а зеленый – на отсутствие электронов (положительный заряд). Из рисунка видно, что НОМО карнозина в газовой фазе располагается на связях имидазольного кольца гистидинового фрагмента молекулы карнозина, на аминной группе β -аланинового фрагмента и связи C₁₁-C₁₂, в незначительном количестве на связях C₁₀-C₁₁ и C₆-H₂₀ и атоме азота N₉. При переходе на LUMO орбиталь полностью освобождается аминная группа, электронная плотность сосредоточена над атомами водорода H₁₉, H₁₈ имидазольного кольца и водородом пептидной связи H₂₃. Небольшая электронная плотность локализуется на атомах O₁₅, N₉, N₁₁ и на связи N₁-C₅

Таблица 5. Энергетические и электронные характеристики молекулы карнозина

Параметры	Газовая фаза	Водная среда
Электронная энергия	-21664,325300	-21665,162758
НОМО	-6,649377	-6,543253
LUMO	-0,437287	-0,604365
Энергетическая щель ΔE	6,212090	5,938888
Потенциал ионизации (I)	6,649378	6,543253
Сродство к электрону (A)	0,437287	0,604365
Электроотрицательность (χ)	3,543332	3,573809
Химический потенциал (μ)	-3,543332	-3,573809
Твердость (η)	3,106045	2,969444
Мягкость (S)	0,321953	0,336763
Индекс электрофильности (ω)	2,021092	2,150590
Нуклеофильность (ν)	0,494782	0,464989
Максимальный перенос заряда (ΔN)	1,140786	1,203528
Поляризуемость (α)	3924,134026	5097,652085
Дипольный момент (Debye)	7,577461	11,570292

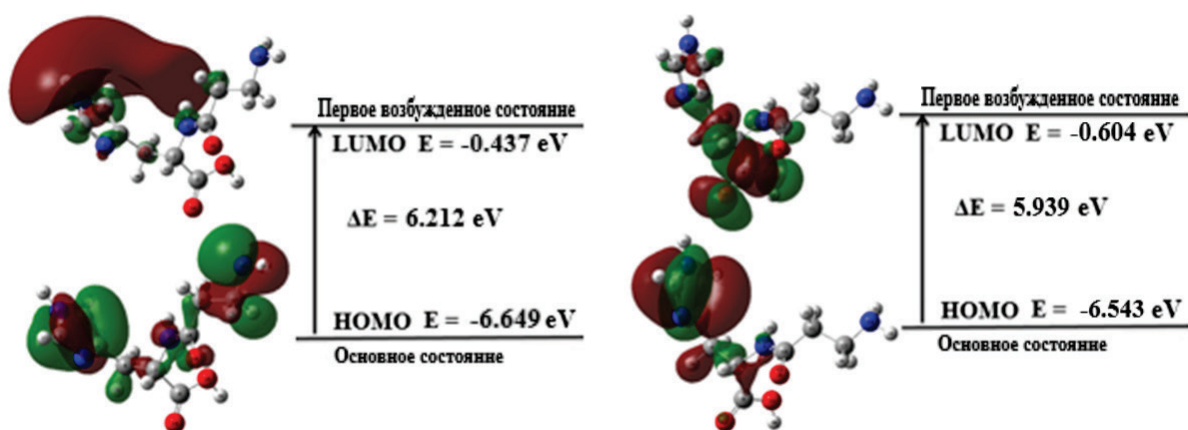


Рисунок 2. НОМО – LUMO орбитали и их разность для молекулы карнозина таутомерной формы NH₃ для газовой фазы (слева) и водной среды (справа)

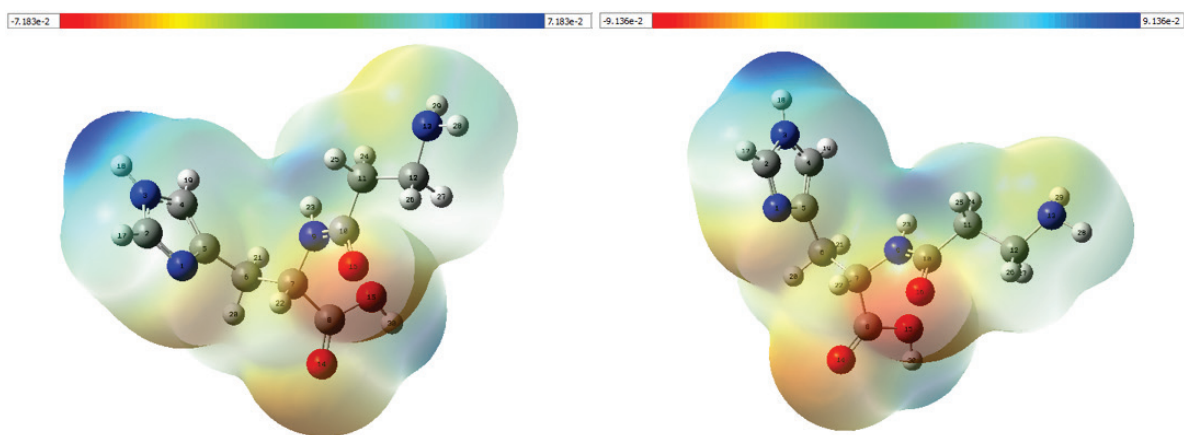


Рисунок 3. МЭР молекулы карнозина таутомерной формы N³H для газовой (слева) и водной (справа) сред

имидазольного кольца, атомы имидазольного кольца N₁, C₂ и C₄ объединены электронной плотностью внутри кольца. В водной среде НОМО в основном локализована на связях имидазольного кольца C₆-C₇ и C₆-H₂₀ и в небольшом количестве на атомах азота и кислорода пептидной и карбоксильной групп O₁₆, N₉, O₁₄ и связи C₇-C₈. β-аланиновый остаток абсолютно свободный. LUMO орбиталь в водной среде почти полностью освобождает имидазольное кольцо и переходит в основном на карбоксильную группу и примыкающие к ней с одной стороны атомы пептидной группы O₁₆, C₁₀, N₉ и с другой стороны связи C₇-C₈, C₇-H₂₂, C₆-H₂₀, C₆-C₅. На имидазольном кольце небольшая электронная плотность наблюдается на атомах N₁, C₂ и C₄.

Наиболее информативным дескриптором считается молекулярный электростатический потенциал (МЭП). Поверхности молекулярного электростатического потенциала (МЭР) визуализируют трехмерное распределение заряда внутри молекулы. Анализ МЭР позволяет предсказать химическую реакционную способность молекулы и определить места присоединения реагентов при комплексобразовании. МЭП представляет собой график зависимости электростатического потенциала, нанесенного на поверхность с постоянной электронной плотностью. Красный и желтый цвета - области с низким потенциалом, характеризуются обилием электронов, подвержены электрофильной атаке. Синий цвет - область с высоким потенциалом, относительным отсутствием электронов, это область нуклеофильной атаки. На рисунке 3 показаны карты МЭП молекулы карнозина в таутомерной форме N³H, рассчитанные методом DFT/B3LYP/6-31G в газовой и водной средах. Они имеют аналогичный вид. Как видим, наиболее активными реактивными центрами карнозина являются атомы кислорода карбоксильной и пептидной групп, также могут быть подвержены электрофильной атаке (желтый цвет) атомы азота N₁ имидазольного кольца и N₁₃ аминной группы. Ярко выраженный синий цвет располагается над атомом водорода H₁₈ имидазольного кольца.

Для подробного изучения внутримолекулярных взаимодействий и получения информации о делокализации электронной плотности и переносе заряда между взаимодействующими атомами, мы используем метод NBO [49]. В анализе орбиталей естественных связей (NBO) исходный базисный набор атомных орбиталей преобразуется в естественные орбитали связи, соответствующие химической картине Льюиса. Для каждого донора NBO (i) и акцептора NBO (j) оценивается энергия, стабилизирующая донорно-акцепторное взаимодействие E(2), связанное с делокализацией электронной плотности между занятыми и незанятыми NBO. Чем больше значение энергии стабилизации E(2), тем интенсивнее взаимодействие между донорами и

акцепторами электронов и тем больше степень сопряжения всей системы. В таблице 6 приведены выбранные взаимодействия доноров и акцепторов (энергия $E(2)$ которых превышает 20 ккал/моль), заселенности их орбиталей электронами ED (в ед.электрона), энергии гиперсопряженных взаимодействий $E(2)$ (в ккал/моль), а также разность энергий (в а.у.) донорной (i) и акцепторной (j) NBO орбиталей $E(j)-E(i)$ и элементы матрицы Фока (в а.у.) между i-й и j-й NBO-орбиталями $F(i,j)$ для молекулы карнозина в таутомерной форме N^3H в газовой и водной средах.

Как видим, самое сильное взаимодействие связано с делокализацией электронной плотности имидазольного кольца с переносом заряда с разрыхляющей π^* орбитали связи N_1-C_2 на разрыхляющую π^* орбиталь связи C_4-C_5 : $\pi^*_{N_1-C_2} \rightarrow \pi^*_{C_4-C_5}$ с энергией стабилизации 76,65 ккал/моль для газовой и 53,48 ккал/моль для водной среды. Достаточно сильные энергии стабилизации наблюдаются при донорно-акцепторном взаимодействии и переносе заряда с не поделенных пар кислорода и азотов на разрыхляющие π^* и σ^* орбитали ближайших связей (табл. 6)

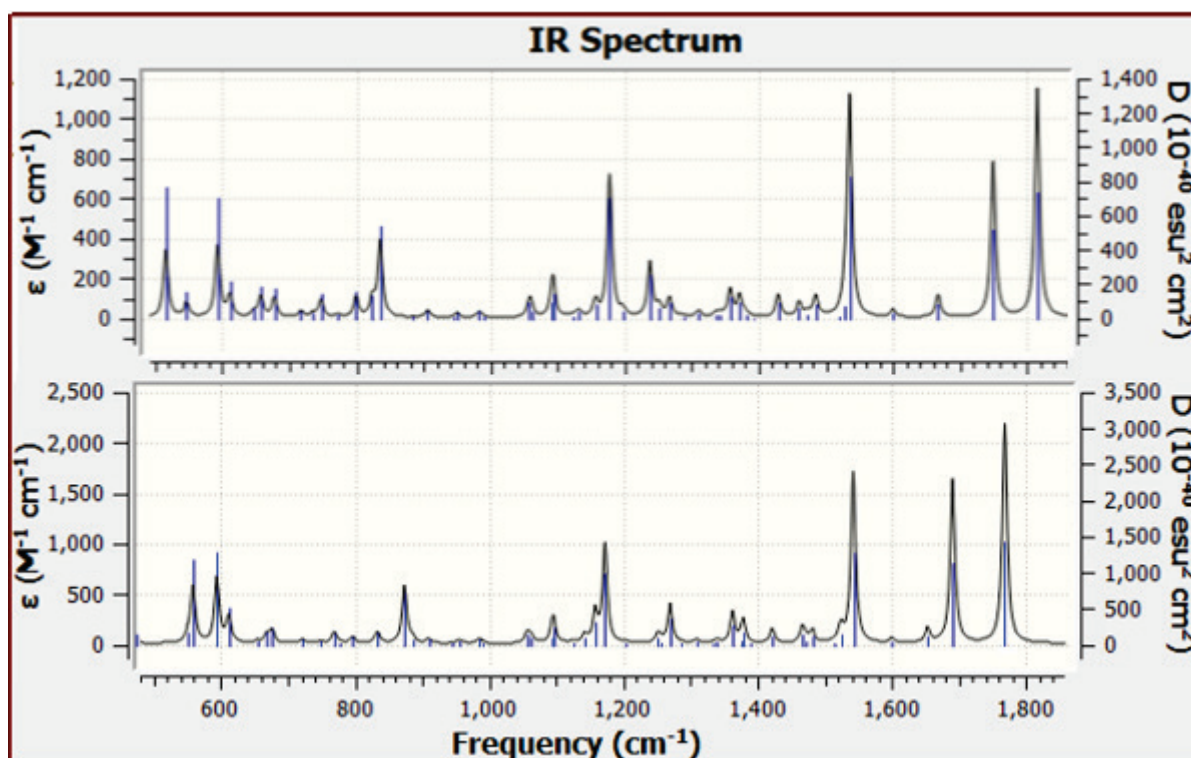


Рисунок 4. Теоретические ИК- спектры нейтральной молекулы карнозина в таутомерной форме N^3H для газовой (сверху) и водной (снизу) сред, полученные методом DFT/6-31+G(d,p)

Таблица 6. Выбранные энергии возмущения второго порядка матрицы Фока и заселенности молекулы карнозина в водной (первая строчка) и газовой (каждая вторая строчка) средах

Donor (i)	Type	ED (i)	Acceptor (j)	Type	ED (j)	$E(2)$	$E(j)-E(i)$	$F(i,j)$
O 15	n (2)	1.80567	C 8 - O 14	π^*	0,21521	45,83	0,36	0,115
		1.81971			0,20418	44,73	0,36	0,113
O 14	n (2)	1.85802	C 8 - O 15	σ^*	0,09474	32,57	0,63	0,130
		1.84590			0,10228	34,29	0,61	0,130
O16	n (2)	1.88181	N 9 - C 10	σ^*	0,06777	23,66	0,74	0,119
		1.86886			0,07342	25,65	0,71	0,122
N 3	n (1)	1.55822	N 1 - C 2	π^*	0,39189	51,89	0,27	0,106
		1.58356			0,36891	46,62	0,28	0,103
N 3	n (1)	1.55822	C 4 - C 5	π^*	0,31376	31,28	0,30	0,089
		1.58356			0,31606	29,33	0,30	0,086
N 9	n (1)	1.68456	C 10 - O 16	π^*	0,25386	38,45	0,37	0,108
		1.71515			0,24473	42,48	0,34	0,109
N 1 - C 2	π^*	0.39189	C 4 - C 5	π^*	0,31376	53,48	0,03	0,059
		0.36891			0,31606	76,65	0,02	0,061
C 10 - O16	π^*	0.25386	C 10 - O 16	σ^*	0,07692	28,46	0,34	0,217
		0.24473			0,04883	13,97	0,44	0,182
N 1 - C 2	π	1.87365	C 4 - C 5	π^*	0,31376	21,37	0,34	0,079
		1.86702			0,31606	22,33	0,27	0,060

с энергиями стабилизации порядка 50±40 ккал/моль. В газовой фазе по сравнению с водной средой энергия стабилизации неподеленной пары атома азота N₉ с разрыхляющей π* орбиталью связи C₁₀-O₁₆ увеличивается на 4,04 ккал/моль, а неподеленной пары n₍₁₎ азота N₃ с разрыхляющими π* орбиталями связей N₁-C₂ и C₄-C₅ уменьшается соответственно на 5,26 и 1,62 ккал/моль. В водной среде на 14,49 ккал/моль сильнее взаимодействие разрыхляющих π* и σ* орбиталей связи C₁₀-O₁₆: π*_{C10-O16}→σ*_{C10-O16}.

На рисунке 4 приведена область “отпечатков пальцев”, полученная для газовой (сверху) и водной (снизу) сред молекулы карнозина в таутомерной форме N³H. Видим, что водная среда оказывает влияние на сдвиги полос при 1750-1800 см⁻¹ в более низкочастотную область примерно на 40-50 см⁻¹ и полосы 840 см⁻¹ на 30 см⁻¹ в более высокочастотную область спектра.

Полученные в работе результаты, в частности, исследование реакционной способности карнозина, могут быть полезными при моделировании возможных комплексов карнозина с различными реагентами и белками в процессе поиска новых лекарственных препаратов на основе комплексов карнозина.

Список литературы / References:

1. Болдырев А.А. Проблемы и перспективы исследования биологической роли карнозина. *Биохимия*, 2000, т. 65, № 7, с. 884-890. [Boldyrev A.A., Problems and prospects of research of the biological role of carnosine. *Biokhimiya*, 2000, vol. 65, no. 7, pp. 884-890. (In Russ.)]
2. Hipkiss A.R. Chapter 3: Carnosine and Its Possible Roles in Nutrition and Health. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2009, vol. 57, pp. 87-154, doi: 10.1016 / S1043-4526 (09) 57003-9.
3. Gallant S., Kukley M., Stvolinsky S., Bulygina E., Boldyrev A. Effect of carnosine on rats under experimental brain ischemia. *Tohoku J. Exp. Med.*, 2000, vol. 191, pp. 85-99, doi: 10.1620/tjem.191.85.
4. Prokopieva V.D., Yarygina E.G., Bokhan N.A. and Ivanova S.A.: Use of carnosine for oxidative stress reduction in different pathologies. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, no. 29390872016, doi: 10.1155/2016/2939087.
5. Caruso G., Fresta C.G., Musso N. et al. Carnosine prevents Aβ-induced oxidative stress and inflammation in microglial cells: A key role of TGF-β1. *Cells*, 2019, vol. 8, p. 64, doi: 10.3390/cells8010064.
6. Болдырев А.А. *Карнозин*. М.: Изд-во МГУ, 1998, 320 с. [Boldyrev A.A. *Carnosine*. Moscow: Publishing house of the Moscow State University, 1998, 320 p. (In Russ.)]
7. Quinn P.J., Boldyrev A.A., Formazyuk V.E. Carnosine: its properties, functions and potential therapeutic applications. *Mol Aspects Med.*, 1992, vol. 13, pp. 379-444, doi: 10.1016/0098-2997(92)90006-1.
8. Bonfanti L., Peretto P., De Marchis S., Fasolo A. Carnosine-related dipeptides in the mammalian brain. *Prog. Neurobiol.*, 1999, vol. 59, pp. 333-353, doi: 10.1016/S0301-0082(99)00010-6.
9. Jain S., Kim E.S., Kim D., Burrows D., De Felice M., Kim M., Baek S.H., Ali A., Redgrave J., Doeppner T.R. et al. Comparative cerebroprotective potential of d- and l-carnosine following ischemic stroke in mice. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, vol. 21, no. 9, pp. 3053-3065, doi: 10.3390/ijms21093053.
10. Zhao J., Posa D.K., Kumar V., Hoetker D., Kumar A., Ganesan S., Riggs D.W., Bhatnagar A., Wempe M.F., Baba S.P. Carnosine protects cardiac myocytes against lipid peroxidation products. *Amino Acids*, 2019, vol. 51, no. 1, pp. 123-138, doi: 10.1007/s00726-018-2676-6.
11. Zhao J., Shi L., Zhang L.-R. Neuroprotective effect of carnosine against salsolinol-induced Parkinson's disease. *Exp. Ther. Med.*, 2017, vol. 14 no. 1, pp. 664-670, doi: 10.3892/etm.2017.4571.
12. Calon F., Cole G. Neuroprotective action of omega-3 polyunsaturated fatty acids against neurodegenerative diseases: evidence from animal studies. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2007, vol. 77, no. 5-6, pp. 287-293, doi: 10.1016/j.plefa.2007.10.019.
13. Bermudez M.L., Seroogy K.B., Genter M.B. Evaluation of carnosine intervention in the Thy1-aSyn mouse model of Parkinson's disease. *Neuroscience*, 2019, vol. 411, pp. 270-278, doi: 10.1016/j.neuroscience.2019.05.026.
14. Kilis-Pstrusinska K. Carnosine, carnosinase and kidney diseases. *Postepy Hig Med Dosw*, 2012, vol. 66, pp. 215-221, doi: 10.5604/17322693.991600.
15. Riedl E., Pfister F., Braunagel M., Brinkkötter P., Sternik P., Deinzer M., Bakker S.J., Henning R.H., van den Born J., Krämer B.K., Navis G., Hammes H.P., Yard B., Koeppel H. Carnosine prevents apoptosis of glomerular cells and podocyte loss in STZ diabetic rats. *Cell Physiol Biochem.*, 2011, vol. 28, no. 2, pp. 279-288, doi: 10.1159/000331740.
16. Peters V., Zschocke J., Schmitt C.P. Carnosinase, diabetes mellitus and the potential relevance of carnosinase deficiency. *J Inherit Metab Dis.*, 2018, vol. 41, no. 1, pp. 39-47, doi: 10.1007/s10545-017-0099-2.
17. Pfister F., Riedl E., Wang Q., vom Hagen F., Deinzer M., Harmsen M.C., Molema G., Yard B., Feng Y., Hammes H.P. Oral carnosine supplementation prevents vascular damage in experimental diabetic retinopathy. *Cell Physiol Biochem.*, 2011, vol. 28, no. 1, pp. 125-136, doi: 10.1159/000331721.
18. Rashid I., van Reyk D.M., Davies M.J. Carnosine and its constituents inhibit glycation of low-density lipoproteins that promotes foam cell formation in vitro. *FEBS Lett.*, 2007, vol. 581, no. 5, pp. 1067-1070, doi: 10.1016/j.febslet.2007.01.082.
19. Mong M.C., Chao C.Y., Yin M.C. Histidine and carnosine alleviated hepatic steatosis in mice consumed high saturated fat diet. *Eur J Pharmacol.*, 2011, vol. 653, no. 1-3, pp. 82-88, doi: 10.1016/j.ejphar.2010.12.001.
20. Boldyrev A.A., Aldini G., Derave W. Physiology and pathophysiology of carnosine. *Physiol Rev.*, 2013, vol. 93, pp. 1803-1845, doi: 10.1152/physrev.00039.2012.
21. Hipkiss A.R., Baye E., de Courten B. Carnosine and the processes of ageing. *Maturitas*, 2016, vol. 93, pp. 28-33, doi: 10.1016/j.maturitas.2016.06.002.

22. Cararo J.H., Streck E.L., Schuck P.F., da C. Ferreira G. Carnosine and Related Peptides: Therapeutic Potential in Age-Related Disorders. *Aging and Disease*, 2015, vol. 6, no. 5, pp. 369-379, doi: 10.14336/AD.2015.0616.
23. Kawahara M., Tanaka K.-I., Kato-Negishi M. Zinc, Carnosine, and Neurodegenerative Diseases. *Nutrients*, 2018, vol. 10, no. 2, pp. 147-167, doi: 10.3390/nu10020147.
24. Shao L., Li Q., Tan Z. L-Carnosine reduces telomere damage and shortening rate in cultured normal fibroblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004, vol. 324, no. 2, pp. 931-936, doi: 10.1016/j.bbrc.2004.09.136.
25. Hipkiss A.R. and Gaunitz F. Inhibition of tumour cell growth by carnosine: some possible mechanisms. *Amino Acids*, 2014, vol. 46, no. 2, pp. 327-337, doi: 10.1007/s00726-013-1627-5.
26. Gaunitz F., Hipkiss A.R. Carnosine and cancer: a perspective. *Amino Acids*, 2012, vol. 43, no. 1, pp. 135-142, doi: 10.1007/s00726-012-1271-5.
27. Chuang C.-H., Hu M.-L. L-Carnosine Inhibits Metastasis of SK-Hep-1 Cells by Inhibition of Matrix Metaoproteinase-9 Expression and Induction of an Antimetastatic Gene, nm23-H1. *Nutr Cancer*, 2008, vol. 60, no. 4, pp. 526-533, doi: 10.1080/01635580801911787.
28. Hsieh S.-L., Hsieh S., Lai P.-Y., Wang J.-J., Li C.-C., Wu C.-C. Carnosine suppresses human colorectal cell migration and intravasation by regulating EMT and MMP expression. *Am J Chin Med*, 2019, vol. 47, no. 2, pp. 477-494, doi: 10.1142/s0192415x19500241.
29. Wu C.-C., Lai P.-Y., Hsieh S., Cheng C.-C., Hsieh S.-L. Suppression of carnosine on adhesion and extravasation of human colorectal cancer cells. *Anticancer Res.*, 2019, vol. 39, no. 11, pp. 6135-6144, doi: 10.21873/anticancer.13821.
30. Shen Y., Yang J., Li J., Shi X., Ouyang L., Tian Y., Lu J. Carnosine inhibits the proliferation of human gastric cancer SGC-7901 cells through both of the mitochondrial respiration and glycolysis pathways. *PLoS ONE*, 2014, vol. 9, no. 8, e104632, doi: 10.1371/journal.pone.0104632.
31. Zhang Z., Miao L., Wu X., Liu G., Peng Y., Xin X., Jiao B., Kong X. Carnosine inhibits the proliferation of human gastric carcinoma cells by retarding Akt/mTOR/p70S6K signaling. *J. Cancer.*, 2014, vol. 5, pp. 382-389, doi: 10.7150/jca.8024.
32. Lee J., Park J.R., Lee H., Jang S., Ryu S.M., Kim H., Kim D., Jang A., Yang S.R. L-carnosine induces apoptosis/cell cycle arrest via suppression of NF- κ B/STAT1 pathway in HCT116 colorectal cancer cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.*, 2018, vol. 54, pp. 505-512, doi: 10.1007/s11626-018-0264-4.
33. Shu-Ling Hsieh, Jia-Huei Li, Cheng-Di Dong, Chiu-Wen Chen, Chih-Chung Wu. Carnosine suppresses human colorectal cancer cell proliferation by inducing necroptosis and autophagy and reducing angiogenesis. *Oncol Lett.*, 2022, vol. 23, no. 2, p. 44, doi: 10.3892/ol.2021.13162.
34. Wu G. Important roles of dietary taurine, creatine, carnosine, anserine and 4-hydroxyproline in human nutrition and health. *Amino Acids*, 2020, doi: 10.1007/s00726-020-02823-6.
35. Demukhamedova S.D., Alieva I.N., Godjajev N.M. Spatial and electronic structure of monomeric and dimeric complexes of carnosine with zinc. *J. Struct. Chem.*, 2010, vol. 51, no. 5, pp. 824-832, doi: 10.1007/s10947-010-0127-7.
36. Demukhamedova S.D., Alieva I.N., Gajiyev Z.I. Quantum chemistry investigation of the carnosine polymer complex with zinc. *Fizika*, 2010, vol. 16, no. 2, pp. 597-600.
37. Демухамедова С.Д., Алиева И.Н., Гаджиев З.И., Годжаев Н.М. Ab initio исследование структуры и колебательного спектра молекулы карнозина. *Journal of Qafqaz University*, 2009, № 27, с. 15-25. [Demukhamedova S.D., Alieva I.N. Hadjiev Z.I., Godjajev N.M. Ab initio study of the structure and vibrational spectrum of the carnosine molecule. *Journal of Qafqaz University*, 2009, no. 27, pp. 15-25. (In Russ.)]
38. Демухамедова С.Д. Пространственная структура димерных комплексов карнозина с медью. *Journal of Qafqaz University*, 2010, № 29, с. 37-47. [Demukhamedova S.D. Spatial structure of dimeric complexes of carnosine with copper. *Journal of Qafqaz University*, 2010, no. 29, pp. 37-47. (In Russ.)]
39. Демухамедова С.Д., Алиева И.Н., Годжаев Н.М. Квантово-химический анализ заселенностей координационных связей в димерных комплексах карнозина с атомами меди и воды. *Известия НАНА, физика и астрономия*, 2011, № 2, с. 65-77. [Demukhamedova S.D., Alieva I.N., Godjajev N.M. Quantum-chemical analysis of the populations of coordination bonds in dimeric complexes of carnosine with copper and water atoms. *Transactions of ANAS, physics-astronomy*, 2011, no. 2, pp. 65-77. (In Russ.)]
40. Демухамедова С.Д. Квантовохимическое исследование комплексов двух таутомерных форм карнозина с кобальтом. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2019, т. 4, № 4, с. 505-513. [Demukhamedova S.D. Quantum-chemical study of complexes of two tautomeric forms of carnosine with cobalt. *Russian Journal of Biological Physics and Chemistry*, 2019, vol. 4, no. 4, pp. 505-513. (In Russ.)]
41. Akverdieva G.A., Alieva I.N., Hajiyev Z.I., Demukhamedova S.D. Spatial structure of N¹H and N³H tautomers of carnosine in zwitterion form. *AJP Fizika*, 2021, vol. 27, no. 2, pp. 29-37.
42. Diez R.P., Baran E.J. A density functional study of some physical properties of carnosine (N-b-alanyl-L-histidine). *J Mol Struct (Theochem)*, 2003, vol. 621, pp. 245-251, doi: 10.1016/S0166-1280(02)00587-0.
43. Tyunina E.Y., Mezhevoi I.N., Dunaeva V.V. Thermodynamic properties of crystalline L-carnosine and its aqueous solutions. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 2020, vol. 150, 106206, doi: 10.1016/j.jct.2020.
44. Baran E.J. Metal complexes of carnosine. *Biochemistry*, 2000, vol. 65, no. 7, pp. 789-797.
45. Frisch M.J. et al. Gaussian 09, Revision D.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2013.
46. Dennington R., Keith T., Millam J. Gauss View, Version 6.0.16. Shawnee, Kansas: Semichem Inc., Shawnee Mission, 2016.

47. Itoh H., Yamane T., Ashida T. Carnosine (β -Alanyl-L-histidine). *Acta Cryst.*, 1977, vol. B33, pp. 2959-2961, doi: 10.1107/S0567740877009972.
48. Koopmans T. Über die Zuordnung von Wellenfunktionen und Eigenwerten zu den Einzelnen Elektronen Eines Atoms. *Physica*, 1934, vol.1, no. 1-6, pp. 104-113, doi: 10.1016/s0031-8914(34)90011-2.
49. Weinhold F., Landis C.R. Valency and Bonding: A Natural Bond Orbital Donor-Acceptor Perspective. *Cambridge University Press*, 2005.

THEORETICAL QUANTUM-CHEMICAL SIMULATION OF THE STRUCTURE AND PROPERTIES OF CARNOSINE DIPEPTIDE BY THE DFT METHOD

Demukhamedova S.D.

Institute for Physical Problems, Baku State University,
Z. Khalilov str., 23, AZ 1148, Baku, Azerbaijan; e-mail: svetlanabest@mail.ru
Received 20.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0509

Abstract. The spatial and electronic structure of the natural carnosine dipeptide in the N3H tautomeric form of its imidazole ring in gas and water environment was studied by the quantum-chemical method in the framework of the electron density functional theory (DFT) with the three-parameter B3LYP hybrid functional. The sufficiently reliable and time-saving extended basis set, taking into account the polarization and diffuse functions 6-31+G (d, p) was used for calculations. All calculations were carried out using the Gaussian 09 software package. GaussView 6.0.16 was used to visualize the obtained results. Geometrical parameters, values of electronic energy, energies of HOMO and LUMO orbitals and the energy gap between them, reactivity descriptors, values of dipole moments, partial charges on atoms, and theoretical IR spectra for gaseous and aqueous media are obtained. Calculations show that the proposed model of the molecule forms a stable structure. The resulting structure is stabilized due to non-covalent interactions in the dipeptide. Molecular electrostatic potential maps (MEP) are constructed to identify potential binding sites. To study the charge transfer and intramolecular interactions that determine the stability of the molecule, an analysis of natural bond orbitals (NBOs) was carried out. Structural rearrangements and changes in various parameters depending on the dielectric constant of the medium are analyzed.

Key words: carnosine, structure, reactivity descriptors, NBO analysis, IR spectra.