

Alisher Gulumbayevich Yeshimbetov
O‘zR FA akademik O.S. Sodiqov nomidagi Bioorganik kimyo instituti,
katta ilmiy xodim
alisherg@yahoo.com

Mavlonbek Abdumajitovich Ziyayev
Namangan davlat universiteti, dotsent

Jamshid Mengnorovich Ashurov
O‘zR FA akademik O.S. Sodiqov nomidagi Bioorganik kimyo instituti, professor
Baxtiyar Tulyaganovich Ibragimov

O‘zR FA akademik O.S. Sodiqov nomidagi Bioorganik kimyo instituti, akademik
UO‘K:004.94+544.162.7+615.355

TURLI XIL SUV MODELLARINING AXE-GALANTAMIN KOMPLEKSINING MOLEKULYAR DINAMIK SIMULYATSIYALARIGA TA’SIRI

Annotatsiya. Ushbu maqolada molekulyar doking usuli yordamida asetilxolinesteraza fermenti bilan galantamin alkaloidi o‘rtasidagi kompleks modellashtirildi. Olingan kompleksdagi barqarorlik va o‘zaro ta’sirlarni chuqur o‘rganish maqsadida SPC/E, TIP3P, TIP4P va TIP4P-Ew suv modellaridan foydalangan holda 500 nanosekund davomida molekulyar dinamika modellashtirishi amalga oshirildi. Molekulyar dinamika natijalari galantaminning fermentning faol markaziga bog‘lanish energiyasi qo‘llanilgan suv modeliga sezilarli darajada bog‘liq ekanligini ko‘rsatdi, bu esa bunday hisob-kitoblarni bajarishda suv parametrizatsiyasini inobatga olish muhimligini tasdiqlaydi.

Kalit so‘zlar: *Atsetilxolinesteraza, galantamin, molekulyar dinamika, bog‘lanish energiyasi, MMGBSA*

Алишер Гулумбаевич Ешимбетов
Институт биоорганической химии имени академика А.С. Садыкова АН РУз,
старший научный сотрудник
Мавлонбек Абдумажитович Зияев
Наманганский государственный университет, доцент
Джамшид Менгнорович Ашуров
Институт биоорганической химии имени академика А.С. Садыкова АН РУз,
профессор
Бахтияр Туляганович Ибрагимов
Институт биоорганической химии имени академика А.С. Садыкова АН РУз,
академик

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЕЙ ВОДЫ НА МОДЕЛИРОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ КОМПЛЕКСА АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ С ГАЛАНТАМИНОМ

Аннотация. В данной статье методом молекулярного докинга был смоделирован комплекс фермента ацетилхолинэстеразы с алкалоидом галантамином. Для последующего исследования стабильности и межмолекулярных взаимодействий в полученном комплексе был применён метод молекулярной динамики продолжительностью 500 наносекунд с использованием четырёх различных моделей воды: SPC/E, TIP3P, TIP4P и TIP4P-Ew. Результаты молекулярно-динамического моделирования показали, что расчётная энергия связывания галантамина с активным центром фермента существенно зависит от выбранной параметризации воды, что подчёркивает важность учёта данного фактора при проведении подобных расчётов.

Ключевые слова. *Ацетилхолинэстераза, галантамин, молекулярная динамика, энергия связывания, MMGBSA*

Alisher Gulumbaevich Eshimbetov
Institute of Bioorganic Chemistry named after academician A.S. Sadykov of the
Uzbek Academy of Sciences, senior researcher
Mavlonbek Abdumajitovich Ziyaev
Namangan state university, docent
Jamshid Mengnorovich Ashurov
Institute of Bioorganic Chemistry named after academician A.S. Sadykov of the
Uzbek Academy of Sciences, Professor
Bakhtiyar Tulyaganovich Ibragimov
Institute of Bioorganic Chemistry named after academician A.S. Sadykov of the
Uzbek Academy of Sciences, Academician

INFLUENCE OF DIFFERENT WATER MODELS ON MOLECULAR DYNAMICS SIMULATIONS OF THE ACHE–GALANTAMINE COMPLEX

Annotation. In this article, a complex of the acetylcholinesterase enzyme with the alkaloid galantamine was modeled using molecular docking. To further investigate the stability and intermolecular interactions within the obtained complex, molecular dynamics simulations were performed for 500 nanoseconds using four different water models: SPC/E, TIP3P, TIP4P, and TIP4P-Ew. The molecular dynamics results demonstrated that the calculated binding energy of galantamine to the active site of the enzyme significantly depends on the chosen water parameterization, highlighting the importance of considering this factor when performing such computational studies.

Kew words. *Acetylcholinesterase, galantamine, molecular dynamics, binding energy, MMGBSA*

Kirish

Molekulyar dinamika simulyatsiyalarida suv modelini to'g'ri tanlash juda muhim ahamiyat kasb etadi, chunki u biomolekulalarning fazoviy tuzilishi, dinamik xatti-harakati hamda o'zaro ta'sir xususiyatlariga bevosita ta'sir ko'rsatadi [1]. Suv molekulari oqsil va ligand molekulari bilan vodorod bog'lari (H-bog'lar) hosil qilish bilan birga, oqsil–ligand o'zaro ta'sirida ko'priq (bridge) vazifasini bajarib, kompleksning barqarorligiga sezilarli hissa qo'shishi mumkin.

Molekulyar dinamika jarayonida suv muhitining to'g'ri modellashtirilishi elektrostatik o'zaro ta'sirlar, konformatsion o'zgarishlar hamda bog'lanish energiyalarining ishonchliligini ta'minlashda muhim rol o'ynaydi. Shu sababli suv modelining tanlovi hisoblash natijalarining aniqligi va takrorlanuvchanligiga bevosita ta'sir etuvchi omillardan biri hisoblanadi.

GROMACS dasturiy ta'minoti [2] yordamida SPC [3], SPC/E [4], TIP3P [5], TIP4P [5], TIP4P-Ew [6] va TIP5P [7] kabi turli suv modellaridan foydalangan holda molekulyar dinamika hisoblashlarini amalga oshirish mumkin. Ushbu modellar suv molekulasining geometriyasi, zaryad taqsimoti va o'zaro ta'sir parametrlariga ko'ra bir-biridan farqlanadi. Mos suv modelini tanlash GROMACS muhitida olib boriladigan molekulyar dinamika simulyatsiyalarining barqarorligi va aniqligini sezilarli darajada oshirishi mumkin [1].

Adabiyotlar tahlili

SPC (Simple Point Charge) suv modeli uch nuqtali (bitta kislorod atomi va ikkita vodorod atomidan iborat) qattiq model hisoblanadi [3,8]. Ushbu modelda suv molekulasining dipol momentini ifodalash maqsadida kislorod atomiga -0.82 e, vodorod atomlariga esa $+0.41$ e zaryadlar berilgan. O–H bog' uzunligi $1.0 \text{ \AA}$, H–O–H valent burchagi esa doimiy qiymat sifatida 109.47° ga teng qilib qabul qilingan. SPC modeli suvning dielektrik doimiysini nisbatan past ($\epsilon \approx 60$) baholaydi, bu esa eritmada elektrostatik o'zaro ta'sirlarning kuchayishiga olib kelishi mumkin. Natijada oqsil konformatsion dinamikasi va oqsil–ligand bog'lanishlarining nisbatan kuchliroq namoyon bo'lishi kuzatiladi.

SPC/E (Extended Simple Point Charge) suv modeli [4,8] SPC modelining takomillashtirilgan varianti bo'lib, unda suv molekulasining o'rtacha potensial energiyasini hisobga oluvchi qo'shimcha energiya tuzatmasi kiritilgan. Ushbu yondashuv suvning dielektrik xususiyatlarini yaxshiroq ifodalash imkonini beradi ($\epsilon \approx 71$) va natijada tajribaviy ma'lumotlarga nisbatan yaqinroq natijalar olinadi. SPC/E modeli ko'plab biomolekulyar tizimlar uchun muvozanatli va barqaror suv muhiti yaratishi bilan ajralib turadi.

SPC va SPC/E suv modellarida dinamik qutblanuvchanlik bevosita hisobga olinmaydi. Biroq, nisbatan mukammal hisoblangan TIP3P, TIP4P, TIP4P-Ew va TIP5P suv modellarida zaryad taqsimotining optimallashtirilishi orqali suvning qator tajribaviy xususiyatlari, jumladan zichlik, diffuziya va vodorod bog‘lari tarmog‘i yanada aniqroq aks ettiriladi. Xususan, TIP4P va uning modifikatsiyalari suv molekulasiidagi manfiy zaryad markazini kislorod atomidan tashqariga ko‘chirish orqali elektrostatik o‘zaro ta’sirlarni yanada realroq tasvirlaydi.

Ma’lumki, nisbatan uzoq davom etuvchi (500 ns) molekulyar dinamika simulyatsiyalari “in silico” skrining usullarining muhim bosqichlaridan biri hisoblanadi. Bunday hisoblashlar yuqori hisoblash quvvatiga ega bo‘lgan, masalan, GeForce RTX 30–50 seriyali videokartalar bilan jihozlangan Core i9 protsessorli kompyuterlarda ham bir necha kun davom etishi mumkin. Shu sababli molekulyar dinamika simulyatsiyalarini samarali va to‘g‘ri tashkil etishda suv modelini tanlash muhim metodologik omil hisoblanadi.

Yuqoridagilarni inobatga olgan holda, ushbu ishda suv modellarining oqsil–ligand kompleksi molekulyar dinamika simulyatsiyasiga hamda oqsil–ligand bog‘lanish energiyasiga ta’sirini o‘rganish maqsadida atsetilxolinesteraza–galantamin kompleksi misolida SPC/E, TIP3P, TIP4P va TIP4P-Ew suv modellaridan foydalangan holda molekulyar dinamika simulyatsiyalari amalga oshirildi.

Metodika va usullar

Molekulyar doking (AutoDock Vina [9]) usuli yordamida hosil qilingan galantamin–AXE (atsetilxolinesteraza, PDB ID: 1DX6) kompleksi uchun molekulyar dinamika (MD) simulyatsiyalari GROMACS 2025.3 dasturiy paketida [1] AMBER99SB-ILDN [10] kuch maydoni qo‘llangan holda amalga oshirildi. Galantamin molekulasini uchun topologiya va geometrik parametrlar fayli ACPYPE [11] serveri yordamida, AM1-BCC zaryad taqsimoti asosida generatsiya qilindi.

Dastlab, AXE–galantamin kompleksi periodik chegara shartlari ostida dodekaedrik qutiga joylashtirildi. Tizim SPC/E, TIP3P, TIP4P yoki TIP4P-Ew suv modellari yordamida solvatsiya qilinib, fiziologik sharoitni modellashtirish maqsadida Na^+ va Cl^- ionlari qo‘shilib, umumiy ion konsentratsiyasi 0.15 M ga keltirildi. Shundan so‘ng hosil bo‘lgan AXE–galantamin–suv–ion tizimi energiya minimallashtirish bosqichidan o‘tkazildi.

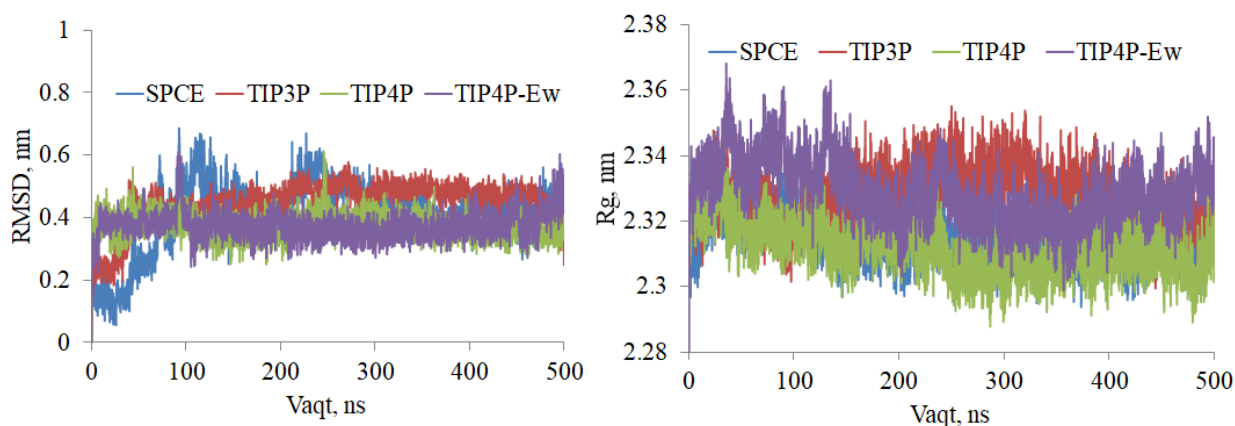
Keyingi bosqichda tizim avval doimiy hajm va harorat sharoitida (NVT ansambl), so‘ngra doimiy bosim va harorat sharoitida (NPT ansambl) muvozanat holatiga keltirildi. Harorat va bosimni barqaror ushlab turish uchun mos termostat va barostat algoritmlaridan foydalanildi. Muvozanatlash bosqichlaridan so‘ng,

asosiy bosqich (production phase) sifatida 500 nanosekund (ns) davomida molekulyar dinamika simulyatsiyasi amalga oshirildi.

Bajarilgan 500 ns MD simulyatsiya natijasida olingan trayektoriya fayli 5000 ta vaqt kadrlari (frame) dan iborat bo'lib, ushbu trayektoriyaning oxirgi 10 ta kadriga asoslanib MM/GBSA [12] usuli yordamida AXE–galantamin kompleksi uchun bog'lanish energiyalari hisoblandi. Molekulyar dinamika simulyatsiyalari natijalari tizim barqarorligi va dinamik xususiyatlarini baholash maqsadida o'rtacha kvadratik og'ish (RMSD, nm), o'rtacha kvadratik fluktuatsiya (RMSF, nm), aylanish radiusi (Rg, nm) hamda vodorod bog'lari (H-bog'lar) soni kabi parametrlar orqali tahlil qilindi.

Tahlillar va natijalar

Ma'lumki, atsetilxolinesteraza (AChE) fermentining faol markazi nisbatan keng bo'lib, molekulyar dinamika (MD) simulyatsiyasi jarayonida ligand molekulasi aminokislota qoldiqlari bilan mustahkam yoki sust bog'lanishi, faol markaz ichida yon tomonga siljishi, hatto ayrim hollarda faol markazdan chiqib ketishi ham mumkin. Mazkur tadqiqotlar natijasida olingan RMSD grafigidan (1-rasm) qo'llanilgan barcha suv modellarida galantamin molekulasining simulyatsiya davomida AChE faol markazida saqlanib qolganligini va tizim muvozanat holatiga erishganini kuzatish mumkin.

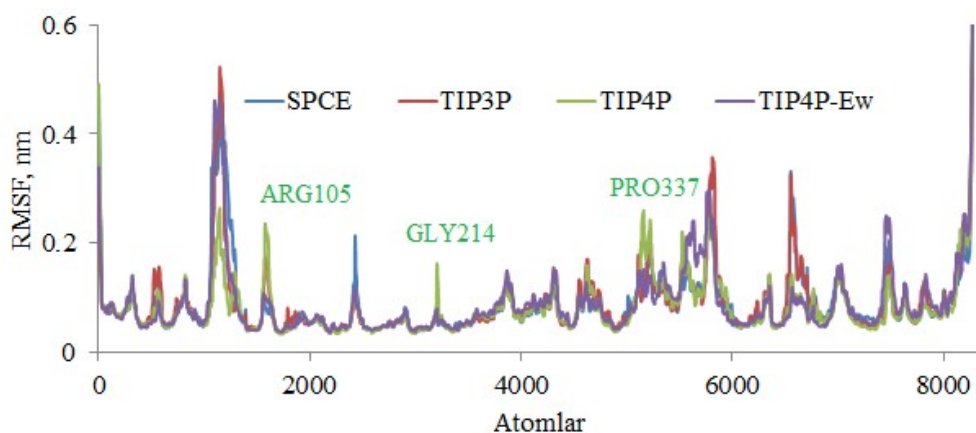


1-Rasm. MD simulyatsiya natijalarining o'rtacha kvadratik og'ish (RMSD) va aylanish radiusi (Rg) kattaliklari bilan baholanishi

Oqsilning umumiy fazoviy barqarorligini tavsiflovchi aylanish radiusi (Rg) qiymatlari to'rtta suv modeli holatida ham simulyatsiya davomida oqsilning kompakt holatda saqlanib qolganligini va sezilarli darajada yoyilib ketmaganligini ko'rsatdi. Bu natija AChE oqsilining molekulyar dinamika jarayonida strukturaviy barqarorligini tasdiqlaydi.

Atomlarning lokal harakatlanish tebranishlarini aks ettiruvchi RMSF grafigi (2-rasm) tahlili shuni ko'rsatdiki, TIP4P suv modeli qo'llanilgan holatda ARG105, GLY214 va PRO337 aminokislota qoldiqlari atomlarining fluktuatsiyalari nisbatan

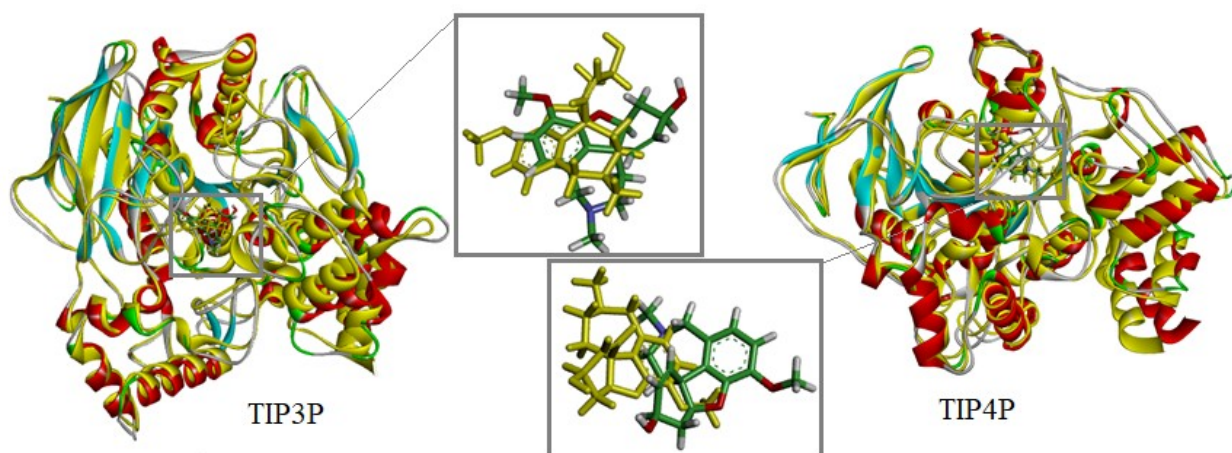
yuqori bo'lgan. Ushbu aminokislota qoldiqlari AXE oqsilidagi spiral (α -heliks) strukturalarini bog'lovchi peptid zanjirlarida joylashgan bo'lib, ularning moslashuvchanligi fermentning funksional harakatchanligi bilan bog'liq bo'lishi mumkin.



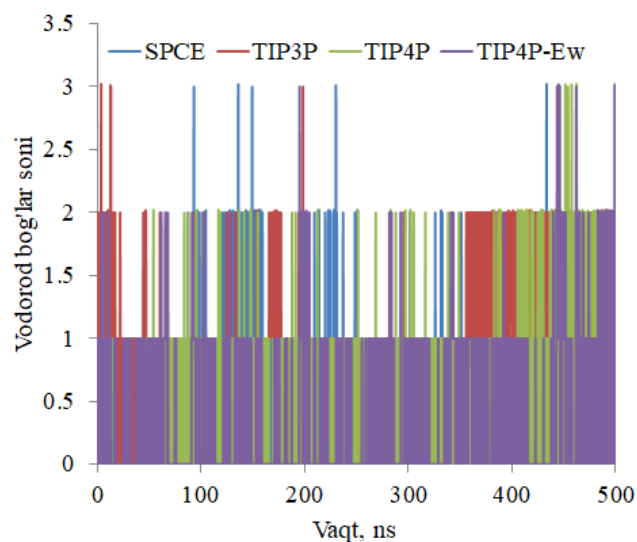
2-Rasm. MD modellashtirish mobaynida AXE atomlarining o'rtacha kvadratik fluktuatsiya (RMSF) grafigi

Molekulyar doking natijasida olingan boshlang'ich kompleks geometriyalari bilan 500 nanosekundlik MD simulyatsiya yakunidagi kompleks geometriyalari taqqoslanganda, galantamin molekulasi boshlang'ich holatga nisbatan sezilarli darajada siljiganligi kuzatildi (3-rasm). Biroq ushbu siljish ligandning faol markazdan chiqib ketishiga olib kelmagan.

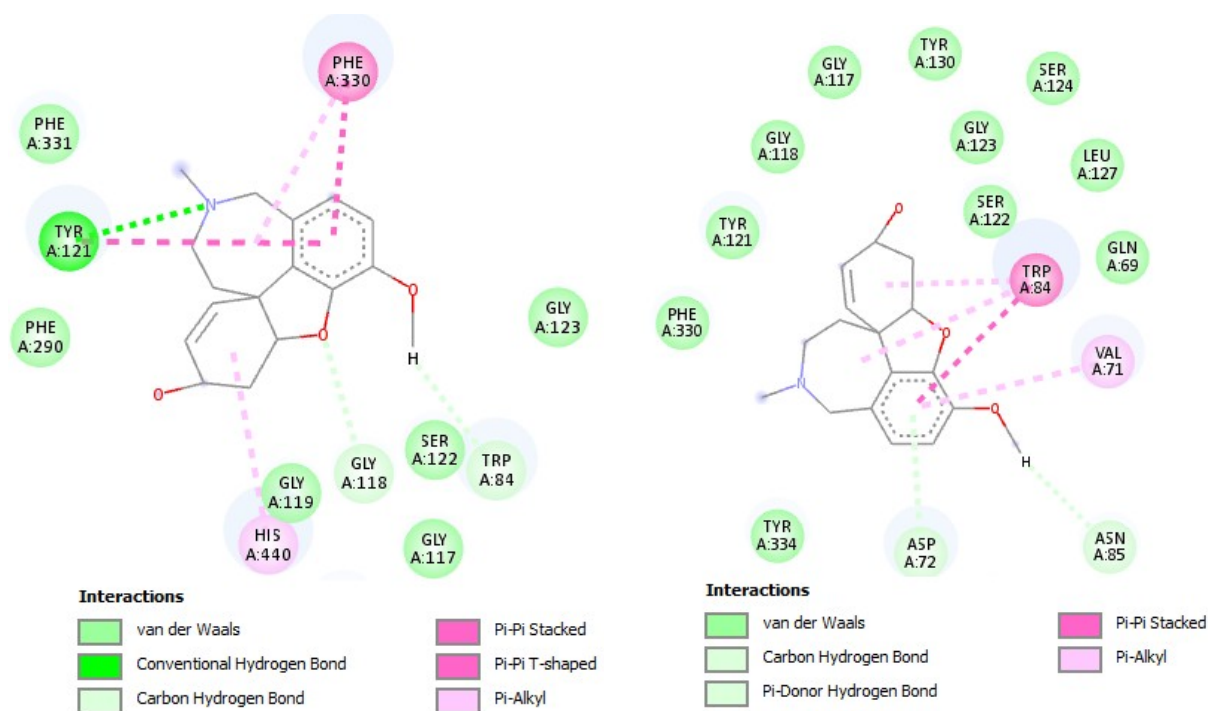
Butun MD simulyatsiyasi davomida AChE–galantamin molekulari orasidagi vodorod bog'lari sonining asosan 1–3 oralig'ida saqlanib qolishi (4-rasm) kompleks barqarorligida vodorod bog'lari bilan bir qatorda boshqa o'zaro ta'sir turlarining ham muhim rol o'ynashini ko'rsatadi. Xususan, aromatik halqalar orasidagi π – π o'zaro ta'sirlarning kompleks barqarorligiga sezilarli hissa qo'shishi 5-rasmda yaqqol namoyon bo'ladi.



3-rasm. TIP3P va TIP4P suv modellari ishtirokidagi MD simulyatsiyasi natijasida (500 ns) olingan komplekslarning dastlabki kompleks bilan taqqoslanishi



4-rasm. MD modellashtirish davomida AXE-galantamin atomlari orasidagi H-bog'lar soni



5-rasm. TIP3P (chapda) va TIP4P (o'ngda) suv modellari modellari ishtirokidagi MD simulyatsiyasi natijasida (500 ns) olingan komplekslarda galantamin molekulasi aminokislota qoldiqlari bilan ta'sirlashishi

Molekulyar dinamika simulyatsiyalari natijalari asosida oqsil–ligand bog'lanish energiyalarini aniqlashda molekulyar mexanika va umumlashtirilgan Born sirt maydoni yondashuviga asoslangan MM/GBSA usuli keng qo'llaniladi [12]. Ushbu yondashuvdan foydalangan holda turli suv modellari ishtirokida olingan MD natijalari asosida AXE–galantamin kompleksida galantamin molekulasi fermentga bog'lanish energiyasi baholandi (1-jadval).

1-jadval. Turli suv modelida MD modellastirilgan AXE-galantamin kompleksida ligandning fermentga bog‘lanish energiyasi (ΔG_{bind} , kkal/mol)

Parametr	SPC/E	TIP3P	TIP4P	TIP4P-Ew
ΔH	-19.55±2.75	-32.88 ± 3.11	-30.76±0.83	-23.75±2.5
-TΔS	5.42±0.62	5.42 ± 0.26	1.96±0.05	2.2±0.04
ΔG_{bind}	-14.14±2.82	-27.46 ± 3.12	-28.8±0.84	-21.55±2.5

MMGBSA hisob-kitoblari natijalariga ko‘ra, galantaminning AXE fermentiga bog‘lanish energiyasining eng maqbul qiymati TIP4P suv modeli qo‘llanilgan holatda aniqlandi. TIP3P suv modeli ishtirokidagi hisoblashlarda ham TIP4P modeliga yaqin bog‘lanish energiyasi qiymatlari kuzatildi. Aksincha, SPC/E suv modeli qo‘llanilgan holatda AChE–galantamin bog‘lanishining nisbatan kuchsizroq ekanligi aniqlandi. Ushbu natijalar suv modelini tanlash oqsil–ligand o‘zaro ta’sirlarini miqdoriy baholashda muhim omil ekanligini yana bir bor tasdiqlaydi.

Xulosa

Ushbu ishda atsetilxolinesteraza–galantamin kompleksi uchun turli suv modellarining molekulyar dinamika simulyatsiyasi natijalariga ta’siri o‘rganildi. 500 nanosekundlik MD simulyatsiyalari Core i9-14900K protsessor va GeForce RTX 4090 videokartasi yordamida amalga oshirilib, SPC/E, TIP3P, TIP4P va TIP4P-Ew suv modellarida mos ravishda taxminan 16, 26, 43 va 44 soat vaqt talab qildi.

MM/GBSA tahlili natijalariga ko‘ra, TIP4P suv modeli galantaminning AChE fermentiga bog‘lanish energiyasini eng maqbul tarzda ifodaladi. Shu bilan birga, TIP3P suv modeli hisoblash vaqtining nisbatan kamligi hamda bog‘lanish energiyasi qiymatlarining TIP4P modeliga yaqinligi sababli uzoq davom etuvchi molekulyar dinamika simulyatsiyalari uchun eng maqbul tanlov sifatida tavsiya etiladi.

Ushbu ish Innovatsion rivojlanish agentligining FL-9524115091 raqamli fundamental loyihasi doirasida amalga oshirildi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Tempra C, Ollila O.H.S., Javanainen M. Accurate Simulations of Lipid Monolayers Require a Water Model with Correct Surface Tension// J. Chem. Theory Comput. –2022. –Vol.18(3). –P.1862-1869. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c00951>
2. Abraham M. J., Teemu M., Roland S., Szilárd P., Jeremy C.S., Berk H., Erik L. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level

- parallelism from laptops to supercomputers//SoftwareX. –2015. Vol.1-2. P.19–25. <https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>
3. Berendsen H.J.C., Postma J.P.M., van Gunsteren W.F., Hermans J. Interaction Models for Water in Relation to Protein Hydration. In: Pullman, B. (eds) Intermolecular Forces. The Jerusalem Symposia on Quantum Chemistry and Biochemistry. –1981, –Vol.14. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-015-7658-1_21
 4. Berendsen H.J.C., Grigera J.R., Straatsma T.P. The missing term in effective pair potentials//J.Phys.Chem. –1987. –Vol.91(24). –P.6269-6271. <https://doi.org/10.1021/j100308a038>
 5. Jorgensen W. L., Chandrasekhar J., Madura J. D., Impey R. W., Klein M. L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water// J.Chem.Phys. –1983. Vol.79. –P.926–935. <https://doi.org/10.1063/1.445869>
 6. Horn H.W., Swope W.C., Pitner J.W., Madura J.D., Dick T.J., Hura G.L., Head-Gordon T. Development of an improved four-site water model for biomolecular simulations: TIP4P-Ew// J.Chem.Phys. –2004. –Vol.120(20). –P.9665-9678. <https://doi.org/10.1063/1.1683075>
 7. Mahoney M.W., Jorgensen W.L. A five-site model for liquid water and the reproduction of the density anomaly by rigid, nonpolarizable potential functions//J.Chem.Phys. –2000. –Vol.112. –P.8910–8922. <https://doi.org/10.1063/1.481505>
 8. Pekka M., Lennart N. Structure and Dynamics of the TIP3P, SPC, and SPC/E Water Models at 298 K//J. Phys. Chem. A. –2011. –Vol.105(43). –P.1089-5639. <https://doi.org/10.1021/jp003020w>
 9. Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading//J.Comput.Chem. –2010. –Vol.31(2). –P.455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.
 10. Lindorff-Larsen K., Piana S., Palmo K., Maragakis P., Klepeis J.L., Dror R.O., Shaw D.E. Improved side-chain torsion potentials for the Amber ff99SB protein force field//Proteins. –2010. –Vol.78(8). –P.1950-1958. <https://doi.org/10.1002/prot.22711>
 11. Sousa da Silva A.W., Vranken W.F. ACPYPE - Antechamber python parser interface//BMC Research Notes. –2012. –Vol.5. –P.367. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-367>
 12. Valdés-Tresanco M.S., Valdés-Tresanco M.E., Valiente P.A., Moreno E. gmx_MMPBSA: A New Tool to Perform End-State Free Energy Calculations with GROMACS//J. Chem. Theory Comput. –2021. –Vol.17(10).–P.6281-6291. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jctc.1c00645>