20

Квантово-химическое моделирование изменений гидратной оболочки коллагена и фосфатидилэтаноламина при неферментативном гликировании и образовании конечных продуктов гликирования

© Е.Ю. Степанович [1], К.В. Березин [2], К.Н. Дворецкий [3¶], А.М. Лихтер [1], И.Ю. Янина [2]

[1] Астраханский государственный университет имени В.Н. Татищева,
Астрахань, Россия
[2] Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского,
Саратов, Россия
[3] Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского,
Саратов, Россия

e-mail: ¶ e-mail: dcn@yandex.ru

Поступила в редакцию 02.12.2025 г.
В окончательной редакции 16.12.2025 г.
Принята к публикации 27.03.2026 г.

С помощью методов теории функционала плотности изучено влияние неферментативного гликирования и образования конечных продуктов гликирования на структуру и энергетические характеристики первой гидратной оболочки модельных фрагментов коллагена (лизин→фруктозиллизин→глюкозепан) и мембранного фосфолипида (фосфатидилэтаноламина→ дезокси-D-фруктозилфосфатидилэтаноламин). Показано, что на ранней стадии гликирования (продукт Амадори: фруктозиллизин и дезокси-D-фруктозилфосфатидилэтаноламин) нейтрализация положительно заряженной $\varepsilon - NH_{3+}$-группы лизина или головной NH_{3+}-группы фосфатидилэтаноламина приводит к потере сильных ион-дипольных взаимодействий с водой. Средняя энергия связывания одной молекулы воды снижается (для коллагена с -80.8 до -42.3 kJ/mol, для фосфатидилэтаноламина с -74.1 до -56.1 kJ/mol), однако за счёт появления новых гидроксильных групп сахара количество прочно связанных молекул воды в первой гидратной оболочке увеличивается (для модельных фрагментов коллагена с 3 до 5, для фосфолипида с 7 до 10). На поздней стадии (образование глюкозепана) обе исходные заряженные группы (лизин и аргинин) превращаются в нейтральные гетероциклические фрагменты, что вызывает резкое снижение гидрофильности: энергия ассоциации падает до -37.7 kJ/mol, а число молекул воды в оболочке уменьшается вдвое.

Ключевые слова: неферментативное гликирование, конечные продукты гликирования (AGE), гидратная оболочка, коллаген, фосфатидилэтаноламин, фруктозиллизин, глюкозепан, квантовая химия, DFT.

DOI: 10.61011/OS.2026.06.63414.81-25

Введение

Неферментативное гликирование белков и липидов (реакция Майяра) является одним из ключевых патохимических процессов при сахарном диабете, хронической болезни почек, атеросклерозе и естественном старении. Образующиеся конечные продукты гликирования (advanced glycation end-products, AGE) вызывают необратимые изменения структуры и функции внеклеточного матрикса и клеточных мембран [1,2]. Среди наиболее изученных мишеней гликирования — остатки лизина и аргинина долгоживущих белков (прежде всего коллагена I типа) и аминогруппа головки фосфатидилэтаноламина (ФЭ)— второго по распространённости фосфолипида эукариотических мембран [3].

Экспериментально установлено, что на ранних стадиях диабета и старения ткани демонстрируют парадоксальное повышение гидратации при одновременном снижении механической жёсткости коллагеновых фибрилл [4,5], тогда как на поздних стадиях, при накоплении AGE-сшивок (глюкозепан, пентозидин, и др.), наблюдается прогрессирующая дегидратация, хрупкость и ригидность соединительной ткани [6,7]. Аналогично гликирование фосфолипидов сопровождается изменением заряда бислоя, повышением текучести мембран и нарушением барьерных свойств [8,9].

Молекулярные причины этих макроскопических эффектов до конца не выяснены. В частности, остаётся открытым вопрос как химическая модификация функциональных групп белка и липида влияет на структуру и энергетику первой гидратной оболочки — ключевого фактора, определяющего как межмолекулярные взаимодействия в ткани, так и её механические свойства.

В последние годы методы теории функционала плотности (DFT) с дисперсионными поправками успешно применяются для количественного описания гидратации биомолекул в явном растворителе [10.12]. Это позволяет преодолеть ограничения классической молекулярной ди-

намики и экспериментальных методов в оценке энергии отдельных водородных связей и их вклада в общую гидратацию.

Целью настоящей работы стало квантово-химическое моделирование изменений первой гидратной оболочки модельных фрагментов коллагена (лизин → фруктозиллизин → глюкозепан) и ФЭ (ФЭ → дезокси-D-фруктозилфосфатидилэтаноламин (ФФЭ)) на разных стадиях неферментативного гликирования с оценкой средней энергии ассоциации и числа сильно связанных молекул воды. Полученные данные сопоставлены с современными экспериментальными наблюдениями изменений гидратации и наномеханических свойств тканей.

Методика расчета

Молекулярные структуры рассчитывали методом DFT с гибридным функционалом B3LYP и базисом 6-31 + G(d) в пакете Gaussian [13]. Для обеспечения точности использовались более строгие критерии оптимизации геометрии (opt = tight), самосогласованного поля (SCF = Tight) и интегральной сетки (Int = UltraFine). Стабильность структур подтверждалась анализом колебательных частот: отсутствие отрицательных частот свидетельствовало о нахождении в локальных минимумах. Первая гидратная оболочка строилась путем последовательного добавления молекул воды таким образом, чтобы каждая молекула воды после оптимизации имела хотя бы одну водородную связь с основной молекулой. Эфирные атомы кислорода в фосфолипиде не учитывались, поскольку их вклад в формирование стабильной гидратной оболочки несуществен и рассматривались лишь основные центры связывания воды. При расчете энергии ассоциации использовали гибридную схему расчета, когда геометрические параметры и колебательные частоты рассчитывались с помощью метода B3LYP [14,15] с базисным набором 6-31 + G(d) [16–18], а электронная энергия уточнялась с помощью однократной процедуры самосогласованного поля (СПП) с использованием метода wB97XD/6-311 + G(d,p) [19]. Также для этого базиса рассчитывалась базисная суперпозиционная ошибка (BSSE) [20]. Среднюю энергию ассоциации на одну молекулу воды вычисляли по формуле

$$\overline{E}_a = (E_c - (E_b + n \times E_w) + BSSE)/n,$$

где E_c — полная электронная энергия комплекса, E_b — полная электронная энергия основной молекулы, E_w — полная электронная энергия молекулы воды, n — количество молекул воды в комплексе, $BSSE$ — значение базисной суперпозиционной ошибки.

Результаты и обсуждение

Для моделирования процессов гликирования коллагена и фосфолипидов были построены молекулярные структуры комплексов лизина, фруктозиллизина, аргинина и глюкозепана в виде обрезанных фрагментов коллагеновой цепи, а также ФЭ и ФФЭ с молекулами воды. Следует отметить, что указанные молекулярные модели основаны на „обрезанных“ отдельных фрагментах коллагена и одном фрагменте, укороченном за счет алкильных цепей фосфолипиде, поэтому в полном белке или мембране пространственная геометрия и распределение зарядов могут несколько изменять количество и энергию связывания молекул воды. Кроме этого, энергии ассоциации с молекулами воды рассчитывались в изолированном состоянии, поэтому полученные данные носят оценочный характер.

Коллаген

На раннем этапе гликирования коллагена после образования основания Шиффа и последующей перестройки по Амадори из взаимодействия ε-аминогруппы лизина NH_3^+ с глюкозой образуется фруктозиллизин. В этом процессе ε-аминогруппа теряет свой положительный заряд, потому что она теперь связана ковалентно с атомом углерода глюкозы, т. е. превращается из ионной NH_3^+ в нейтральную вторичную аминогруппу (N−C связь), входящую в более крупный сахарный фрагмент. Потеря ε-NH_3^+ приводит к локальному снижению электростатического потенциала. Коллаген становится менее катионным, что уменьшает его способность связывать анионы (например, карбоксильные группы других цепей или гликозаминогликаны матрикса). Происходит изменение характера гидратации. После гликирования вода удерживается в основном за счёт гидрофильных групп (–OH и –O– из сахара). Эти связи слабее: — 42.3 kJ/mol (рис. 1, *b*) против — 80.8 kJ/mol в лизине (рис. 1, *a*), но количество молекул воды становится больше: пять против трех. Это и приводит к увеличению общей гидратации ткани, хотя каждая отдельная молекула воды связана слабее. Ранее заряженные группы ε-NH_3^+ могли образовывать солевые мостики с отрицательными карбоксильными группами соседних цепей — такие взаимодействия способствуют упорядочению и жёсткости фибриллы. После гликирования эти ионные мостики исчезают, а вместо них возникают более рыхлые водородные и дипольные связи через сахароаминную часть, что ведёт к снижению поперечной жёсткости коллагеновых фибрилл. Именно это экспериментально наблюдали в [4]: повышение гидратации и снижение наномеханической жёсткости AGE-модифицированного коллагена. Нейтрализованный атом азота фруктозиллизина становится частью сахароаминной структуры, которая при окислении и дегидратации в дальнейшем может образовывать реактивные карбонильные фрагменты, способные связываться с аргинином (рис. 1, *c*) и образовывать глюкозепан — типичную AGE-сшивку [21] (рис. 1, *d*). В процессе обе исходные группы (ε-NH_3^+ лизина и гуанидиниевая NH_2^+ аргинина) превращаются в нейтральные атомы азота, вовлечённые в систему

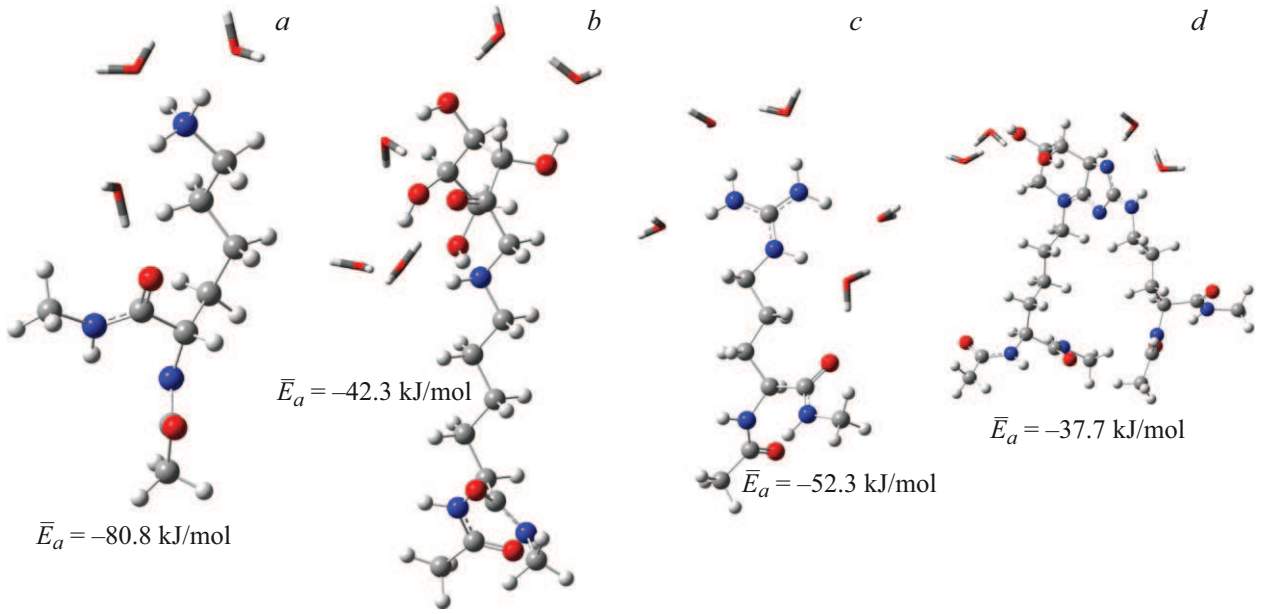

Рис. 1. Оптимизированные методом B3LYP/6-31+G молекулярные модели комплексов лизина (*a*), фруктозиллизина (*b*), аргинина (*c*) и глюкозепана (*d*) с молекулами воды.

сопряжённых связей (имино- и амидные фрагменты в пяти- и шестичленных циклах). Таким образом, вместо ионных центров формируется жёсткая, электронно-делокализованная нейтральная структура. Это приводит к сильному уменьшению гидрофильности и способности удерживать воду. Энергия ассоциации самая низкая — 37.7 kJ/mol, а количество молекул воды в гидратной оболочке уменьшается вдвое — с восьми (лизин+аргинин) до четырех у глюкозепана. С уменьшением гидратации и увеличением числа кросс-сшивок фибриллы становятся механически жёстче, менее гибкими и менее способными к восстановлению после деформации [6].

Фосфолипиды

Фосфатидилэтаноламин относится к классу глицерофосфолипидов и в физиологических условиях существует преимущественно в форме цвиттер-иона, в котором положительный заряд аминогруппы (-NH3$^+$) компенсируется отрицательным зарядом фосфатной группы (-PO$_4$-) (рис. 2, *a*). При взаимодействии ФЭ с редуцирующими сахарами, в частности с глюкозой, протекает реакция неферментативного гликирования (реакция Майяра). Первичная аминогруппа этаноламинового остатка реагирует с карбонильной группой сахара с образованием ковалентной связи и формированием продукта Амадори — ФФЭ [21] (рис. 2, *b*). В результате образования вторичного аминного центра молекула ФФЭ теряет цвиттерионную природу и приобретает отрицательный суммарный заряд порядка (−0.7 . . . − 0.9). Это связано с тем, что вторичный амин (–NH–CH–) протонирован лишь частично (в 10−30% случаев) в отличие от полностью протонированной аминогруппы

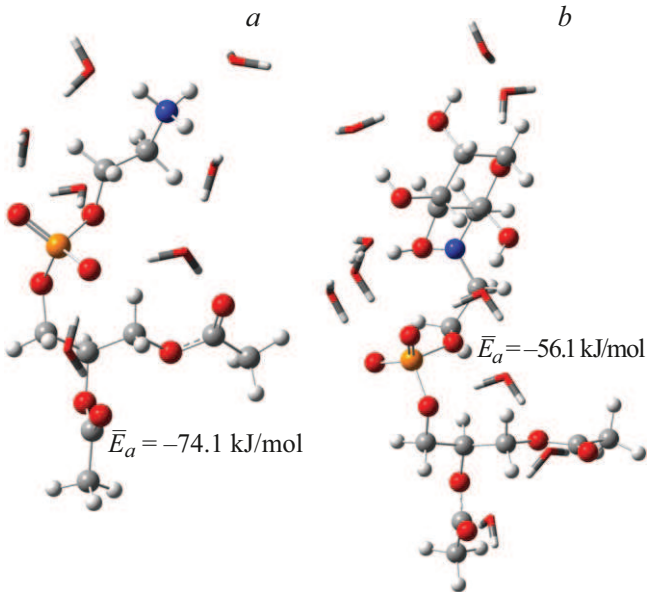

Рис. 2. Оптимизированные методом B3LYP/6-31+G(d) молекулярные модели комплексов ФЭ (*a*) и ФФЭ (*b*) с молекулами воды.

$-NH_3^+$ исходного ФЭ. При моделировании мы задавали молекулу ФФЭ как анион с зарядом −1. Это изменяет её электростатические свойства и может существенно влиять на зарядовую асимметрию мембраны, межмолекулярные взаимодействия с белками и липидами, а также на стабильность и текучесть липидного бислоя. Кроме того, изменение заряда способно отражаться на размере и устойчивости гидратной оболочки. Как показало мо-

делирование, в результате потери заряженной группы NH_3^+ и замены ее на сахароаминную структуру, как и в коллагене, происходит уменьшение средней энергии ассоциации, в данном случае с -74.1 до -56.1 kJ/mol при увеличении гидратной оболочки с семи до десяти молекул воды.

Выводы

Проведённое квантово-химическое моделирование позволило количественно описать изменения первой гидратной оболочки модельных фрагментов коллагена и ФФЭ на разных стадиях неферментативного гликирования. На ранней стадии гликирования (продукты Амадори) нейтрализация положительно заряженных NH_3^+-групп заменяет сильные ион-дипольные взаимодействия с водой на более слабые водородные связи с сахарным фрагментом. Энергия связывания одной молекулы воды падает (коллаген: $-80.8 \to -42.3$ kJ/mol, ФЭ: $-74.1 \to -56.1$ kJ/mol), но число молекул воды в первой оболочке растёт (коллаген: $3 \to 5$, ФЭ: $7 \to 10$). Это объясняет повышение общей гидратации и снижение жёсткости тканей.

На поздней стадии (глюкозепан) обе заряженные группы превращаются в нейтральные гетероциклы: энергия ассоциации снижается до -37.7 kJ/mol, число молекул воды уменьшается вдвое ($8 \to 4$), что соответствует дегидратации и повышению ригидности при накоплении AGE-сшивок. Гликирование ФЭ дополнительно приводит к потере цвиттерионности и появлению отрицательного заряда, влияющего на свойства мембран. Полученные результаты качественно объясняют известные экспериментальные данные: повышение общей гидратации и снижение наномеханической жёсткости коллагена на ранних стадиях гликирования и, напротив, дегидратацию и повышение жёсткости при накоплении AGE-сшивок, а также изменение заряда и текучести мембран при гликировании фосфолипидов. Таким образом, изменение характера и прочности гидратной оболочки является одним из ключевых молекулярных механизмов, лежащих в основе макроскопических изменений механических и физико-химических свойств тканей при неферментативном гликировании. Полученные результаты могут быть использованы для разработки новых подходов к диагностике и контролю степени гликирования внеклеточного матрикса и мембран.

Финансирование работы

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 24-44-00082, https://rscf.ru/project/24-44-00082/

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

[1] W. Rungratanawanich, Y. Qu, X. Wang, M.M. Essa, B.-J. Song. Exp. Mol. Med., **53** (2), 168 (2021). DOI: 0.1038/s12276-021-00561-7

[2] J. Chaudhuri, Y. Bains, S. Guha, A. Kahn, D. Hall, N. Bose, A. Gugliucci, P. Kapahi. Cell Metab., **28** (3), 337 (2018). DOI: 10.1016/j.cmet.2018.08.014

[3] D.M. Hudson, M. Archer, K.B. King, D.R. Eyre. J. Biol. Chem., **293** (40), 15620 (2018). DOI: 10.1074/jbc.RA118.004829

[4] O.G. Andriotis, K. Elsayad, D.E. Smart, M. Nalbach, D.E. Davies, Ph.J. Thurner. Biomed. Opt. Express, **10** (4), 1841 (2019). DOI: 10.1364/BOE.10.001841

[5] A. Gautieri, A. Redaelli, M.J. Buehler, S. Vesentini. Matrix Biol., **34**, 89 (2014). DOI: 10.1016/j.matbio.2013.09.004

[6] J.G. Snedeker, A. Gautieri. Muscles Ligaments Tendons J., **4** (3), 303 (2014).

[7] V.M. Monnier, W. Sun, D.R. Sell, X. Fan, I. Nemet, S. Genuth. Clin. Chem. Lab. Med., **52** (1), 21 (2014). DOI: 10.1515/cclm-2013-0174

[8] A. Annibal, T. Riemer, O. Jovanovic, D. Westphal, E. Griesser, E. Pohl, J. Schiller, R. Hoffmann, M. Fedorova. Free Radic. Biol. Med., **95**, 293 (2016). DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.011

[9] V. Levi, A.M. Villamil Giraldo, P.R. Castello, J.P.F.C. Rossi, F.L.G. Flecha. Biochem J., **416** (1), 145 (2008). DOI: 10.1042/BJ20080618

[10] R.A. DiStasio, Jr., B. Santra, Z. Li, X. Wu, R. Car. J. Chem. Phys., 141, 084502 (2014). DOI: 10.1063/1.4893377

[11] J. Řezáč, P.J. Hobza. Chem. Theory Comput., **8** (1), 141 (2012). DOI: 10.1021/ct200751e

[12] A. Kumar, F. Neese, E.F. Valeev. J. Chem. Theory Comput., **153** (9), 094105 (2020). DOI: 10.1063/5.0012753

[13] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G.A. Petersson et al. *Gaussian 16* (Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, 2016).

[14] A.D. Becke. J. Chem. Phys., **98** (7), 5648 (1993). DOI: 10.1063/1.464913

[15] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr. Phys. Rev. B, **37** (2), 785 (1988). DOI: 10.1103/PhysRevB.37.785

[16] M.M. Francl, W.J. Pietro, W.J. Hehre, J.S. Binkley, M.S. Gordon, D.J. DeFrees, J.A. Pople. J. Chem. Phys., **77** (7), 3654 (1982). DOI: 10.1063/1.444267

[17] T. Clark, J. Chandrasekhar, G. W. Spitznagel, P.v.R. Schleyer. J. Comput. Chem., **4** (3), 294 (1983). DOI: 10.1002/jcc.540040303

[18] M.J. Frisch, J.A. Pople, J.S. Binkley. J. Chem. Phys., **80** (7), 3265 (1984). DOI: 10.1063/1.447079

[19] A. Najibi, L. Goerigk. J. Chem. Theory Comput., **14** (11), 5725 (2018). DOI: 10.1021/acs.jctc.8b00842

[20] S. Simon, M. Duran, J.J. Dannenberg. J. Chem. Phys., **105** (24), 11024 (1996). DOI: 10.1063/1.472902

[21] K. Nakagawa J.-H. Oak, O. Higuchi, T. Tsuzuki, Sh. Oikawa, H. Otani, M. Mune, H. Cai, T. Miyazawa. J. Lipid Res., **46** (11), 2514 (2005). DOI: 10.1194/jlr.D500025-JLR200