

# osvrti

## Nobelova nagrada za kemiju za 2013. godinu

M. Grabar Branilović, A. Maršavelski, A. Tomić i S. Tomić\*

Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10 000 Zagreb

Znanstvenici Martin Karplus, Arieh Warshel i Michael Levitt dobitnici su ovogodišnje Nobelove nagrade za kemiju.

Ona ujedno predstavlja priznanje šire akademske zajednice učinkovitosti nove generacije računalnih metoda u kojima se za opisivanje molekula (u slučaju/dijelovima kada/gdje ne dolazi do značajne promjene njihove elektronske strukture) upotrebljavaju empirijski izrazi i odraz je sve veće primjene tzv. metoda višestrukih skala u modeliranju molekularnih sustava.\*

Kemija i biokemija bilježe znatan napredak posljednjih 50 godina, pri čemu je prva polovica tog razdoblja obilježena razvojem i usavršavanjem eksperimentalnih metoda za određivanje strukture proteina i nukleinskih kiselina, ponajprije metoda koje se temelje na difrakciji X-zraka i nuklearnoj magnetskoj rezonanciji (NMR).

Krajem šezdesetih godina prošloga stoljeća dolazi do značajnog razvoja izraza za opis potencijalne energije malih molekula i empirijskih parametara koji se u njima primjenjuju. Tako Arieh Warshel razvija usklađeno polje sila (*Consistent Force Field* (CFF)),<sup>1</sup> a Michael Levitt prvi primjenjuje metodu polja sila za opis i optimizaciju strukture proteina.<sup>2</sup> Početkom sedamdesetih Arieh Warshel odlazi u laboratorij Martina Karplusa, koji se do tada bavio primjenom kvantnomehaničkog pristupa u proučavanju molekula. Dvojica znanstvenika dolaze do zaključka da nije nužno simulirati cijelu molekulu na kvantnomehaničkom nivou kako bi se njezina svojstva detaljno proučila, te razvijaju metodu koja omogućuje računanje vibracijskih i spektara  $\pi$ -elektrona za veliki broj planarnih molekula. Pristup koji su primijenili kombinacija je klasične i kvantne mehanike:  $\sigma$ -elektroni i atomske jezgre su tretirani klasičnom mehanikom, dok su za opis  $\pi$ -elektrona primijenili kvantnomehaničku, Praisner-Parr-Pople, metodu.<sup>3,4</sup> Iako ograničen na planarne sustave kod kojih je ravnina molekule prirodna granica za odvajanje kvantnomehanički opisanih  $\pi$ -elektrona od klasično opisanih  $\sigma$ -elektrona, navedeni pristup označen je kao prvi uspješno primijenjen hibridni, kvantnomehanički – molekulkomehanički postupak u proučavanju molekularnih svojstava.

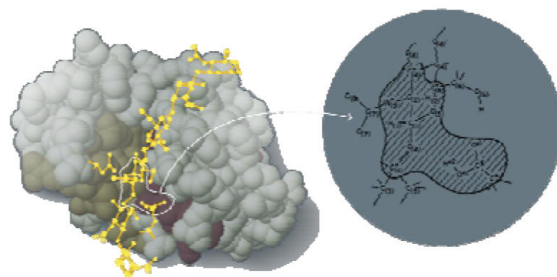
Sredinom sedamdesetih godina prošloga stoljeća Warshel i Levitt poopćenu i unaprijeđenu metodu primjenjuju u proučavanju mehanizma katalize enzima lizozima. Dok se različite konformacije kompleksa enzim – supstrat mogu na odgovarajući način proučavati primjenom empirijskih metoda kod kojih je funkcija potencijalne energije molekule prikazana kao suma članova “klasičnih” doprinosa: istezanja veza, promjene valentnih i torzijskih kutova, te neveznih, elektrostatskih i van der Waalsovih, interakcija, mehanizam i energija enzimskih reakcija mogu se proučavati isključivo primjenom kvantno mehaničkih metoda. Ograničenost upotrebe dotadašnjih kvantno mehaničkih računa na proučava-

nje reakcije u enzimima proizlazila je iz činjenice da su ti računi bili primjenjivi samo na vrlo pojednostavljene modelne sustave koji su se sastojali od malog broja atoma iz kompleksa enzim – supstrat, pri čemu je reakcija modelirana u “vakuumu”, tj. nisu bili uključeni dielektrični efekti, koji imaju značajan utjecaj na energiju i raspodjelu naboja u sustavu. Metoda koju su razvili Warshel i Levitt<sup>5</sup> omogućila je modeliranje cijelog kompleksa enzim – supstrat zajedno s okolnim molekulama otapala (vode), čime su u račun plohe potencijalne energije sustava uključeni različiti kvantnomehanički i klasični efekti koji doprinose energiji i reakcijskom profilu. Ukupna potencijalna energija tako tretirano sustava zbroj je triju doprinosa:

$$V = V_{\text{klasična}} + V_{\text{kvantna}} + V_{\text{klasična/kvantna}}$$

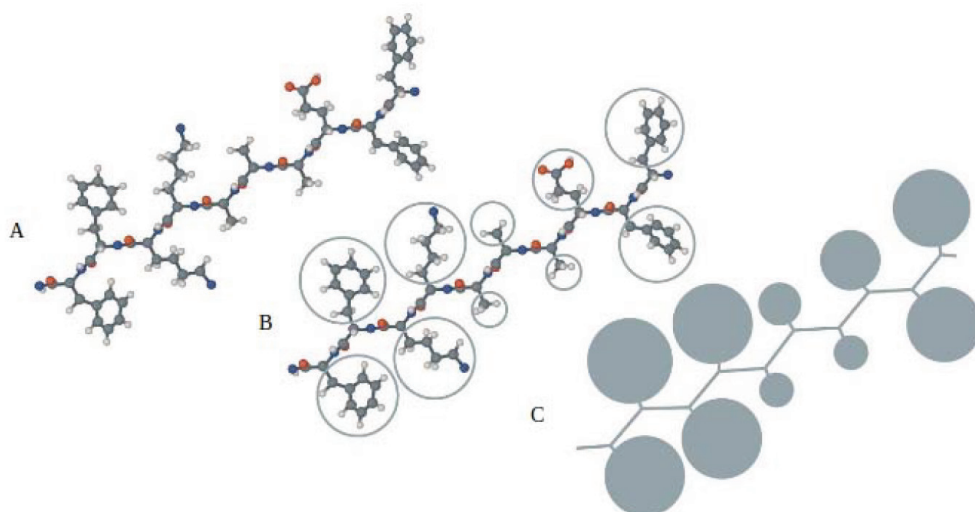
Prvi član predstavlja energiju klasično opisanog dijela sustava, drugi energiju dijela koji se tretira kvantnomehanički, dok treći član opisuje međudjelovanje tih dvaju podsustava. U svom radu Warshel i Levitt su kvantnomehanički tretirali dio enzima u kojem se odvija kemijska reakcija, osjenčana regija na slici 1, a ostatak enzima opisali su primjenom empirijske funkcije potencijalne energije, koja iako jednostavna omogućuje pouzdanu i brzu procjenu potencijalne energije molekule. Kvantnomehanički doprinos potencijalnoj energiji, povezan s pucanjem kemijske veze i redistribucijom naboja supstrata, računali su primjenom semiempirijskog pristupa koji se koristi hibridnim orbitalama i omogućuje jednostavno povezivanje kvantnog i klasičnog dijela molekule.<sup>3</sup> Kovalentna veza koja sječe granicu dvaju podsustava, “kvantnog” i “klasičnog”, u pristupu s hibridnim orbitalama predstavljena je s jednom orbitalom.

Upravo se ovaj rad citira kao prvi u povijesti gdje je uspješno primijenjen spoj kvantne i klasične mehanike u opisivanju katalitičkog mehanizma nekog enzima. Danas su kvantnomehaničke – molekulkomehaničke metode standardni alat u proučavanju kemijskih procesa u makromolekulskim sustavima.



Slika 1 – Komplex lizozim-supstrat (lijevo). Dijelovi enzima i supstrata koji direktno sudjeluju u kemijskoj reakciji tretiraju se kvantno mehaničkim metodama (desno).<sup>5</sup>

\* Autor za dopisivanje: dr. sc. Sanja Tomić,  
e-pošta: Sanja.Tomic@irb.hr



Slika 2 – (A) Prikaz polipeptidnog slijeda na atomskoj razini; (B) prikaz pojednostavljene strukture u kojoj je bočnom ogranku svakog aminokiselinskog ostatka dodijeljen interagirajući obujam; (C) konačna struktura korištena u simulaciji

Kako bi simulirali smatanje inhibitora tripsina iz goveđe gušterače u nativnu konformaciju, Levitt i Warshel koristili su se pojednostavljenim prikazom proteina (slika 2) u kojem su atome bočnih lanaca aminokiselinskog slijeda zamijenili pseudo atomima i na taj način smanjili broj stupnjeva slobode sustava.<sup>6</sup> Naime, u početku smatanja proteina usrednjena sila između aminokiselinskih ostataka ima glavnu ulogu u prelasku izduženog polipeptidnog lanca u kompaktniji oblik u kojem se većina grupa nalazi na udaljenosti blizu onoj u konačnom obliku. U takvom prostornom rasporedu aminokiselinskih ostataka specifične kratkodosežne sile među atomima postaju važne, te se nastanak konačne, entalpijski povoljne konformacije simulira na atomskoj razini. Takav pristup, s bitno manjim brojem stupnjeva slobode u početnoj fazi smatanja proteina, pridonio je racionalizaciji računalnog vremena simulacije.

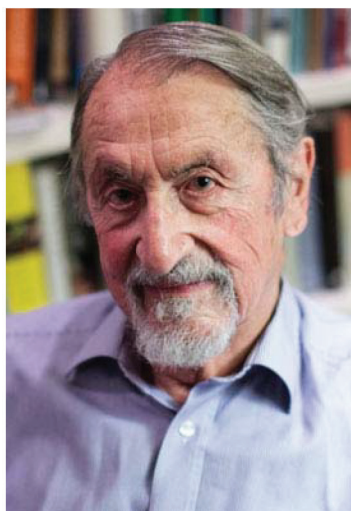
Prije otkrića Karplusa, Warshela i Levitta klasični i kvantni računalni pristupi primjenjivali su se odvojeno. Smatrajući ih nespojivima, znanstvenici su birali metodu primjereniju sustavu koji su proučavali. Spajanje kvantno mehaničkog i molekularno mehaničkog pristupa od strane trojice laureata prvi put je omogućilo modeliranje kemijskih reakcija bez obzira na veličinu molekule.

Zahvaljujući njima, danas je moguće računalno ispitivati nove lijekove i simulirati kompleksne biokemijske procese, te na taj način nadopuniti i pojasniti rezultate eksperimentalnih mjerenja koji još uvijek ne omogućuju analizu prijelaznih stanja, detaljnog tijeka, pa čak ni svih sudionika kemijske reakcije. Naime eksperimentalni podaci nerijetko mogu biti konzistentni s više mogućih mehanizama.

Za razliku od eksperimenta, računalna kemija nam omogućuje cjelovit pogled na kemijsku reakciju, ili kako je to slikovito opisao prof. Sven Lidin, predsjednik *Odbora za dodjelu Nobelove nagrade za kemiju*: "Računalna kemija omogućuje nam pogled na cijelu predstavu, a ne samo na glumce u početnoj i završnoj sceni". Metode QM/MM postale su nezamjenjivo oruđe u razvoju i testiranju pretpostavki o mehanizmima enzimске katalize. Osim u biokemiji, metode QM/MM primjenjuju se za proučavanje složenih procesa u organskoj kemiji, za računanje spektara otopljenih molekula te u znanosti o materijalima. Doprinos razvoju tih metoda imali su i drugi znanstvenici kao što su: J. Gao,<sup>7</sup> F. Maseras i K. Morokuma,<sup>8</sup> U. C. Sing i P. Kollman,<sup>9</sup> H. M. Senn i W. Thiel,<sup>10</sup> te mnogi drugi.

Pored metoda QM/MM značajan razvoj i primjenu u modeliranju makromolekula bilježe i duge metode višestrukih skala.<sup>11,12</sup>

Povezivanje metoda različitih skala, sub-atomskih, kvantno mehaničkih s jednostavnijim, empirijskim metodama, atomske i slabije, sve do mikrometerske rezolucije, omogućilo je pomicanje prostornih i vremenskih granica pri modeliranju bioloških sustava, te rezultiralo snažnim sprežanjem teorije i eksperimenta, čime su mnogi naočigled nerješivi problemi postali rješivi.



MARTIN KARPLUS rođen je 1930. godine u Beču (Austrija), a 1938. godine seli s roditeljima i bratom u SAD. Diplomirao je na *Harvard College*, a titulu doktora kemije stekao na *California Institute of Technology* pod vodstvom Linusa Paulinga 1953. godine. Kao poslijedoktorand provodi dvije godine na sveučilištu *Oxford* (Engleska), a nakon povratka u SAD neko vrijeme radi na *University of Illinois* i *Columbia University*. 1966. godine postaje profesor kemije na *Harvard University*, gdje nastavlja svoja

istraživanja. Iste godine postaje i profesor *Conventionné* na *Université Louis Pasteur*. Član je američke Nacionalne akademije znanosti, Američke akademije umjetnosti i znanosti i strani član Nizozemske akademije umjetnosti i znanosti te Kraljevskog društva u Londonu. Pridonio je razvoju mnogih eksperimentalnih i teorijskih područja u fizičkoj kemiji, kao što su NMR spektroskopija (nuklearna magnetska rezonancija), kemijska dinamika, kvantna kemija, a svakako najznačajniji je njegov doprinos u razvoju molekularno-dinamičkih simulacija bioloških makromolekula. Pridonio je razumijevanju nuklearnog *spin-spin*-sparivanja i ESR (*Electron Spin Resonance*) spektroskopije. Po njemu je imenovana i Karplusova jednačba koja opisuje korelaciju između konstante sprege<sup>3</sup> J određene NMR spektroskopijom i torzijskog kuta određenog s četiri vezana atoma.

MICHAEL LEVITT rođen je 1947. godine u Pretoriji (JAR). Diplomirao je fiziku na *King's College* u Londonu, a titulu doktora znanosti stekao je 1971. godine na *Cambridge University*. Kao poslijedoktorand provodi dvije godine na *Weizmann Institute of Science* (Izrael), zatim odlazi na *Cambridge* (Engleska) gdje u Laboratoriju za molekularnu biologiju provodi pet godina kao istraživač, a 1979. godine postaje profesor fizičke kemije na *Weizmann Institute of Science*. Godine 1987. postaje profesor strukturne biologije na *Stanford University* (SAD), gdje i danas radi. Član je Europske organizacije za molekularnu biologiju (EMBO), američke Nacionalne akademije znanosti, Američke akademije umjetnosti i znanosti te Kraljevskog društva u Londonu. U njegove najvažnije doprinose ubrajaju se razvoj "all-atom" potencijalne funkcije, koju je primijenio za minimiziranje energije proteina, razjasnio je prirodu dinamike proteina i razvio protokole za simuliranje proteina u otopini. Prvi je uveo pojednostavljeni prikaz proteina pri izučavanju njegovog smatanja u nativnu konformaciju. Pored proteina, Levitt je proučavao i nukleinske kiseline. Tako je prvi predvidio da DNA ima 10,5, a ne 10 baznih parova po zavoju u otopini. Također, prvi je izveo molekulske dinamičke simulacije DNA u vakuumu i otopini.



nih organizacija, od kojih su najpoznatije američka Nacionalna akademija znanosti, američko Biofizičko društvo te britansko Kraljevsko kemijsko društvo. U njegove najvažnije doprinose ubraja se razvoj računalnih metoda za korelaciju strukture i funkcije bioloških molekula, razvoj računalnih programa i metoda za detaljno proučavanje funkcije bioloških molekula primjenom programa utemeljenih na kartezijevim poljima sila, kombiniranje kvantne kemije i molekulske mehanike (QM/MM) za simuliranje reakcije u enzimima, izvođenje prve molekulske dinamičke simulacije biološkog procesa, primjena perturbacijske teorije na proteine, itd.

#### Literatura:

1. S. Lifson, A. Warshel, Consistent force field for calculations of conformations vibrational spectra and enthalpies of cycloalkanes and n-alkane molecules, *J. Chem. Phys.* **49** (1968) 5116–5129.
2. M. Levitt, S. Lifson, Refinement of protein conformations using a macromolecular energy minimization procedure, *J. Mol. Biol.* **46** (1969) 269–279.
3. A. Warshel, M. Karplus, Calculation of ground and excited state potential surfaces of conjugated molecules. I. Formulation and parameterization, *J. Am. Chem. Soc.* **94** (1972) 5612–5625.
4. A. Warshel, M. Karplus, Calculation of  $\pi\pi^*$  excited state conformations and vibronic structure of retinal and related molecules, *J. Am. Chem. Soc.* **96** (1974) 5677–5689.
5. A. Warshel, M. Levitt, Theoretical studies of enzymic reactions: dielectric, electrostatic and steric stabilization of the carbonium ion in the reaction of lysozyme, *J. Mol. Biol.* **103** (1976) 227–249.
6. M. Levitt, A. Warshel, Computer Simulations of Protein Folding, *Nature* **253** (1975) 694–698.
7. J. Gao, Methods and Applications of Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Potentials, *J. Rev. Chem.* **7** (1995) 119–185.
8. F. Maseras, K. Morokuma, IMOMM: A new integrated *ab initio* + molecular mechanics geometry optimization scheme of equilibrium structures and transition states, *J. Comput. Chem.* **16** (1995) 1170–1179.
9. U. C. Singh, P. Kollman, A combined *ab initio* quantum mechanical and molecular mechanical method for carrying out simulations on complex molecular systems: Applications to the  $\text{CH}_3\text{Cl} + \text{Cl}^-$  exchange reaction and gas phase protonation of polyethers, *J. Comput. Chem.* **7** (1986) 718–730.
10. H. M. Senn, W. Thiel, QM/MM methods for biomolecular systems, *Angew. Chem. Int. Ed.* **48** (2009) 1198–229.
11. M. F. Horstemeyer, Multiscale Modeling: A Review u J. Leszczyński, M. K. Shukla (ur.), *Practical Aspects of Computational Chemistry: Methods, Concepts and Applications*, ISBN 978-90-481-2687-3, 2009., str. 87–135.
12. M. Bulacu, N. Goga, W. Zhao, G. Rossi, L. Monticelli, X. Periole, D. P. Tieleman, S. J. Marrink, Improved Angle Potentials for Coarse-Grained Molecular Dynamics Simulations, *J. Chem. Theory Comput.* **9** (2013) 3282–3292



ARIEH WARSHEL rođen je 1940. godine u kibucu Sde Nahum (Izrael). Nakon služenja u Izraelskoj vojsci (s konačnim činom kapetana), Warshel upisuje *The Technion (Israel Institute of Technology)* u Haifi, gdje 1966. godine diplomira kemiju (*summa cum laude* diploma). Magisterij (1967.) i doktorat (1969.) iz kemijske fizike završio je pod mentorstvom Sheiora Lifsona na *Weizmann Institute of Science* u Izraelu. Nakon doktorata odlazi na postdoktorski studij na *Harvard University*. Od 1972. do 1976. paralelno radi na

*Weizmann Institute of Science* u Rehovotu i u Laboratoriju za molekularnu biologiju na *Cambridge* u Engleskoj. Od 1976. godine zaposlen je na Kemijskom odjelu *University of Southern California* (USC) u Los Angelesu, gdje i dan danas radi s titulom uglednog profesora kemije i biokemije. Član je mnogih znanstven-