

УДК 544.18.143

В.В.Соловьев, Т.Ю.Кузнецова

СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МОЛЕКУЛ ГЛУТАТИОНА И МЕЛАТОНИНА С ГИДРОКСИЛ-РАДИКАЛОМ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ НЕЭМПИРИЧЕСКИХ КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИХ РАСЧЕТОВ

Проведено сравнительное моделирование взаимодействия молекул глутатиона и мелатонина с гидроксил-радикалом по результатам неэмпирических квантово-химических расчетов. Установлен приоритет антирадикальной активности глутатиона в сравнении с мелатонином. Показано, что гидроксил-радикал стимулирует отрыв у молекул мелатонина и глутатиона “периферических” атомов водорода. Установлена инвариантность протекания таких реакций относительно концентрации гидроксил-радикала.

ВВЕДЕНИЕ. В окружающей среде содержится множество различных свободных радикалов (СР), которые, попадая в организм человека, вызывают повреждение белков, нуклеиновых кислот и липидов биологических мембран. Они обладают, в зависимости от ситуации, мутагенным, канцерогенным или цитостатическим действием на организм человека, что приводит к развитию в нем патологических изменений (канцерогенез, атеросклероз, хронические воспаления, нервные дегенеративные заболевания и др.) [1—3]. Поэтому для минимизации негативного воздействия свободных радикалов на организм человека в последнее время в практической медицине широко применяются антиоксиданты (бета-каротин, витамины С и Е, селен и др.) [4]. Особое место в их ряду занимают гормон эпифиза мелатонин (МЛТ) и трипептид глутатион (GSH), которые являются очень сильными антиоксидантами [4, 5].

Исключительная роль в антиоксидантной системе защиты организма принадлежит глутатиону. С red-oxi-реакциями, активностью и содержанием в тканях различных органов этого соединения связывают целый ряд патологий, таких как сахарный диабет, болезни Альцгеймера, Паркинсона и другие. Причем, согласно многим предположениям, это обусловлено перекисной модификацией поперечной сшивки, а также деградацией белковых макромолекул, в состав которых входит глутатион [6, 7]. Протекание таких преобразований белка происходит преимущественно благодаря обратимому окислению-восстановлению сульфгидрильной группы глутатиона.

В литературе [8—10] также широко обсуждаются антиоксидантные свойства гормона шишковидной железы мелатонина, активность которого сравнивают с активностью глутатиона, причем не в пользу последнего [11]. Такое заключение, на наш взгляд, является недостаточно корректным, поскольку в публикациях нет данных сравнительных исследований антиоксидантной активности этих соединений в одинаковых условиях и на молекулярном уровне.

С нашей точки зрения, достаточно корректно судить об антиоксидантной активности глутатиона и мелатонина можно на основании изучения реакций каталитического окисления этих соединений кислородом и его активными формами (АФК), при образовании последних *in vitro* в условиях, моделирующих “кислородный стресс” организма.

Вместе с тем исследование каталитического окисления *in vivo*, природных антиоксидантов, которое происходит под влиянием ферментов и ионов биометаллов переменной валентности, сопряжено с влиянием большого числа разнообразных взаимосвязанных процессов, стабилизация которых в условиях экспериментов на животных и даже на бактериях является весьма проблематичной. Очевидно, поэтому наблюдается непрерывное расширение круга исследований окислительных процессов *in vitro* с использованием различных физико-химических методов. Причем объектами таких исследований являются как экзогенные синтетические, так и природные эндогенные антиоксиданты, участвующие в системе защиты организма от “кислородного стресса” [12].

Возможность такого моделирования была установлена и успешно использована нами ранее [13]. Анализ полученных нами результатов электрохимических исследований мелатонина и глутатиона позволил сделать вывод о том, что глутатион и мелатонин проявляют антирадикальную активность, где глутатион значительно более активный антиоксидант, чем мелатонин. А стимуляция мелатонином иммунной системы организма скорее всего связана с его способностью проникать сквозь биомембраны. [14]. Проведенный нами анализ электрохимических результатов изучения влияния исследованных соединений на ионы двухвалентного железа, участвующие в образовании гидроксильных радикалов, показал, что глутатион, в отличие от мелатонина, действует как активный превентивный антиоксидант.

Полученные представления приближают к более глубокому пониманию механизма процессов, протекающих *in vivo* с участием глутатиона и мелатонина, однако не дают прямого ответа об антиоксидантной активности глутатиона и мелатонина. Поэтому представляется целесообразным изучение механизма взаимодействия этих антиоксидантов (МЛТ и GSH) с гидроксил-радикалом методами квантовой химии, что, на наш взгляд, позволяет на микроскопическом электронном уровне не только получить данные о положительном эффекте их применения, но и установить потенциальную значимость использования как лекарственных препаратов. Важным, с нашей точки зрения, также является перспективность квантово-химических расчетов для правильной передачи особенностей взаимодействия некоторых классов биологических молекул с целью научно обоснованного синтеза в дальнейшем химико-фармацевтических препаратов.

Цель работы — изучение механизма взаимодействия молекул мелатонина и глутатиона с гидроксил-радикалами на основании результатов квантово-химических расчетов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ И ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ. Изучение механизма взаимодействия МЛТ и GSH с гидроксил-радикалом проводили путем квантово-химических неэмпирических расчетов с применением пакета программ GAMESS (версия от 27 марта 2007года), с использованием гаусовских базисных наборо-

ров: в валентно-расщепленном базисе Хузинаги в неограниченном приближении Хартри–Фока–Рутана метода ССП МО ЛКАО [15], в данной работе применялась оптимизированная геометрия молекулы МЛТ [16], впервые установленная нами (рис. 1, а).

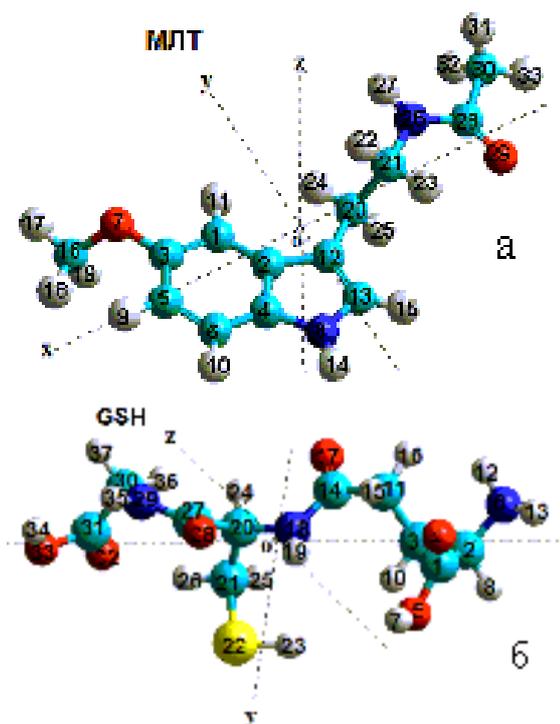


Рис. 1. Строение молекул мелатонина (а) и глутатиона (б).

Геометрическое и электронное строение молекулы глутатиона также устанавливали, как и для молекулы МЛТ, квантово-химически в неэмпирическом неограниченном приближении Хартри–Фока–Рутана метода ССП МО ЛКАО (рис. 1, б). В процессе вычисления использовали градиентную технику полной автоматической оптимизации геометрии объектов с одновременной сменой длины связей и углов до значения максимальной компоненты градиента 0.001. Из числа свободных радикалов объектом изучения был взят гидроксил-радикал ($\bullet\text{OH}$) с предварительно проведенной оптимизацией геометрического строения ($R_{(\bullet\text{OH})} = 0.0987$ нм [17]).

Для моделирования общих закономерностей антиоксидантных свойств глутатиона, по результатам поиска минимумов потенциальной энергии, отвечающих максимуму взаимодейст-

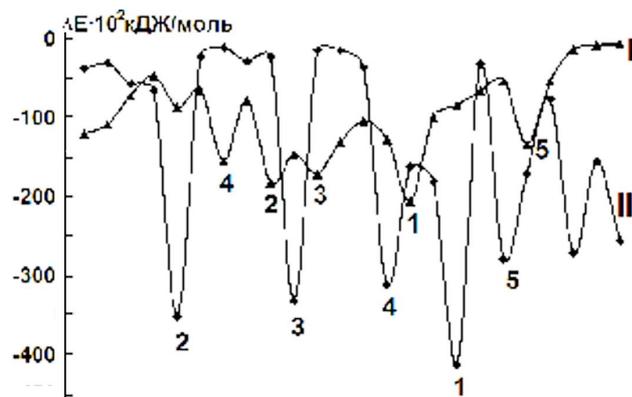


Рис. 2. Изменение величин энергии связи ΔE в положениях (1—5), отвечающих наиболее глубоким минимумам потенциальной энергии взаимодействия гидроксил-радикала с антиоксидантами мелатином (I) и глутатионом (II), при движении $\bullet\text{OH}$ вдоль координаты реакции.

вия гидроксил-радикала с молекулой GSH, нами было выделено 5 наиболее глубоких из 11 обнаруженных, что позволило определить основные “направления атаки” гидроксил-радикала на молекулу GSH (рис. 2). На рисунке представлены также значения энергии связей взаимодействий МЛТ...•OH для 5 наиболее глубоких минимумов из 16, обнаруженных нами ранее [17]. Такое наложение кривых для величин энергий связей взаимодействий GSH—•OH и МЛТ—•OH не только дает полную наглядность полу-

Т а б л и ц а 1

Изменение величин оптимизированных расстояний (ΔR) и порядков связей (ΔB_{ij}) между атомами при взаимодействии одного гидроксил-радикала с молекулами МЛТ и GSH (выборочные данные)

№ п/п	Молекула	Гидроксил-радикал	$\Delta R \cdot 10^{10}$, м	ΔB_{ij}	№ п/п	Молекула	Гидроксил-радикал	$\Delta R \cdot 10^{10}$, м	ΔB_{ij}
Взаимодействие МЛТ...•OH					Взаимодействие GSH...•OH				
1	МЛТ	C—H	3.332	-0.585	1	GSH	S—H	2.256	—
	CP	H—O	-0.012	-0.032	2	CP	H—O	-0.017	-0.014
2	МЛТ	C—H	3.561	-0.892	2	GSH	C—H	2.12	—
	CP	H—O	-0.010	-0.030	3	CP	H—O	-0.014	-0.018
3	МЛТ	N—H	0.961	-0.867	3	GSH	N—H	-0.046	-0.044
	CP	H—O	-0.017	-0.007	4	CP	H—O	0.005	-0.075
4	МЛТ	C—H	2.031	-0.863	4	GSH	C—H	-0.048	-0.046
	CP	H—O	-0.016	0.008	5	CP	H—O	0.001	-0.015
5	МЛТ	C—H	2.279	-0.751	5	GSH	C—H	-0.052	0.022
	CP	H—O	-0.016	-0.018		CP	H—O	0.013	-0.076

ченных результатов расчета для 5 наиболее глубоких минимумов этих взаимодействий (рис. 3), но и позволяет в первом приближении без проведения дополнительного анализа предположить более высокую антиоксидантную активность глутатиона, которая идентифицируется наличием более глубоких минимумов величин ΔE , превышающих аналогичные значения для взаимодействий МЛТ с $\bullet\text{OH}$ на 1.5—3 кДж/моль.

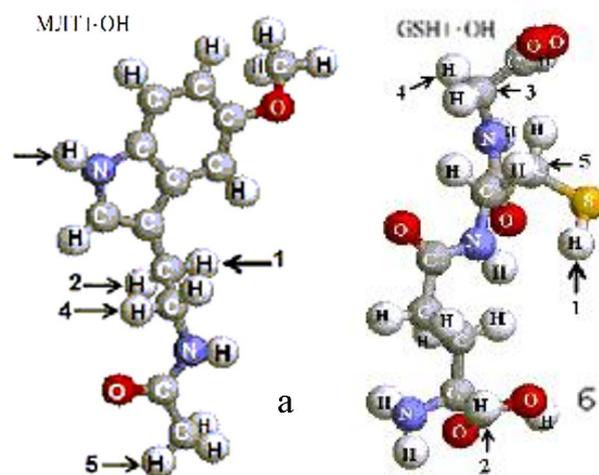


Рис. 3. Наиболее вероятные направления взаимодействия, отвечающие абсолютному (1) и локальным (2—5) минимумам энергии взаимодействия молекул антиоксидантов мелатонина (а) и глутатиона (б) с гидроксил-радикалом.

Сравнительный анализ результатов изменения величин порядков связей (B_{ij}) между “периферическими” атомами в молекулах МЛТ и GSH показал, что для всех пяти направлений взаимодействия $\bullet\text{OH}$ ослабляет “периферические” связи С–Н, N–Н молекулы МЛТ и С–Н, N–Н, S–Н молекулы глутатиона в 2–3 раза, а для положений 1 и 2 взаимодействия GSH– $\bullet\text{OH}$ наблюдается, по данным расчета, вообще разрыв связей S–Н или С–Н с образованием молекулы воды, подтверждая тем самым наличие более сильных антиоксидантных свойств молекулы GSH в сравнении с молекулой МЛТ (табл. 1).

Вместе с тем представленный выше анализ был произведен для моделирования взаимодействия каждой из молекул МЛТ и GSH только с одним гидроксил-радикалом. Этот результат, в сочетании с утверждением об особой роли GSH в антиоксидантной защите организма [7], вызванной red-oxi-реакциями, происходящими в различных органах человека благодаря эффекту обратимости red-oxi сульфгидрильной группы глутатиона, влияющему на протекание таких болезней, как сахарный диабет, болезнь Альцгеймера, Паркинсона и других [18], стимулирует расширение направленности моделирования. Поэтому для приближения результатов расчета к реальным условиям взаимодействия молекул мелатонина и глутатиона с гидроксил-радикалом в организме человека и моделирования ситуации изменения концентрации гидроксил-радикала относительно молекул МЛТ и GSH нами был предпринят расчет взаимодействия молекул антиоксидантов одновременно с пятью гидроксил-радикалами в местах, которые соответствуют положениям минимумов энергии взаимодействия молекул МЛТ и GSH со свободным радикалом (рис. 4).

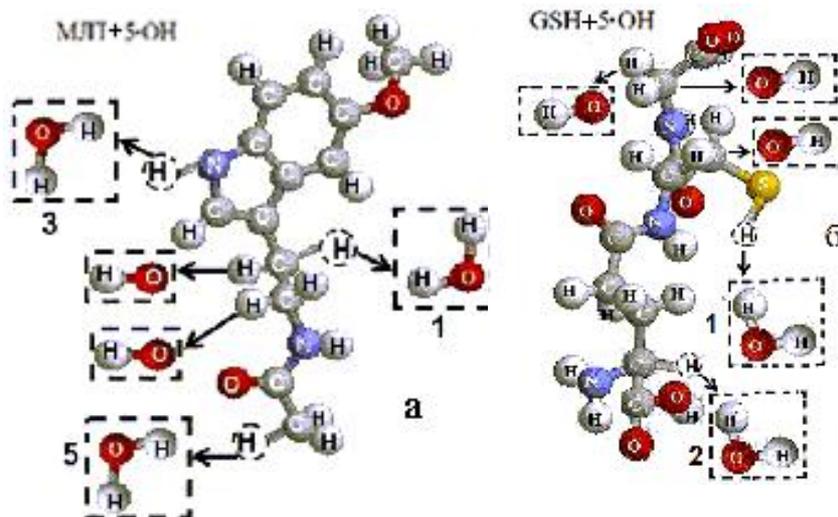


Рис. 4. Концептуальная схема взаимодействия пяти гидроксил-радикалов с молекулами антиоксидантов мелатонина (а) и глутатиона (б).

Т а б л и ц а 2

Изменение величин оптимизированных расстояний (ΔR) и порядков связей (ΔB_{ij}) между атомами при взаимодействии молекул мелатонина и глутатиона с гидроксил-радикалами (выборочные данные)

№ п/п	Гидроксил-радикал	$\Delta R \cdot 10^{10}$, м	ΔB_{ij}	№ п/п	Гидроксил-радикал	$\Delta R \cdot 10^{10}$, м	ΔB_{ij}
Взаимодействие МЛТ.... $\bullet\text{OH}$				Взаимодействие GSH.... $\bullet\text{OH}$			
1	С–Н	1.702	–0.521	1	S–Н	0.673	–0.883
2	С–Н	–0.011	–0.061	2	С–Н	1.694	—
3	N–Н	1.039	–0.847	3	N–Н	0.342	–0.161
4	С–Н	0.008	–0.037	4	С–Н	–0.050	0.027
5	С–Н	1.027	–0.774	5	С–Н	–0.062	0.036

Анализ данных табл. 2 показывает, что взаимодействие одновременно пяти гидроксил-радикалов с молекулой GSH также способствует ослаблению, однако более “мягкому”, “периферических” связей С–Н и S–Н антиоксиданта в положениях 1 и 2, которое, по-видимому, вызвано особой ролью сульфгидрильной группы GSH в антиоксидантной и антирадикальной защите организма человека [7].

Для всех направлений взаимодействия $\bullet\text{OH}$ с молекулой МЛТ наблюдается существенное, но не одинаковое, ослабление связей в положениях 2,4 на фоне сильного ослабления (~9–10 раз) в положениях 1,3,5, инициирующее отрыв трех атомов водорода.

ВЫВОДЫ. Таким образом, главным результатом сравнительного моделирования взаимодействия гидроксил-радикала с молекулами МЛТ и GSH следует считать наличие существенных антиоксидантных свойств мелатонина и глутатиона, больших естественно у глутатиона, которые проявляются в ослаблении “периферических” связей атомов по основным направлениям взаимодействия, отвечающим наиболее глубоким минимумам потенциальной энергии.

Предложенная концептуальная схема изменения межатомных связей между “периферическими” атомами антиоксидантов под воздействием свободного радикала •ОН позволила установить наиболее вероятные активные центры в протекании red-oxi-реакций, обуславливающие антиоксидантную активность МЛТ и GSH.

На основании результатов квантово-химического моделирования взаимодействия молекул мелатонина и глутатиона с гидроксил-радикалом найден микроскопический механизм антирадикальной активности этих молекул, позволивший установить приоритет антирадикальной активности GSH в сравнении с таковым для МЛТ, вызванный разрывом “периферических” связей C–H и S–H в молекуле глутатиона.

Моделирование эффекта увеличения концентрации гидроксил-радикала относительно молекул GSH и МЛТ (5:1) принципиально не меняет обнаруженный механизм, что указывает на инвариантность протекания таких реакций относительно концентрации свободных радикалов.

РЕЗЮМЕ. Проведено порівняльне моделювання взаємодії молекул глутатіону і мелатоніну з гідроксил-радикалом за результатами неемпіричних квантово-хімічних розрахунків. Встановлено пріоритет антирадикальної активності глутатіону в порівнянні з мелатоніном. Показано, що гідроксил-радикал стимулює відрив у молекул мелатоніну і глутатіону “периферичних” атомів водню. Встановлено інваріантність протікання таких реакцій щодо концентрації гідроксил-радикала.

SUMMARY. Comparative modeling of the interaction of molecules of glutathione and melatonin hydroxyl-radical conducted on the results of ab initio quantum chemical calculations. Priority antiradical activity of glutathione as compared to melatonin is installed. In the molecules of melatonin and glutathione showed that the hydroxyl radical stimulates the “peripheral” breaking of the hydrogen atoms. The invariance of the flow of such reactions on the concentration of the hydroxyl-radical is installed.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Прайор У.* Свободные радикалы в биологии / Под ред. акад. Н.М.Эммануэля, пер. В.И.Найдич. -М.: Мир, 1979.
2. *Оситов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А.* // Успехи биол. химии. -1990. -**31**.-С. 180—208.
3. *Каган В.Е., Сербинова Е.А., Минин А.А.* // Биохимия. -1985. -**50**, № 6. -С. 986—991.
4. *Анисимов В.Н., Прокопенко В.М., Хавинсон В.Х.* // Докл. РАН. -1995. -**343**, № 4. -С. 557—559.
5. *Арушанян Э.Б.* // Эксперим. и клин. фармакология. -1992. -**55**, № 5. -С. 72—77.
6. *Чеснокова Н.П.* // Успехи соврем. естествознания. -2006. -№ 7. -С. 29—41.
7. *Hothorn M.* // J.Biological Chem. -2006. -**281**. -P. 57—65.
8. *Кветная Т.В.* Мелатонин: Роль и значение в возрастной патологии / Под ред. В.Х.Хавинсона. -СПб.: ВМЕДА, 2003.
9. *Анисимов В.Н., Виноградова И.А.* // Вопросы онкологии. -2006. -**53**, № 5. -С. 491—498.
10. *Левин Я.И.* // Рус. мед. журн. -2007. -№ 24. -С. 1851—1855.
11. *Russel J.* // News Physiol. Sci. -2000. -**15**.-P. 246—250.
12. *Беленичев И.Ф.* // Соврем. проблемы токсикологии. -2003. -№ 2. -С. 2—16.
13. *Шаповал Г.С., Кузнецова Т.Ю., Соловйов В.В.* // Доп. НАН України. -2009. -№ 9. -С. 159—164.
14. *Комаров Ф.И., Рапопорт С.И., Малиновская Н.К.* Мелатонин в норме и патологии. -М.: Медпрактика, 2004.
15. *Granovsky A.A.* PC GAMESS / Firefly version 7.1. [Electronic resource]. -Access mode //http://clas_sic.chem.msu.su/gran/games /index.html
16. *Соловьев В.В., Кузнецова Т.Ю.* // Сб. материалов междунаро. научно-техн. конф. “Перспективные разработки науки и техники”. -Белгород, 2004. -С. 51—55.
17. *Соловьев В.В., Кузнецова Т.Ю.* // Вісн. КДПУ ім. М.Остроградського. -2007. -Вип. 6, ч. 1. -С. 129—131.
18. *Бачурин С.О.* // Вопросы мед. химии. -2001. -№ 2. -С. 11—25.