



УДК 577.338

ПОИСК ВОЗМОЖНЫХ САЙТОВ КОНЬЮГАЦИИ ЭЛЕКТРОФИЛОВ С БИОМОЛЕКУЛАМИ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

© 2025 г. Д. А. Белинская*, #, Е. И. Савельева**

* Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Россия, 194223 Санкт-Петербург, просп. Тореза, 44

** НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России,
Россия, 188663 Ленинградская обл., г.п. Кузьмоловский, ст. Капитолово, корп. 93

Поступила в редакцию 17.03.2025 г.

После доработки 04.04.2025 г.

Принята к публикации 06.04.2025 г.

Способность к быстрой реакции образования аддуктов с нуклеофильными группами белков, нуклеиновых кислот и липидов во многом определяет токсические эффекты электрофилов. С учетом того, что количество токсичных электрофилов практически не ограничено, а образовывать аддукты они могут со многими молекулярными мишенями, сугубо эмпирический подход к характеристике аддуктома заведомо непродуктивен. Цель настоящего исследования – разработать методику первичной *in silico* оценки вероятности конъюгации электрофилов с тем или иным сайтом модификации. Для модельной группы электрофилов с помощью метода теории функционала плотности были рассчитаны квантово-химические индексы, методом молекулярного докинга проведен поиск приоритетных сайтов ковалентного связывания исследуемых веществ. На основании полученных результатов была разработана шкала для оценки жесткости электрофилов и составлен алгоритм для компьютерного отбора возможных сайтов конъюгации электрофилов с биологическими макромолекулами.

Ключевые слова: электрофилы, аддукты, теория функционала плотности, квантово-химические индексы, молекулярный докинг

DOI: 10.31857/S0132342325030129, **EDN:** KRHXRF

ВВЕДЕНИЕ

Способность к быстрой реакции образования аддуктов с нуклеофильными группами белков, нуклеиновых кислот и липидов во многом определяет токсические эффекты электрофилов. Аддукты могут вызывать прямую клеточную токсичность, запускать иммунный ответ и/или инициировать мутагенные/канцерогенные процессы. Кроме того, внешнее воздействие может нарушать метаболизм эндогенных соединений, приводя к дисрегуляции биологических процессов, что может стать причиной развития множества заболеваний через об-

разование ковалентных аддуктов. Воздействие короткоживущих реактивных электрофилов на организм можно охарактеризовать с помощью инструментов аддуктомики: идентификации и количественного определения ковалентных аддуктов, образующихся в результате реакций между электрофилами и бионуклеофилами. Одна из задач современной токсикологии – разработка эффективных технологий для характеристики электрофильного стресса и установления его источников, на сегодняшний день еще не имеет комплексного решения. Хроматомасс-спектрометрия уже много лет

Сокращения: BSA – бычий сывороточный альбумин; DFT – теория функционала плотности; dist – расстояние между функционально значимыми атомами электрофила и нуклеофила; E_{HOMO} – энергия верхней заполненной молекулярной орбитали; E_{LUMO} – энергия нижней вакантной молекулярной орбитали; GSH – глутатион; GST – глутатион-трансфераза человека; Hb – гемоглобин человека; HSA – сывороточный альбумин человека; NAPQI – N-ацетил-р-бензохионимин; PDB – база данных белковых структур; η – жесткость; ω – электрофильность.

Автор для связи: (тел.: +7 (921) 580-69-19; эл. почта: d_belinskaya@mail.ru).

выступает “золотым стандартом” в этой области благодаря своей чувствительности и селективности [1]. Однако некоторые нестабильные или высоко-реактивные соединения могут не обнаруживаться в биологических образцах из-за их короткого времени жизни. Большинство токсичных органических соединений – электрофилы или образуют в организме реактивные электрофильные метаболиты. Более четверти века тому назад в молекулярной токсикологии появился термин “электрофильный стресс”, определяемый как эффект, вызываемый соединениями, способными образовывать новые химические связи с нуклеофильными центрами биомолекул [2]. Электрофилы ковалентно связываются с нуклеофильными молекулами в организме, образуя аддукты. Изучение аддуктов, образующихся с ДНК, белками, липидами, глутатионом, называемое сегодня аддуктомикой, может дать дополнительную токсикологически значимую информацию при проведении биомониторинговых исследований. Аддуктомика изучает реакции между электрофилами (акцепторами пары электронов) и биомолекулярными нуклеофилами (донорами электронной пары). Эмпирические подходы к расшифровке аддуктома – обнаружение аддуктов электрофилов с биомолекулами и установление их структур хромато-спектральными методами как в целевом [3,4], так и в нецелевом [5,6] режимах, основаны на априорном знании того, какие именно биомолекулярные мишени атакуют исследуемые электрофилы. С учетом того, что количество токсичных электрофилов практически не ограничено, а образовывать аддукты они могут со многими молекулярными мишенями, сугубо эмпирический подход к характеристике аддуктома заведомо непродуктивен.

Разрешить описанные проблемы мог бы прогноз, позволяющий сузить круг поисков аддуктов. Так, благодаря своей высокой концентрации и распространенности, наиболее перспективными макромолекулами для ковалентной модификации электрофилами выступают ДНК, альбумин и гемоглобин, а также трипептид глутатион, содержащий свободную тиоловую группу [7,8]. Однако, даже у этого ограниченного набора мишеней существует десятки возможных сайтов ковалентной модификации. Поэтому необходим еще один шаг для сужения области поиска. Принципиальная возможность формирования расчетных моделей в данной области основывается на том, что все ковалентные

электрофильно-нуклеофильные реакции в значительной степени селективны.

В 1963 году была разработана концепция, согласно которой электрофилы и нуклеофилы делятся на мягкие, жесткие и промежуточные [9]. Так, жесткие электрофилы – это акцепторы электронной пары, обладающие малым размером, большим положительным зарядом, большой электроотрицательностью и низкой поляризуемостью. Мягкие электрофилы, напротив, характеризуются высокой поляризуемостью и низкой электроотрицательностью. Нуклеофилы же тем мягче, чем слабее они удерживают свои валентные электроны. Согласно принципу жестких и мягких кислот и оснований, жесткие электрофилы предпочтительно реагируют с жесткими нуклеофилами, а мягкие электрофилы – с мягкими нуклеофилами.

Жесткость и мягкость веществ определяются их химической структурой. Ключевыми параметрами для определения жесткости/мягкости соединения служат величины E_{HOMO} (энергия верхней заполненной молекулярной орбитали) и E_{LUMO} (энергия нижней вакантной молекулярной орбитали), которые можно рассчитать *in silico* и, таким образом, провести предварительный компьютерный отбор возможных сайтов модификации без проведения дорогостоящих экспериментов. Однако системные подходы для такого анализа пока не созданы.

Цель настоящего исследования – с помощью методов компьютерного моделирования провести поиск приоритетных сайтов ковалентного связывания модельной группы электрофилов с биомолекулами и разработать методику первичной *in silico* оценки вероятности конъюгации электрофилов с тем или иным сайтом модификации для последующего направленного поиска аддуктов токсичных электрофилов с белками и нуклеиновыми кислотами хромато-спектральными методами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Формирование выборки электрофилов.

Для проведения расчетных исследований по поиску наиболее вероятных сайтов связывания электрофилов с биомолекулами необходимо было сформировать репрезентативную выборку органических соединений. В состав выборки включили промышленные токсиканты акриламид, акролеин, акрилонитрил, н-гексан, бензол, толуол и лекарственные препараты:

N-ацетил-р-бензохинонимин (NAPQI, метаболит парацетамола), цисплатин. Расчеты были выполнены как для самих веществ, так и их реактивных метаболитов. Структуры отобранных электрофилов и их реактивных метаболитов представлены на рис. 1.

Расчет характеристик реперных электрофилов и создание шкалы для оценки жесткости. В работе LoPachin et al. [10] приведены значения квантово-химических индексов для ряда низкомолекулярных электрофилов. На первом этапе нами была отработана методика расчета химических свойств электрофилов на основе данных

LoPachin et al. Для анализа были выбраны следующие соединения: акриламид, акролеин, NAPQI, н-гексан, его метаболит 2,5-гександион и цисплатин. Для этих веществ были рассчитаны следующие квантово-химические характеристики: E_{HOMO} , E_{LUMO} , жесткость η и индекс электрофильности ω . Полученные значения и литературные данные приведены в табл. 1.

В целом, относительные значения индексов, полученные нами, согласуются с литературными данными из работы LoPachin et al. [10]. Абсолютные же значения не совпадают полностью, поскольку в работе [10] использовали базисный

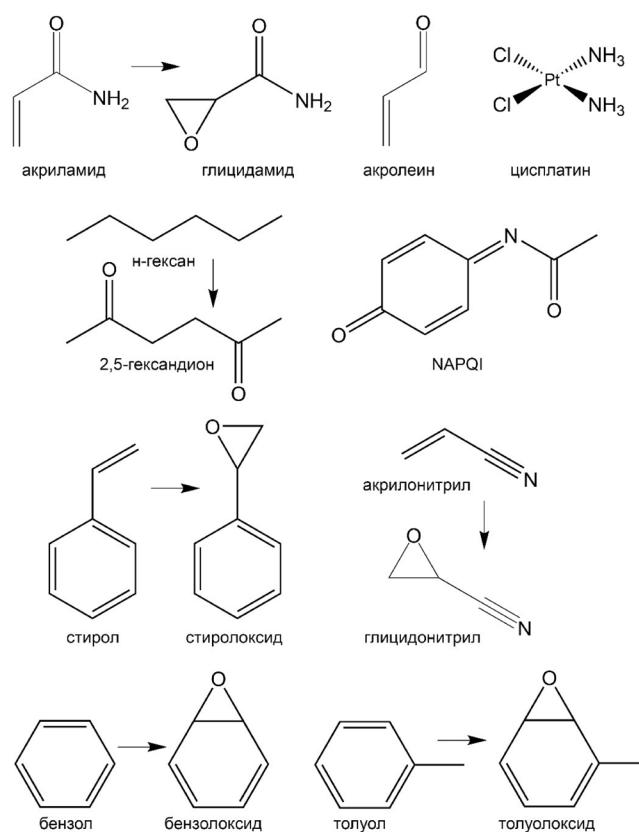


Рис. 1. Структуры исследуемых электрофилов и их реактивных метаболитов.

Таблица 1. Квантово-химические свойства модельных соединений

Соединение	E_{HOMO} (эВ)	E_{LUMO} (эВ)	η (эВ)	η (эВ) [10]	ω (эВ)	ω (эВ) [10]
Акриламид	-7.11	-1.24	2.93	3.06	2.96	2.52
Акролеин	-7.26	-2.06	2.60	2.69	4.17	3.57
NAPQI	-7.14	-3.89	1.62	1.91	9.38	7.08
н-Гексан	-8.42	+0.96	4.69	5.42	1.48	0.71
2,5-Гександион	-6.96	-0.66	3.15	3.18	2.31	2.01
Цисплатин	-6.06	-1.40	2.33	2.50	2.98	3.43

E_{HOMO} – энергия верхней заполненной молекулярной орбитали, E_{LUMO} – энергия нижней вакантной молекулярной орбитали, η – жесткость, ω – электрофильность.

набор из другого семейства (базис 6-31G* из семейства Pople) и коммерческий программный пакет Spartan. В нашем исследовании важны не абсолютные, а относительные величины, которые позволяют откалибровать значения жесткости/электрофильности лигандов и создать шкалу для деления электрофилов на жесткие и мягкие.

Расчет квантово-химических индексов электрофила позволяет определить приоритетные нуклеофильные группы, с которыми этот электрофил будет преимущественно взаимодействовать, например, с тиоловыми группами цистеинов. Однако в молекуле белка может быть не одна такая группа. Так, например, Hb содержит три тиоловые группы в составе цистеинов. Оценить, к какой конкретно аминокислоте будет вероятнее всего присоединяться электрофил можно с помощью метода молекулярного докинга. Молекулярный докинг представляет собой так называемую “стыковку” молекулы низкомолекулярного лиганда в центре связывания белка (или иначе мишени) с целью поиска локального минимума энергии взаимодействия между лигандом и белком. Метод позволяет определить функциональные особенности поверхности мишени и особенности взаимодействия молекул в комплексе, найти лиганды к конкретной мишени среди большого числа молекул или создать новые лиганды, способные эффективно взаимодействовать с данной мишенью. Поэтому на следующем этапе мы собрали известные литературные данные о сайтах ковалентного связывания модельных соединений и при необходимости провели молекулярный докинг этих веществ в сайты взаимодействия, чтобы определить, насколько метод молекулярного докинга воспроизводит это взаимодействие. Белками интереса были сывороточный альбумин (HSA), гемоглобин (Hb) и глутатион-трансфераза (GST, катализирует ферментативную конъюгацию с глутатионом) человека.

Акриламид. По данным LoPachin et al., акриламид – это мягкий электрофил, который взаимодействует преимущественно с мягкими нуклеофилами, а точнее, с депротонированными тиоловыми группами цистеинов, а во вторую очередь может взаимодействовать с лизинами и гистидинами [10]. Что касается аддуктов с HSA, Hb и GSH, согласно данным работы Tong et al. [11], акриламид может взаимодействовать с тиоловой группой Cys34 HSA и с глутатионом

(GSH). В 1970 году было впервые установлено, что акриламид может ковалентно связываться с остатками цистеина гемоглобина, образуя соединение S-карбоксиэтилцистеин [12]. В более поздних работах было установлено, что Cys93 гемоглобина является самым реактивным из трех цистеинов этого белка (β -Cys93, α -Cys104 и β -Cys112) [13,14]. Также возможно образование аддукта с N-концевым валином гемоглобина. В работе Luo et al. отмечено, что акриламид и его метаболит глицидамид могут образовывать конъюгаты с GSH как по ферментативному, так и неферментативному пути [15].

Мы провели молекулярный докинг акриламида возле тиоловых групп альбумина и гемоглобина, возле N-концевых валинов α - и β -субъединиц гемоглобина, а также возле тиоловой группы глутатиона, связанного в активном центре GST. Энергетические и геометрические характеристики полученных комплексов представлены в табл. 2. Вероятность образования аддукта для акриламида и для других веществ, описанных в следующих разделах, оценивали по двум параметрам: расстоянию (dist) между функционально значимыми атомами (в случае акриламида это атом углерода CH_2 -группы электрофила и атом серы тиоловой группы или атом азота N-концевого валина) и по оценочному значению свободной энергии связывания ΔG .

Согласно данным молекулярного докинга, наиболее вероятным будет образование аддуктов акриламида с β -Cys93 гемоглобина (рис. 2a), а также с глутатионом (рис. 2б), что в целом согласуется с литературными данными (напомним, β -Cys93 был отмечен как самый реактивный цистеин гемоглобина при взаимодействии с акриламидом). Для Cys34 альбумина значения distC-S и ΔG менее благоприятны для образования аддукта, но в связывании акриламида с альбумином играет роль высокая концентрация альбумина в плазме. Интересно отметить, что в литературе нет данных о том, что акриламид может образовывать аддукты с ДНК. Однако, таким свойством обладает метаболит акриламида глицидамид [16]. Это можно объяснить тем, что акриламид мягкий электрофил и не может взаимодействовать с жесткими нуклеофильными остатками ДНК. По нашим расчетным данным, жесткость глицидамида выше и составляет 3.50 эВ, что повышает вероятность взаимодействия с ДНК.

Таблица 2. Результат молекулярного докинга акриламида в нуклеофильные сайты HSA, Hb и GSH в активном центре GST

Нуклеофильная группа	dist (Å)	ΔG (kcal/mol)
Cys34 (HSA)	4.3	-2.8
β -Cys93 (Hb)	3.9	-3.2
α -Cys104 (Hb)	7.3	-0.8
β -Cys112 (Hb)	3.7	-2.2
α -Val1 (Hb)	3.8	-2.8
β -Val1 (Hb)	3.9	-2.7
GSH (GST)	4.0	-3.2

α и β – α - и β -цепи Hb, соответственно; dist – расстояние между атомом углерода CH_2 -группы акриламида и атомом серы тиоловой группы цистеина или атомом азота N-концевого валина.

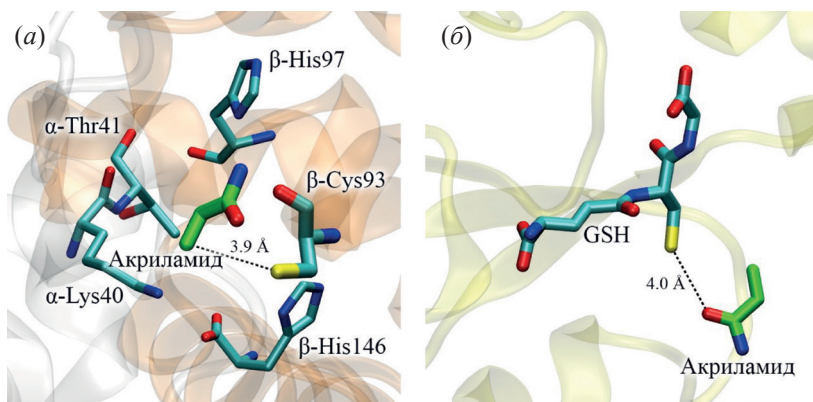


Рис. 2. Продуктивная конформация акриламида в возможных сайтах присоединения в гемоглобине (Hb, *a*) и глутатионтрансферазы (GST, *б*) по данным молекулярного докинга. Атомы углерода акриламида выделены зеленым цветом. α - и β -цепи Hb показаны белой и оранжевой лентой, соответственно. Полипептидная цепь GST показана желтой лентой. GSH – молекула глутатиона в активном центре GST. Атомы водорода не показаны для четкости рисунка.

Акролеин. По данным работы [10], акролеин – это мягкий электрофил, который должен взаимодействовать преимущественно с тиоловыми группами, но также может образовывать аддукты с гистидинами и лизинами. В статье [17] описан аддукт акролеина с Cys34. Что касается гемоглобина, в работе [18] установлено, что наиболее всего подвержены образованию аддуктов аминокислоты α -His45 и α -Lys7, чуть меньше – α -His20, α -His50, β -Cys93 и β -Lys95. При этом интересно отметить, что α -Lys7 и β -Lys95 образуют разные аддукты (MP-lysine и FDP-lysine, соответственно), то есть разные атомы акролеина участвуют в реакции присоединения (атом углерода $\text{C}=\text{O}$ -группы и CH_2 -группы, соответственно). Что касается взаимодействия акролеина с GSH, в обзоре [19] отмечается, что конъюгация акролеина с GSH может происходить без катализа или быть опосредована глутатион-S-трансферазой. Интересно отметить, что, несмотря на свою относитель-

ную мягкость, акролеин может взаимодействовать с ДНК, образуя аддукты с гуаниновым нуклеотидом [20].

По аналогии с акриламидом, мы провели молекулярный докинг акролеина в известные нуклеофильные сайты HSA, Hb и GST. Результат представлен в табл. 3. Согласно совокупности значений ΔG и dist, наиболее предпочтительными для взаимодействия являются сайты β -Cys93 гемоглобина и GSH в активном центре GST. С чуть меньшей эффективностью аддукты могут образовываться с α -His45, α -Lys7 и β -Lys95 гемоглобина, а также Cys34 альбумина, His50 гемоглобина обладает по данным *in silico* наименьшей привлекательностью для акролеина. Таким образом, данные молекулярного докинга, в целом, согласуются с экспериментальными данными. Частичное несоответствие можно объяснить тем, что методом молекулярного докинга невозможно учесть возможность переноса протона между

Таблица 3. Результат молекулярного докинга акролеина в нуклеофильные сайты HSA, Hb и GST

Нуклеофильная группа	dist (Å)	ΔG (kcal/mol)
Cys34 (HSA)	4.1	-2.1
β -Cys93 (Hb)	3.8	-2.5
α -His20 (Hb)	3.7	-1.4
α -His45 (Hb)	3.6	-2.0
α -His50 (Hb)	4.4	-1.6
α -Lys7 (Hb)	3.7	-2.0
β -Lys95 (Hb)	3.6	-2.0
GSH (GST)	3.9	-2.7

α и β – α - и β -цепи Hb, соответственно; dist – расстояние между атомом углерода CH_2 -группы акролеина и атомом серы тиоловой группы цистеина или атомом азота боковых радикалов лизина или гистидина, а в случае Lys7 – расстояние между атомом кислорода акролеина и атомом азота бокового радикала гистидина.

аминокислотами белка. Так, в физиологических условиях азот бокового радикала лизина протонирован и положительно заряжен, однако, для образования аддуктов необходимо депротонирование лизина, так как именно нейтральная форма этой аминокислоты обладает сильной нуклеофильной активностью. Поэтому, вероятно, более высокой реактивностью будут обладать те лизины, в окружении которых есть аминокислота, способная стать акцептором протона. Так, остаток Lys7 гемоглобина, который наиболее активен при взаимодействии с акролеином по данным *in vitro*, но не по данным *in silico*, имеет в своем окружении Asp74, способный стать акцептором протона лизина Lys7. Таким образом, структурный анализ аминокислотного окружения возможных сайтов конъюгации также может быть одним из инструментов направленного поиска аддуктов в дополнение к расчету квантово-химических индексов и докинга электрофилов в сайты присоединения.

NAPQI. По данным работы [10], NAPQI – это мягкий электрофил, который образует аддукты с цистеином и глутатионом. В статье [21] описан аддукт NAPQI с Cys34 альбумина крысы. Аддукты NAPQI с Cys34 альбумина человека также описаны

во многих исследованиях [22,23]. Что касается гемоглобина, то мы нашли только одну работу, в которой в эксперименте *in vivo* на мышах выявили аддукт NAPQI с гемоглобином [24], в этой работе речь идет также об аддуктах с цистеином. Интересно отметить, что в литературе мы не нашли данных об образовании аддуктов NAPQI с лизинами и гистидинами сывороточных белков. Этот факт вполне укладывается в теорию жестких и мягких электрофилов. NAPQI более мягкий электрофил по сравнению с акролеином (у NAPQI значение жесткости меньше и по нашим данным, и по данным [10]). Поэтому вероятность того, что NAPQI будет взаимодействовать с жесткими нуклеофилами His и Lys, меньше. Известно, что NAPQI образует аддукты с глутатионом [25]. В статье [26] также упоминается аддукт NAPQI с глутатионом, но не упоминается, участвует ли в глутатион-трансфераза в образовании этого аддукта. Мы провели молекулярный докинг NAPQI в возможные сайты его взаимодействия с HSA, Hb и GST. Результат представлен в табл. 4.

Полученные расчетные данные для NAPQI лишь частично согласуются с экспериментом. Так, согласно данным докинга, NAPQI эффективно связывается возле GSH в активном центре GST,

Таблица 4. Результат молекулярного докинга NAPQI в нуклеофильные сайты HSA, Hb и GST

Нуклеофильная группа	dist (Å)	ΔG (kcal/mol)
Cys34 (HSA)	4.4	-0.6
β -Cys93 (Hb)	3.9	-3.5
GSH (GST)	3.9	-5.8

β – β -цепь Hb; dist – расстояние между ближайшим атомом ароматического углерода NAPQI и атомом серы тиоловой группы цистеина.

что согласуется с известными экспериментальными данными о конъюгации NAPQI с GSH. Но при этом взаимодействие между NAPQI и Cys34 HSA согласно данным докинга достаточно слабое, существенно эффективнее, по данным докинга, NAPQI взаимодействует с Cys93 Hb, тогда как экспериментальные данные указывают на обратное. Такое различие между данными *in silico* и *in vitro/in vivo* можно объяснить тем, что, помимо значений dist и ΔG , важную роль в эффективности образования аддукта играет еще и реактивность той или иной аминокислоты. Высокой нуклеофильностью обладает депротонированная форма цистеина, поэтому реакционная способность будет выше у тех цистеинов, в окружении которых есть аминокислота, способная принять на себя протон тиоловой группы цистеина. Возле Cys34 альбумина человека есть такая аминокислота, Asp38, расстояние между атомом водорода SH-группы Cys34 и ближайшим атомом кислорода карбоксильной группы Asp38 составляет 4.0 Å. Более того, Cys34 – ближайший к Asp38 возможный донор протона, других “конкурентов” нет. В ближайшем окружении Cys93 гемоглобина также есть возможный акцептор протона, Asp94, расстояние между атомом водорода SH-группы Cys93 и ближайшим атомом кислорода карбоксильной группы Asp94 составляет 3.9 Å. Однако, ближайшим донором протона к Asp94 является не Cys93, а His146, расстояние между атомом водорода His146 и карбоксильной группой Asp94 составляет 2.7 Å. Такая конкуренция снижает вероятность перехода протона с Cys93 на Asp94, что уменьшает реактивность цистеина. Дополнительно, в условиях *in vivo* высокую вероятность обнаружения аддуктов именно с альбумином обуславливает высокая концентрация этого белка в плазме крови.

н-Гексан и его метаболит 2,5-гександион. По данным работы [10] н-гексан и его метаболит 2,5-гександион являются жесткими электрофилами. 2,5-гександион образует аддукты 2,5-диметилпиррола преимущественно с жесткими нуклеофильными атомами азота лизинов [27]. Наиболее изучены аддукты с нейрофиламентами и другими белками цитоскелета [28]. Что касается белков плазмы, в работе [29] в эксперименте *in vitro* получали аддукты гександиона с бычьим альбумином (BSA), но в статье не изучали, с какими лизинами образовывались эти аддукты. В исследовании [30] в эксперименте *in vivo* на курицах находили аддукты гександиона с альбумином, но также

не было изучено, какие лизины альбумина участвовали в образовании аддуктов. В работе [31] у рабочих, контактирующих с гексаном, находили аддукты гександиона с глобином и аддукты гександиона в плазме (по всей видимости, с альбумином, поскольку он является мажорным белком плазмы). Однако, также не было изучено, с какими лизинами взаимодействует гександион.

В физиологических условиях азот бокового радикала лизина протонирован и положительно заряжен, однако, для образования аддуктов необходимо депротонирование лизина, так как именно нейтральная форма этой аминокислоты обладает сильной нуклеофильной активностью. Поэтому, вероятно, более высокой реактивностью будут обладать те лизины, в окружении которых есть аминокислота, способная стать акцептором протона. В молекуле гемоглобина таким акцептором в своем ближайшем окружении обладают лизины 7, 40, 127 и 139 в α -субъединице и лизины 8, 17, 65 и 132 в β -субъединице. В альбумине человека таким свойством обладают лизины 73, 93, 181, 190, 195, 205, 212, 233, 240, 351, 466, 475, 500, 545, 557, 574. Мы провели молекулярный докинг молекулы гександиона возле перечисленных лизинов, результат представлен в табл. 5.

Согласно полученному результату, Lys195 HSA и α -Lys40 Hb являются наиболее вероятными сайтами присоединения гександиона. С высокой вероятностью гександион может взаимодействовать с Lys73, Lys181, Lys190 и Lys466 альбумина, а также с α -Lys7 и β -Lys17 гемоглобина. Несмотря на то, что мы не нашли в литературе информации о том, какие лизины участвуют в присоединении гександиона, выявленные нами методом докинга возможные сайты конъюгации могут принимать участие в ковалентном связывании с другими веществами. Так, известно, что Lys195 HSA – один из сайтов присоединения глюкозы [32], ацилглюкуронидов [33], а также противоопухолевых препаратов фурмонертиниба и осимертиниба [34]. Лизины α -Lys40, α -Lys7 и β -Lys17 гемоглобина метилируются при воздействии на гемоглобин десятикратной концентрации метилброма [35].

Цисплатин. Согласно данным [10], соединения с платиной обладают жесткими электрофильными свойствами и могут образовывать аддукты с жесткими нуклеофильными остатками на ДНК (например, атом N7 гуанина). Есть данные о взаимодействии цисплатина с альбумином, методом рентгеноструктурного анализа получена трехмерная

Таблица 5. Результат молекулярного докинга гександиона в нуклеофильные сайты HSA и Hb

Нуклеофильная группа	dist (Å)	ΔG (kcal/mol)
Lys73 (HSA)	4.0	-3.8
Lys93 (HSA)	4.4	-2.2
Lys181 (HSA)	3.8	-3.6
Lys190 (HSA)	4.1	-3.9
Lys195 (HSA)	3.9	-4.3
Lys205 (HSA)	3.6	-3.7
Lys212 (HSA)	5.3	-3.4
Lys233 (HSA)	4.9	-3.3
Lys240 (HSA)	4.3	-3.3
Lys351 (HSA)	4.1	-3.7
Lys466 (HSA)	3.5	-3.3
Lys475 (HSA)	5.3	-2.8
Lys500 (HSA)	5.0	-2.8
Lys545 (HSA)	4.8	-2.9
Lys557 (HSA)	4.7	-3.7
Lys574 (HSA)	4.1	-3.4
α -Lys7 (Hb)	3.6	-3.1
α -Lys40 (Hb)	3.8	-3.8
α -Lys127 (Hb)	4.2	-3.8
α -Lys139 (Hb)	3.7	-2.6
β -Lys8 (Hb)	3.5	-2.6
β -Lys17 (Hb)	3.5	-3.1
β -Lys65 (Hb)	3.7	-2.9
β -Lys132 (Hb)	4.1	-2.8

α и β – α - и β -цепи Hb, соответственно; dist – расстояние между ближайшим атомом кислорода гександиона и атомом азота бокового радикала лизина.

структура комплекса HSA с цисплатином [36]. Авторы отмечают, что цисплатин демонстрирует явное координационное предпочтение остатков боковых цепей His и Met, расположенных на поверхности белка HSA. В частности, в описываемом в работе эксперименте *in vitro* цисплатин связывается с His105, His288, Met298, Met329 и Met548 после 24 часов инкубации, а также с His64, His247 и His355 после более длительного времени инкубации. Авторы приходят к выводу

о том, что сайты His105 и Met329, по-видимому, выступают основными сайтами связывания, тогда как другие являются вторичными сайтами связывания. Мы провели молекулярный докинг цисплатина возле найденных Ferraro et al. [36] сайтов его взаимодействия с HSA. Результат представлен в табл. 6.

Данные молекулярного докинга частично согласуются с экспериментальными данными [36]. По данным *in silico*, среди трех исследованных

Таблица 6. Результат молекулярного докинга цисплатина в нуклеофильные сайты HSA

Нуклеофильная группа	dist (Å)	ΔG (kcal/mol)
His105	3.2	-1.8
His288	3.8	-4.3
Met298	3.4	-3.1
Met329	2.8	-2.9
Met548	2.5	-1.5

dist – расстояние между атомом платины цисплатина и атомом азота N δ бокового радикала гистидина или атомом серы метионина.

метионинов Met329 по совокупности параметров dist и ΔG – наиболее вероятный метиониновый сайт, что согласуется с экспериментом. Если же сравнивать His105 и His288, то по значению dist комплекс цисплатина с His105 геометрически ближе к экспериментальным данным, однако по величине энергии цисплатин лучше взаимодействует с His288.

На основании сопоставления расчетных и литературных данных, описанных в разделе “Расчет характеристик реперных соединений и создание шкалы для оценки жесткости электрофилов”, можно предложить следующую предварительную градацию жесткости электрофилов (работает только для конкретного, выбранного нами функционала и базиса, при применении других параметров шкала может быть сдвинута):

- $\eta < 2$ эВ – мягкий электрофил, взаимодействует только с тиоловыми группами цистеинов;
- $2 \text{ эВ} < \eta < 3.2 \text{ эВ}$ – электрофил средней жесткости, может взаимодействовать практически с любыми белковыми группами (цистеины, глутатион, лизины, гистидины, N-концевые аминокислоты);
- $\eta > 3.2 \text{ эВ}$ – жесткий электрофил, взаимодействует с жесткими нуклеофильными аминокислотами (лизины, тирозины) и с ДНК.

Конечно, такая классификация носит лишь оценочный характер, возможны пограничные состояния и отклонения, которые зависят от конкретной химической структуры вещества. Так, цисплатин плохо вписывается в эту шкалу, согласно которой он выступает нуклеофилом средней жесткости, однако в реальности может образовывать аддукты с ДНК. Такое отклонение связано, по всей

видимости, со сложностью структуры препарата, содержащего массивный атом платины.

Расчет характеристик тестовых электрофилов. На следующем этапе мы рассчитали электрофильные индексы некоторых тестовых электрофилов.

Акрилонитрил. Согласно полученным нами расчетным данным ($\eta = 3.14$ эВ, $\omega = 3.97$ эВ), акрилонитрил является электрофилом средней жесткости, который может в той или иной степени взаимодействовать с цистеинами, лизинами и гистидинами. В литературе достаточно мало информации об аддуктах этого вещества. Известно, что N-ацетил-S-(2-цианозтил)-L-цистеин является основным продуктом выделения с мочой после воздействия акрилонитрила [37,38], то есть, по всей видимости, аддукт с глутатионом – один из основных аддуктов акрилонитрила. В статье [39] в эксперименте *in vivo* на крысах показали, что акрилонитрил образует аддукты с гемоглобином, причем аддукт с N-концевым валином составлял лишь 0.2% от общего числа аддуктов с этим белком. Авторы предположили, что основное присоединение может идти по реактивному β -Cys93 (есть в Hb крысы и человека), а также по β -Cys125, который есть в гемоглобине крысы, но не человека. Мы провели молекулярный докинг акрилонитрила возле возможных сайтов присоединения, результат представлен в табл. 7.

Согласно полученным данным, акрилонитрил может образовывать аддукты с практически со всеми рассмотренными аминокислотами (кроме α -Cys104 Hb), по совокупности значений dist и ΔG самые вероятные сайты – β -Cys93 Hb и GSH, чуть менее вероятные α -Val1 (Hb) и β -Cys112 (Hb) и еще

Таблица 7. Результат молекулярного докинга акрилонитрила нуклеофильные сайты HSA, Hb и GST

Нуклеофильная группа	dist (Å)	ΔG (kcal/mol)
Cys34 (HSA)	3.9	–2.0
β -Cys93 (Hb)	3.9	–2.6
α -Cys104 (Hb)	5.1	+1.0
β -Cys112 (Hb)	3.7	–2.3
α -Val1 (Hb)	4.0	–2.6
β -Val1 (Hb)	4.0	–2.1
GSH (GST)	3.9	–2.6

α и β – α - и β -цепи Hb, соответственно; dist – расстояние между атомом углерода CH_2 -группы акрилонитрила и атомом серы тиоловой группы цистеина или атомом азота N-концевого валина.

несколько менее вероятные – Cys34 (HSA) и β -Val1 (Hb). В литературе мы не нашли данных о том, что сам акрилонитрил в релевантных дозах может образовывать аддукты с ДНК, но его метаболит глицидонитрил может [40]. Согласно нашим расчетным данным, у глицидонитрила $\eta = 4.05$ эВ и $\omega = 2.57$ эВ, то есть по предложенной нами шкале глицидонитрил – жесткий электрофил, что позволяет ему взаимодействовать с такими жесткими нуклеофилами как нуклеотидные основания ДНК (по атому N7 гуанина).

Стирол. В условиях *in vivo* стирол окисляется до своего активного метаболита стирол-7,8-оксида (стиролоксид), который, согласно нашим расчетам, выступает электрофилом средней жесткости, на границе с жесткими ($\eta=3.09$ эВ, $\omega=2.14$ эВ) и также, согласно принципу жестких и мягких кислот и оснований, может взаимодействовать с широким спектром сайтов присоединения. Согласно данным *in vitro*, при взаимодействии с гемоглобином стиролоксид в насыщающих концентрациях может образовывать аддукты со

следующими аминокислотами: α -His20, α -His45, α -His50, α -His72, α -Cys104, β -His77, β -Cys93, β -His97, β -Cys112, β -His143, а также с N-концевыми валинами обеих субъединиц [41, 42]. Также возможна конъюгация с глутатионом [43] и Cys34 альбумина в условиях *in vivo* [44].

Согласно данным работы [45], при взаимодействии стиролоксида с цистеином нуклеофильная атака идет преимущественно на α -углерод лиганда (хотя атака на β -атом тоже возможна, рис. 3), аналогичный механизм работает и в случае взаимодействия стиролоксида с лизинами и N-концевыми аминокислотами, тогда как при взаимодействии с гистидинами образуется преимущественно β -аддукт [46]. На основании всех известных литературных данных мы провели молекулярный докинг стиролоксида в возможные сайты присоединения. Поскольку стиролоксид оптически активное соединение, докинг был проведен для обоих стереоизомеров лиганда. Результат представлен в табл. 8.

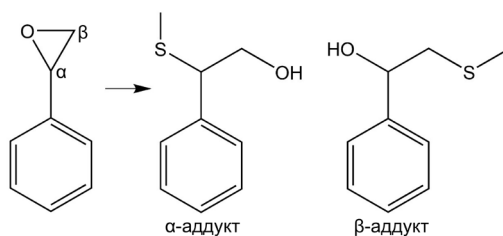


Рис. 3. Механизм взаимодействия стиролоксида с тиоловыми группами цистеинов.

Таблица 8. Результат молекулярного докинга стиролоксида нуклеофильные сайты HSA, Hb и GST

Нуклеофильная группа	dist (Å) (R/S-stereoisomers)	ΔG (kcal/mol) (R/S-stereoisomers)
Cys34 (HSA)	3.7/3.6	-2.7/-2.7
β -Cys93 (Hb)	3.8/3.7	-3.9/-4.3
α -Cys104 (Hb)	7.0/6.7	+10.9/+9.9
β -Cys112 (Hb)	3.6/3.4	+2.9/+3.0
α -His20 (Hb)	3.7/4.0	-2.1/-2.4
α -His45 (Hb)	4.1/3.8	-4.4/-4.7
α -His50 (Hb)	3.6/3.9	-3.5/-3.7
α -His72 (Hb)	3.6/4.1	-1.8/-2.0
β -His77 (Hb)	3.7/3.6	-2.7/-2.2
β -His97 (Hb)	4.2/3.6	-3.8/-3.1
β -His143 (Hb)	3.6/3.6	-2.5/-2.3
α -Val1 (Hb)	4.0/4.0	-4.1/-3.7
β -Val1 (Hb)	4.1/3.9	-2.3/-2.1
GSH (GST)	3.9/3.9	-5.1/-5.4

α и β – α - и β -цепи Hb, соответственно; dist – расстояние между ближайшим алифатическим атомом углерода стиролоксида и атомом серы тиоловой группы цистеина или атомом азота N-концевого валина или атомом азота боковых радикалов гистидина.

Согласно результату докинга, основные сайты образования аддуктов стиролоксида с белками – α -Val1, β -Cys93, α -His45, α -His50 гемоглобина и глутатион. На рис. 4 представлены комплексы S-стиролоксида с α -His45 гемоглобина (рис. 4а) и R-стиролоксида с α -Val1 гемоглобина (рис. 4б). Комплекс с альбумином имеет среднюю степень сродства, однако, как отмечалось выше, благодаря высокой концентрации альбумина и высокой реактивности Cys34, вероятность образования аддуктов с Cys34 также высока. Интересно отметить, что, согласно результату докинга, R-стереоизомер стиролоксида в целом хуже взаимодействует с белковыми сайтами.

Известно, что стиролоксид может образовывать аддукты и с ДНК, со всеми четырьмя нуклеотидными основаниями [47]. Таким образом, стиролоксид – “универсальный” электрофил, способный образовывать аддукты практически со всеми типами нуклеофилов.

Бензолксид и толуолксид. Согласно нашим расчетам, для бензолксида значение жесткости η составляет 2.53 эВ, значение электрофильности ω составляет 3.12 эВ. Для толуолксида значение жесткости η составляет 2.48 эВ, значение электрофильности ω составляет 2.81 эВ. То есть, по предложенной нами шкале, эти соединения представляют собой электрофилы средней жесткости, ближе к мягкому. По значению η бензол- и толуол-оксиды будут эффективнее взаимодействовать с мягкими нуклеофилами (тиоловые группы цистеинов), чем с жесткими. В литературе также описаны только цистеиновые аддукты бензол-оксида: с альбумином [48-50], гемоглобином [48, 51] и глутатионом, причем конъюгат с глутатио-

ном образуется ферментативно, с участием глутатионтрансферазы [52]. Для толуолксида информации об аддуктах с белками в литературе нами не было найдено, но близкие к бензолксиду структура и значения η и ω дают основания предполагать, что толуолксид также будет образовывать аддукты преимущественно с тиоловыми группами белков. Мы провели молекулярный докинг бензолксида и толуолксида в возможные сайты присоединения – возле тиоловых групп альбумина, гемоглобина, а также в активный центр глутатионтрансферазы. Результаты представлены в табл. 9 и 10. Согласно данным молекулярного докинга, наиболее вероятно будет образование аддуктов бензолксида и толуолксида с глутатионом, а также с Cys93 гемоглобина.

Значения жесткости и электрофильности всех рассмотренных соединений и информация об их аддуктах собраны в табл. 11. На основании сопоставления расчетных и литературных данных можно предложить уточненную шкалу жесткости электрофилов, уже частично описанную в данном разделе.

– $\eta < 2$ эВ – мягкий электрофил, взаимодействует только с тиоловыми группами цистеинов;

– $2 \text{ эВ} < \eta < 3.2 \text{ эВ}$ – электрофил средней жесткости, может взаимодействовать практически с любыми белковыми группами (цистеины, глутатион, лизины, гистидины, N-концевые аминокислоты), некоторые электрофилы средней жесткости могут взаимодействовать с ДНК;

– $\eta > 3.2$ эВ – жесткий электрофил, взаимодействует с жесткими нуклеофильными аминокислотами (лизины, тирозины), некоторые из них могут взаимодействовать с ДНК.

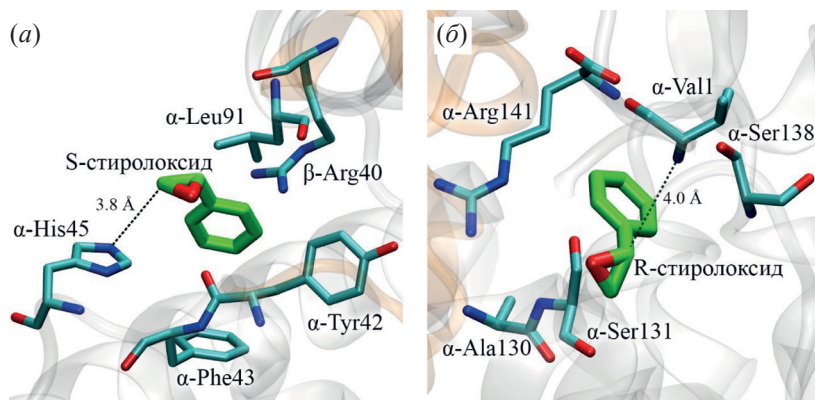


Рис. 4. Продуктивная конформация S-стиролоксида возле α -His45 (а) и R-стиролоксида возле α -Val1 гемоглобина (б). α - и β -цепи Нб показаны белой и оранжевой лентой, соответственно. Атомы водорода не показаны для четкости рисунка.

Таблица 9. Результат молекулярного докинга бензолоксида нуклеофильные сайты HSA, Hb и GST

Нуклеофильная группа	dist (Å)	ΔG (kcal/mol)
Cys34 (HSA)	4.2	-2.1
β -Cys93 (Hb)	3.8	-4.0
α -Cys104 (Hb)	5.5	+8.7
β -Cys112 (Hb)	3.6	-0.3
GSH (GST)	3.9	-4.1

α и β – α - и β -цепи Hb, соответственно; dist – расстояние между ближайшим алифатическим атомом углерода бензолоксида и атомом серы тиоловой группы цистеина.

Таблица 10. Результат молекулярного докинга толуолоксида нуклеофильные сайты HSA, Hb и GST

Нуклеофильная группа	dist (Å)	ΔG (kcal/mol)
Cys34 (HSA)	3.9	-2.0
β -Cys93 (Hb)	4.0	-3.7
α -Cys104 (Hb)	4.6	+12.8
β -Cys112 (Hb)	4.1	+1.1
GSH (GST)	3.6	-4.6

α и β – α - и β -цепи Hb, соответственно; dist – расстояние между ближайшим алифатическим циклическим атомом углерода толуолоксида и атомом серы тиоловой группы цистеина.

Таблица 11. Квантово-химические свойства модельных соединений и их метаболитов

Соединение/метаболит	η (эВ)	ω (эВ)	Известные аддукты
акриламид	2.93	2.96	цистеины, лизины, N-концевые аминокислоты, глутатион, ДНК
глицидамид	3.50	1.94	
акролеин	2.60	4.17	цистеины, гистидины, глутатион, ДНК
NAPQI	1.62	9.38	цистеины, глутатион
н-гексан	4.69	1.48	лизины
2,5-гександион	3.15	2.31	
цисплатин	2.33	2.98	гистидины, метионины, ДНК
акрилонитрил	3.14	3.97	цистеины, N-концевые аминокислоты, глутатион, ДНК
глицидонитрил	4.05	2.57	
стирол	2.55	2.75	цистеины, гистидины, N-концевые аминокислоты, глутатион, ДНК
стирол оксид	3.09	2.14	
бензол оксид	2.53	3.12	цистеины
толуол оксид	2.48	2.81	цистеины

Здесь можно только дополнить, что электрофилы, для которых значение жесткости η лежит в диапазоне 2.5–3.5 эВ, выступают “пограничными”, и для них возможность образования аддуктов с ДНК будет определяться другими физико-химическими характеристиками.

И также отметим, что эта шкала работает только для конкретного, выбранного нами функционала и базиса, при использовании других функционалов и базисов она будет иной.

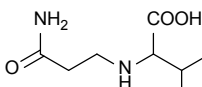
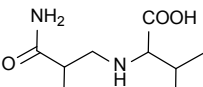
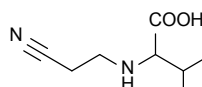
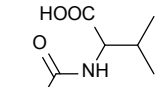
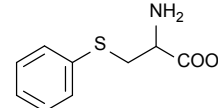
Общая оценка аттрактивности нуклеофильных сайтов биомолекул для модификации электрофилами. Первичную оценку того, с какими конкретно аминокислотами белков крови будет образовывать аддукт тот или иной электрофил (эта информация может быть полезна при поиске модифицированных пептидов после разрушения белков протеолитическими ферментами), можно провести с помощью метода молекулярного докинга: в целом, чем отрицательнее значение сво-

бодной энергии образования комплекса между электрофилом и сайтом модификации и меньше расстояние между реагирующими атомами в полученном комплексе, тем больше вероятность образования аддукта именно с этим сайтом. Другой характеристикой для отбора сайтов присоединения может служить аминокислотное окружение возможного сайта. Так, возле Cys34 альбумина находится Asp38, который может оттянуть на себя протон SH-группы Cys34 и сделать этот цистеин более реактивным. Благодаря этой особенности, а также высокой концентрации HSA в плазме, Cys34 является основным сайтом модификации для многих рассмотренных электрофилов, тогда как по данным докинга он не является для них предпочтительным. Возможные сайты модификации биомолекул электрофилами преимущественно относятся к жестким нуклеофилам, а среди распространенных токсичных химикатов жестких электрофилов немного. Мягкие нуклеофилы, такие как упомянутые выше анионные атомы серы боковой цепи остатков цистеина, имеют большие атомные радиусы и, как следствие, соответствующие валентные электроны сильно

поляризуются. Другие биологические нуклеофилы, такие как азотные группы остатков лизина (Lys) и гистидина (His), являются более жесткими из-за более локализованного заряда, обусловленного их меньшими атомными радиусами и большей электроотрицательностью. Диссоциирующие группы в боковой цепи имеют следующие аминокислоты: Glu, Asp, Cys, Tyr, Lys, Arg, His.

Как следует из табл. 12, для всех выбранных электрофилов характерно образование аддуктов с глобином по концевому валину и только для бензола (бензолоксида) по цистеину. Это обстоятельство также не противоречит расчетной модели, поскольку бензол оксид имеет самое низкое значение показателя жесткости в рассматриваемой группе ($\eta = 2.53$ эВ). Современные методы химической протеомики позволяют измерять относительную реактивность каждого лизина по отношению к электрофилам. Однако установить сайты связывания электрофилов с лизинами белков достаточно сложно, поскольку аттрактивность лизина для электрофилов во многом определяется положением лизинового остатка в молекуле белка.

Таблица 12. Глобиновые аддукты ряда токсичных органических веществ и их активных метаболитов

Вещество или метаболит, образующие аддукты с глобином	Название аддукта и структурная формула
Акриламид	 N-(2-карбонамидэтил)валин
Глицидамид	 N-(2-гидрокси-2-карбонамидэтил)валин
Акрилонитрил	 N-(2-цианоэтил)валин
Диметилформамид	 N-[(метиламино)карбонил]валин
Бензол оксид	 S-фенил-цистеин

Поэтому на данном этапе развития вычислительной химии сложнее устанавливать сайты связывания с остатками лизина, чем с остатками цистеина.

В целом жесткость аминокислотных концевых групп при образовании аддуктов с белками возрастает в ряду: вторичные аминогруппы гистидина > первичные аминогруппы лизина и аргинина > S атомы метионина > тиоловые группы цистеина. При образовании аддуктов с ДНК нуклеофильные сайты по возрастанию жесткости можно ранжировать следующим образом: Фосфатный атом кислорода (P=O) > атомы кислорода пуриновых и пиримидиновых оснований (например, Об гуанина) > внутрикольцевые атомы азота пуриновых и пиримидиновых оснований (например, N7 гуанина) > первичные аминогруппы пуриновых оснований (например, аргинина, гуанина).

Нуклеофильные сайты биомолекул становятся более или менее аттрактивной мишенью для электрофилов в зависимости от совокупного разнонаправленного влияния многих факторов. В частности, жесткость/мягкость нуклеофильных сайтов биомолекул может иметь непостоянный характер. Стерические и кинетические факторы могут опрокидывать установленные закономерности. Это значительно затрудняет прогноз. К настоящему времени наиболее хорошо изучены необратимые реакции электрофилов с нуклеофильными сульфгидрильными группами боковых цепей на цистеиновых остатках клеточных белков – тиоловых группах. По сравнению с другими нуклеофильными аминокислотами, тиоловая группа цистеина обладает высокой чувствительностью к окислительно-восстановительным превращениям, претерпевая при этом модификации. На сегодняшний день многие ковалентные ингибиторы, которые присоединяются к каталитическому цистеину, исследуются в качестве перспективных противораковых препаратов [53]. Тиоловые группы цистеина могут существовать в нескольких состояниях окисления. Окисление Cys-34 приводит к образованию сульфеновой кислоты (RSOH), которая в дальнейшем окисляется до сульфиновой (RSO₂H) или сульфоновой (RSO₃H). Тиоловое состояние, которое является очень слабым нуклеофилом, может быть также ионизировано до высокореакционного нуклеофильного тиолата. Таким образом, SH-группы можно рассматривать как аттрактивные сайты присоединения электрофилов

различной жесткости. Анионное сульфгидрильное состояние принимает критическое участие во многих биохимических процессах клетки, поэтому необратимая ковалентная модификация под действием экзогенных (экологических) токсикантов или эндогенных электрофилов может иметь существенные патологические последствия.

Наиболее изученные сайты модификации – боковые цепи белковых аминокислот: цистеина, гистидина, тирозина, триптофана, аргинина, лизина, и азотистые основания в ДНК (например, N7-гуанин, Об-гуанин и N3-аденин) [54].

Применимость прогноза *in silico* для выбора стратегии идентификации аддуктов электрофилов с биомолекулами. В настоящее время лишь для незначительного количества токсичных электрофилов установлены структуры биомолекулярных аддуктов. Объем и, соответственно, бюджет и продолжительность исследований с применением высокопрецизионного аналитического оборудования могут быть существенно сокращены, если структуры искомым аналитов (аддуктов) будут предсказаны с высокой степенью достоверности. В настоящей работе индекс электрофильности рассматривали как глобальный дескриптор реакционной способности молекул, а степень близости жесткости/мягкости электрофила и нуклеофильного сайта биомолекул использовали для выбора наиболее аттрактивных сайтов ковалентной модификации биомолекул электрофилов. В модельную группу электрофилов были включены наиболее изученные соединения, но даже и для них подтверждены структуры незначительного количества аддуктов. Также необходимо учитывать, что многие соединения (бензол, стирол и др.) образуют различные реактивные метаболиты, но имеющиеся сведения о структурной идентификации аддуктов доступны только для одного из метаболитов, и даже они чрезвычайно скудны. Анализ аддуктов с макромолекулами более сложен, чем анализ свободных метаболитов. В случае некаталитического образования аддуктов, только небольшая часть имеющихся макромолекул вступает в реакцию с электрофилом, и поэтому аддукт должен быть обнаружен на фоне большого “макромолекулярного шума”. Для значительной части прогнозов до настоящего времени экспериментального подтверждения нет. Практика показывает, что тиоловая группа глутатиона – наи-

более аттрактивный сайт для электрофилов. На настоящий момент аддукты с глутатионом представляются наиболее перспективными биомаркерами для оценки экспозиции к электрофилам [5]. Недостаток этих биомаркеров – отсутствие прямой связи с токсичностью и ограниченные возможности моделирования *in vitro* аддукции электрофилов с глутатионом.

Важная причина несовпадения прогноза и факта – отсутствие или неполнота знаний о реактивных метаболитах ксенобиотиков. Учитывая недостаток знаний об истинных метаболитах большинства химических веществ, инструменты прогнозирования целесообразно в первую очередь направить на изучение метаболизма на уровне свободных низкомолекулярных веществ. Прогноз *in silico* будет особенно продуктивен в тех случаях, когда реактивные метаболиты имеют чрезвычайно короткое время жизни и не могут быть обнаружены в свободном виде в образцах, полученных *in vivo*. Прогноз метаболизма 33 ксенобиотиков *in silico* представлен в работе [55]. Прогноз *in silico* целесообразно дополнять экспериментом *in vitro*, но инкубирование ксенобиотиков необходимо проводить не с плазмой, а с печеночными ферментами или, что предпочтительнее, с суспензиями гепатоцитов. Вычислительные прогнозы метаболизма и исследование метаболизма *in vitro* в совокупности могут дать более достоверный прогноз, чем только вычислительные методы. Также важно отметить, что на сегодняшний день отсутствуют технологии, которые могли бы напрямую оценить достоверность прогноза. Экспериментальные исследования по обнаружению и идентификации аддуктов с использованием различных методов хроматомасс-спектрометрии в настоящее время проводятся с использованием следующих техник:

- определение фрагментов аддуктов электрофилов после их биогенной фрагментации;
- гидролиз белковой части до модифицированных пептидных фрагментов;
- гидролиз белковой части до свободных аминокислот и поиск тех аминокислот, которые подверглись модификации электрофилом;
- регенерация (реактивирование) электрофила до свободного состояния из состава аддукта.

Все эти техники предоставляют лишь косвенную информацию и не позволяют представить

полную картину модификации биомолекул электрофилами. В то же время, пионерские исследования в данной области обещают значительный прогресс в изучении различных биомолекулярных модификаций от моноаддуктов до сложных гибридных сшивок между различными типами биомолекул [56]. Большим достижением служит формирование библиотеки масс-спектров аддуктов ДНК [57]. В гибридных методах ведущая роль принадлежит ВЭЖХ-МС. При анализе ДНК, РНК и белковых аддуктов масс-спектрометрия предоставляет информацию о разновидностях, положениях и количестве модификаций [58]. Пока не разработаны, но остаются привлекательной целью подходы, которые охватывали бы исчерпывающую совокупность аддуктов (модификаций), которые присутствуют в ДНК, РНК или белках, обнаруженных в клетке/ткани/органе/организме, тем самым характеризуются молекулярные изменения, вызванные различными экологическими и биологическими факторами [59].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Подготовка трехмерных моделей молекул.

Трехмерные структуры низкомолекулярных веществ были построены и оптимизированы методом минимизации энергии с помощью молекулярного редактора программы Avogadro v1.2.0 [60]. В качестве белковых мишеней изучали HSA, Hb и GST. Трехмерные модели изучаемых белков были загружены из базы данных PDB (protein data bank), в которой собраны трехмерные структуры макромолекул, полученные экспериментально (методом рентгеноструктурного анализа, ядерного магнитного резонанса или криоэлектронной микроскопии). Использовали следующие структуры: 3JQZ для HSA [61], 1CLS для Hb [62] и 1GUH для GST [63]. Молекулы воды и лигандов были удалены из загруженных моделей, недостающие атомы водородов были достроены с помощью программы VMD v1.9.4a53 [64].

Расчет квантово-химических индексов. Значения E_{HOMO} (энергия верхней заполненной молекулярной орбитали) и E_{LUMO} (энергия нижней вакантной молекулярной орбитали) были рассчитаны с помощью программного пакета Orca v5.0.4 [65] с помощью метода теории функционала плотности (DFT) с использованием функционала B3LYP в сочетании с базисом def2-TZVP (из семейства базисов Karlsruhe) с оптимизацией структуры мо-

лекулы. Значения жесткости η и электрофильности ω были рассчитаны из значений E_{HOMO} и E_{LUMO} по формулам, приведенным в работе [66]:

$$\eta = (E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}})/2;$$

$$\omega = [(E_{\text{LUMO}} + E_{\text{HOMO}})^2]/[4 * (E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}})].$$

Молекулярный докинг. Молекулярный докинг электрофилов в сайты модификации HSA, Hb и GST проводили с помощью программного пакета Autodock Vina 1.1.2 [67]. В исследуемом сайте связывания белка задавали область поиска размером $10 \times 10 \times 10$ Å. Число запусков (exhaustiveness) принимали равным 10. Дозволительный максимум разброса значений энергий конформаций в выходном файле (energy_range) принимали равным 3 ккал/моль. Количество наиболее оптимальных (энергетически выгодных) конформаций в выходном файле (num_modes) задавали равным 10. В итоге результатом процедуры докинга являлся набор из 10 наиболее вероятных конформаций. В качестве итоговой конформации отбирали ту, в которой расстояние между функционально значимыми атомами было минимальным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные тенденции в аддуктомике направлены на изучение способности токсичных электрофилов и/или их реактивных метаболитов модифицировать нуклеофильные участки белков и пептидов крови, ДНК и РНК. Биомолекулы могут быть выделены из биожидкостей и подвергнуты гидролизу, после чего становится возможным определение фрагментов, модифицированных токсичными электрофилами, методами хроматомасс-спектрометрии высокого разрешения. Структуры аддуктов, образующихся при ковалентной модификации биомолекул, известны лишь для незначительного количества токсичных химикатов. Для предсказания наиболее аттрактивных нуклеофильных сайтов связывания токсичных электрофилов был предложен алгоритм, основанный на расчете показателей электрофильности и жесткости токсичных соединений и их реактивных метаболитов и последующем определении возможных аминокислот и/или нуклеотидов, подвергаемых модификации по принципу близости значений жесткости нуклеофилов (в биомолекулах) и электрофилов (ксенобиотиков). Методом молекулярного докинга электрофилов или их метаболитов в нуклеофильные сайты возможного

присоединения возможны проверка сформированных гипотез и отклонение маловероятных.

Для проверки работоспособности предложенного алгоритма была сформирована модельная группа токсичных органических соединений, включавшая: акриламид и его метаболит глицидамид, акролеин, NAPQI, н-гексан и его метаболит 2,5-гександион, цисплатин, акрилонитрил и его метаболит глицидонитрил, стирол, стирилоксид, бензол-оксид, толуолоксид. Выбор соединений проводили с учетом их актуальности для аналитической токсикологии.

Можно отметить следующие особенности первичной *in silico* оценки вероятности образования аддуктов с теми или иными макромолекулами:

- образовывать аддукты может не только сам электрофил, но и его активные метаболиты. Поэтому перед расчетом электрофильных индексов необходимо собрать информацию о метаболитах электрофила или провести поиск этих метаболитов методами *in silico* [68];
- стереоизомерия не оказывает значимого влияния на величину жесткости и электрофильности, но может влиять на эффективность взаимодействия с тем или иным сайтом конкретного белка.

Итоговая схема *in silico* оценки возможности образования тех или иных аддуктов выглядеть следующим образом:

1. Сбор информации о метаболитах электрофила.
2. Расчет электрофильных индексов электрофила и его метаболитов, определение возможных аминокислот и/или нуклеотидов присоединения по описанной выше шкале.
3. Молекулярный докинг в сайты возможного присоединения HSA, Hb, GST; при наличии хиральных центров в молекуле докинг должен быть проведен для всех стереоизомеров.
4. Сопоставление данных докинга с известной информацией о реактивности той или иной аминокислоты (как, например информация о том, что Cys34 HSA высоко реактивен благодаря аминокислотному окружению).
5. Составление списка приоритетных сайтов на основе информации пунктов 1–4.

В заключение можно еще раз отметить, что на данный момент подход *in silico* не может полностью смоделировать сложный биологический организм, а хромато-спектральные методы позволяют

выявить лишь те аддукты, которые удастся перевести в пригодную для анализа форму с применением пока еще ограниченного набора техник. Таким образом, отбор возможных сайтов конъюгации электрофилов с биологическими макромолекулами методами молекулярного моделирования для прогноза наиболее вероятных целевых аналитов в хромато-спектральном анализе может носить лишь предварительный, оценочный характер.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Вычислительные эксперименты с альбумином в качестве объекта сделаны в рамках ГЗ № 075-00263-25-00 (Д.А. Белинская).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы внесли равноценный вклад в написание статьи и дали одобрение на окончательный вариант текста.

ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ

Данные, подтверждающие выводы настоящего исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pivotal Role of Mass Spectrometry for the Assessment of Exposure to Reactive Chemical Contaminants: From the Exposome to the Adductome / *Debrauwer L., Mervant L., Laprevote O., Jamin E.L.* Eds. / Wiley Periodicals LLC, 2024.
2. *Knapen M.F., Zusterzeel P.L., Peters W.H., Steegers E.A.* // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 1999. V. 82. P. 171–184.
[https://doi.org/10.1016/s0301-2115\(98\)00242-5](https://doi.org/10.1016/s0301-2115(98)00242-5)
3. *Blum M.M., Schmeißer W., Dentzel M., Thiermann H., John H.* // Anal. Bioanal. Chem. 2024. V. 416. P. 5791–5804.
<https://doi.org/10.1007/s00216-024-05501-8>
4. *Reuter, H., Steinritz, D., Worek, F., John H.* // Anal. Bioanal. Chem. 2025. V. 417. P. 1833–1845.
<https://doi.org/10.1007/s00216-025-05762-x>
5. *Xie Z., Chen J.Y., Gao H., Keith R.J., Bhatnagar A., Lorkiewicz P., Srivastava S.* // Environ. Sci. Technol. 2023. V. 57. P. 10563–10573.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.2c09554>
6. *La Barbera G., Shuler M.S., Beck S.H., Ibsen P.H., Lindberg L.J., Karstensen J.G., Dragsted L.O.* // Talanta. 2025. V. 282. P. 126985.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126985>
7. *Blair I.A.* // Biomed. Chromatogr. 2010. V. 1. P. 29–38.
<https://doi.org/10.1002/bmc.1374>
8. *Koivisto P., Peltonen K.* // Anal. Bioanal. Chem. 2010. V. 398. P. 2563–2572.
<https://doi.org/10.1007/s00216-010-4217-3>
9. *Pearson R.G.* // J. Am. Chem. Soc. 1963. V. 85. P. 3533–3539.
<https://doi.org/10.1021/ja00905a001>
10. *LoPachin R.M., Geohagen B.C., Nordstroem L.U.* // Toxicology. 2019. V. 418. P. 62–69.
<https://doi.org/10.1016/j.tox.2019.02.005>
11. *Tong G.C., Cornwell W.K., Means G.E.* // Toxicol. Lett. 2004. V. 147. P. 127–131.
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2003.10.021>
12. *Hashimoto K., Aldridge W.N.* // Biochem. Pharmacol. 1970. V. 19. P. 2591–2604.
[https://doi.org/10.1016/0006-2952\(70\)90009-2](https://doi.org/10.1016/0006-2952(70)90009-2)
13. *Springer D.L., Bull R.J., Goheen S.C., Sylvester D.M., Edmonds C.G.* // J. Toxicol. Environ. Health. 1993. V. 40. P. 161–176.
<https://doi.org/10.1080/15287399309531785>
14. *Basile A., Ferranti P., Moccaldi R., Spagnoli G., Sannolo N.* // J Chromatogr A. 2008. V. 1215. P. 74–81.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.10.093>
15. *Luo Y.S., Long T.Y., Shen L.C., Huang S.L., Chiang S.Y., Wu K.Y.* // Chem. Biol. Interact. 2015. V. 237. P. 38–46.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.05.002>
16. *Doerge D.R., Gamboa da Costa G., McDaniel L.P., Churchwell M.I., Twaddle N.C., Beland F.A.* // Mutat. Res. 2005. V. 580. P. 131–141.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2004.10.013>
17. *Gan J.C., Oandasan A., Ansari G.A.S.* // Chemosphere. 1991. V. 23. P. 939–947.
[https://doi.org/10.1016/0045-6535\(91\)90098-X](https://doi.org/10.1016/0045-6535(91)90098-X)
18. *Lassé M., Stampfli A.R., Orban T., Bothara R.K., Gerrard J.A., Fairbanks A.J., Pattinson N.R., Dobson R.C.J.* // Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj. 2021. V. 1865. e130013.
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2021.130013>

19. Moghe A., Ghare S., Lamoreau B., Mohammad M., Barve S., McClain C., Joshi-Barve S. // *Toxicol. Sci.* 2015. V. 143. P. 242–255.
<https://doi.org/10.1093/toxsci/kfu233>
20. Wang H.T., Zhang S., Hu Y., Tang M.S. // *Chem. Res. Toxicol.* 2009. V. 22. P. 511–517.
<https://doi.org/10.1021/tx800369y>
21. LeBlanc A., Shiao T.C., Roy R., Sleno L. // *Chem. Res. Toxicol.* 2014. V. 27. P. 1632–1639.
<https://doi.org/10.1021/tx500284g>
22. Hoos J.S., Damsten M.C., de Vlieger J.S., Commandeur J.N., Vermeulen N.P., Niessen W.M., Lingeman H., Irth H. // *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2007. V. 859. P. 147–156.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2007.09.015>
23. Switzar L., Kwast L.M., Lingeman H., Giera M., Pieters R.H., Niessen W.M. // *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2013. V. 917–918. P. 53–61.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.12.033>
24. Axworthy D.B., Hoffmann K.J., Streeter A.J., Calleman C.J., Pascoe G.A., Baillie T.A. // *Chem. Biol. Interact.* 1988. V. 68. P. 99–116.
[https://doi.org/10.1016/0009-2797\(88\)90009-9](https://doi.org/10.1016/0009-2797(88)90009-9)
25. Bischoff K. // *Veterinary Toxicology (Third Edition) Basic and Clinical Principles* / Ed. Gupta R.C. Academic Press, 2018. P. 357–384.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00021-0>
26. Ozawa M., Kubo T., Lee S.H., Oe T. // *J. Toxicol. Sci.* 2019. V. 44. P. 559–563.
<https://doi.org/10.2131/jts.44.559>
27. Yin H., Guo Y., Zeng T., Zhao X., Xie K. // *PLoS One.* 2013. V. 8. e76011.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076011>
28. DeCaprio A.P., O'Neill E.A. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1985. V. 78. P. 235–247.
[https://doi.org/10.1016/0041-008x\(85\)90287-x](https://doi.org/10.1016/0041-008x(85)90287-x)
29. Yan B., DeCaprio A.P., Zhu M., Bank S. // *Chem. Biol. Interact.* 1996. V. 102. P. 101–116.
[https://doi.org/10.1016/s0009-2797\(96\)03738-6](https://doi.org/10.1016/s0009-2797(96)03738-6)
30. DeCaprio A.P., Strominger N.L., Weber P. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1983. V. 68. P. 297–307.
[https://doi.org/10.1016/0041-008x\(83\)90014-5](https://doi.org/10.1016/0041-008x(83)90014-5)
31. Ichihara G., Amarnath V., Valentine H.L., Takeshita T., Morimoto K., Sobue T., Kawai T., Valentine W.M. // *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 2019. V. 92. P. 873–881.
<https://doi.org/10.1007/s00420-019-01430-7>
32. Wang Y., Yu H., Shi X., Luo Z., Lin D., Huang M. // *J. Biol. Chem.* 2013. V. 288. P. 15980–15987.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M113.467027>
33. Ding A., Ojingwa J.C., McDonagh A.F., Burlingame A.L., Benet L.Z. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993. V. 90. P. 3797–3801.
<https://doi.org/10.1073/pnas.90.9.3797>
34. Wu Y., Chen L., Chen J., Xue H., He Q., Zhong D., Diao X. // *Drug Metab. Dispos.* 2023. V. 51. P. 8–16.
<https://doi.org/10.1124/dmd.122.001019>
35. Scaloni A., Ferranti P., De Simone G., Mamone G., Sannolo N., Malorni A. // *FEBS Lett.* 1999. V. 452. P. 190–194.
[https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(99\)00601-8](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)00601-8)
36. Ferraro G., Massai L., Messori L., Merlino A. // *Chem. Commun. (Camb).* 2015. V. 51. P. 9436–9439.
<https://doi.org/10.1039/C5CC01751C>
37. Minet E., Cheung F., Errington G., Sterz K., Scherer G. // *Biomarkers.* 2011. V. 16. P. 89–96.
<https://doi.org/10.3109/1354750x.2010.533287>
38. Lin C.Y., Lee H.L., Sung F.C., Su T.C. // *Environ. Pollut.* 2018. V. 239. P. 493–498.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.04.010>
39. Benz F.W., Nerland D.E., Li J., Corbett D. // *Fundam. Appl. Toxicol.* 1997. V. 36. P. 149–156.
<https://doi.org/10.1006/faat.1997.2295>
40. Walker V.E., Fennell T.R., Walker D.M., Bauer M.J., Upton P.B., Douglas G.R., Swenberg J.A. // *Chem. Res. Toxicol.* 2020. V. 33. P. 1609–1622.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.0c00153>
41. Kaur S., Hollander D., Haas R., Burlingame A.L. // *J. Biol. Chem.* 1989. V. 264. P. 16981–16984.
42. Basile A., Ferranti P., Mamone G., Manco I., Pocsfalvi G., Malorni A., Acampora A., Sannolo N. // *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2002. V. 16. P. 871–878.
<https://doi.org/10.1002/rcm.655>
43. Greim H. // *Toxicol. Lett.* 2003. V. 138. P. 1–8.
[https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(02\)00408-3](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(02)00408-3)
44. Rappaport S.M., Yeowell-O'Connell K., Bodell W., Yager J.W., Symanski E. // *Cancer Res.* 1996. V. 56. P. 5410–5416.
<https://doi.org/10.1002/rcm.655>
45. Dai J., Zhang F., Zheng J. // *Anal. Biochem.* 2010. V. 405. P. 73–81.
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.05.001>
46. Jagr M., Mraz J., Linhart I., Stransky V., Pospisil M. // *Chem. Res. Toxicol.* 2007. V. 20. P. 1442–1452.
<https://doi.org/10.1021/tx700057t>
47. Koskinen M., Plna K. // *Chem. Biol. Interact.* 2000. V. 129. P. 209–229.
[https://doi.org/10.1016/s0009-2797\(00\)00206-4](https://doi.org/10.1016/s0009-2797(00)00206-4)
48. Yeowell-O'Connell K., Rothman N., Smith M.T., Hayes R.B., Li G., Waidyanatha S., Dosemeci M., Zhang L., Yin S., Titenko-Holland N., Rappaport S.M. // *Carcinogenesis.* 1998. V. 19. P. 1565–1571.
<https://doi.org/10.1093/carcin/19.9.1565>

49. *Rappaport S.M., Yeowell-O'Connell K., Smith M.T., Dosemeci M., Hayes R.B., Zhang L., Li G., Yin S., Rothman N.* // J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 2002. V. 778. P. 367–374.
[https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(01\)00457-1](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(01)00457-1)
50. *Grigoryan H., Edmands W.M.B., Lan Q., Carlsson H., Vermeulen R., Zhang L., Yin S.N., Li G.L., Smith M.T., Rothman N., Rappaport S.M.* // Carcinogenesis. 2018. V. 39. P. 661–668.
<https://doi.org/10.1093/carcin/bgy042>
51. *Yeowell-O'Connell K., McDonald T.A., Rappaport S.M.* // Anal. Biochem. 1996. V. 237. P. 49–55.
<https://doi.org/10.1006/abio.1996.0199>
52. *Zarth A.T., Murphy S.E., Hecht S.S.* // Chem. Biol. Interact. 2015. V. 242. P. 390–395.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.005>
53. *Zheng L., Li Y., Wu D., Xiao H., Zheng S., Wang G., Sun Q.* // MedComm-Oncology. 2023. V. 2. e56.
<https://doi.org/10.1002/mog2.56>
54. *Carlsson H., Törnqvist M.* // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 2017. V. 121. Suppl. 3. P. 44–54.
<https://doi.org/10.1111/bcpt.12715>
55. *van Vugt-Lussenburg B.M.A., Capinha L., Reinen J., Rooseboom M., Kranendonk M., Onderwater R.C.A., Jennings P.* // Chem. Res. Toxicol. 2022. V. 35. P. 1184–1201.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.2c00067>
56. *Chao M.-R., Chang Y.-J., Cooke M.S., Hu C.-W.* // Trends Analyt. Chem. 2024. V. 180. e117900.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117900>
57. *Walmsley S.J., Guo J., Tarifa A., DeCaprio A.P., Cooke M.S., Turesky R.J., Villalta P.W.* // Chem. Res. Toxicol. 2024. V. 37. P. 302–310.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.3c00302>
58. *Chen H.J.C.* // Chem. Res. Toxicol. 2023. V. 36. P. 132–140.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.2c00354>
59. *Behl T., Rachamalla M., Najda A., Sehgal A., Singh S., Sharma N., Bhatia S., Al-Harrasi A., Chigurupati S., Vargas-De-La-Cruz C., Hobani Y.H., Mohan S., Goyal A., Katyal T., Solarz E., Bungau S.* // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. e10141.
<https://doi.org/10.3390/ijms221810141>
60. *Hanwell M.D., Curtis D.E., Lonie D.C., Vandermeersch T., Zurek E., Hutchison G.R.* // J. Cheminform. 2012. V. 4. P. 17.
<https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>
61. *Hein K.L., Kragh-Hansen U., Morth J.P., Jeppesen M.D., Otzen D., Møller J.V., Nissen P.* // J. Struct. Biol. V. 2010. V. 171. P. 353–360.
<https://doi.org/10.1016/j.jsb.2010.03.014>
62. *Bucci E., Razyńska A., Kwansa H., Gryczynski Z., Collins J.H., Fronticelli C., Unger R., Braxenthaler M., Moulton J., Ji X., Gilliland G.* // Biochemistry. 1996. V. 35. P. 3418–3425.
<https://doi.org/10.1021/bi952446b>
63. *Sinning I., Kleywegt G.J., Cowan S.W., Reinemer P., Dirr H.W., Huber R., Gilliland G.L., Armstrong R.N., Ji X., Board P.G., Olin B., Mannervik B., Jones T.A.* // J. Mol. Biol. 1993. V. 232. P. 192–212.
<https://doi.org/10.1006/jmbi.1993.1376>
64. *Humphrey W., Dalke A., Schulten K.* // J. Mol. Graph. 1996. V. 14. P. 33–38.
[https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)
65. *Neese F.* // Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci. 2022. V. 12. e1606.
<https://doi.org/10.1002/wcms.1606>
66. *Melnikov F., Geohagen B.C., Gavin T., LoPachin R.M., Anastas P.T., Coish P., Herr D.W.* // Neurotoxicology. 2020. V. 79. P. 95–103.
<https://doi.org/10.1016/j.neuro.2020.04.009>
67. *Eberhardt J., Santos-Martins D., Tillack A.F., Forli S.* // J. Chem. Inf. Model. 2021. V. 61. P. 3891–3898.
<https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00203>
68. *Belinskaia D.A., Savelieva E.I., Karakashev G.V., Orlova O.I., Leninskii M.A., Khlebnikova N.S., Shestakova N.N., Kiskina A.R.* // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. e9021.
<https://doi.org/10.3390/ijms22169021>

Searching for Possible Sites of Electrophils Conjugation with Biomolecules Using Molecular Modeling Methods

D. A. Belinskaia^{*,#} and E. I. Savelieva^{}**

[#] Phone: +7 (921) 580-69-19; e-mail: d_belinskaya@mail.ru

^{*} *Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, prosp. Toreza 44, St. Petersburg, 194223 Russia*

^{**} *Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Kuzmolovsky, st. Kapitolovo 93, 188663 Russia*

The ability to rapidly form adducts with nucleophilic groups of proteins, nucleic acids and lipids largely determines the toxic effects of electrophiles. Considering that the number of toxic electrophiles is practically unlimited, and they can form adducts with many molecular targets, a purely empirical approach to characterizing the adductome is obviously unproductive. The aim of this study is to develop a method for primary in silico assessment of the probability of conjugation of electrophiles with a particular modification site. For the model group of electrophiles, the quantum-chemical indices were calculated using the density functional theory method, and the molecular docking method was used to search for priority sites of covalent binding of the studied compounds. Based on the obtained results, a scale for assessing the hardness of electrophiles was developed and an algorithm for computer selection of possible conjugation sites of electrophiles with biological macromolecules was compiled.

Keywords: electrophiles, adducts, density functional theory, quantum chemical indices, molecular docking