



УДК 575.112:004.94

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-2-115-120>

Компьютерное моделирование взаимодействия ксантотоксина с каспазой 3

Часовских Н.Ю., Шестакова Е.Е., Новицкий Д.Е.

Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)

Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель – провести компьютерное моделирование и оценить взаимодействие каспазы 3 с ксантотоксином.

Материалы и методы. Структуры каспазы 3 и ксантотоксина извлечены из банка данных белков PDB (ID 2J31) и базы данных химических соединений и смесей PubChem (ID 4114) соответственно. Для подготовки структуры каспазы 3 к докингу применяли PyMOL v. 2.5, для конвертации ксантотоксина в формат .pdb использовали OpenBabel. Докинг проводили в AutoDock Vina. Молекулярно-динамическое моделирование выполняли с использованием GROMACS 2023.3. Для генерации топологии белка использовали силовое поле CHARMM 36, для топологии лиганда – сервер CHARMM General Force Field (CGenFF). Для анализа результатов применяли Xmgrace и PyMOL.

Результаты. В результате проведенного молекулярного докинга каспазы 3 и ксантотоксина получен стабильный комплекс с энергией связывания $-4,83$ ккал/моль. Выявлены аминокислотные остатки каспазы 3, участвующие в межмолекулярном взаимодействии: тирозин 195 (TYR195), валин 266 (VAL266), лизин 137 (LYS137). Результаты проведенной симуляции молекулярной динамики подтвердили устойчивость комплекса, полученного в результате докинга.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о возможной роли изучаемого фурукумарина в реализации программируемой гибели клеток и могут быть использованы для дальнейших экспериментальных исследований.

Ключевые слова: докинг, молекулярная динамика, каспаза 3, ксантотоксин, апоптоз

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Для цитирования: Часовских Н.Ю., Шестакова Е.Е., Новицкий Д.Е. Компьютерное моделирование взаимодействия ксантотоксина с каспазой 3. *Бюллетень сибирской медицины*. 2026;25(2):115–120. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-2-115-120>.

Computer simulation of xanthotoxin interaction with caspase 3

Chasovskikh N.Yu., Shestakova E.E., Novitsky D.E.

Siberian State Medical University

2 Moskovsky trakt, 634050 Tomsk, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To perform computer modeling and evaluate the interactions between caspase 3 and xanthotoxin.

Materials and methods. The structures of caspase 3 and xanthotoxin were extracted from the PDB protein database (ID 2J31) and the PubChem chemical compounds and mixtures database (ID 4114), respectively. PyMOL v. 2.5 was used to prepare the caspase 3 structure for docking, and OpenBabel was used to convert xanthotoxin to .pdb format. Molecular docking was performed in AutoDock Vina. Molecular dynamics was performed using

✉ Шестакова Евгения Евгеньевна, evgenika06@gmail.com

GROMACS 2023.3. The CHARMM 36 force field was used to generate the protein topology, and the CHARMM General Force Field (CGenFF) server was used for the ligand topology. Xmgrace and PyMOL were used to analyze the results.

Results. Molecular docking of caspase 3 and xanthotoxin resulted in a stable complex with binding energy of -4.83 kcal/mol. The amino acid residues of caspase 3 involved in intermolecular interaction were identified: tyrosine 195 (TYR195), valine 266 (VAL266), lysine 137 (LYS137). The results of the molecular dynamics simulation confirmed the stability of the complex obtained as a result of docking.

Conclusion. The data obtained indicate the possible role of the studied furocoumarin in the implementation of programmed cell death and can be used for further experimental studies.

Keywords: docking, molecular dynamics, caspase 3, xanthotoxin

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors declare that they received no funding for the study.

For citation: Chasovskikh N.Yu., Shestakova E.E., Novitsky D.E. Computer simulation of xanthotoxin interaction with caspase 3. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2026;25(2):115–120. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-2-115-120>.

ВВЕДЕНИЕ

Социально значимые заболевания, в частности онкологические, являются лидирующими по причинам инвалидизации и смертности в России. По данным Росстата за 2023 г., 16,4% от всех смертей в России приходится на злокачественные новообразования [1]. Одним из основных звеньев в развитии патологий данной группы является нарушение регуляции апоптоза (активация или угнетение летальной программы клеток) [2].

Апоптоз – это форма клеточной гибели, устраняющая избыточные или функционально аномальные клетки для сохранения тканевого гомеостаза организма [3]. Основными путями инициации апоптоза являются внешний (путь рецептора смерти) и внутренний (митохондриальный), дополнительно выделяют гранзим-В-зависимый, ER-стрессовый (стресс ЭПР), перфорин/гранзимный и ядерный пути апоптоза. Индукция апоптоза и активация проапоптотических белков приводит к запуску каскада каспаз [4]. На первом этапе в каждом из путей активируется иницирующая каспаза (каспаза 8 – во внешнем, каспаза 9 – во внутреннем, каспаза 10 – в перфорин-гранзимном путях), которая, в свою очередь, активирует эффекторную каспазу-3. При реализации механизма апоптоза по внешнему (рецепторному) пути после связывания лиганда с соответствующим рецептором (молекулой суперсемейства рецепторов TNF α) на поверхности клетки активируется каскад внутриклеточных реакций, в результате которых экспрессируются каспазы 8, 10. Данные каспазы, в свою очередь, запускают каспазы 3, 6, 7, которые обеспечивают гибель клетки [5].

При реализации механизма апоптоза по внутреннему (митохондриальному) пути в ответ на стрессорные ситуации (повреждение ДНК, отсутствие

факторов роста) активируется митохондриальный белок p53. В свою очередь p53 супрессирует Bcl-2 и активирует фактор Бах, димерная форма которого включает сериновую протеазу Ich-1, что приводит к реализации этапа индукции апоптоза и активации эффекторных каспаз [5]. Впоследствии происходит расщепление каспазы 3, что оказывает действие на фрагментацию ДНК, ведет к деградации цитоскелетных и ядерных белков, образованию апоптотических телец и их поглощению фагоцитарными клетками [4].

Каспаза 3 является одним из основных эффекторов апоптоза, в связи с этим особый интерес вызывают молекулы, способные изменять ее активность, т. е. обладающие потенциальными терапевтическими свойствами. В качестве таких молекул в настоящее время активно изучают фурукумарины, в частности ксантотоксин (8-метоксипсорален) [6–8]. Ксантотоксин обладает фотосенсибилизирующими свойствами и способен индуцировать апоптоз в ряде опухолевых клеточных линий [9, 10]. Предполагается, что ксантотоксин способен активировать каспазу 3, однако механизм остается неизвестным [11, 12].

Для предсказания и оценки взаимодействий между белками и молекулами, обладающими возможными лекарственными свойствами (в том числе и для изучения механизмов апоптоза) в настоящее время активно применяются методы *in silico* [13, 14].

В связи с вышеизложенным целью данной работы является компьютерное моделирование и оценка взаимодействия каспазы 3 с ксантотоксином.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная трехмерная структура каспазы 3 (идентификатор PDB: 2J31) получена из банка данных белков (PDB) [15]. 3D – структура ксанто-

токсина (идентификатор PubChem: 4114) получена из базы данных химических соединений и смесей PubChem [16].

Трехмерная структура каспазы 3 была очищена от всех молекул воды и лигандов, проанализирована и подготовлена к последующему моделированию с использованием PyMOL v. 2.5 [17]. 3D-структура ксантотоксина из базы данных PubChem была извлечена в формате .sdf, для проведения молекулярного докинга она была конвертирована в формат .pdb, при помощи конвертера OpenBabel [18].

AutoDock Vina [19] применялся для проведения молекулярного докинга каспазы 3 и ксантотоксина. AutoDock Vina использует эмпирическую и основанную на знаниях функцию для прогнозирования сродства связывания соединений [19]. Размеры расчетной сетки для каспазы 3 составили (25×25×25 Å) с центром в точке (31.0, 21.0, 55.0).

Молекулярно-динамическое (МД) моделирование комплекса каспазы с ксантотоксином выполнено с использованием GROMACS 2023.3 [20]. Топология белка сгенерирована с использованием силового поля CHARMM 36, а лиганда – с использованием сервера CHARMM General Force Field (CGenFF) [21]. Комплекс сольватировался в кубической ячейке с гранью 1,0 нанометр (нм) с использованием модели воды TIP3P, нейтрализацию комплекса проводили ионами Cl⁻. Минимизация энергии проводилась методом наискорейшего спуска [22]. Моделирование равновесного состояния длительностью 100 пикосекунд (пс) было выполнено с использованием ансамблей NVT (канонический ансамбль, где N – количество вещества, V – объем, T – температура) и NPT (изотермо-изобарический ансамбль, где N – количество вещества, P – давление, T – температура). Параметры данных ансамблей были подобраны с учетом оптимальной температуры 300 К и давления 1 бар. Основной этап моделирования МД проводился в течение 50 наносекунд (нс) с шагом по времени 2 фемтосекунды (фс). Программа Xmgrace использовалась для генерации графиков, иллюстрирующих результаты моделирования [23].

Для дальнейшего анализа полученных результатов оценивали: среднеквадратичное отклонение (root mean square deviation (*RMSD*)), среднеквадратичную флуктуацию (root mean squared displacement (*RMSF*)), радиус гирации (radius of gyration (*Rg*)) [24].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного молекулярного докинга каспазы 3 и ксантотоксина получен наиболее стабильный комплекс с энергией связывания – 4,83 ккал/моль. Выявлены остатки, участвующие

в межмолекулярном взаимодействии: тирозин 195 (TYR195), валин 266 (VAL266), лизин 137 (LYS137) (рис. 1).

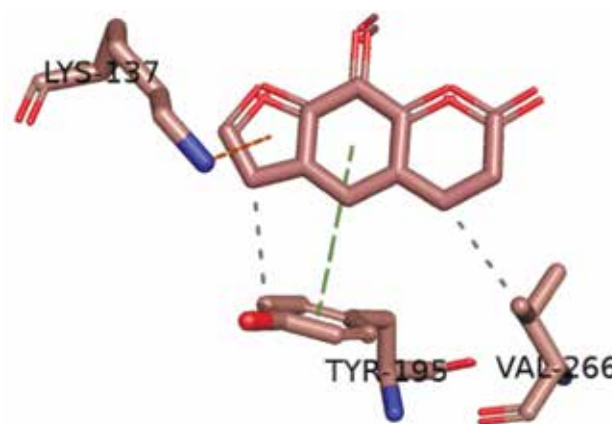


Рис. 1. Аминокислоты каспазы 3, вовлеченные во взаимодействие с ксантотоксином: серый пунктир – гидрофобные, зеленый пунктир – π -стэкинг, оранжевый пунктир – π -катионные

Полученный комплекс стабилизируется за счет следующих связей: π -стэкинг (или π - π -взаимодействие) между лигандом и TYR195, π -катионное взаимодействие (между лигандом и VAL266), гидрофобные взаимодействия (между лигандом и TYR195, VAL266). π -Стэкингом (π - π -взаимодействием) называют нековалентное взаимодействие между ароматическими системами (бензольными кольцами), возникающее при перекрывании их π -электронных облаков. π -Катионное взаимодействие представляет собой нековалентную связь между ароматической системой и положительно заряженной аминогруппой белка. Гидрофобное взаимодействие выражается в стремлении неполярных молекул к группированию в водной среде с целью сокращения площади контакта неполярной поверхности с водой.

Далее была проведена симуляция МД, ее характеристики описаны ниже.

RMSD является часто используемой мерой оценки стабильности и конформационных изменений белка или белок-лигандного комплекса при проведении молекулярной динамики. Постоянные значения *RMSD* в течение всего процесса моделирования свидетельствуют о сохранении исходной конформации и структурной устойчивости системы [25]. В нашем случае наблюдается резкий рост значения *RMSD* на протяжении первых 10 нс, далее с 10 до 40 нс значения остаются в интервале 0,2–0,3 нм, что указывает на стабильность структуры (рис. 2). Показатель *RMSF* используется для оценки подвижности аминокислотных остатков белка и отдельных участков полипептидной цепи.

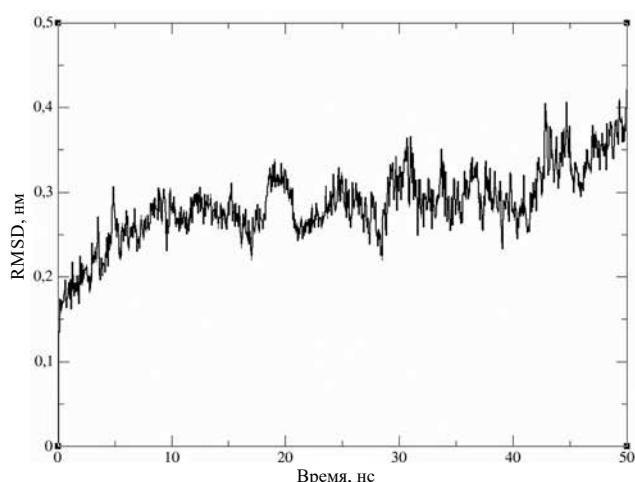


Рис. 2. Среднеквадратичное отклонение каспазы 3 в комплексе с ксантотоксином

Для полученного комплекса каспазы 3 и ксантотоксина максимальное значение $RMSF$, равное 1,0 нм, наблюдается в первых 30 остатках, что характеризует их высокую подвижность (рис. 3). В дальнейшем значение $RMSF$ находится на уровне 0,05–0,15 нм, что указывает на стабильность остатков и на наличие в данной зоне элементов вторичной структуры белка (α -спирали, β -листы). На графике наблюдаются пики величиной $\sim 0,3$ нм в областях 160–190, 200–220, 250–270 аминокислотных остатков, указывающие на подвижные петли.

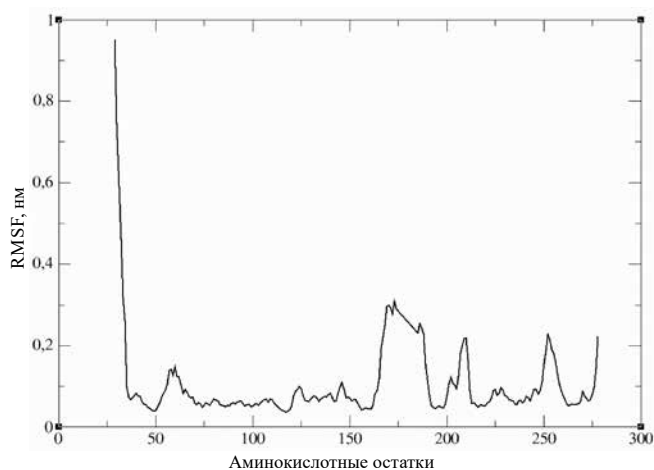


Рис. 3. Среднеквадратичное отклонение каспазы 3

Радиус гирации используется для оценки компактности комплекса «белок – лиганд» во время моделирования. Потеря компактности влияет на стабильность комплекса, добавляя слабые межмолекулярные связи.

По полученным данным, значение радиуса гирации находится в диапазоне 1,78–1,83 нм, что указывает на стабильность и компактность структуры (рис. 4). В течение первых 10 нс белок принимает

стабильную компактную форму; значение радиуса гирации изменяется в пределах 1,74–1,78 без резких колебаний.

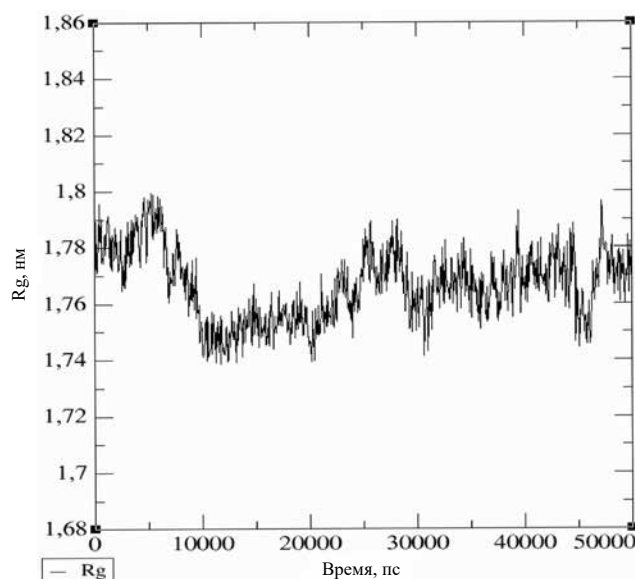


Рис. 4. Радиус гирации (R_g)

Полученные результаты свидетельствуют о возможности образования стабильного комплекса «ксантотоксин – каспаза 3». Можно предположить, что при этом будет изменяться активность каспазы 3, участвующей в реализации программируемой клеточной гибели.

Экспериментальные данные свидетельствуют, что программируемая гибель опухолевых клеток связана с активацией каспазы 3 в присутствии ксантотоксина. Каспаза 3 необходима для передачи апоптотического сигнала после воздействия агентов, повреждающих ДНК [26]. В исследовании, проведенном G. Viola и соавт., показано, что каспаза 3 активируется после облучения в присутствии ксантотоксина [12]. Также была отмечена индукция апоптоза в клетках линии HepG2 (линия клеток рака печени) после обработки ксантотоксином [11]. Однако молекулярные механизмы данного явления остаются неизученными.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное компьютерное моделирование взаимодействия каспазы 3 и ксантотоксина методом молекулярного докинга с последующей верификацией методом молекулярной динамики продемонстрировало наличие стабильного межмолекулярного взаимодействия. Полученный комплекс характеризуется энергией связывания – 4,83 ккал/моль и следующими химическими связями: π -стэкинг, π - π -взаимодействие (между лигандом и TYR195), π -катионное взаимодействие (между лигандом и VAL266), гидро-

фобные взаимодействия (между лигандом и TYR195, VAL266). Результаты проведенной симуляции молекулярной динамики подтвердили устойчивость комплекса, полученного в результате докинга.

Таким образом, результаты проведенного исследования указывают на потенциальную способность ксантотоксина взаимодействовать с каспазой 3 с формированием устойчивого комплекса. Полученные данные свидетельствуют о возможной роли изучаемого фурукумарина в реализации программируемой гибели клеток. Для подтверждения результатов компьютерного моделирования необходимо дальнейшее проведение экспериментальных исследований.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Естественное движение населения Российской Федерации за 2023 год (Статистический бюллетень). М.: Росстат, 2024.
2. Глухов А.И., Грызунова Г.К., Усай Л.И., Алейникова Т.Л., Черникова Н.В., Бурт А.Ю. Роль апоптоза в патогенезе некоторых критических состояний. *Общая реаниматология*. 2019;15(2):79–98. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-2-79-98.
3. Часовских Н.Ю., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Апоптоз и окислительный стресс. Томск: Печатная мануфактура, 2009:148.
4. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol.* 2007;35(4):495–516. DOI: 10.1080/01926230701320337.
5. Соколов Д.И. Иммунологические механизмы контроля апоптоза при развитии плаценты. *Медицинская иммунология*. 2008;10(2–3):125–138. DOI: 10.15789/1563-0625-2008-2-3-125-138.
6. Fu K., Zhang J., Wang L., Zhao X., Luo Y. Xanthotoxin induced photoactivated toxicity, oxidative stress and cellular apoptosis in *Caenorhabditis elegans* under ultraviolet A. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 2022;251:109217. DOI: 10.1016/j.cbpc.2021.109217.
7. Hähnel V., Brosig A.M., Ehrenschrwender M., Burkhardt R., Offner R., Ahrens N. Apoptosis induction by extracorporeal photopheresis is enhanced by increasing the 8-methoxypsoralen concentration and by replacing plasma with saline. *Transfusion*. 2021;61(10):2991–2999. DOI: 10.1111/trf.16634.
8. Abdel Hafez O.M., Amin K.M., Abdel-Latif N.A., Mohamed T.K., Ahmed E.Y., Maher T. Synthesis and antitumor activity of some new xanthotoxin derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 2009;44(7):2967–2974. DOI: 10.1016/j.ejmech.2009.01.006.
9. Yang H., Xiong J., Luo W., Yang J., Xi T. 8-methoxypsoralen induces intrinsic apoptosis in HepG2 cells: involvement of reactive oxygen species generation and ERK1/2 pathway inhibition. *Cell Physiol. Biochem.* 2015;37(1):361–374. DOI: 10.1159/000430360.
10. Choi E.K., Kim H.D., Park E.J., Song S.Y., Phan T.T., Nam M. et al. 8-methoxypsoralen induces apoptosis by up-regulating p53 and inhibits metastasis by downregulating MMP-2 and MMP-9 in human gastric cancer cells. *Biomol. Ther. (Seoul)*. 2023;31(2):219–226. DOI: 10.4062/biomol-ther.2023.004.
11. Kurita M., Shimauchi T., Kobayashi M., Atarashi K., Mori K., Tokura Y. Induction of keratinocyte apoptosis by photosensitizing chemicals plus UVA. *J. Dermatol. Sci.* 2007;45(2):105–112. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2006.10.010.
12. Viola G., Fortunato E., Ceconet L., Disarò S., Basso G. Induction of apoptosis in Jurkat cells by photoexcited psoralen derivatives: Implication of mitochondrial dysfunctions and caspases activation. *Toxicol. In Vitro*. 2007;21(2):211–216. DOI: 10.1016/j.tiv.2006.09.016.
13. Issa M.Y., Elshal M.F., Fathallah N., Abdelkawy M.A., Bishr M., Salama O. et al. Potential anticancer activity of the furanocoumarin derivative xanthotoxin isolated from *Ammi majus* L. fruits: *in vitro* and *in silico* studies. *Molecules*. 2022;27(3):943. DOI: 10.3390/molecules27030943.
14. Ismail N.Z., Mohamed W.A.S., Ab Rahim N., Hashim N.M., Adebayo I.A., Mohamad Zain N.N., Arsad H. Molecular docking and molecular dynamic simulations of apoptosis proteins with potential anticancer compounds present in *Clina-canthus nutans* extract using gas chromatography-mass spectrometry. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2023;41(13):6104–6120. DOI: 10.1080/07391102.2022.2101530.
15. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H. et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.* 2000;28(1):235–242. DOI: 10.1093/nar/28.1.235.
16. Kim S., Chen J., Cheng T., Gindulyte A., He J., He S. et al. PubChem 2025 update. *Nucleic Acids Res.* 2025;53(D1):D1516–D1525. DOI: 10.1093/nar/gkae1059.
17. Schrödinger L., DeLano W. PyMOL. 2020. URL: <http://www.pymol.org/pymol>
18. O'Boyle N.M., Banck M., James C.A., Morley C., Vandermeersch T., Hutchison G.R. Open Babel: An open chemical toolbox. *J. Cheminform.* 2011;3:33. DOI: 10.1186/1758-2946-3-33.
19. 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;31:455–461. DOI: 10.1002/jcc.21334.
20. Abraham M.J., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J.C., Hess B. et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*. 2015;1–2:19–25. DOI: 10.1016/j.softx.2015.06.001.
21. Vanommeslaeghe K., Hatcher E., Acharya C., Kundu S., Zhong S., Shim J. et al. CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. *J. Comput. Chem.* 2010;31(4):671–690. DOI: 10.1002/jcc.21367.
22. Groningen Biomolecular Sciences and Biotechnology Institute. GROMACS 4.5 Manual. 2010. URL: https://becksteinlab.physics.asu.edu/pages/courses/2013/SimBioNano/14/gromacs_manual-4.5.pdf
23. Vaught A. Graphing with Gnuplot and Xmgr: Two graphing packages available under Linux. *Linux J.* 1996;1996:7.
24. Cheng X., Ivanov I. Molecular dynamics. *Methods Mol. Biol.* 2012;929:243–285. DOI: 10.1007/978-1-62703-050-2_11.
25. Liu K., Watanabe E., Kokubo H. Exploring the stability of ligand binding modes to proteins by molecular dynamics simulations. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 2017;31(2):201–211.

DOI: 10.1007/s10822-016-0005-2.
26. Oleinick N.L., Morris R.L., Belichenko I. The role of apopto-

sis in response to photodynamic therapy: what, where, why, and how. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2002;1(1):1–21. DOI:

Информация об авторах

Часовских Наталия Юрьевна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск, chasovskih.ny@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6077-0347>

Шестакова Евгения Евгеньевна – ассистент, кафедра медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск, chizik.ee@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4731-8449>

Новицкий Дмитрий Евгеньевич – студент 6-го курса, СибГМУ, г. Томск, novitskydima07@mail.ru

(✉) **Шестакова Евгения Евгеньевна**, chizik.ee@ssmu.ru

Поступила в редакцию 23.06.2025;
одобрена после рецензирования 04.07.2025;
принята к публикации 09.09.2025