

Софийски университет „Св. Климент Охридски“

Факултет по Химия и Фармация

Катедра Органична химия

Автореферат

на дисертацията

на Стефан Колев Колев

**за получаване на научната и
образователна степен**

„Доктор“

на тема

***„Квантово-химично изследване
влиянието на водородни връзки
и метални йони върху РНК“***

Научен ръководител: проф. дхн Георги Вайсилов

Научен консултант: гл. ас. д-р Петко Петков

София, януари 2014

Научните изследвания по дисертационния труд са осъществени в Катедра Органична химия на Факултета по Химия и Фармация на Софийски университет „Св. Климент Охридски“. Дисертацията е написана на 118 страници, като към нея са предоставени допълнителни материали на 32 страници. Дисертационният труд включва 19 таблици, 27 фигури и 2 схеми. Цитирани са 174 литературни източника. Изследванията, включени в дисертационния труд, са част от проект ДО 02-133/2008 и Център за върхови постижения "Суперкомпютърни приложения", финансирани от Фонд Научни изследвания. Изчисленията са осъществени на суперкомпютър BG/p на Българския суперкомпютърен център и на локален клъстер.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на открито заседание на Научното жури, което ще се проведе на от часа в Заседателната зала на Факултета по Химия и Фармация на Софийски университет „Св. Климент Охридски“, бул. Дж. Баучер 1, София.

1. Увод

В настоящия дисертационен труд с методите на квантовата химия са изследвани два типа взаимодействия, съществени за биологични системи - образуването на водородни връзки и координиране на метални йони към скелета на нуклеинови киселини. И двата типа взаимодействия са свързани със структурата и функционирането на РНК. Един от примерите за важността на водородните връзки е каталитичното влияние на вициналната 2'-ОН хидроксилна група от рибозата върху формирането на пептидна връзка в рибозомата. Този процес е идентичен за всички живи клетки. Установено е, че участието на вициналната ОН група в протеиновия биосинтез води до ускорение на процеса 10^9 пъти. По този начин вициналната 2'-ОН група в рибозата е от ключова важност за образуване на пептидата връзка и може да се използва като специфична цел при дизайн на лекарства за контрол или инхибиране на синтеза на белтъци в живите клетки. Молекулата метанол може да се използва като опростен модел на 2'-хидроксилната група в рибозата. По този начин резултатите от изчисленията могат да помогнат за намиране на алтернативен начин за инхибиране на биосинтеза на протеини и създаване на нови антибактериални препарати.

Металните йони са изключително важни за функционирането на рибозомата и на РНК молекулите като цяло. Йоните, носещи един положителен заряд (Na^+ , K^+) формират йонната атмосфера около нуклеиновите киселини. Двойно заредените йони (Mg^{2+} , Ca^{2+}) от своя страна могат да се свързват към специфични центрове. Те подпомагат поддържането на пространствената структура на ДНК, РНК и протеините не само чрез неутрализиране на отрицателните заряди, но се явяват и медиатор на взаимодействието между различни групи от макромолекулите. Взаимодействията между металните йони и различни ДНК или РНК последователности са изследвани с използването на разнообразни експериментални техники като най-широко разпространение са намерили рентгеноструктурния анализ и вибрационната спектроскопия. В допълнение на експерименталните методи са използвани и теоретични подходи. Публикуваните досега изследвания са основани на класическа молекулна динамика или квантово-химични методи на изолирани модели. *Ab initio* молекулно динамични симулации на взаимодействието на метални йони с ДНК или РНК фрагменти не са описани до сега.

2. Цели на изследването в дисертационния труд

1. Оценка на възможността различни функционални групи да инхибират синтеза на пептидна връзка чрез формиране на водородна връзка като протоноакцептор, ако съответната група се намира в активния център на рибозомата.
2. Определяне на предпочетеното разположение и динамика на метални йони около фосфатния скелет на РНК и тяхната солватация във водна среда при температура, близка до тази в живите организми.

3. Изчислителни методи

Компютърното моделиране на изучаваните комплекси, свързани с водородни връзки, е проведено с Теорията на Функционала на Плътноста. Всички изчисления са извършени с програмен пакет Gaussian 09 [1]. За DFT изчисленията са използвани два хибридни функционала: B3LYP [2–4] и M05–2X [5]. Моделирано е формирането на водородни връзки между ОН групата в метанол и няколко серии органични молекули съдържащи следните функционални групи: Cl, F, NH₂, ОН и COOH. Във всяка серия са разгледани съединения с различен въглеводороден остатък: метилов (Me), етилов (Et), пропилов (Pr), изопрпилов (iPr), циклохексиллов (Chex), фенилов (Ph).

При всички изчисления е използван набор базисни функции 6–311++G(2df,2pd). И при двата DFT функционала геометричната оптимизация е извършена с отчитане на BSSE корекцията на всяка стъпка, както е предложено в литературата. Освен това, структурата на част от комплексите MeOH/RX, за R = Me, Et, Ph и X = ОН, NH₂, F, Cl, е оптимизирана и с метода MP2 и същия набор базисни функции. За оптимизираните комплекси и за свободните молекули в газова фаза са изчислени хармоничните вибрационни честоти, както и корекциите за нулевото ниво на квантовия осцилатор (ZPE). Процедурата за коригиране на изчислените честоти е базирана на използването на скалиращи коефициенти, известни от литературата: 0.955 за B3LYP и 0.936 за M05–2X [6]. Изчислени са и енергията на свързване, BE, както и енталпията ΔH и Гибсовата свободна енергия ΔG за формиране на комплексите. Всички стойности на енергията са представени в мерна единица kJ/mol и термодинамичните величини са изчислявани при T = 298 K. Атомните заряди на свободните молекули и

комплексите са определени по метода на Мъликен [7], и схемите Chelpg [8] и NBO [9], имплементирани в програмен пакет Gaussian 09. Изчислени са и Електростатичните потенциали при ядрата (EPN) [10,11].

Ab initio молекулно-динамичните симулации са проведени с молекулната динамика на Борн-Опенхаймер чрез използването на софтуерен пакет CP2K/Quickstep [12,13]. Квантово-химичните пресмятания са осъществени с Теорията на функционала на плътността с градиентно-коригиран функционал на Perdew-Burke-Ernzerhof (PBE) [14]. За всички атоми от изследваните системи е приложен наборът базисни функции DZVP-MOLOPT-SR-GTH [15]. Използван е NVT ансамбъл със стъпка от 1 fs. Температурата е поддържана постоянна (300 или 320 K, както е описано по-долу) чрез използването на CSVР термостат.

Изследваните системи се състоят от динуклеотиден фрагмент РНК, включващ съответните рибозни пръстени, без нуклеобазите. Включени са два Na^+ или един Mg^{2+} йон, необходими за неутрализиране на отрицателните заряди на фосфатните групи. Цялата система е разположена във вода в периодични гранични условия с размер на симулационната кутия 1264.5 pm x 1700.0 pm x 1700.0 pm. Симулациите са проведени от следните начални условия:

- Симулация с 2 натриеви йона: един Na^+ йон директно свързан към фосфатната група P1 и втори Na^+ йон разделен от P1 и P2 от водни молекули;
- Симулация с един свързан Mg^{2+} : един Mg^{2+} йон директно свързан към фосфатната група P1 и взаимодействащ с фосфатната група P2 през една водна молекула;
- Симулация с един солватиран Mg^{2+} : един Mg^{2+} йон разделен от фосфатната група P1 от една водна молекула и от фосфатната група P2 от две водни молекули.

В началото симулациите са проведени при 300 K и след 61 ps от симулациите с магнезиеви йони и 104 ps от симулацията с натриеви йони температурата е повишена на 320 K. За сравнение са изчислени хармоничните вибрационни честоти на изследваните системи.

4. Моделиране на водородни връзки с изолирани модели.

4.1 Структура и стабилност на комплексите съдържащи амини, алкохоли и етери

Както може да се очаква, свързването на метанола с амини, алкохоли и етери е обусловено от образуването на водородна връзка между хетероатома (азот или кислород) и протона от ОН групата на молекулата метанол (Фиг. 1a–f).

Таблица 1. Структурни данни (разстоянията са в pm, ъглите в градуси, ΔH в kJ/mol) за комплексите на метанола с R–NH₂, R–OH, ROR и водните молекули.

Акцептор на Н връзка	B3LYP				M05-2X				MP2			
	HB1	$\Delta(\text{OH})^a$	<ONX	ΔH	HB1	$\Delta(\text{OH})^a$	<ONX	ΔH	HB1	$\Delta(\text{OH})^a$	<ONX	ΔH
MeNH ₂	194	1.6	172	-19.6	193	1.5	165	-23.1	193	1.5	169	-22.7
Me ₂ NH	193	1.8	172	-19.1	190	1.6	161	-25.3	185	1.9	168	-24.7
Me ₃ N	193	1.8	172	-17.8	189	1.8	178	-24.6	183	2.2	180	-25.4
EtNH ₂	194	1.7	173	-19.7	195	1.4	167	-22.7	188	1.7	169	-22.7
Et ₂ NH	193	1.9	172	-19.1	187	1.9	167	-28.7	182	2.2	173	
Et ₃ N	200	1.7	169	-13.9	188	2.1	173	-25.9	185	2.4	172	
PrNH ₂	194	1.7	173	-19.8	193	1.5	166	-23.5				
iPrNH ₂	194	1.7	172	-20.2	193	1.6	167	-23.7				
ChexNH ₂	195	1.7	175	-19.6	194	1.6	171	-25.9				
PhNH ₂	206	1.0	166	-11.0	211	0.6	165	-17.7	203	0.9	167	
MeNH ₂ ^b	224	0.0	154	-3.3	226	0.0	135	-9.0	220	0.0	136	-8.3
PhNH ₂ ^b	210	0.0	172	-8.3	213	0.0	147	-15.7	210	0.1	146	
MeOH	194	0.8	175	-12.9	197	0.6	151	-16.9	193	0.7	169	-15.4
EtOH	194	0.8	174	-13.2	195	0.7	171	-18.8	188	0.9	173	-16.8
PrOH	194	0.8	176	-13.4	196	0.6	153	-17.3				
iPrOH	193	0.9	172	-14.2	193	0.8	162	-19.4				
ChexOH	194	0.9	174	-13.8	193	0.8	170	-19.6				
PhOH	204	0.4	169	-7.2	207	0.4	154	-14.0	199	0.5	161	
PhOH ^b	186	0.1	172	-18.9	188	0.1	163	-25.7	182	0.2	164	-24.0
Me ₂ O	193	0.8	177	-12.3	194	0.8	155	-16.8	185	1.0	175	-16.0
Et ₂ O	195	0.9	175	-11.8	191	0.8	174	-21.3	183	1.1	180	
H ₂ O	198	0.7	174	-11.6	198	0.6	179	-13.8	194	0.6	178	-12.0
H ₂ O ^b	193	0.1	173	-13.4	194	0.0	159	-16.8	189	0.1	167	-14.4

а – удължаване на ОН разстоянието в комплексите в сравнение със свободния метанол, при който то е 96.0, 95.6 и 95.8 pm за B3LYP, M05-2X и MP2.

б – комплекс, при който метанолът е акцептор на водородната връзка

Водородната връзка между протона от ОН групата на метанола и хетероатома е обозначена като НВ1. Нейната дължина $d(\text{HB1})$ в първичните алифатни амини, изчислена с функционали B3LYP и M05-2X е равна на 194 ± 1 pm (Таблица 1). Н-връзка в комплекса метанол-анилин е значително по-дълга, 206 pm за B3LYP и 211 pm за M05-2X. Стойностите на $d(\text{HB1})$ при алифатните алкохоли, изчислени с B3LYP и M05-2X са много близки, съответно 194 ± 1 и 195 ± 2 pm. Водородната връзка към фенолния кислороден атом е по-дълга, 204 pm за B3LYP и 207 pm за M05-2X. Комплексът MeOH-PhOH е оптимизиран и с метанол като протоноакцептор. В този случай водородната връзка е много по-къса, 186 – 188 pm. В повечето случаи $d(\text{HB1})$, получени след геометрична оптимизация с метода MP2, са по-къси от получените с DFT с около 3 – 9 pm. Ъгълът на водородната връзка, $\angle \text{O-H-X}$ ($X = \text{N}, \text{O}$) варира в интервалите $166 - 175^\circ$ (B3LYP) и $161 - 178^\circ$ (M05-2X). За комплексите на алкохолите, фенола и етерите – в интервалите $169 - 177^\circ$ (B3LYP) и $151 - 174^\circ$ (M05-2X).

Както се очаква, енталпиите за формиране на комплексите с алифатни амини, от -23 до -29 kJ/mol (M05-2X), са по-високи от тези, получени за комплексите с алкохоли и етери, от -17 до -21 kJ/mol. Метанолът се свързва по-слабо като протонодонор с анилина и фенола като ΔH са съответно -18 за анилина и -14 kJ/mol за фенола (M05-2X).

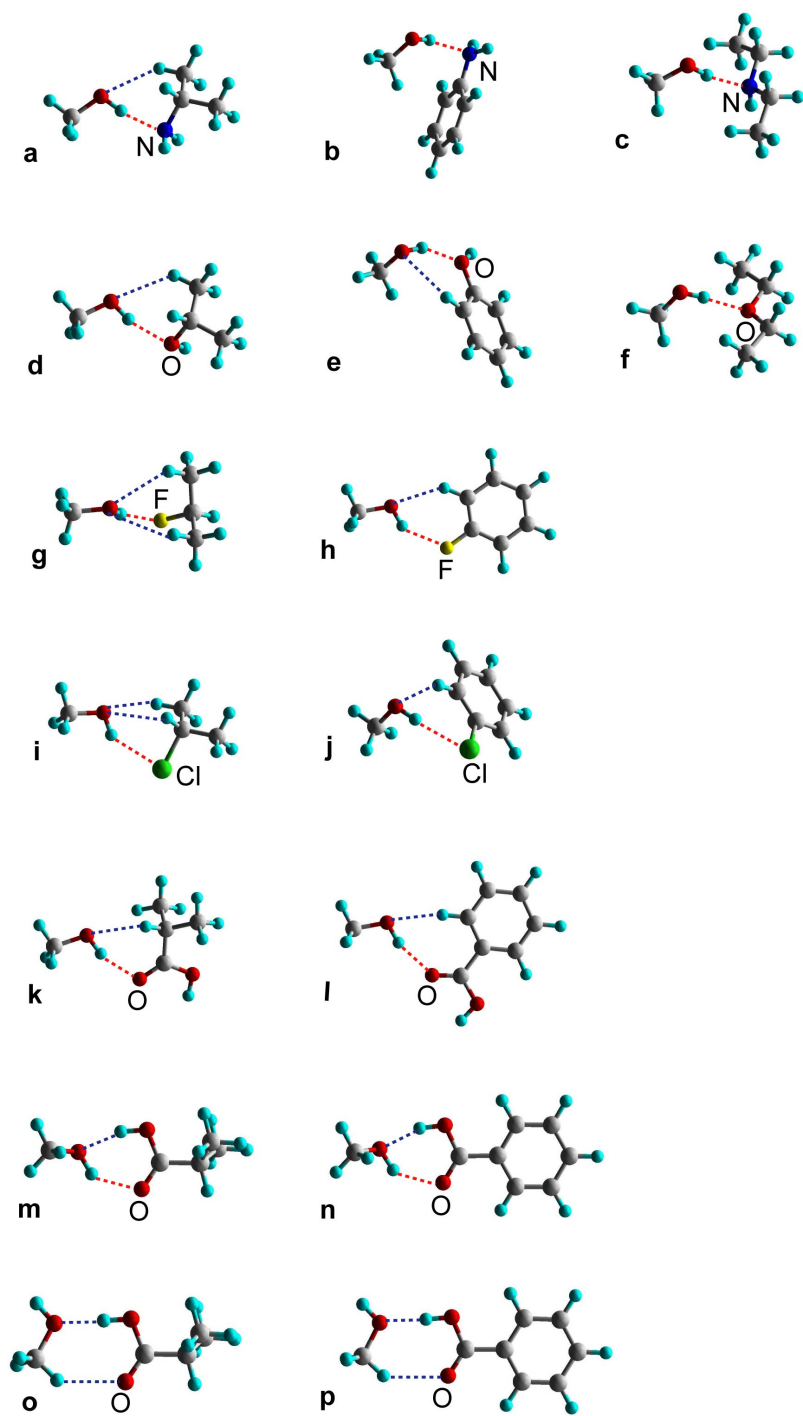
Теоретично получените данни за геометричната структура и енталпиите на образуване за някои от изучаваните комплекси могат да се сравнят с експериментални данни, известни от литературата. И при двата функционала (B3LYP и M05-2X) изчислената дължина на водородната връзка в комплексите MeOH-MeOH и MeOH-Me₃N попада в границите на експерименталната грешка [16,17]. За N-O разстоянието в комплекса MeOH-PhNH₂ [18] отклонението на изчисления резултат от експеримента е само ± 2 pm. Експериментално намерената симетрична група за комплекса метанол-триметиламин съвпада с намерената от теоретичните изчисления с B3LYP и M05-2X. Двата функционала обаче дават различни резултати за ъглите в изучаваните комплекси (Таблица 2). И за двата комплекса, MeOH-Me₃N и MeOH-PhNH₂, резултатите, получени с M05-2X за ъглите $\angle \text{NHO}$ и $\angle \text{CNO}$ се различават от експерименталните данни

само с 1–5 градуса. От друга страна ъгълът $\angle\text{CNO}$ в комплекса метанол-анилин, оптимизиран с функционал B3LYP, е с около 30° по-голям от експериментално получената стойност и изчислената с M05–2X. Тази разлика идва от различната ориентация на метиловата група на метанола при двете оптимизирани структури. При структурата получена с M05–2X, Фиг. 1b, CH_3 групата взаимодейства с бензеновото ядро.

Таблица 2. Сравнение между оптимизираните и експериментално получените (Ref. 16-18) структурни параметри (разстоянията са в pm, ъглите в градуси) за комплексите $\text{MeOH}-\text{Me}_3\text{N}$ и $\text{MeOH}-\text{PhNH}_2$.

Комплекс		Експеримент	B3LYP	M05–2X	MP2
$\text{MeOH}-\text{MeOH}$	$d_{\text{O-H}}$	196 ± 2	194	197	193
$\text{MeOH}-\text{Me}_3\text{N}$	$d_{\text{N-H}}$	192 ± 5	193	189	183
	$\angle\text{NHO}$	179.3 ± 5	171.9	178.1	179.5
$\text{MeOH}-\text{PhNH}_2$	$d_{\text{N-O}}$	303	301	305	298
	$\angle\text{CNO}$	94.9	124.1	89.2	90.1

В Таблица 3 са показани експериментално получените и изчислените енталпии на образуване на комплексите. Резултатите, получени с функционала M05–2X, попадат в границите на експеримента в 6 от 8 случая. За два от комплексите разликите между изчислените стойности и центъра на експериментално получените интервали са по-малки от 0.3 kJ/mol. По-големи отклонения от експеримента се наблюдават при комплексите с третични амини, Me_3N и Et_3N , където изчислените стойности са с 4.3 и 5.5 kJ/mol по-ниски от центровете на експерименталните интервали. Сравнението с експерименталните данни показва, че стойностите на ΔH , изчислени с B3LYP, са систематично по-ниски от експерименталните. За никой от комплексите стойността на ΔH определена с B3LYP не попада в границите на експерименталната грешка, като особено големи са разликите при двата третични амина, 11 kJ/mol за Me_3N и 17 kJ/mol за Et_3N .



Фигура 1. Примери за оптимизирани структури (на ниво M05–2X) на комплексите на метанола с амини (a – c), алкохоли (d, e), етер (f), флуориди (g, h), хлориди (i, j) и карбоксилни киселини – комплекси тип А (k, l), В (m, n) и С (o, p).

Пет от комплексите са изследвани и с метода MP2. Резултатите се намират на долната граница на експерименталните интервали (Таблица 4.3). Изключение

прави комплексът с Me_3N , където изчислената стойност е под долната граница на експерименталния интервал, подобно на резултатите с M05-2X функционала. Стойностите на ΔH , изчислени за комплексите на метил и етиламините с B3LYP, са много близки до получените от Kone et al. [19] използвайки същия метод, но с по-голям набор базисни функции, aug-cc-pVTZ. Резултатите от MP2/aug-cc-pVTZ изчисленията, от същата публикация, дават по-високи стойности за ΔH на комплексите $\text{MeOH-Me}_3\text{N}$ и $\text{MeOH-Et}_3\text{N}$, в съгласие с експеримента.

Таблица 3. Експериментално получени и изчислени енталпии (в kJ/mol) за образуването на комплексите на метанола с различни протоноакцепторни молекули.

H акцептор	ΔH^a	$\Delta\text{H(B3LYP)}$	$\Delta\text{H(M05-2X)}$	$\Delta\text{H(MP2)}$
MeNH_2	-23.4 ± 1.0^b	-19.6	-23.1	-22.7
Me_2NH	-25.9 ± 1.0^b	-19.1	-25.3	-24.7
Me_3N	-28.9 ± 1.0^b	-17.8	-24.6	-25.4
Et_2NH	-28.0^b	-19.1	-28.7	
Et_3N	-31.4 ± 2.0^b	-13.9	-25.9	
MeOH	-17.4 ± 2.1^c	-12.9	-16.9	-15.4
Et_2O	-19.7 ± 2.9^d	-11.8	-21.3	
PhOH^f	-25.6 ± 0.8^e	-18.9	-25.7	-24.0

^a – експериментални стойности, ^b – Ref. 20, ^c – Ref. 21, ^d – Ref., ^e – Ref. 23

^f – комплекс, при който метанолът е акцептор на водородната връзка

4.2 Комплекси на халогенопроизводните с метанола

Комплексите на флуоридите и хлоридите, R-X , съдържат два типа водородни връзки (Фиг. 1g–j и Схема 1) Първият тип представлява водородната връзка (обозначена като HB1), в която участва ОН групата на метанола като донор на протон и халогенния атом от RX като протоноакцептор. Във втория тип водородни връзки, HB2, протонодонор е C-H група от RX , а кислородният атом от метанола е протоноакцептор.

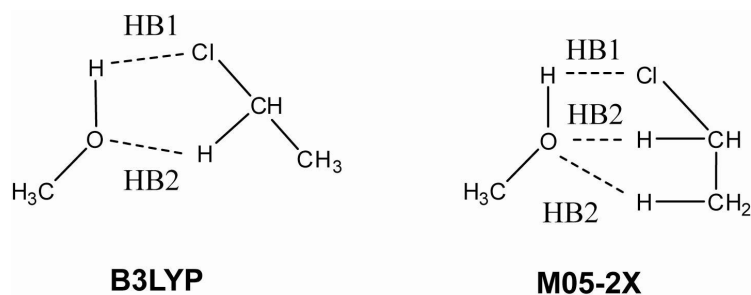


Схема 1

Дължината на основната водородна връзка HB1 за комплексите на алкилфлуоридите, изчислена с функционалите B3LYP и M05-2X, е 203 ± 3 pm. При комплекса MeOH-PhF тази водородна връзка е с 10 pm по-дълга, 213 – 218 pm. Двата функционала дават различни резултати за дължината и разположението на втория тип водородни връзки, HB2. С функционала B3LYP такава връзка се появява само в комплекса на PhF (с дължина 255 pm). В комплексите, оптимизирани с M05-2X, такава водородна връзка има не само при комплекса MeOH- PhF (с дължина 242 pm), но и при комплексите на алифатните флуориди, където дължината на HB2 е в областта 253–271 pm.

Атомът на хлора има по-голям ван дер Ваалсов (vdW) радиус (с 28 pm) и по-ниска основност в сравнение с флуора. Поради тези причини дължината на водородната връзка от типа HB1 за комплексите на алкил хлоридите е по-дълга отколкото при съответните флуориди средно с около 50 pm (B3LYP) и 47 pm (M05-2X). Дължините на връзките са в интервалите 249–258 pm (B3LYP) и 247–253 pm (M05-2X). Дължината на водородната връзка HB1 при комплексите на хлоробензен, 265 pm с B3LYP и 267 pm с M05-2X, отново е по-дълга от HB1 при комплексите на алифатните хлориди. Допълнителната водородна връзка HB2 при алкилхлоридите, 241–265 pm с M05-2X, като цяло е по-къса от същата връзка при алкилфлуоридите. Трябва да се отбележи, че за алкилхлоридите HB2 водородните връзки се наблюдават и в комплексите оптимизирани с функционала B3LYP с дължини 254–270 pm.

Връзката HB2 в комплекса на метанол с PhCl е една от най-късите от този тип водородни връзки, 248 pm (B3LYP) и 243 pm (M05-2X).

Енталпиите на образуване на комплексите на алкиловите халогенопроизводни, изчислени с B3LYP, са с 4 – 7 kJ/mol по-ниски (по абсолютна стойност) отколкото тези, изчислени с функционала M05-2X. Свързването в комплексите на алкилхлоридите, –10 до –12 kJ/mol (M05-2X) е

малко по-слабо отколкото при флуоридите, -11 до -15 kJ/mol (M05-2X). Комплексите на халогенопроизводните са по-нестабилни от комплексите на амините, алкохолите и етерите, описани по-горе. Комплексите на метанол с ароматните халогенопроизводни, PhF и PhCl, имат най-ниска енталпия на свързване от двете моделирани серии, съответно -9.2 и -9.7 kJ/mol. Стойностите на ΔH за комплексите на метил и етил заместените халогенопроизводни, изчислени с метода MP2, са с около 2.0 kJ/mol по-ниски от съответните енталпии на свързване, получени с DFT функционала M05-2X.

4.3 Принос на двата типа водородни връзки за формиране на комплексите

Енергията на двата типа водородни връзки HB1 или HB2 е оценена като са използвани комплекси с фиксирани ъгли $\angle O-H-X$ или $\angle C-H-O$, така че да се образува само желаната водородна връзка. Основният принос към енергията на свързване при комплексите на метанол с $MeNH_2$ и $MeOH$ се дължи на HB1, съответно -24.0 и -18.1 kJ/mol (M05-2X). Комплексите, съдържащи само водородни връзки от типа HB2 са по-нестабилни: -1.4 kJ/mol за метиламина и -2.8 kJ/mol за метанола. В комплекса $MeOH-MeF$, приносът на HB1 спада до -8.6 kJ/mol, докато приносът на HB2 нараства до -4.4 kJ/mol. В този комплекс HB2 дава 35% от общата енергия на свързване (-12.7 kJ/mol).

При фиксираните комплекси с $MeCl$, HB2 е по-стабилна ($BE = -6.4$ kJ/mol) от HB1 ($BE = -2.1$ kJ/mol). При комплекса $MeOH-MeCl$ приносът на двата типа водородни връзки е различен от този при останалите комплекси като преобладава HB2. За PhF изчислените енергии на свързване за HB1 и HB2 са съответно -6.0 и -5.9 kJ/mol. За PhCl, HB2 се явява доминираща с -6.2 kJ/mol, докато BE на HB1 е само -1.4 kJ/mol.

Пълната енергия на свързване на комплексите намалява в реда $R-NH_2 > R-OH > R-F > R-Cl$, следвайки намаляването здравината на HB1. В същия ред се увеличава здравината на HB2, което обаче не може да компенсира отслабването на първия тип водородни връзки. Също така в описания ред нараства влиянието на HB2 върху структурата на комплексите.

4.4 Комплекси на метанол с карбоксилните киселини

Моделирани са три различни структури на комплексите на метанол с карбоксилните киселини. Те включват четири типа водородни връзки, HB1-HB4, показани на Фиг. 1к-р и Схема 2).

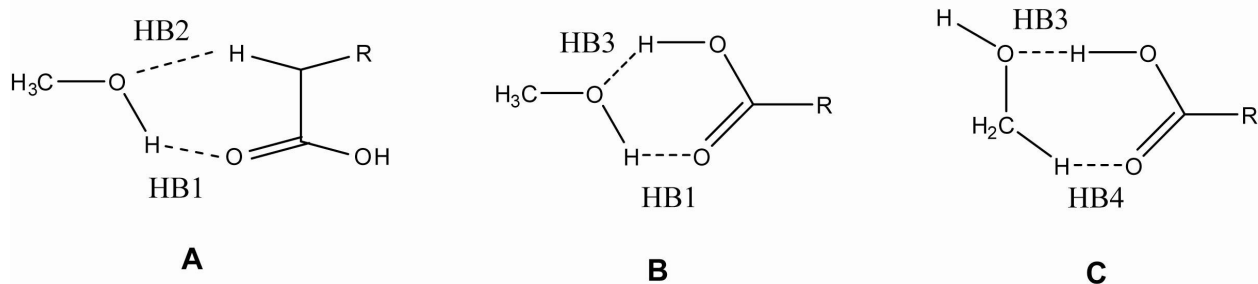


Схема 2

Дължините на водородните връзки следват намаляването на киселинността на трите протондонорни групи $\text{COOH} < \text{O-H} < \text{C-H}$. Тяхната дължина се увеличава в реда $\text{HB3} < \text{HB1} < \text{HB2}$ и HB4 . За B3LYP – дължините на водородните връзки са както следва: около 178 pm за HB3, 194–200 pm за HB1, 245–270 pm за HB2 и 254 pm за HB4. Съответните стойности, намерени с функционала M05-2X, (с изключение на HB2) са много близки до получените с B3LYP: 176 pm за HB3, 195–199 pm за HB1, 234–257 pm за HB2 и 245 pm за HB4. Водородните връзки HB1, които се наблюдават при комплекси тип А и В, са по-къси при комплекси от тип А. При комплекси тип В, водородната връзка HB3 е доминираща и, съответно, най-къса. Водородни връзки HB2 се образуват само в комплексите от тип А. Тази водородна връзка е най-къса при комплекса MeOH-PhCOOH , 245 и 234 pm съответно за B3LYP и M05-2X.

Комплексите от тип В са най-стабилни поради наличието в тях едновременно на водородни връзки от типовете HB3 и HB1 с енталпия на образуване ΔH около -35 и -42 kJ/mol, съответно за B3LYP и M05-2X, следвани от комплексите тип С и А.

4.5 Вибрационен анализ на комплексите с водородни връзки

След провеждане на геометричната оптимизация са изчислени вибрационните честоти за всички изучавани комплекси с двата DFT функционала, B3LYP и M05-2X. Първоначално беше приложена стандартната процедура за скалиране

на изчислените хармонични честоти чрез използването на коефициентите α известни от литературата: 0.955 за B3LYP, 0.936 за M05-2X, и 0.945 за MP2 [6, 24]. Този начин на скалиране работи добре за метанола - отклоненията от експерименталната стойност, $\nu_{\text{exp}} = 3686 \text{ cm}^{-1}$ [25], са много малки: за B3LYP, M05-2X и MP2 метода съответно -9 , 7 и 7 cm^{-1} .

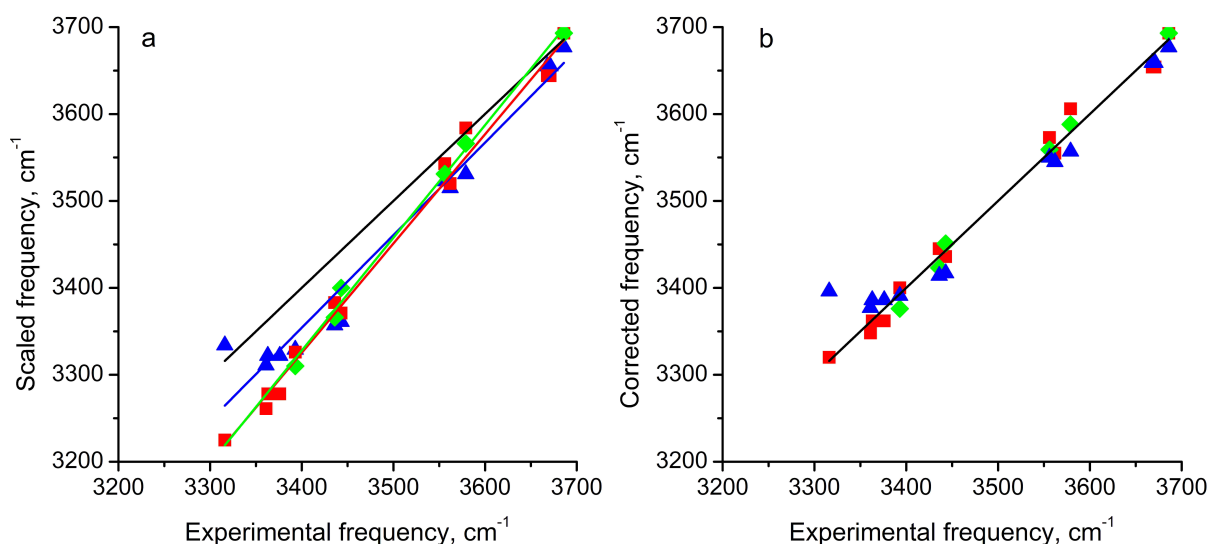
Таблица 4. Сравнение на експериментални данни за честотите на валентните ОН трептения при комплексите ν_{exp} (в cm^{-1}) със скалираните ν_{sc} и коригираните по уравнение (1), ν_{corr} .

	Експеримент	B3LYP		M05-2X		MP2	
		ν_{sc}	ν_{corr}	ν_{sc}	ν_{corr}	ν_{sc}	ν_{corr}
MeOH	3686 ^a	3677	3677	3693	3693	3693	3693
MeNH ₂	3443 ^b	3361	3417	3371	3436	3400	3437
Me ₂ NH	3393 ^b	3329	3391	3326	3400	3310	3358
Me ₃ N	3376 ^b , 3358 ^c	3322	3386	3278	3362	3262	3316
EtNH ₂	3436 ^b	3357	3414	3383	3445	3366	3407
Et ₂ NH	3361 ^b	3311	3377	3261	3348		
Et ₃ N	3313 ^{b, d}	3334	3396	3225	3320		
MeOH	3575 ^a , 3574 ^e	3531	3557	3584	3606	3566	3582
EtOH	3556 ^a	3523	3550	3543	3573	3531	3552
Et ₂ O	3558 ^f	3515	3545	3520	3555		
PhF	3663 ^g , 3666 ^g	3655	3659	3644	3654		

^a – Ref. 25, ^b – Ref. 26, ^c – Ref. **Error! Bookmark not defined.**, ^d – Ref. 27, ^e – Ref. 28, ^f – Ref. 29 ^g – Ref. 30

В Таблица 4 и Фиг. 2а са представени експерименталните данни за честотата на валентното трептене на ОН групата в комплекси на метанол в газова фаза, за които има информация в литературата, и изчислените скалирани честоти за съответните комплекси. От нея се вижда, че при малки отмествания на трептението на ОН групата от това в изолираната молекула, отклоненията на

скалираните от експерименталните честоти също са малки. Но отклонението на скалираните честоти от експерименталните нараства с нарастване на отместването на вибрационната честота като наклоните на графиките, получени с двата функционала, както и с MP2 метода, са различни. Това показва, че използването на еднакъв скалиращ коефициент за комплексите с различно отместени ОН трептения не е точно и не може адекватно да възпроизведе експерименталните данни. За да можем от изчислените стойности на вибрационните честоти на О-Н групата в комплексите да получим стойности, които са директно сравними с експерименталните данни, като добавка към стандартното скалиране, ние приложихме допълнителен скалиращ фактор β , действащ само върху честотното отместване.



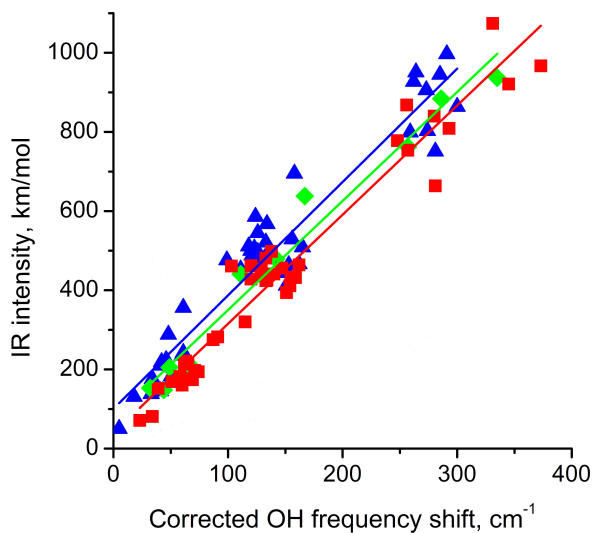
Фигура 2. Корелация между изчислените честоти на валентните ОН трептения на метанола в изследваните комплекси (триъгълници – B3LYP, квадрати – M05–2X, ромбове – MP2) и съответните експериментални стойности (черната линия; виж Таблица 4.7). а) показва изчислените честоти скалирани с постоянните коефициенти за DFT функционалите от ref. 6, 24. б) показва изчислените честоти допълнително коригирани за честотното отместване при формиране на водородните връзки според уравнение (1); корелационните коефициенти на линейните зависимости са: 0.946, 0.990 и 0.955 съответно за B3LYP, M05–2X и MP2.

С тази процедура получихме следния израз за коригираните вибрационни честоти на О-Н групата в комплексите с образувани водородни връзки, ν_{corr} :

$$\nu_{\text{corr}} = \nu_{\text{calc}}(\text{MeOH}) \times \alpha + [\nu_{\text{calc}}(\text{MeOH-RX}) - \nu_{\text{calc}}(\text{MeOH})] \times \beta \quad (1)$$

Използвайки публикуваните стойности на коефициентите α : $\alpha(\text{B3LYP}) = 0.955$, $\alpha(\text{M05-2X}) = 0.936$ [6, 24], получихме следните стойности на коефициентите β : $\beta(\text{B3LYP}) = 0.783$, $\beta(\text{M05-2X}) = 0.747$ and $\beta(\text{MP2}) = 0.826$. На Фиг. 2b е показана графиката, отразяваща корелацията на експерименталните стойности със стойностите, изчислените по уравнение (1) чрез използването на допълнителен скалиращ фактор. Както може да се види, корелацията между експерименталните и изчислените стойности за B3LYP, M05-2X и метода MP2 е много добра, а наклонът на графиките е равен на 1.000 за целия регион на валентните ОН трептения.

Ако се разгледат всички серии изследвани комплекси, изчислените ИЧ интензитети корелират със стойността на отместване на съответната вибрационна честота $\Delta\nu_{\text{corr}}$ (Фиг. 3).

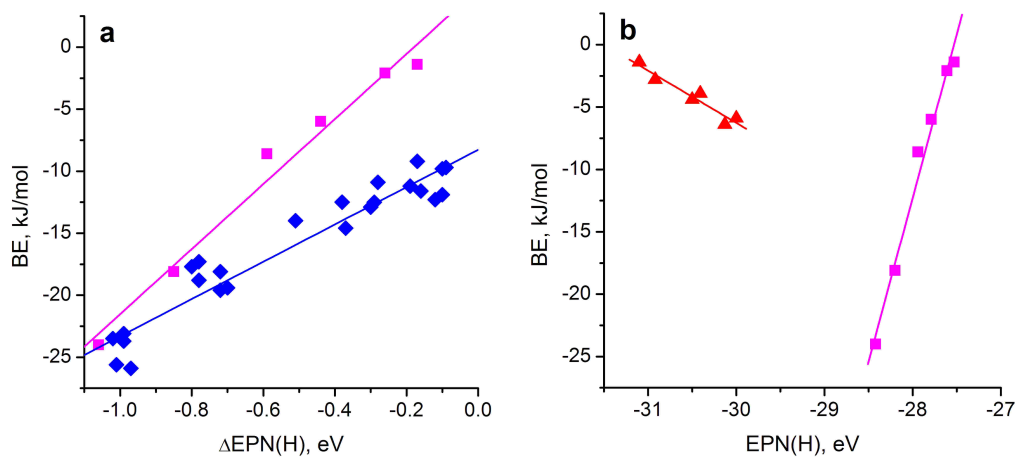


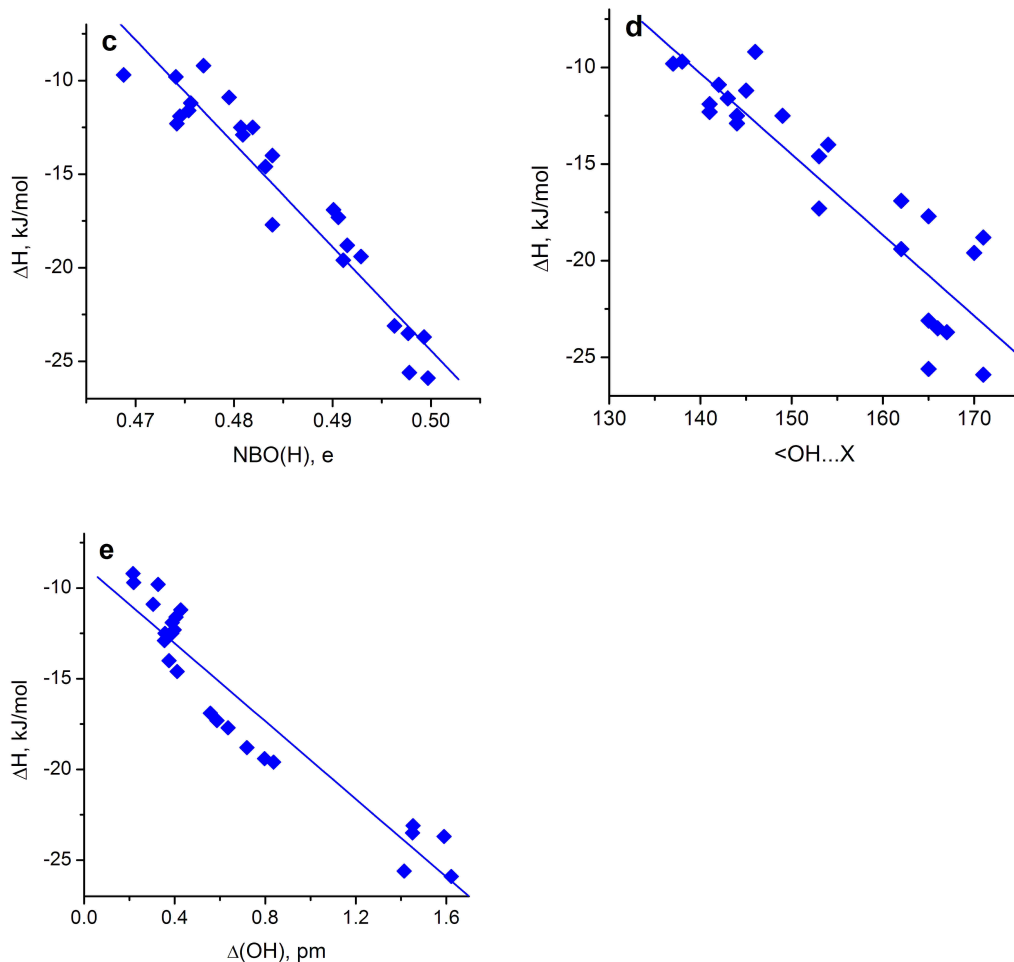
Фигура 3. Корелация между изчислените ИЧ интензитети на валентните ОН трептения на метанола в изследваните комплекси и коригираните отмествания на същата вибрация (триъгълници – B3LYP, квадрати – M05-2X, ромбове – MP2). Уравненията и корелационните коефициенти на линейните зависимости са: $y=3.02x+80$ ($R^2=0.92$), $y=2.76x+39$ ($R^2=0.94$) и $y=2.76x+75$ ($R^2=0.97$) съответно за B3LYP, M05-2X и MP2.

4.6 Анализ на разпределението на електронната плътност при изследваните комплекси

Анализиран са корелациите между различните електронни характеристики на изследваните комплекси и техните енергии на свързване (Фиг. 4а–с). В съгласие с предходни изследвания [31,32], енталпията на образуване или свързващата енергия на комплексите корелира с промяната на EPN при H атом, участващ при формиране на водородната връзка. На Фигура 4а са показани корелациите при напълно оптимизираните комплекси на амините, алкохолите, флуоридите и хлоридите (син ромб). Такава корелационна зависимост се получава само когато се включат всички серии от комплекси с различните протоноакцепторни атоми. Корелационната зависимост обаче не е валидна в рамките на отделните серии. На Фигура 4а е показана и корелацията при комплексите с фиксирана ориентация на водородната връзка HB1 (лилави квадрати). Там са включени комплексите на метанола с MeNH_2 , MeOH , MeF , MeCl , PhF и PhCl . Правите са много близки в региона на комплексите на амините, защото в този регион свързването се осъществява главно чрез водородната връзка HB1. Двете прави обаче се разминават значително при халогенопроизводните, където HB2 има съществен принос за стабилността на комплексите.

Аналогична корелация между енергията на свързване BE и стойността на EPN(H) при водородния атом се наблюдава и при фиксираните комплекси с водородна връзка от типа HB2 (червени триъгълници на Фиг. 4b).



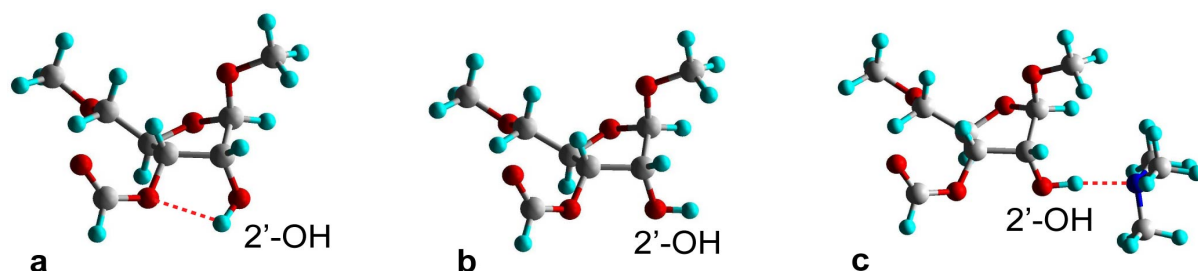


Фигура 4. Корелация между изчислените енталпии ΔH или BE за формиране на водородните връзки и (a) електростатичните потенциали при ядрата на водородните центрове, $EPN(H)$, участващи в образуването на водородните връзки при оптимизираните структури (сини ромбове, $R^2 = 0.922$) и структурите с фиксирана ориентация за образуване на HB1 връзките (лилави квадрати, $R^2 = 0.980$); (b) $EPN(H)$ при водородните центрове участващи в образуването на HB1 (розови квадрати, $R^2 = 0.980$) и HB2 (червени триъгълници, $R^2 = 0.988$) за структурите с фиксирана ориентация; (c) NBO заряди при протона на OH групата на метанола за оптимизираните структури ($R^2 = 0.920$); (d) оптимизираните ъгли на водородните връзки $\langle \text{O-H-X} \rangle$ ($R^2 = 0.826$) и (e) удължаването на O-H връзката на метанола при образуване на комплексите ($R^2 = 0.880$).

4.7 Изследване на възможността протоноакцепторна група да влияе върху биосинтеза на протеини в рибозомата

Известно е, че наличието на протонодонорна група в непосредствена близост до 2'-ОН единствено може да улесни протеиновия биосинтез [33]. Водородната връзка до 2'-ОН (когато 2'-ОН е акцептор на протон) понижава активационната бариера на скоростоопределящия етап на реакцията с до около 30 kJ/mol в зависимост от разположението на страничната група. Така, за да се инхибира протеиновия биосинтез е необходимо да се блокира вициналната 2'-ОН чрез свързване с водородна връзка със странична протоноакцепторна група. Тази странична водородна връзка трябва да е по-здрава от вътрешномолекулната.

Изчислената енталпия на образуване за вътрешномолекулната водородна връзка в рибозата е -10.3 kJ/mol (M05-2X). Тази стойност е получена като разлика от стойностите на ΔH на двата конформера на моделната система с наличие на водородна връзка (Фиг. 5a) и без водородна връзка (Фиг. 5b).



Фигура 5. 3'-формил-1',5'-диметилрибоза, модел за Т-РНК в рибозомата, свързана към полипептидна верига при процеса на протеиновата биосинтеза; (a) 2'-ОН групата участва във вътрешномолекулна водородна връзка; (b) молекулата без наличие на вътрешномолекулната водородна връзка; (c) молекулата свързана с триметиламин чрез водородна връзка от типа 2'-ОН-N.

Съгласно тези резултати, алифатните амини, алкохоли и етери образуват сравнително здрава водородна връзка като протоноакцептори с метанола. Съответните стойности са $\Delta H = -22.7 \div -28.7, -16.9 \div -19.6, -16.8 \div -21.3$ kJ/mol, т.е. тези водородни връзки са по-здрави от вътрешномолекулната водородна връзка в рибозата. При алифатните хидроксилни производни е възможно 2'-ОН групата от рибозата да участва в страничната водородна връзка като донор или акцептор на протон. Затова в тези случаи трябва да сравним следните величини

i) енталпията на образуване на страничната водородна връзка където 2'-ОН е донор на протон и ii) сумата от енталпиите на образуване на страничната водородна връзка, в която 2'-ОН е протоноакцептор и на вътрешномолекулната водородна връзка в рибозата. Във възможните комплекси и двете водородни връзки с 2'-ОН като донор или акцептор са еднотипни (между алифатни ОН групи). Поради това комплексът, в който 2'-ОН е акцептор на протон ще бъде с около 10.3 kJ/mol по-стабилен от този, в който 2'-ОН е протонодонор. По тази причина странична хидроксилна група (както фенолна, така и алифатна) може да действа само като активатор, но не и като инхибитор на протеиновия биосинтез в рибозомата.

Подобно на алкохолите, първичните и вторични амини могат да играят ролята на протонодонори. В случая на фениламина системата, в която 2'-ОН групата играе ролята на протоноакцептор, е по-стабилна с 8 kJ/mol от системата, в която ароматният амин е протоноакцептор. В случая с първичните алифатни амини, енергетичната разлика е около 14 kJ/mol в полза на системата, в която аминът е акцептор на протон. За вторичните алифатни амини тази разлика е 16 – 19 kJ/mol в същата посока, в тези стойности не е отчетена вътрешномолекулната водородна връзка. Но и след нейното отчитане (10.3 kJ/mol) можем да заключим, че вторичните алифатни амини могат да свържат Н атома от 2'-ОН групата на рибозата и по този начин да инхибират протеиновия биосинтез. Третичните амини и етерите могат да участват във формирането на водородната връзка само като акцептри на протон, и по този начин те могат лесно да разкъсат вътрешномолекулната водородна връзка и да инхибират процеса. За тази цел е направена пълна оптимизация на комплекса на рибозата (с 2'-ОН като донор на протон) и триметиламина (Фиг. 5с). Както следва от изчислената енталпия на свързване, тази структура е с 25.4 kJ/mol по-стабилна от структурата с вътрешна водородна връзка в рибозата и изолирана молекула триметиламин.

Етил, пропил и циклохексил флуоридите биха участвали в малко по-силна водородна връзка от вътрешномолекулната при рибозата. Депротонирана карбоксилна група също може да образува желаната водородна връзка, в която 2'-ОН може да бъде единствено донор на протон.

В заключение може да се каже, че само вторичните или третични алифатни амини, алкокси групите, депротонираните карбоксилни групи и някои алифатни флуориди могат да попречат на 2'-ОН групата от рибозата да участва във вътрешномолекулната водородна връзка.

5. Моделиране взаимодействие на Na^+ и Mg^{2+} йони със скелета на нуклеинова киселина

5.1 Динамика на системата, съдържаща натриеви йони

Дължината на симулацията на системата съдържаща два натриеви йона и фосфатния скелет на динуклеотид РНК е 125 ps. В Таблица 5, са представени условията, при които е проведена симулацията и продължителността на съответните периоди от нея. През първите 104 ps температурата, поддържана от термостата, е 300 K, докато в последните 21 ps температурата е 320 K, за да се ускори еволюцията на системата.

След 1 ps (необходимото време за стабилизиране на температурата до 300 ± 20 K), и двата натриеви йона остават близо до началната си позиция: един от Na^+ йоните, отбелязан като Na^+1 (Фиг. 6b,c), е свързан директно с кислороден атом O1 от фосфатната група P1, докато другият Na^+ йон (Na^+2) взаимодейства с една от фосфатните групи чрез една водна молекула като е напълно солватиран от водни молекули (Фиг. 6b,c). Na^+1 йонът остава директно свързан с O1 до 18^{та} ps от симулацията. Радиално разпределителната функция (RDF) за разстоянието Na^+1 -O1 през периода 1-18 ps има максимум при 235 pm, което показва директен контакт между натриевия йон и кислородния атом от фосфатната група. Солватирането на йона Na^+1 започва след 18^{та} ps. Радиално разпределителната функция за Na^+1 -O1 през периода от 18^{та} до 66^{та} ps от симулацията притежава няколко максимума. Тези максимума отразяват процеса на движение на натриевия йон в разтвора без директен контакт с кислородните атоми от фосфатната група. Последният максимум е при 455 pm. Тази стойност показва индиректното взаимодействие на Na^+1 йона с кислородните атоми от фосфатната група - през две водни молекули. След този период Na^+1 йон се свързва отново с кислородния атом O1 за около 30 ps (от 66^{та} до 95^{та} ps), което се вижда и от Na^+1 -O1 RDF с максимум при 255 pm. След 95^{та} ps йонът отново започва да се солватират и в периода 104-125ps (симулиран при 320 K) е вече напълно солватиран. Максимумите на RDF (Na^+1 -O1) за периодите 95-104 ps и 104-125 ps са съответно при 335 и 455 pm.

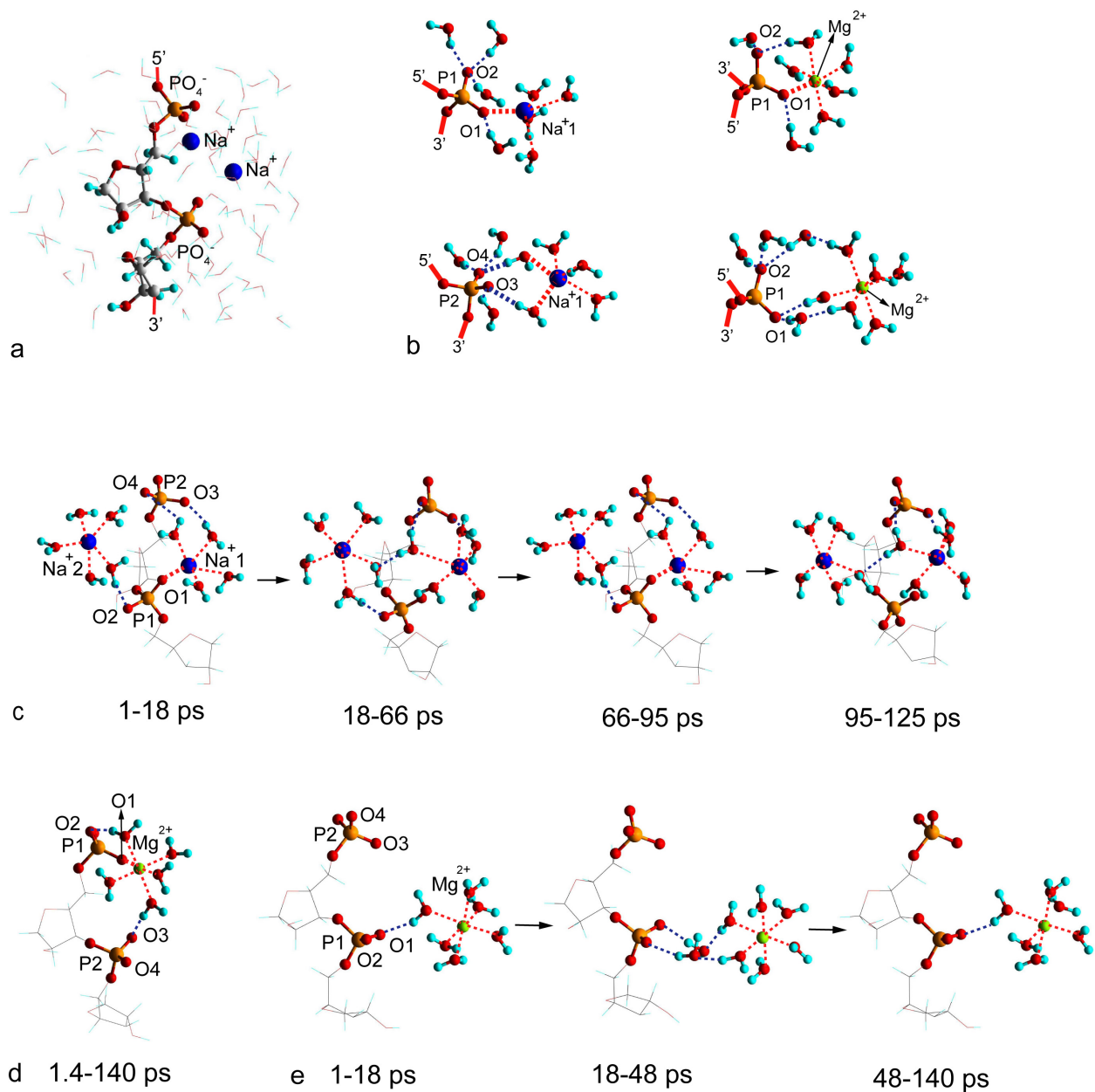
Таблица 5. Информация за динамичните симулации: период от време на симулацията в ps; температура в K; разстояния M-O1 между катиона M и O1 от фосфатната група P1 или M-O между катиона и кислородните атоми от първата му координационна сфера (представено като пика на радиално разпределителната функция, RDF, в pm); и времето (в проценти) през което йоните координират различен брой кислородни атоми %N.

Катион ^a	Темп.	Период	M-O1	M-O	%N ^b	Коментар
Na ⁺ 1	300	1-18	235	235	19/ 61 /20/0	Na ⁺ 1 свързан към O1
Na ⁺ 2			665	235	9/ 79 /12/0 ^c	Na ⁺ 2 солватиран
Na ⁺ 1	300	18-66	455	235	2/ 88 /8/1	Na ⁺ 1 солватиран
Na ⁺ 2			645	235		Na ⁺ 2 солватиран
Na ⁺ 1	300	66-95	255	245	1/32/ 52 /15	Na ⁺ 1 свързан към O1
Na ⁺ 2			645	245		Na ⁺ 2 солватиран
Na ⁺ 1	300	95-104	355	235	1/ 81 /18/0	Na ⁺ 1 солватиран
Na ⁺ 2			665	235		Na ⁺ 2 солватиран
Na ⁺ 1	320	104-125	455	245	3/ 82 /14/1	Na ⁺ 1 солватиран
Na ⁺ 2			665	235	3/ 78 /19/0 ^c	Na ⁺ 2 солватиран
Mg ²⁺ свързан	300	1-61	205	215	0/0/ 100 /0	Mg ²⁺ свързан към O1
Mg ²⁺ свързан	320	61-140	205	215	0/0/ 100 /0	Mg ²⁺ свързан към O1
Mg ²⁺ солв.	300	1-61	465-565	215	0/0/ 100 /0	Mg ²⁺ солватиран
Mg ²⁺ солв.	320	61-140	425	215	0/0/ 100 /0	Mg ²⁺ солватиран

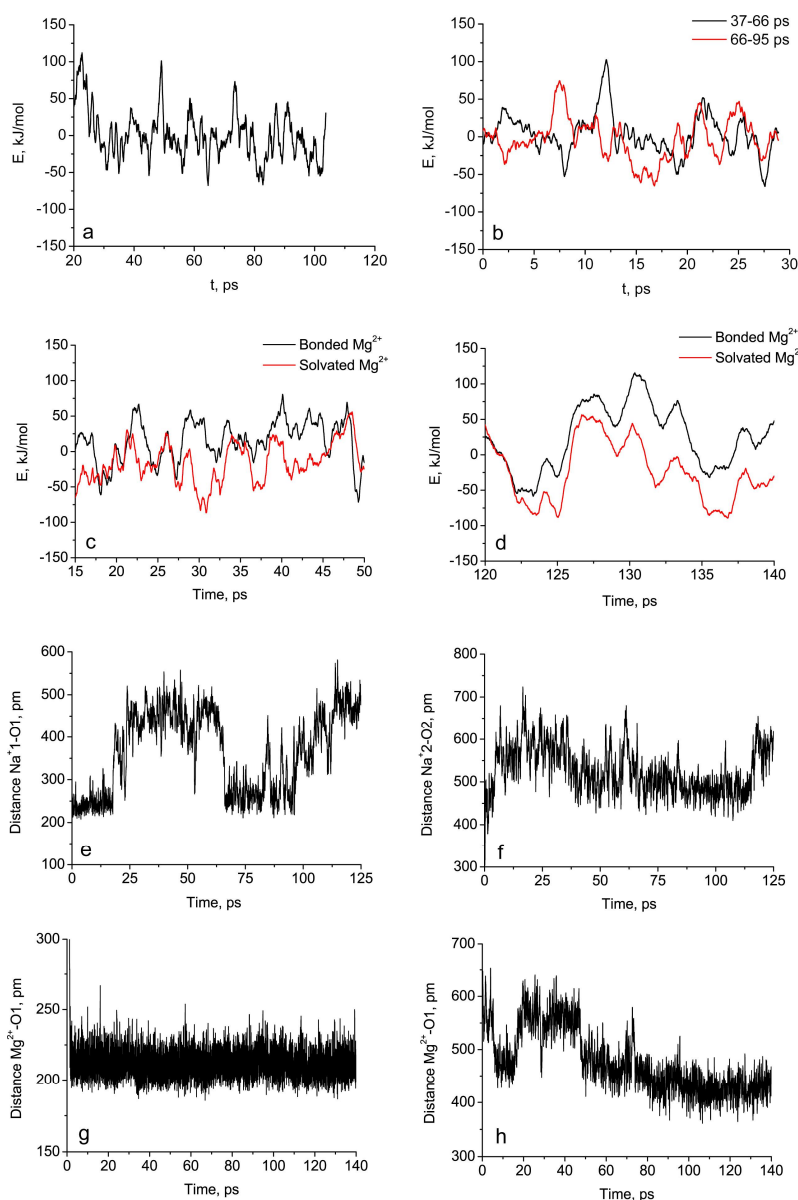
a – за номерацията на атомите виж Фиг. 6 и описанието от текста.

b – числата a/b/c/d в колоната представляват времето (в проценти), през което координационното число на йона е 4, 5, 6 и 7. Най-високата стойност е с удебелен шрифт.

c – за Na⁺2 стойностите са получени за целите периоди на симулацията при 300 и 320 K, 1-104 и 104-125 ps.



Фигура 6. Избрани моменти от симулациите: (а) периодичната кутия, в която са извършени симулациите, съдържаща фосфатен скелет от РНК и два натриеви йона (водните молекули са представени само като линии); (б) водните молекули, солватиращи фосфатните групи P1 и P2 и катионите в свързано или солватирано състояние; (с) натриевите йони през различни периоди от симулацията; (д) свързания магнезиев йон и (е) солватирания магнезиев йон през различни периоди от симулацията.



Фигура 7. (а) Динамика на потенциалната енергия при система с два натриеви йона за времевия интервал 20-104 ps, симулирана при 300 K и (b) сравнение на потенциалната енергия за периодите 37-66 ps (солватиран Na^+) и 66-95 ps (свързан Na^+); стойностите са осреднени през 1000 точки, нулевата стойност на енергията отговаря на средната стойност за целия период 20-104 ps, -2193.71634 Hartree. (c) и (d) Динамика на потенциалната енергия на системата със солватиран магнезиев катион за интервалите 15-50 ps при 300 K (c) и 120-140 ps при 320K (d); стойностите са осреднени през 1000 точки, нулевата стойност на енергията за (c) е -2169.04305 Hartree, което отговаря на средната стойност от всички точки за свързания и солватиран Mg^{2+} в периодите 15-50 ps; нулевата стойност на енергията за (d) е -2169.04721 Hartree отговаря на средната стойност от всички точки за свързания и солватиран Mg^{2+} в периодите 120-140 ps. (e) - (h) Динамика на разстоянието между металния катион и кислородните атоми от фосфатните групи за Na^+ (e) и Na^+ (f) и за Mg^{2+} в симулациите със свързан (g) и солватиран (h) магнезиеви йони.

Трябва да се отбележи, че Na^+ йонът се свързва монодентатно към кислороден атом от фосфатната група. По този начин Na^+ йона се свързва към P1 в периодите 1-18 ps и 66-95 ps, оставайки в близък контакт само с един кислороден атом от фосфатната група, Фиг. 6b. Другият терминален кислороден атом от фосфатната група, O2, остава на повече от 350 pm от катиона. Когато Na^+ йонът не е директно свързан с O1, той взаимодейства с всеки един от фосфатните кислородни атоми O1 и O2 чрез две водни молекули. През по-голямата част от симулацията (5-125 ps), Na^+ взаимодейства с кислородните атоми от далечната фосфатна група, O3 и O4, чрез една водна молекула от първата координационна обвивка на Na^+ йон, образувайки 8-членен пръстен Фиг. 6b. Вторият натриев йон Na^+ остава напълно солватиран по време на цялата симулация, 1–125 ps. Най-близкият фосфатен кислороден атом до Na^+ е O2, следван от O4, който е отдалечен на около 100 pm (също може да се види на Фиг. 6c). Na^+ взаимодейства с O2 през една водна молекула за първоначалния период на симулацията, 1-24 ps. През периода 24-37 ps, Na^+ взаимодейства с O2 през две водни молекули и през периода 37-120 ps отново през една водна молекула. През последните 5 ps от симулацията Na^+ взаимодейства с O2 през две водни молекули.

5.2 Енергия на системите

Потенциалната енергия на системата с два натриеви катиона за периода 20-104 ps е показана на Фиг. 7a. За по-добро визуално възприемане на графиката, функцията е изгладена чрез осредняване на всеки 1000 точки. Трябва да се отбележи, че локалните минимума и максимуми на потенциалната енергия не корелират с никакви специфични позиции на металните йони спрямо фосфатните групи, а до голяма степен отразяват вариации на подреждане на водните молекули в системата. Вариациите на потенциалната енергия от същия порядък са наблюдавани в симулации на вода с *ab initio* молекулна динамика. За да се сравнят енергиите на системата при двете отделни позиции на натриевия йон Na^+ – свързан с O1 и солватиран, потенциалните енергии при съответните периоди 37-66 ps и 66-95 ps (и двата периода включват 29 ps от симулацията) са представени на Фиг. 7b. Средната стойност на потенциалната енергия през периода 66-95 ps, когато Na^+ йона е директно свързан с O1 е с 6 kJ/mol по-ниска от енергията, когато Na^+ е солватиран йон. Имайки в предвид големите вариации на потенциалната енергия на системата, разлика от 6 kJ/mol може да се

приеме за пренебежимо малка и може да се приеме, че се дължи на вариациите в подреждането на водните молекули. Заради това двете позиции на натриевия йон могат да се считат за енергетично еквивалентни. Енергията на системата не зависи пряко от позицията на натриевите йони спрямо фосфатните групи, т.е. дали йоните са директно свързани или солватирани.

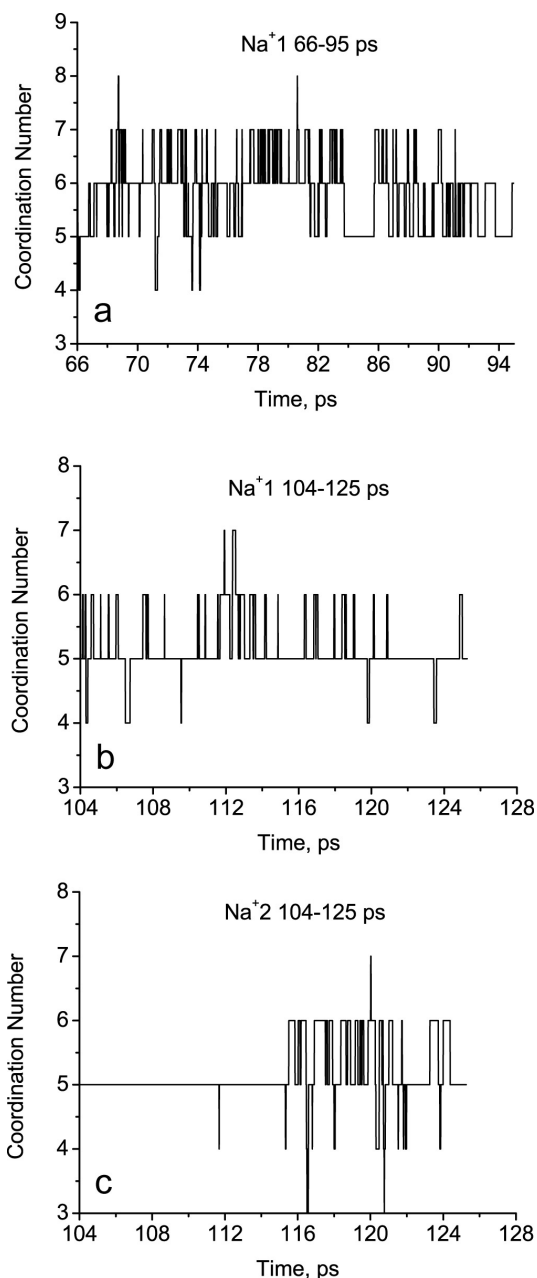
Еволюцията на потенциалната енергия на системите с директно свързан или солватиран магнезиев йон е представени на Фиг. 7c,d. Потенциалните енергии могат да се проследят от 15та до 50та ps (300 K), когато солватираният Mg^{2+} взаимодейства с O1 през 2 водни молекули. Също така и за периода 120-140 ps (320 K) отговарящ на последните 20 ps от симулациите. Тогава Mg^{2+} взаимодейства с O1 през 1 водна молекула. Както при симулациите с натриеви йони, локалните минимума и максимуми на потенциалната енергия не корелират с позицията на металните йони спрямо фосфатните групи, а вероятно отразяват промените в разположението на водните молекули в системата.

5.3 Солватационна обвивка на натриевите йони

За катионът Na^{+2} , който е солватиран през време на цялата симулация, разстоянията $Na^{+2}-O$ до кислородните атоми в първата му координационна обвивка са в границите между 205 pm и 325 pm, с максимум при 235 pm. Максимумът показва най-често срещаното разстояние между йона и кислородните атоми от заобикалящите водни молекули. Стойността на RDF в първия минимум при 325 pm не достига нула, което е индикация за не добре дефинирана първа координационна обвивка на йона [34]. Координационните числа (стойностите на интеграла на RDF в първия минимум) за първата координационна обвивка са 5.10 и 5.22 съответно за периодите 1-104 ps и 104-125 ps. Йонът е най-често солватиран от 5 водни молекули, но има моменти от симулацията, в които солватационната обвивка съдържа 4 или 6 водни молекули.

За Na^{+1} йона, който е свързан с фосфатния кислороден атом O1 през периодите 1-18 ps и 66-95 ps, първата координационна обвивка започва от 205 pm и завършва при 315-325 pm. Максимумът на RDF $Na^{+1}-O$ е в интервала 235-245 pm. Средно 5 кислородни атома участват в първата координационна обвивка на натриевия йон – 4 от водни молекули и един кислороден атом от фосфатната група (Таблица 6). Изключение прави периодът 66-95 ps, в който натриевият йон има 6 кислородни съседа в първата си координационна обвивка - 5 от водни молекули и един кислороден атом от фосфатната група. Вторият максимум на

RDF за $\text{Na}^+\text{-O}$ се явява при 435-445 pm и стойността на интеграла при втория минимум показва, че втората координационна обвивка на натриевия йон съдържа около 13 водни молекули.



Фигура 8. Промяна на координационното число за Na^+1 и Na^+2 катионите през посочените периоди от симулацията. При определяне на координационното число са включени Na-O разстояния до 320 pm.

Таблица 6. Характеристики на първия и втори пик на радиално-разпределителните функции, RDF, за междуатомните разстояния на Na⁺1, Na⁺2 и Mg²⁺ йоните и всички кислородни или водородни атоми от изучаваните системи в различните времеви периоди.

Период ^a	Първи пик				Втори пик			
	Начало	Макс.	Край	Инт.	Начало	Макс.	Край	Инт.
2 Na⁺ йона								
Na ⁺ 1-O 1-18	205	235	315	5.0	315	445	535	23.7
Na ⁺ 1-O 18-66	205	235	325	5.1	325	435	515	20.8
Na ⁺ 1-O 66-95	205	245	315	5.8	315			
Na ⁺ 1-O 104-125	205	245	315	5.1	315	445	515	21.2
Na ⁺ 1-H 1-18	215	295						
Na ⁺ 1-H 18-66	225	295	355	12.0	355			
Na ⁺ 1-H 66-95	215	295	395	16.1	395	495	535	36.4
Na ⁺ 1-H 104-125	215	295	375	14.6	375			
Na ⁺ 2-O 1-104	205	235	325	5.1	325	445		
Na ⁺ 2-O 104-125	205	235	325	5.2	325	435		
Na ⁺ 2-H 1-104	215	295	385	14.5	385	495	565	48.1
Na ⁺ 2-H 104-125	215	295	385	14.5	385	485		
Mg²⁺ - свързан								
Mg ²⁺ -O 1.4-61	185	215	295	6.0	295	415	495	20.2
Mg ²⁺ -O 61-140	185	215	305	6.0	305	425	505	20.8
Mg ²⁺ -H 1.4-61	215	275	365	12.5	365	485		
Mg ²⁺ -H 61-140	225	275	375	12.6	375	495		
Mg²⁺ - солв.								
Mg ²⁺ -O 1-18	185	215	285	5.9	285	425	505	21.3
Mg ²⁺ -O 18-48	185	215	305	6.0	305	425	515	23.0
Mg ²⁺ -O 48-61	185	215	275	6.0	275	435	505	21.5
Mg ²⁺ -O 61-140	185	215	285	6.0	285	425	485	19.1
Mg ²⁺ -H 1-18	225	275	345	12.4	345	475		
Mg ²⁺ -H 18-48	225	275	325	12.5	325	465		
Mg ²⁺ -H 48-61	235	275	325	12.6	325	475		
Mg ²⁺ -H 61-140	225	275	345	12.6	345	485		

a – за номерацията на атомите виж Фиг. 6 и описанието от текста.

За сравнение на взаимодействието на натриевия йон Na⁺1 с кислородните атоми O1 и O2 от фосфатната група и тези от водните молекули са представени

радиално разпределителните функции между Na^+1 - O1 или O2, и между Na^+1 и всички кислородни атоми в системата освен O1 и O2. Изследвани са периодите, когато Na^+1 е свързан към фосфатната група. За периода 1-18 ps и двата максимума се намират при 235 pm, показвайки равно осреднено разстояние между натриевия йон и кислородните атоми от водните молекули или O1 от фосфатната група. За периода 66-95 ps, средното разстояние Na^+1 -O1 е малко по-голямо, 245-255 pm. Максимумите на RDF Na^+1 -O2 се намират съответно при 410 и 390 pm.

Промяната на координационните числа на натриевите катиони могат да се проследят като частта от времето (в проценти), през която йонът координира съответния брой кислородни атоми (Таблица 5, Фиг 8). През всички симулации най-често срещаното координационно число на натриевите йони е пет (с 61 до 88% за Na^+1 йона в различни времеви интервали и 78-79% за Na^+2 йона). Следва координационното число 6. Изключение е периода 66-95 ps, когато Na^+1 йона е директно свързан с фосфатния кислороден атом O1, когато най-често срещаното координационно число е 6 (с 52%), следвано от 5 и 7. Не е наблюдавано ясно изразено влияние на температурата върху координационното число на натриевите йони.

5.4 Динамика на системите със солватиран и свързан магнезиев йон

В началото на симулацията магнезиевият йон е солватиран от водни молекули и се намира на около 500 pm от кислородния атом от фосфатната група P1 (O1), взаимодействайки с него през една водна молекула (Фиг. 6e). Йонът Mg^{2+} остава солватиран по време на цялата симулация (1-140 ps). В началния период, 1-18 ps, магнезиевият йон взаимодейства с O1 през една водна молекула като разстоянието Mg^{2+} -O1 е около 465 pm. В периода 1-18 ps Mg^{2+} взаимодейства и с O2 и O3 през две водни молекули. През периода 18-48 ps Mg^{2+} йон се отмества и взаимодейства с кислородните атоми O1 и O2 през две водни молекули, като разстоянието Mg^{2+} -O1 е 565 pm, със 100 pm по-дълго от предишната позиция. След 48^{та} ps от симулацията Mg^{2+} йона отново се приближава до кислородния атом O1 и се свързва с него през една водна молекула. Разстоянието Mg^{2+} -O1 е 465 pm. През този период магнезиевият йон взаимодейства с O2 и O3 през 2 водни молекули. В последния период, 61-140 ps, симулиран при 320 K, Mg^{2+} йона взаимодейства с кислородния атом O1 през една водна молекула като

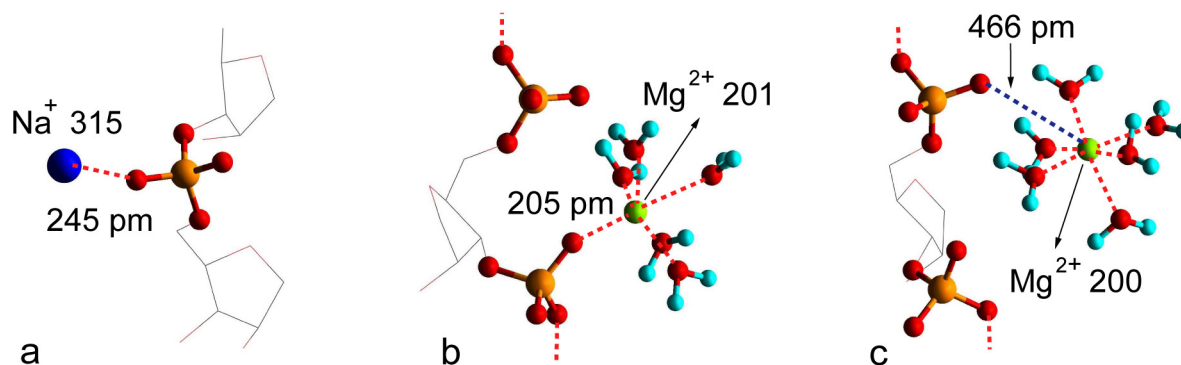
разстоянието Mg^{2+} -O1 425 pm, с 40 pm по-малко отколкото в аналогичната позиция, симулирана при 300 K (периодите 1-18 и 48-61 ps).

Първата координационна обвивка на солватирания магнезиев йон съдържа точно 6 кислородни атома (Таблица 6), всички принадлежащи на водни молекули. Първият максимум на RDF Mg^{2+} -O се намира при 215 pm, а вторият максимум на функцията е при 425 pm за всички периоди от симулацията. Количеството водни молекули във втората координационна обвивка обаче се различава в различни периоди: то е 17 когато магнезиевият йон взаимодейства с фосфатните групи през 2 водни молекули и намалява до 14 когато Mg^{2+} е свързан през една водна молекула, тъй като една част от водните молекули са заменени от фосфатните кислородни атоми. При 320 K (61-140 ps) се наблюдава по-нататъшно намаляване броя на водните молекули във втората координационна обвивка на Mg^{2+} йона до 12.

От начално свързано състояние с фосфатната група, магнезиевият йон остава свързан през цялата симулация: 1.4–61 ps при 300 K и 61–140 ps при 320 K (Фиг. 6d). Най-вероятното разстояние между магнезиевия йон и кислородния атом (изчисленото като максимума на RDF за разстоянието Mg^{2+} -O1 е 205 pm както при 300 K (1.4–61 ps), така и при 320 K (61–140 ps). Магнезиевият йон се свързва с фосфатната група монодентатно, оставайки в директен контакт само с O1.

5.5 Сравнение с експериментални резултати и резултати от изчисления

Натриевият йон е особено трудно да бъде идентифициран в нуклеиновите киселини чрез рентгенова кристалография тъй като е трудно различим от молекула вода [35,36**Error! Bookmark not defined.**]. По тази причина представяме само един пример на натриев йон, директно свързан с фосфатна група (Фиг. 9а). Тази структура съответства на Na^+ йон с номер 315 от PDB 2OJ0 [3737] с резолюция от 260 pm. Разстоянието между йона и кислородния атом от фосфатната група е 245 pm, което е в съгласие с типичното разстояние Na^+ -O1, изчислено от нашите динамични симулации, 235-255 pm.



Фигура 9. Специфични начини за взаимодействието на фосфатните групи от скелета на РНК с метални йони: а – с Na^+ йон от PDB 2OJ0 [3737]; б,с - с магнезиеви йони от PDB 354D [38].

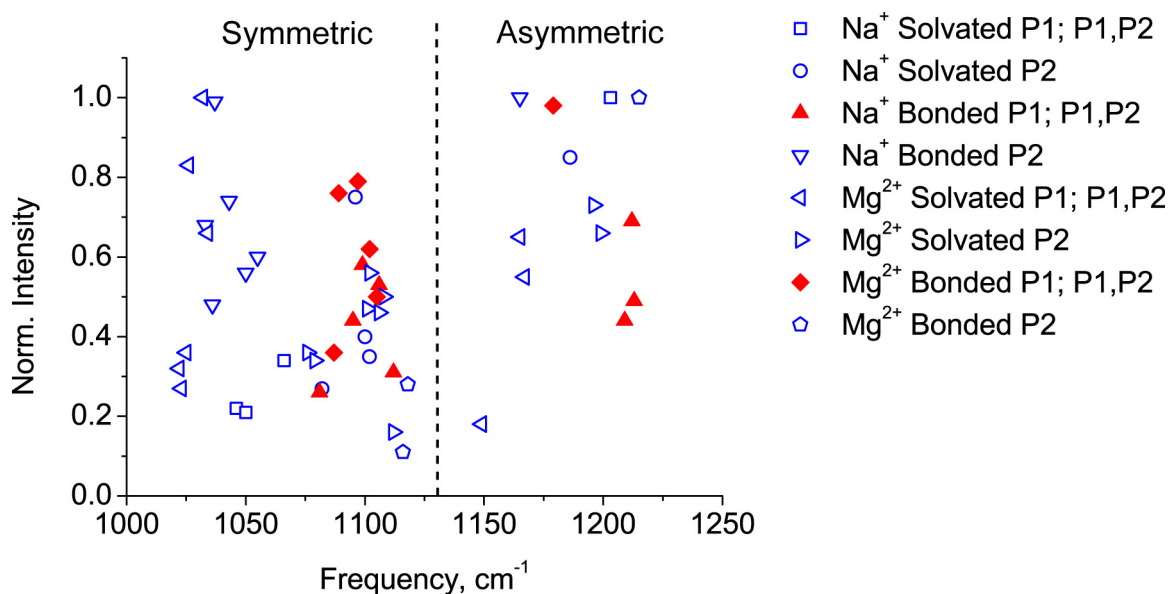
В PDB файловете, отразяващи кристалографски резултати, магнезиеви йони са наблюдавани както директно свързани с фосфатните групи, така и взаимодействащи само с водни молекули [38-40]. Разстоянията $\text{Mg}^{2+}\text{-O(P)}$ за магнезиевите йони, взаимодействащи директно с фосфатните кислородни атоми в голямата рибозомна субединица, са по-къси от 240 pm [39]. Според данните представени от Subirana et al. [3636], средното разстояние $\text{Mg}^{2+}\text{-O(P)}$ е равно на 203 pm. Тази стойност е получена чрез осредняване на данните за Mg^{2+} йони в системи, изследвани с много висока резолюция, 89-120 pm. Резултатът е много близък до този, получен от нашата динамична симулация, 205 pm. Друг пример за аналогична позиция на магнезиев йон е представена на Фиг. 9б. На нея може да се наблюдава Mg^{2+} йона с номер 201 от PDB 354D [38], изследван при резолюция 150 pm, където разстоянието $\text{Mg}^{2+}\text{-O(P)}$ също е 205 pm. Друг експериментално наблюдаван пример е показан на Фиг. 9с. На нея е представен Mg^{2+} йон номер 200 от PDB 354D [38], с разстояние $\text{Mg}^{2+}\text{-O(P)}$ равно на 466 pm. Тази стойност попада в границите, които получаваме от симулациите с *ab initio* молекулна динамика (Фиг. 6е).

Използвайки геометрична оптимизация с DFT на изолирани модели Petrov et al [41]. получава междуатомни разстояния много близки до оптималните стойности, получени от нашите изчисления. Получените от тях разстояния са както следва: $\text{Mg}^{2+}\text{-O(P)}$ около 200 pm, $\text{Mg}^{2+}\text{-O(Вода)}$ около 215 pm; $\text{Na}^+\text{-O(P)}$ около 235 pm и $\text{Na}^+\text{-O(Вода)}$ около 245 pm. Трябва да се има предвид, че в техните изчисления РНК фрагмента е свързан с магнезиев йон чрез два кислородни атома съответно от две съседни фосфатни групи.

5.6 Вибрационен анализ на фосфатните групи в моделираните системи

На оптимизирана структура на различните моделирани системи беше направен пълен вибрационен анализ експлицитно включващ водните молекули. При анализа на резултатите се спряхме на валентните P–O вибрации на фосфатните групи при различните положения на катионите Na^+ и Mg^{2+} , напълно солватирани или директно свързани. Изчислените честоти на симетричните ν_s и антисиметричните ν_{as} P–O трептения са представени на Фиг. 10, тъй като те се влияят от позициите на металните йони.

Честотите на симетричните трептения ν_s на фосфатните групи, които не са директно свързани с метални йони, се явяват в 2 зони – нискочестотна зона около 1035 cm^{-1} и по-високочестотна зона около 1100 cm^{-1} , което може да се сравни с експерименталните вибрационни честоти, измерени при различни системи около $1023 - 1040\text{ cm}^{-1}$ и $1072 - 1115\text{ cm}^{-1}$ [42]. Всички честоти за ν_s при фосфатните групи, които са свързани с Mg^{2+} или Na^+ йон, се намират само във високочестотната зона, около 1100 cm^{-1} .



Фигура 10. Изчислените честоти на симетричните и антисиметрични трептения на фосфатните групи и техните нормализирани интензитети. Запълнените червени символи представят вибрации на фосфатната група, към която е свързан металния йон. Незапълнените сини символи представят вибрации на фосфатните групи, които са солватирани само от водни молекули без свързан към тях метален йон.

От тези резултати може да се съди, че симетричните вибрации на фосфатните групи могат да се използват експериментално за определяне позицията на натриевия или магнезиевия йон спрямо фосфатните групи. При отсъствие на директно свързан катион ще се наблюдава както нискочестотната, така и по-високочестотната зона. При наличие на директно свързан катион интензитетът на нискочестотните трептения ще намалее, а ще се увеличи интензитетът на по-високочестотната зона.

Подобни тенденции са експериментално наблюдавани чрез Раманова спектроскопия на кристална РНК във водна среда [43]. Честотата на симетричното трептене на фосфатните групи на РНК е била измерена в разтвор на NaCl. Преди добавяне на Mg^{2+} йони тя е била равна на 1100 cm^{-1} , докато след добавяне на Mg^{2+} йони в разтвора се отместила към 1117 cm^{-1} (отместване със 17 cm^{-1} към по-високите честоти). Директното свързване на Mg^{2+} йони с фосфатните групи е потвърдено от XRD измерването [43]. Трябва да се отбележи, че тези експериментални данни са получени от двuverижна РНК, докато изчисленията са проведени използвайки скелета на еднoverижна РНК.

6. Обобщение на резултатите

Резултатите от моделираните комплекси показват, че свързването на метанола с амини, алкохоли и етери се дължи главно на водородната връзка между хетероатома (азот или кислород) и протон от ОН групата на метанола (посочена като водородна връзка тип НВ1). От друга страна за образуването на комплексите с флуоридите и хлоридите (R-X) са отговорни двата типа водородни връзки, НВ1, и водородната връзка НВ2 между кислородния атом от метанола, участващ като протоноакцептор и С-Н групата от халогенопроизводното

Енталпията на свързване на комплексите намалява в реда $R-NH_2 > R-OH > R-F > R-Cl$, където R е алифатната група. Комплексите на ароматните производни имат най-ниска стабилност във всички серии. В реда $R-NH_2, R-OH, R-F, R-Cl$ здравината на НВ1 намалява, докато здравината на НВ2 расте. Този ефект обаче не може да компенсира отслабването на НВ1. По този начин НВ1 има най-голям принос в комплексите на метанола с амини, алкохоли и етери, докато НВ2 има най-голям принос в комплексите на метанола с хлоридите.

Моделирани са три различни структури на комплексите на метанола с карбоксилните киселини. При най-стабилните комплекси енталпията на образуване ΔH е около -42 kJ/mol . Те се характеризират с два типа водородни връзки, тип НВ3 (при които карбоксилната група е донор на протон, а кислородния атом от метанола акцептор) и НВ1. Изчислените Гибсови енергии на образуване на комплексите от сериите показват, че всички комплекси с изключение на тези, в които участват EtCOOH, PrCOOH и iPrCOOH са нестабилни при стайна температура.

Сравнението на изчислените енталпии на образуване на комплексите с налични експериментални данни за хидроксилни и аминокиселини производни показва, че резултатите получени с функционала M05-2X съвпадат с експеримента (в рамките на експерименталната грешката), с изключение на комплексите с третични амини, за които ΔH_{calc} е с около 5 kJ/mol по-ниска (по абсолютна стойност) от експерименталната стойност. Стойностите, получени с B3LYP, са с $4 - 20 \text{ kJ/mol}$ по-ниски от експерименталните.

Стандартните методи за скалиране на изчислените вибрационни честоти, използващи коефициенти от литературата, работят добре за симулиране на честотата при чист метанол в газова фаза. Ако обаче същият подход се приложи към валентните трептения на ОН групите в комплексите, получените стойности

значително се различават от експерименталните данни. Разликата нараства с нарастващото батохромно отместване на вибрационната честота. Тези наблюдения показват, че такъв тип скалиране не е адекватен за целия диапазон на отместени ОН честоти и при двата използвани DFT функционала (M05-2X и B3LYP). За да се избегне тази слабост, в добавка към стандартното скалиране на валентното трептене на ОН в свободния метанол, приложихме допълнителен скалиращ фактор действащ само върху отместването на вибрационната честота равен на: 0.783 за B3LYP, 0.747 за M05-2X и 0.826 за MP2. Така получените коригирани честоти ν_{corr} възпроизвеждат добре експериментално получените стойности като максималното отклонение за функционала M05-2X е $\pm 19 \text{ cm}^{-1}$.

Беше установено, че зависимостта между енталпията на образуване на комплексите и EPN при водородния атом, участващ във формирането на водородната връзка, се наблюдава само ако се включат комплексите с различните типове акцептори на протони.

Изчислената с M05-2X енталпия на образуване на вътрешномолекулната водородна връзка между 2'-ОН групата и 3'-кислороден атом от ацилираната рибоза е -10.3 kJ/mol . Тази стойност е сравнена с изчислените енталпии на образуване на различните типове междумолекулни водородни връзки за да се установи в кои случаи може да се формира междумолекулна водородна връзка с 2'-ОН като донор на протон и странична група като акцептор на протон. В този случай 2'-ОН групата няма как да образува връзка с 3'-кислородния атом от рибозата, което ще инхибира синтеза на пептидна връзка в рибозомата. Направеният анализ показва, че вторичните и третични амини, алкокси групите, депротонираните карбоксилни киселини и някои алифатни флуориди могат да инхибират биосинтеза на протеини ако попаднат в активния център на рибозомата. Останалите моделирани функционални групи не могат да изпълнят тази функция.

Изследването на взаимодействията на натриеви и магнезиеви йони с фосфатните групи от скелета на РНК във воден разтвор чрез *ab initio* молекулярна динамика на Борн – Опенхаймер показва, че натриевите йони са по-мобилни от магнезиевите йони и често сменят позицията си спрямо фосфатните групи. Йоните могат да се намират както в директно свързано състояние, така и да са напълно солватирани. При 300 K Na^+ остава директно свързан за около 20 - 30 ps като координира само един от кислородните атоми от фосфатната група.

Натриевите йони координират от 4 до 7 кислородни атома от водни молекули или фосфатни групи в първата си координационна обвивка като най-често срещаното координационно число 5 (около 80% от симулационното време), следвано от 6 (около 15% от времето).

По време на цялата симулация, 140 ps, Mg^{2+} йони запазват позицията си - директно свързан с фосфатната група или напълно солватиран, за разлика от натриевия йон. Магнезиевият йон се свързва с един от кислородните атоми от фосфатна група на избрания РНК фрагмент с оптимално $Mg^{2+} \dots O=P$ разстояние от около 205 pm. Напълно солватираният Mg^{2+} взаимодейства с фосфатните групи през една или две водни молекули. Директно свързаните и напълно солватиранияте магнезиеви йони имат точно 6 кислородни атома в първата си координационна обвивка. През цялата симулация при 300 K и 320 K не се наблюдава обмен на лиганди в първата координационна обвивка на Mg^{2+} . Разстоянието между магнезиевия йон и кислородните атоми от първата му координационна обвивка е около 215 pm.

Стабилността на системата съдържаща натриеви йони не зависи пряко от позицията на йоните спрямо фосфатните групи. Енергетичната разлика между свързаното и солватираниято състояние на един от катионите е едва 6 kJ/mol. Тази стойност е пренебрежимо малка за системата и най-вероятно се дължи на вариации в подреждането на водните молекули.

Цитирана литература

- 1 Gaussian 09, Revision A.02, Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A.; Jr., Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, O.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J., Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
- 2 Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B* 1988, 37, 785–789.
- 3 Becke, A. D. *Phys. Rev. A* 1988, 38, 3098–3100.
- 4 Stephens, P. J.; Devlin, F. J.; Chabalowski, C. F.; Frisch, M. J. *J. Phys. Chem.* 1994, 98, 11623–11627.
- 5 Zhao, Y.; Schultz, N. E.; Truhlar, D. G. *J. Chem. Theory Comput.* 2006, 2, 364 – 382.
- 6 Database of Frequency Scaling Factors for Electronic Structure Methods; <http://comp.chem.umn.edu/freqscale/version3b1.htm>, Zheng, J.; Alecu, I. M.; Lynch, B. J.; Zhao, Y.; Truhlar D. G., 2011.
- 7 Mulliken, R. S. *J. Chem. Phys.* 1955, 23, 1833–1840.
- 8 Breneman, C. M.; Wiberg, K. B. *J. Comput. Chem.* 1990, 11, 361–373.
- 9 Reed, A. E.; Curtiss, L. A.; Weinhold, F. *Chem. Rev.* 1988, 88, 899–926.
- 10 Politzer, P.; Truhlar, D. G. Eds. *Chemical Applications of Atomic and Molecular Electrostatic Potentials*; Plenum Press: New York, 1981.
- 11 Kollman, P.; McKelvey, J.; Johansson, A; Rothenberg, S. *J. Am. Chem. Soc.* 1975, 97, 955–965.
- 12 The CP2K developers group, <http://www.cp2k.org/>, 2012.
- 13 VandeVondele, J.; Krack, M.; Mohamed, F.; Parrinello, M.; Chassaing, T.; Hutter, J. *Comput. Phys. Commun.* 2005, 167, 103-128.
- 14 Perdew, J. P.; Burke, K.; Ernzerhof, M. *Phys. Rev. Lett.* 1996, 77, 3865-3868.
- 15 VandeVondele, J.; Hutter, J. *J. Chem. Phys.* 2007, 127, 114105.
- 16 Lovas, F. J.; Hartwig, H. J. *Mol. Spectrosc.* 1997, 185, 98–109.
- 17 Tan, X.-Q.; Ioannou, I. I.; Foltz, K. B.; Kuczkowski, R. L. *J. Mol. Spectrosc.* 1996, 177, 181–193.
- 18 Haeckel, M.; Stahl, W. *J. Mol. Spectrosc.* 1999, 198, 263–277.
- 19 Kone, M.; Illien, B.; Graton, J.; Laurence, Ch. *J. Phys. Chem. A* 2005, 109, 11907–11913.
- 20 Millen, D. J.; Mines, G. W. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2* 1974, 70, 693–699.
- 21 Clague, A. D. H.; Govil, G.; Bernstein, H. J. *Can. J. Chem.* 1969, 47, 625–629.

-
- 22 Inskip, R. G.; Dickson, F. E.; Kelliher, J. M. *J. Mol. Spectrosc.* 1960, 4, 477–479.
 - 23 Courty, A.; Mons, M.; Dimicoli, I.; Piuze, F.; Brenner, V.; Millie, Ph. *J. Phys. Chem. A* 1998, 102, 4890–4898.
 - 24 Alecu, I. M.; Zheng, J.; Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *J. Chem. Theory Comput.* 2010, 6, 2872–2887.
 - 25 Emmeluth, C.; Dyczmons, V.; Suhm, M. A. *J. Phys. Chem. A* 2006, 110, 2906–2915.
 - 26 Hussein, M. A.; Millen, D. J. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2* 1974, 70, 685–692.
 - 27 Hirano, E.; Kozima, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1966, 39, 1216–1220.
 - 28 Provencal, R. A.; Paul, J. B.; Roth, K.; Chapo, C.; Casaes, R. N.; Saykally, R. J.; Tschumper, G. S.; Schaefer III, H. F. *J. Chem. Phys.* 1999, 110, 4258–4267.
 - 29 Inskip, R. G.; Dickson, F. E.; Kelliher, J. M. *J. Mol. Spectrosc.* 1960, 4, 477–479.
 - 30 Djafari, S.; Barth, H.-D.; Buchhold, K.; Brutschy, B. *J. Chem. Phys.* 1997, 107, 10573–10581.
 - 31 Dimitrova, V.; Ilieva, S.; Galabov, B. *J. Phys. Chem. A* 2002, 106, 11801–11805.
 - 32 Galabov, B.; Bobadova-Parvanova, P.; Ilieva, S.; Dimitrova, V. *J. Mol. Struct. (Theochem)* 2003, 630, 101–112.
 - 33 Rangelov, M. A.; Petrova, G. P.; Yomtova, V. M.; Vayssilov, G. N. *J. Mol. Graph. Model.* 2011, 30, 10–14.
 - 34 Schwegler, E. *J. Phys. Conf. Ser.* 2007, 78, 012065.
 - 35 Hud, N.V.; Polak, M. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2001, 11, 293–301.
 - 36 Subirana, J. A.; Soler-López, M. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 2003, 32, 27–45.
 - 37 Ennifar, E.; Walter, P.; Dumas, P. *Nucleic Acids Res.* 2010, 38, 5807–5816.
 - 38 Correll, C.C.; Freeborn, B.; Moore, P. B.; Steitz, T. A. *Cell* 1997, 91, 705–712.
 - 39 Klein, D. J.; Moore, P. B.; Steitz, T. A. *RNA* 2004, 10, 1366–1379.
 - 40 Egli, M.; Minasov, G.; Su, L.; Rich, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002, 99, 4302–4307.
 - 41 Petrov, A.; Bowman, J.; Harvey, S. *RNA* 2011, 17, 291–297.
 - 42 Andrushchenko, V.; Wieser, H.; Bour, P. *J. Phys. Chem. B* 2004, 108, 3899–3911.
 - 43 Gong, B.; Chen, Y.; Christian, E.L.; Chen, J.-H.; Chase, E.; Chadalavada, D.M.; Yajima, R.; Golden, B. L.; Bevilacqua, P. C.; Carey, P. R. *J. Am. Chem. Soc.* 2008, 130, 9670–9672.

Публикации в специализирани международни научни списания, реферирани в ISI Web of Knowledge и SCOPUS, включени в дисертацията на Стефан Колев Колев за получаване на научната и образователна степен „Доктор“ на тема „Квантово-химично изследване влиянието на водородни връзки и метални йони върху РНК“

1. Kolev, S.; Petkov, P.; Rangelov, M.; Vayssilov, G.
„Density Functional Study of Hydrogen Bond Formation between Methanol and Organic Molecules Containing Cl, F, NH₂, OH, and COOH Functional Groups“
J. Phys. Chem. A 2011, **115**, 14054–14068.
IF = 2.94
2. Kolev, S.; Petkov, P.; Rangelov, M.; Vayssilov, G.
„Ab Initio Molecular Dynamics of Na⁺ and Mg²⁺ Counterions at the Backbone of RNA in Water Solution“
ACS Chem. Biol. 2013, **8**, 1576–1589
IF = 5.44

Забелязани цитати върху публикациите, включени в дисертационната работа

- Kolev, S.; Petkov, P.; Rangelov, M.; Vayssilov, G.
„Density Functional Study of Hydrogen Bond Formation between Methanol and Organic Molecules Containing Cl, F, NH₂, OH, and COOH Functional Groups“
J. Phys. Chem. A 2011, **115**, 14054–14068.
1. Zaitseva, K.; Varfolomeev, M.; Solomonov, B. *Russ. J. Gen. Chem.* 2013, **83**, 438-444
 2. Paladino, A.; Zangi, R. *J. Chem. Theory Comput.* 2013, **9**, 1214.
 3. Rondeau-Gagné, S.; Néabo, J.; Desroches, M.; Cantin, K.; Soldera, A.; Morin, J.; *J. Mater. Chem. C* 2013, **1**, 2680.
 4. Bandyopadhyay, B.; Pandey, P.; Banerjee, P.; Samanta, A.; Chakraborty, T. *J. Phys. Chem. A* 2012, **116**, 3836.

Участия в конференции и семинари

1. IX Национална конференция по химия за студенти и докторанти, София 2010, “Формиране на водородни връзки между метанол и Cl, F, NH₂, OH заместени органични молекули. Изследване с Теорията на функционала на плътността.” С. К. Колев, П. Ст. Петков, Г. Н. Вайсилов; (устен доклад)

2. Fourth Humboldt conference on computational chemistry, Varna 2010, “Density functional study of hydrogen bond formation between methanol and organic molecules containing Cl, F, NH₂, OH and COOH functional groups.” S. K. Kolev, P. St. Petkov, G. N. Vayssilov; (постер)

3. Заключителна конференция по проект "МАДАРА", София 2011, “Формиране на водородни връзки между метанол и Cl, F, NH₂, OH и COOH заместени органични молекули. Изследване с теорията на функционала на плътността.” С. К. Колев, П. Ст. Петков, М. А. Рангелов, Г. Н. Вайсилов; (устен доклад)

4. X Национална конференция по химия за студенти и докторанти, София 2011, “Взаимодействие между Na⁺ и Mg²⁺ йони и фосфатните групи от нуклеинови киселини във воден разтвор. Изследване с ab initio молекулна динамика на Борн-Опенхаймер.” С. К. Колев, П. Ст. Петков, Г. Н. Вайсилов; (устен доклад)

5. Работен семинар на тема "Суперкомпютърни приложения", Банско 2012, “Interaction between Na⁺ and Mg²⁺ ions and phosphate groups from nucleic acids in water solution. A Born-Oppenheimer molecular dynamics study.” S. K. Kolev, P. St. Petkov, G. N. Vayssilov; (устен доклад)

6. XI Национална конференция по химия за студенти и докторанти, София 2012, “Симулиране поведението на хидроксиден йон и радикал във водна среда проведено с ab initio молекулна динамика.” С. К. Колев, П. Ст. Петков, Г. Н. Вайсилов; (устен доклад)

7. International conference „Advanced functional materials“, Varna 2012, “Ab initio molecular dynamic simulation of the behavior of solvated electron, hydroxide ion and radical in water.” S. K. Kolev, P. St. Petkov, G. N. Vayssilov; (постер)

8. XII Национална конференция по химия за студенти и докторанти, София 2013, “Ab initio молекулно динамично изследване на взаимодействието между Na⁺ и Mg²⁺ йони и фосфатните групи от едноверижна РНК с отчитане

влиянието на азотните бази.” С. К. Колев, П. Ст. Петков, Г. Н. Вайсилов; (устен доклад)

9. Workshop “Clean Energy and Optic Materials”, Pravec 2013, “Ab initio simulations of single electron in water and methanol: generation of reactive hydrogen atoms by pre-solvated electrons.” S. K. Kolev, P. St. Petkov, G. N. Vayssilov, H. Iglev, H. Rossmadl; (устен доклад)

10. Supercomputing applications SuperCA++, Kyustendil 2013, “Interaction between Na^+ and Mg^{2+} ions and phosphate groups from single stranded RNA in water solution. A Born-Oppenheimer molecular dynamics study.” S. K. Kolev, P. St. Petkov, G. N. Vayssilov; (устен доклад)