

УДК 616.843: 541.57.138

Кузнецова Т.Ю., Соловьева Н.В.

МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЗМА АНТИРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ НА НАНОУРОВНЕ С УЧАСТИЕМ ГЛУТАТИОНА В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

Полтавский национальный технический университет им. Ю. Кондратюка
ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия» г. Полтава

На основании результатов неэмпирических квантово-химических расчетов взаимодействия молекулы глутатиона с супероксид-анион-радикалом ($\cdot\text{OO}^-$) проведено изучение антирадикальных свойств антиоксиданта. Установлены наиболее вероятные активные центры взаимодействия молекулы глутатиона с $\cdot\text{OO}^-$, которые отвечают наиболее глубоким минимумам полной энергии взаимодействия и соответствуют максимумам антирадикальной активности антиоксиданта. Показано, что $\cdot\text{OO}^-$ стимулирует ослабление «внешних» связей атомов водорода с близлежащими атомами в молекуле антиоксиданта и приводит к образованию комплексов молекулы глутатиона с супероксид-анион-радикалом.

Ключевые слова: свободные радикалы, супероксид-анион-радикал, глутатион.

Введение

В основе жизнедеятельности живых организмов лежат высокоэффективные и строго специфичные молекулярные процессы, в которых участвуют молекулы белковой природы, позволяющие поддерживать внутренний гомеостаз при достаточно широком изменении внешних условий.

Свободнорадикальные процессы, протекающие под влиянием неблагоприятной экологической обстановки, химических, радиационных и многих других воздействий на биосистемы, вызвали появление все возрастающего числа исследований, посвященных изучению и определению эффективности известных и потенциальных антиоксидантов (АО) в организме человека [1-5].

Особая роль в антиоксидантной системе защиты организма принадлежит глутатиону. С redox-реакциями, активностью и содержанием в тканях различных органов этого соединения связывают целый ряд патологий, таких как диабет, болезни Альцгеймера, Паркинсона и другие [6-8]. Причем, согласно многим предположениям, это обусловлено «перекисной модификацией», «поперечной сшивкой», а также деградацией белковых макромолекул, в состав которых входит глутатион [9]. Протекание таких преобразований белка происходит преимущественно, благодаря обратимому окислению - восстановлению сульфгидрильной группы глутатиона [10].

Отсутствие систематических исследований, особенно на молекулярном уровне, антирадикальной активности различных антиоксидантов при их взаимодействии со свободными радикалами в биосистемах обуславливают не только наличие противоречивых оценок в интерпретации экспериментально полученных закономерностей, но и создают трудности в развитии общих представлений о механизме взаимодействия антиоксидантов со свободными радикалами и целенаправленного подхода к управлению этими процессами, что имеет практическое значение. Это делает задачу изучения эффективности применения различных антиоксидантов особенно актуальной.

Поскольку традиционные методы изучения влияния антиоксидантов на свободные радикалы не всегда могут быть эффективными, представляется целесообразным применение современных высокоточных неэмпирических квантово-химических расчетов для изучения механизмов взаимодействия молекулы глутатиона (GSH) с $\cdot\text{OO}^-$. Данные расчеты дадут возможность на электронном уровне получить обоснование как положительного эффекта применения GSH, так и возможность управлять этими процессами.

Важным также является перспектива применения результатов квантово-химических расчетов для правильной передачи особенностей взаимодействия некоторых классов биологических молекул с целью научно обоснованного синтеза в дальнейшем лекарственных препаратов.

Цель работы: изучение механизма взаимодействия молекулы глутатиона с $\cdot\text{OO}^-$ на основании результатов квантово-химических расчетов.

Объекты и методы исследований

Изучение механизма взаимодействия GSH с $\cdot\text{OO}^-$ проводилось путем квантово-химических неэмпирических расчетов с применением пакета программ GAMESS (версия от 27 марта 2007года), с использованием гаусовских функций в валентно-расщепленном базисе Хузинаги в неограниченном приближении Хартри-Фока-Рутана метода ССП МО ЛКАО. в этой работе применялись оптимизированные геометрии молекулы GSH [11], впервые установленные нами. Из числа свободных радикалов (СР) объектом изучения был выбран $\cdot\text{OO}^-$, с предварительно проведенной оптимизацией геометрического строения ($R_{(\cdot\text{OO}^-)} = 0,1361$ нм [11]).

Результаты и их обсуждение

Для поиска «направлений атаки» молекулы глутатиона свободным радикалом были выполнены

неэмпирические квантовохимические расчеты распределения электростатического потенциала (МЭСПа) в супероксид-анион-радикале (рис.1) и в молекуле глутатиона (рис.2).

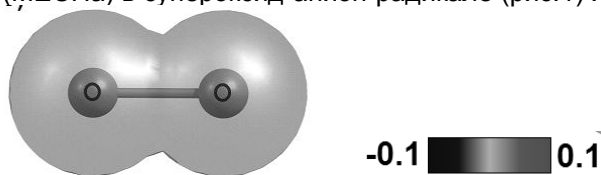


Рис.1. Распределение молекулярного электростатического потенциала (В) в $\bullet\text{OO}^-$.

На рис.1 показано, что в супероксид-анион-радикале имеет место изотропное распределение МЭСПа. Супероксид-анион-радикал будет «атаковать» места с положительными значениями электростатического потенциала в молекуле антиоксиданта. Область положительных значений МЭСПа в молекуле глутатиона (рис.2) локализована у атомов водорода, которые и будут выступать «местами атаки» $\bullet\text{OO}^-$.

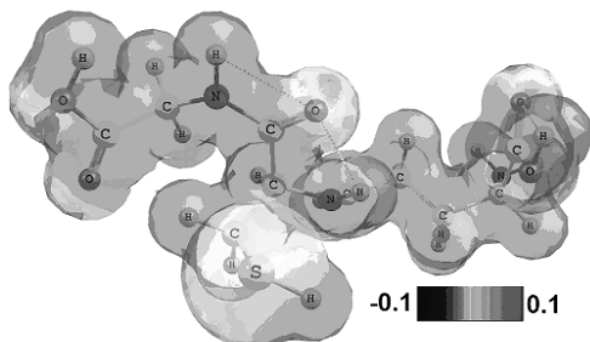


Рис.2. Распределение молекулярного электростатического потенциала (В) в молекуле GSH.

Для предварительного нахождения структуры взаимодействий $\text{GSH}\cdots\bullet\text{OO}^-$ и поиска минимумов полной энергии, которые соответствуют максимумам энергии взаимодействия свободных радикалов с молекулой глутатиона, было проведено сканирование поверхности потенциальной энергии (ППЭ) взаимодействия в окрестностях «мест атаки» молекулы GSH радикалом $\bullet\text{OO}^-$. Полученные результаты показали наличие для молекулы глутатиона 17 минимумов полной энергии при взаимодействии с $\bullet\text{OO}^-$. (рис. 3).

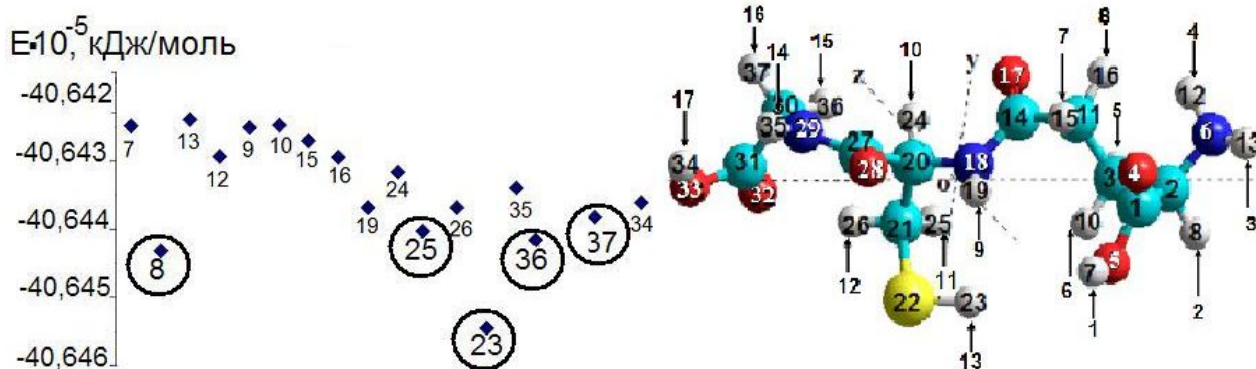


Рис. 3. Минимумы полной энергии взаимодействия $\text{GSH}\cdots\bullet\text{OO}^-$ при атаке различных центров молекулы GSH свободным радикалом $\bullet\text{OO}^-$ (выделены 5 наиболее глубоких минимумов—○).

Процедура нахождения минимумов полной энергии состояла в оптимизации структуры комплексов, с расчетом полной энергии в седловых точках ППЭ (переходное состояние) для каждого из «направлений атаки», при изменении угла между соответствующими связями между молекулой антиоксиданта и свободным радикалом, а также соответствующих расстояний между атомами (рис. 4). Эта процедура была применена в дальнейшем ко всем другим «местам атаки» молекулы антиоксиданта, из которых для последующего изучения нами было выбрано 5 наиболее глубоких минимумов (рис.3).

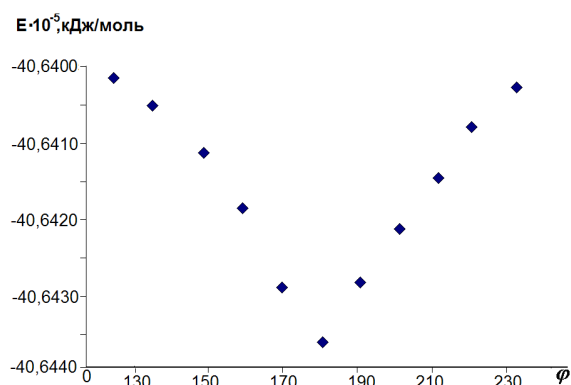


Рис.4. Профиль дна долины поверхности полной энергии взаимодействия молекулы GSH через атом H(23) с $\bullet\text{OO}^-$ в области глобального минимума.

Анализ взаимодействия молекулы GSH с $\bullet\text{OO}^-$ показал, что взаимодействие супероксид-анион-радикала с молекулой глутатиона приводит к переносу заряда с $\bullet\text{OO}^-$ на атомы молекулы GSH, приводящего к увеличению заряда на атомах кислорода свободного радикала и, соответственно, к уменьшению заряда на близлежащих атомах в молекуле антиоксиданта. Это приводит к уменьшению соответствующих порядков связей в молекуле глутатиона (табл.1, рис.5).

Таблица 1.
Заряды на атомах (Q) и порядки связей (B_{ij}) между атомами в молекуле GSH при взаимодействии с одним $\bullet\text{OO}^-$ (выборочные данные для 5 самых глубоких минимумов полной энергии)

Объекты атаки	Q		Атомы	R, нм		B_{ij}	
	До реакции	После реакции		До реакции	После реакции	До реакции	После реакции
H(23)	0,104	0,216	S(22)-H(23)	0,132	0,185	0,956	0,163
S(22)	-0,121	-0,660					
H(8)	0,117	0,171	C(2)-(8)	0,108	0,110	0,960	0,802
C(2)	-0,027	-0,045					
H(36)	0,128	0,172	C(30)-H(36)	0,107	0,108	0,958	0,846
C(30)	-0,109	-0,117					
H(37)	0,120	0,178	C(30)-H(37)	0,108	0,109	0,958	0,824
C(30)	-0,109	-0,131					
H(25)	0,128	0,147	C(21)-H(25)	0,108	0,109	0,943	0,863
C(21)	-0,282	-0,302					

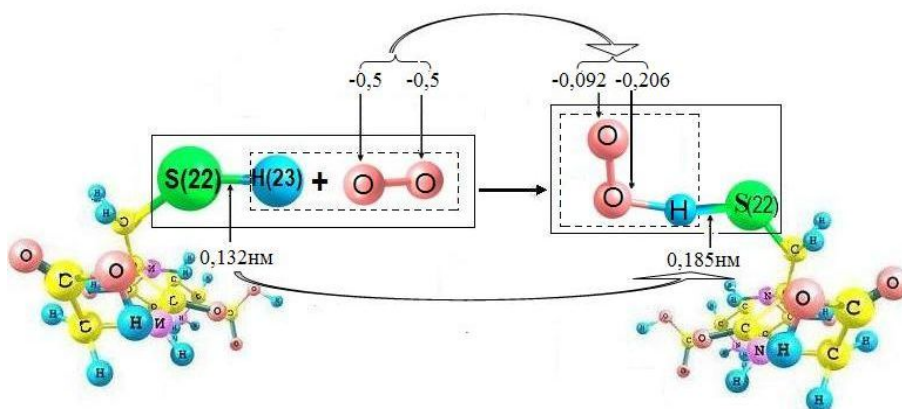


Рис.5. Схема взаимодействия молекулы GSH с $\bullet\text{OO}^-$ (в точке глобального минимума).

Анализ полученных результатов показал, что для двух атомов кислорода супероксид-анион-радикала происходит снижение электронной плотности, в сравнении с «изолированным» $\bullet\text{OO}^-$ в 1,5 – 4,5 при взаимодействии с атомом водорода молекулы глутатиона, по преобладающим направлениям взаимодействия, отвечающим минимумам энергии, вследствие чего происходит ослабление связей между атомами кислорода в супероксид-анион-радикале, что приводит к изменению величины длины связей C–H и S–H в молекуле GSH но не приводит к их разрыву.

Главным же результатом следует считать образование активированных комплексов молекулы глутатиона с супероксид-анион-радикалом вида $\{(C_{10}H_{17}N_3O_6S) \cdots (\bullet\text{OO}^-)\}$ вследствие red-oxi реакций, определяющих наличие антирадикальных свойств глутатиона.

Выводы

1. На основании анализа результатов квантово-химического моделирования установлены наиболее вероятные активные центры взаимодействия молекулы глутатиона с супероксид-анион-радикалом, которые отвечают наиболее глубоким минимумам полной энергии взаимодействия.

2. На наноуровне предложен механизм перераспределения электронной плотности в молекуле глутатиона при взаимодействии супероксид-анион-радикала, который показывает, что

взаимодействие между антиоксидантом и свободным радикалом происходит по кислотно-основному механизму, а антиоксидант по отношению к супероксид-анион-радикалу выступает как кислота.

3. Установлена возможность применения квантово-химических расчетов для конкретизации на наноуровне взаимодействий биологических молекул с целью научно-обоснованного объяснения воздействия антиоксидантов на активные формы кислорода на макроуровне.

Литература

1. Хасанов В.В. Методы исследования антиоксидантов / В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, Е.В. Мальцева // Химия растительного сырья. – 2004. – № 3. – С. 63-95.
2. Федина П.А. Определение антиоксидантов в продуктах растительного происхождения амперометрическим методом / П.А. Федина, Н.И. Яшин, Н.И. Черноусова // Химия растительного сырья. – 2010. – № 2. – С. 91-97.
3. Короткова Е.И. Новый способ определения активности антиоксидантов / Е.И. Короткова // Журнал физической химии. – 2000. – Т. 74, № 9. – С. 1544-1546.
4. Roginsky V. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food / V. Roginsky, E.A. Lissi // Food chemistry. – 2005. – Vol. 92. – P. 235.
5. Anderson M.F. The effects of focal ischemia and reperfusion on the glutathione content of mitochondria from rat brain subregions / M.F. Anderson, N.R. Sims // J. Neurochem. 2002. – Vol. 81, № 3. – P. 541-549.
6. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса / Е.Е. Дубинина // Вопросы мед. химии. 2001. – Т. 47, N 6. – С. 561-581.
7. Бачурин С.О. Медико-химические подходы к направленному поиску препаратов для лечения и предупреждения болезни Альцгеймера // [Вопросы медицинской химии](#). – 2001. – № 2. – С. 11-25.
8. Чеснокова Н.П. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Успехи соврем. естествознания – 2006. – № 7. – С.29-41.
9. Hothorn M. Structural Basis for the Redox Control of Plant Glutamate Cysteine Ligase Wachter / M. Hothorn // Journal of Biological Chemistry – 2006. – V. 281. – P. 27557-65.
10. Prutz W.A. The glutathione free radical equilibrium mediating electron transfer to FE(III) – cytochrome / W.A. Prutz, J. Butler, E.J. Land // Biophysical Chemistry. – 1994. – 49 (2). – P. 101-111
11. Кузнецова Т.Ю. Моделирование антиоксидантных свойств мелатонина и глутатиона при взаимодействии с гидроксил-радикалом / Т.Ю. Кузнецова, Соловьева Н.В. // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української стоматологічної академії. – 2012. – Т. 12, Вип. 1-2. – С. 189-193.

Реферат

МОДЕЛЮВАННЯ МЕХАНІЗМУ АНТИРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ НА НАНОРІВНІ ЗА УЧАСТЮ ГЛУТАТІОНУ В БІОЛОГІЧНИХ СИСТЕМАХ

Кузнецова Т.Ю., Соловйова Н.В.

Ключові слова: вільні радикали, супероксид-аніон-радикал, глутатіон.

На підставі результатів неемпіричних квантово-хімічних розрахунків взаємодії молекули глутатіону з супероксид-аніон-радикалом ($\bullet\text{OO}^-$) проведено вивчення антиоксидантних властивостей глутатіону. Встановлено найбільш ймовірні активні центри взаємодії молекули глутатіону з $\bullet\text{OO}^-$, які відповідають найбільш глибоким мінімумам повної енергії взаємодії і відповідають максимумам антирадикальної активності антиоксиданту. Показано, що $\bullet\text{OO}^-$ стимулює ослаблення зв'язків між атомами водню і «граничними» атомами молекули антиоксиданту, що призводить до утворення комплексів молекули глутатіону з супероксид-аніон-радикалом.

Summary

SIMULATION OF THE MECHANISM AT THE NANOSCALE ANTIRADICAL PROCESSES INVOLVING GLUTATHIONE IN BIOLOGICAL SYSTEMS

Kuznetsova T.Y., Solovyova N.V.

Keywords: free radicals, superoxide-anion-radical, glutathione.

Based on the results of ab initio quantum chemical calculations of the interaction of the molecule glutathione superoxide anion radical ($\bullet\text{OO}^-$) was studied antiradical properties of antioxidants. Established the most probable active sites of interaction of the molecule glutathione $\bullet\text{OO}^-$ corresponding to the deepest minimum of the total energy of interaction, and correspond to the maxima of antiradical activity of antioxidant. It is shown that $\bullet\text{OO}^-$ stimulates the weakening of "external" relations with the neighboring hydrogen atoms in the molecule glutathione atomomi arise molecule glutathione complexes with superoxide anion radical.