

КОНФОРМАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА И ЭЛЕКТРОННАЯ СТРУКТУРА ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО АГЕНТА TYR-SER-LEU

Агаева Г.А., Агаева У.Т., Годжаев Н.М.

Бакинский государственный университет, Институт физических проблем
ул. Захара Халилова, 23, г. Баку, AZ-1048, Азербайджан, e-mail: gulshen@mail.ru
Поступила в редакцию 12.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0582

Аннотация. Методами молекулярного моделирования были исследованы особенности пространственного и электронного строения противоопухолевого трипептида YSL (Tyr-Ser-Leu), разработанного китайскими учеными. Конформационный анализ молекулы выявил ограниченный набор ее энергетически предпочтительных конформационных состояний в определенном интервале относительной энергии. Была определена природа сил, стабилизирующих низкоэнергетические конформации молекулы трипептида. В результате исследования были также определены энергетически предпочтительные области величин двугранных углов, величины энергетических вкладов межстаточных взаимодействий и водородных связей, а также взаимное расположение остатков и их боковых цепей в низкоэнергетических конформациях трипептида. Методами молекулярной механики были получены величины энергетических вкладов внутримолекулярных взаимодействий в низкоэнергетических конформационных состояниях молекулы. На основе квантово-химических расчетов были определены распределение электронной плотности и величины дипольных моментов наиболее оптимальных пространственных структур молекулы трипептида YSL. Квантово-химическими расчетами также была исследована реакционная способность трипептида на основе полученных электронных характеристик каждой низкоэнергетической конформации молекулы. Используя рассчитанные координаты атомов энергетически предпочтительных структур молекулы, были построены их молекулярные модели, сопоставление которых дает возможность выделить структурные критерии, необходимые для создания лекарственного препарата пригодного для клинического использования.

Ключевые слова: противоопухолевый агент, трипептид, конформация, метод молекулярной механики, квантово-химические расчеты.

Рак является одной из ведущих причин смерти во всем мире. Обычные методы лечения рака в основном сосредоточены на массовом уничтожении клеток без высокой специфичности и это вызывает серьезные побочные эффекты и токсичность. Пептиды представляют собой новый класс противоопухолевых агентов, которые могут целенаправленно воздействовать на раковые клетки с меньшей токсичностью по отношению к нормальным тканям, что открывает новые возможности для профилактики и лечения рака. В работе [1] китайскими учеными было изучено ингибирующее действие небольшого пептида, Tyr-Ser-Leu (tyrosilerleutide, YSL), на гепатокарциному человека BEL-7402, как антиопухолевого агента. Мышам с ксенотрансплантатами человеческой гепатомы BEL-7402 ежедневно вводили внутривентриально инъекции YSV или физиологического раствора (в качестве контроля) после трансплантации опухоли. Подсчет объема опухоли и измерение массы опухоли определяли степень ингибирования ксенотрансплантатов. Ультраструктуру опухолевых клеток наблюдали с помощью электронной микроскопии. Было также показано, что YSL может значительно ингибировать рост гепатокарциномы человека BEL-7402 у мышей и индуцировать апоптоз опухолевых клеток [2]. Трипептид состоит из трех природных аминокислот: L-тирозина, L-серина и L-лейцина с соответствующей химической структурой C₁₈H₂₇N₃O₆. L-тирозин – это оптически изомерная форма ароматической аминокислоты – тирозина. Эта аминокислота участвует в липидном обмене, регулирует аппетит, улучшает синтез меланина, нормализует работу надпочечников, гипофиза, щитовидной железы. Аминокислота L тирозин относится к заменимым, так как вырабатывается в организме. L-серин заменимая аминокислота, вырабатывается из треонина и глицина, присутствует во всех клеточных мембранах, при этом в большом количестве. Эта аминокислота является важнейшей составляющей клеток мозга, миелиновых оболочек, которые выполняют функцию защиты нервных клеток от различного рода повреждений. L-лейцин незаменимая алифатическая аминокислота с разветвленной цепочкой, а своим объемом одна из самых больших аминокислот. Лейцин защищает мышечные ткани и является источником энергии, а также способствует восстановлению костей, кожи, мышц. Молекулярная масса YSL составляет 381,42. Было документально подтверждено, что YSL ингибирует рост опухоли как *in vitro*, так и *in vivo* [4,5].

В настоящей работе с целью выяснения механизма действия противоопухолевого трипептида и стратегии модификации его для улучшения противораковых эффектов мы исследовали его конформационные свойства и параметры электронной структуры. Как известно флуктуации полярных групп в пределах пептидной молекулы в зависимости от заряда, электростатического поля или конформационного изменения играют важную роль в определении структуры и связывающих свойств молекулы. Было показано, что флуктуации атомных зарядов при конформационных изменениях достигают нескольких десятых единиц заряда электрона. Этот эффект является одним из проявлений электронно-конформационного взаимодействия и может вносить существенный вклад в изменение энергии взаимодействия между функциональными группами и в изменение реакционной способности

молекулы. В этом случае распределение электронной плотности и дипольный момент пептида зависят от его конформационного состояния и, следовательно, могут быть полезными как показатели его геометрии и конформационного поведения. С этой точки зрения определенный интерес представляет исследование пространственного и электронного строения относительно небольших пептидов, содержащих в своей последовательности полярные остатки, а также способных в свободном состоянии производить биологический эффект.

В данной работе расчет стабильных конформаций пептидов проводился с помощью программы и системы потенциальных функций, ранее описанных и примененных в работе [6]. При обсуждении результатов расчета была использована принятая классификация пептидных структур [6]. Конформационное состояние каждого остатка определялось значениями двугранных углов φ , ψ и ω основной цепи и χ^i , боковых цепей. Введено понятие формы остатка, которое характеризует область (R, B, L или P) значений углов φ и ψ . Углы φ и ψ основной цепи в конформациях находятся из низкоэнергетических областей стерической карты: R ($\varphi, \psi = -180^\circ \div 0^\circ$), B ($\varphi = -180^\circ \div 0^\circ, \psi = 0^\circ \div 180^\circ$), L ($\varphi, \psi = 0^\circ \div 180^\circ$) и P ($\varphi = 0^\circ \div 180^\circ, \psi = -180^\circ \div 0^\circ$). Выбор структурных вариантов при расчете конформаций отдельных трипептидов осуществлялся на основе известных значений двугранных углов (φ и ψ) соответствующих низкоэнергетическим областям конформационной карты R, B и L для каждого монопептида [6]. Отсчет двугранных углов вращения φ , ψ , ω и χ^i проведен согласно общепринятой номенклатуре IUPAC-IUB [7]. Расчет стабильных конформаций пептидов проводился с помощью программы [8]. Поиск минимумов потенциальной энергии осуществлялся методом сопряженных градиентов [8]. Электронное строение молекул трипептидов изучалось с помощью полуэмпирического метода квантовой химии AM1, позволяющего количественно оценить суммарное влияние структурных изменений на распределение электронной плотности молекулы в целом и в любой ее части. Расчеты электронной структуры проводились с использованием комплекса сервисных программ HyperChem v. 8.0 [9], позволяющего проводить квантово-химические расчеты молекул методом AM1.

В данной работе сначала методом молекулярной механики были определены низкоэнергетические конформационные состояния исследуемого пептида и выявлены их конформационные характеристики. В результате расчетов были получены величины энергетических вкладов внутримолекулярных взаимодействий в низкоэнергетических конформационных состояниях молекулы. На следующем этапе исследования методом квантово-химических расчетов были определены электронные характеристики, распределения электронной плотности, электростатические потенциалы и величины дипольных моментов молекулы в низкоэнергетических конформационных состояниях.

На основе полученных результатов были определены энергетические и электронные характеристики наиболее оптимальных пространственных структур молекулы трипептида YSL. Используя расчетные координаты атомов молекулы, были построены молекулярные модели наиболее стабильных конформаций трипептида. На рисунке 1 приведены молекулярные модели энергетически предпочтительных конформаций молекулы трипептида YSL, распределение электронной плотности и электростатический потенциал соответствующих конформеров.

Определение пространственного строения противоопухолевого трипептида YSL проводилось путем минимизации потенциальной энергии выбранных конформационных состояний, исходя из особенностей, составляющих его аминокислотных остатков. При составлении структурных вариантов трипептида ориентации боковых цепей остатков брались с учетом оптимальных межостаточных взаимодействий, образуемых данными остатками в конформационных состояниях молекулы. В результате расчетов было определено, что в слабополярной среде трипептид предпочтительно формирует похожие стабильные полностью свернутые структуры. Было показано, что энергетически предпочтительная конформация трипептида стабилизируется эффективными дисперсионными взаимодействиями с образованием водородной связи между атомами карбоксильной группы C-терминальной части и N-концевой аминогруппы. Во всех стабильных конформациях трипептида реализуются эффективные дисперсионные и электростатические взаимодействия между атомами концевых аминокислотных остатков. Наиболее значимый энергетический вклад между концевыми остатками реализуется в полностью свернутой структуре, и он составляет -8,6 ккал/моль. Такие межостаточные взаимодействия сопровождаются образованием стабильных водородных связей. Все эти конформации с образованной водородной связью между атомами концевых остатков могут считаться квазициклическими структурами трипептида. В таблице 1 приведены энергетические параметры внутримолекулярных взаимодействий в наиболее низкоэнергетических конформациях молекулы. Из таблицы 1 следует, что существенный энергетический вклад в стабилизацию структур трипептида YSL вносят дисперсионные взаимодействия. В таблице 2 представлены величины двугранных углов аминокислотных остатков молекулы YSL в низкоэнергетических конформациях. Результаты квантово-химических расчетов представлены в таблице 3. Распределение атомного парциального заряда, определялось как сумма молекулярных орбитальных плотностей, каждая из которых является квадратом орбитальной волновой функции. В данной работе определялось как распределение заряда молекулы может быть связано с ее реакционной способностью. Распределение атомного парциального заряда устойчивой конформации молекул позволяет прогнозировать взаимосвязь их реакционной способности с отдельными областями молекулы. Здесь мы будем рассматривать только само распределение заряда, оставив пока в стороне обсуждение внутримолекулярных электростатических и поляризационных энергий и их связи с энергиями межмолекулярного взаимодействия. При расчете электронной структуры молекулы трипептида суммарный заряд системы брался равным нулю, для трипептида учитывалось число

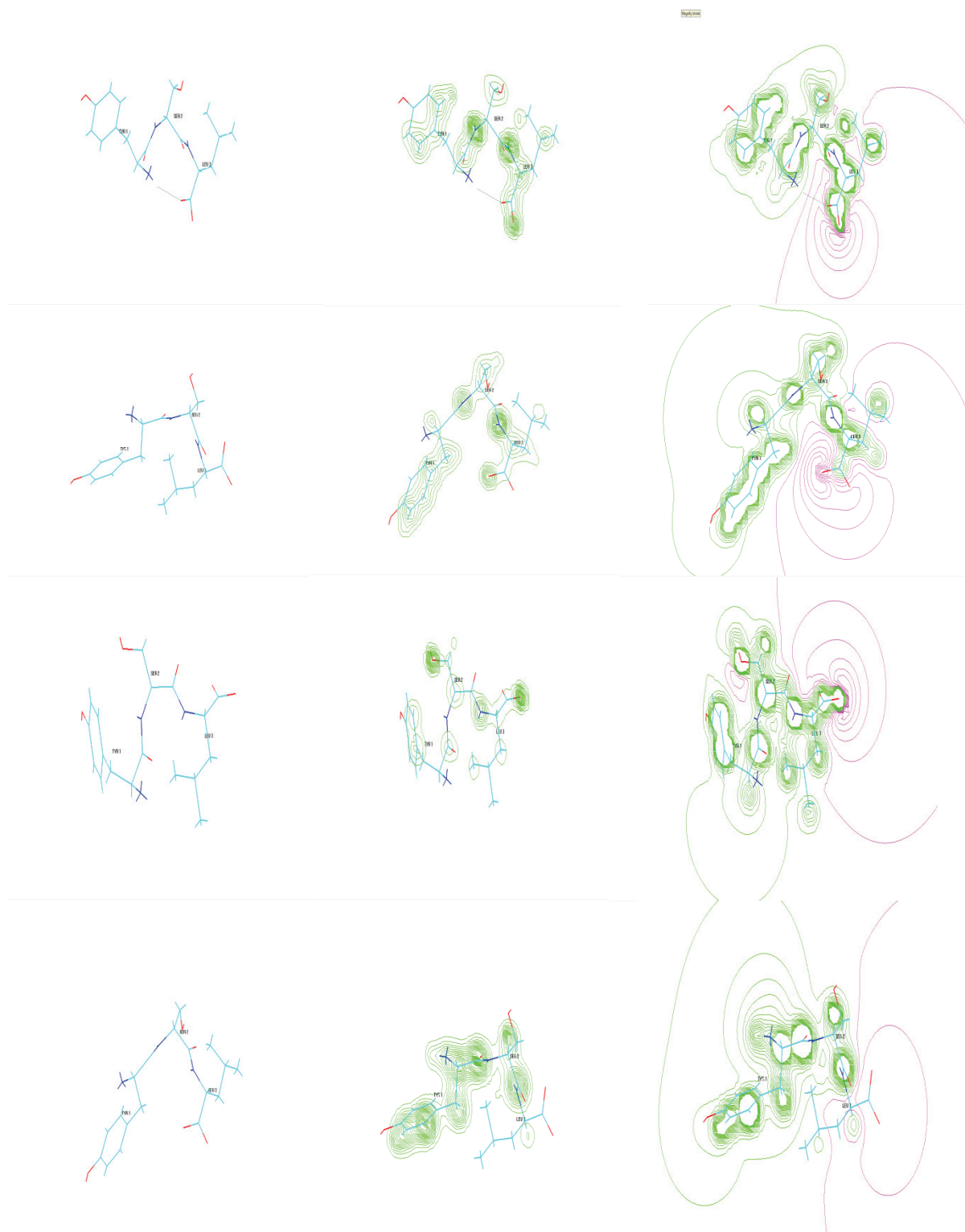


Рисунок 1. Молекулярные модели энергетически наиболее предпочтительных пространственных структур трипептида YSL, распределение электронной плотности и электростатический потенциал соответствующих конформеров

электронов, количество заселенных уровней и исходное число орбиталей. Расчеты показывают высокую электронную плотность вблизи атомов кислорода карбонильной группы, расположенной в пептидной цепи между двумя остатками Pro и самые большие отрицательные заряды в трипептиде сконцентрированы на атомах кислорода карбонильной группы и атомах азота аминогруппы. По всей видимости, наличие в трипептиде полярных пептидных групп может играть существенную роль в их реакционной способности, т.е. биологической активности. Анализ зарядовых характеристик и электронной плотности на атомах пептидных групп молекулы трипептида позволяет сделать вывод, что большей электронодонорной способностью обладают атомы кислорода карбонильной группы по сравнению с ее другими атомами, т.е. наличие пептидных групп играет существенную

Таблица 1. Энергетические параметры внутримолекулярных взаимодействий в наиболее стабильных конформациях молекулы YSL

№	Конформация	Энергетические вклады, ккал/моль				
		$E_{нев}$	$E_{эл}$	$E_{торс}$	$E_{полн}$	$E_{отн}$
1.	$R_2 R_3 R_3$	-9,9	0,2	3,1	-6,6	0
2.	$B_3 R_1 B_3$	-9,5	2,3	1,4	-5,6	1
3.	$B_3 B_3 B_3$	-10,2	2,8	1,9	-5,5	1,1
4.	$R_2 B_3 B_3$	-8,9	1,7	1,9	-5,3	1,3

Таблица 2. Величины двугранных углов (град) аминокислотных остатков молекулы YSL. в низкоэнергетических конформациях I – $R_2 R_3 R_3$ ($E_{отн} = 0$ ккал/моль), II – $B_3 R_1 B_3$ ($E_{отн} = 1,0$ ккал/моль), III – $B_3 B_3 B_3$ ($E_{отн} = 1,5$ ккал/моль), IV- $R_2 B_3 B_3$ ($E_{отн} = 1,7$ ккал/моль)

Конформеры	Аминокислота	Основная цепь			Боковая цепь			
		φ	ψ	ω	χ_1	χ_2	χ_3	χ_4
$R_2 R_3 R_3$	TYR	-47	-61	166	177	85	180	-
$B_3 R_1 B_3$		-74	167	176	-60	98	179	-
$B_3 B_3 B_3$		-63	162	179	-61	101	179	-
$R_2 B_3 B_3$		-70	-70	178	169	64	179	-
$R_2 R_3 R_3$	SER	-71	-54	166	57	179	-	-
$B_3 R_1 B_3$		-79	-59	178	56	178	-	-
$B_3 B_3 B_3$		-82	83	183	-60	180	-	-
$R_2 B_3 B_3$		-81	76	184	-62	180	-	-
$R_2 R_3 R_3$	LEU	-86	49	180	-52	177	186	180
$B_3 R_1 B_3$		-105	163	180	-50	174	185	180
$B_3 B_3 B_3$		-106	162	180	-49	176	185	180
$R_2 B_3 B_3$		-103	171	180	-48	178	185	180

Таблица 3. Электронные характеристики в энергетически предпочтительных конформациях трипептидной молекулы Tyr-Ser-Leu

Конформация	Полная энергия	Энергия связывания	Энергия изолированных атомов	Электронная энергия	Энергия взаимодействия ядер	Суммарный дипольный момент (Debye)
$R_2 R_3 R_3$	-120299	-5312	-114986	-968094	847795	20
$B_3 R_1 B_3$	-120244	-5257	-114986	-955210	834965	36
$B_3 B_3 B_3$	-120224	-5237	-114986	-985569	865345	32
$R_2 B_3 B_3$	-120279	-5292	-114986	-952605	832326	26

роль в реакционной способности молекулы. В настоящее время известно, что если в молекуле пептида отсутствуют другие координационно-активные заместители, то в качестве акцептора протона при образовании комплексов выступает карбонильный кислород. Связь C=O пептидной группы является эффективным акцептором протонов, обладает высокой химической активностью и способностью к образованию межмолекулярных комплексов. Сравнение рассчитанных величин дипольных моментов стабильных конформаций трипептида, согласно таблице 3, показывает, что более высоким дипольным моментом обладает полусвернутая конформация, а меньшее значение у полностью свернутой конформации, что вероятно связано с различиями структуры пептидного остова.

Расчет показал, что данные структурно похожие конформации трипептида формируют практически идентичные пространственные конформации, различающиеся лишь ориентацией боковых цепей отдельных остатков. Полученные величины энергетических и электронных параметров наиболее стабильных конформаций трипептида дают представление о предпочтительной пространственной структуре молекулы. В результате расчетов были определены и сопоставлены величины энергетических вкладов внутримолекулярных взаимодействий в низкоэнергетических конформационных состояниях молекулы. Полученные характеристики пространственной и электронной структуры противоопухолевого трипептида могут способствовать

целенаправленному поиску эффективных аналогов молекул в качестве лекарственных препаратов для стимулирования или блокирования конкретного физиологического воздействия в лечении ряда раковых заболеваний.

Список литературы / References:

1. Wang C., Wang S., Lu R., Zhao L., Zhu Z.F., Xu Q., Lv J.Q., Wang L.L., Fu Z., Lin G., Yao Z. Effects of a novel tripeptide, tyrosyleutide (YSL), on cell cycle progression of human hepatocellular carcinoma. *Anticancer Drugs*, 2009, vol. 20, no. 7, pp. 534-42, doi: 10.1097/CAD.0b013e32832ced93.
2. Wang H.Y., Yi W.J., Qin S.Y., Li C., Zhuo R.X., Zhang X.Z. Tyrosyleutide-based gene vector for suppressing VEGF expression in cancer therapy. *Biomaterials*, 2012, vol. 33, no. 33, pp. 8685-8694, doi: 10.1016/j.Biomaterials.2012.08.022.
3. Fu Z., Lu R., Li G., Zhao L., Gao W., Che X., Jian X., Zhou C., Yao Z. Tyrosyleutide tripeptide affects calcium homeostasis of human hepatocarcinoma BEL-7402 cells. *Sci. China C Life Sci.*, 2005, vol. 48, no. 5, pp. 523-530.
4. Lu R., Jia J., Bao L., Fu Z., Li G., Wang S., Wang Z., Jin M., Gao W., Yao Z. Experimental study of the inhibition of human hepatocarcinoma Bel7402 cells by the tripeptide tyrosyleutide(YSL). *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2006, vol. 57, no. 2, pp. 248-256.
5. Ding W., Zhang J., Yao Z., Lu R., Wu D., Li G., Shen Z., Sun Y., Lin G., Wang C., Zhao M., Peng S. The synthesis, distribution, and anti-hepatic cancer activity of YSL. *Bioorg Med Chem.*, 2004, vol. 12, no. 18, pp. 4989-4994.
6. Агаева Г.А., Агаева У.Т., Годжаев Н.М. Особенности пространственной организации молекул гемокинина-1 человека и гемокинина-1 мыши/крысы. *Биофизика*, 2015, т. 60, вып. 3, с. 457-470 [Agaeva G.A., Agaeva U.T., Gojaev N.M. Features of the spatial organization of human hemokinin-1 and mouse/rat hemokinin-1 molecules. *Biophysics*, 2015, vol. 60, iss. 3, pp. 457-470 (In Russ.)].
7. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature Abbreviations and symbols for description of conformation of polypeptide chains. *Pure Appl. Chem.*, 1974, vol. 40, pp. 291-308.
8. Максумов И.С., Исмаилова Л.И., Годжаев Н.М. Программа полуэмпирического расчета конформаций молекулярных комплексов на ЭВМ. *Журнал структурной химии*, т. 24, № 4, 1983, с. 147-148 [Maksumov I.S., Ismailova L.I., Gojaev N.M. The program of semi-empirical calculation of conformations of molecular complexes on a computer. *Journal of Structural Chemistry*, vol. 24, no. 4, 1983, pp. 147-148 (In Russ.)].
9. Chem 3D Pro, "Molecular Modeling and Analysis", Cambridge Soft Corporation, 875 Massachusetts, 02139 U.S.A (2005)

CONFORMATIONAL PROPERTIES AND ELECTRONIC STRUCTURE OF ANTITUMOR AGENT TYR-SER-LEU

Agaeva G.A., Agaeva U.T., Godjaev N.M.

Institute for Physical Problems, Baku State University

Z. Khalilov str., 23, Baku, AZ-1048, Azerbaijan; e-mail: gulshen@mail.ru

Received 12.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0582

Abstract. Molecular modeling methods were used to study the features of the spatial and electronic structure of the antitumor tripeptide YSL (Tyr-Ser-Leu), developed by Chinese scientists. The conformational analysis of the molecule revealed a limited set of its energetically preferable conformational states in a certain range of relative energy. The nature of the forces stabilizing the low-energy conformations of the tripeptide molecule was determined. As a result of the study, the energetically preferable ranges of dihedral angles, the energy contributions of interresidual interactions and hydrogen bonds, as well as the mutual arrangement of residues and their side chains in low-energy conformations of the tripeptide were also determined. Using the methods of molecular mechanics, the energy contributions of intramolecular interactions in low-energy conformational states of the molecule were obtained. Based on quantum-chemical calculations, the distribution of electron density and the values of dipole moments of the most optimal spatial structures of the YSL tripeptide molecule were determined. The reactivity of the tripeptide was also studied by quantum chemical calculations based on the obtained electronic characteristics of each low-energy conformation of the molecule. Using the calculated coordinates of the atoms of the energetically preferable structures of the molecule, their molecular models were built, the comparison of which makes it possible to identify the structural criteria necessary to create a drug suitable for clinical use.

Key words: antitumor agent, tripeptide, conformation, molecular mechanics method, quant-chemical calculations.