

## КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИЕ РАСЧЕТЫ ЭЛЕКТРОННЫХ СПЕКТРОВ ПОГЛОЩЕНИЯ ТИРОЗИНА В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ МИКРООКРУЖЕНИЯ

Е. П. Глаголева, В. Г. Артюхов, Д. А. Луковиков, И. Е. Лесных,  
Ю. С. Карташова, С. О. Янкова, С. Н. Ливенцева, И. А. Колтаков

ФГБОУ ВО «Воронежский госуниверситет

Поступила в редакцию 20.04.2022 г.

**Аннотация.** Изучение физико-химических закономерностей воздействия высокоэнергетических излучений на биологические и химические системы различной сложности представляет не только фундаментальный, но и определенный практический интерес.

Методами компьютерной химии проанализировано влияние локального микроокружения тирозина на его способность взаимодействовать с оптическим излучением высокоэнергетического участка электромагнитного спектра с длиной волны менее 210 нм.

В качестве объекта исследования нами был выбран простой белок, не имеющий обязательной олигомерной организации – сывороточный альбумин быка. Отсутствие каких либо дополнительных включений и простетических групп позволило нам существенным образом упростить анализируемую систему.

Расчет электронных спектров поглощения осуществляли с использованием спектрального приближения ZINDO/S с учетом конфигурационных взаимодействий. В качестве ключевых параметров брали силу осциллятора (UV oscillator strength) и изменение спина электрона при осуществлении перехода (UV-spin)

Было установлено, что в каждом из представленных показателей наблюдается смещение интенсивности и максимумов поглощения за счет смещения электронной плотности как внутри молекулы тирозина, так и всего трипептида, что доказывается изменением длин связей  $C\alpha$  – бензольное кольцо, бензольное кольцо - гидроксильная группа. Это позволяет предположить, что релокация неподеленных пар кислорода к сопряженной  $\pi$ -электронной системе бензольного кольца тирозина приводит к весьма значительным девиациям волнового сдвига и изменениям в интенсивности поглощения.

Расширение спектрального диапазона исследований в области вакуумного ультрафиолета позволит получить информацию о фундаментальных механизмах биологического действия ионизирующих излучений при их взаимодействии с белковыми системами.

**Ключевые слова:** сывороточный альбумин, тирозин, трипептиды, электронные спектры поглощения, CHARMM, ZINDO/S

Изучение физико-химических закономерностей воздействия высокоэнергетических излучений на биологические и химические системы различного уровня организации представляет не только фундаментальный, но и определенный практический интерес. Стратегические задачи этого столетия в космической сфере открывают перспективы присутствия человека на низких околоземных орбитах, освоение с последующей колонизацией Луны и окололунного простран-

ства; подготовка и начало освоения Марса и других объектов Солнечной системы.

Если не принимать во внимание конкретные финансово-экономические и политические проблемы всех этих амбициозных проектов, то есть сложности, которые слишком существенны, чтобы их игнорировать. С момента запуска первого искусственного спутника Земли в 1957 году и следующих 4 спутников мы знаем о радиационных поясах. К настоящему времени они хорошо изучены, понята физика этих явлений, определена важность и опасности для человечества [1, 2]. И вместе с тем, именно они, наряду с атмосферой нашей планеты, создают оптимальные условия

для существования и поддержания жизни.

Пытаясь выйти за их пределы, человечество оказывается один на один с различными видами жестких (высокоэнергетических) излучений. Обладая значительной энергией квантов от 5 эВ, они способны вызывать ионизацию биологических молекул, сопровождающуюся дозозависимыми структурными перестройками молекул биополимеров и, как следствие, приводящую к изменению их функциональной активности.

Изучение биологических эффектов высокоэнергетического излучения электромагнитной природы с длиной волны кванта менее 210 нм затрудняется тем обстоятельством, что его кванты поглощаются водородом [3] и всеми компонентами газовой смеси атмосферы Земли, а также кварцем и стеклом. Поэтому для исследований в этой области спектра необходимо применять высоковакуумные спектральные приборы, нестандартные источники и приемники излучения, оптические материалы, прозрачные в этом участке спектрального диапазона.

Поэтому расширение спектрального диапазона исследований в области вакуумного ультрафиолета позволит получить информацию о механизмах биологического действия ионизирующих излучений при их взаимодействии с белковыми системами. Кроме того, поскольку глубина проникновения этого участка спектра электромагнитных излучений в биосистемы не велика и составляет величину порядка 0,1 мкм, проведение исследований *in vitro* становится проблематичным [4]. Это выводит на первое место в выполнении данного вида работ методы квантово-химических расчетов компьютерной химии, основанных на приближенном решении уравнения Шредингера.

В качестве объекта исследования нами был выбран простой белок, не имеющий обязательной олигомерной организации – сывороточный альбумин быка. Отсутствие каких либо дополнительных включений и протетических групп позволило нам существенным образом упростить анализируемую систему, исключив возможности взаимодействия с ними апобелка [5].

Основными хромофорами последних в области спектра 230 – 400 нм являются ароматические аминокислоты, серосодержащие аминокислоты, а также пролин и гистидин [5]. Переход же в спектральный диапазон излучения электромагнитной природы с энергией кванта от 2.8 до 11.4 эВ (менее 220 нм), выводит на передовые позиции фе-

нилаланин, тирозин и аминокислотные остатки с алифатическим радикалом.

В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение возможности осуществления электронных переходов в комплексах трипептидов, содержащих в качестве основы тирозин, непосредственно связанный пептидной связью с аминокислотным остатком с алифатическим боковым радикалом.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для анализа спектральных характеристик некоторых остатков тирозина в составе трипептидов нами было использовано проведение квантово-химических расчетов в программном пакете HyperChem, который имеет встроенные алгоритмы, методы и приближения для моделирования пространственной структуры биомолекул, проведения оптимизации их геометрии, вычисления их электронного строения, спектроскопических и энергетических параметров.

Пространственная структура молекулы сывороточного альбумина быка была взята из базы PDB.org, после чего было проведено картирование расположения тирозина в составе полипептидной цепи (Рис. 1). Было установлено, что 20 остатков тирозина локализируются преимущественно в виде 3-х ядер в составе доменов молекулы белка.

Дальнейшее проведение исследования строилось по следующей общей схеме: из аминокислотной последовательности сывороточного альбумина быка были выбраны аминокислотные остатки тирозина (Y), в локальном микроокружении которых находились аланин (A) и другой произвольный аминокислотный остаток: глутаминовая кислота - EYA, цистеин - CYA, тирозин - YYA, аспарагин - NYA, лейцин - LYA и фенилаланин - FYA.

Поскольку нас интересовал вклад каждого из выбранных аминокислотных остатков в формирование электронного спектра поглощения молекулы сывороточного альбумина, были построены компьютерные модели содержащих их трипептидов. Затем проводились оптимизация молекулярной геометрии и расчет электронных спектров поглощения. Для вычисления начальной пространственной организации молекул трипептидов нами был выбран метод молекулярной механики BIO+, базирующийся на принципах силового поля CHARMM.

Для расчетов пространственной структуры белков наиболее оптимальными являются силовые

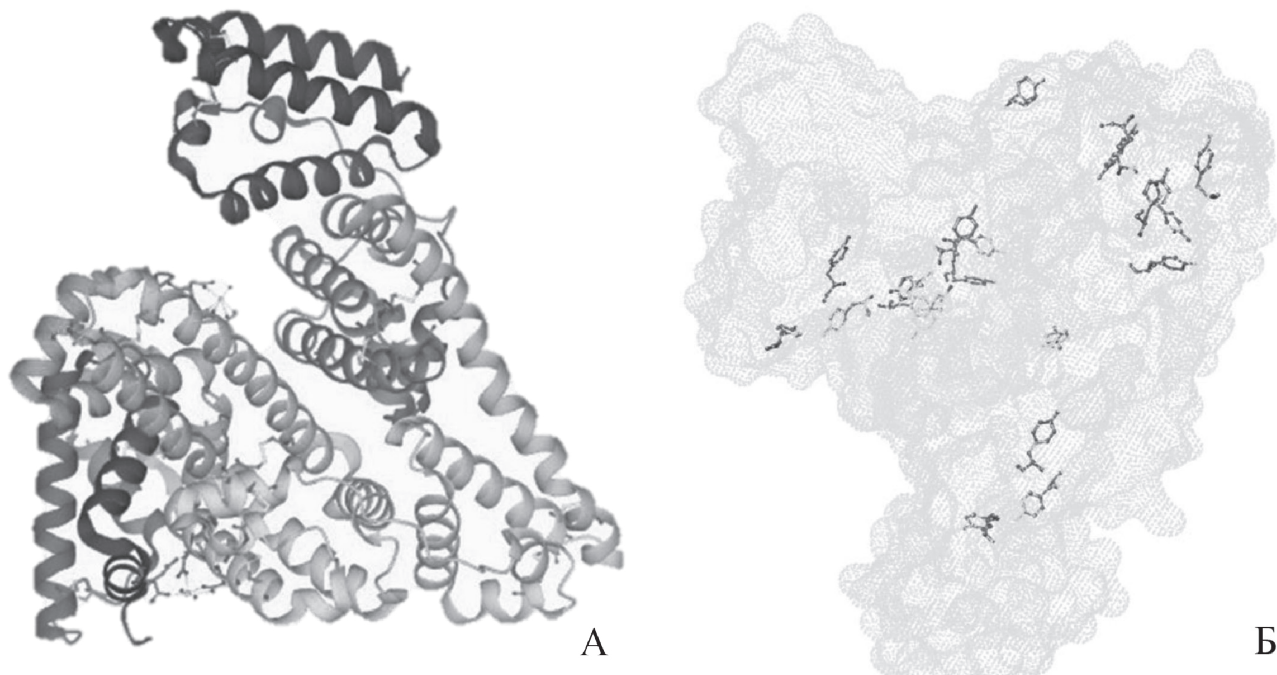


Рис. 1. Модель пространственной структуры сывороточного альбумина быка по Majorek et al. [6] (а) и локализация тирозина в ее пространственных доменах (б).

поля CHARMM, которые включают несколько возможных вариантов проведения квантово-химических расчетов: объединенный атом CHARMM19 [7], полностью атомный CHARMM22 [8] и его скорректированный по двугранному потенциалу вариант CHARMM22/CMAP и более поздние версии и модификации CHARMM27 и CHARMM36, CHARMM36m и CHARMM36IDPSFF [2, 4].

В силовом поле белка CHARMM22 парциальные заряды атомов получают из квантово-химических расчетов взаимодействий между модельными соединениями и водой, однако не смотря на то, что оно параметризовано для явной модели воды, оно часто используется с неявными растворителями [10].

Функция потенциальной энергии силового поля CHARMM22 имеет следующий вид [8]:

$$V = \sum_{bonds} k_b (b - b_0)^2 + \sum_{angles} k_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{dihedrals} k_\phi [1 + \cos(n\phi - \delta)] + \sum_{impropers} k_\omega (\omega - \omega_0)^2 + \sum_{Urey-Bradley} k_u (u - u_0)^2 + \sum_{nonbonded} \left( \epsilon \left[ \left( \frac{R_{min_{ij}}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{R_{min_{ij}}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} \right)$$

где  $k_b$ ,  $k_\theta$ ,  $k_\phi$ ,  $k_\omega$ ,  $k_u$  - силовые константы связи, угла, двугранного угла, неправильного двугранного угла и Ури-Бредли соответственно.

Вторым этапом оптимизации пространственной структуры трипептидов было применение полуэмпирического метода PM3 [11], в основе

которого лежат метод Хартри–Фока и приближение линейной комбинации атомных орбиталей для расчета молекулярных орбиталей. На обоих этапах оптимизации пространственной структуры, нами был использован алгоритм Флетчера–Ривса с применением нормы градиента 0.001 ккал/(А моль) [12]. Решение считалось найденным, когда была получена минимальная энергия системы.

Расчет электронных спектров поглощения осуществляли с использованием спектрального приближения ZINDO/S с учетом конфигурационных взаимодействий [13]. В качестве ключевых параметров брали силу осцилятора (UV oscillator strength) [9, 10] и изменение спина электрона при осуществлении перехода (UV-spin).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Расчет электронных спектров поглощения показал, в трипептидах содержащих пару тирозин-аланин присутствуют как устойчивые, так и вырождающиеся полосы (рис. 2). Так у трипептидов NYA и FYA наблюдаются сохранение полосы поглощения 142.93 нм, сопровождающееся изменением силы осцилятора. Подобная закономерность сохраняется для длин волн 188.6, 182.9 и 179.67 нм.

Полосы поглощения в областях 171.6 и 182.69 оказались более лабильны. Так у пептидов EYA и

УУА наблюдался батохромный сдвиг полосы до 173.68 нм, а у пептида СУА – 171.74 нм.

У пептидов СУА и УУА наблюдался так же батохромный сдвиг до 184.58 нм и 183.65 нм соответственно, тогда как в случае последовательности ЕУА был выявлен гипсохромный сдвиг до величины 182.43 нм.

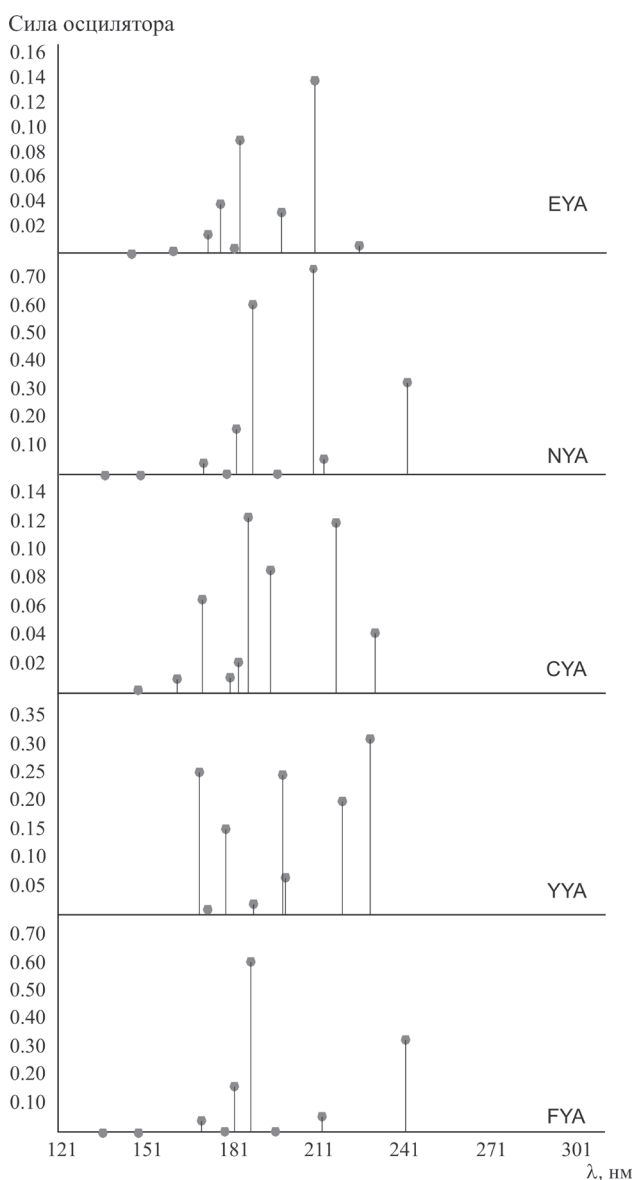


Рис. 2. Эволюция полос поглощения тирозина в трипептидах вида Rnd-Y-A

Для выяснения характера изменений в структуре исследуемых трипептидов, нами были рассчитаны длины связей между С $\alpha$  и бензольным кольцом, бензольным кольцом и гидроксильной группой и двух пептидных связей rnd – тирозин и тирозин аланин (Таблица 1). В качестве эталона сравнения нами были взяты соответствующие связи у молекулы тирозина.

Было установлено, что в каждом из представленных показателей наблюдается смещение интенсивности и максимумов поглощения за счет смещения электронной плотности как внутри молекулы тирозина, так и всего трипептида, что доказывается изменением длин связей С $\alpha$  – бензольное кольцо, бензольное кольцо – гидроксильная группа. Это позволяет предположить, что релокация неподеленных пар кислорода к сопряженной  $\pi$ -электронной системе бензольного кольца тирозина приводит к весьма значительным девиациям волнового сдвига и изменениям в интенсивности поглощения.

Анализ корреляции изменения длин связей С $\alpha$  – бензольное кольцо и пептидной связи между тирозином и аланином выявил высокий уровень зависимости ( $R = 0.993939$ ) между этими параметрами.

## ВЫВОДЫ

1. В каждом из рассмотренных показателей наблюдается смещение интенсивности и максимумов поглощения за счет смещения электронной плотности как внутри одной аминокислоты, так и всего трипептида, что доказывается изменением длин связей С $\alpha$  – бензольное кольцо, бензольное кольцо-ОН-радикал, пептидных связей. Наблюдаются как гипсохромные сдвиги максимумов поглощения (ЕУА, FYA), так и батохромные (СУА, УУА, NYA).
2. Близость места протонирования гидроксильной группы к  $\pi$ -электронной системе бензольного кольца тирозина приводит к весьма значительным девиациям волнового сдвига и изменениям в интенсивности поглощения тестируемых нами спектральных полос.

Таблица 1

Динамика изменения длин связей ключевых функциональных групп трипептидов

Трипептид	С $\alpha$ - бензол	бензол-ОН	пептидная связь 1	пептидная связь 2
У	2.5148	1.3673		
ЕУА	2.6929	1.3664	1.4161	1.4747
NYA	2.5147	1.3662	1.4285	1.4288
СУА	2.5101	1.367	1.4219	1.428
УУА	2.5064	1.3663	1.4224	1.4319
FYA	2.5098	1.3675	1.4292	1.4314

Глаголева Е. П., Артюхов В. Г., Луковилов Д. А., Лесных И. Е., Карташова Ю. С., Янкова С. О., Ливенцева С. Н., Колтаков И. А.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вернов С.Н., Григоров Н.Л., Логачев Ю.И., Чу-даков А.Е. // Доклады АН СССР. 1958. Том. 120, № 6, С. 231–1233.
2. Singer S.F. // Phys Rev Lett. Vol. 1. P. 181–183.
3. Балашев С.А. Межзвёздные облака молекулярного водорода на ранних стадиях эволюции Вселенной: диссертации на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук. Специальность 01.03.02 – астрофизика и звёздная астрономия. Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, 2011, 137 с.
4. Нгуен В.Х., Артюхов В.Г., Колтаков И.А. // Вестник Воронежского Государственного Университета Серия Химия Биология Фармация. 2018. № 2. С. 197–204.
5. Артюхов В.Г., Вашанов Г.А., Лавриненко И.А. // Биофизика. 2015. Vol. 60, № 2. С. 253–261.
6. Majorek K. A., Porebski P. J., Dayal A., Zimmerman M. D., Jablonska K., Stewart A. J., Chruszcz M., Minor W. // Mol. Immunol. 2012. Vol. 52, № 3–4. P. 174–182.
7. Reiher W.E. Theoretical studies of hydrogen bonding: PhD Thesis/dissertation, Manuscript. Harvard University, 1985. 413 p.
8. MacKerell A. D., Bashford D., Bellott M., Dunbrack R. L., Evanseck J. D., M. J. Field, Fischer S., Gao J., Guo H., Ha S., Joseph-McCarthy D., Kuchnir L., Kuczera K., Lau F. T., Mattos C., Michnick S., Ngo T., Nguyen D. T., Prodhom B., Reiher W. E., Roux B., Schlenkrich M., Smith J. C., Stote R., Straub J., Watanabe M., Wiórkiewicz-Kuczera J., Yin D., Karplus M. // J. Phys. Chem. B. 1998. Vol. 102, № 18. P. 3586–3616.
9. Mackerell A.D., Feig M., Brooks C.L. // J. Comput. Chem. 2004. Vol. 25, № 11. P. 1400–1415.
10. Chen J., Im W., Brooks C.L. // J. Am. Chem. Soc. 2006. Vol. 128, № 11. P. 3728–3736.
11. Stewart J.J.P. // J. Mol. Model. 2004. Vol. 10, № 2. P. 155–164.
12. Гилл Ф., Мюррей У., Райт М. Практическая оптимизация. Москва: Мир, 1985. 510 с.
13. Ridley J.E., Zerner M.C. Calculated spectra of benzaldehyde and benzoic acid // J. Mol. Spectrosc. 1979. Vol. 76, № 1–3. P. 71–85.
14. Demtröder W. Laser spectroscopy: basic concepts and instrumentation. 3rd ed. Berlin; New York: Springer, 2003. 987 p.
15. Robinson J.W. Atomic spectroscopy. 2nd ed., rev. expanded. New York: Marcel Dekker, 1996. 391 p.

*Воронежский государственный университет  
Глаголева Е. П., магистрант кафедры биофизи-  
ки и биотехнологии*

*Артюхов В. Г., д.б.н., профессор, зав. кафе-  
дрой биофизики и биотехнологии  
E-mail: artukhov@bio.vsu.ru*

*Луковилов Д. А., студент кафедры биофизики  
и биотехнологии*

*Лесных И. Е., студент кафедры биофизики и  
биотехнологии*

*Карташова Ю. С., студент кафедры биофизи-  
ки и биотехнологии*

*Янкова С. О., магистрант кафедры биофизи-  
ки и биотехнологии*

*Ливенцева С. Н., магистрант кафедры био-  
физики и биотехнологии*

*Колтаков И. А., к.б.н., доцент кафедры био-  
физики и биотехнологии  
E-mail: koltakov@bio.vsu.ru*

*Voronezh State University  
Glagoleva E. P., master, Department of Biophysics  
and Biotechnology*

*Artyukhov V. G., PhD., DSci., Full Professor;  
Head. Department of Biophysics and Biotechnology  
E-mail: artukhov@bio.vsu.ru*

*Lukovikov D. A., student, Department of  
Biophysics and Biotechnology*

*Lesnykh I. E., student, Department of Biophysics  
and Biotechnology*

*Kartashova Yu. S., student, Department of  
Biophysics and Biotechnology*

*Yankova S. O., master, Department of Biophysics  
and Biotechnology*

*Liventseva S. N., master, Department of  
Biophysics and Biotechnology*

*Koltakov I. A., PhD, Associate Professor,  
Department of Biophysics and Biotechnology  
E-mail: koltakov@bio.vsu.ru*

# QUANTUM CALCULATIONS OF ELECTRONIC ABSORPTION SPECTRA OF TYROSINE IN VARIOUS MICROENVIRONMENT CONDITIONS

E. P. Glagoleva, V. G. Artyukhov, D. A. Lukovikov, I. E. Lesnykh,  
Y. S. Kartashova, S. O. Yankova, S.N. Liventseva, I. A. Koltakov

*Voronezh State University*

**Abstract.** The study of the physicochemical regularities of the impact of high-energy radiation on biological and chemical systems of varying complexity is not only of fundamental, but also of certain practical interest. The influence of the local microenvironment of tyrosine on its ability to interact with optical radiation of the high-energy part of the electromagnetic spectrum with a wavelength of less than 210 nm is analyzed by computer chemistry methods.

As an object of study, we chose a simple protein that does not have an obligatory oligomeric organization - bovine serum albumin. The absence of any additional inclusions and prosthetic groups allowed us to significantly simplify the analyzed system.

The electronic absorption spectra were calculated using the ZINDO/S spectral approximation taking into account configuration interactions. As key parameters, we took the oscillator strength (UV oscillator strength) and the change in the electron spin during the transition (UV-spin)

It was found that in each of the presented indicators, there is a shift in the intensity and absorption maxima due to a shift in the electron density both inside the tyrosine molecule and the entire tripeptide, which is evidenced by a change in the lengths of bonds C $\alpha$  - benzene ring, benzene ring - hydroxyl group. This suggests that the relocation of lone oxygen pairs to the conjugated  $\pi$ -electron system of the benzene ring of tyrosine leads to very significant wave shift deviations and changes in absorption intensity.

The expansion of the spectral range of studies in the field of vacuum ultraviolet will provide information on the fundamental mechanisms of the biological action of ionizing radiation during their interaction with protein systems.

**Keywords:** serum albumin, tyrosine, tripeptides, electronic absorption spectra, CHARMM, ZINDO/S

## REFERENCES

1. Vernov S.N., Grigorov N.L., Logachev YU.I., Chudakov A.Ye. Doklady AN SSSR, 1958, Tom. 120, № 6, S. 231–1233.
2. Singer S.F., Phys Rev Lett., Vol. 1, P. 181–183.
3. Balashev S.A. Mezhdzvyozdnye oblaka molekulyarnogo vodoroda na rannih stadiyah evolyucii Vselennoj: dissertacii na soiskanie uchyonoj stepeni kandidata fiziko-matematicheskikh nauk. Special'nost' 01.03.02 – astrofizika i zvyozdnaya astronomiya. Fiziko-tehnicheskij institut im. A.F. Ioffe RAN, 2011, 137 p.
4. Nguen V.H., Artyuhov V.G., Koltakov I.A., Vestnik Voronezhskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya: Himiya Biologiya Farmaciya, 2018, № 2, S. 197–204.
5. Artyuhov V.G., Vashanov G.A., Lavrinenko I.A., Biofizika, 2015, Vol. 60, № 2, S. 253–261.
6. Majorek K. A., Porebski P. J., Dayal A., Zimmerman M. D., Jablonska K., Stewart A. J., Chruszcz M., Minor W. Mol. Immunol., 2012, Vol. 52, № 3–4, P. 174–182.
7. Reiher W.E. Theoretical studies of hydrogen bonding: PhD Thesis/dissertation, Manuscript. Harvard University, 1985. 413 p.
8. MacKerell A. D., Bashford D., Bellott M., Dunbrack R. L., Evanseck J. D., M. J. Field, Fischer S., Gao J., Guo H., Ha S., Joseph-McCarthy D., Kuchnir L., Kuczera K., Lau F. T., Mattos C., Michnick S., Ngo T., Nguyen D. T., Prodhom B., Reiher W. E., Roux B., Schlenkrich M., Smith J. C., Stote R., Straub J., Watanabe M., Wiórkiewicz-Kuczera J., Yin D., Karplus M. J. Phys. Chem. B., 1998, Vol. 102, № 18, P. 3586–3616.
9. Mackerell A.D., Feig M., Brooks C.L. J. Comput. Chem., 2004, Vol. 25, № 11, P. 1400–1415.
10. Chen J., Im W., Brooks C.L. J. Am. Chem. Soc., 2006, Vol. 128, № 11, P. 3728–3736.
11. Stewart J.J.P. J. Mol. Model., 2004, Vol. 10, № 2, P. 155–164.
12. Gill F., Myurrej U., Rajt M. Prakticheskaya optimizaciya. Moskva: Mir, 1985, 510 p.
13. Ridley J.E., Zerner M.C. Calculated spectra of benzaldehyde and benzoic acid J. Mol. Spectrosc., 1979, Vol. 76, № 1–3, P. 71–85.
14. Demtröder W. Laser spectroscopy: basic concepts and instrumentation. 3rd ed. Berlin ; New York: Springer, 2003, 987 p.
15. Robinson J.W. Atomic spectroscopy. 2nd ed., rev.expanded. New York: Marcel Dekker, 1996, 391 p.