БИОФИЗИКА, 2023, том 68, № 5, с. 837–849

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА

УДК 577.322

In silico ИССЛЕДОВАНИЕ СОЛЬВАТАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ В РАСТВОРАХ БИОМОЛЕКУЛ: ВОЗМОЖНОСТИ ПОДХОДА, ОСНОВАННОГО НА 3D-РАСПРЕДЕЛЕНИИ АТОМНОЙ ПЛОТНОСТИ РАСТВОРИТЕЛЯ

© 2023 г. С.Е. Кручинин*, М.В. Федотова*, Е.Е. Кислинская, Г.Н. Чуев***, #**

**Институт химии растворов им. Г. А. Крестова РАН, ул. Академическая, 1, Иваново, 153045, Россия*

***Ивановский государственный университет, Россия, 153025, Иваново, ул. Ермака, 39*

****Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Институтская ул., 3, Пущино Московской области, 142290, Россия*

#E-mail: genchuev@rambler.ru

Поступила в редакцию 03.07.2023 г.
После доработки 18.07.2023 г.
Принята к публикации 19.07.2023 г.

Биомолекулярная сольватация играет одну из ключевых ролей в живой природе. От особенностей протекания данного процесса зависит биологическая активность молекул и выполнение ими своих целевых функций. Однако исследование гидратации биомолекул является нетривиальной задачей как для экспериментальных методов, так и для компьютерного моделирования. В работе демонстрируются возможности неэмпирического подхода 3D-SDFT/3D-RISM, основанного на 3D-распределении атомной плотности растворителя, для исследования особенностей гидратации биомолекул на примере ряда аминокислот – Gly-ZW, L-Ala-ZW, L-Val-ZW, L-Pro-ZW, двух модельных белков – BPTI (ингибитора трипсина бычьей поджелудочной железы) и PTP1B (белковой тирозинфосфатазы 1B), а также комплексов белка PTP1B с ингибиторами. Представленные результаты показывают, что подход позволяет в деталях и одновременно целостно описывать структуру гидратной оболочки биомолекул.

Ключевые слова: биомолекулы, гидратация, структура гидратной оболочки, методы теории жидкостей.

DOI: 10.31857/S0006302923050010, **EDN:** PFYCDD

В живом организме биомолекулы вовлечены в большое количество межмолекулярных взаимодействий – с водой (гидратация), между собой (ассоциация, самоагрегация), с присутствующими в среде ионами (ассоциация) или с лигандами (комплексообразование). Среди них одну из ключевых ролей играют взаимодействия с водой, от специфики проявления которых существенным образом зависит биологическая активность молекул. В то же время изучение гидратации биомолекул, особенно биомакромолекул, на атомном и атомно-молекулярном уровнях является нетривиальной задачей из-за динамического поведения молекул воды в биологической среде. Определение параметров данного процесса с помощью экспериментальных методов во многих случаях представляет значительную проблему, как техническую (исследования требуют больших временных затрат, а интерпретация получаемых данных затруднена необходимостью разделения различных эффектов, определяющихся множеством взаимодействий), так и финансовую (стоимость многих соединений, реактивов довольно высока). Поэтому для подобных исследований используются различные подходы численного моделирования, начиная от квантово-химических расчетов и заканчивая расчетами методом молекулярной динамики. Современные вычислительные методы дают широкие возможности для изучения физико-химических свойств растворов биомолекул, позволяя сузить экспериментальный поиск. Будучи комплементарными к экспериментальным подходам, вычислительные мето-

Сокращения: MOZ – молекулярная модель Орнштейна-Цернике, RISM – модель взаимодействующих силовых центров, SDFT – теория классического функционала атомной плотности, 3D-RISM – трехмерная модель взаимодействующих силовых центров, ПФР – пространственные функции распределения, ПГЧ – полное гидратное число, BPTI – ингибитор трипсина бычьей поджелудочной железы, PTP1B – белковая тирозинфосфатаза 1B.

ды позволяют, в том числе, исследовать особенности сольватации биомолекул в растворах и определить молекулярные детали структуры их сольватной (гидратной) оболочки, оценить термодинамические и структурные параметры сольватированных (гидратированных) комплексов и пр. Наиболее активно подобные исследования ведутся методами молекулярной динамики. Однако использование этих методов для исследования сольватированных биомолекул ограничено значительными затратами вычислительных ресурсов (объема оперативной памяти и процессорного времени), что, в том числе, связано с необходимостью учитывать влияние растворителя на состояние биомолекулы. Так, при использовании в расчетах моделей явного растворителя эти методы оказываются чрезвычайно дорогостоящими в вычислительном отношении, а сами расчеты (даже на суперкомпьютерах) занимают недели или месяцы при выполнении одной задачи [1–3]. Отметим, что для воды на сегодняшний день предложено более 40 таких моделей [4, 5], однако все они имеют те или иные расхождения с экспериментальными свойствами воды. Наиболее точными с точки зрения воспроизведения экспериментальных структурных характеристик считаются модели SPC/E (Simple Point Charge Extended model) [6] и TIP3P (Transferable Intermolecular Potential with 3 Points) [7], которые очень популярны в моделировании биомолекул [8], включая белки.

Существуют более быстрые, но менее точные методы моделирования, в которых растворитель рассматривается как неявный континуум (модели неявного растворителя), такие как обобщенный метод Борна [9, 10] и метод Пуассона–Больцмана [11]. Вместе с тем, если растворитель представляется как сплошная диэлектрическая среда, то учет эффектов растворителя, связанных с его молекулярной структурой, становится невозможным. Как результат, такой метод не может предсказать расположение молекул растворителя вокруг растворенного вещества. Однако пространственное распределение молекул растворителя имеет решающее значение для понимания того, какую роль сольватация играет в протекании различных физико-химических процессов.

Существует альтернативный вариант вышеописанным методам с явным и неявным моделированием растворителей – это статистико-механические подходы теории жидкостей, в частности, подходы теории классического функционала плотности [12–14] или теории интегральных уравнений, такие как молекулярная модель Орнштейна–Цернике (MOZ) [15–17] и модель взаимодействующих силовых центров (RISM) [18–20]. В этих подходах обычно используется атомарная модель явного растворителя без явного моделирования его движения в растворе. Это позволяет методам теории жидкостей прогнозировать точное распределение растворителя, подобно методам молекулярной динамики с учетом явного растворителя, но при этом сохранять относительно низкие вычислительные затраты как в случае методов с моделями неявного растворителя.

Методы теории жидкостей основаны на аппарате функций распределения, поскольку они рассматривают жидкость как статистическое распределение частиц (атомов, молекул или ионов). В этом смысле теория классического функционала атомной плотности (SDFT) [21–25], которая оперирует с атомной плотностью растворителя как коллективной переменной, может рассматриваться как обобщенная теория для методов, базирующихся на распределении атомной плотности, например, для RISM-подхода. В таком контексте RISM, как и общий подход SDFT, исследует атомную плотность $\rho_i(\mathbf{r})$ (жирным шрифтом здесь и далее указывается вектор), определяя распределение i-ых атомов молекул растворителя (s) вокруг растворенного вещества:

$$\rho_i(\mathbf{r}) = \left\langle \sum_{s=1}^{N} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{x}_{si}) \right\rangle, \qquad (1)$$

где N – общее число молекул растворителя, $\mathbf{x}_{si}$ – их мгновенные положения.

С другой стороны, трехмерную модель взаимодействующих силовых центров (3D-RISM) [26, 27] можно рассматривать как приближение модели MOZ или как 3D-версию SDFT [28], которая учитывает детали уже молекулярной структуры компонентов раствора. Само по себе использование модели MOZ для расчетов биомолекулярной сольватации очень затратно, поскольку модель MOZ требует вычисления шестимерных интегралов. Поэтому такие вычисления не просто очень сложны, но и плохо поддаются анализу и интерпретации. Как результат, вычислительные ресурсы, требуемые для MOZ-расчетов, сопоставимы с теми, что требуются для молекулярной динамики.

3D-RISM подход, оперирующий с 3D-распределением частиц в статистическом ансамбле, постулирует, что молекулярная жидкость может рассматриваться как «эффективный» раствор атомов, но при этом учитывает меж- и внутримолекулярные взаимодействия только через восприимчивость однородной системы (т.е. через атом-атомные структурные факторы невозмущенной молекулярной жидкости). Благодаря этому теоретическому упрощению, метод 3D-RISM стал чрезвычайно популярным и активно используется для расчета свойств систем с различными сольватированными биомолекулами, включая белки и их комплексы с лигандами (см., например, работы [29–50]).

Методы, основанные на 3D-распределении атомной плотности, дают возможность исследовать параметры сольватации молекул с учетом вкладов каждого из компонентов в энергетические и структурные изменения, происходящие в растворах, установить взаимосвязь этих изменений с типом межчастичных взаимодействий, что является принципиальным для понимания на молекулярном и атомно-молекулярном уровне различных эффектов, проявляемых в биологических системах. Отметим, что вышеназванные методы, кроме определения параметров структуры гидратной оболочки, дают также возможность оценить свободную энергию сольватации, конформационную стабильность молекул, энергию и места связывания лигандов с белками.

В данной работе мы продемонстрируем только один аспект применения таких методов, а именно, их применение для описания структуры гидратной оболочки ряда биомолекул по результатам собственных исследований.

МЕТОДЫ, ОСНОВАННЫЕ НА 3D-РАСПРЕДЕЛЕНИИ АТОМНОЙ ПЛОТНОСТИ РАСТВОРИТЕЛЯ

Задача описания структурных особенностей гидратации биомолекулы в методе 3D-SDFT сводится к оценке профилей плотности атомов молекул воды $\rho_i(\mathbf{r})$ (i = O, H), находящейся под действием внешнего потенциала взаимодействия «биомолекула–растворитель» $\upsilon(\mathbf{r})$. Как было показано нами ранее [24, 25, 51], строгая классическая формулировка SDFT должна быть основана на построении производящего функционала, зависящего от двух связанных переменных – плотности частиц (например, атомов молекул растворителя) $\rho_i(\mathbf{r})$ и эффективного парного потенциала межчастичных взаимодействий $J_i(\mathbf{r})$, и дальнейших его оценках. Плотности и эффективный потенциал должны быть получены соответствующей минимизацией функционала. Опуская все технические детали, которые можно найти в работах [24, 25, 51], мы приводим здесь только окончательные соотношения для плотностей и эффективного потенциала. В векторной форме они могут быть записаны как

$$\begin{cases} \rho(\mathbf{r}) = \rho_0 \left[1 + \xi\left([J], \mathbf{r}\right)\right] e^{-\beta J(\mathbf{r})} \\ J(\mathbf{r}) = \upsilon(\mathbf{r}) + \phi(\mathbf{r}) \end{cases}. \qquad (2)$$

Смысл соотношений (2) довольно прост. Первое уравнение характеризует плотность неоднородной молекулярной жидкости, находящейся под действием эффективного потенциала $J(\mathbf{r})$, а второе определяет сам эффективный потенциал, включающий в себя потенциал межмолекулярного взаимодействия «биомолекула–растворитель» $\upsilon(\mathbf{r})$ и потенциал межмолекулярного взаимодействия «растворитель–растворитель» $\phi(\mathbf{r})$. Первое из соотношений (2) содержит член $\xi([J], \mathbf{r})$, называемый функционалом корреляционной полости, который описывает внутримолекулярные корреляции растворителя. Из-за наличия последних корреляционная полость определяет отклонение распределения атомной плотности растворителя от Больцмановского распределения. Все разнообразие моделей SDFT заключается в выражениях для функционала корреляционной полости и межмолекулярного потенциала $\phi(\mathbf{r})$. В общем случае последний можно представить в виде функционала плотности:

$$-\beta\phi(\mathbf{r}) = \int \left(\mathbf{S}_m^{-1}\left(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|\right) - \mathbf{S}^{-1}\left(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|\right)\right)\Delta\rho\left(\mathbf{r}'\right) d\mathbf{r}' + b\left(\rho\left(\mathbf{r}\right)\right), \qquad (3)$$

где $\mathbf{S}_m(\mathbf{r})$ и $\mathbf{S}(\mathbf{r})$ – структурные факторы одной молекулы растворителя (воды) и однородной жидкости (воды) соответственно, $b(\rho(\mathbf{r}))$ – мостиковый (бридж-) функционал, учитывающий вклады, выходящие за пределы линейного отклика. Для последнего можно использовать различные приближения, а его зависимость от расстояния можно извлечь из результатов молекулярного моделирования (см., например, работы [52, 53]).

Функционал корреляционной полости может быть представлен как кластерное разложение через функцию Майера, $f(\mathbf{r}) = e^{-\beta J(\mathbf{r})} - 1$, и внутримолекулярные корреляционные функции s-го порядка, $\mathbf{D}^{(s)}$:

$$\xi\left([J], \mathbf{r}\right) = \sum_{s=2}^{M} \frac{\mathrm{Tr}\left[\mathbf{D}^{(s)} f^{s-1}\right]}{(s-1)!}, \qquad (4)$$

где M – общее количество атомов молекулы растворителя. Отметим, что внутримолекулярная корреляционная функция 2-го порядка $\mathbf{D}^{(2)}(\mathrm{r})$ зависит только от длин связей l_{ij}, 3-го порядка – от длин связей и углов между связями, 4-го – от длин связей, углов между связями и двугранных углов и т.д.

В методе 3D-RISM, как и в упрощенной версии SDFT, предполагается, что функционал корреляционной полости зависит только от длин связей и может быть выражен следующим образом [25]:

$$\xi(\mathbf{r}) \approx \xi^{\mathrm{RISM}}(\mathbf{r}) \equiv \exp\left[\int\left(1-\mathbf{S}_m^{-1}(|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|)\right)\Delta\rho(\mathbf{r}')\,d\mathbf{r}'\right]-1. \quad (5)$$

Если ввести новую переменную – прямую корреляционную функцию $c(\mathbf{r})$:

$$c(\mathbf{r}) \equiv \int S^{-1}(|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|)\Delta\rho(\mathbf{r}')d\mathbf{r}', \quad (6)$$

то 3D-RISM-уравнения могут быть записаны в форме:

$$\rho(\mathbf{r}) = \rho_0 e^{-\beta\upsilon(\boldsymbol{r})+\frac{\Delta\rho(\mathbf{r})}{\rho_0}-c(\boldsymbol{r})+b(\boldsymbol{r})}, \quad (7а)$$

$$\Delta\rho(\mathbf{r}) = \rho_0 \int S(|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|)\,\mathrm{c}(\mathbf{r}')\,d\mathbf{r}', \quad h(\mathbf{r}) = \frac{\Delta\rho(\mathbf{r})}{\rho_0}. \quad (7б)$$

Второе уравнение (7б) в этой системе является интегральным уравнением Орнштейна–Цернике, которое связывает прямую корреляционную функцию $c(\mathbf{r})$ с полной корреляционной функцией $h(\mathbf{r})$. Так как обе эти функции неизвестны, то используют еще одно уравнение, чтобы замкнуть систему. Таким замыкающим уравнением для (7б) является (7а).

Метод 3D-RISM оперирует с пространственными (3D-) функциями распределения (ПФР) $g_\gamma(\mathbf{r})$ взаимодействующих атомов молекул растворителя γ вокруг молекулы растворенного вещества, находящейся в положении $\mathbf{r}$. ПФР $g_\gamma(\mathbf{r}) \equiv g_\gamma(r,\Omega)$ представляет собой трехмерную функцию распределения плотности атомов растворителя в локальной системе координат, связанной с молекулой растворенного вещества. Для ее получения молекулу растворенного вещества фиксируют в начале локальной (сферической) системы координат и характеризуют локальные плотности атомов, вычисляя как радиальные r, так и угловые ($\Omega = (\theta, \varphi)$) координаты вектора $\mathbf{r}$.

Конкретизируя схему получения структурных параметров гидратации биомолекул, 3D-RISM уравнение в форме Орнштейна–Цернике для корреляций «растворенное вещество–растворитель» может быть переформулировано следующим образом [54]:

$$h_\gamma(\mathbf{r}) = \sum_\alpha \int d\mathbf{r}'\, c_\alpha(\mathbf{r}-\mathbf{r}')\chi_{\alpha\gamma}(r'), \quad (8)$$

где $h_\gamma(\mathbf{r})$ и $c_\gamma(\mathbf{r})$ – полная и прямая атомно-молекулярные корреляционные функции атомов γ молекулы растворителя (воды в интересующем нас случае). При этом ПФР определяется как $g_\gamma(\mathbf{r}) = h_\gamma(\mathbf{r}) + 1$. Атом-атомная восприимчивость чистого растворителя $\chi_{\alpha\gamma}(r)$ – существенный параметр для 3D-RISM уравнения, она имеет вид:

$$\chi_{\alpha\gamma}(r) = \omega_{\alpha\gamma}(r) + \rho_\alpha h_{\alpha\gamma}(r), \quad (9)$$

где $\omega_{\alpha\gamma}(r) = \Delta(r - l_{\alpha\gamma}) / \left(4\pi l_{\alpha\gamma}^2\right)$ – внутримолекулярная корреляционная функция растворителя, $l_{\alpha\gamma}$ – внутримолекулярное расстояние между атомами α и γ молекулы растворителя, $h_{\alpha\gamma}(r)$ – межмолекулярная атом-атомная полная корреляционная функция растворителя, ρ_α – плотность растворителя. Из-за пренебрежения угловыми зависимостями во внутримолекулярных корреляционных функциях вычислительные затраты метода 3D-RISM на два порядка меньше, чем расчеты SDFT по формулам (2)–(4).

В общем виде замыкание для уравнения (8) может быть записано [21] как:

$$g_\gamma(\mathbf{r}) = \exp[-\beta U_\gamma(\mathbf{r}) + h_\gamma(\mathbf{r}) - c_\gamma(\mathbf{r}) + b_\gamma(\mathbf{r})], \quad (10)$$

где $U_\gamma(\mathbf{r})$ – потенциал взаимодействия атома γ молекулы растворителя и молекулы растворенного вещества, $\beta = 1/k_\mathrm{B}T$, k_B – постоянная Больцмана, T – абсолютная температура.

На сегодняшний день предложены несколько видов замыканий, которые отличаются друг от друга математической формулировкой бридж-функционала (или бридж-функции) $b_\gamma(\mathbf{r})$. Среди них замыкание Коваленко–Хираты считается одним из лучших с точки зрения как численной стабильности, так и разумной точности [55, 56] получаемого решения, и наиболее часто используется в 3D-RISM-расчетах биомолекулярной сольватации. Оно имеет вид:

$$h_\gamma(\mathbf{r}) = \begin{cases} \exp(d_\gamma(\mathbf{r})) - 1, & d_\gamma(\mathbf{r}) \le 0 \\ d_\gamma(\mathbf{r}), & d_\gamma(\mathbf{r}) > 0 \end{cases} \quad (11)$$
$$d_\gamma(\mathbf{r}) = -\beta U_\gamma(\mathbf{r}) + h_\gamma(\mathbf{r}) - c_\gamma(\mathbf{r}).$$

Исходя из вышеизложенного, в численной схеме решения интегральных уравнений методами 3D-SDFT/3D-RISM, основанными на 3D-распределении атомной плотности растворителя, входными данными являются межмолекулярный потенциал взаимодействия «биомолекула–растворитель» $U_\gamma(\mathbf{r})$; восприимчивость чистого растворителя $\chi_{\alpha\gamma}(r)$, напрямую связанная с его внутримолекулярными корреляционными функциями, $\omega_{\alpha\gamma}(r)$; мостиковая функция (или функционал) $b(\mathbf{r})$ и параметры, определяющие термодинамическое состояние растворителя (T и ρ) (рис. 1). В наших расчетах мы использовали модель воды SPC/E. Результатом численного решения 3D-интегральных уравнений являются ПФР $g_\gamma(\mathbf{r})$, при помощи которых выполняется анализ сольватационных эффектов в растворах биомолекул. Кроме межмолекулярных расстояний, из 3D-функции может быть рассчитано полное гидратное число (ПГЧ) биомолекулы путем интегрирования ПФР «биомолекула–атом кислорода

Рис. 1. Стандартная численная схема решений интегральных уравнений теории классического функционала атомной плотности для молекулярной жидкости (ТФП – теория функционала плотности, БФП – быстрое Фурье-преобразование).

молекулы воды (O_w)» по объему первой гидратной оболочки:

$$n_{Ow} = \rho_{Ow} \int_{V_1} g_{Ow}(\mathbf{r})\, dV. \qquad (12)$$

ОСОБЕННОСТИ ГИДРАТАЦИИ АМИНОКИСЛОТ

Аминокислоты – важнейшие органические соединения, в числе прочих обеспечивающие существование и функционирование живых систем. В живом организме они могут находиться в свободном состоянии и как отдельные структурные компоненты белков и пептидов. Их молекулы содержат карбоксильную группу и аминогруппу, которые играют существенную роль в управлении гидрофильностью и, таким образом, взаимодействием биомолекулы с водой и растворенными гидрофильными и/или заряженными соединениями. В водных растворах при физиологическом pH аминокислоты существуют преимущественно в цвиттер-ионной (ZW) форме (рис. 2а). Ниже будут продемонстрированы результаты применения метода 3D-SDFT/3D-RISM к описанию особенностей структуры гидратной оболочки четырех протеиногенных аминокислот с разными радикалами (R) – глицина (Gly-ZW), L-аланина (L-Ala-ZW), L-валина (L-Val-ZW) и L-пролина (L-Pro-ZW) [34–38, 57, 58].

Методы, основанные на 3D-распределении атомной плотности, при помощи ПФР позволяют определить локализацию растворителя вблизи функциональных групп биомолекул. На рис. 3 в качестве примера приведены ПФР атомов кислорода и водорода молекул воды вокруг L-Val-ZW. Из рис. 3 видно, что молекулы воды ориентированы атомами водорода к отрицательно заряженной карбоксильной группе, а атомами кислорода – к положительной заряженной аминогруппе аминокислоты. Соответствующие характеристические расстояния между молекулами растворителя и L-Val-ZW составляют в случае группы $-COO^-$ 0.29 нм ($r_{O(W)}-COO$) и 0.16 нм ($r_{H(W)}-COO$), в случае группы $-NH_3^+$ 0.29 нм ($r_{O(W)}-NH_3$) и 0.18 нм ($r_{H(W)}-NH_3$), в случае метильных групп 0.30–0.35 нм ($r_{O(W)}-CH_3$). По результатам расчетов ПГЧ данной аминокислоты составляет 26 молекул воды. При этом в ближнем окружении групп $-COO^-$ и $-NH_3^+$ находится по 5 молекул воды, в ближнем окружении гидрофобной группы $-CH_3$, ближайшей к аминогруппе – 9 молекул воды, в ближнем окружении гидрофобной группы $-CH_3$, удаленной от аминогруппы – 7 молекул воды. В то же время локализация растворителя отсутствует вблизи гидрофобных фрагментов –CH аминокислоты.

На основе ПФР можно также определить количество водородных связей, образующихся между L-Val-ZW и растворителем. Так, по полученным данным, из 5 молекул воды, находящихся в первой гидратной оболочке группы $-COO^-$, 4 молекулы формируют H-связи с группой, а из 5 молекул воды, находящихся в ближнем окружении группы $-NH_3^+$, – только 2 молекулы H-связаны с ней. Как показали результаты исследова-

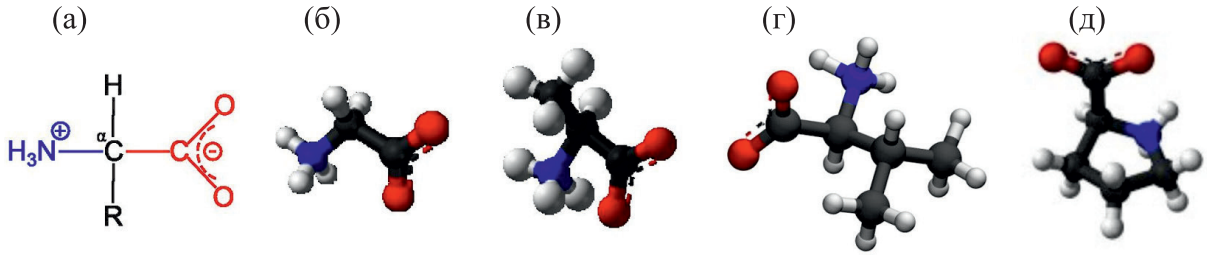

Рис. 2. Структурная формула аминокислоты в цвиттер-ионной (ZW) форме (а). Пространственные конфигурации Gly-ZW (б), L-Ala-ZW (в), L-Val-ZW (г) и L-Pro-ZW (д).

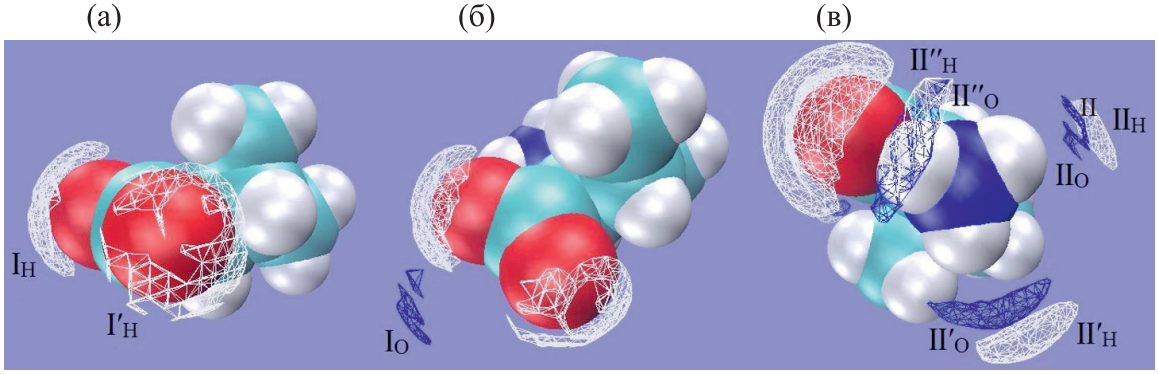

Рис. 3. ПФР атомов кислорода (синий цвет) и водорода (белый цвет) молекул воды вокруг L-Val-ZW. (а) – Изоповерхности (I) ПФР вблизи карбоксильной группы соответствуют $g_{\text{Val-H}_W}(\mathbf{r}) = 3.7$; (б) – изоповерхности (I) ПФР вблизи карбоксильной группы соответствуют $g_{\text{Val-O}_W}(\mathbf{r}) = 3.7$ и $g_{\text{Val-H}_W}(\mathbf{r}) = 3.4$; (в) – изоповерхности (II) ПФР вблизи аминогруппы и гидрофобной части соответствуют $g_{\text{Val-O}_W}(\mathbf{r}) = 4.0$ и $g_{\text{Val-H}_W}(\mathbf{r}) = 1.9$.

ний, возможность образования Н-связей между метильными группами и молекулами воды существует, но вероятность такого Н-связывания очень низка.

В табл. 1 приведена обобщенная информации о структуре гидратной оболочки исследованных аминокислот, согласно которой, все биомолекулы хорошо гидратированы, что следует из их ПГЧ, а также количества молекул воды в ближнем окружении их функциональных групп. Следует отметить, что ПГЧ увеличивается в ряду Gly-ZW→L-Ala-ZW→L-Val-ZW, т.е. по мере усложнения строения, а именно, радикала молекулы аминокислоты (табл. 1, рис. 2). Однако ПГЧ L-Pro-ZW оказывается меньше, чем у L-Val-ZW (табл. 1), что связано с компактным пространственным расположением пирролидинового кольца, и соответственно, меньшим объемом, который занимает гидратная оболочка пролина. Сравнительный анализ структурных параметров гидратации Gly-ZW, L-Ala-ZW, L-Val-ZW и L-Pro-ZW (табл. 1) показывает, что карбоксильная группа более гидрофильна и образует большее количество Н-связей с молекулами воды, чем аминогруппа. При этом число молекул воды вблизи аминогруппы (иминогруппы в случае пролина) и число образуемых ею Н-связей практически одинаковы для всех аминокислот, а аналогичные параметры карбоксильной группы отличаются (табл. 1). Данная структурная особенность связана со стерическими ограничениями по отношению к карбоксильной группе, которые появляются из-за конкретной локализации радикала в L-Ala-ZW, L-Val-ZW и L-Pro-ZW в сравнении с Gly-ZW, где радикал отсутствует (рис. 2). Отметим также, что количество растворителя в ближнем окружении группы $-COO^-$ пролина существенно выше по сравнению с таковым у других аминокислот, что обусловлено особенностями его структуры - карбоксильная группа L-Pro-ZW значительно удалена от его пирролидинового

Таблица 1. Структурные параметры гидратации Gly-ZW, L-Ala-ZW, L-Val-ZW и L-Pro-ZW

Функциональная группа	Гидратное число (ГЧ) и число Н-связей	Gly-ZW	L-Ala-ZW	L-Val-ZW	L-Pro-ZW
Карбоксильная группа	ГЧ	6	6	5	8
	Н-связи	6	4	4	4
Амино(имино) группа	ГЧ	5	5	5	4
	Н-связи	2	2	2	2
Гидрофобная часть	ГЧ	6 (группа $-CH_2$)	11 (группа $-CH_3$)	16 (группы $-CH_3$)	13 (пирролидиновое кольцо)
Аминокислота	Полное ГЧ	17	21	26	25

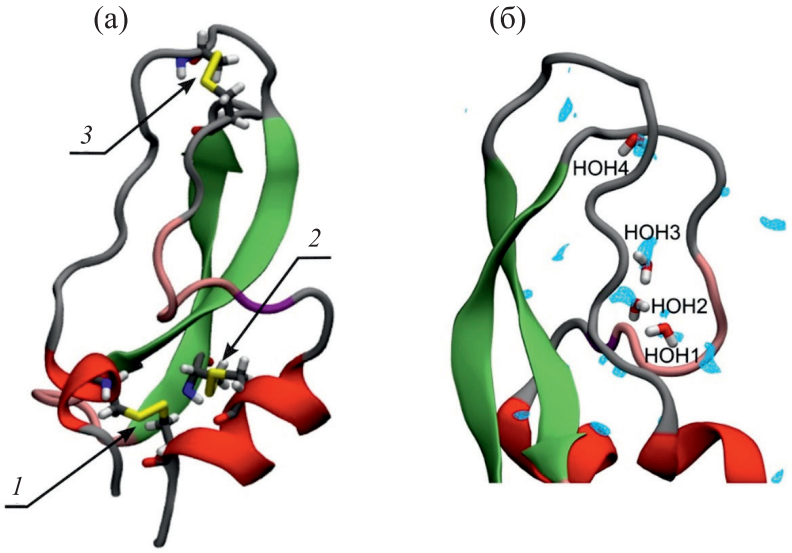

Рис. 4. (а) – Визуализация 3D-конформации белка BPTI в кристаллической форме II (PDB id: 5PTI). Дисульфидные связи обозначены 1 (Cys5-Cys55), 2 (Cys30-Cys51), 3 (Cys14-Cys38). (б) – Расположение внутренних молекул воды (HOH1, HOH 2, HOH 3 и HOH 4) в структуре BPTI, полученное из 3D-SDFT/3D-RISM расчета (показаны голубым цветом) и найденное в эксперименте (показаны в виде молекул) [59].

кольца и, таким образом, доступна для взаимодействия с молекулами воды.

Как видно из представленных результатов, подход, основанный на 3D-распределении атомной плотности растворителя, позволяет в деталях и одновременно целостно описывать структуру гидратной оболочки аминокислот.

ОСОБЕННОСТИ ГИДРАТАЦИИ БЕЛКОВ

Хорошо известно, что гидратация белков в растворах играет одну из определяющих ролей в протекании множества жизненно важных процессов. Взаимодействия белков с водой имеют решающее значение для их структуры, динамики, фолдинга, функционирования, а также могут оказывать существенное влияние на стабилизацию их комплексов с лигандами. Метод 3D-SDFT/3D-RISM, как было неоднократно показано (см., напр., [30, 32, 42, 46, 47]), довольно точно воспроизводит 3D-молекулярную картину гидратации белка с уровнем детализации, как правило, не доступным эксперименту. Ниже будут продемонстрированы результаты его применения к описанию особенностей структуры гидратной оболочки белков на примере ингибитора трипсина бычьей поджелудочной железы (BPTI) и белковой тирозинфосфатазы 1B (PTP1B), а также комплексов PTP1B с ингибиторами [49, 50].

БЕЛКОВЫЙ ИНГИБИТОР ТРИПСИНА

Ингибитор трипсина бычьей поджелудочной железы (PDB id: 5PTI [59]) – один из самых маленьких и простых глобулярных белков с молекулярной массой 6.62 кДа (рис. 4а). Его аминокислотная последовательность, состоящая из 58 аминокислотных остатков, стабилизирована тремя дисульфидными связями (рис. 4а) [60], что обеспечивает формирование компактной и очень стабильной третичной структуры, которая даже в водном растворе близка к кристаллической [61].

Помимо дисульфидных связей, дополнительную стабилизацию структуры BPTI обеспечивают четыре молекулы воды, «заглубленные» внутри белка («внутренние» молекулы воды) [62]. Эти сильно и специфически связанные (Н-связями) молекулы воды являются неотъемлемым элементом нативной структуры белка не только в его кристаллической форме, но и в водном растворе [61, 64]. Как видно из рис. 4б, результаты 3D-SDFT/3D-RISM-расчетов [49] хорошо согласуются с рентгенокристаллографическими данными [59] – «внутренние» молекулы воды находятся в положениях, близких к экспериментальным, а именно, внутри белка вблизи остатков Glu7, Tyr10, Pro13, Arg39 и Lys41. Положения были определены из ПФР $g_{\mathrm{BPTI\text{-}O}_W}(\mathbf{r})$ (рис. 5). При этом молекула воды W4 пространственно изолирована в небольшой полости BPTI, а остальные молекулы W1, W2 и W3 образуют Н-связанный кластер в большой щели (рис. 4б). Как показал анализ ПФР $g_{\mathrm{BPTI\text{-}H}_W}(\mathbf{r})$ (рис. 5б), все «внутренние» молекулы воды образуют водородные связи с соответствующими остатками белка: W4 с остатками Cys38, Cys14, Thr11, а W1, W2 и W3 с остатками Pro8, Tyr10, Asn43, Lys41 и Asn44 [49].

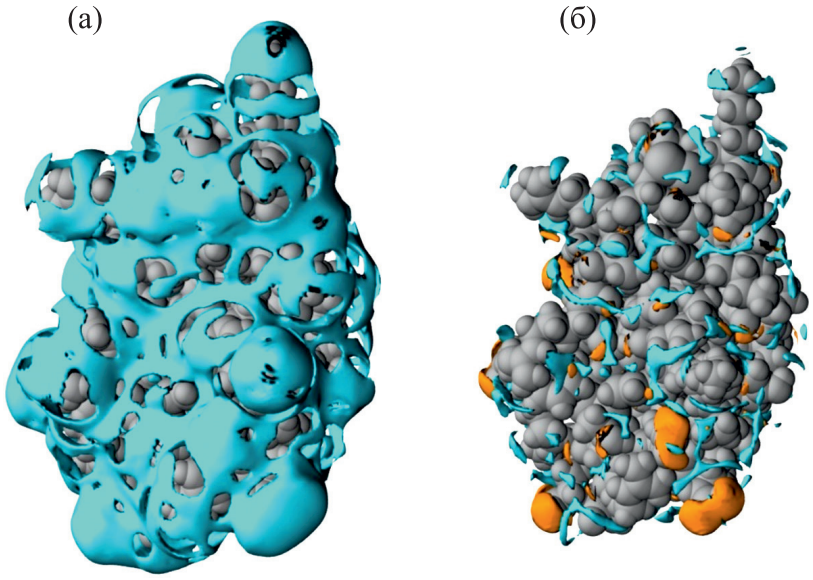

Рис. 5. Изоповерхности ПФР атомов растворителя вокруг BPTI: (а) – изоповерхность ПФР атомов кислорода (голубой) молекул воды при $g_{\text{BPTI-O}_W}(\mathbf{r}) = 2$; (б) – изоповерхности ПФР атомов кислорода (голубой) при $g_{\text{BPTI-O}_W}(\mathbf{r}) = 4$ и атомов водорода (оранжевый) молекул воды при $g_{\text{BPTI-H}_W}(\mathbf{r}) = 3$.

На рис. 5 приведены пространственные функции распределения атомов кислорода и водорода молекул воды вокруг и внутри BPTI, которые позволяют описать структуру гидратной оболочки белка. Практически полностью окружающая белок изоповерхность при $g_{\text{BPTI-O}_W}(\mathbf{r}) = 2$ (рис. 5а) характеризует протяженный гидратный слой толщиной 0.39 нм и свидетельствует о том, что BPTI хорошо гидратирован. Подтверждением служит также рассчитанное по формуле (12) полное гидратное число, которое составляет 332.6 молекул воды [49]. Изоповерхности атомов кислорода и водорода молекул воды при $g_{\text{BPTI-O}_W}(\mathbf{r}) = 4$ и $g_{\text{BPTI-H}_W}(\mathbf{r}) = 3$ соответственно (рис. 5б) характеризуют распределение растворителя, локализованное вблизи гидрофильных участков поверхности BPTI. При этом, как следует из полученных данных (рис. 5б), изоповерхности ПФР атомов водорода преимущественно находятся около групп, которые могут выступать акцепторами Н-связей (карбоксильные и гидроксильные группы), а изоповерхности ПФР атомов кислорода – вблизи групп, способных быть донорами Н-связей (аминогруппы, гидроксильные группы и т.д.). Таким образом, изоповерхности на рис. 5б демонстрируют распределение молекул воды первой гидратной оболочки, образующих Н-связи с полярными участками BPTI, и позволяют определить их расположение, включая расположение «внутренних» молекул воды, о чем было сказано выше.

БЕЛКОВАЯ ТИРОЗИНФОСФАТАЗА 1B И ЕЕ КОМПЛЕКСЫ С ИНГИБИТОРАМИ

Белковая тирозинфосфатаза 1B (PDB ID: 2HNP) – внутриклеточный фермент, который является одним из членов-основателей семейства белковых тирозинфосфатаз и поэтому часто используется как модельная система для изучения свойств этого семейства. Его аминокислотная последовательность состоит из 435 аминокислотных остатков. Однако только первые 298 остатков соответствуют домену активного центра, состоящего из сайта связывания и каталитического сайта. Этот домен, имеющий 8 α-спиралей и 12 β-цепей, практически одинаков для всех других нерецепторных белковых тирозинфосфатаз (рис. 6а). Он содержит 6 петель, из которых только 4 являются структурно важными областями для связывания ингибитора [64]: pTyr-петля (остатки Asn44-Val49), WPD-петля (остатки Thr177-Pro185), P-петля (остатки His214-Arg221) и Q-петля (остатки Gly259-Thr263) (рис. 6а). Следует отметить, что WPD-петля имеет две различные конформации: открытую в несвязанном состоянии и закрытую, активную в комплексе «белок–ингибитор» [65, 66].

Рассмотрим сначала особенности гидратации белка PTP1B с открытой конформацией WPD-петли (PDB id: 2HNP, молекулярная масса ~37 кДа [67]). Полученные результаты показывают [50], что подобно BPTI, белок PTP1B хорошо гидратирован, о чем свидетельствует полное гидратное число, равное 1071.9, и протяженный гид-

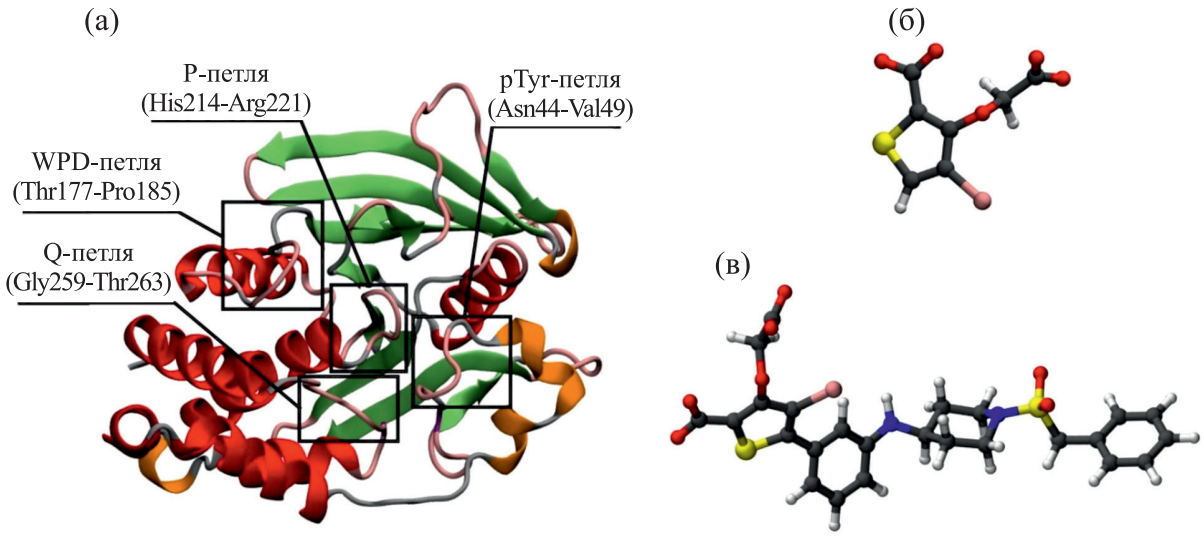

Рис. 6. Визуализация 3D-структуры белка PTP1B (PDB id: 2HNP [67]) (а) и пространственные структуры ингибиторов в комплексах 2HB1 (б) и 2QBP (в).

ратный слой толщиной 0.39 нм (изоповерхность при $g_{\text{PTP1B-O}_W}(\mathbf{r}) = 2$ на рис. 7а). Как следует из анализа распределения растворителя, локализованного вблизи гидрофильных участков PTP1B (рис. 7б), белок способен к Н-связыванию с молекулами воды при помощи функциональных групп, которые могут действовать как доноры (амино-, гидроксильные группы и др., $g_{\text{PTP1B-O}_W}(\mathbf{r}) = 4$) на рис. 7б) или акцепторы (карбоксильные, гидроксильные группы, фрагменты –SO2-, $g_{\text{PTP1B-H}_W}(\mathbf{r}) = 3$ на рис. 7б) Н-связи.

Как потенциальная мишень для лекарственных препаратов, PTP1B имеет довольно значительное количество комплексов с ингибиторами, структуры которых задепонированы в онлайн-банке данных трехмерных структур белков (PDB-банке). Для исследования нами были выбраны два комплекса с ингибиторами компактного (PDB id: 2HB1 [68]) и разветвленного (PDB id: 2QBP [69]) строения (рис. 6 б,в). Отметим, что структура PTP1B в комплексе с лигандом, как правило, имеет закрытую конформацию WPD-петли.

Как известно, ингибиторы нацелены на сайт связывания, и, таким образом, ингибитор как лиганд изменяет структуру гидратной оболочки лишь локально – вблизи того места, где он присо-

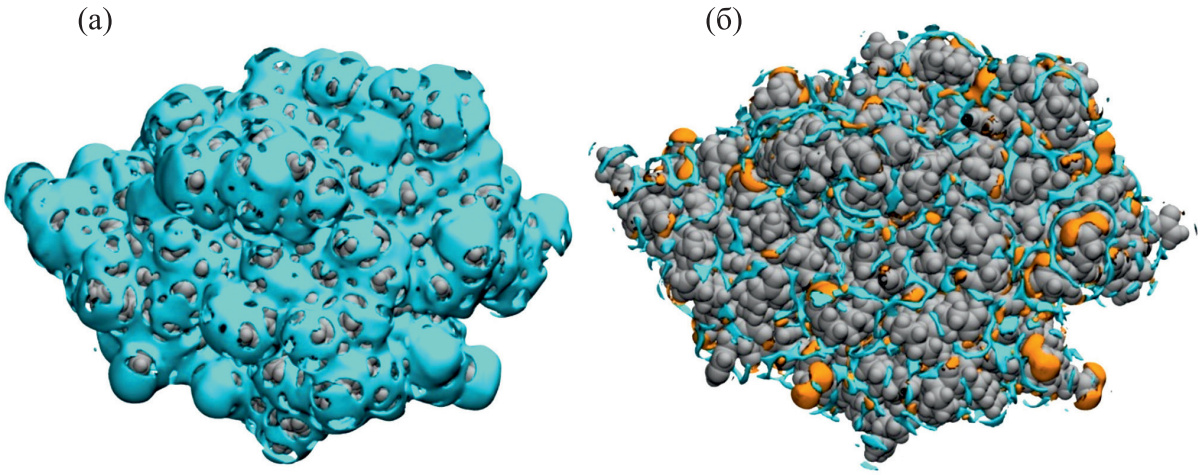

Рис. 7. Изоповерхности ПФР атомов растворителя вокруг PTP1B в апо-состоянии: (а) – изоповерхности ПФР атомов кислорода (голубой) молекул воды при $g_{\text{PTP1B-O}_W}(\mathbf{r}) = 2$; (б) –изоповерхности ПФР атомов кислорода (голубой) при $g_{\text{PTP1B-O}_W}(\mathbf{r}) = 4$ и атомов водорода (оранжевый) молекул воды при $g_{\text{PTP1B-H}_W}(\mathbf{r}) = 3$.

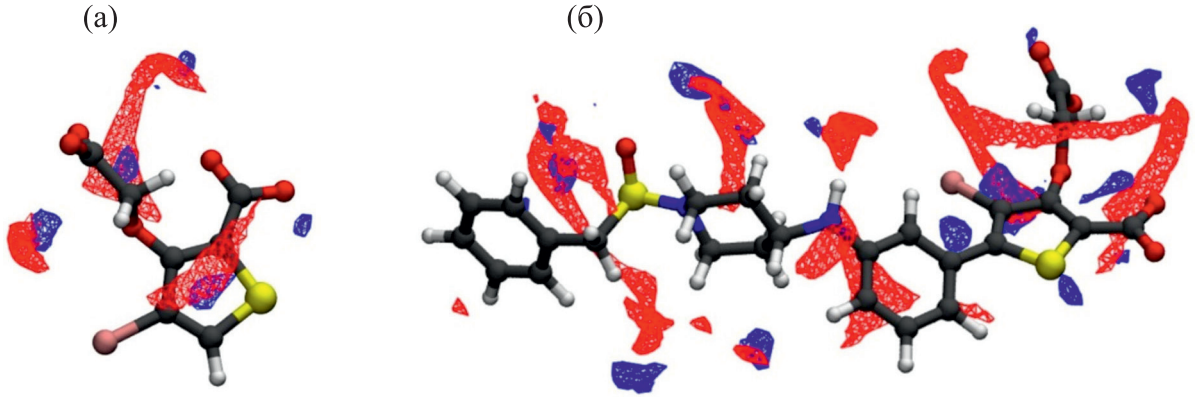

Рис. 8. Изоповерхности ПФР атомов кислорода молекул воды вокруг ингибиторов в области активного сайта связывания в комплексах 2HB1 (а) и 2QBP (б). Изоповерхности ПФР обозначены красным цветом в случае свободного ингибитора ($g_{Ow}(\mathbf{r}) = 4$), синим цветом – в случае связанного ингибитора ($g_{Ow}(\mathbf{r}) = 10$).

единяется к белку. Поэтому особенности гидратации комплексов далее рассматриваются именно в этой области гидратной оболочки.

Первое, что можно определить при помощи метода 3D-SDFT/3D-RISM, – это изменения в структуре гидратной оболочки ингибитора при его переходе из несвязанного состояния в связанное. На рис. 8 представлены изоповерхности ПФР растворителя вокруг лигандов в несвязанном (свободном) состоянии и связанном состоянии, т.е. в комплексе с PTP1B в области сайта связывания. Как видно из рисунка, при формировании комплекса области с наиболее вероятным расположением атомов кислорода воды вокруг ингибиторов существенно уменьшаются, что свидетельствует об их значительной дегидратации при связывании с PTP1B [50]. Подтверждением этому служат также изменения в гидратных числах лигандов. По результатам расчетов, в результате связывания количество молекул воды вблизи ингибиторов значительно снижается: в случае комплекса 2HB1 – с 32.4 (свободный ингибитор) до 5.5 (связанный ингибитор), в случае комплекса 2QBP – с 71.3 (свободный ингибитор) до 23.6 (связанный ингибитор) [50].

Другие результаты, полученные методом 3D-SDFT/3D-RISM, позволяют охарактеризовать состояние сайта связывания белка. Для этого сравнивались данные для белка с удаленным из структуры лигандом («нелигандный» белок) с данными для белка в комплексе с лигандом. В первом случае гидратное число составило 48.4 для 2HB1 и 130.3 для 2QBP [50], что свидетельствует о том, что домен активного центра «нелигандного» белка хорошо гидратирован. При связывании белка с ингибитором домен частично дегидратируется: его гидратное число уменьшается на ~10% и становится равным 43.7 в случае комплекса 2HB1 и на ~19% до 105.4 – в случае комплекса 2QBP [50]. Данный процесс обусловлен вытеснением ингибитором части молекул воды из области активного центра, что неоднократно отмечалось в литературе [70, 71]. В качестве примера на рис. 9 показано распределение атомов кислорода молекул воды внутри и вблизи области активного центра для белка в комплексе с лигандом (2QBP).

Кристаллографические структуры комплексов 2HB1 и 2QBP содержат соответственно 171 и 117 молекул воды, часть которых локализована внутри домена активного центра. Эти локализованные молекулы воды прочно связаны с комплексом и способствуют стабильности его структуры. При помощи ПФР, рассчитанных методом 3D-SDFT/3D-RISM, с использованием программы

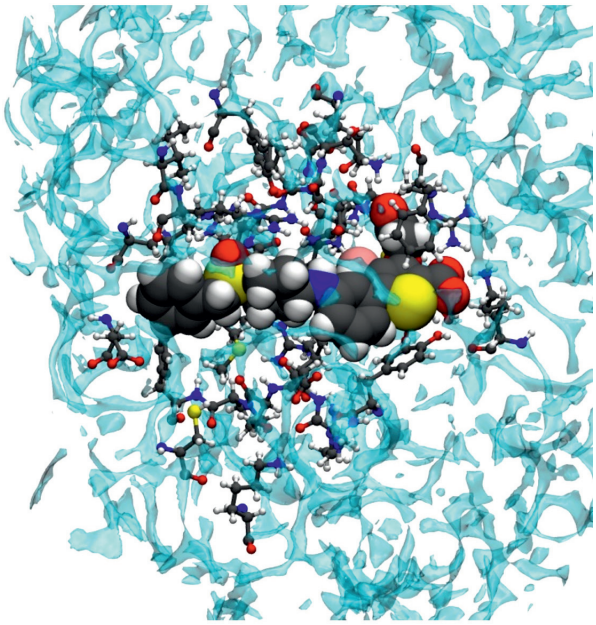

Рис. 9. Распределение атомов кислорода молекул воды внутри и вблизи области активного центра белка в случае комплекса 2QBP.

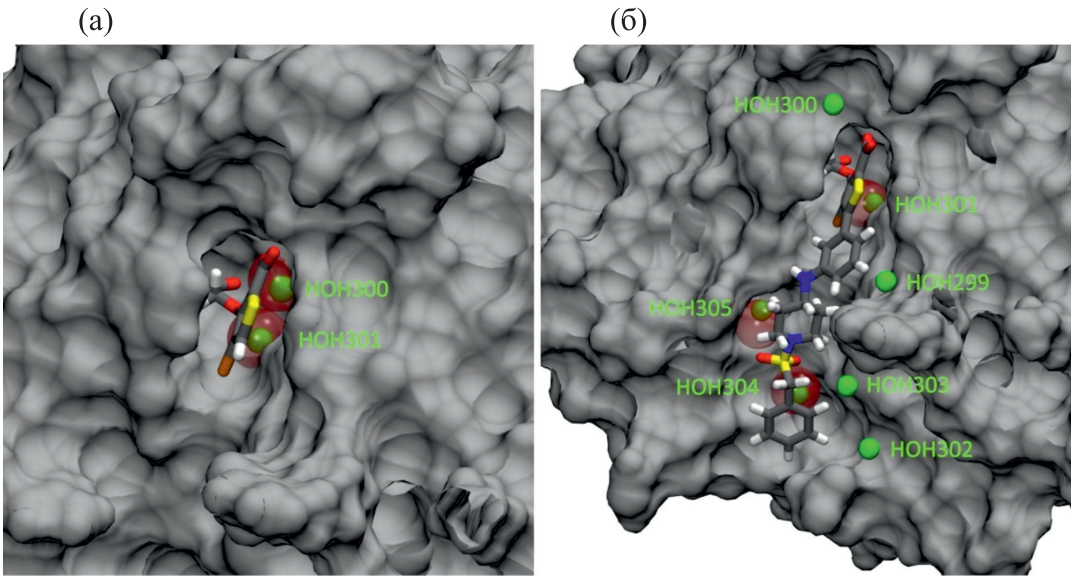

Рис. 10. Расположение атомов кислорода молекул воды внутри области активного центра по данным PDB банка (красные полупрозрачные сферы) и данным 3D-RISM (зеленые сферы) для комплексов 2HB1 (а) и 2QBP (б). Воспроизведено из работы [50] с разрешения издательства Elsevier, © 2023.

metatwist [72] были определены наиболее вероятные положения молекул воды в области активного центра (рис. 10, показаны только атомы кислорода молекул воды). Как видно из рис. 10, внутри домена активного центра присутствуют две молекулы растворителя в случае комплекса 2HB1 (рис. 10а) и семь молекул растворителя в случае комплекса 2QBP (рис. 10б). При этом расположение двух молекул (комплекс 2HB1) и трех молекул (комплекс 2QBP) воды, наиболее прочно связанных с комплексом, совпадает с соответствующими экспериментальными данными из PDB банка [68, 69]. О наличии таких прочно связанных молекул воды также сообщается в работах [73, 74], где исследовались комплексы PTP1B с другими ингибиторами.

Основываясь на представленных результатах, можно констатировать, что подход, основанный на 3D-распределении атомной плотности растворителя, позволяет в деталях описывать структурные особенности гидратации белков и белковых комплексов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биомолекулярная сольватация играет одну из определяющих ролей в протекании множества жизненно важных процессов. Знание ее особенностей на молекулярном и атомно-молекулярном уровнях необходимо для установления влияния данного процесса на выполнение биомолекулами своих целевых функций, и, как результат, для понимания молекулярных механизмов их действия. Вместе с тем, в силу динамического поведения молекул воды в биологической среде, во многих случаях экспериментальное определение параметров гидратации биомолекул представляет значительные трудности. В данной работе мы продемонстрировали возможности неэмпирического подхода, основанного на 3D-распределении атомной плотности растворителя, для исследования особенностей гидратации биомолекул на примере ряда аминокислот (Gly-ZW, L-Ala-ZW, L-Val-ZW, L-Pro-ZW), белков (BPTI, PTP1B) и комплексов белка PTP1B с ингибиторами. Представленные результаты показали, что метод 3D-SDFT/3D-RISM позволяет успешно в деталях и одновременно целостно описывать структуру гидратной оболочки биомолекул. В частности, подход дает возможность пространственного представления их ближнего окружения с определением локализации растворителя вблизи их полярных и неполярных участков, а также количественной оценки их гидратации с помощью гидратных чисел и количества H-связей, как для биомолекулы целиком, так и для ее функциональных групп. Кроме того, в случае биомакромолекул метод позволяет найти расположение «внутренних» молекул воды, которые обеспечивают стабилизацию структуры белков и белковых комплексов, а также описать особенности гидратации в области активного сайта связывания белков с ингибиторами.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа была выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-23-00184 (https://rscf.ru/project/22-23-00184/).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Статья не содержит описания исследований, выполненных кем-либо из авторов, с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. G. J. Rocklin, D. L. Mobley, K. A. Dill, et al., J. Chem. Phys., **139** (18), 184103 (2013).
2. J. W. Kaus, L. T. Pierce, R. C. Walker, et al., J. Chem. Theory Comput., **9** (9), 4131 (2013).
3. P. Mikulskis, S. Genheden, and U. Ryde, J. Chem. Inf. Model., **54** (10), 2794 (2014).
4. B. Guillot, J. Mol. Liq., **101** (1–3), 219 (2002).
5. J. F. Ouyang and R. P. Bettens, Chimia (Aarau), **69** (3), 104 (2015).
6. H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera, and T. P. Straatsma, J. Phys. Chem., **91** (24), 6269 (1987).
7. W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, et al., J. Chem. Phys., **79** (2), 926 (1983).
8. A. V. Onufriev and S. Izadi, Wiley Interdisc. Rev.: Comput. Mol. Sci., **8** (2), e1347 (2017).
9. W. C. Still, A. Tempczyk, R. C. Hawley, et al., J. Am. Chem. Soc., **112** (16), 6127 (1990).
10. B. N. Dominy and C. L. Brook, J. Phys. Chem B, **103** (18), 3765 (1999).
11. B. Honig and A. Nicholls, Science, **268** (5214), 1144 (1995).
12. J. Wu, AIChE J., **52** (3), 1169 (2006).
13. J. Wu and Z. Li, Annu. Rev. Phys. Chem., **58** (1), 85 (2007).
14. S. Zhao, R. Ramirez, R. Vuilleumier, et al., J. Chem. Phys., **134** (19), 194102 (2011).
15. L. Blum, J. Chem. Phys., **57**, 1862 (1972).
16. M. Ikeguchi and J. Doi, J. Chem. Phys., **103** (12), 5011 (1995).
17. R. Ishizuka and N. Yoshida, J. Chem. Phys., **139** (8), 084119 (2013).
18. D. Chandler and H. C.Andersen, J. Chem. Phys., **57** (5), 1930 (1972).
19. F. Hirata, P. J. Rossky and B. M. Pettitt, J. Chem. Phys., **78** (6), 4133 (1983).
20. J. Perkyns and B. M. Pettitt, J. Chem. Phys., **97** (10), 7656 (1992).
21. D. Chandler, J. D. Mccoy, and S. J. Singer, J. Chem. Phys., **85** (10), 5971 (1986).
22. Y. Liu, J. Fu, and J. Wu, J. Phys. Chem. Lett., **4** (21), 3687 (2013);
23. Y. Liu, S. Zhao, and J. Wu, J. Chem. Theory Comput., **9** (4), 1896 (2013).
24. M. Valiev and G. N. Chuev, J. Stat. Mech. Theory Exp., **2018** (9), 093201 (2018).
25. G. N. Chuev, M. V. Fedotova, and M. Valiev, J. Chem. Phys., **152** (4), 041101 (2020).
26. Q. H. Du, D. Beglov, and B. Roux, J. Phys. Chem. B, **104** (4) 796 (2000);
27. A. Kovalenko and F. Hirata, J. Chem. Phys., **110** (20), 10095 (1999).
28. Y. Liu, S. Zhao, and J. Wu, J. Chem. Theory Comput., **9** (4), 1896 (2013).
29. T. Imai, A. Kovalenko, and F. Hirata, Chem. Phys. Lett., 395 (1–3), 1 (2004).
30. N. Yoshida, S. Phongphanphanee, and F. Hirata, J. Phys. Chem. B, **111** (17), 4588 (2007).
31. J. S. Perkyns, G. C. Lynch, J. J. Howard, et al., J. Chem. Phys. **132** (6), 064106 (2010).;
32. D.J. Sindhikara and F. Hirata, J. Phys. Chem. B, **117** (22), 6718 (2013).
33. S. Gusarov, B. S. Pujari, and A. Kovalenko, J. Comput. Chem., **33** (17), 1478 (2012).
34. M. V. Fedotova and S. E. Kruchinin, Biophys. Chem., **190–191**, 25 (2014).
35. O. A. Dmitrieva and M. V. Fedotova, New J. Chem., **39** (11), 8594 (2015).
36. A. Eiberweiser, A. Nazet, M. V. Fedotova, et al., J. Phys. Chem. B, **119** (49), 15203 (2015).
37. M. V. Fedotova and O.A. Dmitrieva, Amino Acids, **48** (7), 1685 (2016).
38. O. A. Dmitrieva, M. V. Fedotova, and R. Buchner, Phys. Chem. Chem. Phys., **19** (31), 20474 (2017).
39. M. V. Fedotova, S. E. Kruchinin, and G. N. Chuev, New J. Chem., **41** (3), 1219 (2017).
40. M. V. Fedotova and S. E. Kruchinin, J. Mol. Liq., **244**, 489 (2017).
41. S. Güssregen, H. Matter, G. Hessler, et al., J. Chem. Inf. Model., **57** (7), 1652 (2017).
42. N. Yoshida, J. Chem. Inf. Model., **57** (11), 2646 (2017).
43. M. V. Fedotova, J. Mol. Liq., **292**, 111339 (2019).
44. M. V. Fedotova, S. E. Kruchinin, and G. N. Chuev, J. Mol. Liq., **304**, 112757 (2020).
45. S. Friesen, M. V. Fedotova, S. E. Kruchinin, et al., Phys Chem Chem Phys **23** (2), 1590 (2021).
46. M. Sugita, I. Onishi, M. Irisa, et al., Molecules, **26** (2), 271 (2021).
47. D. Roy and A. Kovalenko, Int. J. Mol. Sci., **22** (10), 5061 (2021).
48. N. Kumawat, A. Tucs, S. Bera, et al., Molecules, **27** (3), 799 (2022).
49. S. E. Kruchinin, E. E. Kislinskaya, G. N. Chuev, et al., Int. J. Mol. Sci., **23** (23), 14785 (2022).
50. S. E. Kruchinin, G. N. Chuev, and M. V. Fedotova, J. Mol. Liq., **384**, 122281 (2023).
51. G. N. Chuev, M. V. Fedotova, and M. Valiev, J. Stat. Mech., **2021**, 033205 (2021).

52. B. Kezic and A. Perera, J. Chem. Phys., **135** (24), 234104 (2011).
53. G. N. Chuev, I. Vyalov, and N. Georgi, J. Comput. Chem., **35** (13), 1010 (2014).
54. A. Kovalenko, In *Molecular Theory of Solvation*, Ed. By F. Hirata (Kluwer Acad. Publ.: Dordrecht, The Netherlands, 2003), pp.169–275.
55. A. Kovalenko and F. Hirata, J. Chem. Phys., **112** (23), 10391 (2000).
56. A. Kovalenko, Pure Appl. Chem., **85** (1), 159 (2013).
57. M. V. Fedotova and S. E. Kruchinin, J. Mol. Liq., **169**, 1 (2012).
58. M. V. Fedotova and O. A Dmitrieva, Amino acids, **47** (6), 1015 (2015).
59. A. Wlodawer, J. Walter, R. Huber, et al., J. Mol. Biol., **180** (2), 301 (1984).
60. B. Kassell and M. Laskowski Sr, Biochem. Biophys. Res. Commun., **20** (4), 463 (1965).
61. K. D. Berndt, P. Güntert, L. P. Orbons, et al., J. Mol. Biol., **227** (3), 757 (1992).
62. V. P. Denisov, J. Peters, H. D. Hörlein, et al., Biochemistry, **43** (38), 12020 (2004).
63. G. Otting, K. Wüthrich, J. Am. Chem. Soc., **111** (5), 1871 (1989).
64. D. S. Cui, J. M. Lipchock, D. Brookner, et al., J. Am. Chem. Soc., **141** (32), 12634 (2019).
65. L. Tabernero, A. R. Aricescu, E. Y. Jones, et al., FEBS J., **275** (5), 867 (2008).
66. A. J. Barr, E. Ugochukwu, W. H. Lee, et al., Cell, **136** (2), 352 (2009).
67. D. Barford, A. J. Flint, and N. K. Tonks, Science, **263** (5152), 1397 (1994).
68. Z.-K. Wan, J. Lee, W. Xu, et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., **16** (18), 4941 (2006).
69. D. P. Wilson, Z.-K. Wan, W.-X. Xu, et al., J. Med. Chem., **50** (19), 4681 (2007).
70. J. L. Thomaston, N. F. Polizzi, A. Konstantinidi, et al., J. Am. Chem. Soc., **140** (45), 15219 (2018).
71. B. Z. Zsidó and C. Hetényi, Curr. Opin. Struct. Biol., **67**, 1 (2021).
72. D. A. Giambasu, D. M. Case, and G. M. York, J. Am. Chem. Soc., **141** (6), 2435 (2019).
73. A. K. Pedersen, G. H. Peters, K. B. Møller, et al., Acta Crystallogr. D – Biol. Crystallogr., **60** (Pt 9), 1527 (2004).
74. A. Özcan, E. O. Olmez, and B. Alakent, Prot. Struct. Funct. Bioinf., **81** (5), 788 (2013).

In silico Study of Solvation Effects in Solutions of Biomolecules: Possibilities of an Approach Based on the 3D-Distribution of Solvent Atomic Density

S.E. Kruchinin*, M.V. Fedotova*, E.E. Kislinskaya, and G.N. Chuev*****

**G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry, Russian Academy of Sciences, Akademicheskaya ul. 1, Ivanovo, 153045 Russia*

***Ivanovo State University, ul. Ermaka 39, Ivanovo, 153025 Russia*

****Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

Biomolecular solvation plays one of the key roles in nature. The biological activity of molecules and the performance of their target functions depend on the features of this process. However, the study of the biomolecule hydration is a non-trivial task for both experimental methods and computer simulations. The paper demonstrates the possibilities of the non-empirical 3D-SDFT/3D-RISM approach based on the 3D-distribution of the solvent atomic density to study the features of biomolecule hydration using the example of a number of amino acids such as Gly-ZW, L-Ala-ZW, L-Val-ZW, L -Pro-ZW, two model proteins such as BPTI (bovine pancreatic trypsin inhibitor) and PTP1B (protein tyrosine phosphatase 1B), as well as complexes of the PTP1B protein with inhibitors. The presented results show that the approach allows one to describe in detail and at the same time a holistic description of the hydration shell structure of biomolecules.

Keywords: biomolecules, hydration, hydration shell structure, methods of the theory of liquids