

Молекулярное моделирование глипролина Pro-Gly и его комплексов

Л.И. Исмаилова,^{1,*} Г.А. Ахвердиева,^{1,†} С.Д. Демухамедова,^{1,‡} Н.А. Ахмедов^{1,§}¹Институт Физических Проблем, Бакинский Государственный Университет, Азербайджан, AZ-1148, Баку, ул. З. Халилова 23

(Поступила в редакцию 17.04.2023; после доработки 09.06.2023; принята к публикации 01.07.2023)

В представленной работе с помощью методов молекулярного моделирования изучен глипролин Pro-Gly и его биологически активные комплексы с гепарином и с белковым комплексом антитромбин-гепарин. Данная молекула используется в качестве лекарственного препарата, проявляет антитромботическое, антикоагулянтное, иммуномодулирующее, противовоспалительное и противодиабетическое действия. В рамках молекулярной механики исследованы конформационные профили, оценена геометрия и энергия внутри- и межостаточных взаимодействий для наиболее стабильных состояний исследованного дипептида. Проведен сравнительный анализ оптимизированных методом DFT/B3LYP/6-31+G(d, p) развернутой и свернутой структур данной молекулы, рассчитаны граничные молекулярные орбитали, изучена поверхность молекулярного электростатического потенциала, определены эффективные заряды на атомах, вычислены значения дипольного момента и поляризуемости. Молекулярный докинг выявил, что свернутая структура глипролина Pro-Gly демонстрирует высокое значение аффинности при связывании как с гепарином, так и с белковым комплексом антитромбин-гепарин. Построена модель фармакофора молекулы Pro-Gly. Полученные данные создают основу для разработки эффективных аналогов глипролинов в комплексе с гепарином, которые являются более специфичными по отношению к их предполагаемой мишени — антитромбину.

PACS: 87.15.By; 87.15.Kg УДК: 577.3

Ключевые слова: глипролин Pro-Gly, молекулярная механика, DFT-расчеты, молекулярный докинг, фармакофор.

DOI: [10.55959/MSU0579-9392.78.2350701](https://doi.org/10.55959/MSU0579-9392.78.2350701)

ВВЕДЕНИЕ

Регуляторные пептиды относятся к группе нейромодуляторов, которые являются ключевым звеном механизма функционирования человеческого организма, его основным резервом. В настоящее время открываются новые семейства регуляторных пептидов, изучаются их свойства. Одним из таких семейств являются глипролины — короткие пептиды, аминокислотные последовательности которых состоят из остатков глицина (Gly) и пролина (Pro). Они имеют широкий диапазон физиологических свойств: влияют на систему свертывания крови, модулируют работу иммунной и нервной систем, обладают противовоспалительным и противодиабетическим действиями [1–3].

Из олигопептидов наиболее короткими фрагментами, проявляющими биологическую активность, являются дипептид Pro-Gly и трипептид Pro-Gly-Pro, которые обладают рядом протекторных и лечебных свойств, повышают устойчивость организма к стрессу [4–7].

Механизмы действия глипролинов и их мишени мало изучены. В работах [8–10] проведен син-

тез и выявлены антикоагулянтные и антитромботические эффекты комплекса дипептида Pro-Gly с высокомолекулярным гепарином. В клинической практике гепарин известен как лекарственное вещество, препятствующее свёртыванию крови. Применяется для профилактики и терапии тромбоэмболических заболеваний, при операциях на сердце и кровеносных сосудах, для поддержания жидкого состояния крови в аппаратах искусственного кровообращения и гемодиализа, а также для предотвращения свёртывания крови при лабораторных исследованиях. Известно, что гепарин реализует свою антикоагулянтную активность через активацию антитромбина III. Так, установлено, что гепарин увеличивает активность антитромбина, усиливая его связывание с фактором IIa (тромбином) и фактором Ха [11]. В работах [12–15] предполагается, что гепарин, обладая большим суммарным отрицательным зарядом, связывается со специфическими катионными участками антитромбина III, в результате конформация молекулы последней меняется и антитромбин III приобретает возможность инактивировать факторы свёртывания (II, IX, X, XI, XII), калликреин, сериновые протеазы.

Известно, что биологические свойства пептидных молекул определяются их химическим, пространственным и электронным строением. На сегодняшний день структурные расчеты молекулы Pro-Gly, так же, как исследования молекулярного докинга для этого дипептида, отсутствуют. В свя-

* E-mail: lara.ismailova.52@mail.ru† E-mail: hagverdiguynara@gmail.com‡ E-mail: svetlanabest@mail.ru§ E-mail: Namiq.49@bk.ru

зи с вышеизложенным для выяснения механизма действия исследуемого лекарственного препарата Pro-Gly нами было решено провести последовательный докинг: докинг данной молекулы с гепарином, а на следующем этапе — с белковым комплексом антитромбин-гепарин. Для достижения данной цели на первом этапе было проведено молекулярное моделирование самой молекулы Pro-Gly: в рамках молекулярной механики были исследованы ее конформационные профили; на основе DFT (Density Functional Theory) расчетов оптимизированы возможные для данной последовательности структуры, для которых выявлены геометрические, энергетические и электронные параметры. На следующем этапе исследования эти данные были заложены в основу расчета комплексов данного дипептида как с гепарином, так и с белковым комплексом антитромбин-гепарин; построена модель фармакофора молекулы Pro-Gly для ее взаимодействия со специфическим рецептором.

Отметим, что результаты проведенных исследований имеют большое прикладное значение в медицине и фармакологии, поскольку создают перспективы для изучения структурно-функциональных взаимосвязей и разработки синтетических аналогов глипролинов с высокой стабильностью и эффективностью действия. Полученные данные создают основу для разработки эффективных антикоагулянтных и антитромботических препаратов медицинского назначения, которые могут быть важны также для лечения больных с тяжелым течением инфекции COVID-19, у которых, как показала практика последних лет, наблюдается образование тромбов в различных органах [16].

1. МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Известно, что в растворах короткие линейные пептиды не имеют фиксированной пространственной структуры. Аминокислотная последовательность и физико-химические свойства растворителя определяют набор низкоэнергетических конформаций пептидной молекулы. Биологически активная конформация пептидной молекулы, которая реализуется при взаимодействии с рецептором, входит в набор низкоэнергетических структур, существующих в водном растворе, поэтому исследование пространственного строения и конформационных возможностей пептидных молекул представляет большой интерес [17]. В данной работе конформационные профили молекулы Pro-Gly были изучены методом теоретического конформационного анализа в рамках механической модели с помощью разработанной нами компьютерной программы [18]. Отметим, что с использованием данной программы с достаточной точностью количественно описаны пространственные структуры ряда пептидных молекул, например, в [19–22].

При минимизации потенциальная энергия вычис-

лялась как сумма независимых вкладов энергий невалентных, электростатических взаимодействий, а также энергий торсионных барьеров и водородных связей. Обозначения и отсчеты углов вращения соответствуют принятой международной номенклатуре IUPAC-IUB [23]. При изложении результатов расчета использована классификация пептидных структур на конформации, формы основной цепи и шейки пептидного скелета, подробно описанная в работе [24].

Квантово-химические методы расчета электронной структуры пептидов дают возможность рассчитать эффективные заряды на атомах, энергетические вклады электронной энергии, энергии граничных молекулярных орбиталей; изучить поверхность молекулярного электростатического потенциала; определить величину дипольного момента и поляризуемости для каждой исследуемой конформации. В данной работе геометрия характерных пространственных структур исследованного дипептида Pro-Gly была оптимизирована в рамках DFT с использованием достаточно экономичного расширенного базисного набора Попла 6-31+G(d,p), дополненного диффузными функциями для неводородных атомов и поляризационными функциями для всех атомов. Для расчетов был использован программный пакет Gaussian 09 [25] и Gauss View 6.0 [26].

Молекулярный докинг глипролинового дипептида Pro-Gly с гепарином и белковым комплексом антитромбин-гепарин был выполнен с помощью программы AutoDock Vina [27]. Интерпретация и визуализация взаимодействий лиганд-рецептор были проведены с помощью программ PyMol [28] и Discovery Studio 3.0 [29]. Отметим, что в наших предыдущих работах DFT-расчеты и молекулярный докинг были успешно использованы для исследования механизма действия небольших молекул, представляющих медицинский интерес [30–32].

2. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

2.1. Конформационные профили глипролина Pro-Gly

В проведенном расчете длины связей и валентные углы в основной и боковых цепях, валентные углы пептидной группы соответствуют значениям, приведенным в работе [33]. Аминокислота глицин не имеет боковой цепи (в боковой цепи только один атом водорода). Пролиновое кольцо предполагалось плоским, его геометрия взята из [34]. Следует отметить, что пролин является единственной протеиногенной аминокислотой со вторичным амином, поскольку атом азота присоединен как к α -углероду, так и к цепи, состоящей из трех атомов углерода, которые вместе образуют пятичленное кольцо — пирролидин, что классифицирует его как неполярную алифатическую аминокислоту при физиологическом pH.

Таблица 1. Энергетические вклады (ккал/моль) конформаций молекулы Pro-Gly

№	Шейп	Конформация	Энергия, ккал/моль						
			E_{Pro}	E_{Gly}	$E_{Pro-Gly}$	$E_{нев.}$	$E_{элст.}$	$E_{торс.}$	$E_{отн.}$
1	e	BB	-2.3	2.8	-1.8	0.9	-2.2	0.6	1.4
2		BR	-2.3	2.7	-1.0	1.4	-1.9	0.6	2.2
3		RL	-2.1	2.8	-1.7	0.7	-1.8	0.4	1.5
4		RP	-2.1	2.8	-2.7	0.2	-2.1	0.5	0.6
5	f	RB	-2.1	1.8	-2.1	-1.5	-2.1	0.5	0.0
6		RR	-2.1	2.7	-2.2	0.2	-1.7	0.5	1.0
7		BL	-2.4	2.7	-0.9	1.3	-1.9	0.6	2.1
8		BP	-2.4	2.8	-1.9	0.6	-2.2	0.6	1.2

Примечание: E_{Pro} — монопептидная энергия аминокислотного остатка пролина, E_{Gly} — монопептидная энергия аминокислотного остатка глицина, $E_{Pro-Gly}$ — энергия взаимодействия аминокислотных остатков пролина и глицина; $E_{нев.}$ — энергия невалентных взаимодействий; $E_{элст.}$ — энергия электростатических взаимодействий; $E_{торс.}$ — энергия торсионных взаимодействий; $E_{отн.}$ — относительная энергия рассчитанных конформаций.

Согласно конформационной карте Рамачандра на формы основной цепи аминокислотных остатков определяются областями R, B, L и P двугранных углов φ и ψ основной цепи. При расчете дипептидной молекулы рассматривались развернутые формы дипептидной молекулы (BB, BR, LB, LR, RL, RP-шейп e) и свернутые формы основной цепи (RB, RR, BL, BP, PR, PB-шейп f). Расчет исследуемого глипролина выполнялся на основе низкоэнергетических конформаций составляющих его монопептидов — N-ацетил-L-пролина и N-ацетил-L-глицина. Для пролина учитывались две возможные формы пептидной цепи (B-форма — $\varphi = -60^\circ$; $\psi = 130^\circ$ и R-форма — $\varphi = -60^\circ$; $\psi = -50^\circ$). Для глицина начальные приближения формировались из четырех низкоэнергетических состояний пептидного остова (R-форма — $\varphi = -90^\circ$, $\psi = -90^\circ$; B-форма — $\varphi = -90^\circ$, $\psi = 100^\circ$; L-форма — φ , $\psi = 90^\circ$ и P-форма основной цепи — $\varphi = 90^\circ$, $\psi = -90^\circ$). Также для Gly в расчет были включены 4 комбинации граничных начальных приближений углов φ , ψ (гр1: $\varphi = 90^\circ$, $\psi = 0^\circ$; гр2: $\varphi = -90^\circ$, $\psi = 180^\circ$; гр3: $\varphi = 90^\circ$, $\psi = 0^\circ$; гр4: $\varphi = 90^\circ$, $\psi = 180^\circ$). Углу ω пептидной группы было задано значение 180° . Как видим, конформационные свойства исследованной дипептидной молекулы определяются углами только основной цепи остатков пролина и глицина. Всего для дипептида Pro-Gly было составлено 16 начальных приближений. Расчет обнаружил все возможные для дипептидной молекулы конформационные состояния, выявил низкоэнергетические конформации. Для каждой конформации рассчитывались энергетические вклады невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий, а также оценивалась энергия внутримолекулярных монопептидных и дипептидных взаимодействий (табл. 1).

Как видно из представленных результатов, для данной дипептидной молекулы в пространстве реализуются конформации как с развернутой, так

и свернутой формой основной цепи. Наибольший вклад в энергию исследуемой молекулы вносят электростатические взаимодействия. Дисперсионные взаимодействия являются также важным фактором стабилизации пространственной структуры дипептидной молекулы. Так, основной стабилизирующий вклад в энергию данной последовательности вносят межостаточные взаимодействия между участками основной цепи и боковыми цепями пролина и глицина. Глобальной конформацией данной молекулы является RB ($E_{общ} = -2.1$ ккал/моль) со свернутой формой основной цепи. Именно от этой конформации была отсчитана относительная энергия остальных структур. Это дало нам картину энергетического распределения рассчитанных конформаций молекулы. Среди конформаций с развернутой формой основной цепи данной молекулы самой низкоэнергетической является конформация RP ($E_{общ} = 1.5$ ккал/моль). Значения двугранных углов ω Pro, φ Pro, ψ Pro, ω Gly, φ Gly, ψ Gly указанных наиболее стабильных развернутой и свернутой конформаций исследуемого дипептида составляют 178° , -60° , -55° , 178° , 81° , -73° , и 179° , -60° , -55° , 177° , -82° , 71° соответственно. Именно геометрия этих двух структур дипептида Pro-Gly послужила основой для последующих DFT-расчетов.

2.2. Структурный анализ глипролина Pro-Gly

Две указанные выше характерные низкоэнергетические конформации молекулы Pro-Gly, выявленные в результате конформационного анализа, были оптимизированы квантово-химическим методом с использованием уровня теории DFT/B3LYP с базисным набором 6-31+G(d, p). На рис. 1 представлена оптимизированная молекулярная геометрия развернутой и свернутой структур глипролинового дипептида Pro-Gly. Как видно из представленного рисунка, в свернутой структуре, в отличие от развер-

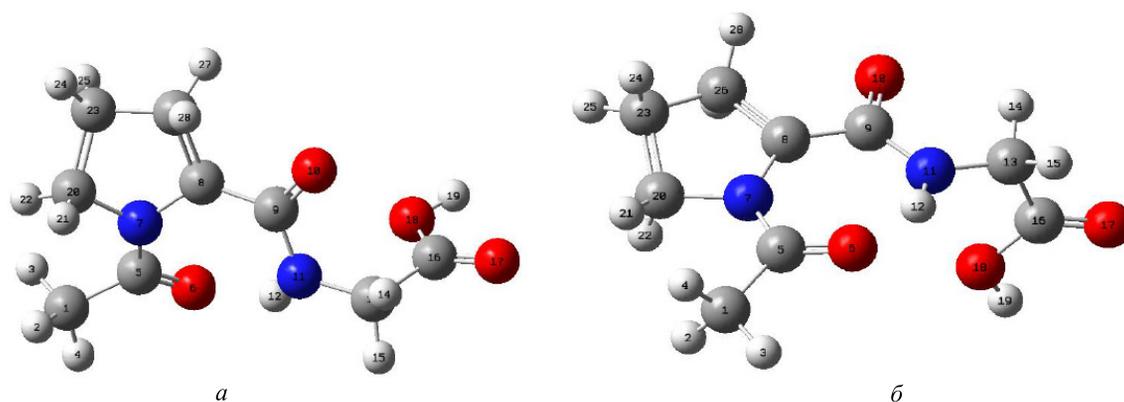


Рис. 1. Оптимизированные развернутая (а) и свернутая (б) структуры глипролина Pro-Gly, рассчитанные методом DFT/B3LYP/6-31+G(d, p)

Таблица 2. Значения длин валентных связей в оптимизированных структурах глипролина Pro-Gly

Длина связи	В развернутой структуре, Å	В свернутой структуре, Å	Из эксперим. данных, Å [35, 36]	Длина связи	В развернутой структуре, Å	В свернутой структуре, Å	Из эксперим. данных, Å [35, 36]
C ₁ H ₂	1.08	1.09	1.09	C ₁₃ H ₁₄	1.08	1.09	1.00
C ₁ H ₃	1.08	1.09	1.09	C ₁₃ H ₁₅	1.08	1.09	1.00
C ₁ H ₄	1.08	1.09	1.09	C ₁₃ C ₁₆	1.52	1.52	1.53
C ₁ H ₅	1.51	1.52	1.53	C ₁₆ O ₁₇	1.19	1.21	1.23
C ₅ O ₆	1.21	1.23	1.23	C ₁₆ O ₁₈	1.32	1.35	1.32
C ₅ N ₇	1.36	1.38	1.32	O ₁₈ H ₁₉	0.95	0.97	1.00
N ₇ C ₈	1.42	1.41	1.45	C ₂₀ H ₂₁	1.09	1.10	1.09
N ₇ C ₂₀	1.47	1.49	1.46	C ₂₀ H ₂₂	1.08	1.09	1.09
C ₈ C ₉	1.48	1.47	1.47	C ₂₀ C ₂₃	1.53	1.53	1.47
C ₈ C ₂₆	1.51	1.51	1.53	C ₂₃ H ₂₄	1.08	1.09	1.09
C ₉ O ₁₀	1.21	1.24	1.23	C ₂₃ H ₂₅	1.09	1.09	1.09
C ₉ N ₁₀	1.35	1.36	1.36	C ₂₃ C ₂₆	1.53	1.53	1.50
N ₁₁ H ₁₂	1.00	1.02	1.00	C ₂₆ H ₂₇	1.08	1.09	1.09
N ₁₁ C ₁₃	1.44	1.44	1.45	C ₂₆ H ₂₈	1.09	1.10	1.09

нутой, C-концевая карбоксильная группа повернута в сторону карбонильной группы C₅O₆ и амидной группы N₁₁H₁₂, что способствует более эффективным контактам с ними.

Мы оценили геометрию оптимизированных структур дипептидной молекулы глипролина Pro-Gly. В табл. 2 и 3 приведены рассчитанные значения длин связей и валентных углов аминокислотных остатков в характерных структурах данной молекулы, а также для сравнения их значения для соответствующих монопептидов, взятые из экспериментальных работ [35, 36]. Как видно из представленных данных, в результате оптимизации не наблюдаются заметных изменений длин связей, но имеют место незначительные различия рассчитанных значений некоторых валентных углов составляющих монопептидов этой молекулы относительно их значений, взятых из кристаллографических данных. Рассчитанные

значения двугранных углов оптимизированных структур исследуемого дипептида приведены в табл. 4.

Оценка межатомных расстояний позволила охарактеризовать размеры глипролиновой молекулы Pro-Gly. Анализ проекций векторов межатомных расстояний на горизонтальную и вертикальную оси показал, что для свернутой пространственной структуры исследуемого дипептида длина и ширина молекулы составляют (O₁₇H₂₄) 8.97 Å и (H₄H₂₇) 6.54 Å, а для развернутой структуры значения этих величин составляют, соответственно, (O₁₇H₂₄) 8.67 Å и (H₄H₂₇) 6.38 Å. Эти геометрические параметры были учтены на следующем этапе исследования при проведении молекулярного докинга исследуемой молекулы со специфическим рецептором. Следует отметить влияние внутримолекулярных водородных связей на геометрию глипролиновой дипептидной молекулы Gly-Pro. Так, наблюда-

Таблица 3. Значения валентных углов в оптимизированных структурах глипролина Pro-Gly

Валентные углы	В развернутой структуре, град.	В свернутой структуре, град.	Из эксперим. данных, град. [35, 36]	Валентные углы	В развернутой структуре, град.	В свернутой структуре, град.	Из эксперим. данных, град. [35, 36]
H ₂ C ₁ H ₃	108.4	108.0	108.1	H ₁₄ C ₁₃ C ₁₆	106.5	106.5	109.7
H ₂ C ₁ H ₄	109.8	109.4	108.1	H ₁₅ C ₁₃ C ₁₆	106.5	106.3	109.7
H ₂ C ₁ C ₅	112.3	112.8	113.0	C ₁₃ C ₁₆ O ₁₇	122.6	123.0	120.5
H ₃ C ₁ H ₄	108.5	108.2	108.1	C ₁₃ C ₁₆ O ₁₈	114.3	114.2	115.0
H ₃ C ₁ C ₅	110.4	111.2	111.3	O ₁₇ C ₁₆ O ₁₈	122.9	122.8	120.5
H ₄ C ₁ C ₅	107.4	107.1	107.2	C ₁₆ O ₁₈ H ₁₉	108.6	106.4	111.0
C ₁ C ₅ O ₆	119.9	119.7	120.5	N ₇ C ₂₀ H ₂₁	109.6	109.0	109.6
C ₁ C ₅ N ₇	117.7	117.3	115.0	N ₇ C ₂₀ H ₂₂	111.4	110.8	109.6
O ₆ C ₅ N ₇	122.4	123.0	122.0	N ₇ C ₂₀ C ₂₃	103.2	103.6	104.0
C ₅ N ₇ C ₈	126.0	129.8	126.0	H ₂₁ C ₂₀ H ₂₂	108.5	108.6	109.0
C ₅ N ₇ C ₂₀	123.9	121.1	122.0	H ₂₁ C ₂₀ C ₂₃	111.3	111.6	109.0
C ₈ N ₇ C ₂₀	108.7	109.1	126.0	H ₂₂ C ₂₀ C ₂₃	112.8	113.1	109.0
N ₇ C ₈ C ₉	128.8	132.7	113.0	C ₂₀ C ₂₃ H ₂₄	112.2	112.0	109.6
N ₇ C ₈ C ₂₆	108.8	109.1	111.4	C ₂₀ C ₂₃ H ₂₅	109.5	109.7	109.6
C ₉ C ₈ C ₂₆	117.9	116.8	113.0	C ₂₀ C ₂₃ C ₂₆	103.2	103.0	109.6
C ₈ C ₉ O ₁₀	117.4	116.7	120.5	H ₂₄ C ₂₃ H ₂₅	108.1	108.1	108.0
C ₈ C ₉ N ₁₁	120.7	121.1	115.0	H ₂₄ C ₂₃ C ₂₆	113.1	113.4	111.4
O ₁₀ C ₉ N ₁₁	121.9	122.2	120.5	H ₂₅ C ₂₃ C ₂₆	110.6	110.5	110.8
C ₉ N ₁₁ C ₁₂	116.6	117.7	116.0	C ₈ C ₂₆ C ₂₃	103.8	104.2	106.6
C ₉ N ₁₁ C ₁₃	118.8	120.9	126.0	C ₈ C ₂₆ H ₂₇	111.5	111.3	110.8
H ₁₂ N ₁₁ C ₁₃	118.5	121.2	115.0	C ₈ C ₂₆ H ₂₈	109.8	109.8	110.8
N ₁₁ C ₁₃ H ₁₄	110.7	110.7	111.0	C ₂₃ C ₂₆ H ₂₇	113.5	113.9	113.0
N ₁₁ C ₁₃ H ₁₅	108.5	108.8	111.0	C ₂₃ C ₂₆ H ₂₈	111.7	111.8	113.0
N ₁₁ C ₁₃ C ₁₆	116.5	116.3	116.0	H ₂₇ C ₂₆ H ₂₈	106.7	105.7	109.0
H ₁₄ C ₁₃ H ₁₅	107.7	107.7	109.0				

Таблица 4. Значения двугранных углов оптимизированных структур глипролина Pro-Gly

Двугранные углы		Значения, град.	
		Развернутая структура	Свернутая структура
H ₁ C ₅ N ₇ C ₈	ω Pro	-177.7	175.9
C ₅ N ₇ C ₈ C ₉	φ Pro	-50.0	-24.1
N ₇ C ₈ C ₉ N ₁₁	ψ Pro	18.1	13.7
C ₈ C ₉ N ₁₁ C ₁₃	ω Gly	177.2	-177.5
C ₉ N ₁₁ C ₁₃ N ₁₆	φ Gly	-69.6	99.8
N ₁₁ C ₁₃ C ₁₆ O ₁₈	ψ Gly	-17.3	-9.4

ется наличие сильной водородной связи O₆...H₁₂ (1.75 Å) и системы слабых водородных связей O₁₀...H₂₇ (2.64 Å), O₁₀...H₂₈ (2.74 Å), H₁₅...O₁₀ (2.35 Å) в свернутой структуре глипролинового дипептида. В развернутой структуре формируются также сильная водородная связь O₆...H₁₂ (1.90 Å) и слабые водородные связи O₁₀...H₂₈ (2.65 Å), O₁₀...H₁₄ (2.58 Å), N₇...H₁₂ (2.84 Å).

2.3. Молекулярный электростатический потенциал и атомные заряды молекулы глипролина Pro-Gly

Поверхность молекулярного электростатического потенциала (МЭП) для двух исследованных характерных структур глипролина Pro-Gly была получена также из расчетов DFT/B3LYP/6-31+G(d,p) и визуализирована с помощью программы GaussView на рис. 2.

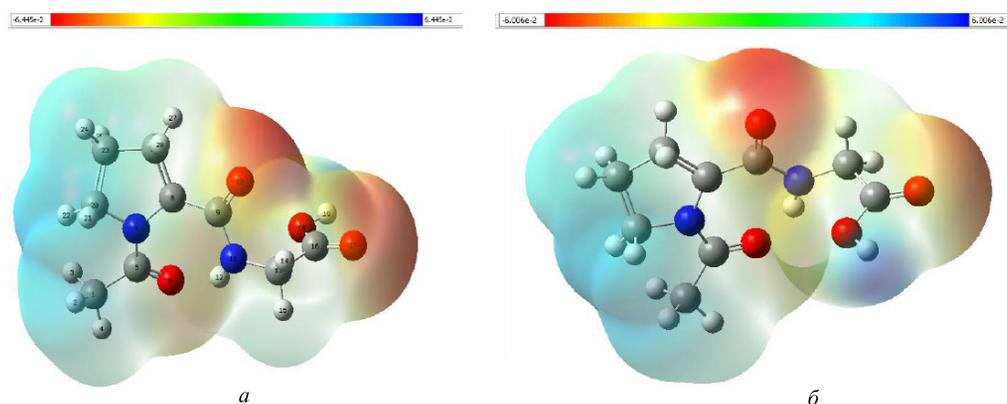


Рис. 2. Молекулярный электростатический потенциал для оптимизированных развернутой (а) и свернутой (б) структур глипролина Pro-Gly

Наиболее нуклеофильные области (отрицательный электростатический потенциал) показаны красным цветом, а наиболее электрофильные области (положительный электростатический потенциал) — синим цветом.

Как видно из представленных карт, области с наибольшим отрицательным потенциалом локализованы на атомах кислорода O_{10} и O_{17} карбонильных групп молекулы: можно предположить, что эти участки способны участвовать в электростатических взаимодействиях с положительно заряженными остатками рецептора. Области с наибольшим положительным потенциалом расположены на водородах метильной группы N-концевой части цепи молекулы и двух метиленовых групп пирролидина, к тому же в свернутой структуре наибольший положительный потенциал наблюдается на водороде H_{19} C-концевой карбоксильной группы. Эти участки молекулы могут играть важную роль в образовании водородных связей с электроотрицательными аминокислотными остатками рецептора. Они представляют интерес для выявления биологической активности молекулы Pro-Gly.

Выявлено, что распределение электронной плотности влияет на заряды атомов глипролина, которые были рассчитаны в приближении Милликена [37]. Как видно из табл. 5, атом N_7 в боковой цепи пролина и N_{11} амидной группы основной цепи глицина, атомы O_{10} карбонильной группы основной цепи пролина, атомы O_{17} и O_{18} C-концевой карбоксильной группы, атомы C_{20} , C_{23} и C_{26} пирролидинового кольца имеют большой отрицательный заряд; атом C^α пролина, атом C-концевой карбоксильной группы имеют большой положительный заряд. Выявленные участки могут быть донорами и акцепторами для возможных взаимодействий с активными остатками рецептора.

Следует отметить, что заряды на атомах в свернутой и развернутой структурах глипролиновой дипептидной молекулы заметно различаются. Как видно из представленных данных, сворачивание пептидной цепи молекулы приводит к значительному смещению положительного заряда в сторону

атомов C_1 , C_9 , C_{16} , C_{20} , C_{23} , H_{19} , H_{12} с сопутствующим заметным смещением отрицательного заряда в сторону атомов O_6 , N_7 , C_5 , C_8 , N_{11} , O_{17} , O_{18} , H_{15} .

2.4. Электронные параметры и молекулярные свойства глипролина Pro-Gly

Электронные параметры и физические величины, характеризующие молекулярные свойства глипролина, были получены из расчетов методом DFT и представлены в табл. 6. Известно, что граничные молекулярные орбитали играют важную роль в электрических и оптических свойствах, а также в химических реакциях. Энергии высшей занятой молекулярной орбитали (ВЗМО) и нижней вакантной молекулярной орбитали (НВМО) используются для выяснения информации о переносе заряда внутри молекулы. На рис. 3 представлены распределения плотности граничных молекулярных орбиталей молекулы глипролина Pro-Gly.

ВЗМО и НВМО являются орбиталями, участвующими в химической реакционной способности, поскольку они наиболее доступны для электрофилов и нуклеофилов соответственно. ВЗМО представляет собой способность отдавать электрон, а НВМО действует как акцептор электронов. Молекулярные свойства, описывающие глобальную реакционную способность, локальную селективность исследуемой молекулы, такие как потенциал ионизации $I (-E_{ВЗМО})$, сродство к электрону $A (-E_{НВМО})$ могут быть оценены из значений энергии ВЗМО и НВМО, основываясь на теореме Купманса [38–40]. Разность энергий между ВЗМО и НВМО орбиталей является важным свидетелем стабильности структуры и может быть использована для прогнозирования прочности и устойчивости молекулы. Как видно из табл. 6, свернутая структура глипролина имеет сравнительно большее значение энергетической щели (ΔE) как для α -орбитали, так и для β -орбитали по сравнению с развернутой структурой. Тут же приведены значения полного дипольного момента и поляризуемости молекулы. Отме-

Таблица 5. Атомные заряды в оптимизированных структурах глипролина Pro-Gly

Атом	Заряд (e)	Атом	Заряд (e)	Атом	Заряд (e)	Атом	Заряд (e)
Развернутая структура				Свернутая структура			
C ₁	-0.491	H ₁₅	0.216	C ₁	-0.293	H ₁₅	0.166
H ₂	0.168	C ₁₆	0.494	H ₂	0.152	C ₁₆	0.588
H ₃	0.176	O ₁₇	-0.457	H ₃	0.159	O ₁₇	-0.542
H ₄	0.191	O ₁₈	-0.455	H ₄	0.185	O ₁₈	-0.574
C ₅	0.570	H ₁₉	0.394	C ₅	0.483	H ₁₉	0.411
O ₆	-0.507	C ₂₀	-0.166	O ₆	-0.604	C ₂₀	-0.157
N ₇	-0.114	H ₂₁	0.163	N ₇	-0.245	H ₂₁	0.139
C ₈	0.374	H ₂₂	0.149	C ₈	0.297	H ₂₂	0.132
C ₉	-0.222	C ₂₃	-0.379	C ₉	-0.162	C ₂₃	-0.140
O ₁₀	-0.568	H ₂₄	0.154	O ₁₀	-0.595	H ₂₄	0.143
N ₁₁	-0.305	H ₂₅	0.163	N ₁₁	-0.400	H ₂₅	0.143
H ₁₂	0.373	C ₂₆	-0.269	H ₁₂	0.405	C ₂₆	-0.251
C ₁₃	-0.039	H ₂₇	0.185	C ₁₃	-0.032	H ₂₇	0.167
H ₁₄	0.174	H ₂₈	0.180	H ₁₄	0.191	H ₂₈	0.168

Таблица 6. Электронные параметры оптимизированных структур глипролина Pro-Gly

Физические величины	Развернутая структура	Свернутая структура
Электронная энергия, эВ	-20593.667	-20714.527
$E_{\text{ВЗМО}}$ орбитали, эВ	-11.944	-5.266
$E_{\text{НВМО}}$ α -орбитали, эВ	-8.926	-0.588
ΔE α -орбитали, эВ	3.017	4.678
$E_{\text{ВЗМО}}$ орбитали, эВ	-11.349	-6.675
$E_{\text{НВМО}}$ β -орбитали, эВ	-10.306	-2.662
ΔE β -орбитали, эВ	1.043	4.013
Дипольный момент, Дебай	7.814	7.690
Поляризуемость	3143.640	3756.721

Таблица 7. Сравнение энергии связывания глипролина Pro-Gly с гепарином

Мод	Аффинность, ккал/моль	Отклонения от наилучшего мода, Å	
		Нижняя граница среднеквадратичного отклонения, <i>rmsd l.b.</i>	Верхняя граница среднеквадратичного отклонения, <i>rmsd u.b.</i>
1	-4.0	0.000	0.000
2	-3.9	2.021	4.673
3	-3.9	2.601	5.583
4	-3.8	2.264	5.009
5	-3.7	2.229	4.701
6	-3.7	1.623	3.040
7	-3.6	1.952	2.433
8	-3.5	2.545	5.156
9	-3.5	2.520	5.020

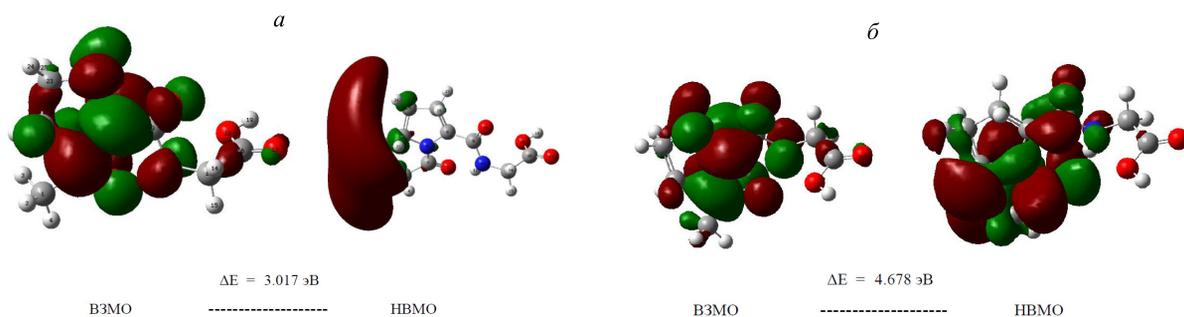


Рис. 3. Молекулярные ВЗМО и НВМО α -орбитали для оптимизированных развернутой (*a*) и свернутой (*б*) структур глипролина Pro-Gly

тим, что перераспределение атомных зарядов в результате сворачивания пептидной цепи отразилось на заметном увеличении поляризуемости молекулы с сопутствующим уменьшением дипольного момента. Рассчитанные физические величины указывают на то, что свернутая структура соответствует более устойчивому состоянию исследованной молекулы, чем развернутая.

3. МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ

3.1. Молекулярный докинг глипролина Pro-Gly с гепарином

Гепарин состоит из повторяющихся звеньев, которые построены из остатков уроновых кислот (D-глюкуроновой или L-идуруновой) и сульфатированных и ацетилированных аминокислот (N-ацетилглюкозамина и N-ацетилгалактозамина). Благодаря наличию значительного количества отрицательно заряженных сульфатных и карбоксильных групп молекула гепарина представляет собой сильный природный полианион, способный к образованию комплексов со многими белковыми и синтетическими соединениями поликатионной природы, несущими суммарный положительный заряд.

Для проведения молекулярного докинга была взята структура гепарина dp36 (где dp означает степень полимеризации), определенная с помощью комбинации аналитического ультрацентрифугирования, синхротронного рентгеновского рассеяния в растворах и ограниченного моделирования (<http://www.rcsb.org>, PDB ID: 3IRL) [41]. В указанной работе установлено, что гепарин в растворе имеет полужесткую и растянутую конформацию, которая предварительно сформирована для его оптимального связывания с белковыми мишенями без значительных конформационных изменений. Для моделирования докинга были взяты и подготовлены к стыковке оптимизированные методом DFT/B3LYP/6-31+G(d,p) структуры дипептида Pro-Gly. В табл. 7 представлены параметры девяти поз лиганда в минимизированной структуре комплекса с гепарином. Рассчитанные энергия связывания и среднеквадратичные значения откло-

нений (rmsd) позволяют сделать вывод, что глипролин Pro-Gly является потенциально селективным лигандом для гепарина. Было показано, что в сравнении с развернутой свернутая структура дает более высокое значение аффинности связывания (-4.0 ккал/моль), расположившись в небольшом изгибе в полужесткой структуре гепарина (рис. 4).

Выявлено, что структура самого лиганда претерпевает лишь незначительное смещение от своего исходного положения и каких-либо значительных конформационных изменений не наблюдается. Установлено, что сильная внутримолекулярная водородная связь $O_6 \dots H_{12}$, стабилизирующая структуру исследуемого дипептида, сохраняется в процессе минимизации при комплексобразовании, в то время как происходит разрыв слабых водородных связей с последующим формированием межмолекулярных электростатических контактов и водородных связей с остатками уроновых кислот и аминокислотами. На представленном рисунке наиболее важные контакты показаны пунктирными линиями, а их значения даны в Å.

3.2. Молекулярный докинг глипролина Pro-Gly с белковым комплексом антитромбин-гепарин

Известно, что антитромбин неактивен в качестве ингибитора коагуляционных протеаз до тех пор, пока он не связывается с боковыми цепями гепарина, которые выстилают микроциркуляторное русло. Связывание специфически происходит с основным пентасахаридом, присутствующим как в гепаранах, так и в их терапевтическом производном гепарине. Сопутствующее конформационное изменение антитромбина проявляется в структуре 2.9 Å димера латентного и активного антитромбинов, каждый из которых находится в комплексе с высокоаффинным пентасахаридом [42]. Ингибирующая активация возникает в результате сдвига основного слоя молекулы от частично шестичепочечной к пятичепочечной форме с экструзией петли реактивного центра для придания более открытой ориентации. Происходит наклон и удлинение спирали D с образованием двухвитковой спирали P между

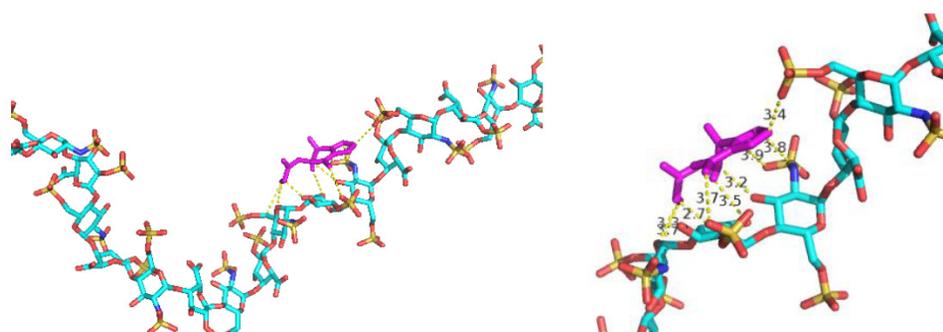


Рис. 4. Минимизированная структура комплекса глипролин Pro-Gly — гепарин. Остатки лиганда показаны пурпурным цветом, остатки гепарина окрашены по цветам составляющих элементов

Таблица 8. Сравнение энергии связывания глипролина Pro-Gly с белковым комплексом антитромбин-гепарин

Мод	Аффинность, ккал/моль	Отклонения от наилучшего мода, Å	
		Нижняя граница среднеквадратичного отклонения, <i>rmsd l.b.</i>	Верхняя граница среднеквадратичного отклонения, <i>rmsd u.b.</i>
1	-4.1	0.000	0.000
2	-3.9	7.977	8.841
3	-3.8	2.074	2.775
4	-3.6	1.849	2.538
5	-3.6	2.338	5.690
6	-3.6	1.458	2.773
7	-3.6	3.750	5.767
8	-3.4	7.520	8.710
9	-3.4	2.444	5.211

спиралями С и D. Сопутствующие конформационные изменения в месте связывания гепарина объясняют как начальное прочное связывание антитромбина с гепаранами, так и последующее высвобождение комплекса антитромбин-протеаза в кровотоке. Установлено, что гепариновый пентасахарид связывается водородными связями своих сульфатов и карбоксилатов с Arg129 и Lys125 в D-спирали, с Arg46 и Arg47 в A-спирали, с Lys114 и Glu113 в P-спирали и к Lys11 и Arg13 в щели, образованной аминоконцом. Это четкое определение сайта связывания обеспечило структурную основу для проведения нами молекулярного докинга исследованного лиганда глипролин Pro-Gly с белковым комплексом антитромбин-гепарин, трехмерная кристаллическая 3D-структура которого была взята из банка данных белков (<http://www.rcsb.org>. PDB ID: 1AZX) [42]. Молекулы воды были удалены и рецептор был подготовлен для стыковки путем добавления только полярных водородов. Заряды атомов рецептора были рассчитаны по Коллману [43]. Оптимизированные методом DFT/B3LYP/6-31+G(d,p) развернутая и свернутая структуры дипептида Pro-Gly были подготовлены к стыковке для проведения докинга в газовой фазе. Парциальные за-

ряды лиганда Pro-Gly рассчитывали по методу Гастейгера [44].

В табл. 8 представлены параметры девяти поз лиганда в минимизированной структуре комплекса с антитромбин-гепарином. Рассчитанные энергия связывания и среднеквадратичные значения отклонений (*rmsd*) позволяют сделать вывод, что глипролин Pro-Gly является потенциально селективным лигандом для выбранного белкового комплекса антитромбин-гепарин. Показано, что свернутая структура лиганда, как и в комплексе с гепарином, демонстрирует более высокое значение аффинности (-4.1 ккал/моль), хорошо дополняет расщелину на поверхности рецептора и эффективно взаимодействует с остатками как уроновых кислот и аминокислот гепарина, так и с аминокислотными остатками антитромбина. Отметим, что при хорошем связывании лиганда и рецептора, являющихся пептидными молекулами, значение энергии связывания бывает -6—-7 ккал/моль, а то и ниже. Поскольку в наших исследованиях в молекулярном докинге участвует гепарин, не имеющий пептидную природу, состоящий из остатков уроновых кислот и аминокислот, энергия связывания исследуемого дипептида в рассмотренных комплексах имеет

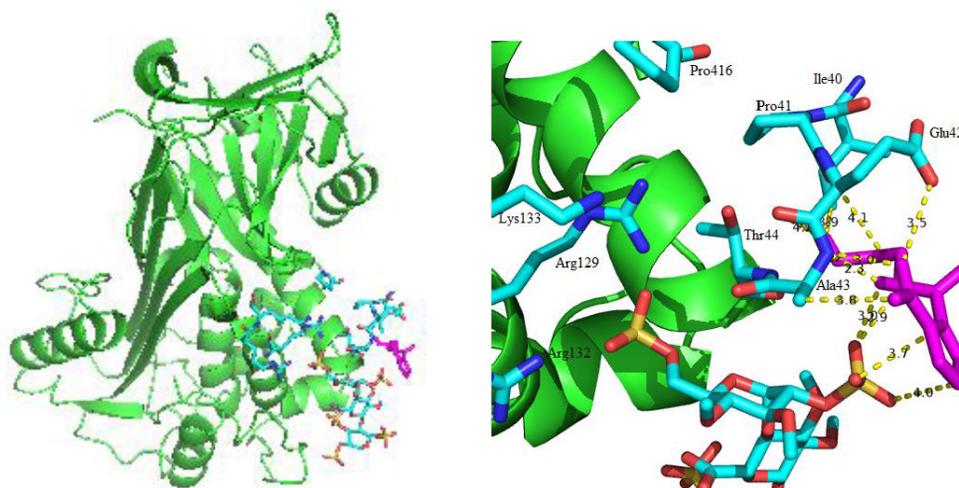


Рис. 5. Докинг глипролина Pro-Gly с белковым комплексом антитромбин-гепарин. Остатки лиганда показаны пурпурным цветом, цепь белка показана зеленым цветом, а его остатки, которые контактируют с лигандом и гепарином (на расстоянии $< 5 \text{ \AA}$), а также остатки самого гепарина окрашены по цветам составляющих элементов

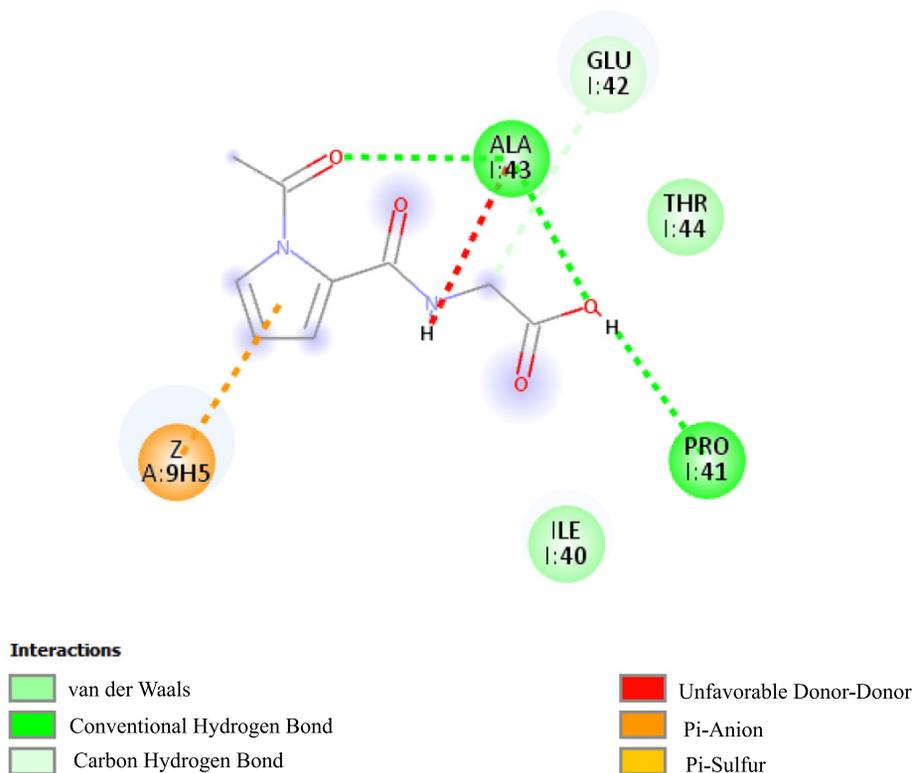


Рис. 6. Визуализация лиганд-рецепторных взаимодействий на 2D-диаграмме

не очень высокое абсолютное значение (от -4 до -4.1 ккал/моль)

На рис. 5 показаны наиболее важные контакты лиганда Pro-Gly как с гепарином, так и с антитромбином.

Чтобы выявить стабильность исследованного комплекса, были проанализированы важные межмолекулярные контакты. Мы обнаружили, что лиганд связывается с рецептором посредством непо-

лярных, полярных, ионных контактов и водородных связей. Наиболее важные контакты показаны пунктирными линиями на рис. 5, а их значения даны в \AA . Выявлено, что остатки Ile40, Pro41, Glu42, Ala43, Thr44 A-спирали антитромбина важны для связывания с лигандом Pro-Gly, и эти остатки, вероятно, влияют на формирование биологически активной конформации антитромбина и устойчивость всего комплекса. На рис. 6 представле-

на 2D-диаграмма лиганд-рецепторных взаимодействий. Отметим, что наиболее важные контакты на рис. 4–6 обозначены пунктирными линиями. Карбонильная группа N концевой части молекулы лиганда, атомы O и H C-концевой карбоксильной группы, амидная группа NH основной цепи остатка Glu молекулы, а также пирролидиновое кольцо остатка Pro лиганда позиционируются для участия в невалентных, электростатических взаимодействиях и водородных связях с указанными выше остатками рецептора.

Рассчитаны расстояния между фармакофорными участками лиганда и взаимодействующими с ними остатками активного центра рецептора. Метиленовые группы пирролидина боковой цепи пролинового остатка участвуют в полярных взаимодействиях с двумя кислородами концевой сульфатной группы гепарина на расстоянии 3.7 Å и 4.0 Å; более того, данный участок лиганда наиболее активно вовлечен в межмолекулярное π -стекинг взаимодействия с Pro41 (4.1 Å) A-спирали антитромбина. В свою очередь указанный остаток рецептора участвует в π -стекинг взаимодействиях с удаленным по цепи остатком Pro416 D-спирали этого белка. Отметим, что между H атомом C-концевой карбоксильной группы лиганда и кислородом основной цепи остатка Pro41 рецептора наблюдается водородная связь. Третий кислород концевой сульфатной группы гепарина взаимодействует с атомами амидной группы основной цепи лиганда на расстоянии 2.9 Å и 3.0 Å. Водороды метиленовой группы основной цепи лиганда взаимодействуют с кислородами основной цепи остатков Glu42, на расстоянии 3.5 Å и 3.1 Å. Выявлено, что остаток Ala43 участвует в обширных неполярных контактах с остатком Glu лиганда, а также с сахарными кольцами гепарина. Между кислородами концевой карбоксильной группы, а также карбонильной группы, предшествующей в цепи остатку пролина, и водородом амидной группы основной цепи остатка Ala43 формируются водородные связи на расстоянии 3.8 Å и 2.3 Å. C-концевая карбоксильная группа COOH молекулы лиганда находится в центре сети полярных и неполярных контактов. Данный участок лиганда участвует в эффективных взаимодействиях с остатками Pe40 и Thr44 рецептора. Показано, что расстояния между ближайшими атомами COOH группы лиганда и атомами боковых цепей остатков Pe40 и Thr44 составляют 3.9 и 4.1 Å соответственно. Остатки D-глюкуроновой или L-идуроновой кислот и аминокислот участвуют в межмолекулярных ионных и полярных контактах, образуя солевой мостик и водородные связи с гуанидиновой группой остатков Arg129, Arg132 и с аминогруппой алифатической боковой цепи остатка Lys133 D-спирали антитромбина. Наши расчеты показали, что остатки Glu113 и Lys114 P-спирали белка не являются важными для лиганд-рецепторных взаимодействий, но они стабилизируют положения других остатков рецептора, которые важны для межмолекулярных взаимодействий. Так, указанные остатки

участвуют в ионных контактах с удаленными по цепи противоположно заряженными остатками, а также взаимодействуют с гепарином. Как видно из представленных результатов, комплекс демонстрирует идеальную комплементарность между фармакофорными группами глипролина и аминокислотными остатками антитромбина, а также остатками гепарина, предположительно важными для лиганд-рецепторных взаимодействий. Полученные данные позволяют оценить свернутую структуру глипролина как биоактивную конформацию для проявления важных физиологических функций.

4. ФАРМАКОФОРНАЯ МОДЕЛЬ ГЛИПРОЛИНА PRO-GLU ДЛЯ ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С БЕЛКОВЫМ КОМПЛЕКСОМ АНТИТРОМБИН-ГЕПАРИН

На основании полученных данных была предложена модель фармакофора глипролина Pro-Glu для его взаимодействия со специфическим рецептором — с белковым комплексом антитромбин-гепарин (рис. 7).

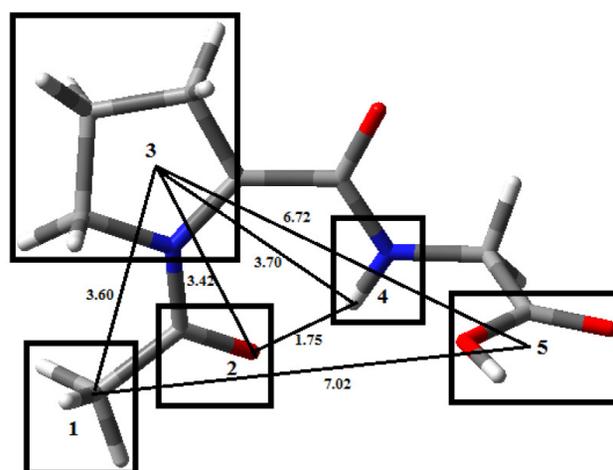


Рис. 7. Предлагаемый фармакофор глипролина Pro-Glu для его взаимодействия с белковым комплексом антитромбин-гепарин (расстояния между центрами фармакофорных фрагментов указаны в Å)

Данный фармакофор содержит пять фрагментов. Фармакофорный фрагмент 1 представляет собой метильную группу, которая может участвовать в ионных контактах и формировать H-связи с отрицательно заряженными остатками гепарина и антитромбина. Фармакофорный фрагмент 2 представляет собой карбонильную группу, которая способна формировать ионные контакты с положительно заряженными участками активного центра рецептора. Фармакофорный фрагмент 3 представляет собой пирролидиновое кольцо остатка Pro, которое способно участвовать в неполярных взаимодействиях с остатками рецептора. Фармакофорный

фрагмент 4 представляет собой амидную группу, которая может участвовать в ионных контактах и формировать Н-связи с отрицательно заряженными аминокислотными остатками как гепарина, так и антитромбина. Фармакофорный фрагмент 5 — карбоксильная группа С-концевой части этой молекулы, которая может участвовать в неполярных и полярных контактах с остатками антитромбина. Мы охарактеризовали взаимное расположение фармакофорных фрагментов молекулы Pro–Gly по расстояниям между их центрами. В качестве центра фармакофорного фрагмента 1 был взят С-атом метильной группы; центром фармакофорного фрагмента 2 был принят атом О карбонильной группы N-концевой части молекулы, центром фармакофорного фрагмента 3 взят центр масс пирролидина боковой цепи пролина; центром фармакофорного фрагмента 4 был принят атом Н амидной группы основной цепи глицина; центром фармакофорного фрагмента 5 принят центр масс С-концевой карбоксильной группы молекулы.

Таким образом, предложенный фармакофор состоит из донорного и акцепторного центров для формирования водородных связей, пирролидинового кольца, а также катионных и анионных участков, участвующих во взаимодействии как с гепарином, так и антитромбином. Данная модель может быть использована для разработки эффективных аналогов глипролинов в комплексе с гепарином, ко-

торые являются более специфичными по отношению к их предполагаемой мишени — антитромбину.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании глипролин Pro–Gly был изучен с помощью молекулярной механики с последующими квантовохимическими расчетами методом DFT/B3LYP/6-31+G(d,p) и молекулярным докинггом. Была оценена и сравнена молекулярная геометрия оптимизированных структур дипептидной молекулы. Рассчитаны граничные молекулярные орбитали, изучена поверхность молекулярного электростатического потенциала, определены эффективные заряды на атомах глипролина, вычислены значения дипольного момента и поляризуемости. Выявлено, что оптимизированная свернутая структура исследованного дипептида демонстрирует высокое значение аффинности при связывании как с гепарином, так и с белковым комплексом антитромбин–гепарин. На основе полученных данных построена модель фармакофора молекулы Pro–Gly для ее взаимодействия со специфическим рецептором. Полученные данные создают основу для разработки эффективных антикоагулянтных и антитромботических препаратов медицинского назначения.

- [1] *Рогозинская Э.Я., Ляпина Л.А., Шубина Т.А., Мясоедов Н.Ф.* и др. // *Бюлл. эксп. биол.медицины.* **169.** 775. (2020).
- [2] *Хавинсон В.Х.* // *Клиническая медицина.* **98,** № 3. 165. (2020).
- [3] *Жуйкова С.Е.* // *Интегративная физиология.* **1,** № 4. 303. (2020).
- [4] *Григорьева М.Е., Ляпина Л.А.* // *Успехи физиологических наук.* **51.** № 2. 27. (2020).
- [5] *Ашмарин И.П., Ляпина Л.А., Андреева Л.А., Ульянов А.М.* и др. // *Тромбоз, гемостаз и реология.* **2.** 38. (2008).
- [6] *Samonina G., Ashmarin I., Lyapina L.* // *Pathophysiology.* **8.** 229. (2002).
- [7] *Myasoedov N.F., Lyapina L.A., Grigorjeva M.E.* и др. // *Pathophysiology.* **23.** 27. (2016).
- [8] *Смолина Т.Ю., Пасторова В.Е., Ляпина Л.А.* // *Тромбоз, гемостаз и реология.* **2.** 38. (2002).
- [9] *Ляпина Л.А., Пасторова В.Е., Смолина Т.Ю., Хоменко Л.П.* // *Вестн. Моск. ун-та. Серия XVI, Биология.* № 1. 3. (2003). <https://eurekamag.com/research/011/766/011766968.php>
- [10] *Оберган Т.Ю.* // Диссертация по теме «Глипролины и их комплексные соединения с гепарином как физиологические модуляторы функции противосвертывающей системы организма», (2004), 173 С.
- [11] *Hsu E., Moosavi L.* // *Biochemistry, Antithrombin III.* [Updated 2021 Sep 13]. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545295/>
- [12] *Olson S.T., Bjurk I., Sheffer R., Craig P.A.* et al. // *J. Biol. Chem.* **267,** N 18. 12528. (1992).
- [13] *Whisstock J.C., Pike R.N.* et al. // *J. Mol. Biol.* **301,** N 5. 1287. (2000).
- [14] *Langdown J., Johnson D.J., Baglin T.P., Huntington J.A.* // *J. Biol. Chem.* **279,** N 45. 47288. (2004).
- [15] *Johnson D.J., Langdown J., Li W., Luis S.A.* et al. // *J. Biol. Chem.* **281,** N 46. 35478. (2006).
- [16] *Han H., Yang L., Liu R.* et al. // *Clin. Chem. Lab. Med.* (2020). [pii://j/cclm.ahead-of-print/cclm-2020-0188/cclm-2020-0188.xml](https://pubs.ascp.org/doi/10.1093/clinchem/ckaa118).
- [17] *Попов Е.М.* // Проблема белка Том 3. Структурная организация белков. М.: Наука, 1997. <http://booksshare.net/index.php?id1=4&category=biol&author=popov-em&book=1997&page=292>
- [18] *Максумов И.С., Исмаилова Л.И., Годжаев Н.М.* // *Журнал структурной химии.* **24.** 147. (1983).
- [19] *Akhmedov N.A., Agayeva L.N., Akverdieva G.A.* et al. // *J. Chem. Soc. Pak.* **43.** 500. (2021). <https://jccsp.org.pk/>
- [20] *Akhmedov N.A., Agayeva L.N., Akhmedova S.R.* et al. // *J. of Appl. Phys. (IOSR-JAP).* **13.** 62. (2021). www.iosrjournals.org.
- [21] *Агаева Л.Н., Абдинова А.А., Ахмедова С.Р., Ахмедов Н.А.* // *Биофизика.* **66.** 629. (2021).
- [22] *Kecel-Gunduz S., Bicak B., Celik S.* et al. // *J. of Mol. Struct.* **1137.** 756. (2017).
- [23] IUPAC-IUB. Quantities, Units and Symbols in Physical Chemistry // Blackwell Scientific, Oxford. 1993. https://old.iupac.org/publications/books/gbook/green_book_2ed.pdf

- [24] *Godjajev N.M., Akyuz S., Akverdieva G.A.* // *J. Mol. Struct.* **403**. 95. (1997). <https://doi.org/>
- [25] *Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E.* et al. // Gaussian 09, Revision D.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2013. <https://gaussian.com/g09citation/>
- [26] *Dennington R., Keith T.A., Millam J.M.* // GaussView, Version 6.0, Semichem Inc., Shawnee Mission, KS, 2016. <https://gaussian.com/citation/>
- [27] *Trott O., Olson A.J.* // *J. of Comput. Chem.* **31**. 455. (2010).
- [28] *DeLano W.L.* // The PyMOL molecular graphics system. 2010. https://www.ccp4.ac.uk/newsletters/newsletter40/11_pymol.pdf
- [29] Discovery Studio Visualization // [Internet]. [cited 2 Dec 2016]. <http://accelrys.com/products/collaborative-science/biovia-discovery-studio/visualization-download.php>
- [30] *Akverdieva G.A., Godjajev N.M., Demukhamedova S.D.* // *J. of Struct. Chem.* **62**. 1895. (2021).
- [31] *Ахвердиева Г.А., Демухамедова С.Д., Годжаев Н.М.* // Актуальные вопросы биологической физики и химии. **5**. 101. (2020). [https://www.sevsu.ru/images/nauka/pechat/2020/bbpc/Biol.Phys.Chem.2020.5\(1\).pdf](https://www.sevsu.ru/images/nauka/pechat/2020/bbpc/Biol.Phys.Chem.2020.5(1).pdf)
- [32] *Demukhamedova S.D., Hajiyev Z.I., Aliyeva I.N., Godjajev N.M.* // Proceedings of the 6th International Conference on Control and Optimization with Industrial Applications, Baku, Azerbaijan. 11-13 July. 2018, P. 107-109. http://coia-conf.org/upload/editor/files/COIA_2018_V2.pdf
- [33] *Momany F.A., McGuire R.F., Burgess A.W., Sheraga H.A.* // *J. Phys. Chem.* **79**. 2361. (1975).
- [34] *Ponnusvany P.K., McGuire R.F., Scheraga H.A.* // *Int. J. Peptide Protein Res.* **5**. 73. (1973).
- [35] *Koetzle T.F., Hamilton W.C.* // *Acta Crystallogr. Sect. B.* **28**. 2083. (1972).
- [36] *Kartha G., Ashida T., Kakudo M.* // *Acta Crystallogr. Sect. B.* **30**. 1861. (1974).
- [37] *Mulliken R.S.* // *J. Chem. Phys.* **23**, N 10. 1833. (1955).
- [38] *Koopmans T.A.* // *Physica.* **1**. 104. (1934).
- [39] *Vasilescu D., Adrian-Scotto M.* // *Struct. Chem.* **21**. 1289. (2010). https://www.researchgate.net/publication/230758655_148_
- [40] *Fukui K.* // *Science.* **218**. 747. (1982).
- [41] *Khan S., Gor J., Mulloy B., Perkins S.J.* // *J. Mol. Biol.* **395**. 504. (2010).
- [42] *Jin L., Abrahams J.P., Skinner R.* et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **94**. 14683. (1997).
- [43] *Singh U.C., Kollman P.A.* // *J. Comp. Chem.* **5**. 129. (1984).
- [44] *Gasteiger J, Marsili M.* // *Tetrahedron.* **36**, N 22. 3219. (1980).

Molecular modelling of Pro-Gly glyproline and its complexes

L.I. Ismailova^a, G.A. Akverdieva^b, S.D. Demukhamedova^c, N.A. Akhmedov^d

Institute for Physical Problems, Baku State University. Baku, AZ-1148, Azerbaijan

E-mail: ^alara.ismailova.52@mail.ru, ^bhagverdiguynara@gmail.com, ^csvetlanabest@mail.ru, ^dNamiq.49@bk.ru

In the present work, Pro-Gly glyproline and its biologically active complexes with heparin and with the antithrombin-heparin protein complex have been studied using molecular modelling methods. This molecule is used as a drug and exhibits antithrombotic, anticoagulant immunomodulatory, antiulcer, and antidiabetic effects. The conformational profiles of the dipeptide were studied within the molecular mechanics framework, the geometry and energy of intra- and interresidual interactions were estimated for the most stable states of the investigated dipeptide. A comparative analysis of the extended and folded structures of this molecule optimized by the DFT/B3LYP/6-31+G(d,p) method was carried out, the frontier molecular orbitals were calculated, the surface of the molecular electrostatic potential was studied, the effective charges on the atoms were determined, and the dipole moment and polarizability values were calculated. Molecular docking revealed that the folded structure of Pro-Gly glyproline showed a higher affinity value for both heparin and the antithrombin-heparin protein complex. A model of the pharmacophore of the Pro-Gly molecule for its interaction with a specific receptor was proposed. The obtained data form the basis for the development of effective analogs of glyprolines in the complex with heparin, which are more specific concerning their putative target — antithrombin.

PACS: 87.15.By; 87.15.Kg

Keywords: glyproline Pro-Gly, molecular mechanics, DFT calculations, molecular docking, pharmacophore.

Received 17 April 2023.

English version: *Moscow University Physics Bulletin.* 2023. **78**, No. 5, pp. 668–680.

Сведения об авторах

- Исмаилова Лариса Исмаил — доктор физических наук, гл. науч. сотрудник, доцент; e-mail: lara.ismailova.52@mail.ru.
- Ахвердиева Гюльнара Ахмед — доктор физических наук, вед. науч. сотрудник, доцент; e-mail: hagverdiguynara@gmail.com.
- Демухамедова Светлана Давидовна — канд. физ.-мат.наук, вед. научный сотрудник, доцент; e-mail: svetlanabest@mail.ru.
- Ахмедов Намик Абдуллавал — доктор физ.-мат.наук, гл. науч. сотрудник, профессор; e-mail: Namiq.49@bk.ru.