

ORIGINAL AND CLINICAL ARTICLES

УДК: 615.011.4:544.165:004.942

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕЛЕКТРОННОЇ СТРУКТУРИ ТА КВАНТОВО-ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ МОЛЕКУЛ АЦЕТИЛХОЛІНУ, ХОЛІНУ ТА ОЦТОВОЇ КИСЛОТИ**Мороз В.М., Чекман І.С.*, Небесна Т.Ю.**

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018), *Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (пр. Перемоги, 34, м. Київ, Україна, 03057)

Резюме. В статті наведені результати досліджень квантово-фармакологічних властивостей ацетилхоліну, холіну та оцтової кислоти. Встановлені основні геометричні, енергетичні та електронні характеристики молекул. Описані особливості зв'язування ацетилхоліну з нікотинним холінорецептором, визначені основні електрофільні та нуклеофільні центри взаємодії цього нейромедіатора з потенційними біолігандами.

Ключові слова: ацетилхолін, холін, оцтова кислота, електростатичний потенціал молекул.

Вступ

Ацетилхолін - перший з нейромедіаторів, виділений та досліджений австрійським фармакологом Отто Леві у 1921 році. Ендогенний ацетилхолін приймає участь в передачі нервового збудження в центральній нервовій системі, вегетативних гангліях, парасимпатичних нервових закінченнях. За хімічною структурою ацетилхолін є четвертинною моноамонієвою сполукою, яка в організмі розкладається на холін та оцтову кислоту за участю ферменту ацетилхолінестерази [Чекман, 1990; Головенко, 2004; Машковський, 2006]. Не дивлячись на тривалу історію фармакологічних досліджень ацетилхоліну, а також численних холінергічних агоністів та антагоністів, молекулярні механізми дії цих сполук вивчені недостатньо.

Метою даної роботи було дослідити електронну структуру молекул ацетилхоліну, холіну та оцтової кислоти за допомогою квантово-хімічних методів. Дані щодо квантово-фармакологічних властивостей ацетилхоліну та його метаболітів дозволять поглибити сучасні уявлення про зв'язок хімічної структури цієї молекули з її фармакологічною активністю та отримати теоретичне обґрунтування фізико-хімічних властивостей ацетилхоліну, як медіатора холінергічних нервів.

Матеріали та методи

Для молекул ацетилхоліну, холіну та оцтової кислоти проведено оптимізацію геометрії послідовно методами молекулярної механіки MM+, напівемпіричним методом PM3 [Чекман та ін., 2001; Соловьев, Соловьев 2005] неемпіричним методом 3-21G [Нагакури, Накадзими, 1982; Грибов, Муштакова, 1999]. Для проведених досліджень використаний алгоритм Рібера-Полака. Розраховані показники для молекул ацетилхоліну, холіну та оцтової кислоти: загальні розміри молекул (E), відстані між атомами (E); значення кутів між зв'язками (°); розподіл електронної щільності тільки зовнішніх валентних електронів; розподіл електростатичного потенціалу в молекулах; енергія зв'язуван-

ня (ккал/моль); електронна енергія (ккал/моль); енергія між'ядерної взаємодії (ккал/моль); заряди на атомах (ат. од.); значення дипольного моменту молекули (Д); локалізація та енергії вищої зайнятої (ВЗМО) і нижчої вакантної (НВМО) молекулярних орбіталей (еВ); значення абсолютної жорсткості (і) (еВ). Абсолютна жорсткість (і) визначена за формулою:

$$\dot{\eta} = 1/2 (E_{\text{нвмо}} - E_{\text{взмо}}).$$

Результати. Обговорення

На рис. 1, 2, 3 представлені молекули ацетилхоліну, холіну та оцтової кислоти після геометричної оптимізації.

На рис. 4, 5, 6 показані розраховані заряди на кожному з атомів молекул ацетилхоліну, холіну та оцтової кислоти. Найбільша електронна щільність в усіх трьох молекулах локалізована на атомах кисню гідроксигрупи (-0,258, -0,270, -0,271) та карбонільної групи (-0,398, -0,339). Атом азоту в структурі ацетилхоліну та холіну є четвертинним, тому несе значний позитивний заряд (+0,620, +0,621). Атоми вуглецю (крім тих, що утворюють зв'язки з атомами кисню) мають надлишок електронної щільності в межах -0,072 - -0,256. Найбільший дефіцит електронної щільності спостерігається на атомі вуглецю карбонільної групи (+0,395+0,355). Атоми водню всіх трьох молекул заряджені позитивно.

Розраховані заряди на атомах досліджених молекул дозволяють описувати нуклеофільні і електрофільні властивості цих сполук. Найбільш негативно заряджені атоми (атоми кисню) можуть реагувати з електроноакцепторними угрупованнями інших молекул, атоми з дефіцитом електронної щільності, навпаки, будуть взаємодіяти з електронодонорами (наприклад, атоми водню - утворювати водневі зв'язки з киснем, азотом інших електронегативних молекул) [Мінкін та ін., 1997].

Загальний розподіл усіх зарядів у просторі утворює диполь. Напрямок диполя в молекулах визначається від негативного полюсу до позитивного полюсу [Мінкін

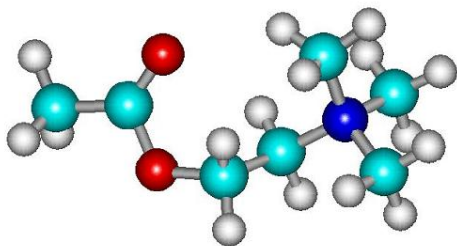


Рис. 1. Будова молекули ацетилхоліну у вигляді сфер, що перекриваються. Зеленим позначено атоми вуглецю, синім - азоту, червоним - кисню, сірим - водню.

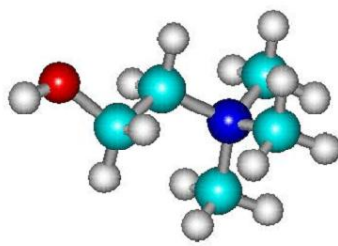


Рис. 2. Будова молекули холіну у вигляді сфер, що перекриваються. Зеленим позначено атоми вуглецю, синім - азоту, червоним - кисню, сірим - водню.

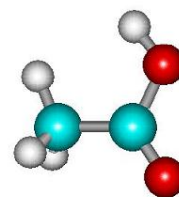


Рис. 3. Будова молекули оцтової кислоти у вигляді сфер, що перекриваються. Зеленим позначено атоми вуглецю, синім - азоту, червоним - кисню, сірим - водню.

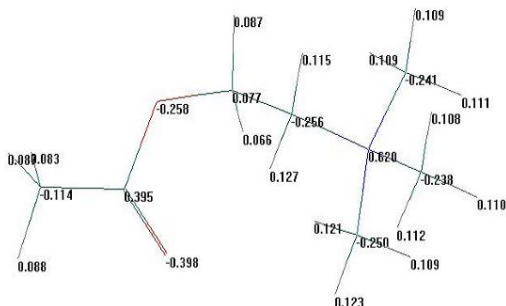


Рис. 4. Ацетилхолін - заряди на атомах молекули.

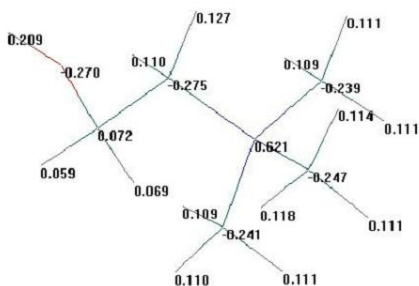


Рис. 5. Холін - заряди на атомах молекули.

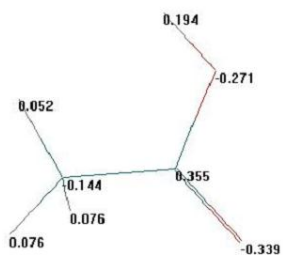


Рис. 6. Оцтова кислота - заряди на атомах молекули.

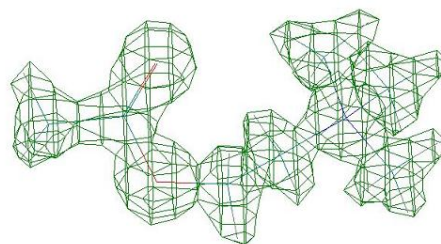


Рис. 7. Розподіл електронної густини тільки зовнішніх валентних електронів в молекулі ацетилхоліну. Синім позначено атом азоту, червоним - кисню, на яких сконцентрована найбільша електронна густина.

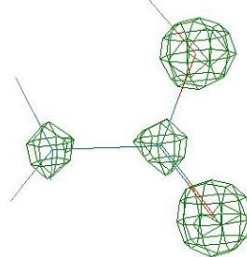


Рис. 8. Розподіл електронної густини тільки зовнішніх валентних електронів в молекулі оцтової кислоти. Червоним позначено атоми кисню, на яких сконцентрована найбільша електронна густина.

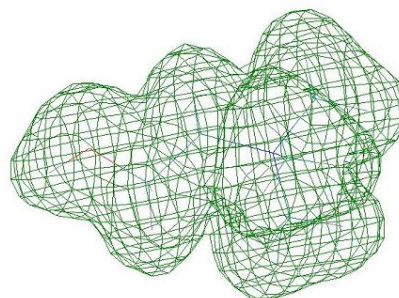


Рис. 9. Розподіл електронної густини тільки зовнішніх валентних електронів в молекулі холіну. Синім позначено атом азоту, на якому сконцентрована найбільша електронна густина.

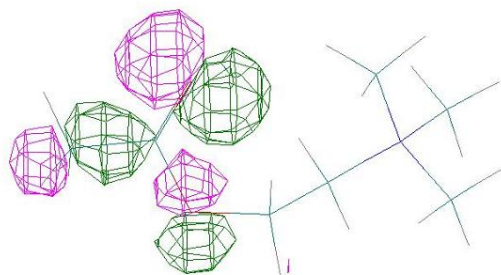


Рис. 10. Локалізація ВЗМО в молекулі ацетилхоліну - ефірний атом кисню (позначено червоним) та ацетатний фрагмент (позначено зеленим).

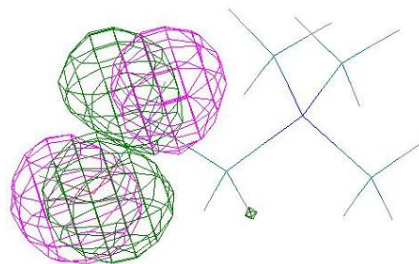


Рис. 14. Локалізація ВЗМО в молекулі холіну - атом кисню (позначено червоним).

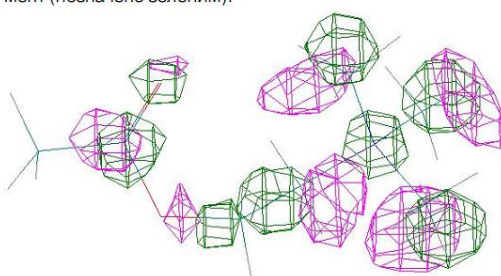


Рис. 11. Локалізація НВМО в молекулі ацетилхоліну відбувається переважно на холіновому азоті (позначено синім) та суміжних метильних групах (позначено зеленим).

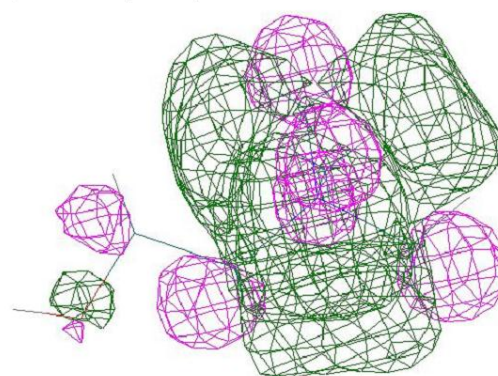


Рис. 15. Локалізація НВМО в молекулі холіну відбувається переважно на холіновому азоті (позначено синім) та суміжних метильних групах (позначено зеленим).

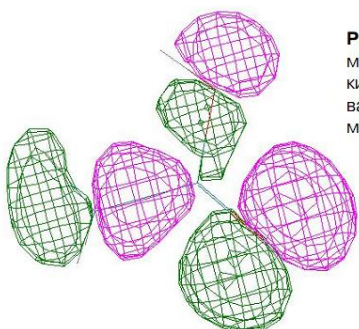


Рис. 12. ВЗМО в молекулі оцтової кислоти делокалізована між атомами молекули.

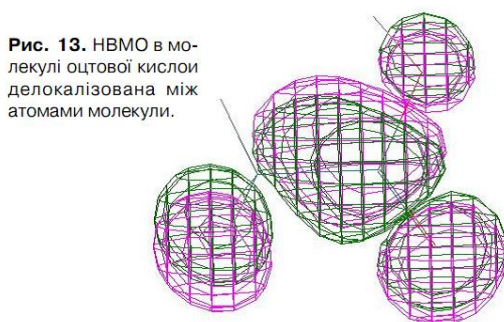


Рис. 13. НВМО в молекулі оцтової кислоти делокалізована між атомами молекули.

та ін., 1997]. Дипольний момент - характеристика електричних властивостей молекули, яка відображає асиметричність розподілу її електронної густини. Дипольний момент молекули ацетилхоліну, розрахований прийнятим в дослідженні методом, складає 192,5 дебай, холіну - 181 дебай, оцтової кислоти - 4,9 дебай. Така висока полярність молекул ацетилхоліну та холіну пояснюється наявністю четвертинного позитивно зарядженого азоту.

Позитивно заряджені ядра усіх атомів, що утворюють каркас молекули, у просторі оточені електронною хмарою. Ця негативно заряджена електронна хмара, в залежності від її наближення до ядра, має різну щільність [Грибов, Муштакова, 1999; Мороз та ін., 2006]. На рис. 7, 8, 9 показаний розподіл електронної щільності тільки зовнішніх валентних електронів молекул ацетилхоліну, холіну та оцтової кислоти. Саме валентні електрони приймають участь в утворенні комплексів або хімічній реакції. З рисунків видно, що найбільша електронна щільність оточує електронегативні атоми кисню і азоту, в меншій ступені - атоми вуглецю.

Метод граничних орбіталей, запропонований Н. Fukui (1952), визначає відносну реакційну активність сполук за енергією граничних молекулярних орбіта-

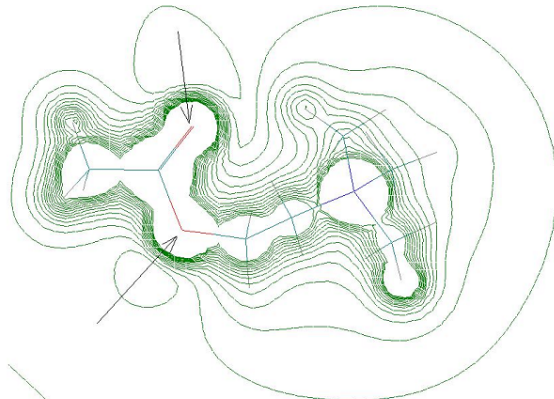


Рис. 16. Розподіл електростатичного потенціалу в молекулі ацетилхоліну. Стрілками позначено атоми кисню з найбільшим негативним електростатичним потенціалом.

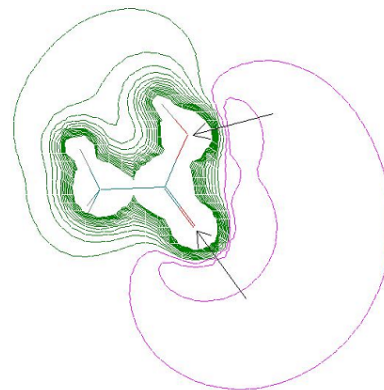


Рис. 17. Розподіл електростатичного потенціалу в молекулі оцтової кислоти. Стрілками позначено атоми кисню з найбільшим негативним електростатичним потенціалом.

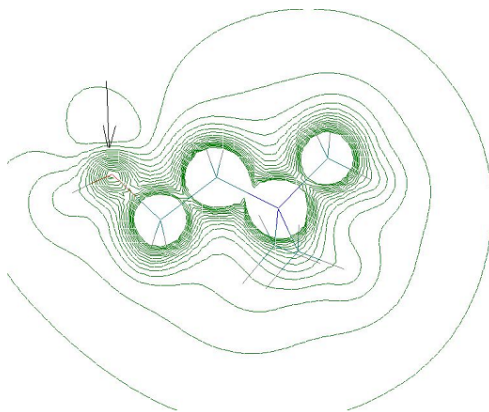


Рис. 18. Розподіл електростатичного потенціалу в молекулі холіну. Стрілками позначено атоми кисню з найбільшим негативним електростатичним потенціалом.

лей - вищої зайнятої (ВЗМО) і нижчої вільної (НВМО) [Дьюар, 1972; Кієр, 1970; Cruciani, 2005]. Чисельні значення енергії граничних орбіталей ацетилхоліну, холіну та оцтової кислоти наведені в табл. 1, а локалізація їх показана на рис. 10, 11, 12, 13, 14, 15.

ВЗМО зумовлює взаємодію молекули з електроноакцепторами, а НВМО - з електронодонорами. ВЗМО в молекулі ацетилхоліну охоплює ефірний атом кисню та ацетатний фрагмент. Локалізація НВМО відбувається переважно холіновому азоті та суміжних метильних групах. Цікаво, що подібний розподіл граничних орбіталей зберігається і для холіну. Отже, вказані атомні угруповання будуть визначати реакційну активність молекул при взаємодії з різноманітними лігандами.

Перераховані вище молекулярні дескриптори лише опосередковано характеризують особливості поверхні

потенційної енергії реагентів у ході хімічної реакції. У той же час побудова самої поверхні потенційної енергії є складним обчислювальним завданням і для багатомісних молекул навіть у грубому наближенні застосовується вкрай рідко. З 70-х років для вивчення специфічних міжмолекулярних взаємодій широко застосовується метод опису електростатичного потенціалу молекул, тому що в багатьох типах взаємодій (іонні, електро- і нуклеофільні реакції, утворення водневих зв'язків і донорно-акцепторних комплексів) головну роль грають електричні кулонівські взаємодії. Будь-яку молекулу можна представити як систему ядер з відповідним електронним розподілом в обмеженій області навколо ядер. Такій системі позитивних і негативних часток у навколишньому до молекули просторі буде відповідати електростатичне поле з певним потенціалом у кожній точці. Виходячи із цього, молекулярний електростатичний потенціал був визначений як енергія електростатичної взаємодії ядер і електронного розподілу молекули з позитивним точковим одиничним "пробним" зарядом, поміщеним у заданій точці навколишнього до молекули простору [Апостолова та ін., 1999]. Розподіл електростатичного потенціалу в молекулах ацетилхоліну, холіну та оцтової кислоти наведено на рис. 16, 17, 18.

Атоми, вказані стрілками, мають негативний електростатичний потенціал і здатні до протонування. Отже саме ці атоми можуть приймати участь у формуванні водневих зв'язків при взаємодії досліджених молекул з біолігандами, в тому числі і центрами зв'язування холінорецепторів [Bohacek et al., 1996].

На основі енергій ВЗМО і НВМО стає можливим розрахувати абсолютну жорсткість молекул ацетилхоліну, холіну та оцтової кислоти. Величина абсолютної жорсткості, згідно з теорією Пірсона [Апостолова та ін., 1999], лежить в основі принципу жорстких та м'яких

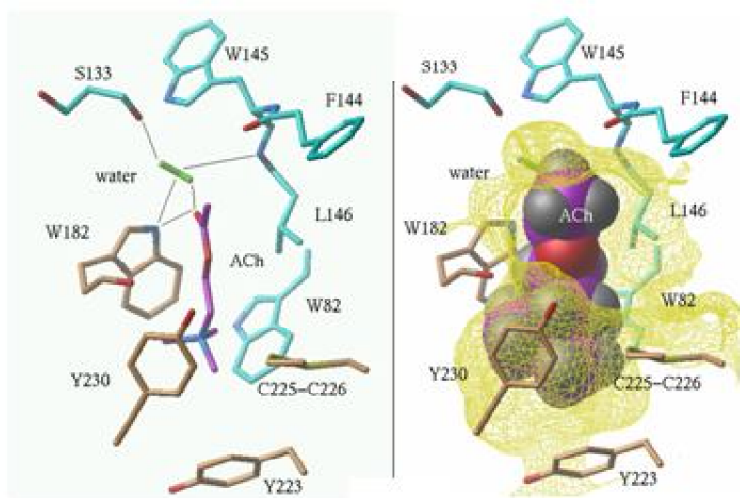


Рис. 19. Взаємодія ацетилхоліну (ACh) з центром зв'язування нікотинного рецептора, назви амінокислот наведені у вигляді латинських однолітерних скорочень - за даними Schapira M. [1999].

Таблиця 1. Енергетичні властивості молекул ацетилхоліну, холіну та оцтової кислоти.

	Ацетилхолін	Холін	Оцтова кислота
Енергія зв'язування, ккал/моль	-288518,875	-203797,9375	-142142,7030
Електронна енергія, ккал/моль	-673769	-425663	-217978
Енергія між'ядерної взаємодії, ккал/моль	375250,125	221865,218	75836,188
ВЗМО, еВ	-15,49885	-15,000000	-11,84913
НВМО, еВ	1,20274	1,06524	5,01405
Абсолютна жорсткість (η), еВ	8,35079	8,03262	8,43159
Дипольний момент по осі X, дебай	189,8577	-163,3767	-4,19705
Дипольний момент по осі Y, дебай	-29,3596	-74,9364	-2,60404
Дипольний момент по осі Z, дебай	12,2944	-21,3866	0,00000

кислот та основ, згідно з яким молекули реагують з такими сполуками, з якими вони мають однакову або близьку за значенням жорсткість. При цьому м'які реагенти переважно утворюють між собою ковалентні зв'язки, тоді як жорсткі реагенти - іонні. Енергія взаємодії буде збільшуватися зі зменшенням жорсткості, тобто м'яким реагентам енергетично більш вигідно вступати в хімічні реакції. Тому чим менше жорсткість реагента, тим вища його реакційна здатність.

Порівнюючи абсолютну жорсткість різних молекул (η , еВ): жорсткі реагенти VF_3 - 7,8 еВ, HCL - 8,0 еВ і м'які реагенти: CH_3J - 4,7 еВ, C_6H_6 - 5,2 еВ [Апостолова та ін., 1999], можна зробити висновок, що досліджені молекули (η - 8,35079; 8,03262; 8,43159 еВ) відносяться до жорстких реагентів, схильних до електростатичної взаємодії з біолігандами.

В літературі найбільш детально описана взаємодія ацетилхоліну з нікотинним холінорецептором [Brejcs et

al., 2001; Grutter et al., 2000; Lloyd, Williams, 2000; Schapira et al., 2002]. Методами рентгеноструктурного аналізу та мутагенетичних досліджень в роботах показано, що ацетилхолін утворює Ван-дер-Ваальсові зв'язки з триптофаном-182, тирозином-230, цистеїном-225 альфа-4-ланцюга та триптофаном-82, лейцином-146, фенілаланіном-144 бета-2-ланцюга нікотинного рецептора. Заряджений атом азоту просторово наближений до триптофану-182 альфа-4 ланцюга, карбонільний кисень ацетилхоліну утворює водневий зв'язок з лейцином-146 бета-2 ланцюга.

Також в центрі зв'язування нікотинного рецептора є полярна ділянка, яка вміщує молекулу води, координовану двома донорами водневого зв'язку - індольним азотом триптофану-182 альфа-4-ланцюга та амідним азотом лейцину-146 бета-2-ланцюга і одним акцептором водневого зв'язку - карбонільним киснем серину-133 бета-2-ланцюга. Ця молекула води утворює додатковий водневий зв'язок з ацетилхоліном, стабілізуючи його положення в центрі зв'язування нікотинного рецептора [Schapira et al., 2002; Walters, Stahl, 1998]. Дані літератури корелюють з результатами квантово-хімічних досліджень, які встановлені в проведених дослідженнях. Так, за розподілом зарядів ацетилхолін майже не відрізняється від холіну, що вказує на переважну роль неелектростатичної взаємодії ацетилхоліну з холінорецепторами, фізико-хімічні дослідження свідчать про наявність Ван-дер-Ваальсової взаємодії. Утворення водневого зв'язку карбонільним киснем ацетилхоліну пояснюється найбільшим негативним зарядом на цьому атомі та значним електростатичним потенціалом. Також стає зрозумілим, що холін не може бути стабілізований в центрі зв'язування нікотинного рецептора без ацетатного залишку оцтової кислоти, який утворює два водневих зв'язка. Природа зв'язку четвертинного азоту з холінорецепторами, описана як π -катіонна взаємодія [Zhong et al., 1998], потребує подаль-

ших фізико-хімічних, квантово-хімічних, а також фізіологічних досліджень.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Встановлені основні геометричні, енергетичні та електронні характеристики молекул ацетилхоліну, холіну та оцтової кислоти. Показано, що основними реакційними центрами молекул є атоми кисню та чет-

вертинний азот.

2. Досліджені речовини відносяться до жорстких реагентів.

3. Центром протонування та утворення водневих зв'язків в молекулі ацетилхоліну є атом кисню карбонільної групи.

Перспективним є подальше поглиблене вивчення властивостей молекул ацетилхоліну, холіну та оцтової кислоти.

Література

- Апостолова Е.С., Михайлюк А.И., Цирельсон В.Г. Квантово-химическое описание реакций. - М.: Издательский центр МОРФ, 1999. - 95 с.
- Введение в квантовую химию: Пер. с япон. / Под ред. С. Нагакуры, Т. Накадзими. - М.: Мир, 1982. - 264 с.
- Головенко М.Я. Фізико-хімічна фармакологія: Монографія. - Одеса: Астропринт, 2004. - 720 с.
- Грибов Л.А., Муштакова С.П. Квантовая химия: Учебник. - М.: Гардарики, 1999. - 390 с.
- Дьюар М. Теория молекулярных орбиталей в органической химии. - М.: Мир, 1972 -305 с.
- Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Новая волна, 2006 - С. 269 - 276.
- Минкин В.И., Симкин Б.Я., Миняев Р.М. Теория строения молекул. - Ростов-на-Дону: Феникс, 1997. - 560 с.
- Мороз А.С., Луцевич Д.Д., Яворська Л.П. Медична хімія. - Вінниця: Нова книга, 2006. - 776 с.
- Соловьев М.Е., Соловьев М.М. Компьютерная химия. - М.: Солон-пресс, 2005. - С.325
- Чекман И.С. Биохимическая фармакодинамика. - К.: Здоров'я, 1990. - 200 с.
- Чекман I.C., Бобков В.М., Загородний М.І. Особливості міжмолекулярної взаємодії серцево-судинних засобів з амінокислотами // Доповіді Національної академії наук України. - 2001. - №12. - С. 160-167.
- Bohacek R.S., McMartin C., Guida W.C. The art and practice of structure-based drug design: a molecular modeling perspective // Medicinal Research Reviews - 1996. - № 16. - P. 3-50.
- Cruciany G. Molecular interaction fields: Application in drug discovery and ADME prediction. - Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2005. - P. 185.
- Crystal structure of an ACh-binding protein reveals the ligand-binding domain of nicotinic receptors / K. Brejc, W.J. van Dijk, R.V. Klaassen et al. // Nature. - 2001. - Vol. 411. - P. 269-76.
- From ab initio quantum mechanics to molecular neurobiology: a cation-pi binding site in the nicotinic receptor / W. Zhong, J.P. Gallivan, Y. Zhang et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1998. - Vol. 95. - P. 12088-93.
- Kier L.B. Molecular orbital studies in chemical pharmacology. - Springer-Verlag, New-York, 1970. - P. 287.
- Lloyd G.K., Williams M. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors as novel drug targets // J. Pharmacol. Exp. Ther. - 2000. - Vol. 292. - P. 461-7.
- Photoaffinity labeling of Torpedo nicotinic receptor with the agonist [3H]DCTA: identification of amino acid residues which contribute to the binding of the ester moiety of acetylcholine / T. Grutter, L. Ehret-Sabatier, F. Kotzyba-Hibert, M. Goeldner // Biochemistry. - 2000. Vol. 39. - P. 3034-43.
- Schapira M., Abagyan R., Totrov M. Structural model of nicotinic acetylcholine receptor isotypes bound to acetylcholine and nicotine BMC // Structural Biol. - 2002. - Vol. 2, № 1. - P. 1315-21.
- Schapira M., Totrov M., Abagyan R. Prediction of the binding energy for small molecules, peptides and proteins // J. Mol. Recognit. - 1999. - Vol. 12. - P. 177-90.
- Walters W.P., Stahl M.T. Virtual Screening - An Overview // Drug Discovery today. - 1998. - № 3. - P.160-178.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОЙ СТРУКТУРЫ И КВАНТОВО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОЛЕКУЛ АЦЕТИЛХОЛИНА, ХОЛИНА И УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

Мороз В.М., Чекман И.С., Небесная Т.Ю.

Резюме. В статье описаны результаты исследований квантово-фармакологических свойств ацетилхолина, холина и уксусной кислоты. Рассчитаны основные геометрические, энергетические и электронные характеристики молекул. Рассмотрены особенности связывания ацетилхолина с никотиновым холинорецептором, а также основные электрофильные и нуклеофильные центры взаимодействия этого нейромедиатора с потенциальными биолгандами.

Ключевые слова: ацетилхолин, холин, оцтовая кислота, электростатический потенциал молекул.

QUANTUM-PHARMACOLOGICAL STUDY OF ACETYLCHOLINE, CHOLINE AND ACETIC ACID MOLECULES ELECTRONIC STRUCTURE

Moroz V.M., Checkman I.S., Nebesna T.Yu.

Summary. In the article results of quantum-pharmacological study of acetylcholine, choline and acetic acid are described. General geometric, energy and electronic parameters were calculated. Features of acetylcholine binding with nicotinic cholinergic receptor are discussed. Main electrophilic and nucleophilic centers of its neuromediator interaction with potential bioligands are analyzed.

Key words: acetylcholine, choline, acetic acid, molecular electrostatic potential.