

Богдан Т. В., Тригубенко С. А., Пилипчук Л. В., Потягайло А. Л.,
Самійленко С. П., Говорун Д. М.

КОНФОРМАЦІЙНИЙ АНАЛІЗ МОЛЕКУЛИ КВЕРЦЕТИНУ

Методом АМІ вперше показано, що молекула кверцетину має вісім пар дзеркально-симетричних низькоенергетичних ($\Delta E \leq 1$ ккал/моль) конформацій з пропелерною орієнтацією піронового та фенільного кілець ($\theta \approx 27^\circ$) і бар'єром "рацемізації" близько 0,5 ккал/моль. Вперше встановлено найбільш ймовірні шляхи та енергетику їхнього взаємного перетворення.

Кверцетин — біологічно активна сполука флавоноїдної природи, отримана шляхом кислотного гідролізу рутину (вітаміну Р), заслуговує особливої уваги дослідників у зв'язку з виявленням різноманітної позитивної дії на організм людини. Так, він спроможний покращувати функцію судин, зменшувати запальні процеси, проявляти потужні антиоксидантні властивості, здійснювати протипроменевий захист клітин та тканин, позитивно впливати на показники клітинного імунітету, утворювати комплекси з різними металами, гальмувати активність мембранотропних ферментів, особливо ліпоксигенази, що є важливим напрямком у терапії найбільш поширених у світі захворювань серцево-судинної системи, лікуванні онкологічних хворих, у створенні нових підходів до лікування екологічно залежних патологій [1–5].

Кверцетин — 3, 5, 7, 3',4'-пентаоксифлавоон — є кристалічною речовиною жовтого кольору, яка розчиняється у лужних розчинах, повільно в етанолі і практично не розчиняється у воді [4]. Дуже низька розчинність кверцетину у водних середовищах і рідинах організму викликає труднощі у створенні високоефективних, біологічно-доступних лікарських засобів, потребує пошуку нових нетоксич-

них модуляторів його розчинності. Для реалізації цієї проблеми виникає необхідність дальшого вивчення фізико-хімічних властивостей кверцетину.

Так, заслуговує на особливу увагу конформаційний аналіз кверцетину, оскільки конформаційна мінливість є одним із основних структурних чинників його біологічної активності, завдяки чому він під дією специфічних міжмолекулярних взаємодій у складі того чи іншого комплексу може набувати компетентну ("робочу") конформацію.

Роботу присвячено конформаційному аналізу молекули кверцетину в основній цього таутомерній формі за допомогою напівемпіричного квантовохімічного методу АМІ з метою встановлення енергетично найвигодніших конформацій і шляхів та енергетики їхнього взаємоперетворення (інтерконверсії). Заданими авторів, інформації такого гатунку нині в літературі немає, попри зростаючий інтерес до цієї, без перебільшення, унікальної молекули.

Розрахунки геометричної структури конформацій проводили в режимі повної оптимізації. Відносну стабільність конформацій, з формальної точки зору — локальних мінімумів на гіперповерхні потенціальної енергії, визначали, виходячи з їхньої повної енергії — адитивної суми електронної і, так

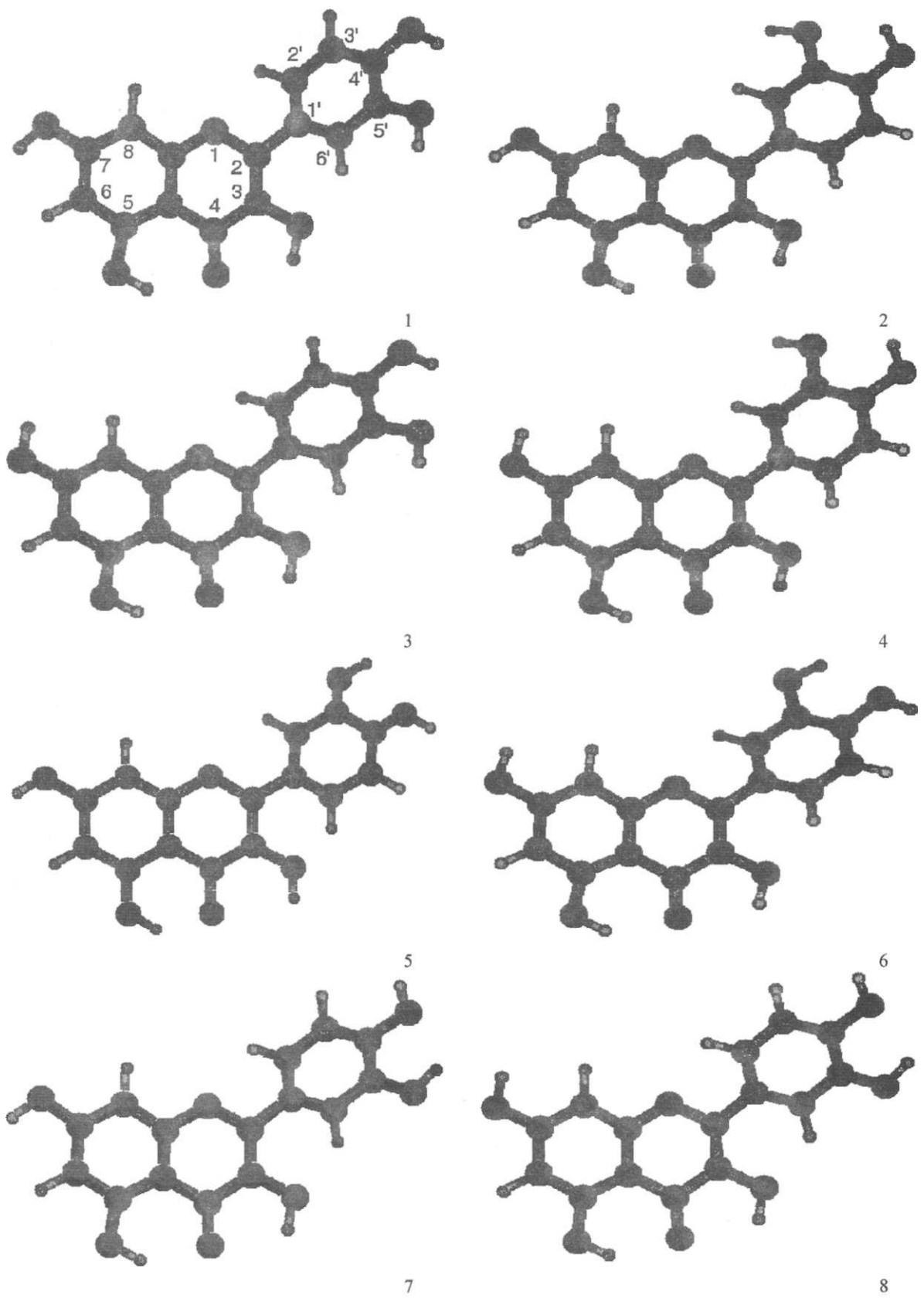


Рис. 1. Низькоенергетичні ($\Delta E < 1$ ккал/моль) конформації молекули кверцетину за даними методу АМІ. Конформації пронумеровано у порядку їхньої відносної енергії, для кожної з них наведено лише один енантіомер. Нумерація атомів кілець — стандартна. Зоображення атомів: маленькі сірі кружечки — атоми водню, великі сірі — вуглецю, великі чорні — кисню.

званої, нульової коливальної енергії. При цьому частоти нормальних коливань для кожної конформації розраховувались у гармонійному наближенні. Енергетику конформаційних переходів встановлювали шляхом локалізації перехідних станів за стандартною процедурою. Перевагу методів АМІ у порівнянні з методом РМЗ було віддано тому, що він, як відомо, адекватніше враховує енергію внутрішньомолекулярних водневих зв'язків. Використано пакет GAMESS (US) [6].

Хімічна будова молекули кверцетину (рис. 1) допускає 80 конформацій, пов'язаних із різноманітними комбінаціями поворотів на кут 180° п'яти гідроксильних груп та фенільного кільця навколо ординарних зв'язків С — О і С2 — СГ відповідно. Якщо ж врахувати наявність енантіомерів (дзеркально-симетричних конформацій), пов'язаних з можливою пропелерною взаємоорієнтацією піронового і фенільного кілець молекули, то кількість конформацій щонайменше подвоюється.

За даними розрахунків, з усього конформаційного розмаїття молекула кверцетину має 8 пар дзеркально-симетричних низькоенергетичних конформацій, відносна енергія яких не перевищує ~1 ккал/моль (рис. 1, табл. 1), а енергетична щільна, яка відокремлює їх від високоенергетичних конформацій, не менша 3,6 ккал/моль. Наступними за вісьмома низькоенергетичними конформаціями є конформації, що утворюються поворотом однієї (С5' чи С4') гідроксильних груп на кут 180° навколо ординарного зв'язку С — О у антизустрічному напрямку. Далі йдуть конформації, пов'язані з поворотом гідроксильних груп у положеннях 3 і 5 гетерокільця кверцетину. Характерно, що конформація, яку традиційно вважають основною, не є такою, — її відносна енергія у порівнянні з основною конформацією 1 дорівнює 0,58 ккал/моль і в ряду стабільності вона займає лише п'яте місце (рис. 1, табл. 1).

Характерною геометричною ознакою конформацій 1—8, що мають симетрію С₂ є пропелерна орієнтація планарних піронового і фенільного кілець:

просторовий кут між їхніми площинами $\theta_0 \ll \pm 27^\circ$ (знаки $\pm$ відповідають енантіомерам) практично не залежить від конформації. Взаємоперетворення ("рацемізація") енантіомерів відбувається для всіх конформацій 1—8 за одним і тим самим механізмом — шляхом відносного повороту кілець навколо ординарного зв'язку С2 — СГ в бік зменшення кута θ через копланарний перехідний стан ($\theta_c = 0^\circ$) (рис. 2). При цьому енергетичний бар'єр "рацемізації" практично не залежить від конформації і складає близько 0,5 ккал/моль або 176 см⁻¹. Оскільки ця величина менша, ніж кТ (0,57 ккал/моль або 200 см⁻¹ при кімнатній температурі), то це означає, що всі низькоенергетичні конформації кверцетину 1—8 належать до класу структурно-нежорстких молекул, геометрія яких суттєво залежить від температури. Справді, якщо при Т>0, коли заселеним є лише нульовий коливальний рівень торсійного коливання кілець відносно зв'язку С2 — СГ (його частота практично не залежить від конформації і дорівнює ~33 см⁻¹ і в потенціальній ямі залягає 6 таких коливальних рівнів), всі конформації мають пропелерну структуру, оскільки підбар'єрна "рацемізація" практично неможлива. При Т=300 К приблизно третина молекул кверцетину у конформаціях 1—8 є ефективно планарними, оскільки для них притаманне надбар'єрне торсійне коливання великої амплітуди (~27°) з частотою помітно меншою, ніж 33 см⁻¹, причому, питома вага таких ефективно-планарних молекул з ростом температури експоненційно зростає. Характерно, що структурна нежорсткість конформацій 1—8 супроводжується дипольною нестійкістю: "рацемізація" тягне за собою зміну орієнтації ортогональної (до площини піронового кільця) складової дипольного моменту ($|d_z| = 0,43 - r 0,95D$) на протилежну, причому, в перехідному копланарному стані "рацемізації" $d_z = 0$.

Привертає до себе увагу те, що найбільш полярними є конформації 8, 7 і 6 з найбільшою відносною енергією (табл. 1). Це може спричинити зуження діапазону відносних енергій конформацій

Таблиця 1. Деякі фізичні характеристики низькоенергетичних конформацій кверцетину за даними методу АМІ.

Номер конформації (див. рис. 1)	Відносна енергія ДЕ (ккал/моль)	Дипольний момент d, D	Ортогональна складова дипольного моменту до гетерокільця d _z , D	Просторовий кут між площинами кілець θ_0 , град	Частота торсійного коливання кілець навколо зв'язку C2CГ, см ⁻¹
1	0,0	1,25	0,43	±27,3	33
2	0,08	3,52	0,88	±26,5	35
3	0,17	1,50	0,47	±27,3	33
4	0,40	3,52	0,88	±27,1	34
5	0,58	1,24	0,91	±26,9	33
6	0,67	3,16	0,95	±26,8	33
7	0,86	3,51	0,73	+26,8	33
8	1,10	4,99	0,62	+27,8	33

при переході з вільного стану у полярне середовище чи оточення і зсунути конформаційну рівновагу $1 \leftrightarrow 2$ вправо, оскільки конформація 2 є значно полярнішою, ніж основна конформація 1, а самі вони є майже ізоенергетичними (табл. 1).

Встановлено найбільш ймовірні шляхи взаємоперетворення конформацій 1–8 та їхню енергетику (рис. 3). Найменший енергетичний бар'єр 1,1 ккал/моль мають конформаційні переходи $1 \leftrightarrow 2$, $3 \leftrightarrow 4$, $5 \leftrightarrow 7$ і $сч \leftrightarrow 8$, що реалізуються шляхом відносного повороту піронового та фенільного фрагментів навколо зв'язку $C2-C7$ в бік збільшення кута θ від рівноважного значення $\pm\theta_0$ через орто-

гональний перехідний стан ($\theta_t = 90^\circ$). Найбільший енергетичний бар'єр (близько 6,6 ккал/моль) наявний при конформаційних переходах $1 \leftrightarrow 7$, $2 \leftrightarrow 5$, $3 \leftrightarrow 8$ і $4 \leftrightarrow 6$, які відбуваються як синхронний поворот двох гідроксильних груп ($C4'$)ОН і ($C5'$)ОН навколо одинарних зв'язків $C4'-O$ і $C5'-O$ над чи під площину фенільного кільця на кут 180° через ортогональний перехідний стан, коли обидва гідроксили орієнтовані перпендикулярно до площини фенільного кільця. Конформаційні переходи $1 \leftrightarrow 3$, $2 \leftrightarrow 4$, $5 \leftrightarrow 6$ і $7 \leftrightarrow 8$ мають проміжні значення енергетичного бар'єру близько 3,9 ккал/моль: вони реалізуються шляхом повороту гідроксильної групи

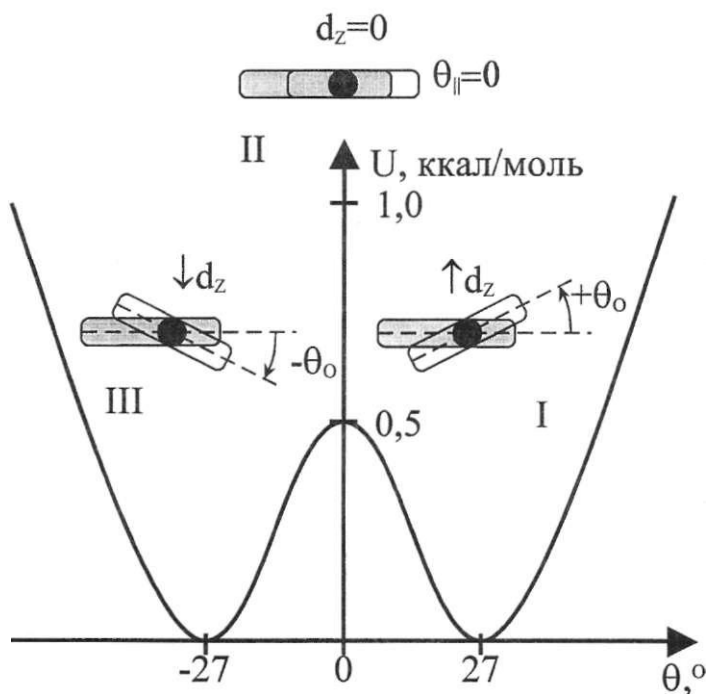
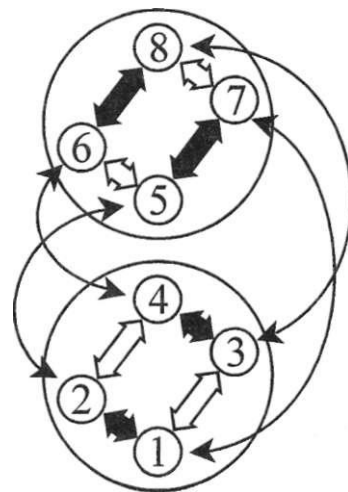


Рис. 2. Профіль потенціалу "рацемізації" дзеркально симетричних пар низькоенергетичних конформацій кверцетину (U — потенціальна енергія, θ — просторовий кут між площинами кілець). На верхніх схемах площина піронового кільця зафарбована, зв'язок $C2-C7$ ($\cdot$) перпендикулярний до площини рисунка, фенільне кільце не зафарбоване. Стан I — конформація з пропелерною орієнтацією кілець ($\theta_0 = +27^\circ$), стан II — перехідний копланарний стан "рацемізації" ($\theta_0 = 0^\circ$), стан III — дзеркально-симетрична конформація з пропелерною орієнтацією кілець ($\theta_0 = -27^\circ$).

Рис. 3. Схема шляхів найбільш ймовірної інтерконверсії низькоенергетичних конформацій кверцетину 1–8. Жирними стрілками позначено інтерконверсію, що реалізується шляхом повороту на кут 180° кілець відносно зв'язку $C2-C7$ в бік збільшення кута θ через ортогональний перехідний стан ($\theta_t = 90^\circ$). Білими стрілками позначено інтерконверсію, що реалізується шляхом повороту на кут 180° гідроксильної групи навколо зв'язку $C7-O$ через ортогональний перехідний стан, у якому гідроксил перпендикулярний до площини гетерокільця. Тонкі стрілки відповідають інтерконверсії, що реалізується як синхронний поворот на кут 180° гідроксильних груп навколо зв'язків $C4'-O$ і $C5'-O$ відповідно через ортогональний перехідний стан, коли обидва гідроксили перпендикулярні до площини фенільного кільця. Дві групи конформацій (див. текст) окреслено колами.



C70H на кут 180° навколо ординарного зв'язку C7—O над чи під площину піронового кільця через ортогональний перехідний стан, коли гідроксил орієнтований перпендикулярно до площини фенільного кільця. Цікаво, що з точки зору можливих взаємоперетворень конформації 1—8 утворюють дві групи, куди входять конформації 1—4 і 5—8. Вони зв'язані між собою лише високоенергетичними шляхами інтерконверсії (рис. 3). Всередині кожної групи реалізуються енергетично вигідніші шляхи циклічної інтерконверсії.

Привертає до себе увагу той факт, що "найм'якша" коливальна мода, а саме — торсійне коливання кілець навколо ординарного зв'язку C2—C1', частота якого є найнижчою в коливальних спектрах усіх восьми конформацій (табл.1), конформаційно нечутлива. Слабкою є також конформаційна залежність нульової коливальної енергії—її максимальна різниця (для конформерів 2 і 4) становить всього лише 0,23 ккал/моль при середньому значенні 149,7 ккал/моль. Це вказує на обмеженість методів коливальної спектроскопії для ідентифікації низькоенергетичних конформацій молекули кверцетину.

Насамкінець зазначимо, що отримані результати відносно енергетичних, структурних та інших фізичних характеристик конформацій кверцетину, а також шляхів і енергетики їхньої інтерконверсії задовільно корелюють з аналогічними даними, отриманими методами РМЗ, котрі тут не наводяться. Це свідчить про те, що викладені вище закономірності не залежать від методів розрахунку.

Висновки

За допомогою методу АМ1 вперше проведено конформаційний аналіз молекули кверцетину: встановлено, що вона має вісім дзеркально-симетричних пар енергетично найвигідніших конформацій, енергія яких менша за енергію інших високоенергетичних конформацій щонайменше на 3,6 ккал/моль і лежить у діапазоні відносних енергій <1 ккал/моль. Конформації 1 і 2 є основними.

Встановлено, що дзеркально-симетричні пари конформацій кверцетину 1—8 мають пропелерну орієнтацію площин планарних піронового і фенільного кілець, що характеризуються просторовим кутом $0^\circ \ll +27^\circ$: їхня "рацемізація" відбувається шляхом відносного повороту кілець на кут $2\theta_0 \approx 54^\circ$ навколо ординарного зв'язку C2—C1' через копланарний перехідний стан ($\phi_c = 0^\circ$) з бар'єром близько 0,5 ккал/моль. Конформації 1—8 кверцетину є структурно-нежорсткими, дипольно-нестійкими молекулами. Їхня геометрія суттєво залежить від температури.

Досліджено найбільш ймовірні шляхи та енергетику взаємного перетворення конформацій 1—8: доведено, що вони відбуваються через поворот на кут 180° відносно ординарних зв'язків C2—C1', C7—O, C4'—O і C5'—O фенільного кільця та гідроксильних груп відповідно (у останньому випадку обидва гідроксили повертаються синхронно) з відповідним енергетичним бар'єром 1,1; 3,9 і 6,6 ккал/моль.

1. Максютіна Н. П., Пилипчук Л. Б. Рослинні антиоксиданти і пектини в лікуванні і профілактиці променевих уражень і детоксикації організму // Фармац. журн.— 1996.— № 2.— С. 35—41.
2. Максютіна Н. П., Сиваченко Т. П., Абизов Р. А., Сарницький І. П., Пилипчук Л. Б., Калина В. К., Довбиш Г. І. Новий лікарський препарат "Гранули кверцетину" та його застосування в онкології та ін. // Ліки.— 1996.— № 4.— С. 75—80.
3. Мойбенко О. О. Використання нових лікарських форм кверцетину при ішемічних та радіаційних ушкодженнях (Методичні рекомендації) // Київ.— 2000.— 13 с.
4. Машковский М. Д. Лекарственные средства.— 14-е изд. М. Новая Волна, 2000 — Т.2.— С. 87.
5. Пилипчук Л. Б. Физико-химические исследования в области создания и стандартизации лекарственных форм с кверцетином: Автореф. дисс... канд. фарм. наук.— Л., 1991.— 23 с.
6. Schmidt M. W., Baldrige K. K., Boatz J. A., Elbert S. T., Gordon M. S., Jensen J. H., Koseki S., Matsunaga N., Nguyen K. A., Su S. J., Windus T. L., together with Dupuis M., Montgomery J. A. General Atomic and Molecular Electronic Structure System (review) // J.Comput.Chem.— 1993.— 14 — P. 1347—1363.

Bogdan T.Y., Trygubenko S.A., Pylypchuk L. B.,
Potyahaylo A. L., Samijlenko S. P., Hovorun D. M.

CONFORMATIONAL ANALYSIS OF QUERCETINE MOLECULE

By AM1 method quercetine molecule was first shown to have eight pairs of minor-symmetrical low-energy ($\Delta E \leq 1$ kcal/mol) conformations with the propeller-like orientation of pyrone and phenyl rings ($\theta \approx 27^\circ$) and then -0,5 kcal/mol "racemization" barriers. The most probable ways and energies of their interconversions were established.