



УДК 577.311*7.042:547.341.022:539.193

КОНФОРМАЦИОННЫЕ РАЗЛИЧИЯ ПРИ СОРБЦИИ ХОЛИНОВЫХ ЛИГАНДОВ В АКТИВНОМ ЦЕНТРЕ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ

© 1995 г. Н. Н. Шестакова*, Е. В. Розенгарт

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
194223, Санкт-Петербург, просп. Мориса Тореза, 44

Поступила в редакцию 10.05.94 г. После доработки 18.07.94 г.

Методом молекулярной механики рассчитаны все устойчивые конформеры ацетилхолина, ацетилтиохолина, а также R_p - и S_p -энантиомеров тиохолинсодержащего фосфорорганического ингибитора ацетилхолинэстеразы $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}(\text{CH}_3)\text{P}(\text{O})\text{SCH}_2\text{CH}_2\overset{\oplus}{\text{N}}(\text{CH}_3)_3$. Для устойчивых конформеров определены заселенность и расстояния между функциональными атомами, а в случае ингибиторов – доступность атома фосфора для взаимодействия с гидроксильной группой остатка Ser^{200} . Предложена компьютерная модель продуктивной сорбции ацетилхолина, предполагающая контакт в активном центре с гидроксильной группой остатка Ser^{200} и группировкой – донором водородной связи, а также с триметиламмониевым сорбционным участком. У исследованных фосфорорганических ингибиторов не обнаружено ни одного устойчивого конформера, который был бы комплементарен месту сорбции субстрата; холиновая головка молекулы ингибитора не может сорбироваться на триметиламмониевом участке активного центра. В рамках модели дано объяснение стереоспецифичности исследованных энантиомеров фосфорорганического ингибитора.

Ключевые слова: теоретический конформационный анализ, ацетилхолинэстераза, конформационно-функциональные отношения, продуктивная сорбция.

Ацетилхолинэстераза (КФ 3.1.1.7) – фермент, принадлежащий к классу сериновых гидролаз, играет ключевую роль в передаче нервного импульса в холинергических синапсах [1].

В настоящее время известны первичные последовательности молекул ацетилхолинэстераз из различных источников [2]. Проведен рентгеноструктурный анализ кристаллов ацетилхолинэстераз из *Torpedo californica* [3]. Новую важную информацию дали исследования конформационно-функциональных отношений холиновых субстратов фермента [4, 5]. Определение в качестве продуктивной *транс-транс-транс*-конформации ацетилхолина делает строго детерминированным место сорбции триметиламмониевой группы относительно гидроксильной группы остатка Ser^{200} в активном центре ацетилхолинэстеразы. Для продуктивно сорбированной молекулы ацетилхолина было выявлено расположение в активном центре специфических областей существенного и исключенного объемов, локализованных в направлениях соответственно R - и S -энантиотопных H -атомов α - и β -метиленовых групп холинового фрагмента продуктивно сорбированного субстрата. Эти предположения согласуются с данными рентгеноструктурного анализа [3].

Среди специфических эффекторов ацетилхолинэстеразы важное место занимают фосфорорганические ингибиторы (ФОИ), причем наиболее активны ингибиторы, содержащие в качестве отщепляемой части молекулы холиновую группировку [6]. Необратимое торможение ферментативной активности связано с фосфорилированием гидроксильной группы Ser^{200} , что качественно сходно с процессом ацилирования при взаимодействии ацетилхолинэстеразы с субстратами [1]. Это дает формальное право считать ФОИ квази-субстратами. Однако между карбоновыми и фосфорными эфирами холина существуют стереохимические различия. Известно, что при гидролизе под действием ацетилхолинэстеразы эфиров карбоновых кислот атака гидроксилом серина происходит перпендикулярно плоскости, в которой расположены атомы планарной ацильной группы. У ФОИ атом P имеет тетраэдрическую конфигурацию, атака со стороны фермента происходит по линии, проходящей через центр атома фосфора и являющейся продолжением рвущейся связи [6 - 8]. Таким образом, в промежуточном фермент-ингибиторном комплексе при фосфорилировании атом O^γ гидроксильной группы остатка Ser^{200} и атомы P и S молекулы ФОИ располагаются на одной прямой. Еще в 1964 г. было высказано предположение, что ориентация анионного и эстеразного

* Автор для переписки.

участков в активном центре холинэстераз для холиновых субстратов и ингибиторов должна быть различна [9]. Позже эта идея формулировалась в виде гипотетического "подвижного анионного участка" в активном центре ацетилхолинэстеразы [10]. До сих пор вопрос о том, имеются ли различия при продуктивной сорбции в активном центре ацетилхолинэстеразы молекул субстратов и необратимых ФОИ с холиновой отщепляющейся группировкой, не подвергался строгому структурному исследованию.

В настоящей работе был проведен сравнительный конформационный анализ ацетилхолина, ацетилтиохолина, R_p - и S_p -энантиомеров тиохолинсодержащего ФОИ $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}(\text{CH}_3)\text{P}(\text{O})\text{SCH}_2\text{CH}_2\overset{\oplus}{\text{N}}(\text{CH}_3)_3$. Предложена гипотетическая модель места продуктивной сорбции *транс-транс-транс*-конформера ацетилхолина в активном центре ацетилхолинэстеразы, для размещения энергетически устойчивых конформеров субстратов и ФОИ.

МЕТОДЫ РАСЧЕТОВ

Теоретический конформационный анализ проводили методом молекулярной механики с помощью универсальной конформационной программы [11]. Устойчивые конформации рассчитывали путем минимизации энергии с варьированием значений торсионных и валентных углов при постоянных длинах связей. Конформационную энергию представляли как сумму невалентных и торсионных взаимодействий и энергии деформации валентных углов. Электростатические взаимодействия не учитывали, поскольку они весьма слабо влияют на конформационные возможности ацетилхолина и ФОИ данного типа [5, 8]. Для расчета энергии невалентных взаимодействий использованы потенциалы, описанные в работе [12]. Параметры невалентных взаимодействий атома P взяты из работы [13]. Для длин связей приняты значения (Å): $l_{P-S} = 2.14$, $l_{S-C} = 1.78$, $l_{P-O} = 1.65$, $l_{P-C} = 1.76$, $l_{P-C} = 1.87$, $l_{N-C} = 1.47$, $l_{O-C} = 1.43$, $l_{C-C} = 1.54$, $l_{C-H} = 1.07$. При расчете торсионной энергии $E_{\text{торс}} = \sum V_T / 2(1 + \cos 3\tau)$ использованы следующие значения барьеров вращения V_T (ккал/моль): $V_{P-S} = 2.0$, $V_{P-O} = 1.0$, $V_{N-C} = 3.0$, $V_{P-C} = 3.4$, $V_{S-C} = 2.0$, $V_{O-C} = 1.0$, $V_{C-C} = 3.0$. Энергию деформации валентных углов $E_{\text{угл}} = \sum K_a(\theta - \theta_0)^2$ рассчитывали со следующими величинами силовых постоянных K_a (ккал моль⁻¹ рад⁻²): $K_P = 100$, $K_O = 90$, $K_C = 100$ при равновесном значении валентных углов θ_0 (град): для P, C_{sp³}, O и N⁺ – 109.5, для C_{sp²} – 120, для S – 100. Вероятность существования конформера в общей совокупности всех конформаций соединения определяли как заселенность (p, %) [4].

При построении моделей комплексов фермент–субстрат и фермент–ингибитор учитывали направление атаки гидроксильной группы остатка серина на центральные атомы C (субстрат) и P (ФОИ) [8, 14], а также направление водородных связей, образованных в активном центре карбонильным атомом O (в случае субстратов) или фосфорильным атомом O (в случае ингибиторов). Положение донора водородной связи определяли по ориентации неподеленной электронной пары атома O: у карбонильного атома O неподеленная пара находится в одной плоскости с атомами ацильной группы и под углом 120° к двойной связи, у фосфорильного атома O наиболее вероятным расположением неподеленной пары является боковая поверхность конуса вращения, ось которого представляет собой продолжение двойной связи, а угол при вершине равен 60°.

Для построения модели места связывания триметиламмониевой группировки по продуктивной *транс-транс-транс*-конформации ацетилхолина был использован принцип создания контактной оболочки из фиктивных атомов вокруг водородных атомов его метильных групп. Контактная оболочка атома H, связанного с атомом C, изначально содержала 6 атомов H, расположенных на расстоянии 2.4 Å от центрального атома H. Центры первых пяти атомов распределялись равномерно по направляющей конуса, вершина которого – атом H, высота – продолжение связи C–H, а угол между высотой и образующей равен 60°. Шестой атом H контактной оболочки располагали на продолжении связи C–H. В случае пересечения атомов оболочки между собой или с атомами ацетилхолина мешающие атомы оболочки вытеснялись [15].

Доступность атома P для взаимодействия с гидроксильной группой остатка Ser²⁰⁰ фермента оценивали по методу, описанному в работах [7, 8].

Расстояния между местами локализации атомов N⁺ у ацетилхолина и ФОИ при условии, что они продуктивно сорбированы в активном центре ацетилхолинэстеразы, т.е. центральные атомы C (ацетилхолин) или P (ФОИ) находятся в зоне атаки атомом O^y гидроксильной группы остатка Ser²⁰⁰, а карбоксильный (ацетилхолин) и фосфорильный (ФОИ) атомы O могут образовывать водородную связь, определяли как расстояние между точками в единой системе координат по формуле

$$\Delta R = [(x_0 - x_i)^2 + (y_0 - y_i)^2 + (z_0 - z_i)^2]^{1/2},$$

где x_0, y_0, z_0 и x_i, y_i, z_i – координаты атома N⁺ у *транс-транс-транс*-конформации ацетилхолина и у ФОИ соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Было проведено построение модели участка продуктивной сорбции ацетилхолина в активном центре ацетилхолинэстеразы (рис. 1). Для этого триметиламмониевая группировка *транс-транс-транс*-конформера ацетилхолина была окружена оболочкой из фиктивных Н-атомов, имитирующих место сорбции этой группы; атом O^γ остатка Ser²⁰⁰ помещен перпендикулярно плоскости, в которой расположены атомы ацильной группы ацетилхолина; атом, имитирующий донор водородной связи, расположен в зоне возможного образования водородной связи с карбонильным атомом O. Из двух возможных противоположных положений гидроксильной группы остатка Ser²⁰⁰ было выбрано то, которое совпало с расположением R-энантиотопных атомов водорода α- и β-метиленовых групп, поскольку здесь расположена область существенного объема фермента относительно продуктивно сорбированной молекулы ацетилхолина, в противоположном направлении располагается область исключенного объема фермента [7, 8].

Для более адекватного сравнения ацетилхолина и тиохолинсодержащих ФОИ был проведен конформационный расчет молекулы ацетилтиохолина. Результаты расчета, совпавшие с выводами работы [16], показали конформационную аналогию между ацетилхолином и ацетилтиохолином: поскольку *транс*-конформация фрагмента C-S-C(O)-S-C также имеет существенное энергетическое преимущество перед *цис*-формой, устойчивые конформации ацетилтиохолина определяются значением двух торсионных углов:

C-S-C-C и S-C-C-N⁺. Как и в случае ацетилхолина, у тиоаналога возможны семь устойчивых конформеров. При замене эфирного атома O на атом S из-за большего атомного радиуса и изменения величины валентного угла расстояния между атомами N⁺ и карбонильными атомами C и O увеличились соответственно на 0.1 и 0.2 Å и в *транс-транс*-конформации стали равны 5.2 Å. Как видно из рис. 2, полностью вытянутая конформация ацетилтиохолина комплементарна субстратному ложу в активном центре ацетилхолинэстеразы.

Для упрощения конформационного анализа ФОИ в табл. 1 - 3 приведены данные по расчету модельного соединения, где радикалы в фосфорильной части заменены метильными группами (CH₃)₂P(O)SCH₂CH₂N⁺(CH₃)₃. Поиск устойчивых конформеров у модельного соединения проводился при варьировании значений трех торсионных углов: C-P-S-C, P-S-C-C и S-C-C-N⁺. Расчеты показали (табл. 1) существование 12 устойчивых конформеров. Наиболее вероятны конформеры,

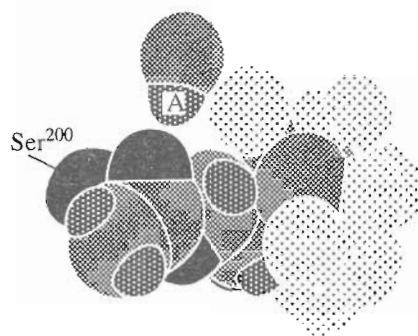


Рис. 1. Компьютерная модель участка продуктивной сорбции ацетилхолина в активном центре ацетилхолинэстеразы: триметиламмониевая группа окружена фиктивными атомами, имитирующими локализацию триметиламмониевого участка фермента; атом А выполняет роль донора водородной связи в зоне возможного образования водородной связи с карбонильным атомом O; O^γ гидроксильной группы остатка Ser²⁰⁰ находится за плоскостью рисунка и закрыт карбонильным атомом С.

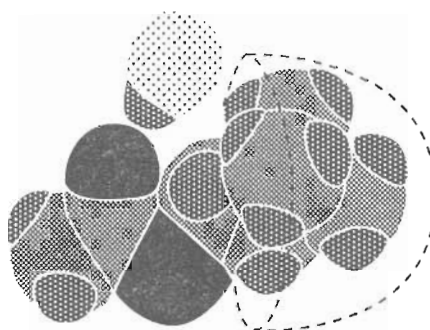


Рис. 2. *транс-транс-транс*-Конформер ацетилтиохолина, помещенный в компьютерную модель участка продуктивной сорбции ацетилхолина в активном центре ацетилхолинэстеразы (см. рис. 1).

у которых фрагмент P-S-C-C-N⁺ находится в полностью вытянутой *транс-транс*-конформации, их суммарная заселенность равна 95%. Не было выявлено какого-либо преимущественного положения фосфорильной группы по фрагменту

Таблица 1. Энергия (E, ккал/моль) и заселенность (p, %) устойчивых конформаций модельного соединения (CH₃)₂P(O)SCH₂CH₂N(CH₃)₃

Параметр	τ ₁	τ ₂ τ ₃								
		gg	gt	gg ⁻	tg	tt	tg ⁻	g ⁻ g	g ⁻ t	g ⁻ g ⁻
E	g	нк	2.9	нк	3.1	0.6	3.3	нк	нк	нк
p	g	0.0	0.5	0.0	0.4	24.2	0.3	0.0	0.0	0.0
E	t	нк	3.1	нк	2.6	0.0	2.5	нк	2.4	нк
p	t	0.0	0.4	0.0	0.9	60.5	1.1	0.0	1.2	0.0
E	g ⁻	нк	нк	нк	3.9	1.1	3.8	нк	нк	нк
p	g ⁻	0	0.0	0.0	0.1	10.3	0.1	0.0	0.0	0.0

Примечание. τ₁, τ₂ и τ₃ – торсионные углы фрагментов: C-P(O)-S-C-C, P(O)-S-C-C и S-C-C-N⁺ соответственно. нк – неустойчивая конформация. Обозначения конформаций: g – *гош*; t – *транс*; g⁻ – *антигош*.

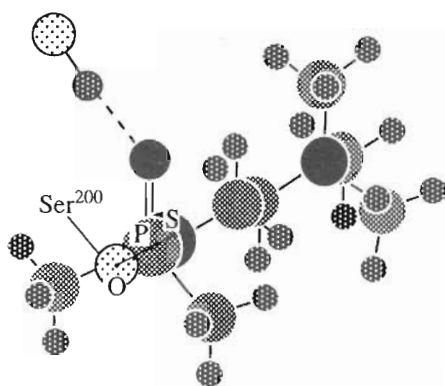


Рис. 3. Принцип построения модели необратимого комплекса ФОИ–ацетилхолинэстеразы: молекула ФОИ расположена таким образом, что атомы $O\gamma$ гидроксильной группы остатка Ser²⁰⁰, P и S находятся на одной прямой; фосфорильный атом O – в зоне наиболее вероятного образования Н-связи.

C–P–S–C. Как видно из табл. 2, у *транс-транс-транс*- и *гош-транс-транс*-конформеров модельного ФОИ расстояния между функционально значимыми атомами P и $\overset{+}{N}$ и фосфорильным O и $\overset{+}{N}$ равны 5.1 Å, т.е. практически такие же, как между атомами $\overset{+}{N}$ и карбонильными атомами C и O в *транс-транс-транс*-конформерах ацетилхолина и ацетилтиохолина.

Таблица 2. Расстояния (Å) между атомом $\overset{+}{N}$ и функциональными атомами (X) в устойчивых конформациях модельного соединения $(CH_3)_2P(O)SCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3$ (обозначения см. табл. 1)

X	τ_1	$\tau_2\tau_3$								
		gg	gt	gg ⁻	tg	tt	tg ⁻	g ⁻ g	g ⁻ t	g ⁻ g ⁻
p	g	нк	4.6	нк	4.6	5.1	4.7	нк	нк	нк
	t	»	4.5	»	4.6	5.1	4.6	»	4.6	»
	g ⁻	»	нк	»	4.7	5.1	4.6	»	нк	»
O	g	»	4.0	»	5.3	5.1	4.9	»	»	»
	t	»	4.3	»	4.8	5.1	5.4	»	4.1	»
	g ⁻	»	нк	»	5.6	6.4	5.8	»	нк	»

Таблица 3. Расстояния (Å) от атома $\overset{+}{N}$ конформера ФОИ с продуктивно сорбированной в эстеразном центре фосфорильной группой до места сорбции атома $\overset{+}{N}$ субстрата в триметиламмониевом участке активного центра АХЭ (обозначения см. табл. 1)

τ_1	$\tau_2\tau_3$								
	gg	gt	gg ⁻	tg	tt	tg ⁻	g ⁻ g	g ⁻ t	g ⁻ g ⁻
g	нк	5.3	нк	4.1	4.7	6.1	нк	нк	нк
t	»	7.7	»	6.0	7.4	7.3	»	7.0	»
g ⁻	»	нк	»	8.2	7.0	5.2	»	нк	»

Модели устойчивых конформеров ФОИ помещали в компьютерную модель активного центра фермента, так, чтобы атомы $O\gamma$ остатка Ser²⁰⁰, P и S ФОИ находились на одной прямой. Принцип такого построения проиллюстрирован на рис. 3. На рис. 4 все устойчивые конформеры даны в одной проекции, когда плоскость рисунка перпендикулярна линии атаки, при этом атом S заслоняет атом P, который в свою очередь заслоняет атом $O\gamma$ остатка Ser²⁰⁰. Видно, что ни в одной из устойчивых конформаций триметиламмониевая группировка ФОИ не попадает в область сорбции такой же группировки субстрата.

Для оценки степени удаления атома $\overset{+}{N}$ у сорбированных ФОИ от “триметиламмониевого участка” места продуктивной сорбции ацетилхолина

были определены декартовы координаты атома $\overset{+}{N}$ у продуктивного конформера ацетилтиохолина и у всех устойчивых конформаций ФОИ в единой системе координат, связанной с функциональными группами в активном центре фермента и предполагающей продуктивную сорбцию фосфорильной группы молекулы эффектора. Начало системы координат помещали в центр карбонильного атома C или P, ось абсциссов совмещали с направлением атаки $O\gamma$ остатка Ser²⁰⁰, а карбонильный или фосфорильный атом O располагали в плоскости XY. Примечательно, что при такой ориентации системы координат четыре атома ацильной группы ацетилтиохолина (метильный и карбонильный C, эфирный и карбонильный O) не выходят из плоскости XY, поскольку структура этой группы близка к планарной. Для холиновых субстратов было обнаружено строго детермини-

рованное положение атома $\overset{+}{N}$ в активном центре ацетилхолинэстеразы [4, 5]. Из 24 триметиламмониевых субстратов гидролизуются только имеющие устойчивые конформеры, совместимые по расположению ацильной и аммониевых группировок с продуктивной конформацией ацетилхолина. Степень такого подобия чрезвычайно высока:

различие в расстояниях между атомом $\overset{+}{N}$ и карбонильными атомами C и O у продуктивных конформеров не превышало 0.2 Å. В случае ФОИ существенно, что при таком выборе системы координат атом S расположен на оси абсцисс. Результаты расчетов (табл. 3) показывают, что у каждого конформера ФОИ атом $\overset{+}{N}$ отстоит от места фиксации атома $\overset{+}{N}$ субстрата в триметиламмониевом сорбционном участке более чем на 4.0 Å. При этом у *гош-транс-транс*- и *транс-транс-транс*-конформеров ФОИ с расстояниями между функциональными атомами такими же, как у продуктивного *транс-транс-транс*-конформера

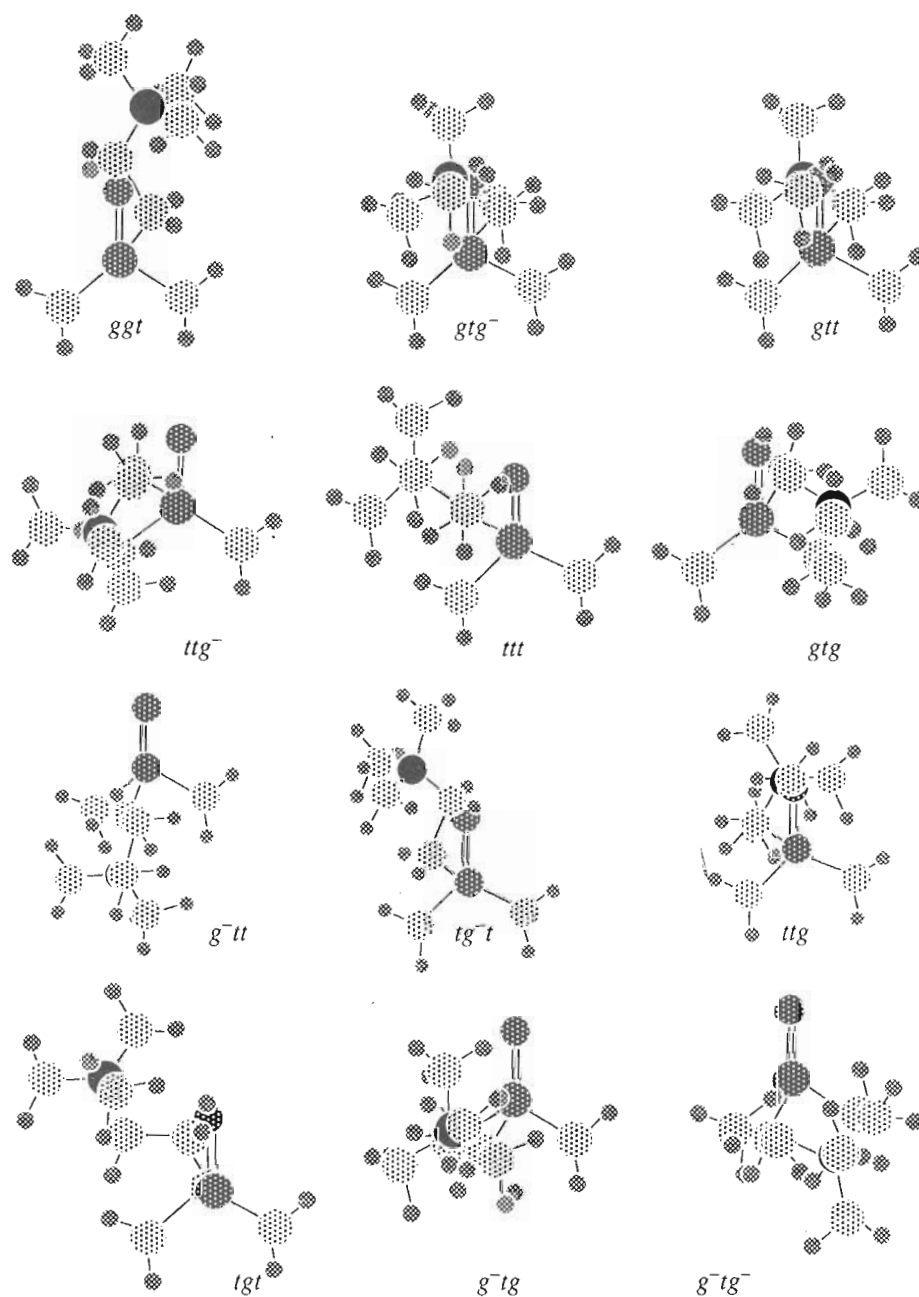


Рис. 4. Устойчивые конформеры модельного ФОИ. Плоскость рисунка проходит перпендикулярно разрываемой связи P-S. Атом S заслоняет атом P, который в свою очередь заслоняет атом O^γ остатка Ser²⁰⁰.

ацетилтиохолина, эта величина равна соответственно 4.7 и 7.4 Å.

Полный расчет *R*- и *S*-изомеров молекулы ФОИ показал, что конформационные свойства тиохолинового фрагмента остались такими же, как и у модельного соединения. Поиск устойчивых конформеров проводился при варьировании значений 5 торсионных углов, в качестве начальных приближений использованы 243 комбинации значений этих углов. Было выявлено 162 устойчивых конформера. Для каждого конформера

была определена доступность атома P для подхода атакующего нуклеофила со стороны, противоположной разрываемой сложноэфирной связи. Доля конформеров с незаслоненным подходом к атому P в реакции нуклеофильного замещения у обоих энантиомеров составляет 24%. Все устойчивые конформеры с незаслоненным атомом P помещали в модель активного центра ацетилхолинэстеразы. Проведенный анализ показал, что у этих соединений также нет устойчивых конформеров, комплементарных субстратному сорбционному участку.

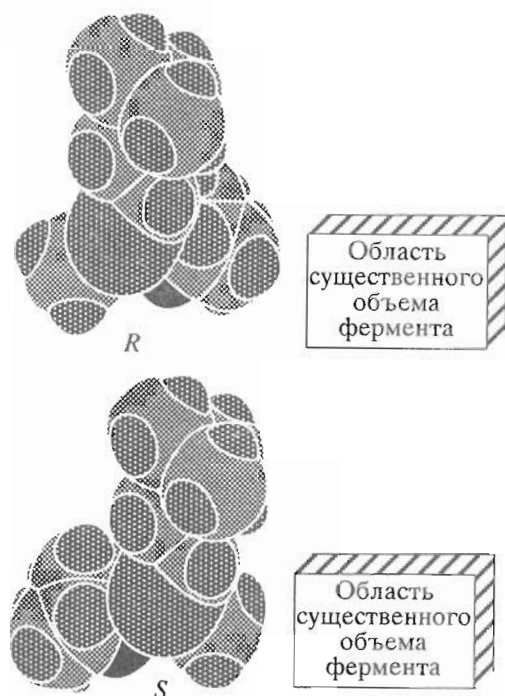
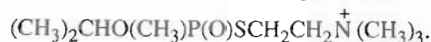


Рис. 5. *R*- и *S*-энантимеры ФОИ



Тиохолиновая группа обоих соединений находится в *транс-гош-гош*-конформации. Молекулы ФОИ расположены таким образом, что разрываемая связь P–S проходит перпендикулярно плоскости рисунка, связь фосфорильный атом O–P расположена вертикально.

При анализе удалось выявить различия при сорбции *R*- и *S*-энантимеров [6]. При помещении любого конформера в модель оказывается, что независимо от конформации самой изопропокси-группы или отщепляемого тиохолинового фрагмента более объемный изопропоксизаместитель при атоме P у *R*-изомера располагается в направлении участка, выделенного нами ранее как область существенного объема фермента [4, 5], т.е. его сорбция должна вызывать стерические затруднения. У *S*-изомера в этом направлении располагается заместитель меньшего объема – метильная группа (рис. 5). Все это хорошо согласуется с кинетическими исследованиями, согласно которым *S*-изомер реагирует с ацетилхолинэстеразой в 150 раз активнее, чем *R*-изомер [6]. По-видимому, именно стерическими затруднениями на стадии образования промежуточного комплекса можно объяснить меньшую эффективность *R*-изомера, что также находится в соответствии с данными рентгеноструктурного анализа [3, 17].

Рентгеноструктурный анализ [3] показал, что активный центр ацетилхолинэстеразы представляет собой узкую, глубокую (20 Å) щель, на дне которой расположена каталитическая триада Ser²⁰⁰–His⁴⁴⁰–Glu³²⁷. Именно здесь сорбируется ацетильная группа ацетилхолина или фосфорильная

группа ФОИ. Триметиламмониевая группа субстрата оказывалась вблизи индольного кольца остатка Trp⁸⁴ [3].

По результатам рентгеноструктурного анализа была построена компьютерная модель фермента, в которую “вручную” (by manual docking) помещали модели различных конформеров ацетилхолина [3]. Оказалось, что без стерических затруднений в полости активного центра может разместиться только полностью вытянутая конформация ацетилхолина. Этот компьютерный эксперимент подтвердил сделанный нами ранее на основании данных теоретического конформационного анализа однозначный вывод о том, что при гидролизе под действием ацетилхолинэстеразы продуктивна *транс-транс-транс*-конформация ацетилхолина [4, 5]. Рентгеноструктурные исследования кристаллов комплексов ацетилхолинэстеразы с конкурентными обратимыми органическими ингибиторами показали, что аммониевые группы молекул ингибитора действительно попадают в полость активного центра, причем располагаются именно в районе остатка Trp⁸⁴ [18]. Известно, что остаток Trp⁸⁴ входит в состав Ω-петли из 27 аминокислот, сшитой S–S-связями и выстилающей одну из сторон полости активного центра [18]. По-видимому, при продуктивной сорбции ацетилхолина с последующим перераспределением электронов, сопровождающим процесс ацетилирования остатка Ser²⁰⁰ [19], могут произойти структурные перестройки, которые должны отразиться на конформации лабильного дипептида Met⁸³–Trp⁸⁴ [17]. Можно предположить, что эти конформационные изменения будут способствовать ускорению десорбции холина на стадии деацетилирования, что важно для быстрой реактивации ацетилхолинэстеразы. Для холинсодержащих ФОИ при фосфорилировании остатка Ser²⁰⁰, по-видимому, важна продуктивная сорбция фосфорильной группы в районе эстеразного участка. Так как стадия дефосфорилирования для ацетилхолинэстеразы нехарактерна [20], то и нет необходимости в сорбции триметиламмониевой группировки ФОИ в районе остатка Trp⁸⁴. Другими словами, трехточечный контакт молекулы ацетилхолина с остатком Ser²⁰⁰ с донором водородной связи и по “триметиламмониевому участку” – это не единственный способ подхода к эстеразному центру для ацилирования (фосфорилирования) остатка Ser²⁰⁰. Этим можно объяснить достаточно высокую эффективность гидрофобных ФОИ, а также способность ацетилхолинэстеразы к гидролизу гидрофобных субстратов (фенилацетатов, индофенилацетатов, индоксилацетата) [20].

Но почему же катионсодержащие ФОИ более эффективны, чем их нейтральные аналоги? Видимо, это можно объяснить не уменьшением числа степеней свободы при направленной сорбции, а большей скоростью прохождения молекулы ФОИ

в полости активного центра длиной 20 Å [3, 18], ось которой совпадает, как показали расчеты [17], с осью электрического поля фермента. При движении в направлении к активному центру катионная форма молекулы может получить ускорение и повысить реакционную способность эффектора благодаря целенаправленному движению в глубь ущелья и увеличению кинетической энергии молекулы эффектора.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Quinn D.M. // Chem. Rev. 1987. V. 87. P. 955 - 979.
2. Schumacher M., Camp S., Mauet Y., Newton M., MacPhee-Quigey K., Taylor S.S., Friedmann T., Taylor P. // Nature. 1986. V. 319. P. 407 - 409.
3. Sussman J.L., Harel M., Frolow F., Oefner C., Goldman A., Toker L., Silman I. // Science. 1991. V. 250. P. 1558 - 1560.
4. Шестакова Н.Н., Розенгарт Е.В., Хованских А.Е., Жоров Б.С., Говырин В.А. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 3. С. 335 - 344.
5. Zhorov B.S., Shestakova N.N., Rozengart E.V. // Quantitative Structure-Activity Relationships. 1991. V. 10. P. 205 - 210.
6. Berman H.A., Decker M.M. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. С. 3951 - 3956.
7. Шестакова Н.Н., Розенгарт Е.В., Жоров Б.С. // Биоорган. химия. 1992. Т. 18. № 4. С. 596 - 603.
8. Zhorov B.S., Shestakova N.N., Rozengart E.V. // Multidisciplinary Approaches to Cholinesterase Functions / Eds A. Shafferman, B. Velan. N.Y.; L.: Plenum Press, 1992. P. 95 - 108.

9. Розенгарт Е.В. Антихолинэстеразные свойства некоторых фосфорорганических соединений и структура активной поверхности холинэстеразы. / Дис. ... канд. хим. наук. Л., 1964. С. 118, 119.
10. Ярв Я., Аавиксаар А. // Биоорган. химия. 1986. Т. 14. № 3. С. 222 - 227.
11. Жоров Б.С. // Автометрия. 1975. № 1. С. 23 - 29.
12. Nemethy G., Pottle M.S., Scheraga H.A. // J. Phys. Chem. 1983. V. 87. P. 1883 - 1889.
13. Журкин В.Б., Полтев В.И., Флорентьев В.Л. // Молекуляр. биология. 1980. Т. 14. С. 1116 - 1121.
14. Марч Дж. Органическая химия. Реакции, механизмы и структура. М.: Мир, 1987.
15. Жоров Б.С., Говырин В.А. // Конформации и функции биологических молекул. Теоретические аспекты / Ред. Чипенс Г.И. Рига: Зинатне, 1984. С. 123 - 132.
16. Гмиро В.Е., Бровцына Н.Б., Познякова Л.Н., Данилов А.Ф., Шелковников С.А., Хромов-Борисов Н.В. // Докл. АН СССР. 1982. Т. 265. № 2. С. 488 - 490.
17. Ripoll D.R., Faerman C.H., Axelsen P.A., Silman I. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1993. V. 90. P. 5128 - 5132.
18. Sussman J.L., Harel M., Silman I. // Multidisciplinary Approaches to Cholinesterase Functions. / Eds A. Shafferman, B. Velan. N.Y.; L.: Plenum Press, 1992. P. 95 - 108.
19. Brestkin A.P., Rosengart E.V. // Nature. 1965. V. 205. P. 388 - 389.
20. Садыков А.С., Розенгарт Е.В., Абдувахабов А.А., Асланов Х.А. Холинэстеразы. Активный центр и механизм действия. Ташкент: ФАН, 1976.

Molecular Mechanics Simulation of the Sorption of Choline-Containing Ligands in the Active Center of Acetylcholine Esterase

N. N. Shestakova* and E. V. Rosengart

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, pr. Morisa Toreza, 44, St. Petersburg, 194223 Russia

Abstract – All the relatively stable conformers of acetylcholine, acetylthiocholine, and *R*_p- and *S*_p-enantiomers of the thiocholine-containing inhibitor of acetylcholine esterase, (CH₃)₂CHO(CH₃)P(O)SCH₂CH₂N⁺(CH₃)₃, were calculated by the method of molecular mechanics. The population and the distances between functional atoms were determined for the relatively stable conformers. For the inhibitors, the accessibility of the phosphorus atom for interaction with the hydroxyl group of the Ser²⁰⁰ residue was determined. A computer model is proposed for the productive sorption of acetylcholine. The model assumes the contact of acetylcholine in the active center the hydroxyl group of the Ser²⁰⁰ residue, with the group behaving as a donor of H-bond, and also with the trimethylammonium sorptive segment. Among the organophosphorus inhibitors studied there are no relatively stable conformers that would be complementary to the sorptive site of the substrate, the choline head of the inhibitor cannot be sorbed at the trimethylammonium segment of the active center. An explanation was given for the stereospecificity of the studied enantiomers of an organophosphorus inhibitor within the limits of the proposed model.

Key words: theoretical conformational analysis, acetylcholine esterase, conformation-function correlations, productive sorption.

* To whom correspondence should be addressed.