Un approccio ai meccanismi di Interazione Biolettromagnetica in complessi protoporfirina IX – Fe^{2+}

D. Spera, L. Dominici, F. Apollonio, G. d'Inzeo

Dipartimento di Ingegneria Elettronica, Università "La Sapienza" di Roma
via Eudossiana 18, 00184 Roma
dominici@die.uniroma1.it

Abstract

In studying the interaction mechanisms between EM fields and biological systems, the binding process of a ligand ion to a receptor site is considered an interesting target, due to its role in several transport and enzymatic functions of cells. In the present study the binding process of Fe^{2+} to protoporphirin IX, the emoglobin's prosthetic group, is analysed with an "ab initio" Hartree Fock methodology. The geometrical optimization, the computation of wavefunctions and total energy have been performed considering the structure merged in vacuum and in six different solvents, simulated as polarisable continuum media. The followed approach consists in assimilating the reaction field associated to each solvent to a static external electric field. Results show that as the field increases porphirin's geometry doesn't substantially change, as the wavefunctions and the potential profiles do, indicating in a qualitative manner a decrease of the site reactivity with respect to Fe^{2+} ion.

INTRODUZIONE

Nello studio dei meccanismi di interazione bioelettromagnetica, i programmi di calcolo numerico rappresentano strumenti sempre più potenti per affrontare la complessità intrinseca dei processi biologici e delle reazioni biochimiche. Particolarmente significativi sono considerati i diversi complessi sito recettore - ione ligando che svolgono funzioni di trasporto e di attivazione enzimatica essenziali per le cellule; questi ultimi sono supposti come siti privilegiati di interazione con il campo elettromagnetico [1]. Numerosi sono i software di chimica computazionale, che permettono di effettuare simulazioni molecolari a diversi livelli di accuratezza e per sistemi di differente complessità. Tali programmi possono utilizzare metodi di Meccanica Quantistica (QM) "ab initio" e semiempirici in grado di fornire livelli di accuratezza elevati ma onerosi dal punto di vista computazionale, oppure modelli di Meccanica e Dinamica Molecolare (MM, MD) meno accurati ma in grado di simulare strutture più complesse. Nel nostro caso, è stato utilizzato il pacchetto Gaussian 98 [2] per svolgere un'analisi "ab initio" della protoporfirina IX (Pp IX), il gruppo prostetico dell'emoglobina che, complessato con lo ione ferroso Fe^{2+}, lega l'ossigeno molecolare, rendendone possibile il trasferimento dai polmoni ai tessuti periferici. La complessazione Pp IX–Fe^{2+} è un fenomeno guidato dalla distribuzione di potenziale che si crea intorno al sito di legame, determinata principalmente dalla struttura molecolare del sito stesso. In presenza di un campo elettromagnetico, il potenziale esterno andrebbe a sovrapporsi alla distribuzione originaria, interferendo eventualmente con il processo stesso di complessazione.

L'approccio seguito in questo lavoro è quello di considerare il contributo di un campo elettromagnetico esterno facendo uso del modello di solvatazione Polarisable Continuum Model (PCM) [3], in cui il campo elettrico esterno statico viene assimilato

al campo di reazione associato ad un solvente. L'ottimizzazione geometrica, il calcolo delle funzioni d'onda e dell'energia totale sono stati condotti simulando la struttura immersa nel vuoto e in sei diversi solventi. I risultati mostrano che al crescere del campo la geometria della struttura non è significativamente alterata, quanto invece le funzioni d'onda e i profili di potenziale, indicando in via qualitativa una diminuzione della reattività del sito nei confronti dello ione Fe^{2+}, analogamente a quanto suggerito da un precedente lavoro [1].

METODI E SIMULAZIONI MOLECOLARI

La struttura da simulare è stata semplificata rispetto la Pp IX eliminando le catene laterali e lo ione ferroso, focalizzando l'attenzione sul macrociclo della porfina (Figura 1). La geometria del sistema è stata ottimizzata preliminarmente nel vuoto utilizzando il metodo "ab initio" HF (Hartree-Fock) con due insiemi di orbitali atomici di base di accuratezza crescente (HF/3-21G e HF/6-31G*, vedi Tabella I). Successivamente la geometria è stata ottimizzata tenendo conto dell'effetto di un solvente, tramite due modelli PCM implementati in Gaussian 98: il metodo di Onsanger e il metodo di Tomasi. Tali modelli rappresentano il solvente come un mezzo continuo polarizzabile in cui è presente una cavità dove è alloggiata la molecola di soluto. Il solvente viene identificato da un unico parametro macroscopico, la costante dielettrica ε ad esso associata, mentre il soluto viene rappresentato al livello quantistico voluto. La distribuzione di carica nucleare ed elettronica del soluto induce una polarizzazione sul solvente, cui è associato un campo di reazione SCRF (Self Consistent Reaction Field) che interagisce con il momento di dipolo del soluto. Nel modello di Onsanger la cavità è sferica, mentre nel più accurato modello di Tomasi la cavità è definita come un'unione di sfere sovrapposte centrate nei vari gruppi atomici che costituiscono il soluto [3].

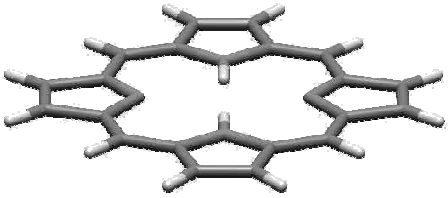


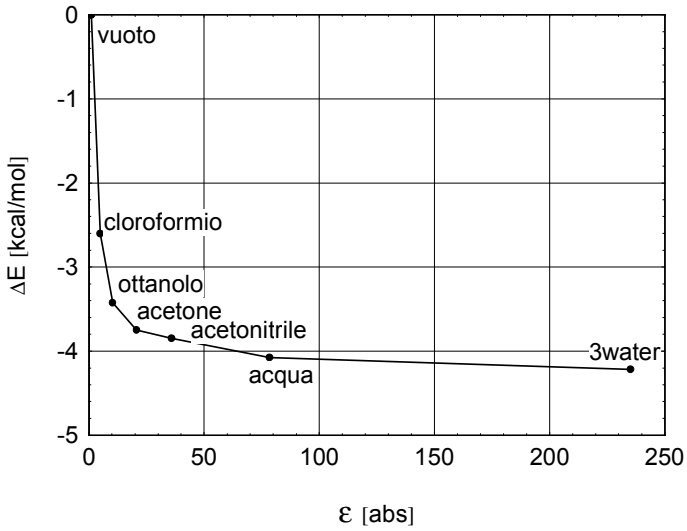
Figura 1. Macrociclo porfinico.

Solvente	Input	Freq imm.	Energia [hartree]	ΔE [kcal/mol]	Time [h.m]
Vuoto	HF/3-21G (244 basis function): a_0 for SCRF calculation = 5.31 Å				
	Opt		-977.74567866	3458.3652	03.53
	Freq	none			12.21
Vuoto	HF/6-31G* (388 basis function): a_0 for SCRF calculation = 5.50 Å				
	Opt		-983.25692976	0	02.29
	Freq	none			20.17
Cloroformio ε=4.90	SCRF=Dipole Opt		-983.25706775	-0.0866	02.29
	SCRF=Dipole Freq	none			19.38
	SCRF=PCM		-983.26108100	-2.6049	00.51
Ottanolo ε=10.3	SCRF=Dipole Opt		-983.25710833	-0.1121	02.10
	SCRF=Dipole Freq	none			19.40
	SCRF=PCM		-983.26238551	-3.4251	00.58
Acetone ε=20.7	SCRF=Dipole Opt		-983.25712949	-0.1253	02.11
	SCRF=Dipole Freq	none			19.47
	SCRF=PCM		-983.26290112	-3.7470	01.06
Acetonitrile ε=35.9	SCRF=Dipole Opt		-983.25713737	-0.1303	02.31
	SCRF=Dipole Freq	none			19.45
	SCRF=PCM		-983.26306183	-3.8479	00.59
Acqua ε=78.39	SCRF=Dipole Opt		-983.25714478	-0.1349	02.34
	SCRF=Dipole Freq	none			19.38
	SCRF=PCM		-983.26342495	-4.0758	03.51
3water† ε=235.2	SCRF=Dipole Opt		-983.25715101	-0.1388	02.13
	SCRF=Dipole Freq	none			19.43
	SCRF=PCM		-983.26365193	-4.2182	01.12

Tabella I. Processi eseguiti con il pacchetto Gaussian 98.
† 3water è un solvente fittizio tale che $\varepsilon_{3water}=3\varepsilon_{acqua}$

Nella Tabella I vengono riportate le simulazioni eseguite. Per ogni solvente sono stati lanciati tre processi: ottimizzazione della struttura con il metodo di Onsanger (SCRF=Dipole Opt), verifica del punto di minimo di energia, ovvero assenza di frequenze immaginarie (SCRF=Dipole Freq), calcolo energetico accurato tramite il modello di Tomasi (SCRF=PCM). L'energia totale calcolata viene espressa sia come valore assoluto in unità atomiche

(hartree) sia come differenza ΔE rispetto al valore calcolato per la struttura nel vuoto. Nella Figura 2 vengono riportate le energie calcolate in funzione della costante dielettrica, evidenziando come primo risultato un aumento della stabilità (diminuzione del ΔE) al crescere della polarizzabilità del solvente ovvero del campo di reazione associato (aumento della ε). Le geometrie ottimizzate sono state confrontate con quella di partenza (rilevata da esame cristallografico e disponibile in letteratura), calcolando lo scarto quadratico medio sulla posizione dei 24 atomi di carbonio ed azoto del macrociclo della porfina. I valori presenti nella Tabella II indicano come secondo risultato che la geometria non risulta sostanzialmente alterata dalla presenza dei solventi.



Metodo	Solvente	RMS* [Å]
AM1	Vuoto	0.106
	Acqua	0.108
HF/6-31G*	Vuoto	0.082
	Cloroformio	0.083
	Ottanolo	0.083
	Acetone	0.082
	Acetonitrile	0.082
	Acqua	0.083

Tabella II. RMS calcolato su 24 atomi (carbonio, azoto) del macrociclo porfinico, rispetto la geometria rilevata da esame cristallografico ai raggi X.

Figura 2. Energia del sistema porfina/solvente in funzione della costante dielettrica del solvente.

REATTIVITA' CHIMICA

Secondo un approccio semplificato della teoria FMO (Frontier Molecular Orbital) [4], la reattività di un substrato (ad esempio la porfina) nei confronti di uno ione elettrofilo (tipo Fe^{2+}) dipende dall'energia e dalla localizzazione spaziale degli orbitali molecolari occupati a più alto contenuto energetico, gli HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital). In Figura 3 vengono riportate le energie dei primi quattro HOMO calcolate da Gaussian 98 per il sistema in esame, in funzione della costante dielettrica associata ai diversi solventi. Seguendo tale approccio, la

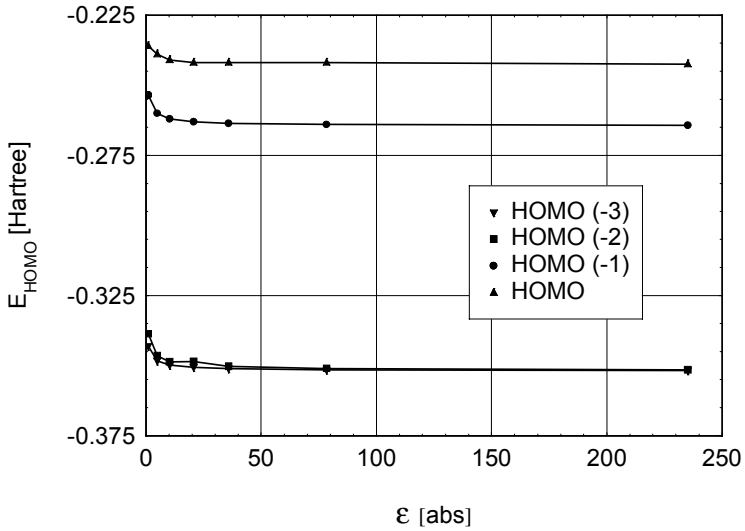


Figura 3. Energia dei primi quattro HOMO rispetto la ε del solvente.

reattività della porfina diminuisce proporzionalmente alla polarizzabilità del solvente in cui è immersa, ovvero del campo di reazione ad esso associato.
Una valida alternativa alla teoria FMO nell'analisi della reattività chimica delle molecole è rappresentata dalla distribuzione del potenziale elettrostatico nello spazio che circonda il substrato. La Figura 4 mostra come l'interpretazione dei dati per il potenziale elettrostatico sia coerente con i risultati della teoria FMO: il campo di reazione diminuisce la reattività chimica del complesso e al pari ne aumenta la stabilità.

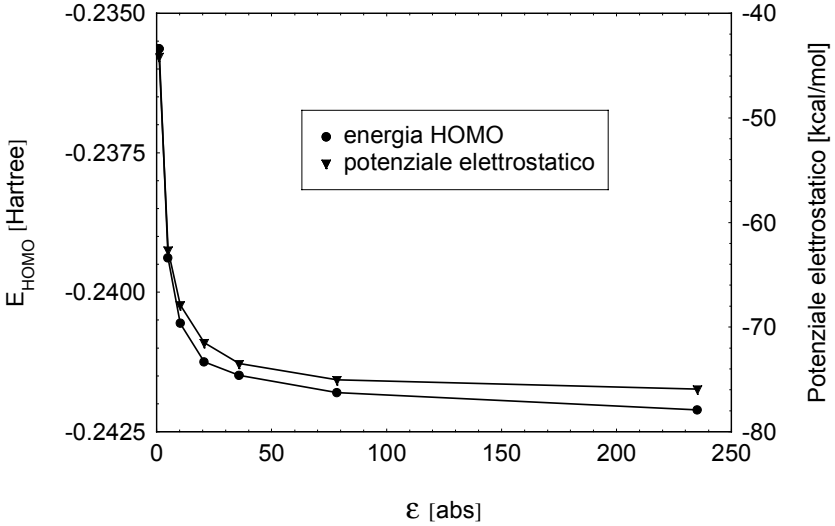


Figura 4. Energia del primo HOMO e valore minimo del potenziale elettrostatico nella regione del sito di legame del macrociclo profinico, nelle diverse situazioni di esposizione ad un campo di reazione.

CONCLUSIONI

In questo lavoro è stata svolta un'analisi "ab initio" della protoporfirina IX (Pp IX), il gruppo prostetico dell'emoglobina che si complessa con lo ione ferroso Fe^{2+}. L'ottimizzazione geometrica, il calcolo delle funzioni d'onda e dell'energia totale sono stati condotti simulando la struttura immersa nel vuoto e in sei diversi solventi, assimilando idealmente il campo di reazione di ogni solvente ad un campo elettrico esterno statico. I risultati mostrano che al crescere del campo la geometria della struttura non è significativamente alterata, quanto invece le funzioni d'onda, l'energia totale e i profili di potenziale, indicando in via qualitativa una stabilizzazione del sistema ed una diminuzione della reattività del sito nei confronti dello ione Fe^{2+}.

BIBLIOGRAFIA

[1] M. Zago, A. Palombo, G. D'Inzeo, *"Solvent-Hemoglobin binding site interaction under microwave electromagnetic exposure: a molecular dynamic study"*, Electricity and Magnetism in Biology and Medicine, edited by Bersani, Kluwer Academic/Plenum Publishers (1999)

[2] Gaussian 98 (revision A.1), Gaussian Inc., Pittsburgh PA, 1998, (http://www.gaussian.com)

[3] J. Tomasi, M. Persico "*Molecular Interactions in Solution: an Overview of Methods Based on Continuous Distribution of the Solvent*", Chem. Rev. 1994, 94, 2027-2094

[4] Ming Wah Wong, M. J. Frisch, K. B. Wiberg *"Solvent Effects. 3. Tautomeric Equilibria of Formamide and 2-Pyridone in the Gas Phase and Solution. An ab Initio SCRF Study"*, J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 1645-1652