

생체내 금속이온들과 분자수소의 호상작용에 대한 계산화학적연구

강명수, 김성애, 정유철

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《기초과학을 발전시키는데도 힘을 넣어야 합니다.》(《김정일선집》 증보판 제11권 138페이지)

최근 세계적으로 분자수소의 다양한 생물학적기능이 새롭게 밝혀지면서 그 작용물질 새를 밝히기 위한 기초연구[7, 8]가 심화되고있다.

분자수소는 산화스트레스, 염증, 아폽토시스, 대사이상에 대하여 유익한 생물학적효과를 나타낸다.[3-6] 분자수소의 이 효과는 신호전달, 전사조절, 세포보호, 대사에 관계하는 여러가지 분자들과 효소들의 활성화와 발현을 조절하는것으로써 나타난다.[9]

지금까지는 분자수소에 의한 Nrf2를 포함한 표적단백질들에 대한 니트로화억제와 유리라디칼($\cdot\text{OH}$, $\text{ONOO}\cdot$)소거반응과 함께 금속단백질들에서 금속양이온과 분자수소의 물리화학적호상작용이 그 조절인자들로 될수 있다[7]고 보고있지만 확정된 연구자료가 국내외적으로 발표된것이 없다. 보통조건에서 안정한 분자수소가 생체내에서 반응에 참가하자면 $\cdot\text{OH}$, $\text{ONOO}\cdot$ 와 같은 반응성이 매우 높은 유리라디칼들과 호상작용하든가 아니면 수소원자사이의 결합을 약화시킬수 있는 외부적인 영향이 필요하다.

본문에서는 밀도범함수법을 리용한 계산화학적방법으로 생체내 금속이온들과 분자수소의 호상작용에 대하여 연구한 결과를 소개한다.

모 의 방 법

생체내 금속이온들과 분자수소의 호상작용에 대하여서는 실험적으로나 이론적으로 잘 알려지지 않았다. 이로부터 우리는 분자동력학법(MD법)과 밀도범함수법(DFT법)[1]을 리용하여 그것을 고찰하려고 한다. 생체내에서 일어나는 생리적과정들은 많은 화학반응을 동반하게 되는데 이것들을 실험적으로 검출해내기는 어렵다. 이 과정을 이론적으로 해석하자면 제1원리분자동력학법(DFT+MD법)을 적용해야 한다.

분자의 구조최적화, 과도상태탐색 및 제1원리분자동력학모의에 관한 모든 계산에는 분자 및 재료설계프로그램인 Materials Studio 8.0의 밀도범함수계산프로그램 DMol3[2]을 리용하였다. 모의조건으로서 생체내의 과정임을 고려하여 온도는 310K(36.8°C), 모의집합은 NVT(립자개수, 체적, 온도를 고정시킨 계), 모의시간은 2ps, 모의시간간격은 1fs, 모의순환수는 2 000회로 설정하였다. 이 조건은 이미 프로그램에서 설정된 값들과 우리의 모의대상을 고려하여 정한 값들이다.

교환상관포텐셜로서 GGA/BLYP를 리용하였다. 모의계의 구조는 생체내의 조건과 반응을 고찰하는데 유리한 크기로서 한번의 길이가 0.6nm인 바른6면체(체적 0.216nm^3)안에 일정한 개수의 분자들을 우연적으로 배치하는 방법으로 구성하였다. 이렇게 하면 주기경계조건[1]에 따라 동일한 립방체가 모든 방향으로 무한히 반복되어있는것으로 되며 따라서 모의결과에는 무한히 많은 개수의 립방체들의 거동이 반영되게 된다.

총에너지계산의 정확성은 1.0×10^{-5} , 구조최적화를 진행할 때 에너지계산의 정확성은 2.0×10^{-5} , 구조의 정확성은 5.0×10^{-4} 을 보장하도록 하였다.

모 의 결 과

1) 금속이온과 분자수소의 호상작용에 의한 수소사이결합의 약화가능성

분자수소는 무극성분자이므로 정전기적호상작용의 방법으로는 결합을 약화시킬수 없다.

분자수소에 존재하는 2개의 전자들은 결합성분자궤도에 놓이여 화학결합에 이바지한다. 일반적으로 결합성분자궤도에 놓인 전자들을 떼어내자면 화학결합을 약화시켜야 한다. 그러나 수소분자의 경우 이 결합성분자궤도의 전자의 에너지는 -10.086eV 로서 매우 안정하므로 전자들을 떼어내는 어렵다. 이와 같이 분자수소는 매우 안정한 결합성궤도로 하여 안정하게 존재할수 있는것이다.

결합을 약화시킬수 있는 가능성의 다른 하나는 반결합성궤도에 전자들을 채우는것이다. 반결합성궤도에 전자가 채워지면 두 원자사이의 전자밀도가 작아지면서 결합이 약해지게 된다.

우리는 분자수소에서 수소원자사이결합약화의 가능성이 생체내에 존재하는 Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} 등의 금속이온들과의 호상작용에 있다는데 주목하고 호상작용가능성을 고찰하였다. 이를 위하여 주목하는 금속원자주위에 여러개(8~10개정도)의 수소분자를 적당히 배치하고 앞에서와 같이 10ps동안 분자동력학모의를 진행한 후 수소분자들의 거리분포함수를 얻었는데 그 결과는 그림 1과 같다.

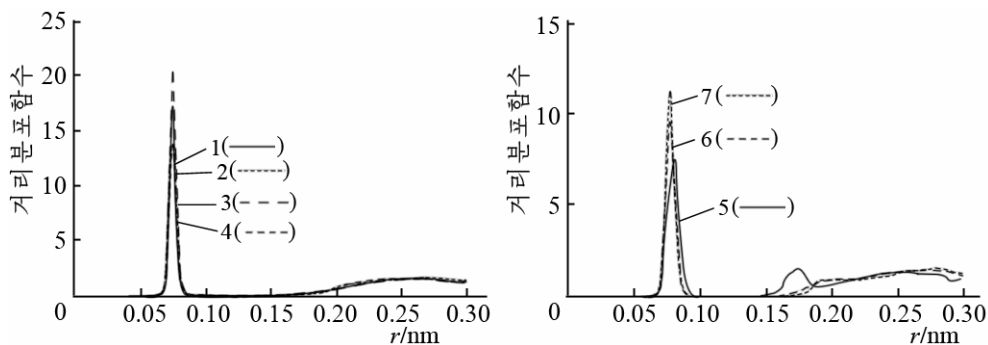


그림 1. 생체내 금속원자들과 분자수소들사이의 거리분포함수($P(r)$)그래프
1- Na^+ , 2- K^+ , 3- Ca^{2+} , 4- Mg^{2+} , 5- Fe^{2+} , 6- Zn^{2+} , 7- Cu^{2+}

그림 1에서 보는바와 같이 0.07~0.08nm근방의 봉우리는 수소원자들사이의 거리에 해당되며 0.15nm이상은 수소분자들사이 또는 금속원자와 수소분자들사이의 거리분포를 보여 준다. Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} 과 같은 전해질금속이온들에서는 0.18nm이상의 거리분포에서 립자들사이의 평균거리를 나타내는 완만한 봉우리만을 보여줄뿐 특별한 변화가 없었으며 수소원자들사이의 거리도 0.075nm정도로서 유리상태의 수소분자와 차이가 거의 없었다. 그러나 Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} 등의 금속이온들에서는 수소분자와 금속이온사이의 거리를 반영하는 0.15~0.21nm근방에서 봉우리가 더 존재하였다. Fe^{2+} 에서는 이 봉우리의 위치가 0.17nm근방에서 매우 뚜렷하게 나타났으며 수소원자들사이의 결합거리를 반영하는 봉우리도 0.08nm 정도로 증가하였다. 이것은 Fe^{2+} 과 수소분자사이에 호상작용이 존재하며 이때 결합구조의 에너지가 유리상태의 수소분자에서와 달라질수 있다는것을 암시해준다.

2) Fe원자와 수소분자의 결합방식

우리는 생체내에 존재하는 금속이온들중에서 수소분자와 호상작용이 뚜렷한 Fe를 주목하고 그것이 수소분자와 어떤 방식으로 결합되었는가를 모의해석하였다.

생체내에서 Fe는 주로 유리상태의 금속이온으로 존재하지 않고 단백질이나 효소와의 착체형태로 존재한다. 생체내에서 Fe는 헤모글로빈이나 페레독신 등에 많이 포함되어 있다.

우리는 Fe의 결합구조를 반영하는 모형화합물로서 헤모글로빈의 프로토펜을 선정하고 프로토펜과 분자수소와의 결합방식을 고찰하였다. 프로토펜의 화학구조와 최적화된 공간구조를 그림 2에 보여주었다.

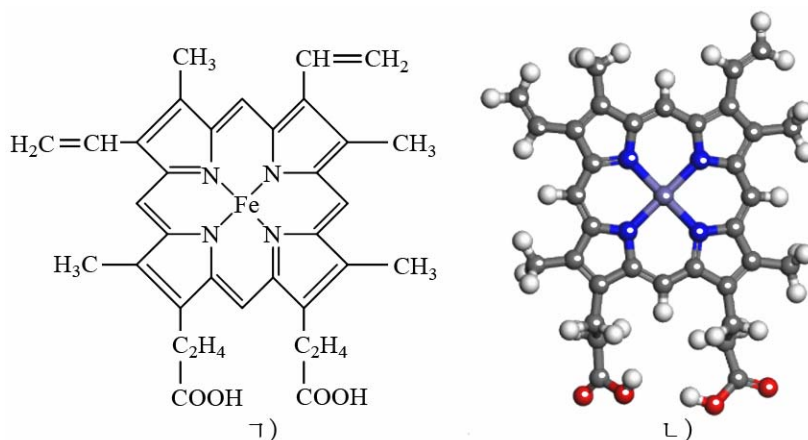


그림 2. 프로토펜의 화학구조(ㄱ) 및 최적화된 공간구조(ㄴ)

최적화된 프로토펜구조의 Fe원자가가이에 분자수소를 배치하고 구조최적화를 진행하여 그 결합구조를 얻었다.(이하 프로토펜과 분자수소와의 결합구조를 프로토펜-2원자수소복합체라고 함.)

과도상태탐색결과로 얻어진 프로토펜과 분자수소사이의 거리에 따르는 포텐셜에너지를 변화를 그림 3의 ㄱ)에, 최적화된 프로토펜-2원자수소복합체의 구조는 그림 3의 ㄴ)에 주었다.

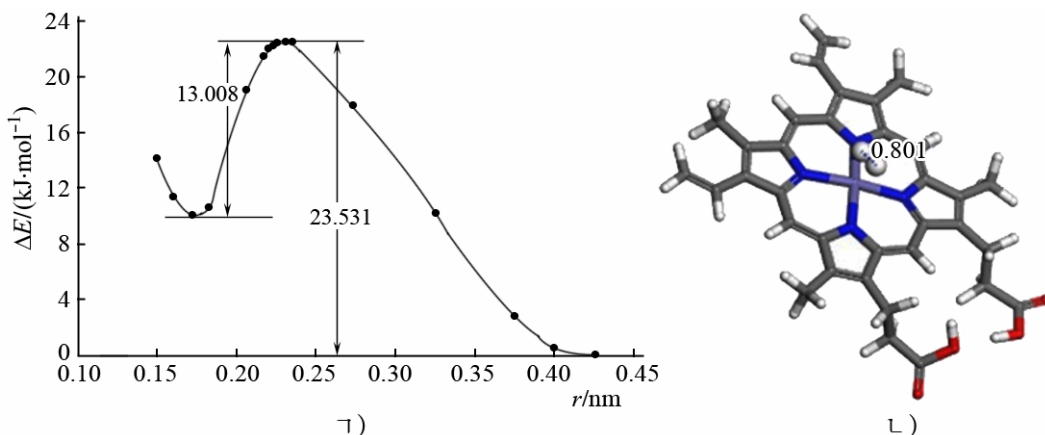


그림 3. 프로토펜과 분자수소의 결합상태

ㄱ) 분자사이거리(r)에 따르는 포텐셜에너지(ΔE)의 변화,

ㄴ) 최적화된 프로토펜-2원자수소복합체의 구조

그림 3의 L)에서 보여준 0.801이라는 수자는 수소원자들사이의 거리(0.080 nm)를 나타내는 값이다. 그리고 쉽게 구분할수 있도록 프로토텐분자는 봉모형으로, 수소분자는 구-봉모형으로 보여주었다.

그림 3의 7)에서 보는바와 같이 수소분자가 프로토텐과 안정한 구조를 이루자면 23.531kJ/mol의 에네르기장벽을 통과해야 하며 일단 이 장벽을 통과한 후에는 13.008kJ/mol정도 안정화된다. 다시말하여 프로토텐-2원자수소복합체에서 수소가 떨어져나가자면 13.008kJ/mol의 에네르기를 극복해야 한다. 한편 프로토텐-2원자수소복합체의 포텐셜에네르기는 수소분자가 떨어져나간 상태에 비하여 10.523kJ/mol정도 높다. 때문에 프로토텐-2원자수소복합체는 에네르기적으로 려기되어 13.008kJ/mol만 한 에네르기우물속에 놓여있으며 보통상태에서는 그 우물속에 포로되어있다가 외부작용을 받으면 그 우물로부터 쉽게 빠져나올수 있다.

수소분자와 프로토텐-2원자수소복합체에서 수소원자사이거리를 비교해보면 0.075nm로부터 0.080 nm로 약간 늘어났다. 결국 프로토텐-2원자수소복합체는 매우 약한 결합구조이며 외부의 영향을 받아 쉽게 해리될수 있다.

한편 프로토텐과 프로토텐-2원자수소복합체에서의 프로토텐의 구조변화를 보면 프로토텐에서는 Fe원자가 분자면에 놓여 평면을 형성하고있던것이 프로토텐-2원자수소복합체에서는 Fe원자가 분자면으로부터 분자수소쪽으로 약간 이동함으로써 프로토텐이 중심에서 블록해진 구조를 형성하였다.

프로토텐-2원자수소복합체의 최적화된 구조에서 2ps이상의 분자동력학모의를 진행한 결과에서도 이 결합구조는 파괴되지 않았다.

프로토텐과 분자수소사이의 결합원인을 해명하기 위하여 분자궤도들을 해석하였다.

프로토텐-2원자수소복합체의 전자가 채워진 분자궤도들중에서 수소분자와 려관된 분자궤도들의 모양을 분석해보면 HOMO의 에네르기(-4.577eV)와 거의 같은 에네르기(-4.684eV)를 가진 분자궤도에서 Fe원자의 d궤도와 수소분자의 반결합성궤도가 기여하고있었으며 수소분자의 시그마결합성궤도와 Fe의 다른 d궤도는 그보다 훨씬 낮은 에네르기(-10eV이하)를 가진 분자궤도에 기여하고있었다. 이러한 결합방식이 바로 금속-2원자수소결합의 중요한 특징[10, 11]이다.

그림 4에서 보는바와 같이 프로토텐에서 Fe원자에 속한 d궤도들이 궤도대칭성이 류사한 수소분자의 반결합성궤도인 LUMO와 호상작용하여 보다 안정한 분자궤도가 형성되었다.(안정화에네르기 0.467eV)

결국 분자수소의 반결합성분자궤도에 전자들이 배치된것으로 하여 수소분자쪽에서는 에네르기적으로 높아지는 상태가 조성되었으며 또한 수소원자들사이의 결합이 약화되어 결합길이가 약간 길어진것이다. 이렇게 되면 프로토텐-2원자수소복합체에서 수소분자는 에네르기적으로 려기된 상태에 놓이게 되며 일정한 반응성을 가지게 될것이다.

실지 계산결과에 의하면 프로토텐-2원자수소복합체로부터 수소원자가 해리될 때의 에네르기는 227.99kJ/mol로서 수소분자로부터 직접 수소원자가 해리될 때의 에네르기(472.84kJ/mol)의 절반도 되지 않는다. 따라서 수소분자에서는 불가능하던 해리과정이 프로토텐-2원자수소복합체에서는 가능하게 된다는것을 알수 있다.

프로토텐-2원자수소복합체에서 수소분자가 결합될수 있는 분자수를 확정하기 위하여 프로토텐 1개 분자주위에 10개의 수소분자를 배치하고 분자동력학적모의를 진행하였다. 그 결과 그림 3의 L)와 같이 Fe원자 1개당 수소분자 1개만이 결합된다는것을 알수 있었다. 이것은 일단 수소분자 1개가 결합된 프로토텐-2원자수소복합체의 HOMO에서 Fe원자의 d궤도가 수소분자쪽으로 이동함으로써 반대쪽으로는 수소분자와의 호상작용가능성을 잃었기때문

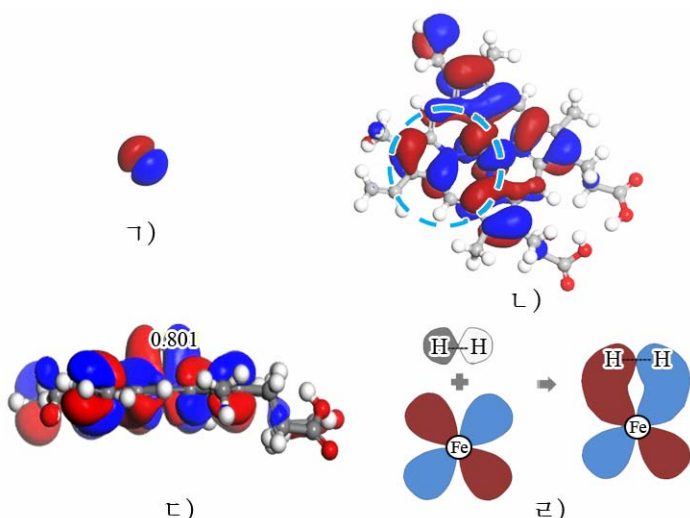


그림 4. 분자수소의 LUMO(가)), 프로토펴-2원자수소복합체에서 수소분자의 반결합성궤도가 참가한 분자궤도의 정면도(나))와 측면도(다)), 해설도식(라))

이라고 해석된다.

프로토펴-2원자수소복합체로부터 수소원자가 해리될 때 히드리드이온(H^-)으로 될수 있는 가능성도 크다.

분자수소에는 생체내 과정에 필요한 $H^+ + 2e^-$, H^- , H^+ , H 의 발생조건을 다 갖추고있

다. 그런데 이 조건의 형성은 결합이 해리되어야만 가능하다. 만일 분자수소가 직접 해리된다고 하면 그때 수소원자들이 동일한 환경에 놓이게 되므로 H^- 이 생길 가능성이 매우 적다. 그러나 프로토펴-2원자수소복합체에서는 남아있는 수소원자와 해리된 수소원자가 서로 다른 환경에 놓이므로 전자들을 불균등하게 분배하게 된다. 실제로 프로토펴-2원자수소복합체에서 수소원자가 해리되었을 때(그림 5)의 원자전하를 계산해보면 해리된 수소원자에서는 -0.182 로서 부의 전하를 띠고있고 남아있는 수소원자에서는 $+0.102$ 로서 정의 전하를 띠고있다. 이것은 프로토펴-2원자수소복합체에서 수소원자가 해리될 때 H^- 이 생길 가능성도 있다는것을 보여준다. 이러한 가능성은 분자수소가 단순한 항산화제로서의 역할만이 아니라 많은 생화학과정들에도 참가할수 있다는것을 암시해준다.

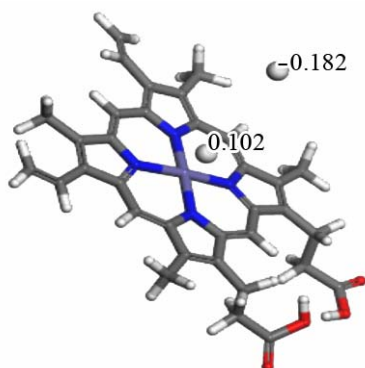


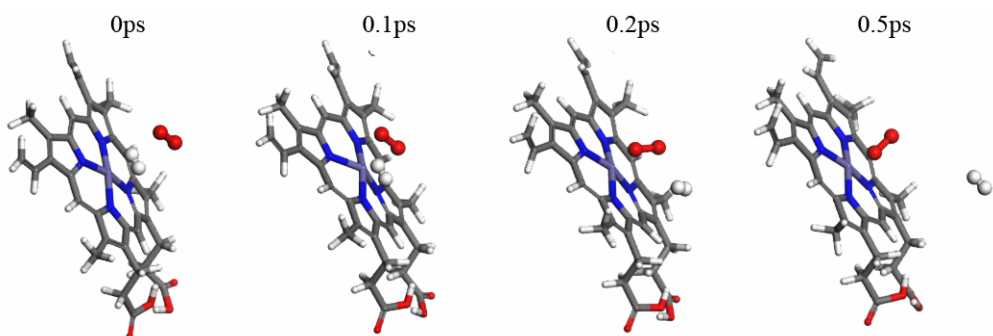
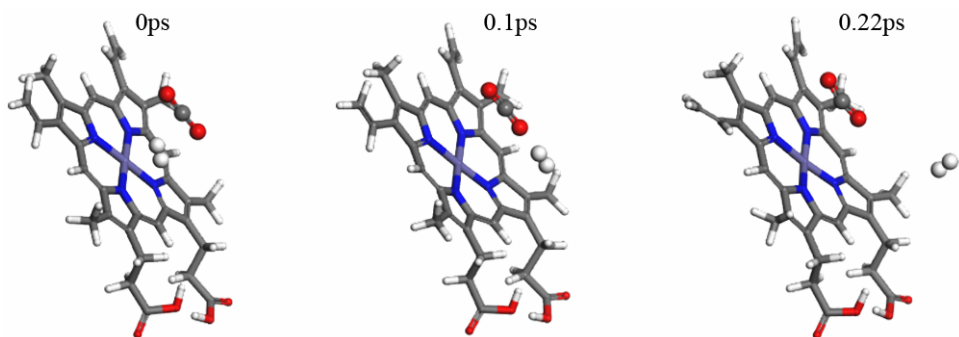
그림 5. 프로토펴-2원자수소 복합체에서 수소원자가 해리될 때의 원자전하

3) 프로토펴-2원자수소복합체에 주는 O_2 및 CO_2 분자들의 영향

생체내에서 헤모글로빈이 O_2 이나 CO_2 을 나르는 역할을 수행하는것만큼 헤모글로빈이 분자수소와 지나치게 강하게 결합되면 그 역할에 영향을 줄수 있다.

그 영향을 보기 위하여 분자수소와 결합된 프로토펴주위에 O_2 또는 CO_2 을 배치하고 분자동력학모의를 진행하였는데 그 결과는 그림 6, 7과 같다.

그림 6, 7에서 보는바와 같이 O_2 이나 CO_2 은 0.2ps내에 프로토펴-2원자수소복합체로

그림 6. O₂과 프로토펴-2원자수소복합체의 호상작용에 대한 모의결과그림 7. CO₂과 프로토펴-2원자수소복합체의 호상작용에 대한 모의결과

부터 쉽게 분자수소를 밀어내고 결합하게 된다. 그 원인을 결합에너지의 비교를 통해서 알 수 있는데 그것은 프로토펴-2원자수소복합체에서 분자수소와 프로토펴사이의 결합에너지가 약해진 것과 관련된다.

O₂이나 CO₂과 프로토펴과의 결합에너지의 계산결과는 각각 16.77, 10.12kJ/mol로서 안정하지만 분자수소와 프로토펴의 결합에너지는 -10.52kJ/mol로서 불안정한 상태이며 다만 에너지우물안에 속박되어 있을 뿐이다.

이상의 결과로부터 헤모글로빈-수소결합구조는 O₂이나 CO₂의 수송에 영향을 주지 않으며 헤모글로빈-수소결합구조에 의하여 분자수소의 활성이 높아질 수 있다고 볼 수 있다.

맺는 말

1) Fe²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺과 같은 금속이온들 특히 Fe²⁺과 분자수소사이에 호상작용이 존재하며 이때 결합구조(프로토펴-2원자수소복합체)의 에너지는 유리상태의 분자수소와 달리 변화되면서 수소사이결합이 약화된다. 프로토펴-2원자수소복합체로부터 수소원자가 해리될 때의 에너지는 227.99kJ/mol로서 수소분자로부터 직접 수소원자가 해리될 때의 에너지(472.84kJ/mol)의 절반도 되지 않는다.

2) 프로토펴-2원자수소복합체에서 수소원자가 해리될 때 해리된 수소원자는 부의 전하(-0.182)를, 남아있는 수소원자는 정의 전하(+0.102)를 띤다.

3) 헤모글로빈-수소결합구조는 O₂이나 CO₂의 수송에 영향을 주지 않으며 헤모글로빈-수소결합구조에 의하여 분자수소의 활성이 높아질 수 있다.

참 고 문 헌

- [1] 정유철 등; 계산화학, 김일성종합대학출판사, 16~33, 주체106(2017).
- [2] 정유철; 컴퓨터화학실험, 김일성종합대학출판사, 144~210, 주체104(2015).
- [3] M. Nakayama et al.; Renal Replacement Therapy, 2, 23, 1, 2016.
- [4] K. Fukuda et al.; Biochem. Biophys. Res. Commun., 361, 3, 670, 2007.
- [5] K. Xie et al.; Shock, 34, 90, 2010.
- [6] M. Dole et al.; Science, 190, 152, 1975.
- [7] P. Shi et al.; Medical Gas Research, 2, 17, 2012.
- [8] X. Zhai et al.; Medical Gas Research, 4, 19, 2014.
- [9] K. Iuchi et al.; Sci. Rep., 6, 18971, 2016.
- [10] F. Maseras et al.; Organometallics, 15, 2947, 1996.
- [11] I. B. Vladimir; Dihydrogen Bond: Principles, Experiments and Applications, John Willey Sons. Inc., 28~55, 2008.

주체109(2020)년 7월 5일 원고접수

Computational Studies on the Interactions between Molecular Hydrogen and *in vivo* Metal Ions

Kang Myong Su, Kim Song Ae and Jong Yu Chol

It is possible that molecular hydrogen interacts with metal ions such as Zn^{2+} , Cu^{2+} , and especially Fe^{2+} . The H–H bond energy in protoheme-dihydrogen complex differs in molecular hydrogen. When the protoheme-dihydrogen complex released the H atoms, the dissociation energy of H–H bond was 227.99kJ/mol, that is less than half the dissociation energy (472.84kJ/mol) of H–H bond from H_2 .

Protoheme-dihydrogen complex doesn't affect on transport of O_2 or CO_2 and improves the activity of hydrogen.

Keywords: molecular hydrogen, computational study, protoheme