

спектрометрически при помощи пировиноградной кислоты, применяемой в качестве субстрата. Активность ЛДГ выражали в нмоль НАДН за 1 мин на 1 мг белка.

Кинетические характеристики реакции — время полупревращения субстрата (K_i) и скорость накопления продуктов реакции (V_{\max}) — определяли расчетным путем по общепринятым формулам (Kostir J., 1985).

Свободный кристаллогенез препаратов изучаемого энзима и характер его сокристаллизации с базисным веществом (0,9-й% раствор хлорида натрия) изучали с помощью метода расширенной тезиокристаллоскопии.

Указанный комплекс тестов выполняли до начала и по окончании модельного термовоздействия.

Статистическая обработка полученных данных производилась с применением программы Primer of Biostatistics Version 4.03.

Использование сопряженного с компьютером спектрофотометра позволило непосредственно при выводе данных каждого исследования получить для каждого случая расчетные кинетические показатели [время полупревращения субстрата (K_i) и скорость накопления продуктов реакции (V_{\max})] и показатели активности ферментативной реакции. Установлено, что после термоденатурации препарата лактатдегидрогеназы показатели активности прямой реакции достоверно возрастают с ($16,74 \pm 4,90$) в контроле (до тепловой обработки) до ($42,84 \pm 6,51$) нмоль/мин×мг белка после тепловой обработки, а обратной — достоверно снижаются с ($98,65 \pm 8,97$) до ($26,38 \pm 7,07$) нмоль/мин×мг белка. Статистически достоверные отличия наблюдаются по всем кинетическим показателям. Их значения для исследуемой ЛДГ составляют: для прямой реакции в контроле (до тепловой обработки) $K_i = 4,89 \pm 1,74$, $V_{\max} = 1,98 \pm 0,87$, после термоденатурации $K_i = 0,79 \pm 0,31$, $V_{\max} = 0,91 \pm 0,86$; для обратной реакции в контроле $K_i = 2,24 \pm 0,77$, $V_{\max} = 3,64 \pm 2,34$, после термоденатурации $K_i = 13,70 \pm 6,40$, $V_{\max} = 16,80 \pm 8,80$.

Проведение второй части эксперимента, посвященной исследованию кристаллогенных и иницирующих свойств ЛДГ при дозированном воздействии высокой температуры, указало на их наблюдающиеся трансформации. В частности, в образцах, представляющих собой только раствор ЛДГ, после термомодификации отмечалось сужение краевой зоны фации, сопровождающееся насыщением центральной и промежуточной зон частично разрушенными одиночными и мелкими дендритными образованиями. При исследовании иницированного кристаллогенеза регистрировались тенденции к снижению иницирующей способности фермента и нарастанию степени деструкции его микропрепарата после термической обработки. Эти изменения зафик-

сированы специализированными компьютерными программами обработки изображений в виде кристаллограмм и тезиграмм.

Заключение:

1. Компьютерные технологии являются важным звеном в интегральном алгоритме энзимокристаллоскопического мониторинга состояния биосистемы.

2. Предложенный алгоритм продемонстрировал эффективность в оценке каталитических и кристаллогенных свойств лактатдегидрогеназы при ее модельной термомодификации.

УДК 54:621.72

ХИМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ. ИНДУКТИВНЫЙ И СТЕРИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТЫ ИЗОПРОПИЛЬНОЙ ГРУППЫ

В. В. Туровцев, М. Ю. Орлов*, Ю. Д. Орлов*

*Тверская государственная медицинская академия,
Тверской государственный университет**

Проведено химическое моделирование и найдены индуктивный и стерический эффекты изопротильной группы.

Ключевые слова: изопротильная группа, химическое моделирование, индуктивный эффект, стерический эффект.

В настоящее время конструирование веществ с заданными свойствами является одним из самостоятельных разделов медицинской химии и фармакологии. Поиск перспективных лекарств идет по разным направлениям. Наиболее распространенными среди используемых методов являются феноменологические подходы, известные как «строение-свойство» ($QSPR$) и «строение-активность» ($QSAR$). Широкое привлечение физики и прогресс в компьютерной технике позволяют объяснить найденные закономерности в рамках квантовой механики.

Теорема Хоэнберга-Кона и «голографическая теорема» заложили основу теоретического химического моделирования. Главное следствие теоремы: все индивидуальные свойства молекулы определяются распределением ее электронной плотности (ρ). Связь терминов классической теории строения молекул со свойствами электронной плотности осуществляется в рамках теории «атомов в молекулах» (AIM). Поэтому основной упор в развитии $QSPR$ и $QSAR$ постепенно смещается от моделирования строения к моделированию распределения электронной плотности. Здесь в $QSPR$ и $QSAR$ привлекаются аддитивные подходы, основанные на переносимости свойств функциональных групп, как следствие переносимости электронной плотности этих групп. Моделирование (придание нужной формы) ρ в этих рамках заключается в деформации электронной плотности исходной мо-

лекулы под действием различных заместителей. Действие лигандов (индуктивный эффект) в рамках АИМ определяется изменением зарядов, электронно-ядерных энергий, объемов функциональных групп.

Ранее нами было рассмотрено влияние радикального центра ($C\cdot H_2$) на распределение электронной плотности в *n*-алкильных радикалах. Было показано, что индуктивный эффект $C\cdot H_2$ распространяется на две CH_2 группы вдоль углеродной цепи. В данной работе мы рассмотрели изменение ρ при замещении метила в *n*-алканах на изопропилную группу ($(CH_3)_2CH\cdot$) для гомологического ряда $(CH_3)_2CH-(CH_2)_n-CH_3$ от изопропилметана до изопропилгексана. Оптимизация геометрии всех изученных молекул была проведена с помощью GAUSSIAN 98W методом B3LYP/6-311++G(3df,3pd). Свойства атомов и функциональных групп рассчитаны с использованием программ АИМРАС и АИМАII.

Анализ полученных данных показывает, что индуктивный эффект $(CH_3)_2CH-[CH_2-(CH_2)_n-CH_3]$ быстро затухает и распространяется всего на одну смежную группу CH_2 . Остальная часть молекулы — $(CH_2)_n-CH_3$ представляет собой остаток, совпадающий по свойствам с соответствующим остатком *n*-алкана в $[CH_3-CH_2]-(CH_2)_n-CH_3$ при $n > 1$. $(CH_3)_2CH\cdot$ несет суммарный положительный заряд, но он сконцентрирован на CH группе, а CH_3 (по от-

дельности) имеет в полтора раза больший отрицательный заряд (рост нуклеофильности), чем CH_3 другого конца молекулы. Таким образом, изопропилная часть имеет отрицательный заряд по краям и положительно заряженный остов, защищенный двумя метилами. Но объем каждого из метилов меньше, чем обычной CH_3 в *n*-алканах. Это (при увеличении нуклеофильности) облегчает подход реагентов к их ядрам. Распределение заряда приводит к уменьшению (увеличению по модулю) электронно-ядерной энергии $(CH_3)_2$ и увеличению ее в CH . Следовательно, энтальпия разрыва связи $C-H$ в $(CH_3)_2$ должна увеличиваться, в CH уменьшаться.

Увеличение заряда CH группы происходит не в результате индуктивного эффекта метилов, а как следствие их стерического действия, т.к. объем атома углерода в CH наименьший, а заряд и энергия наибольшие среди всех C (наименьшая по абсолютной величине). В результате «сдавливания» углерода его электронная плотность вытесняется на водород и соседнюю CH_2 группу. Так на смежной $[(CH_3)_2CH]-CH_2-(CH_2)_n-(CH_3)$ группе происходит накопление отрицательного заряда по сравнению с CH_2 в $[(CH_3)_2CH]-(CH_2)_n-[CH_3]$ группе, несущей положительный заряд.

Полученные данные должны учитываться в химическом моделировании при конструировании веществ с определенной биологической активностью и физико-химическими свойствами.