

ISSN 1561-8323 (Print)  
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 577.325.3+57.052.6  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-4-431-440>

Поступило в редакцию 12.05.2020  
Received 12.05.2020

**Я. В. Диченко, М. Травкина, А. В. Янцевиц, член-корреспондент С. А. Усанов**

*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

## **IN SILICO АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ НА СТРУКТУРУ СТЕРОИД-ГИДРОКСИЛАЗ ЧЕЛОВЕКА CYP17A1 И CYP19A1**

**Аннотация.** С целью изучения влияния пост-трансляционных модификаций (ПТМ) на структуру и функции стероид-гидроксилаз человека CYP17A1 и CYP19A1 проведен анализ траекторий молекулярной динамики ферментов, содержащих модифицированные фосфогруппами аминокислотные остатки S258 (CYP17A1), T162 и Y361 (CYP19A1). Показано, что наличие ПТМ в структуре белка не приводит к значительным изменениям пространственной структуры ферментов и увеличивает общую стабильность белковой глобулы. Установлено, что фосфорилирование S258, T162 и Y361 оказывает влияние на интерфейс взаимодействия стероид-гидроксилаз с соответствующими донорами электронов путем уменьшения подвижности аминокислотных остатков, участвующих в формировании молекулярных комплексов с редокс-партнерами. Обнаружено, что фосфорилирование T162 (CYP19A1) приводит к уменьшению подвижности аминокислотных остатков, формирующих канал доступа субстрата в активный центр фермента. Полученные результаты проясняют механизм быстрой регуляции активности CYP17A1 и CYP19A1 человека посредством ПТМ.

**Ключевые слова:** цитохром P450, CYP17A1, CYP19A1, фосфорилирование, молекулярная динамика

**Для цитирования.** *In silico* анализ влияния фосфорилирования на структуру стероид-гидроксилаз человека CYP17A1 и CYP19A1 / Я. В. Диченко [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2020. – Т. 64, № 4. – С. 431–440. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-4-431-440>

**Yaraslau U. Dzichenka, Maria Trawkina, Aliaksei V. Yantsevich, Corresponding Member Sergei A. Usanov**

*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

## **IN SILICO ANALYSIS OF THE PHOSPHORYLATION EFFECT ON THE STRUCTURE OF THE HUMAN STEROL-HYDROXYLASES CYP17A1 AND CYP19A1**

**Abstract.** The trajectories of molecular dynamics simulation of phosphorylated S258 (CYP17A1), T162 and Y361 (CYP19A1) were analyzed to understand a possible mechanism of influence of post-translational modification (PTM) on the structure and functions of human sterol-hydroxylases CYP17A1 and CYP19A1. It was found that PTM has no dramatic influence on the structures of the enzymes but stabilizes them. According to our data, the phosphorylation of S258, T162 and Y361 influences the interface of interaction between human sterol-hydroxylases and the corresponding electron donors by decreasing the mobility of amino acids that take part in forming molecular complexes of the enzymes and the corresponding redox-partners. The phosphorylation of T162 (CYP19A1) decreases the mobility of amino acids forming access channel. The obtained results can shed light on the mechanism of fast regulation of human CYP17A1 and CYP19A1 activity by PTM.

**Keywords:** cytochrome P450, CYP17A1, CYP19A1, phosphorylation, molecular dynamics

**For citation:** Dzichenka Ya. U., Trawkina M., Yantsevich A. V., Usanov S. A. *In silico* analysis of the phosphorylation effect on the structure of the human sterol-hydroxylases CYP17A1 and CYP19A1. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2020, vol. 64, no. 4, pp. 431–440 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-4-431-440>

**Введение.** Стероид-гидроксилазы человека CYP17A1 и CYP19A1 представляют собой гем-содержащие ферменты, принадлежащие к семейству цитохромов P450. В организме человека они катализируют ключевые стадии метаболизма стероидных гормонов. CYP17A1 осуществляет в одном активном центре последовательное 17 $\alpha$ -гидроксилирование прегненолона (прогестерона) и, затем, 17,20-лиазную реакцию гидроксистероида, в результате чего образуется дегидроэпиандростерон (андростендион) [1]. Соотношение двух реакций, катализируемых ферментом, определяет направленность биосинтеза по пути образования кортикоидных либо половых гормонов. CYP19A1 катализирует реакцию ароматизации андростендиона или тестостерона, которая, в конечном счете, приводит к формированию эстрогена или эстрадиола соответственно [2].

Следствием особой функциональной нагрузки данных цитохромов P450 в организме человека является то, что изменение их активности приводит к возникновению тяжелых заболеваний, среди которых врожденная гиперплазия коры надпочечников, гормонозависимый рак предстательной железы, синдром Кушинга, рак молочной железы [3; 4]. В связи с этим CYP17A1 и CYP19A1 в настоящее время применяются в качестве молекулярных мишеней для создания новых высокоэффективных лекарственных препаратов.

В настоящее время известны стероидные и нестероидные ингибиторы стероид-17-гидроксилазы и ароматазы человека. Последние, чаще всего, представляют собой гетероциклические соединения, содержащие атом азота с неподеленной электронной парой, способный образовывать координационную связь с атомом железа гема [5]. Существенным недостатком данного типа ингибиторов является их низкая специфичность, что приводит к возникновению целого ряда побочных эффектов. В свою очередь, ингибиторы стероидной природы характеризуются высокой специфичностью, пролонгированным действием и низкой токсичностью. Однако они также обладают значительными побочными эффектами. Так, лиганды CYP17A1 – абиратерон и галетерон – ингибируют как 17 $\alpha$ -гидроксилазную, так и 17,20-лиазную активность, и, кроме того, активность CYP21. Все это приводит к проблемам, связанным с нарушениями синтеза гормонов надпочечников [6].

В связи с этим поиск иных способов регуляции активности данных ферментов является крайне важной задачей. Согласно современным исследованиям, активность цитохром P450-зависимых монооксигеназ, помимо использования ингибиторов различной природы, может регулироваться посредством активации транскрипции (при этом индуктором является субстрат соответствующего фермента), либо посредством так называемых быстрых механизмов регуляции, к которым относят пост-трансляционные модификации (ПТМ). Так, было показано, что ацетилирование играет важную роль в регуляции активности CYP19 [7]; модификация CYP27A1 изолевулгландинами приводит к потере каталитической активности фермента [8]. Возможность регуляции активности фермента путем фосфорилирования/дефосфорилирования показана для CYP21A2 [9], CYP19A1 [10] и CYP17A1 [11].

В настоящее время наблюдается всплеск интереса к изучению регуляции активности ферментов посредством ПТМ. Однако несмотря на наличие экспериментальных данных, касающихся модификаций аминокислотных остатков цитохром P450-зависимых монооксигеназ, информации на данный момент все еще крайне мало, что не позволяет сформировать концепцию о группо-специфичных и индивидуальных способах регуляции активности клинически значимых ферментов.

Во многом интенсификация усилий в области изучения влияния ПТМ на функциональные характеристики ферментов связана с увеличением доступности современных методов исследования, в том числе различных методов компьютерного моделирования, позволяющих осуществлять быстрый анализ структурных особенностей модифицированных белков, и, таким образом, объяснять и дополнять результаты *in vitro* экспериментов.

В рамках данной работы с использованием метода моделирования молекулярной динамики исследованы структурные особенности терапевтически значимых мишеней человека – цитохромов P450 17A1 и 19A1, содержащих фосфорилированные аминокислотные остатки.

**Материалы и методы исследования.** *In silico* анализ влияния ПТМ на структуру и функции цитохромов P450 осуществляли посредством разработанного нами автоматизированного подхода, включающего в себя стадии подготовки входных данных для моделирования, проведения компьютерного эксперимента и анализа полученных результатов.

Пространственные структуры белков получали методом гомологичного моделирования (программа Modeller v 9.4) с использованием шаблонов, представленных в базе данных Protein Data Bank.

Модели ферментов подвергали процедуре автоматической подготовки для проведения молекулярной динамики (МД): удаление небелковой части молекулы (кроме кофактора), ковалентные модификации соответствующих аминокислот, добавление ионов Na<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup>, «растворение» полученной системы в воде (явное представление растворителя, модель TIP3P, размеры области моделирования – 10,0 Å от поверхности белка).

Перед проведением МД систему подвергали процедуре оптимизации: минимизация полной энергии с наложением пространственных ограничений (силовая константа – 10 ккал/(моль·Å<sup>2</sup>)) на движения атомов белка и минимизация без ограничений на движения атомов. В обоих случаях протокол минимизации включал в себя 1500 шагов с использованием метода градиентного спуска и 500 шагов с использованием метода сопряженных градиентов. Нагрев осуществляли в течение 1 нс до температуры 298,15 К (NVT ансамбль). На следующем шаге уравнивали моделируемую систему в течение 1 нс при 298,15 К при постоянном давлении. Моделирование свободной динамики осуществляли на временном промежутке 50 нс (NPT ансамбль).

Постоянное давление в системе поддерживали при помощи внешнего баростата (время релаксации – 2 пс), а постоянную температуру – с использованием термостата Ланжевена (частота столкновений – 2 пс<sup>-1</sup>).

На всех этапах моделирования граничный радиус невалентных взаимодействий принимали равным 10,0 Å. Компьютерное моделирование осуществляли с использованием программного пакета Amber 16 на вычислительном комплексе ИБОХ НАН Беларуси (2 x Opteron 6378 2,4 GHz (32 ядра); 256 GB RAM; 2 x NVIDIA GeForce GTX TITAN).

Анализ полученных траекторий МД осуществляли с использованием функционала библиотек Python3: NumPy (численные расчеты), PyTraj (анализ траекторий МД), Matplotlib (визуализация) и Biopython (обработка пространственных структур молекул).

**Результаты и их обсуждение.** Изучение структурно-функциональных особенностей стероид-гидроксилаз человека CYP19A1 и CYP17A1 с ковалентно-модифицированными аминокислотными остатками проводили для случаев фосфорилирования T162, Y361 (CYP19A1) [12] и S258 (CYP17A1) [13]. Выбор данных аминокислотных остатков обусловлен тем, что ПТМ для них подтверждены экспериментально *in vitro* и *in vivo*, однако механизм их влияния, за исключением модификации Y361 (CYP19A1), на структуру и функции стероид-гидроксилаз до конца не изучен. Для остатка Y361 I. Ritacco с соавт. [14] с использованием комбинированных вычислительных процедур (молекулярная динамика в микросекундном диапазоне, а также расчет совместными методами квантовой и молекулярной механики) показали, что увеличение активности фермента, содержащего фосфорилированный Y361, происходит, в первую очередь, за счет стабилизации молекулярного комплекса «ароматаза/редокс-партнер» из-за перераспределения заряда на поверхности белка.

Согласно результатам множественного выравнивания аминокислотных последовательностей CYP17A1, представленных в базе данных UniProt, в 75 % случаев в 258 положении содержится серин. При этом анализ филогенетического дерева, построенного по результатам выравнивания, показал, что все белки, за исключением CYP17A1 из *Squalus acanthias*, можно разделить на 2 группы по наличию данного остатка. Также установлено, что к группе белков, в последовательности которых содержится серин в 258 положении, относятся только ферменты млекопитающих (рис. 1, I). В случае CYP19A1, остатки T162, Y361 также не являются консервативными по результатам множественного выравнивания аминокислотных последовательностей. Однако для T162, за исключением CYP19A1 из *Oryctolagus cuniculus* (содержит Ala) и *Equus caballus* (содержит Thr, но последовательность принадлежит другой кладе), на филогенетическом дереве можно выделить отдельную кладу ферментов, содержащих данный аминокислотный остаток (рис. 1, II). В то же время Y361 локализован в участке аминокислотной последовательности, содержащем много консервативных остатков, при этом в соответствующей позиции у ферментов из различных организмов располагаются Туг либо Asn/Lys (*Carassius auratus*). Интересно, что во втором случае аминокислотные остатки способны подвергаться N-гликозилированию, в то время как для Туг второй возможной модификацией, помимо фосфорилирования, является O-гликозилирование.

Анализ пространственных структур CYP19A1 и CYP17A1 человека (таблица) показал, что все три аминокислотных остатка локализованы вблизи поверхности белка и, таким образом, могут быть доступны для киназ.

Наиболее удален от активного центра фермента остаток S258. Данный аминокислотный остаток экспонирован с проксимальной стороны гема и не принимает непосредственного участия, согласно литературным данным, во взаимодействии с редокс-партнерами фермента (цитохром b<sub>5</sub>

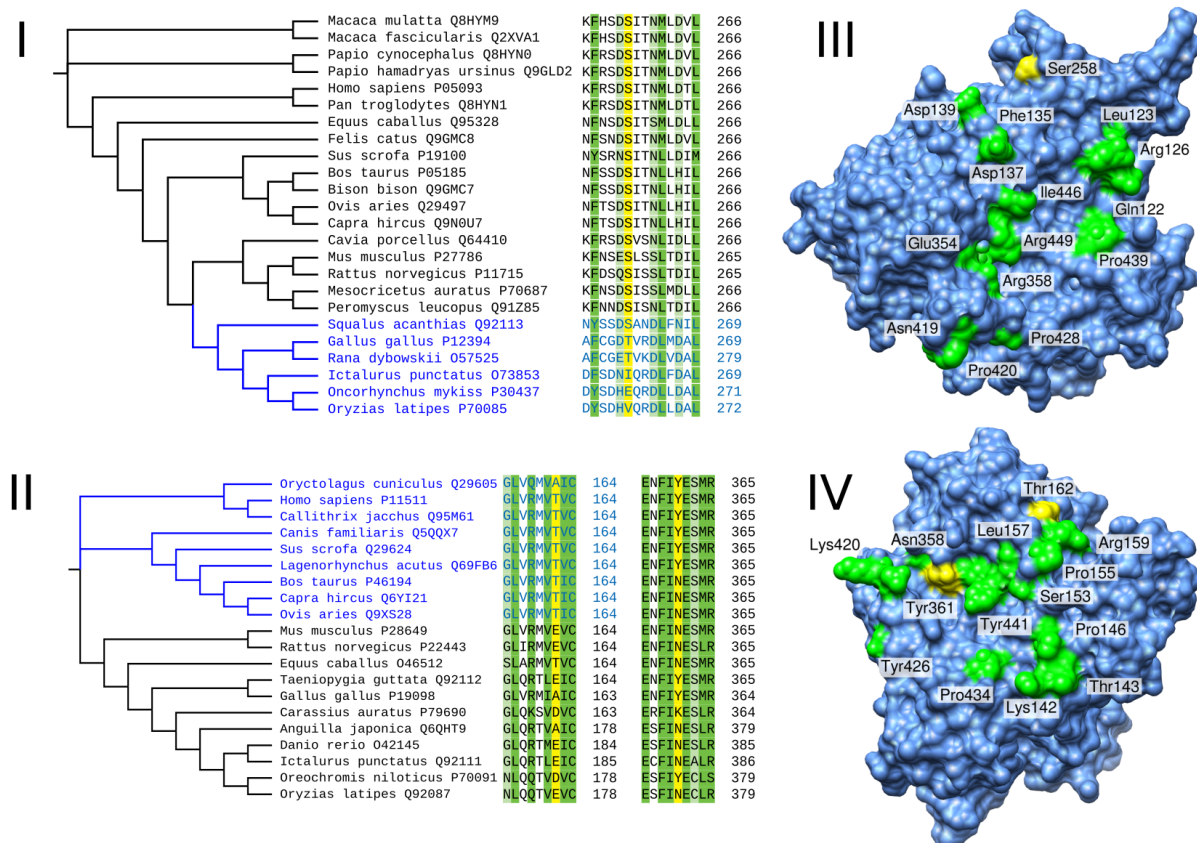


Рис. 1. Филогенетические деревья, построенные на основе аминокислотных последовательностей CYP17A1 (I) и CYP19A1 (II), представленных в базе данных UniProt, а также поверхности Ван-дер-Ваальса для CYP17A1 (III) и CYP19A1 (IV), с указанием аминокислотных остатков, участвующих в образовании комплекса «фермент–редокс–партнер»

Fig. 1. Phylogenetic trees for amino acid sequences of CYP17A1 (I) and CYP19A1 (II) from UniProt database. Van-der-Waals surfaces for human CYP17A1 (I) and CYP19A1 (II) with colored residues which are taking part in formation of complex “enzyme–redox–partner”

### Параметры аминокислотных остатков, содержащих ПТМ

#### Parameters of amino acid residues containing PTM

Белок Protein	Аминокислотный остаток Amino acid residue	Локализация Localization	Расстояние между C <sub>α</sub> -атомом остатка и атомом Fe гема Distance between the residue C <sub>α</sub> -atom and the heme Fe atom	Площадь поверхности, доступной растворителю, Å Surface area accessible to solvent, Å
CYP17A1	S258	Петля между α-спиралями G и H	27,6	31,9
CYP19A1	T162	α-спираль D	20,4	37,0
	Y361	α-спираль K	14,5	39,5

и НАДФН-зависимая цитохром P450 редуктаза (CPR)). Однако в непосредственной близости от него расположен кластер остатков, которые, согласно результатам множественного выравнивания, представленным в [15], участвуют в образовании мультиферментных комплексов из компонентов монооксигеназных систем (рис. 1, III). Таким образом, возникновение в результате ПТМ S258 на поверхности белка области, содержащей отрицательный заряд, может влиять на сродство стероид-гидроксилазы человека к своему редокс-партнеру.

Аминокислотный остаток Y361 локализован в α-спирали K (CYP19A1). Согласно литературным данным, в соответствующем положении у CYP17A1 (R358), CYP27A1 (K391) человека, а также CYP11A1 (K342) быка расположены остатки, атомы которых участвуют в образовании межмолекулярных связей данных ферментов с донорами электронов (рис. 1, IV) [15]. Данный

факт подчеркивает важность ПТМ указанного остатка для функционирования ароматазы человека.

T162 (CYP19A1), как и S258 (CYP17A1), непосредственно не принимает участия во взаимодействии с цитохромом  $b_5$  или CPR, однако он также локализован в непосредственной близости от кластера аминокислотных остатков из  $\alpha$ -спиралей C и D, стабилизирующих мультиферментный комплекс при связывании редокс-партнеров (рис. 1, IV).

Таким образом, один из возможных механизмов быстрой регуляции активности CYP19A1 и CYP17A1 человека путем ПТМ T162 и S258 в данном случае может реализовываться за счет модификации остатков в области интерфейса взаимодействия с соответствующими донорами электронов, что особенно важно в случае CYP19A1, так как ПТМ изменяет распределение заряда в области связывания редокс-партнеров.

Анализ траекторий молекулярной динамики (МД) показал, что наиболее подвижными участками в структуре CYP17A1 и его модифицированной формы являются N- и C-концевой фрагменты: 23–40 и 502–512 (здесь и далее нумерация соответствует нумерации аминокислотных остатков в полноразмерном белке человека) аминокислотные остатки соответственно. Для уменьшения зашумленности данных в дальнейшем траектории анализировали без учета указанных участков.

Установлено, что фосфорилирование S258 CYP17A1 не приводит к значительным изменениям структуры как в целом (согласно результатам расчета среднеквадратичного отклонения (СКО) и радиуса гирации), так и на уровне основных атомов (согласно результатам расчета среднеквадратичной флуктуации (СКФ) атомов). Расчет расстояния от  $C_\alpha$  атома S258 до атома  $Fe^{3+}$  гема показал,

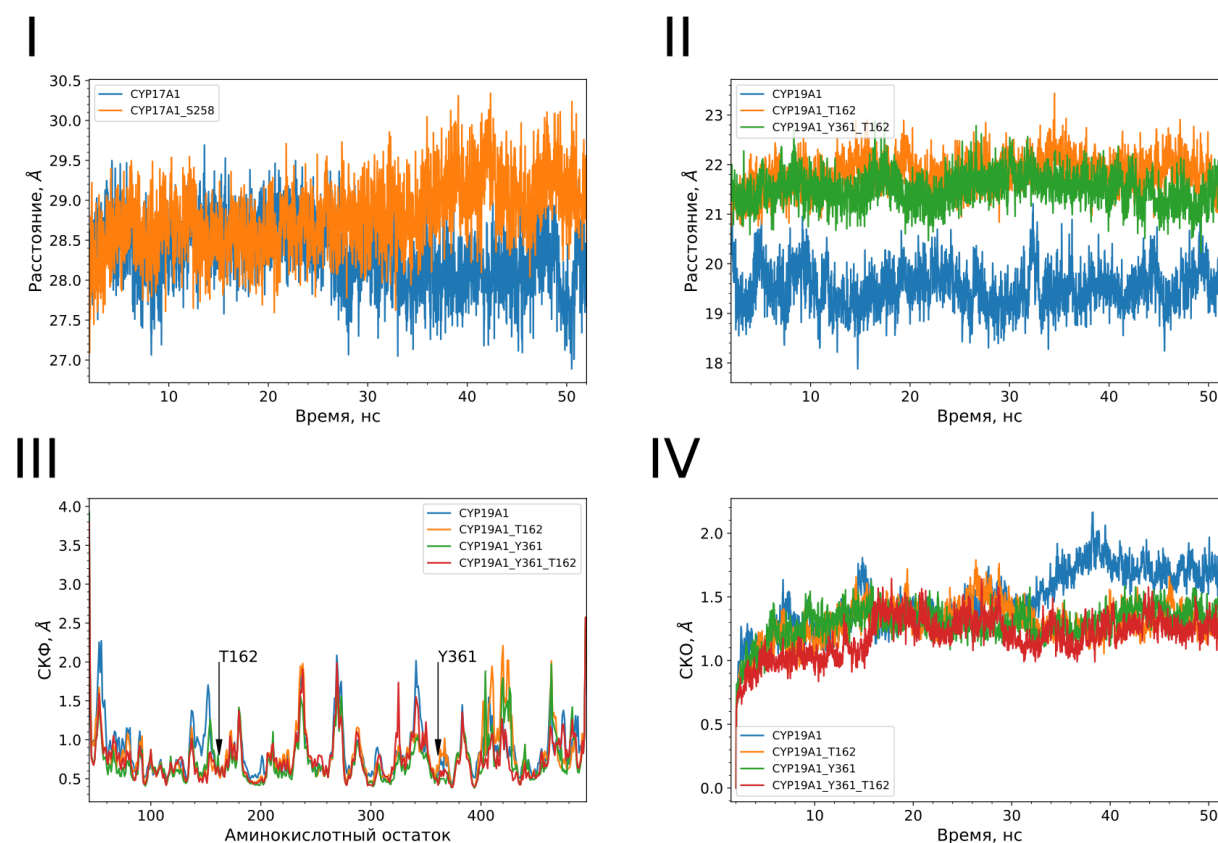


Рис. 2. Изменение расстояния между  $C_\alpha$ -атомом S258 и ионом Fe гемовой группы в процессе МД для немодифицированной и модифицированной форм CYP17A1 (I) и CYP19A1 (II); СКФ  $C_\alpha$ -атомов полипептидной цепочки (III), а также СКО  $C_\alpha$ -атомов белка (IV) в процессе МД для немодифицированной и модифицированной форм CYP19A1

Fig. 2. Distance between  $C_\alpha$ -atom of S258 and Fe of heme during MD simulation for unmodified and modified forms of CYP17A1 (I) and CYP19A1 (II); RMSF of  $C_\alpha$ -atoms of polypeptide chain (III), and RMSD of  $C_\alpha$ -atoms of the protein (IV) during MD simulation for unmodified and modified forms of CYP19A1

что в течение первых 25 нс динамики его величина и характер изменения практически совпадают как для исходного белка, так и для его модифицированной формы. В то же время в случае СУР17А1 с фосфорилированным S258 расстояние немного увеличивается (на 1 Å) по сравнению с ферментом, не содержащим ПТМ (рис. 2, I).

Анализ поверхности свободной энергии в терминах радиуса гирации и среднеквадратичного отклонения (рис. 3, I) показал, что в обоих случаях в системе присутствует одна устойчивая конформация стероид-гидроксилазы. Однако потенциальная яма для немодифицированной формы несколько уже, чем для белка с ПТМ, что свидетельствует об увеличении естественной конформационной подвижности отдельных элементов структуры СУР17А1, содержащей фосфорилированный S258.

Анализ траекторий молекулярной динамики с использованием метода главных компонент показал, что более 90 % всех движений как в исходном, так и в модифицированном белке описываются при помощи трех первых главных компонент (РС), при этом подвижность структурных элементов, соответствующая им, связана с различными типами движений аминокислотных остатков 216–218 и 274–291, принадлежащих петлям между  $\alpha$ -спиралями F и G, а также H и I (рис. 3, II). Фосфорилирование S258 приводит к тому, что движения, соответствующие первой главной компоненте (РС1) (66 % всех движений), становятся более коллективными. Кроме того, ПТМ является причиной уменьшения подвижности участков последовательности, указанных выше. В то же время увеличивается подвижность аминокислотных остатков 135–143, принадлежащих петле между  $\alpha$ -спиралями C и D и участвующих во взаимодействии с редокс-партнерами СУР17А1. Данные изменения характерны для всех трех первых главных компонент. В результате фосфорилирования также изменяется вклад отдельных компонент, и следовательно, различных

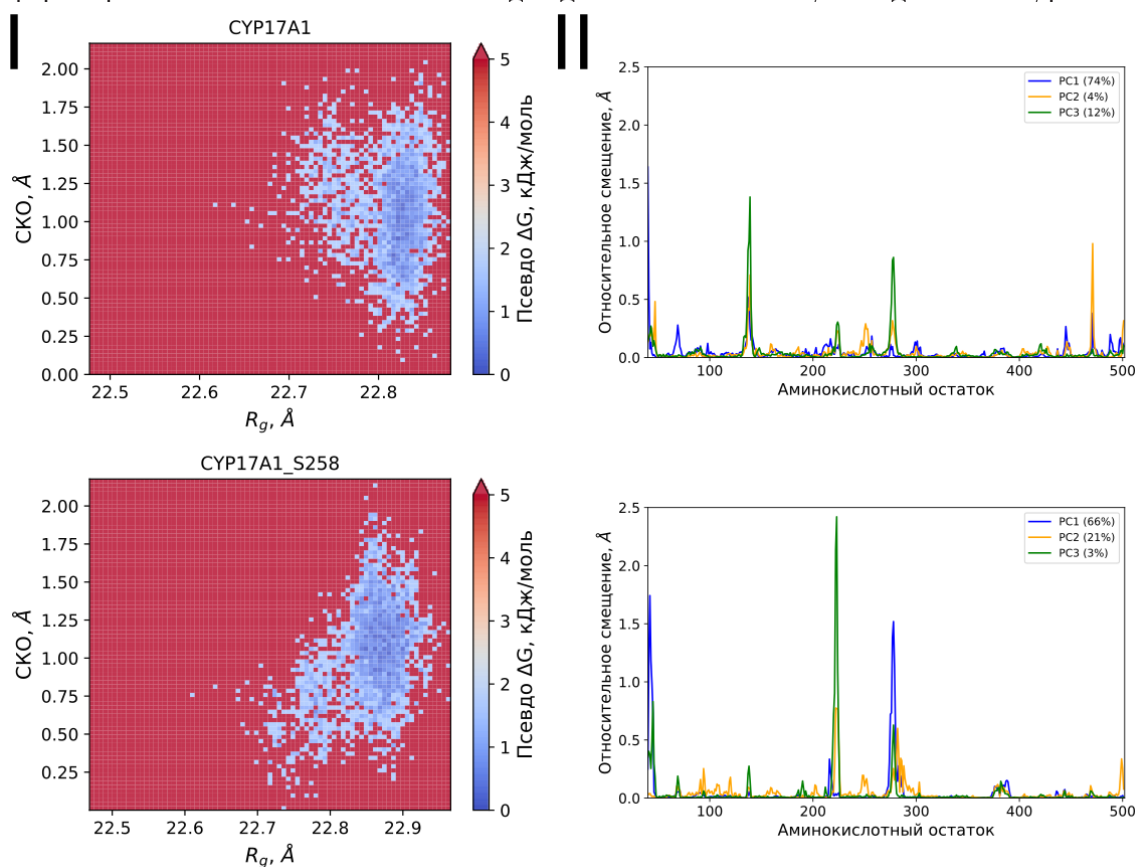


Рис. 3. Поверхность свободной энергии (ПСЭ), построенная в терминах радиуса гирации, и СКО  $C_\alpha$ -атомов белка (I), а также графики зависимости смещения  $C_\alpha$ -атомов белка в процессе динамики относительно первых трех главных компонент (II) для немодифицированной и модифицированной форм СУР17А1

Fig. 3. FES in terms of radius of gyration and RMSD for  $C_\alpha$ -atoms of the protein (I), and displacement of  $C_\alpha$ -atoms during MD simulation along first three principal components (II) for unmodified and modified forms of СУР17А1

типов движений подструктур белка, в общую подвижность (до фосфорилирования / после фосфорилирования): PC1 – 66 % / 74 %; PC2 – 21 % / 3 %; PC3 – 3 % / 12 %.

В результате анализа траекторий МД СУР19А1 установлено, что фосфорилирование Y361 не приводит к значительному изменению расстояния между  $C_{\alpha}$ -атомом аминокислотного остатка и атомом  $Fe^{3+}$  гема. Однако для белка с модифицированным T162 соответствующее расстояние больше, причем это наблюдается для СУР19А1 как с одной (T162), так и с двумя модификациями (T162, Y361) (рис. 2, II).

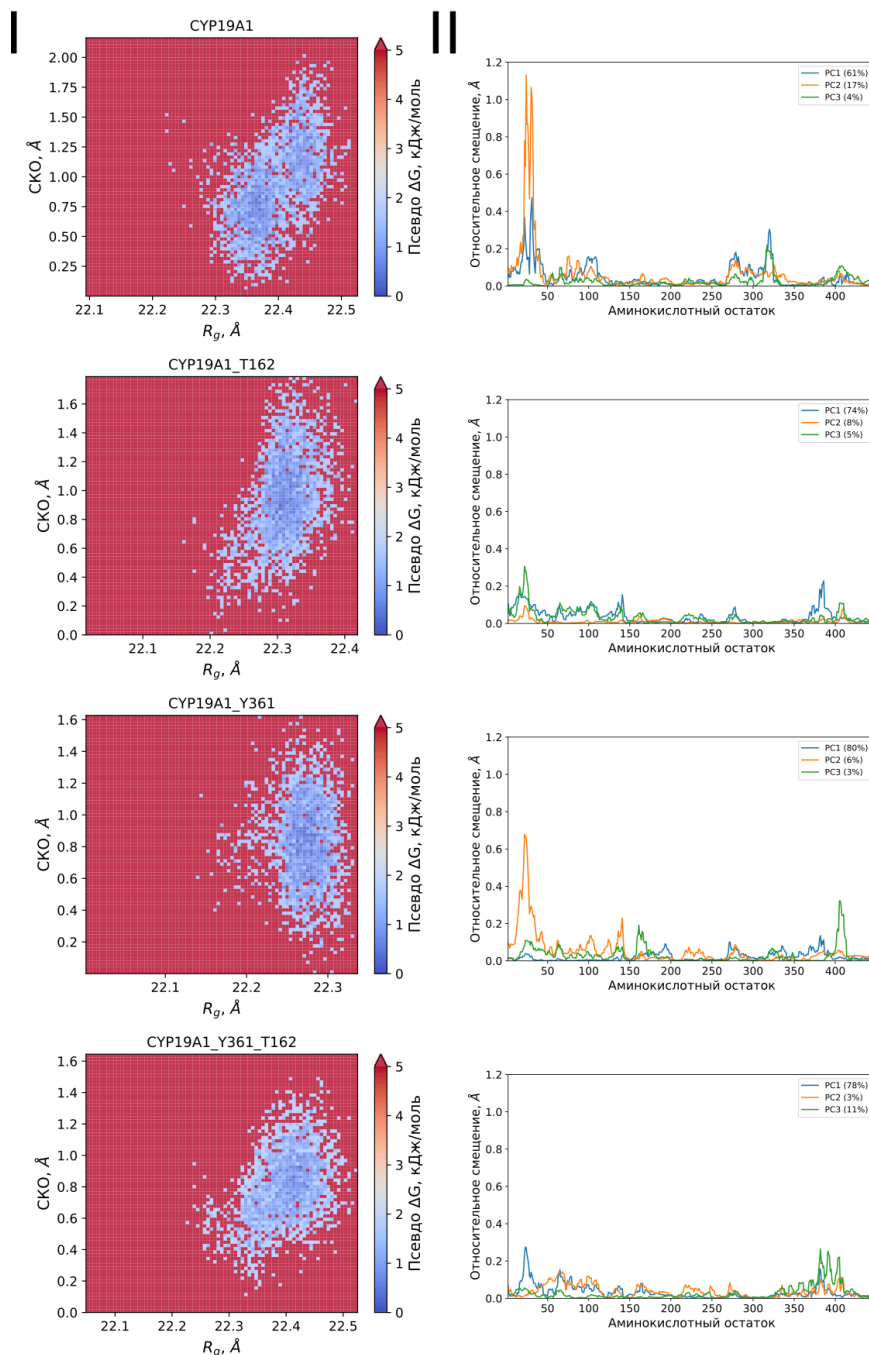


Рис. 4. ПСЭ, построенная в терминах радиуса гирации, и СКО  $C_{\alpha}$ -атомов белка (I), а также графики зависимости смещения  $C_{\alpha}$ -атомов белка в процессе динамики относительно первых трех главных компонент (II) для немодифицированной и модифицированной форм СУР19А1

Fig. 4. FES in terms of radius of gyration and RMSD for  $C_{\alpha}$ -atoms of the protein (I), and displacement of  $C_{\alpha}$ -atoms during MD simulation along first three principal components (II) for unmodified and modified forms of СУР19А1

Наиболее подвижными частями белка в процессе МД, согласно результатам расчета СКФ атомов, также, как и для СУР17А1, являются N- и C-концевой участки. Установлено, что у белка с фосфорилированными остатками меньше флуктуации атомов в области 134–160 аминокислотных остатков ( $\alpha$ -спираль С), причем это характерно для всех моделей с модификациями (рис. 2, III). Также показано, что ПТМ как Т162, так и Y361 приводит к увеличению подвижности участка (meander region, аминокислотные остатки 419–435), содержащего цистеин, участвующий в координации с проксимальной стороны атома  $Fe^{3+}$  гемовой группы.

В ходе анализа траекторий МД обнаружено, что введение ПТМ в структуру белка приводит к уменьшению СКО, что указывает, в данном случае, на важную роль фосфорилирования в стабилизации пространственной структуры молекулы (рис. 2, IV). Полученный результат подтверждается и исходя из ПСЭ, построенной для модифицированных и немодифицированной форм белка (рис. 4, I). Для СУР19А1, не содержащего фосфорилированных остатков, можно выделить два минимума свободной энергии, соответствующие наиболее вероятным конформациям белка в процессе МД, в то время как для ароматазы с ПТМ такой минимум только один.

Использование метода главных компонент для анализа траекторий молекулярной динамики показало, что около 90 % движений для всех моделей соответствуют трем первым главным компонентам. В отличие от СУР17А1, в данном случае все три главные компоненты в большей степени описывают коллективные движения аминокислотных остатков белка (рис. 4, II). Наибольшей подвижностью обладают аминокислотные остатки 72–89 (вторая и первая главные компоненты), принадлежащие  $\alpha$ -спирали А, а также  $\beta$ -листу 1–2. Данные остатки являются частью канала доступа лиганда в активный центр СУР19А1. При фосфорилировании белка по Т162 (как для модели, содержащей один остаток с ПТМ, так и для модели с двойным фосфорилированием) подвижность данного участка значительно уменьшается. В случае же ПТМ Y361 (модель, содержащая один модифицированный остаток) подвижность аминокислотных остатков 72–89 сохраняется, однако амплитуда движения меньше, чем для исходного белка. Полученные данные указывают на то, что механизм быстрой регуляции при фосфорилировании Y361 и, в особенности, Т162 может включать в себя изменение доступности активного центра фермента для молекул субстрата.

**Заключение.** Таким образом, установлено, что фосфорилирование Т162, Y361 (СУР19А1) и S258 (СУР17А1) не приводит к значительным изменениям пространственной структуры ферментов. Локализация данных аминокислотных остатков в непосредственной близости от интерфейса взаимодействия с соответствующими донорами электронов, а также уменьшение подвижности отдельных частей белков при ПТМ указывает на то, что в основе механизма быстрой регуляции активности ферментов СУР17А1, СУР19А1 человека в данном случае лежит изменение сродства стероид-гидроксилазы к своему редокс-партнеру. Кроме того, показано, что фосфорилирование Т162 способно оказывать значительное влияние на подвижность аминокислотных остатков, формирующих канал доступа субстрата в активный центр СУР19А1 и, таким образом, модулировать каталитические свойства фермента. Полученные результаты вносят вклад в формирование представления о группоспецифичных и индивидуальных быстрых способах регуляции цитохромов P450 с использованием ПТМ.

**Благодарности.** Работа выполнена при поддержке БРФФИ: проекты X19-042 и X19M-093.

**Acknowledgments.** This work was supported by BRFFR: projects X19-042 and X19M-093.

### Список использованных источников

1. Hall, P. F. Cytochrome P-450 C21sc: one enzyme with two actions: hydroxylase and lyase / P. F. Hall // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* – 1991. – Vol. 40, N 4–6. – P. 527–532. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(91\)90272-7](https://doi.org/10.1016/0960-0760(91)90272-7)
2. Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis / E. R. Simpson [et al.] // *Endocr. Rev.* – 1994. – Vol. 15, N 3. – P. 342–355. <https://doi.org/10.1210/edrv-15-3-342>
3. Sushko, T. A. Genetics, Structure, Function, Mode of Actions and Role in Cancer Development of CYP17 / T. A. Sushko, A. A. Gilep, S. A. Usanov // *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry.* – 2014. – Vol. 14, N 1. – P. 66–76. <https://doi.org/10.2174/187152061131300330>
4. Meinhardt, U. The aromatase cytochrome P-450 and its clinical impact / U. Meinhardt, P. E. Mullis // *Horm. Res.* – 2002. – Vol. 57, N 5–6. – P. 145–152. <https://doi.org/10.1159/000058374>
5. Antifungal Azole Derivatives and their Pharmacological Potential: Prospects & Retrospects / S. S. Sandhu [et al.] // *Natural Products Journal.* – 2014. – Vol. 4, N 2. – P. 140–152. <https://doi.org/10.2174/221031550402141009100632>



6. CYP17A1 inhibitor abiraterone, an anti-prostate cancer drug, also inhibits the 21-hydroxylase activity of CYP21A2 / J. Malikova [et al.] // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2017. – Vol. 174. – P. 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.09.007>
7. Aromatase acetylation Patterns and Altered Activity in Response to Sirtuin Inhibition / D. Molehin [et al.] // *Molecular Cancer Research.* – 2018. – Vol. 16, N 10. – P. 1530–1542. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-18-0047>
8. Posttranslational modification by an isolevuglandin diminishes activity of the mitochondrial cytochrome P450 27A1 / C. D. Charvet [et al.] // *Journal of Lipid Research.* – 2013. – Vol. 54, N 5. – P. 1421–1429. <https://doi.org/10.1194/jlr.m035790>
9. Proteomic Landscape of Aldosterone-Producing Adenoma / M. M. Swierczynska [et al.] // *Hypertension.* – 2019. – Vol. 73, N 2. – P. 469–480. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.118.11733>
10. Hayashi, T. Post-translational dual regulation of cytochrome P450 aromatase at the catalytic and protein levels by phosphorylation/dephosphorylation / T. Hayashi, N. Harada // *FEBS Journal.* – 2014. – Vol. 281, N 21. – P. 4830–4840. <https://doi.org/10.1111/febs.13021>
11. Tee, M. K. Phosphorylation of Human Cytochrome P450c17 by p38 $\alpha$  Selectively Increases 17,20 Lyase Activity and Androgen Biosynthesis / M. K. Tee, W. L. Miller // *Journal of Biological Chemistry.* – 2013. – Vol. 288, N 33. – P. 23903–23913. <https://doi.org/10.1074/jbc.m113.460048>
12. Rapid estradiol/ER $\alpha$  signaling enhances aromatase enzymatic activity in breast cancer cells / S. Catalano [et al.] // *Molecular Endocrinology.* – 2009. – Vol. 23, N 10. – P. 1634–1645. <https://doi.org/10.1210/me.2009-0039>
13. Wang, Y.-H. Human cytochrome P450c17: single step purification and phosphorylation of serine 258 by protein kinase A / Y.-H. Wang, M. K. Tee, W. L. Miller // *Endocrinology.* – 2010. – Vol. 151, N 4. – P. 1677–1684. <https://doi.org/10.1210/en.2009-1247>
14. Post-Translational Regulation of CYP450s Metabolism As Revealed by All-Atoms Simulations of the Aromatase Enzyme / I. Ritacco [et al.] // *J. Chem. Inf. Model.* – 2019. – Vol. 59, N 6. – P. 2930–2940. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00157>
15. Adrenodoxin supports reactions catalyzed by microsomal steroidogenic cytochrome P450s / T. A. Pechurskaya [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2007. – Vol. 353, N 3. – P. 598–604. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.12.047>

## References

1. Hall P. F. Cytochrome P-450 C21sc: one enzyme with two actions: hydroxylase and lyase. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 1991, vol. 40, no. 4–6, pp. 527–532. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(91\)90272-7](https://doi.org/10.1016/0960-0760(91)90272-7)
2. Simpson E. R., Mahendroo M. S., Means G. D., Kilgore M. W., Hinshelwood M. M., Graham-Lorence S., Amarnah B., Ito Y., Fisher C. R., Michael M. D., Mendelson C. R., Bulun S. E. Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocrine Reviews*, 1994, vol. 15, no. 3, pp. 342–355. <https://doi.org/10.1210/edrv-15-3-342>
3. Sushko T. A., Gilep A. A., Usanov S. A. Genetics, Structure, Function, Mode of Actions and Role in Cancer Development of CYP17. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2014, vol. 14, no. 1, pp. 66–76. <https://doi.org/10.2174/187152061131300330>
4. Meinhardt U., Mullis P. E. The aromatase cytochrome P-450 and its clinical impact. *Hormone Research in Paediatrics*, 2002, vol. 57, no. 5–6, pp. 145–152. <https://doi.org/10.1159/000058374>
5. Sandhu S. S., Shukla H., Aharwal R. P., Kumar S., Shukla S. Antifungal Azole Derivatives and their Pharmacological Potential: Prospects & Retrospects. *Natural Products Journal*, 2014, vol. 4, no. 2, pp. 140–152. <https://doi.org/10.2174/221031550402141009100632>
6. Malikova J., Brixius-Anderko S., Udhane S. S., Parween S., Dick B., Bernhardt R., Pandey A. V. CYP17A1 inhibitor abiraterone, an anti-prostate cancer drug, also inhibits the 21-hydroxylase activity of CYP21A2. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2017, vol. 174, pp. 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.09.007>
7. Molehin D., Castro-Piedras I., Sharma M., Sennoune S. R., Arena D., Manna P. R., Pruitt K. Aromatase acetylation Patterns and Altered Activity in Response to Sirtuin Inhibition. *Molecular Cancer Research*, 2018, vol. 16, no. 10, pp. 1530–1542. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-18-0047>
8. Charvet C. D., Laird J., Xu Yu., Salomon R. G., Pikuleva I. A. Posttranslational modification by an isolevuglandin diminishes activity of the mitochondrial cytochrome P450 27A1. *Journal of Lipid Research*, 2013, vol. 54, no. 5, pp. 1421–1429. <https://doi.org/10.1194/jlr.m035790>
9. Swierczynska M. M., Betz M. J., Colombi M., Dazert E., Jenö P., Moes S., Pfaff C., Glatz K., Reincke M., Beuschlein F., Donath M. Y., Hall M. N. Proteomic Landscape of Aldosterone-Producing Adenoma. *Hypertension*, 2019, vol. 73, no. 2, pp. 469–480. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.118.11733>
10. Hayashi T., Harada N. Post-translational dual regulation of cytochrome P450 aromatase at the catalytic and protein levels by phosphorylation/dephosphorylation. *FEBS Journal*, 2014, vol. 281, no. 21, pp. 4830–4840. <https://doi.org/10.1111/febs.13021>
11. Tee M. K., Miller W. L. Phosphorylation of Human Cytochrome P450c17 by p38 $\alpha$  Selectively Increases 17,20 Lyase Activity and Androgen Biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, vol. 288, no. 33, pp. 23903–23913. <https://doi.org/10.1074/jbc.m113.460048>
12. Catalano S., Barone I., Giordano C., Rizza P., Qi H., Gu G., Malivindi R., Bonofiglio D., Andò S. Rapid estradiol/ER $\alpha$  signaling enhances aromatase enzymatic activity in breast cancer cells. *Molecular Endocrinology*, 2009, vol. 23, no. 10, pp. 1634–1645. <https://doi.org/10.1210/me.2009-0039>
13. Wang Y.-H., Tee M. K., Miller W. L. Human cytochrome P450c17: single step purification and phosphorylation of serine 258 by protein kinase A. *Endocrinology*, 2010, vol. 151, no. 4, pp. 1677–1684. <https://doi.org/10.1210/en.2009-1247>

14. Ritacco I., Spinello A., Ippoliti E., Magistrato A. Post-Translational Regulation of CYP450s Metabolism As Revealed by All-Atoms Simulations of the Aromatase Enzyme. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2019, vol. 59, no. 6, pp. 2930–2940. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00157>

15. Pechurskaya T. A., Harnastai I. N., Grabovec I. P., Gilep A. A., Usanov S. A. Adrenodoxin supports reactions catalyzed by microsomal steroidogenic cytochrome P450s. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2007, vol. 353, no. 3, pp. 598–604. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.12.047>

### Информация об авторах

*Диченко Ярослав Владимирович* – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [dichenko@iboch.by](mailto:dichenko@iboch.by).

*Травкина Мария* – мл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [maria\\_trawkina@iboch.by](mailto:maria_trawkina@iboch.by).

*Янцевич Алексей Викторович* – канд. хим. наук, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [al.yantsevich@gmail.com](mailto:al.yantsevich@gmail.com).

*Усанов Сергей Александрович* – член-корреспондент, д-р хим. наук, профессор. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [usanov@iboch.by](mailto:usanov@iboch.by).

### Information about the authors

*Dzichenka Yaraslau U.* – Ph. D. (Chemistry), Senior researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [dichenko@iboch.by](mailto:dichenko@iboch.by).

*Trawkina Maria* – Junior researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [maria\\_trawkina@iboch.by](mailto:maria_trawkina@iboch.by).

*Yantsevich Aliaksei V.* – Ph. D. (Chemistry), Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [al.yantsevich@gmail.com](mailto:al.yantsevich@gmail.com).

*Usanov Sergei A.* – Corresponding Member, D. Sc. (Chemistry), Professor. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [usanov@iboch.by](mailto:usanov@iboch.by).