

20 Спектральные проявления межмолекулярного взаимодействия азотсодержащих аминокислот с малеимидом

© Е.В. Назарьев, И.Л. Пластун

Саратовский государственный технический университет им. Ю.А. Гагарина,
410054 Саратов, Россия

e-mail: inna_pls@mail.ru, agexhecute@gmail.com

Поступила в редакцию 27.12.2023 г.

В окончательной редакции 29.01.2024 г.

Принята к публикации 05.03.2024 г.

Методами квантово-химического моделирования на основе теории функционала плотности исследовано комплексообразование азотсодержащих аминокислот при обогащении одной из них малеимидом. В качестве исследуемых объектов рассматриваются азотсодержащие аминокислоты, входящие в состав белковых капсул доставки лекарственных средств: триптофан, аргинин, лизин и гистидин, а также молекула малеимида. На основе расчета структур молекулярных комплексов и их инфракрасных спектров с последующим анализом параметров образующихся водородных связей для пар взаимодействующих аминокислот, модифицированных малеимидом, было выявлено, что малеимид усиливает межмолекулярное взаимодействие азотсодержащих аминокислот. Это позволяет сделать вывод, что механизм повышения терапевтической активности белковой капсулы доставки, обогащенной малеимидом, обусловлен усилением межмолекулярного взаимодействия белков капсулы доставки и вещества-мишени в присутствии малеимида.

Ключевые слова: малеимид, азотсодержащие аминокислоты, водородные связи, теория функционала плотности, молекулярное моделирование, инфракрасные спектры.

DOI: 10.61011/OS.2024.03.58148.32-24

Введение

Аминокислоты представляют собой органические соединения, которые входят в состав клетки и участвуют в синтезе белка. Они отвечают за насыщение тканей и мышц энергией, участвуют в водно-солевом обмене и синтезе гормонов, а также помогают в работе нервной системы. Часть из них синтезируются в организме, а часть являются незаменимыми, т.е. могут быть получены только извне. Взаимодействие аминокислот играет ключевую роль в таргетной терапии на основе биоразлагаемых носителей.

Будем рассматривать межмолекулярное взаимодействие двух аминокислот, одна из которых принадлежит белку вещества-мишени в организме, а вторая — белковому контейнеру адресной доставки. Чтобы оценить качество комплексообразования в случае использования капсул, наногелей и других белковых носителей препаратов, мы исследуем взаимодействие этих двух аминокислот. Главной задачей является усилить это взаимодействие, поскольку важную роль играет не только доставка, но и удержание капсулы или везикулы для более полного высвобождения лекарственного препарата. Одним из вариантов усиления взаимодействия аминокислот является обогащение одной из них малеимидом.

Малеимид (имид малеиновой кислоты) является важным „строительным блоком“ в органическом синтезе [1]. Благодаря возможности реакции тиол-малеимид при физиологических условиях капсулы, модифицированные

функциональными группами малеимида, показывают высокую способность адгезии к слизистым тканям [2,3].

Цель работы — на основе расчета инфракрасных (ИК) спектров и молекулярных структур с последующим анализом параметров образующихся водородных связей оценить влияние малеимида на межмолекулярное взаимодействие и комплексообразование пар аминокислот. Как было показано нами ранее [4], малеимид может существенно повышать степень межмолекулярного взаимодействия веществ полиэлектролитных капсул адресной доставки (полиаргинина и декстран сульфата) с аминокислотами белка вещества-мишени. Настоящая работа продолжает данное исследование и рассматривает комплексообразование ряда наиболее важных аминокислот, участвующих в белковом связывании, и их взаимодействие с малеимидом.

Объекты исследования и методы моделирования

Три из четырех рассматриваемых нами аминокислот являются незаменимыми для человеческого организма. К ним относятся гистидин, лизин и триптофан. Гистидин отвечает за уровень гемоглобина и участвует в образовании крови. Также он необходим для регенерации тканей. Лизин способствует регенерации тканей и оздоровлению опорно-двигательного аппарата. Триптофан входит в состав белков РНК, а также является предшественником серотонина, мелатонина и гормона роста. Дефицит

триптофана ведет к снижению серотонина, что имеет ряд негативных последствий: депрессия, состояние тревоги, повышенная раздражительность, бессонница. Аргинин относится к группе условно незаменимых аминокислот. В ограниченном количестве он вырабатывается в организме естественным путем. Аргинин важен для обеспечения нормального функционирования организма. Наиболее существенный вклад вносит его способность повышать выработку оксида азота, который благотворно влияет на кровоток, расширяя и делая кровеносные сосуды эластичными. Аргинин необходим для осуществления ряда функций, таких как восстановление поврежденных тканей, стимуляция работы иммунной системы, поддержка работы почек.

Малеимид получают в результате дегидратации нециклического амида, образующегося при реакции малеинового ангидрида с аминами [5], его широко используют для модификации биологических объектов [6]. Например, в работе [2] описывается синтез наногелей, функционализированных малеимидом. Было обнаружено, что модифицированные малеимидом наногели проявляют высокие мукоадгезивные свойства на ткани конъюнктивы *ex vivo* по сравнению с известным мукоадгезивным хитозаном. В [7] было обнаружено, что липосомы с малеимидными группами демонстрировали лучшее удержание *in vitro* на ткани мочевого пузыря, что связано с их способностью образовывать связи с тиолами, присутствующими в слизистой ткани. Эти результаты подтверждают потенциал наногелей, содержащих имид малеиновой кислоты, в качестве новой платформы для устойчивой доставки лекарств.

Широкое применение малеимида в химическом био-конъюгировании лекарственных препаратов обусловлено его высокой степенью активности при создании молекулярных комплексов. Он может реагировать с аминокислотными или сульфгидрильными группами на белках, антителах, ферментах и других молекулах в организме, образуя стабильные конъюгаты. Эти конъюгаты могут быть использованы для доставки лекарственных препаратов к определенным местам в организме или для увеличения их стабильности и продолжительности действия.

Молекулярное моделирование комплексообразования аминокислот, включающее расчет структур и ИК спектров молекул и их комплексов, проводилось на основе теории функционала плотности (ТФП) [8] с использованием функционала B3LYP и базисного набора 6-31G(d) [9] при помощи программного комплекса Gaussian [10], в качестве визуализатора молекулярных структур использовались программы Avogadro и GaussView.

Для минимизации расхождений рассчитанных частот с измеренными в работе было произведено масштабирование частот. Это позволяет приблизить рассчитанные данные к эксперименту. Путем сравнения рассчитанных ИК спектров с экспериментальными данными были выведены и использованы в данной работе следующие масштабированные множители: 0.987 (диапазон

0–1000 cm^{-1}), 0.961 (диапазон 1000–2000 cm^{-1}), 0.948 (диапазон выше 2000 cm^{-1}). Данные диапазоны были выбраны исходя из того, что влияние ангармонизма в низкочастотной области спектра минимально, поскольку это есть центр молекулы и связи колеблются единообразно. Диапазон 1000–2000 cm^{-1} соответствует середине молекулы, где отклонение увеличивается. Максимальное отклонение наблюдается на периферии молекулы (свыше 2000 cm^{-1}), что видно на спектрах.

Исследование степени комплексообразования проводилось на основе анализа параметров водородных связей. Энергия водородных связей рассчитывалась по эмпирической формуле Иогансена [11,12]:

$$-\Delta H = 0.3\sqrt{\Delta\nu - 40},$$

где $\Delta\nu$ — частотный сдвиг для валентных колебаний связей O-H.

Результаты и их обсуждение

В ходе исследования были произведены расчеты структур и ИК спектров молекул малеимида, гистидина, аргинина, лизина и триптофана. Также были рассчитаны и проанализированы структуры и ИК спектры образующихся пар аминокислот и молекулярных комплексов, получаемых при присоединении молекулы малеимида к паре аминокислот.

Рассмотрим потенциальные возможности для водородного связывания молекул гистидина, аргинина, лизина, триптофана и малеимида. На рис. 1 и 2 приведены рассчитанные структуры и ИК спектры этих молекул, а также экспериментальные ИК спектры этих молекул, взятые из базы Spectrabase [13–17], откуда видно, что все молекулы аминокислот обладают потенциальными возможностями для водородного связывания. У молекулы малеимида есть только одна возможность для потенциального образования водородной связи через аминокислотную группу N-H (рис. 2, *b*).

Так как в рассматриваемых комплексах присоединение второй аминокислоты к первой происходит через атом водорода карбоксильной группы, для каждой аминокислоты будем оценивать степень водородного связывания именно через эту группу, колебания которой проявляются для гистидина на частоте 3498 cm^{-1} (рис. 1, *a* (4)), для аргинина — 3540 cm^{-1} (рис. 1, *b* (6)), для лизина — 3497 cm^{-1} (рис. 1, *c* (5)) и для триптофана — 3498 cm^{-1} (рис. 2, *a* (4)). Колебания аминокислотной группы малеимида реализуются на частоте 3449 cm^{-1} (рис. 2, *b* (1)).

Рассмотрим межмолекулярное взаимодействие пар аминокислот и влияние на их комплексообразование молекулы малеимида. Сила образовавшихся водородных связей оценивалась в соответствии с классификацией, приведенной в [18], где сильными водородными связями считаются связи с энергией 14.34–28.65 kJ/mol и длиной водородного мостика 2.2–2.5 Å, энергия средних

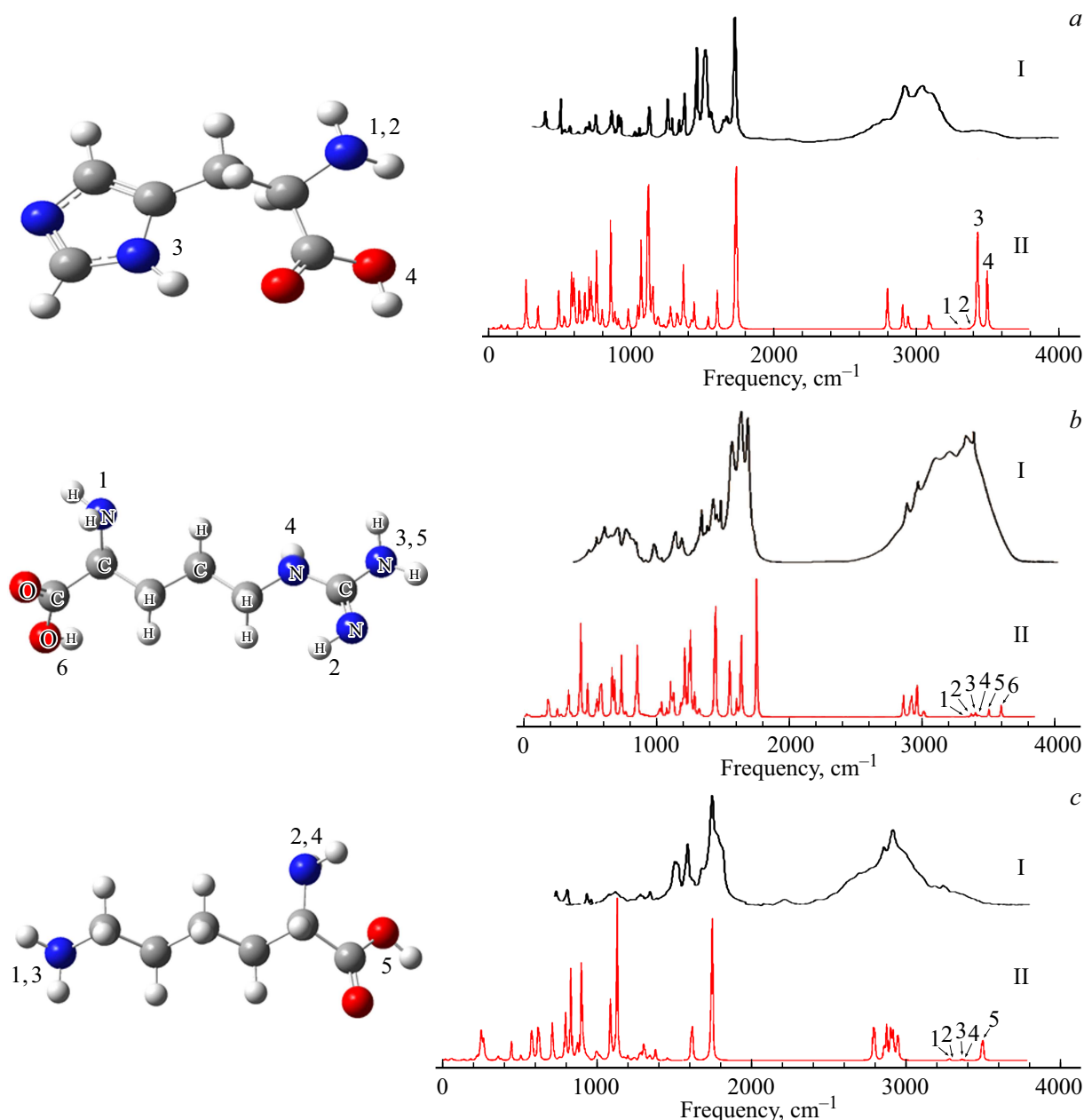


Рис. 1. Экспериментальные (I) и рассчитанные (II) ИК спектры и рассчитанные структуры молекул гистидина (a), аргинина (b) и лизина (c). Цифрами обозначены колебания молекулярных групп, потенциально позволяющих образовать комплекс на основе водородных связей, и соответствующие им спектральные пики.

связей лежит в диапазоне 3.82–14.43 kkal/mol, а длина водородного мостика — 2.5–3.2 Å, у слабых связей энергия менее 2.87 kkal/mol, а длина водородного мостика — 3.2–4.0 Å.

На рис. 3, a видно, что при присоединении карбоксильной группы гистидина к аминогруппе лизина образуется водородная связь на частоте 2672 cm^{-1} , ее параметры указаны в таблице: частотный сдвиг 826 cm^{-1} , интенсивность спектрального пика 2527 km/mol , энергия связи 8.4 kkal/mol, что дает возможность отнести ее к сильным водородным связям.

При добавлении малеимида (рис. 3, b) видно, что пик (I) ИК спектра, соответствующий колебанию О-Н группы гистидина, сильно сместился влево (частотный сдвиг составил 1135 cm^{-1} , частота спектрального пика 2363 cm^{-1}), что означает существенное увеличение энергии связи. Как видно из таблицы, энергия связи выросла с 8.4 до 9.9 kkal/mol, а интенсивность спектрального пика — с 2527 до 2761 km/mol .

При взаимодействии аргинина с лизином в ИК спектре образуется пик на частоте 3034 cm^{-1} . Это говорит об образовании водородной связи карбоксильной группы аргинина и аминогруппы лизина (рис. 4, a).

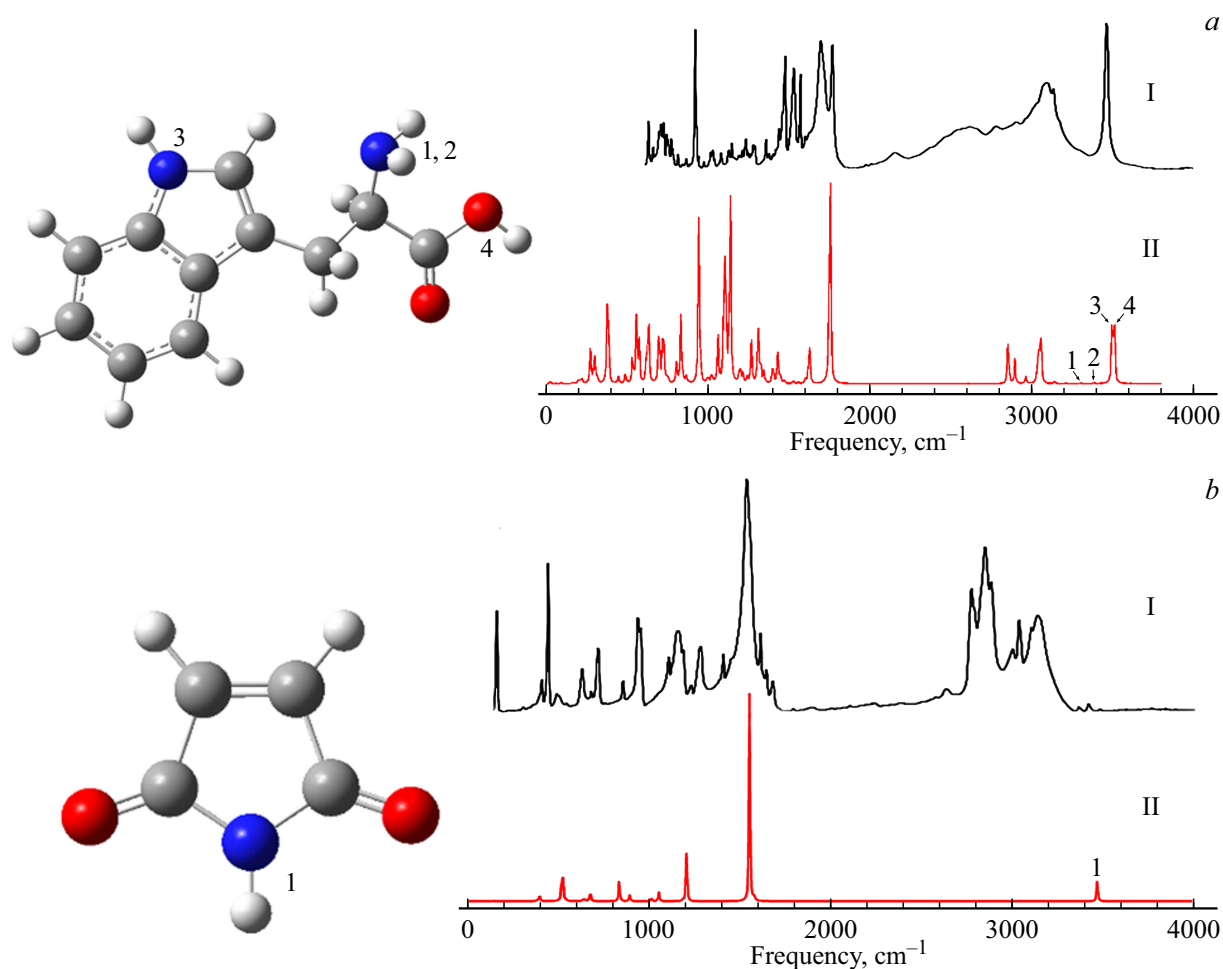


Рис. 2. Экспериментальные (I) и рассчитанные (II) ИК спектры и рассчитанные структуры молекул триптофана (a) и малеимида (b). Цифрами обозначены колебания молекулярных групп, потенциально позволяющих образовать комплекс на основе водородных связей, и соответствующие им спектральные пики.

Пик (I), соответствующий колебанию карбоксильной группы аргинина, сместился влево на 90 cm^{-1} и проявляется на частоте 2957 cm^{-1} . Энергия связи возросла с 6.4 до 7.0 kkal/mol , а интенсивность — с 1080 до 2090 km/mol . Все параметры водородных связей приведены в таблице.

Наиболее сильное взаимодействие лизина наблюдается при соединении лизина с триптофаном (рис. 5, a). В этом случае колебание карбоксильной группы лизина проявляется на частоте 2771 cm^{-1} . Частотный сдвиг относительно одиночной молекулы лизина составляет 726 cm^{-1} , что позволяет говорить об этой связи как о средней близкой к сильной. Влияние малеимида можно отследить по изменениям в структуре и ИК спектре образовавшегося молекулярного комплекса лизин-триптофан-малеимид (рис. 5, b).

Как видно из таблицы, частота колебаний карбоксильной группы лизина в данном комплексе составляет 2673 cm^{-1} , а значит, и в этом случае присоединение малеимида увеличило частотный сдвиг и энергию связи

с 7.9 до 8.4 kkal/mol . Также возросла и интенсивность с 1988 до 2221 km/mol .

В рассмотренных выше комплексах наблюдалось усиление средних близких к сильным водородных связей, образующихся между азотсодержащими аминокислотами. Увеличение энергии связи при присоединении малеимида составило от 0.5 до 1.5 kkal/mol в зависимости от типа комплекса. Во всех случаях наблюдается схожее поведение — присоединение малеимида существенно усиливает взаимодействие.

Однако имеется одно исключение: при взаимодействии двух молекул аргинина (рис. 6, a) взаимодействие аминокислот значительно слабее. Водородная связь между азотом N и группой O-H образуется на частоте 3415 cm^{-1} .

Из таблицы видно, что взаимодействие аргинина в качестве аминокислоты, принадлежащей белку-носителю, с другими аминокислотами и малеимидом слабее, чем у остальных рассматриваемых молекул. В комплексе из двух молекул аргинина частотный сдвиг составил 148 cm^{-1} .

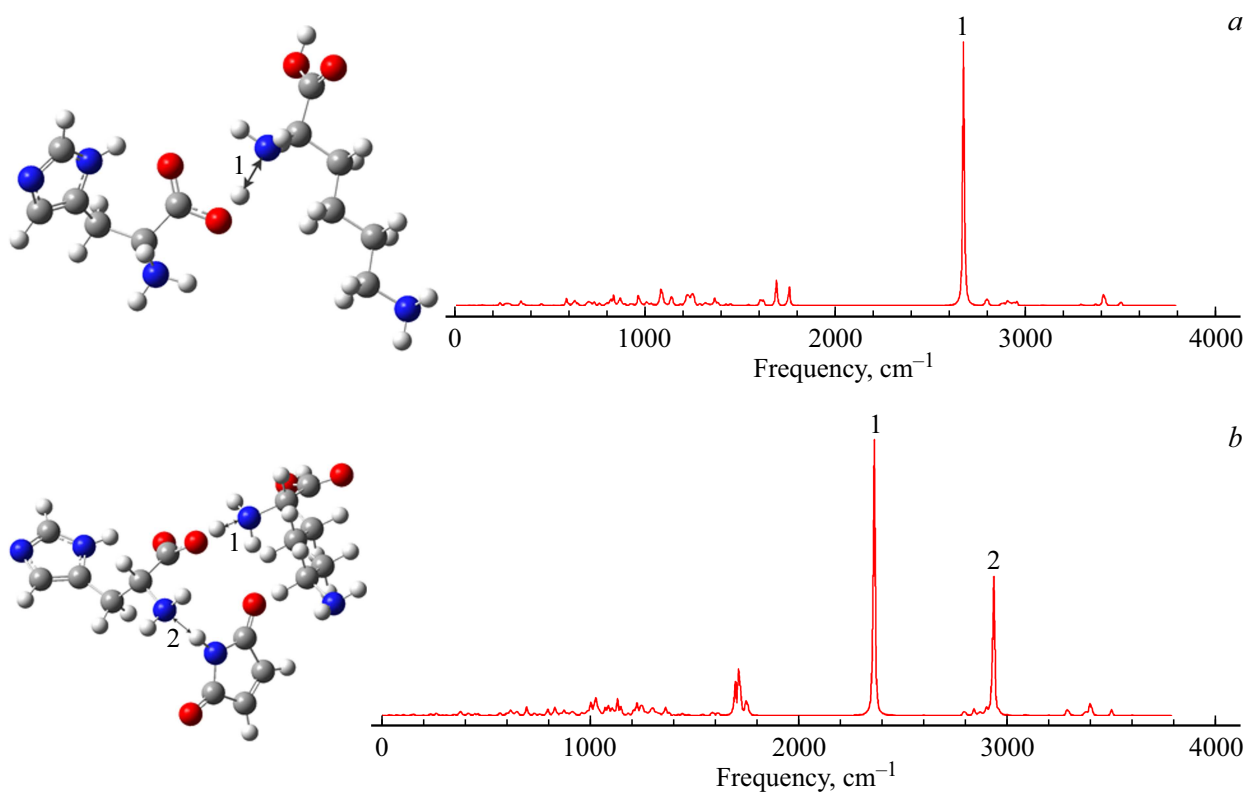


Рис. 3. Рассчитанные структуры и ИК спектры молекулярных комплексов гистидина и лизина (а) и гистидина, лизина и малеимида (b).

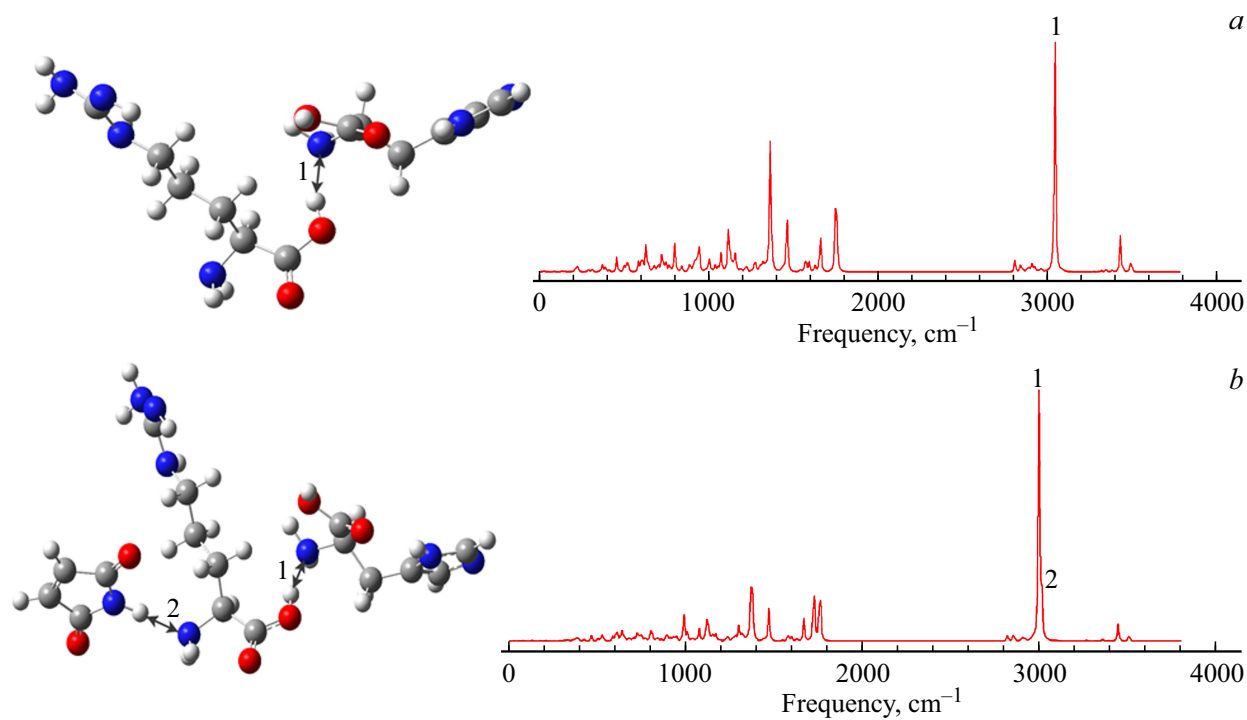


Рис. 4. Рассчитанные структуры и ИК спектры молекулярных комплексов аргинина и гистидина (а) и малеимида, аргинина и гистидина (b).

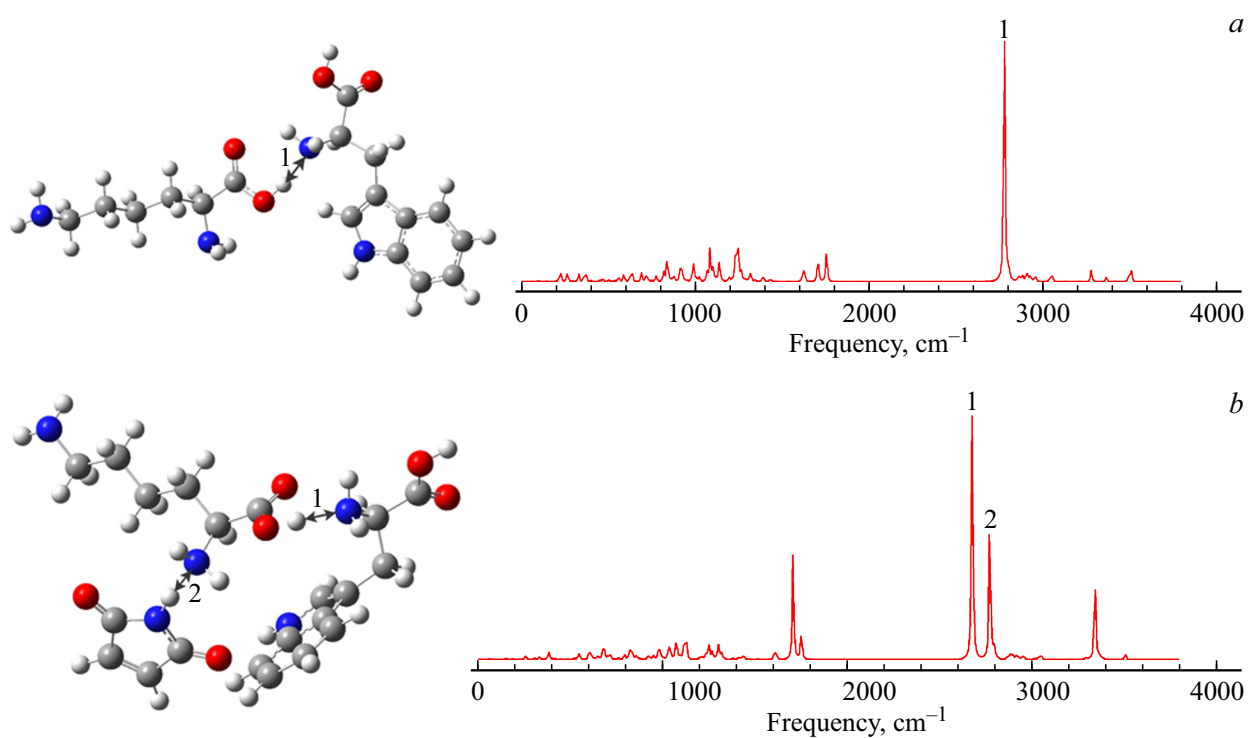


Рис. 5. Рассчитанные структуры и ИК спектры молекулярных комплексов лизина и триптофана (*a*) и малеимида, лизина и триптофана (*b*).

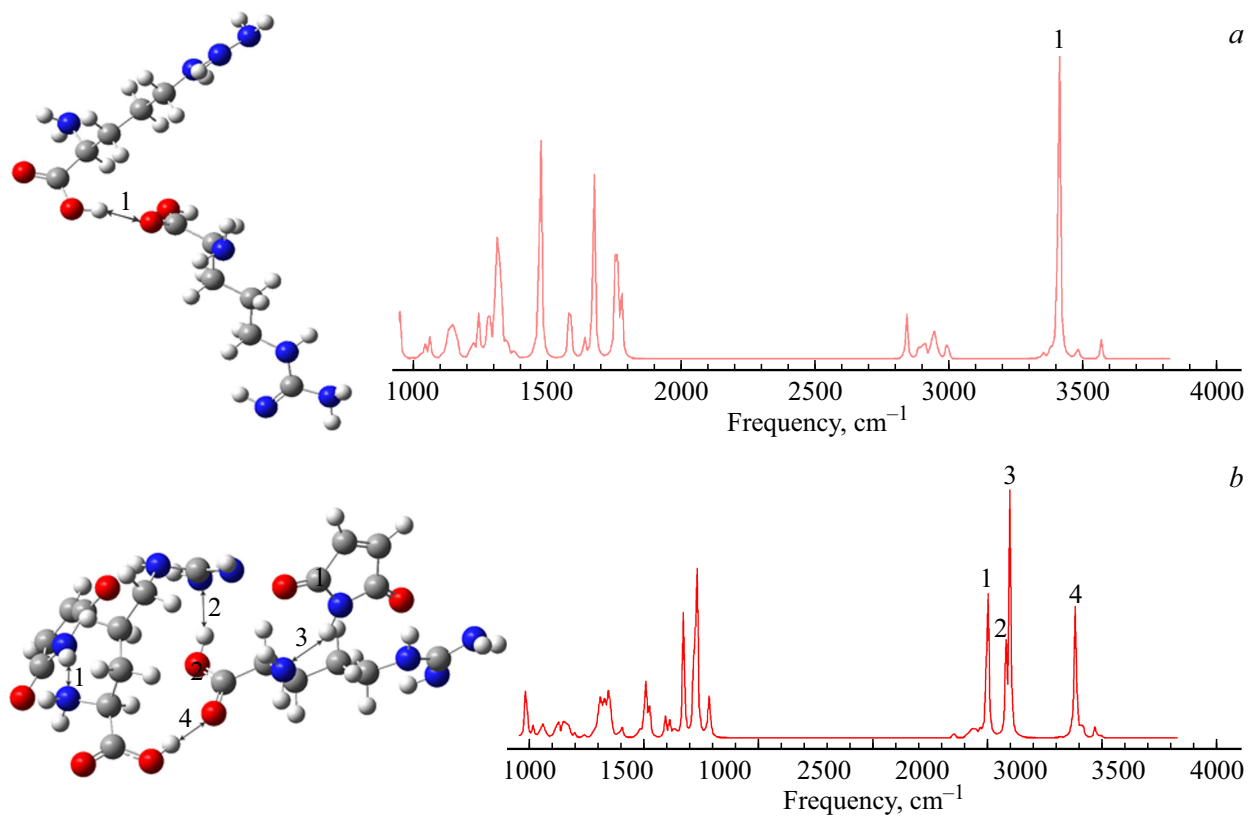


Рис. 6. Рассчитанные структуры и ИК спектры молекулярных комплексов двух молекул аргинина (*a*) и аргинина и малеимида (*b*).

Параметры водородных связей в молекулярных комплексах аминокислот с малеимидом (Н — гистидин, Т — триптофан, А — аргинин, L — лизин, М — малеимид)

	Комплекс	Тип связи	Длина Н-связи, Å	Длина водородного мостика, Å	Частота, cm^{-1}	Частотный сдвиг $\delta\nu$, cm^{-1}	Энергия связи ΔH , kkal/mol	Интенсивность km/mol
г и с т и д и н	H+T	O-H...N	1.68	2.71	2541	957	9.1	2008
	H+T+M	O-H...N	1.65	2.68	2474	1024	9.4	2357
	H+A	O-H...N	1.83	2.84	2961	537	6.7	1465
	H+A+M	O-H...N	1.81	2.81	2921	577	6.9	1727
	H+L	O-H...N	1.69	2.71	2672	826	8.4	2527
	H+L+M	O-H...N	1.62	2.66	2363	1135	9.9	2761
	H+H	O-H...N	1.71	2.73	2730	768	8.1	2247
	H+H+M	O-H...N	1.65	2.68	2499	999	9.3	2562
а р г и н и н	A+T	O-H...N	1.80	2.80	2988	552	6.8	1054
	A+T+M	O-H...N	1.79	2.79	2949	591	7.0	1159
	A+A	O-H...O	1.87	2.85	3415	148	3.1	715
	A+A+M	O-H...O	1.87	2.85	3409	154	3.2	615
	A+L	O-H...N	1.82	2.82	3034	506	6.5	1170
	A+L+M	O-H...N	1.80	2.80	2986	554	6.8	1372
	A+H	O-H...N	1.82	2.82	3047	493	6.4	1080
	A+H+M	O-H...N	1.79	2.79	2957	583	7.0	2090
л и з и н	L+T	O-H...N	1.74	2.76	2771	726	7.9	1988
	L+T+M	O-H...N	1.70	2.72	2673	824	8.4	2221
	L+A	O-H...N	1.78	2.79	2903	594	7.1	1448
	L+A+M	O-H...N	1.75	2.76	2827	670	7.5	1982
	L+L	O-H...N	1.74	2.75	2808	689	7.6	2016
	L+L+M	O-H...N	1.72	2.74	2741	756	8.0	2546
	L+H	O-H...N	1.76	2.77	2859	638	7.3	1347
	L+H+M	O-H...N	1.74	2.76	2789	708	7.8	2301
т р и п т о ф а н	T+T	O-H...N	1.73	2.75	2756	742	7.9	2229
	T+T+M	O-H...N	1.72	2.74	2736	762	8.1	1972
	T+A	O-H...N	1.73	2.75	2769	729	7.9	1962
	T+A+M	O-H...N	1.73	2.75	2748	750	8.0	2262
	T+L	O-H...N	1.69	2.71	2651	847	8.5	2752
	T+L+M	O-H...N	1.66	2.69	2553	945	9.0	3174
	T+H	O-H...N	1.72	2.73	2799	699	7.7	3247
	T+H+M	O-H...N	1.69	2.71	2709	789	8.2	4036

При взаимодействии с двумя молекулами малеимида (рис. 6, б) частотный сдвиг увеличился только на 6 cm^{-1} . Это свидетельствует о слабом взаимодействии аргинина с малеимидом. Как оказалось, это единственный случай из всех рассмотренных пар аминокислот, когда межмолекулярное взаимодействие проявляется достаточно слабо.

В остальных случаях добавление малеимида позволяет заметно увеличить энергию и интенсивность рассматриваемой водородной связи, что свидетельствует об усилении комплексообразования азотсодержащих аминокислот в присутствии малеимида. Наиболее сильные водородные связи образуются у триптофана и лизина.

Вывод

Анализ полученных результатов показал, что добавление малеимида позволяет усилить взаимодействие между азотсодержащими аминокислотами. Наиболее сильное изменение наблюдается в комплексах гистидин-лизин, аргинин-гистидин, лизин-триптофан, наиболее слабое — между двумя молекулами аргинина.

Обогащение малеимидом капсулы-носителя позволяет образовать с белком-мишенью более сильные водородные связи, а значит, улучшает удержание капсулы и обеспечивает более полное высвобождение лекарственного препарата. Таким образом, результаты работы подтверждают и дают теоретическое обоснование целесообразности использования малеимида для биоконъюгирования

белковых капсул доставки в таргетной терапии, что было выявлено в ранее проведенных экспериментальных исследованиях [2,3].

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] G.T. Hermanson. *Bioconjugate Techniques* (Academic Press, 2008), p. 1003.
- [2] P. Tonglairoum, R.P. Brannigan, P. Opanasopitb, V.V. Khutoryanskiy. *J. Mater. Chem. B*, **4** (40), 6581–6587 (2016). DOI: 10.1039/C6TB02124G
- [3] D.B. Kaldybekov, P. Tonglairoum, P. Opanasopitb, V.V. Khutoryanskiy. *European J. Pharmaceutical Sciences*, **111**, 83–90 (2018). DOI: 10.1016/j.ejps.2017.09.039
- [4] И.Л. Пластун, А.А. Захаров, А.А. Наумов. *Опт. и спектр.*, **131** (6), 117–128 (2023). DOI: 10.21883/OS.2023.06.55918.118-23
- [5] M.P. Cava, A.A. Deana, K. Muth, M.J. Mitchell. *Organic Syntheses*, **5**, 717–725 (1973).
- [6] O. Koniev, A. Wagner. *Chem. Soc. Rev. J.*, **44** (15), 5495–5551 (2015). DOI:10.1039/C5CS00048C
- [7] O.A. Inozemtseva, D.V. Voronin, A.V. Petrov, V.V. Petrov, S.A. Lapin, A.A. Kozlova. *Colloid J.*, **80** (6), 771–782 (2018). DOI: 10.1134/S1061933X19010071
- [8] В. Кон. *УФН*, **172** (3), 336–348 (2002). DOI: 10.3367/UFNr.0172.200203e.0336
- [9] A.D. Becke. *J. Chem. Phys.*, **98** (7), 5648–5652 (1993). DOI: 10.1063/1.464913
- [10] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, J.A. Montgomery, Jr.T. Vreven, K.N. Kudin, J.C. Burant, J.M. Millam, S.S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J.E. Knox, H.P. Hratchian, J.B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, P.Y. Ayala, K. Morokuma, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, V.G. Zakrzewski, S. Dapprich, A.D. Daniels, M.C. Strain, O. Farkas, D.K. Malick, A.D. Rabuck, K. Raghavachari, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, Q. Cui, A.G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B.B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R.L. Martin, D.J. Fox, T. Keith, M.A. Al-Laham, C.Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P.M.W. Gill, B. Johnson, W. Chen, W. Wong, C. Gonzalez, J.A. Pople. *Gaussian03, Revision B.03* (Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003), p. 302.
- [11] А.В. Иогансен. *Водородная связь* (Наука, М., 1981), с. 112–155.
- [12] Л.М. Бабков, Г.А. Пучковская, С.П. Макаренко, Т.А. Гаврилко. *ИК спектроскопия молекулярных кристаллов с водородными связями* (Наукова думка, Киев, 1989) с. 160.
- [13] FreeSpectralDatabase [Электронный ресурс]. URL: <https://spectrabase.com/spectrum/9H6Y3YgPeYg>
- [14] FreeSpectralDatabase [Электронный ресурс]. URL: <https://spectrabase.com/spectrum/1E2d4WwETI5>
- [15] FreeSpectralDatabase [Электронный ресурс]. URL: <https://spectrabase.com/spectrum/4qtTWaAXilq>
- [16] FreeSpectralDatabase [Электронный ресурс]. URL: <https://spectrabase.com/spectrum/IAb2kDST6tg>
- [17] FreeSpectralDatabase [Электронный ресурс]. URL: <https://spectrabase.com/spectrum/65a1OxSTojV>
- [18] Дж.В. Стил, Дж.Л. Этвуд. *Супрамолекулярная химия* (Академкнига, М., 2007) с. 479.
- [19] Е.В. Назарьев, И.Л. Пластун, А.А. Захаров. В сб.: *Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине*, под. ред. А.В. Скрипаля (Саратовский источник, Саратов, 2023), с. 156–159.