

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

TÔNG THỊ THU CÚC

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU CƠ CHẾ PHẢN ỨNG ESTERAZA
BẰNG PHƯƠNG PHÁP TÍNH LƯỢNG TỬ

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

HÀ NỘI – 2010

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN



Tổng Thị Thu Cúc

**GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU CƠ CHẾ PHẢN ỨNG ESTERAZA
BẰNG PHƯƠNG PHÁP TÍNH LƯỢNG TỬ**

Chuyên ngành: Hóa lý thuyết và Hóa lý

Mã số: 62 44 31

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

TS. Nguyễn Hữu Thọ

HÀ NỘI – 2010

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1 - TỔNG QUAN.....	2
1.1. Đối tượng nghiên cứu	2
1.1.1. Acetylcholinesterase	2
1.1.2. Đặc điểm xúc tác	7
1.2. Phương pháp nghiên cứu.....	9
1.2.1. Protein docking	9
1.2.2. Phương pháp phiếm hàm mật độ.....	13
1.2.3. Cơ học phân tử.....	20
1.2.4. Kết hợp phương pháp cơ học lượng tử-cơ học phân tử.....	24
CHƯƠNG 2. NGUỒN DỮ LIỆU VÀ CÔNG CỤ TÍNH TOÁN	27
2.1. Nguồn dữ liệu	27
2.2. AutoDock 4.2 và AutoDockTools 1.5.4	30
2.3. AutoDock Vina 1.1.1	33
2.4. Gaussian 03W và GaussView 3.0	33
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	36
3.1. Protein docking.....	36
3.2. Áp dụng phương pháp QM/MM đối với hệ phản ứng.....	43
3.2.1. Cấu trúc enzyme	43
3.2.2. Cơ chất trong hóc phản ứng ở trạng thái chưa liên kết.....	46
3.2.3. Cấu trúc phức enzyme-cơ chất.....	50
3.2.4. Cấu trúc sản phẩm.....	53
KẾT LUẬN	56
TÀI LIỆU THAM KHẢO	58
PHỤ LỤC.....	60

MỞ ĐẦU

Ngày nay cùng với sự hoàn thiện của các phương pháp tính toán hóa lượng tử, sự quan tâm của hóa học lý thuyết đến lĩnh vực xúc tác enzyme ngày càng lớn. Nghiên cứu hệ xúc tác enzyme làm sáng tỏ bản chất hóa học của các phản ứng trong cơ thể sống. Một khi các phương pháp lý thuyết thành công trong lĩnh vực này sẽ mở đường cho việc tìm kiếm được phẩm mới điều trị nhiều loại bệnh tật cho con người mà không còn phải mò mẫm nhất là khi việc thử nghiệm thuốc mới trên cơ thể con người không thể tùy tiện.

Luận văn này tập trung làm sáng tỏ cơ chế xúc tác của một nhóm enzyme xúc tác cho phản ứng thủy phân - enzyme esterase, cụ thể là enzyme acetylcholinesterase. Về mặt chức năng, đây là enzyme có vai trò rất quan trọng đối với cơ thể vì nó tham gia trực tiếp vào quá trình truyền dẫn xung thần kinh. Về mặt động học xúc tác, đây là loại enzyme có hoạt tính xúc tác đặc biệt cao, nó tham gia trực tiếp vào phản ứng hóa học và thể hiện đầy đủ các nhân tố mà một xúc tác enzyme có thể tác động đến phản ứng hóa học.

Hiện nay các phương pháp lý thuyết nghiên cứu hệ xúc tác enzyme chưa hoàn thiện, vì vậy việc tiếp cận để cải tiến các phương pháp này là một hướng phát triển được ưu tiên vì nó sẽ tạo ra một bước nhảy vọt trong hóa lý thuyết, đưa lý thuyết tiến gần đến thực nghiệm hơn.

Luận văn này dùng một phương pháp đang phổ biến hiện nay khi nghiên cứu hệ xúc tác là phương pháp QM/MM với kỹ thuật ONIOM. Ở đây, phương pháp này được dùng kết hợp với các tính toán đơn giản hơn làm cơ sở dự đoán cơ chế phản ứng nhằm xây dựng một quy trình có hệ thống để nghiên cứu hệ xúc tác enzyme nói chung.

CHƯƠNG 1 - TỔNG QUAN

1.1. Đối tượng nghiên cứu

1.1.1. Acetylcholinesterase

1.1.1.1. Cấu trúc

Acetylcholinesterase là một loại protein chức năng, thuộc nhóm hydrolase. Vì vậy, về cơ bản acetylcholinesterase cũng có đặc điểm cấu trúc chung của protein.

a) Cấu trúc sơ cấp (bậc 1):

Acetylcholinesterase ở các loài khác nhau có cấu trúc khác nhau. Dưới đây đưa ra cấu trúc acetylcholine của cá đuối điện, chuột và của người.

(Kí hiệu của các aminoaxit xem trong phần phụ lục)

Cá đuối điện: do đặc điểm hoạt động mà acetylcholinesterase phổ biến ở loài này.

```
MNLLVTSSLG VLLHLVVLQ ADDHSELLVN TSGKVMGTR VVLLSSHISA FLGIPFAEPP
      70      80      90      100      110      120
VGNMRFRRPE PKKPWSGVWN ASTYPNNCQQ YVDEQFPGFS GSEMWNPNRE MSEDCLYLNI
      130      140      150      160      170      180
WVPSRPKST TVMWIYGGG FYSGSSTLDV YNGKYLAYTE EVVLVSLSYR VGAFGFLALH
      190      200      210      220      230      240
GSQEAPGNVG LLDQRMALQW VHDNIQFFGG DPKTVTIFGE SAGGASVGMH ILSPGSRDLF
      250      260      270      280      290      300
RRAILQSGSP NCPWASVSVA EGRRRAVELG RNLNCLNSD EELIHCLREK KPQELIDVEW
      310      320      330      340      350      360
NVLPFDSIFR FSFVPVIDGE FFPTSLESML NSGNFKKTQI LLGVNKDEGS FFLLYGAPGF
      370      380      390      400      410      420
SKDSESKISR EDFMSGVKLS VPHANDLGLD AVTLQYTDWM DDNNGIKNRD GLDDIVGDHN
      430      440      450      460      470      480
VICPLMHFVN KYTKFGNGTY LYFFNHRASN LVWPEWMGVI HGYEIEFVFG LPLVKELNYT
      490      500      510      520      530      540
AEEEEALSRI MHYWATFAKT GNPNEPHSQE SKWPLFTTKE QKFIDLNTEP MKVHQRLRVQ
      550      560      570      580
MCFVFNQFLP KLLNATACDG ELSSSGTSSS KGIIFYVLFS ILYLIF
```

Trong đó, 21 aminoaxit đầu tiên là đoạn peptit tín hiệu, mang thông tin điều khiển việc chuyển vận của phân tử protein. Sau khi protein đến vị trí đích, các aminoaxit này sẽ bị tách ra. 22 aminoaxit cuối cùng là đoạn peptit tiền hoạt hóa. Protein chỉ thực hiện chức năng khi phần này được tách bỏ. Như vậy, ở trạng thái hoạt hóa, phân tử enzyme acetylcholinesterase gồm 543 aminoaxit (phần in đậm).

Chuột:

```
MRPPWYPLHT PSLAFPLLFL LLSLLGGGAR AEGREDPQLL VRVRGGQLRG IRLKAPGGPV
      70      80      90      100     110     120
SAFLGIPFAE PPVGSRRFMP PEPKRPWSGV LDATTQNVVC YQYVDTLYPG FEGTEMWNPN
      130     140     150     160     170     180
RELSEDCLYL NVWTPYPRPA SPTPVLIIWY GGGFYSGAAS LDVYDGRFLA QVEGAVLVSM
      190     200     210     220     230     240
NYRVGTFGFL ALPGSREAPG NVGLLDQRLA LQWVQENIAA FGGDPMSVTL FGESAGAASV
      250     260     270     280     290     300
GMHILSLPSR SLFHRAVLQS GTPNGPWATV SAGEARRRAT LLARLVGCPP GGAGGNDTEL
      310     320     330     340     350     360
IACLRTRPAQ DLVDHEWHVL PQESIFRFSF VPVVDGDFLS DTPEALINTG DFQDLQVLVG
      370     380     390     400     410     420
VVKDEGSYFL VYGVPGFSGD NESLISRAQF LAGVRIGVPQ ASDLAEEAVV LHYTDWLHPE
      430     440     450     460     470     480
DPTHLRDAMS AVVGDNHNVVC PVAQLAGRLA AQGARVYAYI FEHRASTLTW PLWMGVPIGY
      490     500     510     520     530     540
EIEFIFGLPL DPSLNYTTEE RIFAQRLMKY WTNFARTGDP NDPRDSKSPQ WPPYTTAAQQ
      550     560     570     580     590     600
YVSLNLKPLE VRRGLRAQTC AFWNRFLPKL LSATDTLDEA ERQWKAEFHR WSSYMVHWKN
      610
QFDHYSKQER CSDL
```

Trong đó, 31 aminoaxit đầu tiên cũng là đoạn peptit tín hiệu, còn lại 583 aminoaxit tham gia thực hiện chức năng (phần in đậm).

Người:

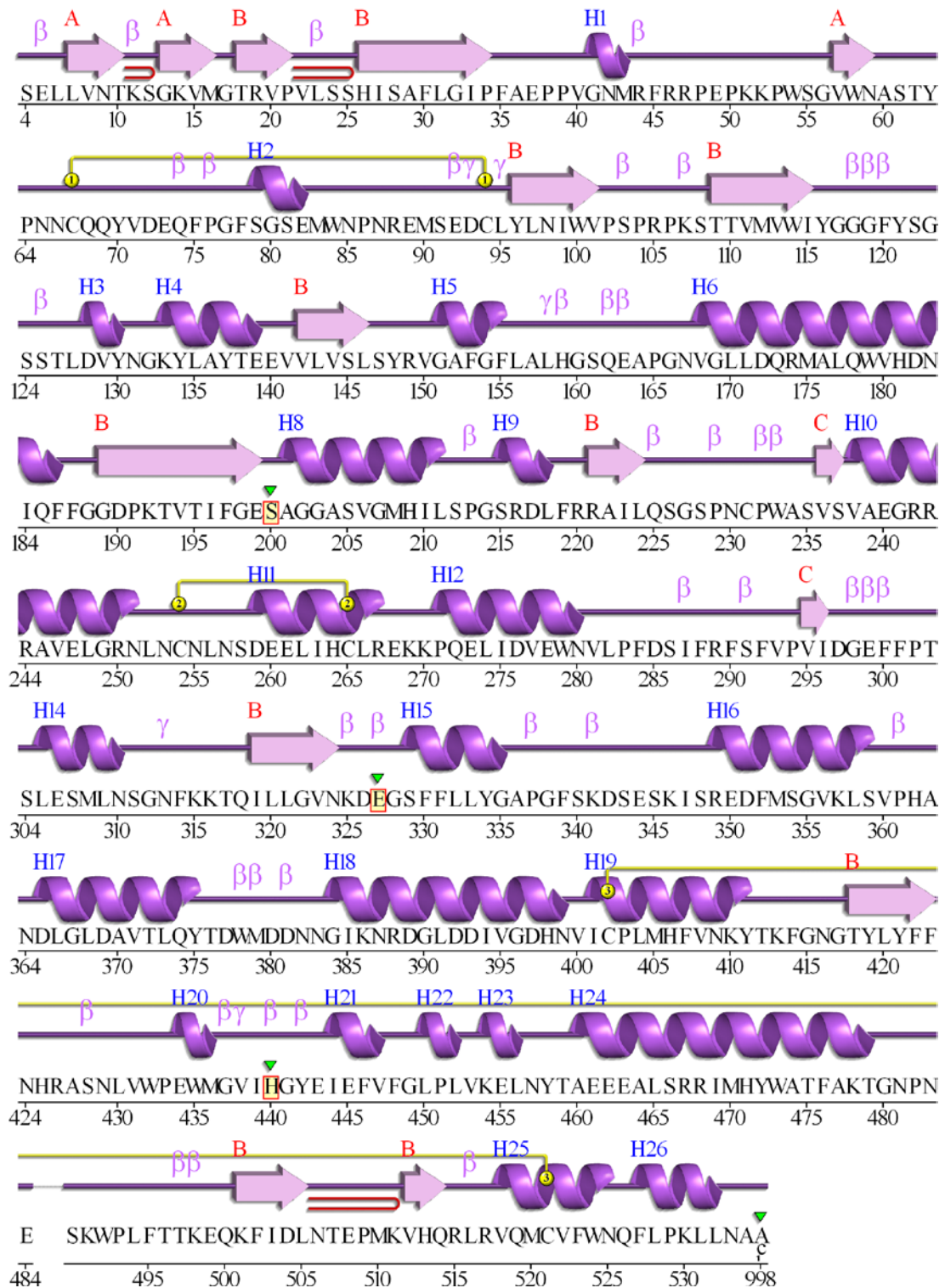
```
MRPPQCLLHT PSLASPLLLL LLWLLGGGVG AEGREDAELL VTVRGGRRLRG IRLKTPGGPV
      70      80      90      100     110     120
SAFLGIPFAE PPMGPRRFLP PEPKQPWSGV VDATTFQSVQ YQYVDTLYPG FEGTEMWNPN
```

130	140	150	160	170	180
RELSEDCLYL	NVWTPYPRPT	SPTPVLVWIY	GGGFYSGASS	LDVYDGRFLV	QAERTVVLVSM
190	200	210	220	230	240
NYRVGAFGFL	ALPGSREAPG	NVGLLDQRLA	LQWVQENVAA	FGGDPTSVTL	FGESAGAASV
250	260	270	280	290	300
GMHLLSPPSR	GLFHRAVLQS	GAPNGPWATV	GMGEARRRAT	QLAHLVGCPP	GGTGGNDTEL
310	320	330	340	350	360
VACLRTPAQ	VLVNHEWHVL	PQESVFRFSF	VPVVDGDFLS	DTPEALINAG	DFHGLQVLVG
370	380	390	400	410	420
VVKDEGSYFL	VYGAPGFSKD	NESLISRAEF	LAGVRVGVPQ	VSDLAAEAVV	LHYTDWLHPE
430	440	450	460	470	480
DPARLREALS	DVVGDNHNVVC	PVAQLAGRLA	AQGARVYAYV	FEHRASTLSW	PLWMGVPIGY
490	500	510	520	530	540
EIEFIFGIPL	DPSRNYTAE	KIFAQRLMRY	WANFARTGDP	NEPRDPKAPQ	WPPYTAGAQQ
550	560	570	580	590	600
YVSLDLRPLE	VRRGLRAQAC	AFWNRFLPKL	LSATDTLDEA	ERQWKAEFHR	WSSYMVHWKN
610					
QFDHYSKQDR	CSDL				

Đối chiếu cấu trúc bậc một của acetylcholinesterase ở chuột và người ta thấy chúng hoàn toàn giống nhau.

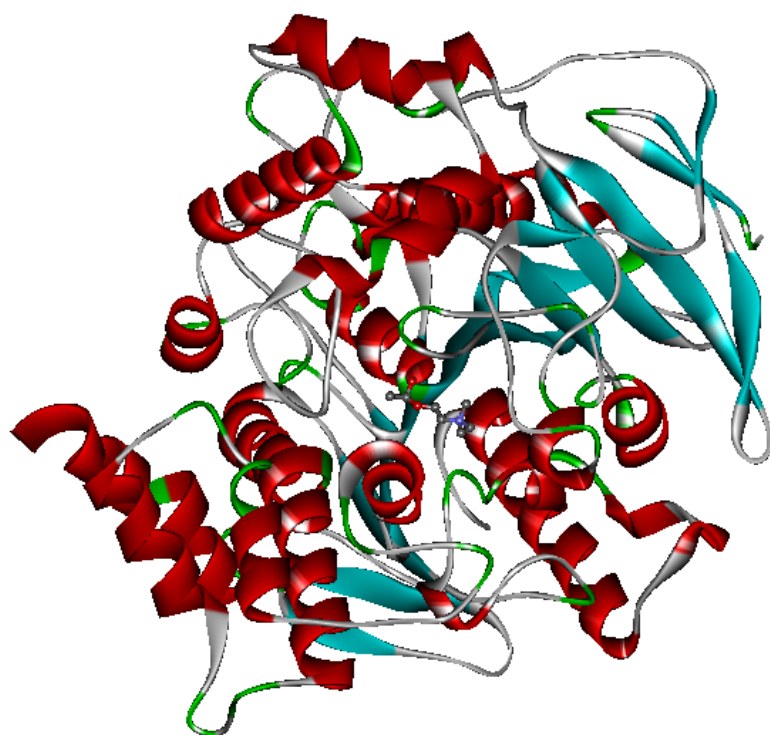
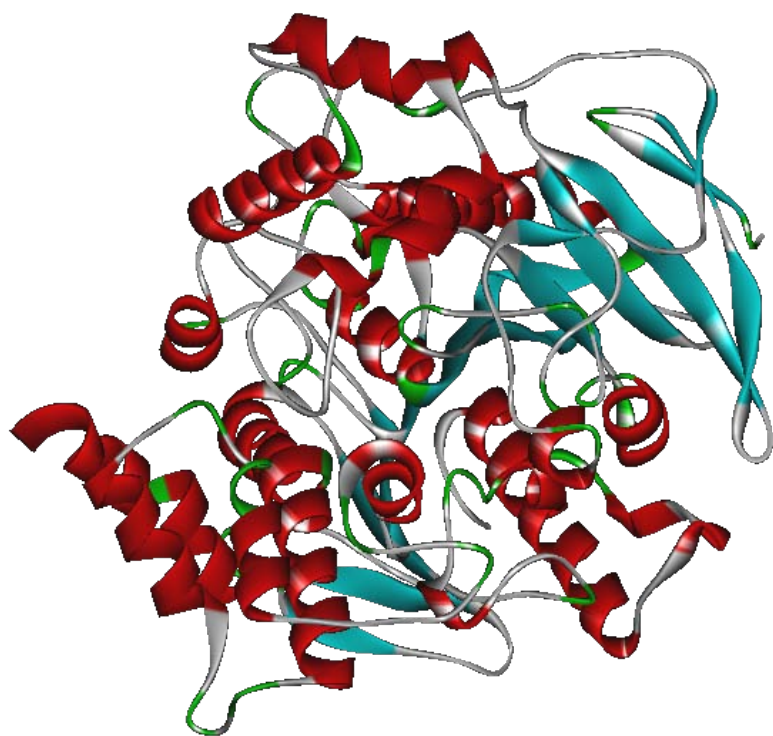
Tuy enzyme của cá đuối điện khác với enzyme trong cơ thể chuột và người nhưng cả 3 enzyme này về cơ bản thuộc nhóm có tâm xúc tác bộ ba Ser-Glu-Histidin. Do tính chất đơn giản trong cấu trúc enzyme ở cá đuối điện và các tài liệu thu thập được từ thực nghiệm, trong luận văn này bước đầu sẽ nghiên cứu hệ xúc tác với enzyme ở cá đuối điện.

b) Cấu trúc thứ cấp (bậc 2): hình 1.1



Hình 1. 1 Cấu trúc sơ cấp của acetylcholinesterase (từ UniProt)

c) Cấu trúc không gian: hình 1.2



Hình 1. 2 Cấu trúc không gian của acetylcholinesterase không có và có cơ chất

1.1.1.2. Chức năng sinh học

Acetylcholinesterase nằm trong danh mục các hydrolase (EC 3), thuộc nhóm esterase – nhóm enzyme có chức năng xúc tác cho quá trình thủy phân este thành axit và ancol trong phản ứng hóa học với nước. Acetylcholinesterase có số hiệu EC 3.1.1.7.

Acetylcholinesterase có vai trò quan trọng trong hoạt động thần kinh, nó xúc tác cho quá trình thủy phân chất dẫn truyền xung thần kinh acetylcholine. Chất này có nhiệm vụ mang tín hiệu từ các tế bào thần kinh tới tế bào cơ. Khi một tế bào thần kinh vận động nhận được tín hiệu từ trung khu thần kinh, nó sẽ tiết ra acetylcholine đi vào các synap giữa tế bào thần kinh vận động và tế bào cơ. Tại đây, acetylcholine kích hoạt các thụ quan trong tế bào cơ, phát động quá trình co cơ. Khi tín hiệu đã được truyền tải thì acetylcholine cần phải bị phá hủy, nếu không nó sẽ tiếp tục tác động đến các thụ quan của tế bào cơ và tín hiệu bị chồng lấn lên nhau. Acetylcholinesterase có mặt tại synap giữa tế bào thần kinh và tế bào cơ, đảm nhận chức năng phá hủy acetylcholine ngay sau khi tín hiệu được truyền đi. Dưới tác dụng của acetylcholinesterase, acetylcholine sẽ bị thủy phân thành axit axetic và choline. Sau đó choline sẽ được quay vòng để chuyển lại thành acetylcholine. Như vậy, việc điều tiết acetylcholinesterase đảm bảo cho hoạt động thần kinh diễn ra nhịp nhàng.

1.1.2. Đặc điểm xúc tác

Do chức năng sinh học của acetylcholinesterase trong việc truyền xung thần kinh mà nó cần phải có hoạt tính xúc tác đặc biệt cao, hệ số chu chuyển của nó là $10^3 - 10^4 \text{ s}^{-1}$, tốc độ gần với giới hạn khuếch tán [6]. Như các enzyme khác, acetylcholinesterase có tính chọn lọc cao, cơ chất của nó là acetylcholine, nó cũng dễ bị ức chế bởi nhiều chất khác nhau, ngay cả khi nồng độ cơ chất acetylcholine quá lớn nó cũng bị ức chế. Việc nghiên cứu chi tiết về enzyme này không chỉ nhằm làm rõ cơ chế tác động của nó lên phản ứng mà còn có thể tìm được các chất ức chế

hoạt tính của nó. Chất ức chế sẽ có tác dụng ngăn chặn quá trình thủy phân acetylcholine làm tăng cường độ tín hiệu của xung thần kinh.

Để giải thích tính chất chọn lọc của phản ứng xúc tác enzyme, Fischer đề xuất mô hình chìa khóa-ổ khóa, theo đó, cơ chất và enzyme có hình dạng đặc thù phù hợp với nhau. Mô hình này chỉ giải thích tính chọn lọc của xúc tác enzyme trên cơ sở sự tương hợp cứng nhắc về mặt hình học mà không giải thích được hoạt tính cao của enzyme. Sau đó, Daniel Koshland bổ sung cho mô hình này, cho rằng các enzyme do cấu trúc mềm dẻo của nó mà tâm hoạt động khi tương tác với cơ chất cũng không cứng nhắc mà thay đổi cấu hình trong suốt quá trình tương tác. Mô hình này cũng chưa làm rõ được vai trò của xúc tác enzyme. Hoạt tính và độ chọn lọc của enzyme phải được giải thích bằng nhiều yếu tố.

Enzyme có thể giúp hạ thấp năng lượng hoạt hóa của phản ứng theo các cách sau:

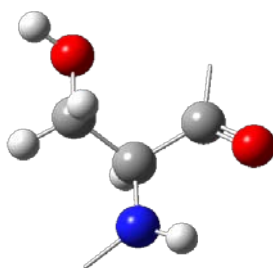
- Làm biến dạng trạng thái chuyển tiếp làm cho trạng thái này bền hơn, do đó giảm năng lượng hoạt hóa.
- Hạ thấp năng lượng của trạng thái chuyển tiếp bằng cách tạo ra môi trường với sự phân bố điện tích ngược với trạng thái chuyển tiếp.
- Tạo ra một đường phản ứng thay thế, enzyme sẽ phản ứng trực tiếp với cơ chất để hình thành phức trung gian enzyme-cơ chất, sau đó enzyme mới được tái tạo lại.
- Giảm biến thiên entropy của phản ứng bằng cách đem các cơ chất lại với nhau theo hướng thích hợp để phản ứng.
- Tăng nhiệt độ để tăng tốc phản ứng. Yếu tố này thường chỉ có đóng góp rất nhỏ vào hoạt tính xúc tác của enzyme.

Trong một phản ứng xúc tác enzyme cụ thể, có thể có một số hoặc tất cả các yếu tố trên. Đa số các phản ứng xúc tác enzyme đều có vai trò hóa học của một tâm hoạt động và phần còn lại của phân tử enzyme đóng vai trò môi trường, tạo thuận lợi về

mặt không gian và tương tác tĩnh điện. Khi nghiên cứu cơ chế phản ứng xúc tác enzyme bằng các phương pháp tính toán cần làm rõ được cả 2 hướng tác động này.

Riêng đối với acetylcholinesterase, kết quả thực nghiệm đã xác nhận sự tạo phức giữa enzyme và cơ chất. Tâm hoạt động là nhóm bộ ba Ser(200)-His(440)-Glu(327). Phản ứng xảy ra tại một hốc sâu bên trong phân tử acetylcholinesterase. Phân tử cơ chất trước tiên phản ứng với tâm xúc tác (nhóm OH trên Ser(200)) để tách ra choline, sau đó tâm xúc tác đã bị axetyl hóa sẽ tái tạo lại bằng cách phản ứng với phân tử nước.

(Lưu ý: ở đây đánh số aminoaxit không tính đến đoạn peptit tín hiệu nên lệch so với số hiệu trong cấu trúc bậc một đưa ở trên 21 đơn vị).



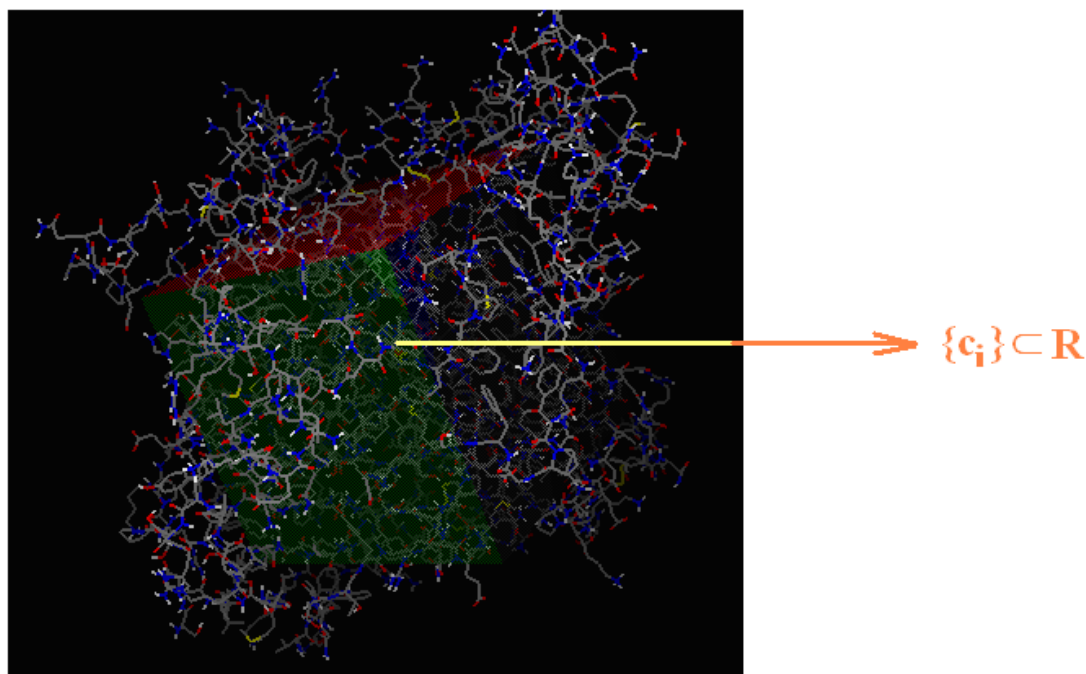
Hình 1. 3 Đơn vị aminoaxit Ser(200) với nhóm OH tham gia phản ứng hóa học

1.2. Phương pháp nghiên cứu

1.2.1. Protein docking

Protein docking là kỹ thuật mô hình hóa nhằm dự đoán vị trí và cấu hình thuận lợi mà phân tử cơ chất có thể gắn kết trên phân tử protein. Docking có vai trò quan trọng trong việc dự đoán ái lực và hoạt tính của các dược chất đối với protein, từ đó dự đoán khả năng hoạt hóa hoặc ức chế một protein chức năng. Bên cạnh đó docking cũng giúp dự đoán tâm hoạt động và vị trí, cấu hình thuận lợi của cơ chất tham gia phản ứng khi xem xét cơ chế xúc tác của enzyme (cũng là một loại protein chức năng).

Docking trở thành bài toán tối ưu, tìm vị trí và cấu hình phù hợp nhất của một cơ chất gắn kết lên protein. Về mặt nhiệt động lực học, mục tiêu của docking là tìm ra cấu hình mà năng lượng tự do của toàn hệ là thấp nhất. Để tìm cấu hình phù hợp nhất cần phải liên hệ không gian cấu hình với các giá trị số đánh giá được khả năng gắn kết của cơ chất lên protein rồi mới áp dụng được các thuật toán tìm kiếm.



Hình 1. 4 Ánh xạ từ không gian cấu hình lên tập số thực

Khi đó việc tìm kiếm cấu hình tối ưu tương ứng với việc tìm cực đại hoặc cực tiểu trong tập $\{c_i\}$.

Khi cơ chất gắn kết lên một phân tử protein, hai điểm cần chú ý là sự phù hợp về hình dạng, kích thước và năng lượng tương tác giữa cơ chất với protein.

Sự phù hợp về hình dạng tương tự như cơ chế chìa khóa-ổ khóa nhưng trong thực tế, cả cơ chất và protein đều có thể thay đổi cấu hình, đặc biệt protein là phân tử lớn và có cấu trúc mềm dẻo. Quá trình trong thực tế phức tạp hơn. Ngoài yêu cầu phù hợp về hình dạng, kích thước, giữa cơ chất và enzyme còn những tương tác khác như tương tác Van der Waals, tương tác tĩnh điện, trong nhiều trường hợp p còn

có tương tác hóa học. Nhưng do protein thường có kích thước lớn và mềm dẻo, rất khó khảo sát hết tất cả các khả năng có thể nên trong docking, phân tử protein thường đưa vào dưới dạng cấu trúc cứng, cơ chất có thể chuyển động tương đối so với protein và thay đổi cấu hình. Một số phần mềm docking cũng cho phép thay đổi cấu hình trên một số đơn vị aminoaxit.

Hàm thích nghi

Như trên đã nói, ta cần số hóa độ tốt của các cấu hình trong không gian khảo sát. Trong autodock và autodock vina, không gian khảo sát được xác định bởi người dùng là một hộp bao gồm một phần hoặc toàn bộ phân tử protein. Gọi hàm xác lập giữa không gian cấu hình với một tập số thực là hàm thích nghi. Hàm thích nghi phải đánh giá được tương tác giữa cơ chất và protein. Hầu hết các phần mềm đánh giá độ thích nghi liên hệ trực tiếp với năng lượng của cấu hình dựa vào các phương pháp trường lực cơ học phân tử; cấu hình có năng lượng thấp thì hệ bền và có khả năng gắn kết cao. Ngoài ra còn có thể dùng các phương pháp “học máy” để xây dựng hàm thích nghi với dữ liệu học là dữ liệu thực nghiệm.

AutoDock: độ thích nghi được đánh giá qua năng lượng tự do.

$$\Delta G = (V_b^{L-L} - V_{ub}^{L-L}) + (V_b^{P-P} - V_{ub}^{P-P}) + (V_b^{P-L} - V_{ub}^{P-L} + \Delta S_{conf}) \quad (1.1)$$

Trong đó L chỉ cơ chất, P chỉ protein, b chỉ trạng thái gắn kết, ub cho trạng thái không gắn kết. Các giá trị thế năng được tính theo trường lực cơ học phân tử.

AutoDock Vina: hàm cho giá trị độ thích nghi có dạng

$$c = \sum_{i < j} f_{t_i t_j}(r_{ij}) \quad (1.2)$$

Trong đó các nguyên tử i, j lần lượt được quy dạng t_i, t_j . Tổng trên được lấy với tất cả các cặp nguyên tử có thể chuyển động tương đối với nhau, trừ các tương tác 1-4. Giá trị này bao gồm cả phần tương tác giữa các phân tử và phần tương tác trong cùng phân tử.

Thuật toán tìm kiếm

Do không có một mối liên hệ đơn giản giữa vị trí và cấu hình của cơ chất với khả năng gắn kết, không gian tìm kiếm có thể có rất nhiều cực trị địa phương. Vì vậy cần phải có thuật toán tối ưu toàn cục thích hợp.

Đối với AutoDock, ở đây chỉ dùng thuật toán di truyền kết hợp với tối ưu cục bộ.

Cách thức thực hiện thuật toán di truyền trong AutoDock:

- *Mỗi lời giải (tức một cấu dạng) được coi như một cá thể trong một quần thể, và được biểu diễn như cấu trúc của một nhiễm sắc thể. Mỗi nhiễm sắc thể có các thành phần biểu diễn vị trí, định hướng và các góc xoắn.*
- *Từ một quần thể ban đầu, mỗi cá thể sẽ được đánh giá độ thích nghi thông qua năng lượng, những cá thể có độ thích nghi cao (tức năng lượng gắn kết âm hơn) sẽ có cơ hội được chọn nhiều hơn để tiến hành lai ghép tạo ra cá thể mới. Một số cá thể có độ thích nghi đặc biệt cao sẽ được sao chép toàn bộ vào thế hệ sau.*
- *Một số cá thể mới được tạo ra sẽ bị đột biến tại một hoặc một số điểm trên nhiễm sắc thể với tỉ lệ đột biến xác định trước.*
- *Các cá thể trong thế hệ mới lại được đánh giá độ thích nghi, qua quá trình lai ghép, đột biến để tạo quần thể mới. Quy trình này được lặp đi lặp lại cho đến khi độ thích nghi trong quần thể ổn định qua các thế hệ hoặc khi gặp một trong các điều kiện giới hạn về khối lượng tính toán.*

Khi kết hợp với tối ưu cục bộ thì mỗi cá thể mới tạo thành do lai ghép hay đột biến đều được tối ưu lại trước khi đánh giá độ thích nghi.

AutoDock Vina: kết hợp tối ưu cục bộ với phương pháp Monte-Carlo.

Khác với AutoDock, thuật toán tối ưu cục bộ trong AutoDock Vina là thuật toán dựa vào gradient lực, còn trong AutoDock, tối ưu cục bộ theo thuật toán ngẫu

nhiên. Mỗi cấu hình trong AutoDock Vina cũng được biểu diễn như một nhiễm sắc thể với thông tin về vị trí, định hướng của cơ chất và các góc xoắn. Một số cá thể cũng bị đột biến để tạo quần thể mới, nhưng không có sự lai ghép. Mỗi thế hệ tiến tới thế hệ tiếp theo với độ thích nghi nói chung cao hơn nhờ các bước tìm kiếm ngẫu nhiên để tìm tới cấu hình tốt hơn.

Điểm chung của cả hai thuật toán là tìm kiếm ngẫu nhiên, đi từ một tập các lời giải ban đầu và phát sinh ra những lời giải ngày càng tốt hơn.

1.2.2. Phương pháp phiếm hàm mật độ

Cơ sở của phương pháp này là dựa vào định đề Hohenberg-Kohn khẳng định tồn tại tương ứng một - một giữa mật độ electron và năng lượng của hệ. Đối với một hệ có N electron, hàm sóng chứa tới 3N tọa độ, trong khi đó mật độ electron của hệ là một hàm chỉ phụ thuộc vào 3 tọa độ, độc lập với số electron trong hệ. Để sử dụng phương pháp phiếm hàm mật độ cần phải thiết lập mối liên hệ giữa năng lượng và mật độ electron $E[\rho]$. Mật độ electron của hệ là một hàm nên mối quan hệ này được biểu diễn dưới dạng một phiếm hàm.

1.2.2.1. Các định đề Hohenberg-Kohn

Định đề Hohenberg-Kohn thứ nhất (chứng minh sự tồn tại mối liên hệ một-một giữa mật độ electron và thế ngoài)

“thế ngoài $V_{ext}(\vec{r})$ (trong giới hạn một hằng số) là một phiếm hàm đơn nhất của $\rho(\vec{r})$; vì $V_{ext}(\vec{r})$ lại xác định $\hat{H}$ nên ta thấy rằng trạng thái cơ bản đầy đủ của hệ nhiều hạt là một phiếm hàm đơn nhất của $\rho(\vec{r})$ ” [7]

Giả sử có hai thế ngoài V_{ext} và V'_{ext} khác nhau hơn một hằng số cùng cho ra một mật độ electron $\rho(\vec{r})$ tương ứng với trạng thái cơ bản không suy biến của N hạt.

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{ext} \quad (1.3)$$

$$\hat{H}' = \hat{T} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}'_{ext} \quad (1.4)$$

Hai toán tử Hamilton trên xác định hai hàm sóng trạng thái cơ bản khác nhau ψ và ψ' tương ứng với các giá trị năng lượng trạng thái cơ bản lần lượt là E_0 và E'_0 ($E_0 \neq E'_0$). Như vậy hai hàm sóng ψ và ψ' cho ra cùng một mật độ electron $\rho(\vec{r})$.

Ta có thể dùng ψ' như một hàm thử cho toán tử Hamilton $\hat{H}$ và theo nguyên lý biến phân ta có

$$E_0 < \langle \psi' | \hat{H} | \psi' \rangle = \langle \psi' | \hat{H} | \psi' \rangle + \langle \psi' | \hat{H} - \hat{H}' | \psi' \rangle \quad (1.5)$$

$$\text{hay } E_0 < E'_0 + \langle \psi' | \hat{V}_{ext} - \hat{V}'_{ext} | \psi' \rangle \quad (1.6)$$

$$\text{tức là } E_0 < E'_0 + \int \rho(\vec{r})(V_{ext} - V'_{ext}) d\vec{r} \quad (1.7)$$

Hoán đổi vai trò giữa $(\psi, E_0, \hat{H})$ và $(\psi', E'_0, \hat{H}')$ và tiến hành các bước như trên ta được

$$E'_0 < E_0 + \int \rho(\vec{r})(V'_{ext} - V_{ext}) d\vec{r} = E_0 - \int \rho(\vec{r})(V_{ext} - V'_{ext}) d\vec{r} \quad (1.8)$$

Cộng hai phương trình trên đưa đến biểu thức

$$E_0 + E'_0 < E'_0 + E_0 \quad (1.9)$$

Điều này vô lí. Vậy không thể có hai thể ngoài khác nhau cùng tương ứng với một mật độ electron ở trạng thái cơ bản hay nói cách khác, mật độ electron ở trạng thái cơ bản $\rho(\vec{r})$ xác định duy nhất một thể ngoài V_{ext} .

Vì năng lượng trạng thái cơ bản là một phiếm hàm của mật độ electron trạng thái cơ bản nên các thành phần của nó cũng vậy và ta có thể viết

$$E_0[\rho_0] = T[\rho_0] + E_{ee}[\rho_0] + E_{Ne}[\rho_0] \quad (1.10)$$

Ta có thể phân tách phần năng lượng do tương tác hạt nhân -electron (có dạng phụ thuộc vào hệ cụ thể) và phần còn lại có dạng chung độc lập với N, vị trí và điện tích hạt nhân.

$$E_0[\rho_0] = \int \rho_0(r) V_{Ne} dr + T[\rho_0] + E_{ee}[\rho_0] \quad (1.11)$$

Định nghĩa phiếm hàm Hohenberg-Kohn

$$F_{HK}[\rho_0] = T[\rho_0] + E_{ee}[\rho_0] \quad (1.12)$$

ta viết lại

$$E_0[\rho_0] = \int \rho_0(\vec{r}) V_{Ne} d\vec{r} + F_{HK}[\rho_0] \quad (1.13)$$

Nếu biết chính xác phiếm hàm $F_{HK}[\rho_0]$ chúng ta có thể có lời giải chính xác cho phương trình Schrodinger. Vì phiếm hàm này có một dạng chung độc lập với kích thước hệ nên rất thuận tiện khi áp dụng cho các hệ lớn. Nhưng chúng ta vẫn chưa biết được dạng chính xác của cả $T[\rho_0]$ và $E_{ee}[\rho_0]$.

$$E_{ee}[\rho] = J[\rho] + K[\rho] = \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{r_{12}} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 + K[\rho] \quad (1.14)$$

Việc tìm dạng của các phiếm hàm $T[\rho]$ và $K[\rho]$ là thách thức lớn trong lý thuyết phiếm hàm mật độ.

Định đề Hohenberg-Kohn thứ hai: nguyên lý biến phân

Chúng ta đã khẳng định rằng mật độ trạng thái cơ bản về nguyên tắc là đủ để xác định đầy đủ tính chất của hệ. Nhưng, làm thế nào để chắc chắn rằng một mật độ nào đó thực sự là mật độ ở trạng thái cơ bản.

Định đề hai thực chất có dạng của nguyên lý biến phân

$$E_0 \leq E[\tilde{\rho}] = T[\tilde{\rho}] + E_{Ne}[\tilde{\rho}] + E_{ee}[\tilde{\rho}] \quad (1.15)$$

Có thể phát biểu như sau: với bất kì một hàm thử $\tilde{\rho}(\vec{r})$ nào thỏa mãn các điều kiện biên như $\tilde{\rho}(\vec{r}) \geq 0$, $\int \tilde{\rho}(\vec{r}) d\vec{r} = N$ tương ứng với một thế ngoài $\tilde{V}_{ext}$ nào đó, thì năng lượng nhận được cũng không thể nhỏ hơn năng lượng trạng thái cơ bản E_0 . Dấu bằng chỉ nhận được nếu và chỉ nếu mật độ trong công thức đúng là mật độ trạng thái cơ bản.

1.2.2.2. Phương trình Kohn-Sham

Hai định đề trên là cơ sở của phương pháp phiếm hàm mật độ nhưng chưa chỉ ra được cách áp dụng vào hệ cụ thể vì chưa đưa ra được một dạng phiếm hàm phù hợp liên hệ giữa năng lượng và mật độ electron. Năm 1965, Kohn và Sham đã đề xuất một cách thức để xác lập phiếm hàm đã nói ở trên, trước hết là để tính động năng với độ chính xác tương đối. Để xác định phần động năng này, Kohn, Sham đưa vào khái niệm hệ quy chiếu không tương tác được xây dựng từ một tập hợp các orbital là các hàm một electron. Phần sai số cùng với tương tác giữa các electron $K[\rho]$ khá nhỏ sẽ được xác định bằng một phiếm hàm xấp xỉ.

Orbital và hệ quy chiếu không tương tác

Với mô hình hệ khí đồng nhất không tương tác, Thomas, Fermi đã xây dựng trực tiếp các phiếm hàm động năng và tương tác electron-electron nhưng kết quả áp dụng lại không phù hợp với thực tế, không mô tả được liên kết hóa học. Kohn và Sham đã tìm một cách tiếp cận khác, đó là dựa vào các hàm sóng và liên hệ với cách thức tiếp cận của Hartree-Fock.

Giả sử một hệ electron không tương tác, ta có thể viết toán tử Hamilton ở dạng:

$$\hat{H}_S = -\frac{1}{2} \sum_i^N \nabla_i^2 + \sum_i^N V_S(\vec{r}_i) \quad (1.16)$$

Và liên hệ với phương pháp Hartree-Fock thì định thức Slater là hàm sóng chính xác. Đối với hệ tương tác thì thế V_S là thế hiệu dụng địa phương tương tự như thế hiệu dụng trong phương trình Hartree-Fock.

Ta đưa vào hàm sóng dưới dạng định thức Slater

$$\Phi_S = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \varphi_1(1) & \varphi_2(1) & \dots & \varphi_N(1) \\ \varphi_1(2) & \varphi_2(2) & \dots & \varphi_N(2) \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \varphi_1(N) & \varphi_2(N) & \dots & \varphi_N(N) \end{vmatrix} \quad (1.17)$$

Các orbital φ_i thỏa mãn phương trình

$$\hat{f}^{KS} \varphi_i = \varepsilon_i \varphi_i \quad (1.18)$$

với $\hat{f}^{KS}$ là toán tử Kohn-Sham một electron

$$\hat{f}^{KS} = -\frac{1}{2} \nabla^2 + V_S \quad (1.19)$$

Để áp dụng cho hệ thực là hệ tương tác ta phải tìm được thể hiệu dụng thích hợp thỏa mãn điều kiện tổng các bình phương modul hàm sóng phải bằng mật độ trạng thái cơ bản của hệ tương tác.

Phương trình Kohn-Sham

Kohn-Sham đề nghị dùng biểu thức dưới đây để nhận được động năng chính xác của hệ không tương tác có cùng mật độ như hệ thực có tương tác

$$T_s = -\frac{1}{2} \sum_i^N \langle \varphi_i | \nabla^2 | \varphi_i \rangle \quad (1.20)$$

Tất nhiên, động năng của hệ không tương tác không thể bằng động năng của hệ thực có tương tác dù chúng có chung một mật độ. Bao gồm phần sai khác này, Kohn-Sham đưa vào số hạng năng lượng tương quan-trao đổi E_{xc} .

$$F[\rho(\vec{r})] = T_s[\rho(\vec{r})] + J[\rho(\vec{r})] + E_{xc}[\rho(\vec{r})] \quad (1.21)$$

nghĩa là

$$E_{xc}[\rho(\vec{r})] = (T[\rho(\vec{r})] - T_s[\rho(\vec{r})]) + (E_{ee}[\rho(\vec{r})] - J[\rho(\vec{r})]) = T_{er}[\rho(\vec{r})] + K[\rho(\vec{r})] \quad (1.22)$$

Từ biểu thức trên ta thấy số hạng năng lượng tương quan trao đổi trong phương pháp Kohn-Sham không đồng nhất với phần tương quan-trao đổi trong phương pháp Hartree-Fock mà nó còn bao gồm cả một phần động năng không được xác định chính xác.

Vấn đề đặt ra là làm thế nào để xác định duy nhất các orbital φ_i trong hệ không tương tác hay nói cách khác là làm thế nào để định nghĩa được V_s để có thể nhận được định thức Slater tương ứng với mật độ điện tích đúng như hệ thực.

Ta viết lại biểu thức năng lượng có sự phụ vào orbital

$$\begin{aligned}
 E[\rho(\vec{r})] &= T_s[\rho(\vec{r})] + J[\rho(\vec{r})] + E_{xc}[\rho(\vec{r})] + E_{Ne}[\rho(\vec{r})] \\
 &= T_s[\rho(\vec{r})] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{r_{12}} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 + E_{xc}[\rho(\vec{r})] + \int \rho_0(\vec{r}) V_{Ne} d\vec{r} \\
 &= -\frac{1}{2} \sum_i^N \langle \varphi_i | \nabla^2 | \varphi_i \rangle + \frac{1}{2} \sum_i^N \sum_j^N \iint |\varphi_i(\vec{r}_1)|^2 \frac{1}{r_{12}} |\varphi_j(\vec{r}_2)|^2 d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 + E_{xc}[\rho(\vec{r})] - \\
 &\sum_i^N \int \sum_A^M \frac{Z_A}{r_A} |\varphi_i(\vec{r})|^2 d\vec{r}
 \end{aligned} \tag{1.23}$$

Trong biểu thức trên, số hạng duy nhất không có dạng phụ thuộc rõ ràng là E_{xc} .

Tiếp theo áp dụng nguyên lý biến phân với điều kiện ràng buộc

$$\langle \varphi_i | \varphi_j \rangle = \delta_{ij} \tag{1.24}$$

dẫn đến phương trình

$$\left(-\frac{1}{2} \nabla^2 + \left(\int \frac{\rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_2 + V_{xc}(\vec{r}_1) - \sum_A^M \frac{Z_A}{r_A} \right) \right) \varphi_i = \left(-\frac{1}{2} \nabla^2 + V_{eff}(\vec{r}) \right) \varphi_i = \varepsilon_i \varphi_i \tag{1.25}$$

Xem xét các thành phần trong thể hiệu dụng Kohn-Sham

$$V_s(\vec{r}) = V_{eff}(\vec{r}) = \int \frac{\rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_2 + V_{xc}(\vec{r}) - \sum_A^M \frac{Z_A}{r_A} \tag{1.26}$$

$$V_{xc} = \frac{\delta E_{xc}}{\delta \rho} \tag{1.27}$$

Vì chúng ta chưa biết dạng phụ thuộc của E_{xc} nên cũng chưa biết được dạng của V_{xc} . Nếu biết dạng chính xác E_{xc} (V_{xc}), phương trình Kohn-Sham sẽ cho ra trị riêng chính xác nhưng cho đến nay, phiếm hàm này mới chỉ được đưa ra một cách

gần đúng. Và sự phát triển của lý thuyết phiếm hàm mật độ tập trung vào việc tìm ra dạng tốt hơn của phiếm hàm tương quan-trao đổi.

Khi đã có dạng của phiếm hàm tương quan-trao đổi thì việc giải phương trình Kohn-Sham được thực hiện bằng cách giải lặp tương tự như phương trình Hartree-Fock.

Phiếm hàm tương quan-trao đổi phải được xác định chung cho tất cả các hệ. Nhiều dạng phiếm hàm tương quan-trao đổi đã được đưa ra, việc xây dựng các dạng gần đúng này dựa vào so sánh với thực nghiệm hoặc trên cơ sở so sánh với một phương pháp hàm sóng mức cao. Thông thường phiếm hàm được tách thành 2 phần riêng rẽ, phần tương quan và phần trao đổi.

$$E_{xc}[\rho] = E_x[\rho] + E_c[\rho] = \int \rho(r) \varepsilon_x[\rho(r)] dr + \int \rho(r) \varepsilon_c[\rho(r)] dr \quad (1.28)$$

ε_x và ε_c được đưa vào biểu thức với ý nghĩa là mật độ năng lượng.

Thế tương quan-trao đổi tương ứng được xác định là đạo hàm của năng lượng theo mật độ:

$$V_{xc}(r) = \frac{\partial E_{xc}[\rho]}{\partial \rho(r)} = \varepsilon_{xc}[\rho(r)] + \rho(r) \frac{\partial \varepsilon_{xc}(r)}{\partial \rho} \quad (1.29)$$

Tương quan giữa các electron có spin song song khác với tương quan giữa các electron có spin đối song, năng lượng trao đổi theo định nghĩa chỉ liên quan đến các electron có cùng spin.

$$E_x[\rho] = E_x^\alpha[\rho_\alpha] + E_x^\beta[\rho_\beta] \quad (1.30)$$

$$E_c[\rho] = E_c^{\alpha\alpha}[\rho_\alpha] + E_c^{\beta\beta}[\rho_\beta] + E_c^{\alpha\beta}[\rho_\alpha, \rho_\beta] \quad (1.31)$$

Mật độ tổng là tổng của phần đóng góp của các electron α và β : $\rho = \rho_\alpha + \rho_\beta$. Tuy nhiên, các phiếm hàm thường được viết theo độ phân cực hóa spin ζ và bán kính của thể tích hiệu dụng chứa một electron r_s .

$$\zeta = \frac{\rho^\alpha - \rho^\beta}{\rho^\alpha + \rho^\beta} \quad \text{và} \quad r_s = \sqrt[3]{\frac{3}{4\pi\rho}} \quad (1.32)$$

Có nhiều dạng phiếm hàm tương quan-trao đổi đã được thiết lập, một số dạng thường dùng trong hệ hóa học như BPW91, BLYP, B3LYP, B3PW91...

1.2.2.3. Phiếm hàm B3LYP

Phiếm hàm B3LYP là dạng phiếm hàm thường dùng trong khi nghiên cứu các hệ hóa học theo phương pháp DFT. Đây là dạng kết hợp tuyến tính của phiếm hàm trao đổi Hartree-Fock và các phiếm hàm tương quan, trao đổi dạng khác. Các tham số xác định trọng số của mỗi phiếm hàm thành phần được xác định bằng cách khớp với thực nghiệm hay các dữ kiện nhiệt hóa học được tính toán một cách chính xác.

$$E_{xc}^{B3LYP} = E_{xc}^{LDA} + a_0(E_x^{HF} - E_x^{LDA}) + a_x(E_x^{GGA} - E_x^{LDA}) + a_c(E_c^{GGA} - E_c^{LDA}) \quad (1.33)$$

với $a_0 = 0.20$, $a_x = 0.72$, $a_c = 0.81$. Các tham số này được xác định bằng cách khớp các giá trị dự đoán với một tập hợp các giá trị năng lượng nguyên tử hóa, thế ion hóa, ái lực proton, các giá trị năng lượng tổng của nguyên tử thể hiện trong các nghiên cứu của Becke, và Lee-Yang-Parr [4, 9].

1.2.3. Cơ học phân tử

Trong các phương pháp trường lực, năng lượng điện tử với một cấu hình hạt nhân cho trước được tính bằng cách viết lại E_e dưới dạng một hàm tham số của các tọa độ hạt nhân. Các tham số đưa vào hàm này được lấy phù hợp với thực nghiệm hay từ các phương pháp tính toán mức cao hơn. Phân tử được mô hình như hệ các quả cầu và lò xo, gồm các nguyên tử được giữ với nhau bằng các liên kết. Các nguyên tử được xử lý như trong cơ học cổ điển theo định luật II Newton.

Năng lượng trường lực được phân tách thành các số hạng mô tả năng lượng cần thiết để làm biến dạng phân tử theo những kiểu riêng khác nhau.

$$E_{FF} = E_{str} + E_{bend} + E_{tors} + E_{vdw} + E_{el} + E_{cross} \quad (1.34)$$

Trong đó,

E_{str} : năng lượng cần để làm thay đổi độ dài liên kết giữa 2 nguyên tử

E_{bond} : năng lượng cần để làm thay đổi góc liên kết

E_{tors} : năng lượng xoắn, cần để quay quanh một liên kết

E_{vdw} , E_{el} : năng lượng tương tác nguyên tử-nguyên tử không liên kết

E_{cross} : mô tả ảnh hưởng qua lại giữa ba số hạng đầu tiên.

Để tìm cấu hình bền của phân tử tương ứng với cực tiểu trên bề mặt thế năng, ta tiến hành cực tiểu hóa E_{FF} theo các tọa độ hạt nhân.

1.2.3.1. Năng lượng thay đổi độ dài liên kết E_{str}

Ta khai triển năng lượng làm thay đổi độ dài liên kết giữa 2 nguyên tử A và B theo chuỗi Taylor đến bậc 2 (đây là dạng đơn giản nhất).

$$E_{str}(R - R_0) = E(0) + \frac{dE}{dR}(R - R_0) + \frac{1}{2} \frac{d^2E}{dR^2}(R - R_0)^2 \quad (1.35)$$

R_0 là độ dài liên kết tự nhiên hay cân bằng giữa 2 nguyên tử A và B, điểm không được xác định tại R_0 . Khi khai triển gần giá trị cân bằng, số hạng bậc nhất bằng không, E_{str} có dạng đơn giản

$$E_{str}(R - R_0) = k(R - R_0)^2 = k(\Delta R)^2 \quad (1.36)$$

với k là hằng số lực của liên kết giữa A và B. Biểu thức có dạng mô tả dao động tử điều hòa và với mỗi liên kết cần 2 tham số là k và R_0 . Để chính xác hơn cần thêm các số hạng bậc cao hơn vào biểu thức khai triển Taylor.

$$E_{str}(\Delta R) = k_2(\Delta R)^2 + k_3(\Delta R)^3 + k_4(\Delta R)^4 + \dots \quad (1.37)$$

Khi đó số tham số cần đưa vào cũng tăng lên. Ngoài ra còn có thể đưa vào các dạng hàm khác để hiệu chỉnh.

1.2.3.2. Năng lượng làm thay đổi góc liên kết E_{bend}

Tương tự như E_{str} , ta cũng có thể viết E_{bend} ở dạng khai triển Taylor.

$$E_{\text{bend}}(\theta - \theta_0) = k(\theta - \theta_0)^2 \quad (1.38)$$

θ_0 là góc liên kết tự nhiên giữa 3 nguyên tử A -B-C. Cũng giống như E_{str} , đây là dạng đơn giản nhất của E_{bend} , để chính xác hơn có thể đưa thêm vào các số hạng khai triển bậc cao hơn và hiệu chỉnh cho phù hợp với dữ kiện thực nghiệm hoặc các phương pháp tính toán lượng tử mức cao.

1.2.3.3. Năng lượng xoắn E_{tors}

Trong chuỗi 4 nguyên tử liên kết A-B-C-D, xét năng lượng làm quay quanh liên kết B – C. Để đảm bảo tính tuần hoàn của phép quay, ta sử dụng khai triển Fourier cho E_{tors} .

$$E_{\text{tors}}(\omega) = \sum_{n=1} V_n \cos(n\omega) \quad (1.39)$$

Phụ thuộc vào tính đối xứng mà một vài hằng số V_n có thể bằng 0. Đối với hệ phân tử hữu cơ biểu thức thông dụng cho năng lượng xoắn được viết ở dạng:

$$E_{\text{tors}}(\omega) = \frac{1}{2}V_1[1 + \cos(\omega)] + \frac{1}{2}V_2[1 - \cos(2\omega)] + \frac{1}{2}V_3[1 + \cos(3\omega)] \quad (1.40)$$

1.2.3.4. Năng lượng Van der Waals E_{vdw}

Năng lượng Van der Waals mô tả tương tác đẩy hay hút giữa các nguyên tử không liên kết trực tiếp với nhau và không tính đến phân tử điện. Nếu khoảng cách giữa các nguyên tử lớn thì E_{vdw} bằng 0, nếu khoảng cách nhỏ thì chúng đẩy nhau. Tương tác Van der Waals bao hàm tương tác khúc tán, tương tác cảm ứng, tương tác lưỡng cực-lưỡng cực, tứ cực-lưỡng cực, ... E_{vdw} rất dương ở khoảng cách nhỏ, có cực tiểu hơi âm tại khoảng cách tương ứng khi hai nguyên tử chỉ vừa chạm nhau, và tiến tới 0 tại khoảng cách vô cùng. Một dạng hàm thỏa mãn tính chất này là

$$E_{\text{vdw}}(R) = E_{\text{repul}}(R) - \frac{C}{R^6} \quad (1.41)$$

Ta không thiết lập được biểu thức chính xác cho E_{repul} . Số hạng này phải tiến tới 0 khi R tiến tới vô cùng và phải tiệm cận 0 nhanh hơn số hạng thứ hai. Một trong những dạng thường sử dụng trong tính toán là biểu thức Lennard-Jones:

$$E_{LJ}(R) = \frac{C_1}{R^{12}} - \frac{C_2}{R^6} \quad (1.42)$$

Dạng hàm này cũng được hiệu chỉnh phù hợp với các phương pháp tính mức cao để cho kết quả tin cậy hơn.

1.2.3.5. Năng lượng tĩnh điện E_{el}

Do sự phân bố các electron trên phân tử mà hình thành nên những phần tích điện dương và âm. Ta có thể mô tả tương tác này như tương tác giữa các điểm tích điện bằng cách phân bố điện tích cho mỗi nguyên tử hoặc xem liên kết như một lưỡng cực. Hai mô hình này tương đương về mặt vật lý nhưng cho kết quả không hoàn toàn giống nhau trong tính toán số.

Với tương tác giữa các điện tích điểm

$$E_{el}(R) = \frac{Q^A Q^B}{\epsilon R} \quad (1.43)$$

(ϵ là hằng số điện môi)

Điện tích của nguyên tử cũng được phân bố cho phù hợp với các phương pháp tính mức cao hoặc dữ kiện thực nghiệm giống như các tương tác khác trong trường lực.

Với mô hình liên kết lưỡng cực, biểu thức viết cho năng lượng tương tác giữa 2 lưỡng cực có dạng sau:

$$E_{el}(R) = \frac{\mu^A \mu^B}{\epsilon R^3} (\cos \chi - 3 \cos \alpha_A \cos \alpha_B) \quad (1.44)$$

Không có cơ sở chặt chẽ nào cho việc chọn giá trị hằng số điện môi ϵ , thông thường giá trị này được lấy trong khoảng từ 1 đến 4.

1.2.3.6. Các số hạng chéo E_{cross}

Thực tế không có sự tách biệt hoàn toàn giữa các tương tác đã nêu ở trên khi cho phân tử biến dạng để xây dựng bề mặt thế năng. Để mô tả ảnh hưởng qua lại của các tương tác này người ta đưa thêm vào số hạng E_{cross} và thường viết ở dạng tích của các khai triển Taylor.

Như vậy, đối với các phương pháp trường lực, các phép tính đều được viết ở dạng cơ học cổ điển, do đó cho kết quả tính toán nhanh chóng, vấn đề cốt yếu của các phương pháp này là xác định các tham số để đưa vào biểu thức tính. Khi tính cho hệ các phân tử lớn, không thể xác định tham số cho từng nguyên tử, từng liên kết cụ thể và cũng không thể xác định lại các tham số khi nghiên cứu các hệ phân tử khác nhau. Vì vậy cần xây dựng bộ tham số có tính chất khái quát và rút gọn. Trong mỗi bộ tham số được xây dựng, người ta xác định tham số cho các dạng nguyên tử theo số hiệu nguyên tử và tính chất liên kết mà nó tham gia. Những bộ tham số này đều phải phù hợp tương đối với thực nghiệm hoặc các phương pháp tính toán lượng tử mức cao. Không có bộ tham số nào tuyệt đối tốt hơn các bộ tham số khác và không thể đưa tham số từ trường lực này vào trường lực khác. Một số trường lực phổ biến như UFF, Dreiding, Amber, CHARMM ...

1.2.4. Kết hợp phương pháp cơ học lượng tử-cơ học phân tử

Một trong những khó khăn chủ yếu của hóa học tính toán khi nghiên cứu các hệ lớn là cân bằng giữa độ chính xác của kết quả và thời gian tính toán. Các phương pháp tính toán lượng tử tuy cho kết quả chính xác nhưng lại không thích hợp với những hệ như vậy do khối lượng tính toán quá lớn và việc thực hiện tính lượng tử cho những hệ hàng nghìn nguyên tử là điều hoàn toàn không khả thi.

Phương pháp kết hợp lợi dụng đặc điểm là trong hầu hết các phản ứng với xúc tác enzyme, quá trình phá vỡ và hình thành liên kết chỉ xảy ra trên tâm hoạt động có sự tham gia của một số ít các nguyên tử trong phân tử protein, ảnh hưởng của phần còn lại trên protein thường chỉ là về mặt không gian và tương tác tĩnh điện. Trong phương pháp kết hợp, mỗi vùng được xử lý bằng một phương pháp tính khác nhau. Phần hoạt động hóa học được xử lý bằng phương pháp tính toán lượng tử

mô tả chính xác sự phá vỡ, hình thành liên kết hóa học, phần còn lại có thể được xử lý bằng các phương pháp đồ tốn kém thời gian hơn. Nhờ đó vừa mô tả được quá trình hóa học vừa tiết kiệm thời gian.

Trước khi phương pháp kết hợp được áp dụng rộng rãi, mô hình tâm hoạt động là một giải pháp nghiên cứu hoạt tính xúc tác của enzyme. Khi đó, chỉ một phần phân tử có tâm hoạt động được sử dụng trong mô hình nghiên cứu và việc tính toán bằng các phương pháp lượng tử không mấy khó khăn. Tuy nhiên, nhều enzyme có hoạt tính xúc tác cao mà các xúc tác khác không có được và đặc biệt là có tính đặc thù, đặc điểm này không thể giải thích bằng một phần nhỏ trong phân tử. Mô hình tâm hoạt động không chỉ ra được ảnh hưởng của toàn bộ phân tử enzyme và trong nhiều trường hợp không thể hiện được vai trò xúc tác của enzyme. Vì vậy, hiện tại phương pháp kết hợp đang là phương pháp hiệu quả nghiên cứu hệ xúc tác enzyme.

Về nguyên tắc, có nhiều kiểu kết hợp các phương pháp tính với nhau nhưng phổ biến là kết hợp giữa phương pháp lượng tử và cơ học phân tử - QM/MM.

Phương pháp kết hợp lượng tử/cơ học phân tử được tiên phong bởi Warshel và Levitt vào năm 1976. Trong đó, Warshel đưa ra lưu thức năng lượng khi dùng kết hợp phương pháp như sau

$$E^{QM/MM-EE} = E^{\nu,QM} + E^{MM} + E^{QM-MM} \quad (1.45)$$

với $E^{\nu,QM}$ là năng lượng của vùng QM trong trường ν tạo ra bởi điện tích riêng phần của vùng MM

E^{MM} là năng lượng của vùng MM chứa tất cả các số hạng MM liên kết và không liên kết liên quan đến các tâm nằm gọn trong vùng MM).

E^{QM-MM} thể hiện tương tác giữa hai vùng và gồm hai thành phần: một là nếu có liên kết cộng hóa trị giữa vùng QM và MM thì nó sẽ chứa các số hạng MM liên kết qua biên (liên quan đến cả các tâm trong vùng QM và MM); thứ hai, nó gồm tất cả

các số hạng MM cho tương tác Van der Waals liên quan đến một tâm QM và một tâm MM. E^{QM-MM} không chứa tương tác tĩnh điện giữa vùng QM và MM.

Kollman đưa ra một biểu thức dạng khác như sau

$$E^{QM/MM-ME} = E^{QM} + E^{MM} + E^{Q,QM-MM} \quad (1.46)$$

Ở đây, E^{QM} không còn tính đến ảnh hưởng từ vùng MM nữa. Thay vào đó, tương tác tĩnh điện giữa các vùng được tính vào $E^{Q,QM-MM}$ bằng cách áp điện tích riêng phần cho các nguyên tử trong vùng QM, và dùng các biểu thức tính thông thường cho tương tác giữa các điện tích điểm theo trường lực MM.

Trong phần mềm Gaussian, phương pháp kết hợp được thực hiện với kỹ thuật ONIOM. Phân tử được chia thành các vùng ở mức cao và mức thấp, mỗi vùng áp dụng một phương pháp tính, trong phương pháp QM/MM thì vùng cao áp dụng một phương pháp cơ học lượng tử, vùng thấp áp dụng phương pháp cơ học phân tử. Năng lượng được tính như sau

$$E^{ONIOM} = E^{Model,High} + E^{Real,Low} - E^{Model,Low} \quad (1.47)$$

ở đây Real chỉ toàn bộ hệ thực, Model chỉ vùng QM, High chỉ phương pháp áp dụng ở mức cao, Low chỉ phương pháp áp dụng cho mức thấp. Khi phân vùng, một số liên kết có thể bị cắt, do đó cần phải đưa một nguyên tử “ảo” vào để thay thế phần bị cắt, những nguyên tử này ghép vào với phần mức cao để tạo Model.

Do áp dụng các phương pháp khác nhau cho mỗi vùng nên có sự gián đoạn qua phần phân cắt. Vì thế để đảm bảo tính chính xác và liên tục trên bề mặt thế năng, vị trí phân cắt cần phải xa tâm phản ứng hóa học và không cắt qua các bộ phận cứng nhắc trong phân tử.

CHƯƠNG 2. NGUỒN DỮ LIỆU VÀ CÔNG CỤ TÍNH TOÁN

2.1. Nguồn dữ liệu

Protein Data Bank (PDB) là kho lưu trữ dữ liệu cấu trúc 3-D của các phân tử sinh học lớn như là protein và axit nucleic. Các file dữ liệu cấu trúc được đưa lên bởi các nhà sinh học và hóa sinh từ khắp thế giới, có thể truy cập và tải về miễn phí qua các trang web thành viên PDBe, PDBj, RCSB. Dữ liệu đưa lên Protein Data Bank được kiểm tra lại bằng phần mềm PDB Validation Suite.

Các phương pháp thường được sử dụng để xác định cấu trúc trên PDB là xác định cấu trúc tinh thể dùng tia X, phương pháp phổ cộng hưởng từ NMR, và phương pháp hiển vi điện tử nhiệt độ thấp. Các cấu trúc sử dụng trong luận văn đều thu được bằng phương pháp nhiễu xạ tia X. Mỗi cấu trúc đều ghi chú rõ ràng độ phân giải của dữ liệu.

Độ phân giải là thước đo chất lượng của dữ liệu được tập hợp. Nếu tất cả các protein ở những điểm tương đương trong các tinh thể định hướng giống nhau thì ta sẽ thu được tinh thể hoàn hảo, khi đó tất cả các protein sẽ phân tán tia X cùng một kiểu như nhau và nhiễu xạ đồ thu được sẽ thể hiện được thông tin chi tiết về tinh thể, vị trí của các nguyên tử có thể xác định được rõ ràng. Nhưng nếu không có được tinh thể hoàn hảo, do tính mềm dẻo của từng phần trong protein và do các phân tử protein lớn, khi kết tinh không định hướng như nhau thì nhiễu xạ đồ sẽ thể hiện thông tin cấu trúc kém chi tiết hơn. Nói cách khác, độ phân giải là thước đo mức độ thể hiện chi tiết của nhiễu xạ đồ và do đó là thước đo mức độ chi tiết khi tính mật độ electron. Với độ phân giải cao thì có thể nhìn thấy ngay vị trí của mọi nguyên tử từ bản đồ mật độ electron, còn với độ phân giải thấp thì chỉ thấy được khung của chuỗi protein. Từ nhiễu xạ đồ có thể lập được bản đồ mật độ electron và dự đoán được vị trí của các nguyên tử. Từ cấu trúc dự đoán tính ngược lại mật độ electron để khớp với bản đồ mật độ electron từ nhiễu xạ đồ. Quy trình này được lặp đi lặp lại cho đến khi có độ phù hợp mong muốn. Độ phân giải xác định giới hạn của dữ liệu nhiễu xạ.

Nếu độ phân giải lớn hơn 4.0 Å thì không thể xác định được tọa độ riêng rẽ của các nguyên tử.

Độ phân giải trong khoảng 3.0 – 4.0 Å: cấu trúc bộ khung có thể đúng nhưng phần mạch nhánh có cấu dạng không đáng tin cậy.

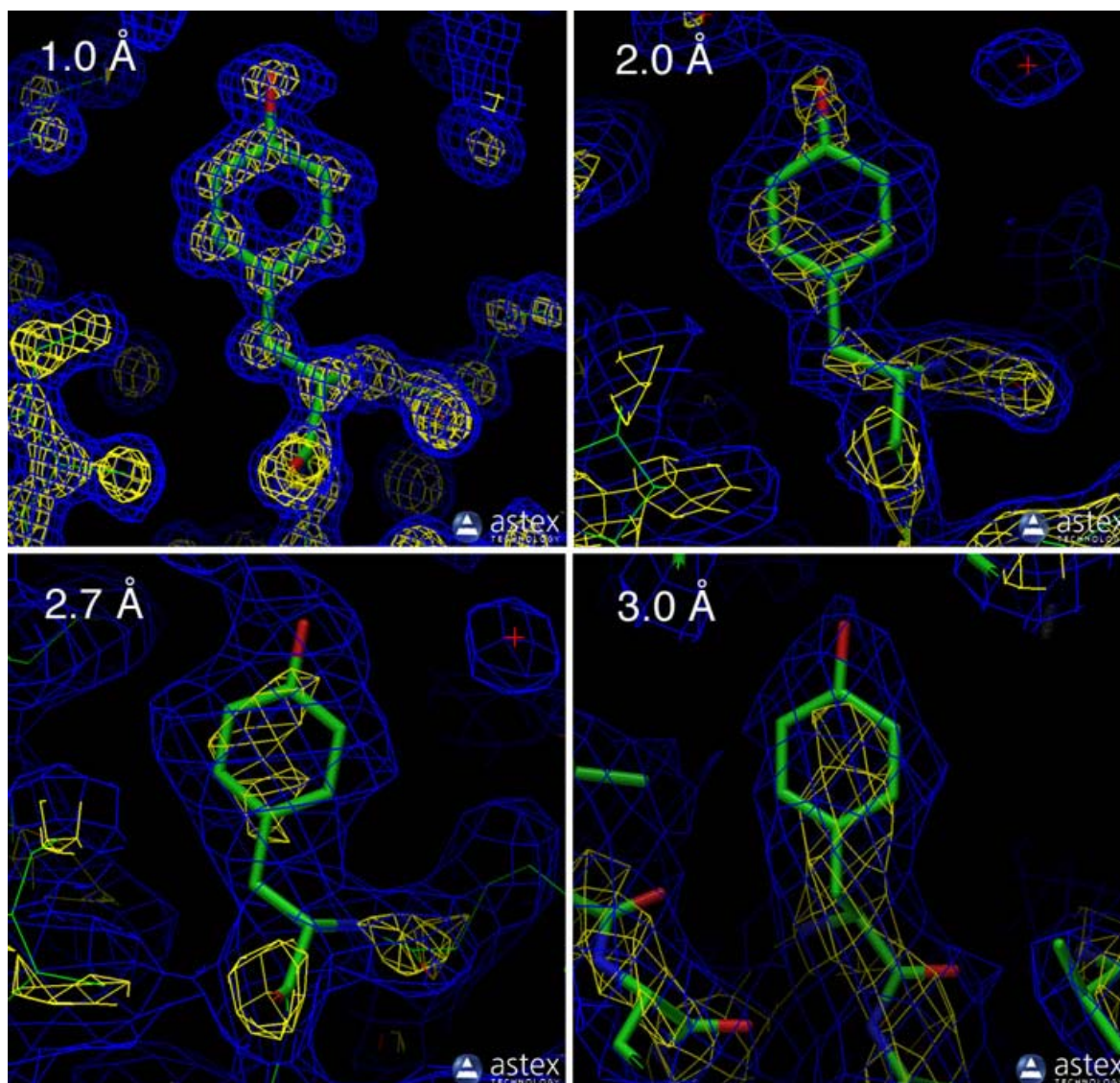
Độ phân giải trong khoảng 2.5 – 3.0 Å: bộ khung có thể xác định đúng, với các nhánh dài và mảnh của một số aminoaxit như Lys, Glu, Gln, ... và các nhánh nhỏ của Ser, Val, Thr, ... có cấu dạng không đáng tin cậy.

Độ phân giải trong khoảng 2.0 – 2.5 Å: số nhánh có cấu dạng sai ít hơn đáng kể. Có thể xác định được các phân tử nước và các phối tử nhỏ.

Độ phân giải trong khoảng 1.5 – 2.0 Å: chỉ còn lỗi nhỏ về cấu dạng.

Độ phân giải trong khoảng 0.5 – 1.5 Å: tọa độ của các nguyên tử được xác định với độ tin cậy cao.

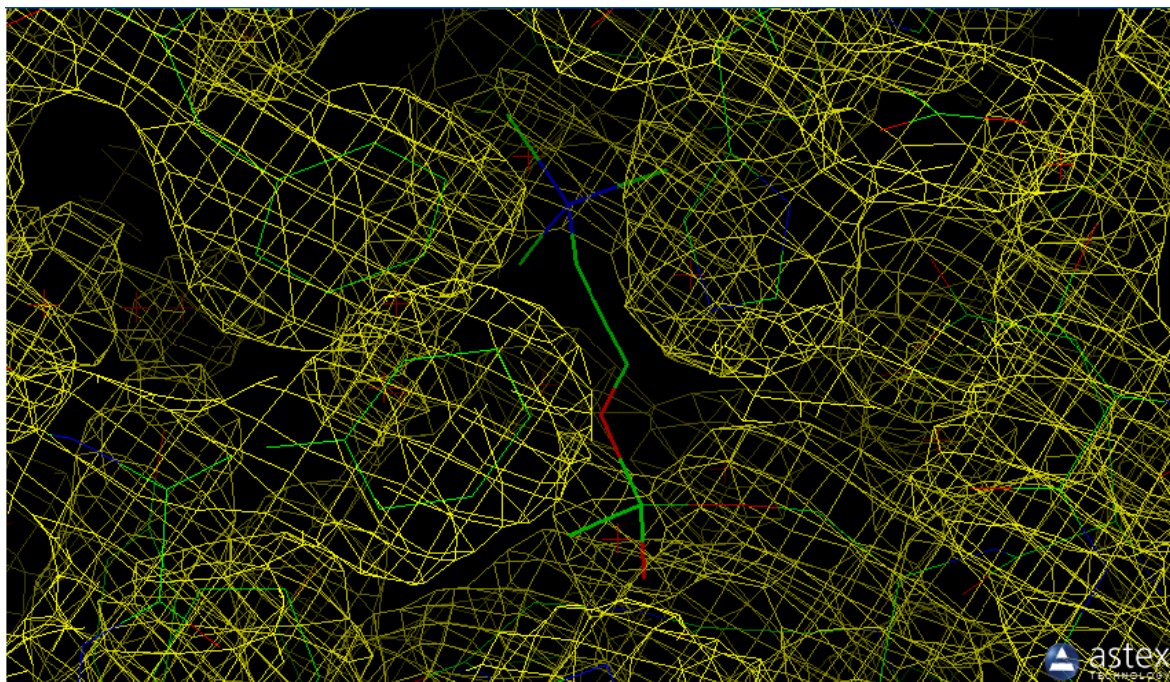
Hình 2.1 minh họa dữ kiện nhiễu xạ ở các mức độ phân giải khác nhau.



Hình 2. 1 Ảnh hưởng của độ phân giải đến khả năng xác định chính xác cấu trúc từ nhiễu xạ đồ

Ở hình 2.1, các đường màu xanh và màu vàng bao quanh vùng có mật độ electron lớn. Với độ phân giải 1.0 Å, bản đồ mật độ thể hiện ngay vị trí các nguyên tử. Với độ phân giải 2.0 Å có thể xác định được các cấu trúc vòng, dự đoán được các đơn vị aminoaxit. Với độ phân giải 2.7 Å có thể dự đoán được cấu trúc vòng, mạch nhánh khó xác định. Còn với độ phân giải 3.0 Å, mật độ có dạng hình ống, khó xác định cấu trúc chính xác.

Cấu trúc 2ACE xác định bằng phương pháp nhiễu xạ tia X với độ phân giải 2.5 Å, bản đồ mật độ electron và cấu trúc dự đoán được ghi lại trong file 2ACE.pdb thể hiện trong hình 2.2.



Hình 2. 2 Bản đồ mật độ electron và cấu trúc dự đoán của 2ACE

Từ hình trên ta thấy trên cơ chất acetylcholine có một số nguyên tử không xác định được chính xác vị trí từ nhiễu xạ đồ. Cấu trúc trên được dự đoán và tinh chỉnh cho khớp với bản đồ mật độ electron và không thể tránh khỏi sai số.

Dữ liệu cấu trúc của protein còn được lấy từ PDBsum, UniProt. UniProt cung cấp thông tin chi tiết về cấu trúc sơ cấp, thứ cấp và ghi chú về chức năng sinh học, hoạt tính xúc tác, các tâm hoạt động.

Đối chiếu với thứ tự các aminoaxit, cấu trúc 2ACE thiếu các aminoaxit từ 485 đến 489. Đoạn còn thiếu và một số sai sót ở các nhánh cũng được chỉnh sửa dùng phần mềm Alcelrys MS Modeling 4.0, Alcelrys Discovery Studio Visualizer 2.5 và GaussView 3.0 dựa vào cấu trúc thứ cấp và tham khảo cấu trúc 1CFJ.

2.2. AutoDock 4.2 và AutoDockTools 1.5.4

AutoDock 4.2 là phiên bản mới nhất trong chuỗi phần mềm AutoDock, sản phẩm của The Scripps Research Institute. Đây là phần mềm mã nguồn mở được sử dụng trong luận văn với mục đích khảo sát docking đối với acetylcholine lên phân tử enzyme acetylcholinesterase. AutoDock 4.2 được dùng kèm với AutoDockTools 1.5.4 để hỗ trợ giao diện đồ họa.

Các bước tiến hành docking:

- **Bước 1:** Chuẩn bị cấu trúc enzyme và cơ chất dưới dạng file .pdbqt

Cấu trúc acetylcholinesterase từ file 2ACE được bổ sung, chỉnh sửa, loại bỏ cơ chất, các phân tử nước, thêm H (dùng phần mềm Alcecrs Discovery Studio Visualizer 2.5), dạng nguyên tử (dùng để xác định tham số trường lực) và điện tích sẽ được tự động thêm vào trong AutoDockTools và được ghi lại dưới dạng file .pdbqt.

Cấu trúc của acetylcholine được tối ưu hóa sơ bộ dùng Gaussian 03W, sau đó dạng của các nguyên tử trong phân tử cũng được tự động gán cho và ghi lại dưới dạng file .pdbqt trong AutoDockTools.

Xác định phần phân tử enzyme có khả năng chuyển động linh hoạt, ghi riêng rẽ cấu trúc cứng và phần cấu trúc có thể chuyển động dưới dạng file .pdbqt.

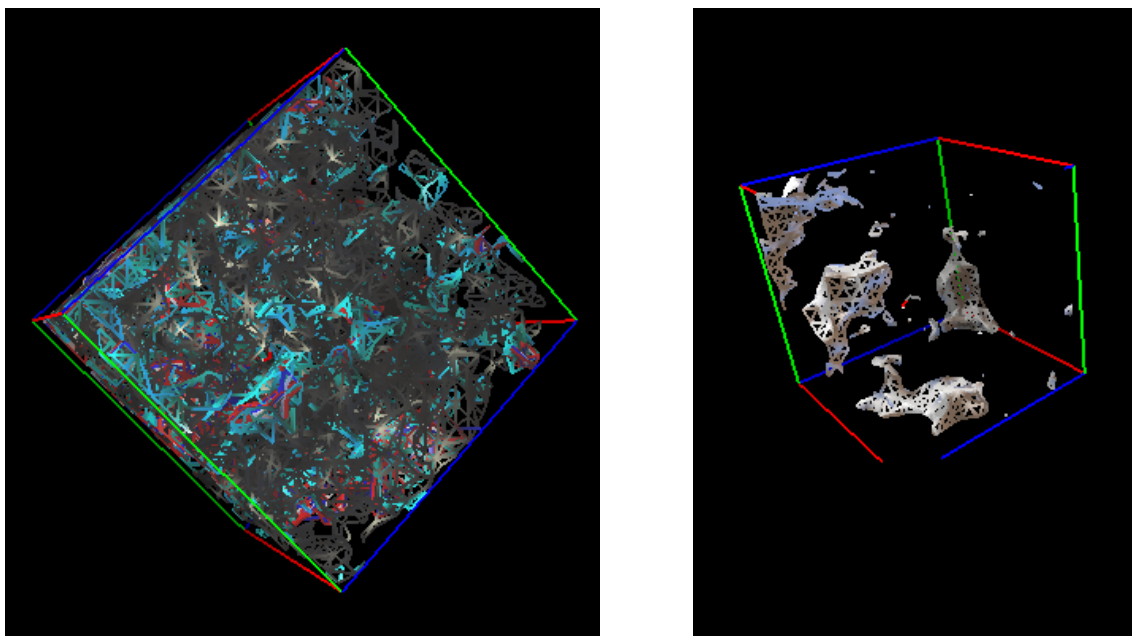
- **Bước 2:** Tính trên AutoGrid

Xác định không gian khảo sát, khoảng cách trong lưới điểm. Trong phân tử docking có bao nhiêu dạng phân tử thì AutoGrid sẽ cho ra kết quả là bấy nhiêu bản đồ ghi thể của các dạng nguyên tử đó trong không gian mạng lưới khảo sát dưới tác dụng của phần cấu trúc cứng. AutoGrid cũng tạo ra 2 bản đồ thể là thể tĩnh điện và thể khử solvat hóa cho mọi trường hợp. Các thể này sẽ được dùng khi đánh giá năng lượng trong quá trình docking.

Trong trường hợp khảo sát phân tử acetylcholine gắn kết lên acetylcholinesterase với nhánh của Ser(200) có thể chuyển động, AutoGrid

tạo ra 4 bản đồ cho 4 loại nguyên tử C, OA, N, HD và 2 bản đồ thể tĩnh điện và thể khử solvat hóa.

Hình 2.3 minh họa các bản đồ thể trên được ghép chung và bản đồ thể cho C.



Hình 2. 3 Bản đồ thể tạo ra bởi AutoGrid ghép chồng và bản đồ thể riêng cho C

- **Bước 3: Docking**

Thuật toán tìm kiếm được sử dụng là kết hợp thuật giải di truyền với tối ưu cục bộ.

Các thông số cho thuật giải di truyền

Kích thước quần thể: 150 (autodock cho phép trong khoảng 50 đến 200)

Đánh giá năng lượng tối đa: 2500000 lần

Số thế hệ khảo sát tối đa: 27000

Tỉ lệ đột biến: 0.02

Tỉ lệ lai ghép: 0.8

Lai ghép và đột biến xảy ra tại 2 điểm trên nhiễm sắc thể.

Số cấu dạng đầu ra được xác định trong từng trường hợp cụ thể.

Các thông số còn lại sử dụng mặc định của phần mềm.

2.3. AutoDock Vina 1.1.1

AutoDock Vina là phần mềm mã nguồn mở từ The Scripps Research Institute được dùng trong luận văn để khảo sát docking.

AutoDock Vina cũng dùng các file cấu trúc như AutoDock, có thể dùng kết hợp AutoDockTools để hỗ trợ nhưng không cần tính với AutoGrid, việc tính toán với các lưới điểm được thực hiện tự động. AutoDock Vina có ưu điểm là tính toán nhanh, kết quả được trình bày rõ ràng, tự động sắp thứ tự, số lượng cấu dạng đầu ra được tự động xác định theo khoảng năng lượng tránh lỗi rơi vào vòng lặp không xác định như trong AutoDock, thích hợp cho việc khảo sát sơ bộ. Các thông số cho thuật toán tìm kiếm được đặt sẵn từ kết quả khớp với ngân hàng cơ sở dữ liệu PDB khi xây dựng phần mềm.

2.4. Gaussian 03W và GaussView 3.0

Gaussian là phần mềm tính toán hóa học được sử dụng rộng rãi. Phương pháp QM/MM được thực hiện trên phần mềm này. Gaussian dùng kết hợp với GaussView để hỗ trợ giao diện đồ họa, thuận tiện cho việc chỉnh sửa cấu trúc, gán các tham số khi chuẩn bị file đầu vào.

Các bước tiến hành:

- **Bước 1:** Chuẩn bị cấu trúc

File cấu trúc protein ở dạng .pdb được bổ sung, chỉnh sửa dùng Accelrys MS Modeling 4.0 và Accelrys Discovery Studio 2.5.

- **Bước 2:** Bổ sung các tham số trường lực

Bổ sung các dạng nguyên tử và các tham số trường lực theo bộ tham số AMBER parm96 trong gói Amber10. Amber là bộ tham số được dùng phổ biến khi nghiên cứu các phân tử protein và axit nucleic.

Vì trường lực Amber không có đủ các tham số cho nhiều phân tử hữu cơ (thường gặp đối với các cơ chất khi nghiên cứu hệ xúc tác enzyme) nên tham số cho phân tử cơ chất được bổ sung theo bộ tham số GAFF dùng AmberTools-1.4. GAFF là bộ tham số phù hợp với trường lực Amber và nó bao gồm hầu hết tham số cho các phân tử hữu cơ chứa C, N, O, H, S, P và các nguyên tử halogen.

- **Bước 3: Phân mức tính**

Để tính toán đạt hiệu quả, việc phân mức cần tuân theo một số quy tắc

- o **Quy tắc 1:**

Phần xảy ra phản ứng hóa học cần nằm trọn trong vùng được tính toán bằng phương pháp chính xác (mức cao). Trong trường hợp nghiên cứu, tương tác hóa học trực tiếp xảy ra giữa acetylcholine và nhóm OH trên Ser(200). Như vậy việc phân vùng sẽ cắt qua 2 liên kết trên phân tử acetylcholinesterase.

- o **Quy tắc 2:**

Phương pháp dùng ở mức thấp phải nhanh nhưng vẫn đảm bảo mô tả được các hiệu ứng gây ra bởi vùng này. Phần còn lại của phân tử enzyme chủ yếu gây ra hiệu ứng về mặt không gian và tĩnh điện đối với cơ chất nên phương pháp MM với các thành phần trường lực đã nói ở chương 1 có thể đáp ứng được quy tắc này.

- o **Quy tắc 3:**

Vì khi cắt qua liên kết, để đảm bảo tính chất của hệ hóa học, liên kết bị cắt trong phần QM phải được thay thế bằng liên kết với một nguyên tử khác. Và vì chỉ một nguyên tử duy nhất được dùng để thay

thể cho mỗi vị trí bị cắt, liên kết bị cắt nên lựa chọn là liên kết đơn và nguyên tử thay thế là nguyên tử tạo liên kết đơn duy nhất.

o **Quy tắc 4:**

Nguyên tử thay thế không tham gia vào quá trình hóa học và cách xa tâm phản ứng hóa học (tức là phần QM có kích thước lớn) để đảm bảo phần sai lệch ảnh hưởng không đáng kể.

Cụ thể, quá trình phá vỡ và hình thành liên kết nên xảy ra cách vùng MM từ 3 liên kết trở lên để đảm bảo tính liên tục của phần MM. Vì các số hạng liên kết trong phần MM kéo dài trên 4 tâm nên phần có liên kết mới hình thành phải cách phần MM 3 liên kết trở lên.

Ngoài ra, phần phân cắt cũng phải giống nhau trong hệ chất phản ứng và sản phẩm để khi so sánh giữa hệ phản ứng và hệ sản phẩm, sai số có thể được loại trừ.

o **Quy tắc 5:**

Không cắt qua các cấu trúc vòng, đặc biệt là vòng nhỏ vì các cấu trúc vòng thường cứng nhắc, đối với vòng bé, sức căng vòng lớn, thay thế liên kết trong vòng bằng một liên kết đơn làm mất tính chất này.

o **Quy tắc 6:**

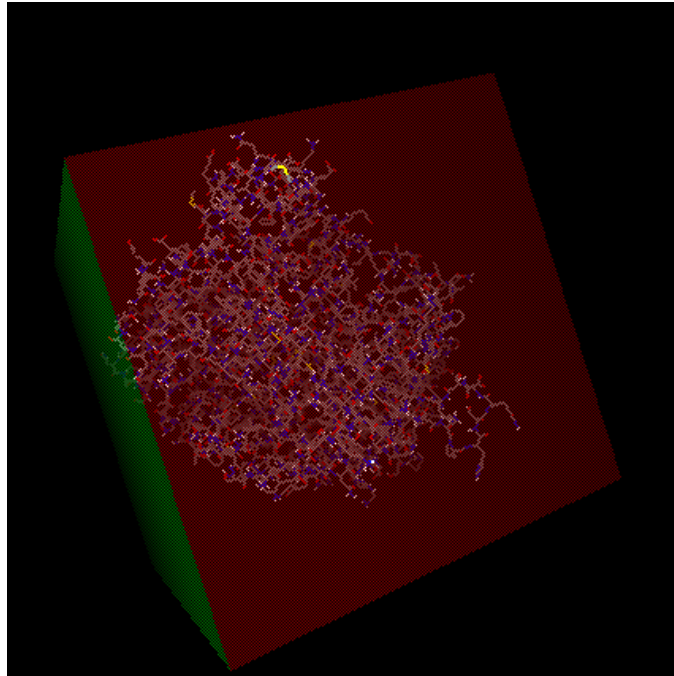
Trong trường hợp nghiên cứu phải cắt qua 2 liên kết, do đó cần thay thế bằng 2 nguyên tử, sai số sẽ không đáng kể nếu sai khác giữa nguyên tử thay thế và nguyên tử bị thay thế bù trừ cho nhau ở 2 phía bị cắt.

Áp dụng các quy tắc trên vào hệ nghiên cứu, phần QM được chọn là Ser(200) và phân tử acetylcholine, hai nguyên tử tiếp giáp với vùng QM được thay thế bằng 2 nguyên tử H.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Protein docking

Tiến hành Docking với AutoDock Vina, ban đầu toàn bộ phân tử acetylcholinesterase đưa vào dưới dạng cấu trúc cứng. Không gian khảo sát xác định như trong hình 3.1.



Hình 3. 1 Không gian khảo sát docking với AutoDock Vina

Không gian khảo sát gồm toàn bộ phân tử acetylcholinesterase. Các thông số như sau:

center_x = 5.116

center_y = 64.613

center_z = 55.588

size_x = 60

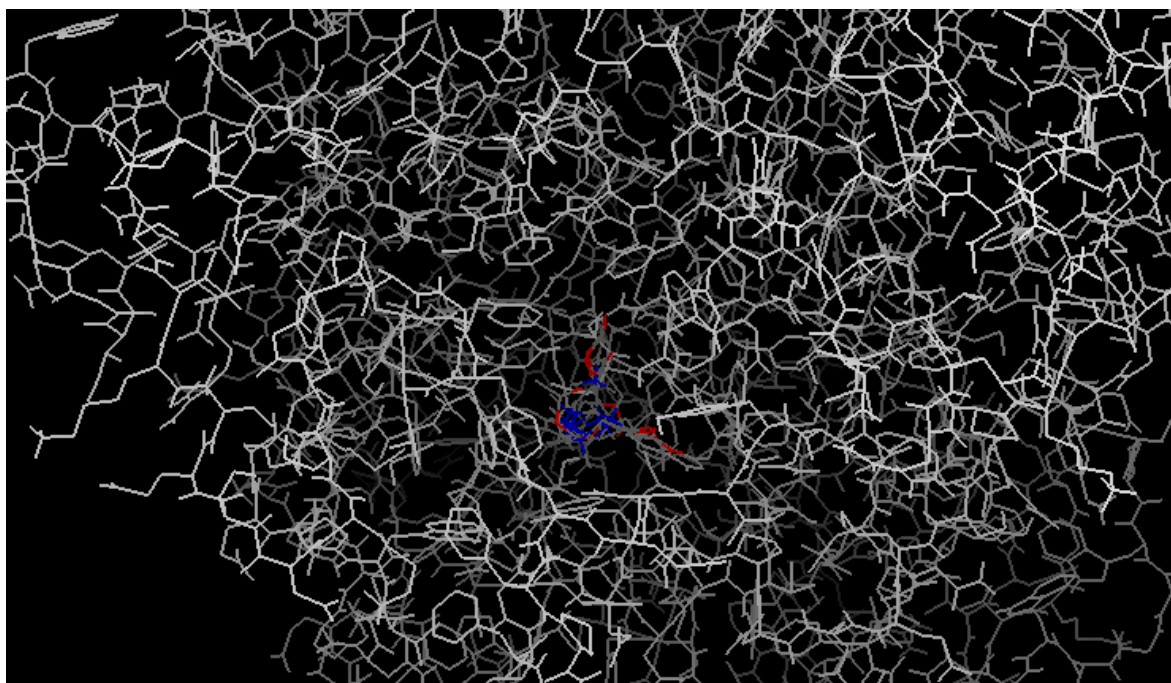
size_y = 60

size_z = 60

Thực hiện docking phân tử acetylcholine, kết quả cho ra 9 cấu dạng.

mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode (rmsd l.b. Å)
1	-4.9	0
2	-4.6	2.174
3	-4.5	2.801
4	-4.4	5.672
5	-4.3	3.69
6	-4.3	4.82
7	-4.3	2.635
8	-4.2	2.807
9	-4.2	5.052

Trong cả 9 trường hợp acetylcholine đều nằm trong cùng một hốc của phân tử acetylcholinesterase (hình 3.2).



Hình 3. 2 Các cấu dạng gắn kết có ái lực âm nhất của acetylcholine lên acetylcholinesterase

Đây chính là hốc phản ứng có đơn vị Ser(200) ở đáy. Kết quả này phù hợp với dữ kiện thực nghiệm về vị trí phản ứng.

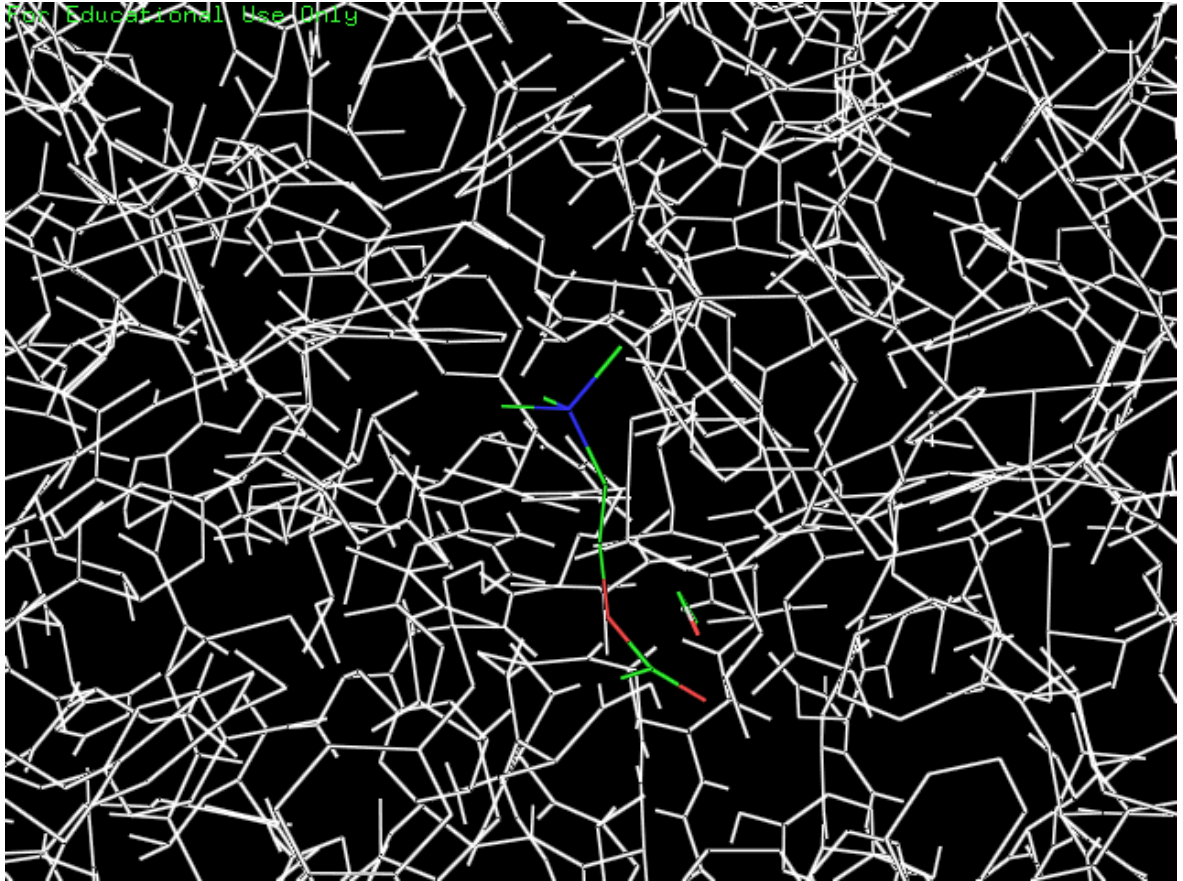
Trường hợp tiếp theo, tiến hành docking cũng với AutoDock Vina, không gian khảo sát lấy cùng cỡ, số cấu dạng tối đa là 100, khoảng cách mức năng lượng gắn kết giữa cấu hình có năng lượng thấp nhất với cấu hình có năng lượng cao nhất tối đa là 10kcal/mol (ở trong trường hợp trên, số cấu dạng tối đa là 9, khoảng cách mức năng lượng gắn kết tối đa là 3kcal/mol). Mạch nhánh của đơn vị aminoaxit Ser(200) được để tự do. Kết quả cho ra 20 cấu dạng.

mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode (rmsd l.b. Å)
1	-5.5	0
2	-5.1	2.007
3	-4.8	5.288
4	-4.7	3.353
5	-4.6	4.457
6	-4.5	4.454
7	-4.5	7.18
8	-4.5	8.49
9	-4.4	3.972
10	-4.3	5.391
11	-4.3	2.425
12	-4.2	12.932
13	-4.1	8.245
14	-4.1	8.16
15	-4	8.948
16	-4	5.483
17	-4	12.809
18	-3.8	14.354
19	-3.8	16.418
20	-3.8	24.441

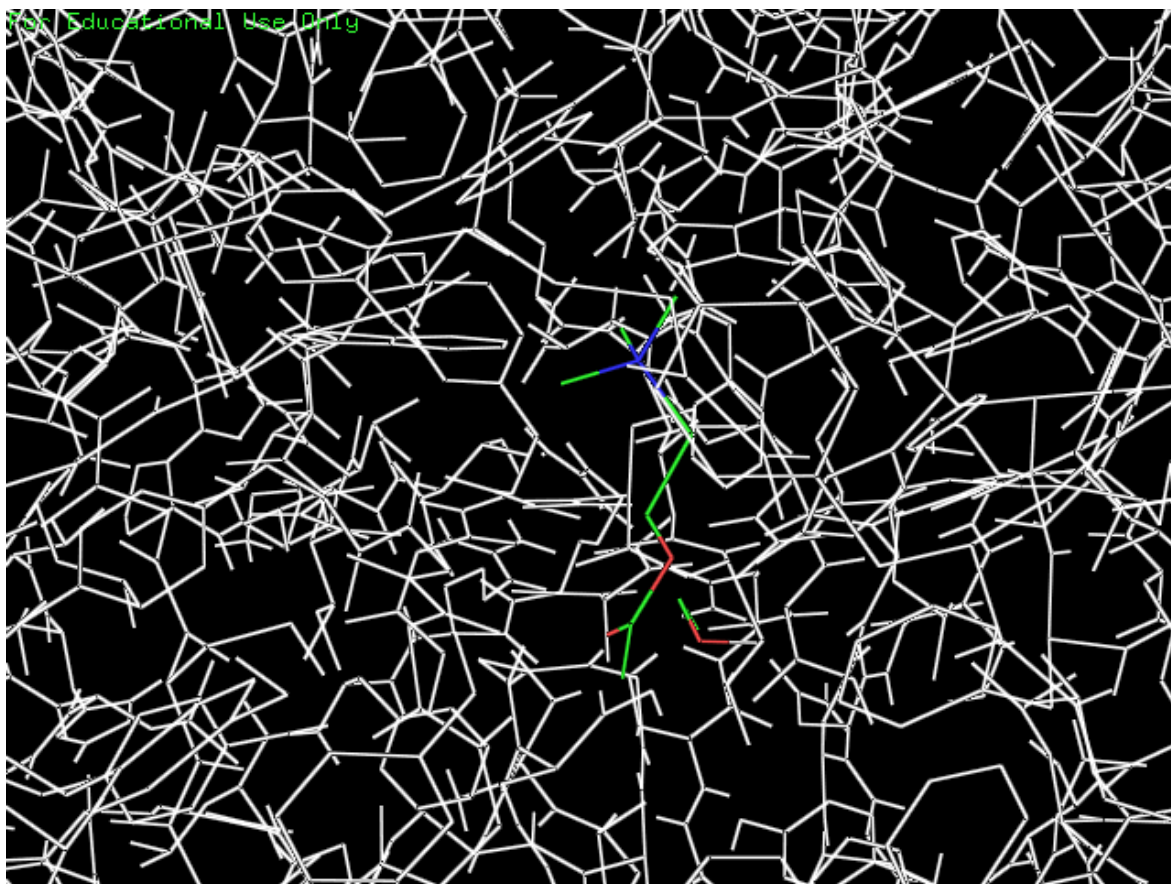
Trong đó ở 11 dạng đầu, phân tử acetylcholine cũng nằm trong hốc có Ser(200), 3 trạng thái nằm ở cửa hốc phản ứng; ở các trạng thái còn lại acetylcholine neo đậu tại các vị trí bên ngoài của phân tử acetylcholinesterase nhưng tại các vị trí này ngoài yếu tố tĩnh điện và liên kết hydro, không có điều kiện để phản ứng hóa học xảy ra.

Trong những cấu dạng đầu, acetylcholine định hướng ngay trên đơn vị aminoaxit Ser(200). Ta nhận xét thấy khi Ser(200) được cho chuyển động thì ái lực của các cấu dạng đầu âm hơn so với trường hợp để cả phân tử acetylcholinesterase cứng nhắc.

Hình 3.3, 3.4 là 2 cấu dạng có ái lực âm nhất.



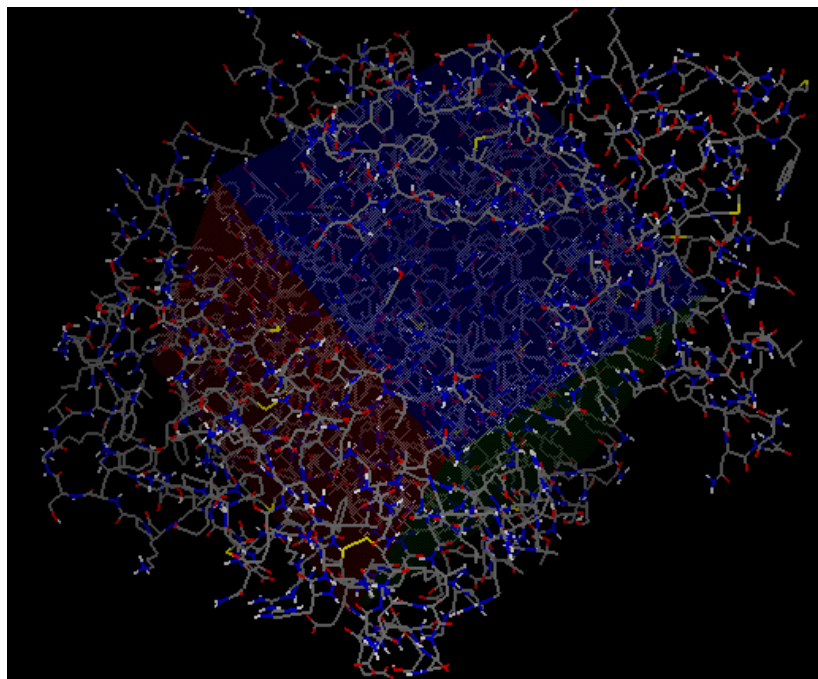
Hình 3. 3 Cấu dạng có ái lực âm nhất



Hình 3. 4 Cấu dạng có ái lực âm thứ hai

Ngoài yếu tố tĩnh điện và liên kết hydro, phân tử acetylcholine có xu thế định hướng nhóm amin bậc 4 về phía vòng Tryptophan.

Tiến hành docking dùng AutoDock với kích thước không gian khảo sát nhỏ hơn, bao húc phản ứng, mạch nhánh của Ser(200) có thể quay tự do.



Hình 3. 5 Không gian khảo sát với AutoDock

Tiến hành docking với 2 trường hợp, tìm 10 cấu dạng và 20 cấu dạng. Kết quả trong cả 2 trường hợp các, phân tử acetylcholine đều nằm trong hốc phản ứng, định hướng trên Ser(200) và hướng nhóm amin bậc 4 về vòng Tryptophan.

Trường hợp tìm 10 cấu dạng

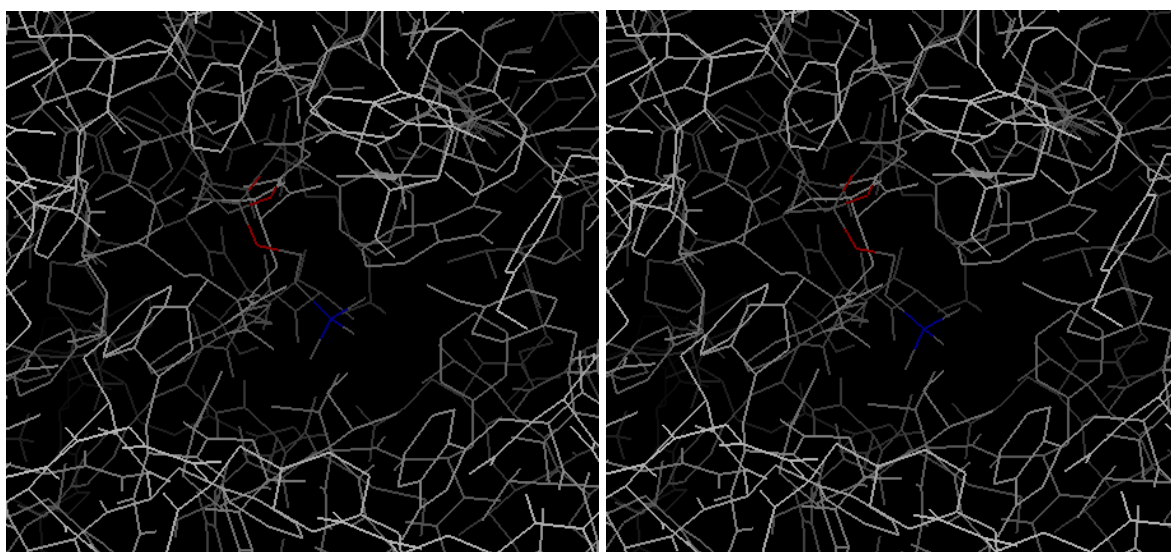
Mode	Affinity (kcal/mol)	dist from best mode (rmsd l.b. Å)
1	-4.57	0
2	-4.56	0.44
3	-4.55	0.82
4	-4.52	0.77
5	-4.36	0.46
6	-4.26	1.19
7	-4.09	0.84
8	-4.08	1.05
9	-3.88	1.34
10	-3.88	1.27

Trường hợp tìm 20 cấu dạng

Mode	Affinity (kcal/mol)	dist from best mode (rmsd l.b. Å)
1	-5.22	0
2	-5.22	0.69
3	-5.16	0.81
4	-4.92	0.6
5	-4.83	0.86
6	-4.8	0.87
7	-4.7	0.48
8	-4.69	0.84
9	-4.59	0.9
10	-4.57	0.9
11	-4.54	0.8
12	-4.39	0.94
13	-4.25	0.97
14	-4.24	1.32
15	-4.19	0.96
16	-3.98	1.42
17	-3.96	1.32
18	-3.83	1.32
19	-3.77	1.48
20	-3.61	1.4

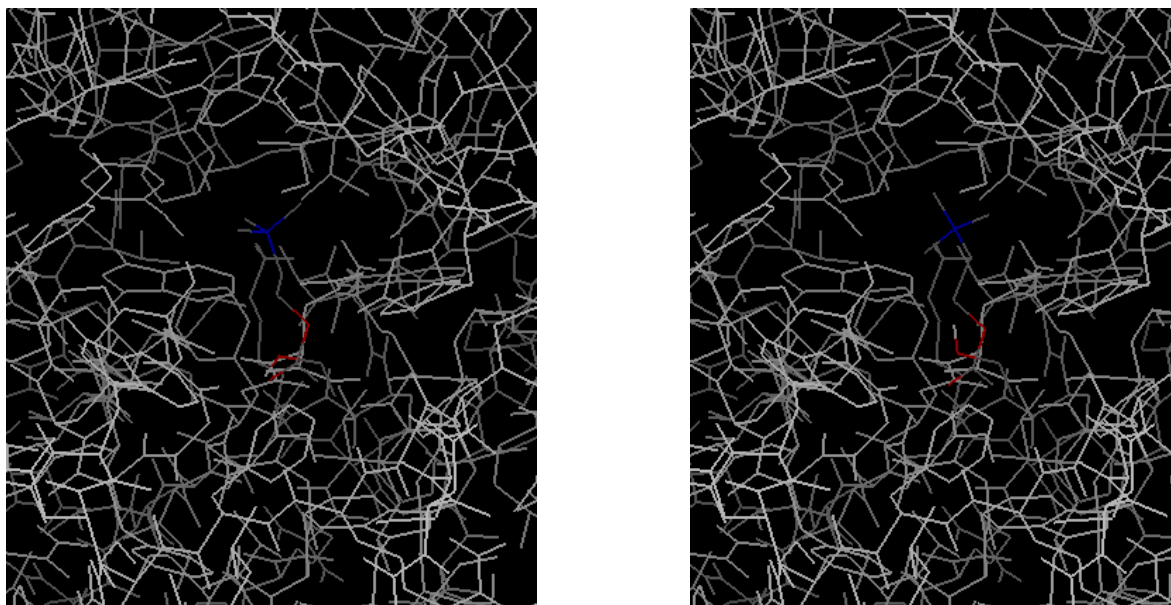
Dưới đây là 2 cấu dạng có năng lượng gắn kết âm nhất trong mỗi trường hợp (hình 3.6, 3.7).

Trường hợp 10 cấu dạng:



Hình 3. 6 Hai cấu dạng bền nhất trong trường hợp 10 cấu dạng

Trường hợp 20 cấu dạng:



Hình 3. 7 Hai cấu dạng bền nhất trong trường hợp 20 cấu dạng

Kết quả trong cả 2 trường hợp tương đối giống nhau cả về năng lượng và các cấu dạng. Mặc dù phương pháp tìm kiếm là ngẫu nhiên nhưng kết quả có tính ổn định và đáng tin cậy.

Như vậy từ kết quả docking trên cả 2 phần mềm AutoDock và AutoDock Vina với 2 phương pháp khác nhau ta có thể bước đầu nhận định acetylcholine có khả năng gắn kết cao trong hốc chứa đơn vị aminoaxit Ser(200) và có xu hướng quay nhóm amin bậc 4 về phía vòng Tryptophan. Thực nghiệm đã xác nhận kết quả này. Đồng thời, dựa vào kết quả khảo sát trên AutoDock Vina trong không gian lớn chứa toàn bộ phân tử có thể đưa ra nhận định là quá trình dịch chuyển của acetylcholine từ bên ngoài vào trong hốc phản ứng không chỉ tuân theo định luật khuếch tán thông thường mà có thể qua các trạng thái neo đậu là những trạng thái bền cục bộ.

3.2. Áp dụng phương pháp QM/MM đối với hệ phản ứng

3.2.1. Cấu trúc enzyme

Cấu trúc của acetylcholinesterase xây dựng từ dữ kiện nhiễu xạ tia X ở dạng file pdb (2ACE.pdb và 1CFJ.pdb) được chỉnh sửa, bổ sung cho đầy đủ các aminoaxit.

Phân vùng tính toán: đơn vị aminoaxit Ser(200) được tính ở mức cao theo phương pháp DFT, phiếm hàm B3LYP, phần còn lại trong phân tử acetylcholinesterase được tính ở mức thấp, phương pháp cơ học phân tử, trường lực AMBER. Các tham số trường lực được bổ sung theo bộ tham số parm96 (đi kèm trong antechamber).

Khảo sát với một số bộ hàm cơ sở được kết quả tóm tắt như trong bảng sau:

Bảng 1. Kết quả và thời gian tính tối ưu cấu trúc enzyme với một số bộ hàm cơ sở

Bộ hàm cơ sở	RMSD(Å)	E	Thời gian tính (Job cpu time)
6-311++g(d,p)		-358.75734276 a.u.	
6-311++g(d)	0.045	-358.73338665 a.u.	7 hours 54 minutes 20.0 seconds.
6-311++g	0.026	-358.65200654 a.u.	9 hours 31 minutes 44.0 seconds.
6-311+g(d,p)	0.003	-358.75706059 a.u.	7 hours 4 minutes 39.0 seconds.
6-311+g(d)	0.006	-358.74010777 a.u.	9 hours 23 minutes 54.0 seconds.
6-311+g	0.026	-358.65148321 a.u.	8 hours 13 minutes 59.0 seconds.
6-311g(d,p)	0.014	-358.73760160 a.u.	6 hours 51 minutes 32.0 seconds.
6-311g(d)	0.011	-358.72085986 a.u.	4 hours 58 minutes 34.0 seconds.
6-311g	0.020	-358.63378965 a.u.	6 hours 2 minutes 25.0 seconds.

(Giá trị RMSD chỉ tính cho phần mức cao).

$$RMSD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N d_{ii}^2}{N}}$$

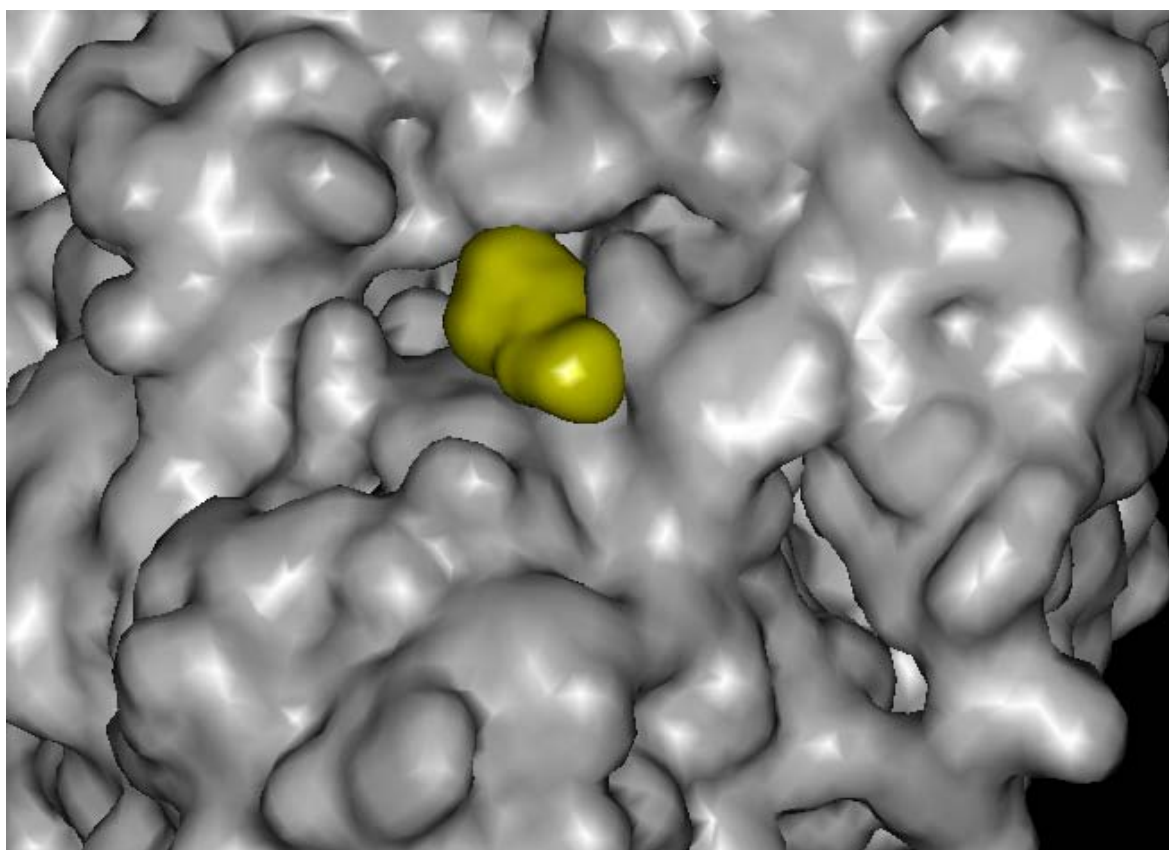
trong đó d_{ii} là khoảng cách giữa 2 nguyên tử tương ứng

ở 2 cấu trúc. RMSD được tính trên phần mềm PyMol, 2 cấu trúc sẽ được sắp đặt để độ lệch giữa chúng là nhỏ nhất. Hình học được so sánh với cấu trúc 1QID.

Từ bảng thống kê trên, để cân bằng giữa thời gian tính toán cũng như độ chính xác về năng lượng và hình học ta có thể chọn bộ hàm cơ sở 6-311g(d) để khảo sát.

Cơ chất acetylcholine cũng được tối ưu hóa theo phương pháp DFT, phiếm hàm B3LYP, bộ hàm cơ sở 6-311g(d).

Hình 3.8 mô tả bề mặt của enzyme và acetylcholine đã tối ưu.

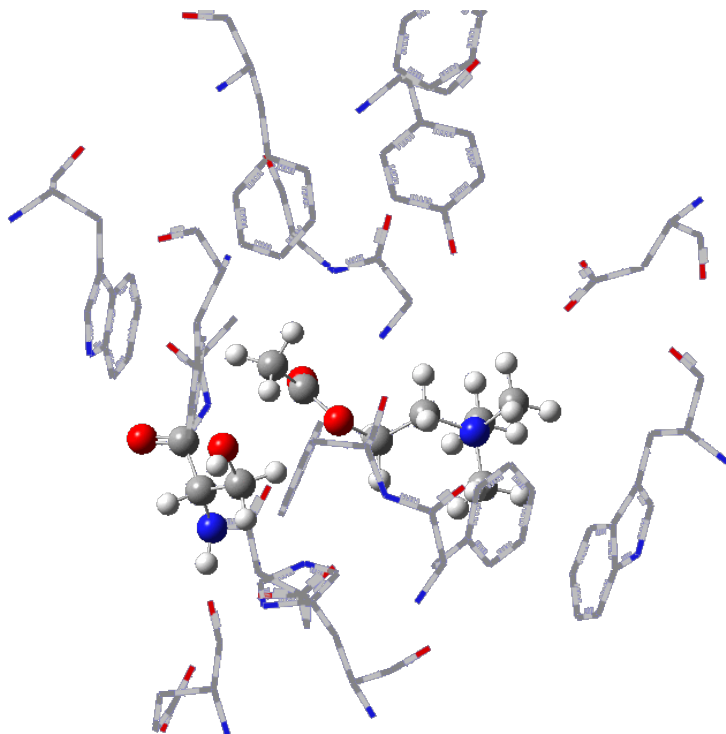


Hình 3. 8 Bề mặt của acetylcholine và hốc phản ứng trên acetylcholinesterase (hai cấu trúc đã được tối ưu)

Ta thấy kích thước nhóm amin bậc bốn khá lớn so với kích thước của hốc phản ứng và cơ chất không thể đi qua để vào hốc phản ứng nếu cấu trúc của protein cứng nhắc do sự cản trở của Tyr(121) và Phe(330) (xem hình 3.12). Cùng với nhận xét đã nêu khi tiến hành docking ta có thể khẳng định là enzyme acetylcholinesterase có cấu trúc thay đổi linh hoạt trong quá trình phản ứng và acetylcholine di chuyển vào trong hốc phản ứng không chỉ tuân theo định luật khuếch tán thông thường mà qua các trạng thái neo đậu bền cục bộ. Acetylcholine phải có ái lực tương đối lớn với một số điểm trên phân tử enzyme [5,6].

3.2.2. Cơ chất trong hốc phản ứng ở trạng thái chưa liên kết

Trạng thái của acetylcholine trong hốc phản ứng cũng được tối ưu dựa vào định hướng trong quá trình docking. Tham số trường lực của các nguyên tử trên cơ chất được bổ sung theo bộ tham số GAFF như đã nói ở chương 2.

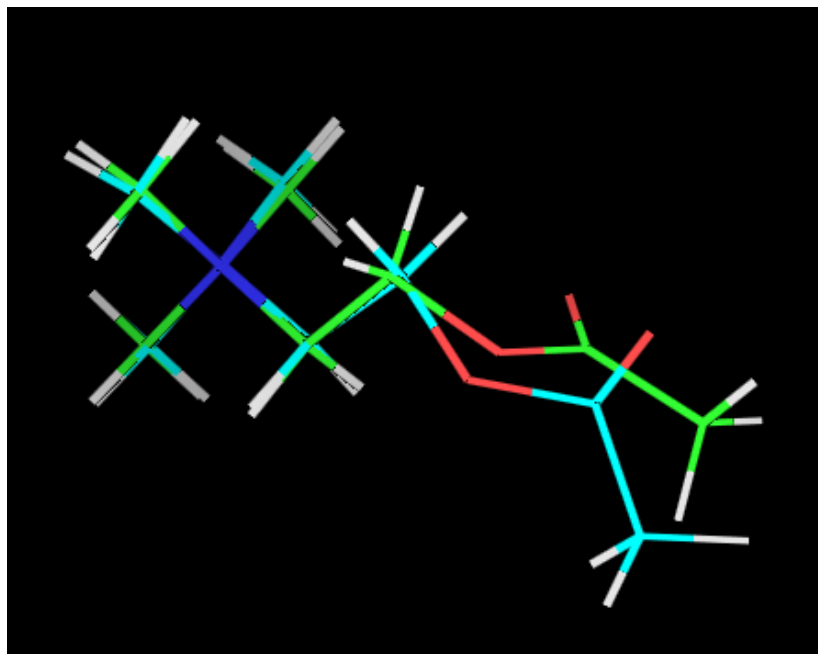


Hình 3. 9 Trạng thái acetylcholine trong hốc phản ứng đã được tối ưu

Năng lượng tính được

ONIOM Total Energy = -840.19781353 a.u.

Sự biến đổi cấu trúc của cơ chất trong hốc phản ứng so với trạng thái tự do (đã tối ưu) thể hiện trong hình 3.10.



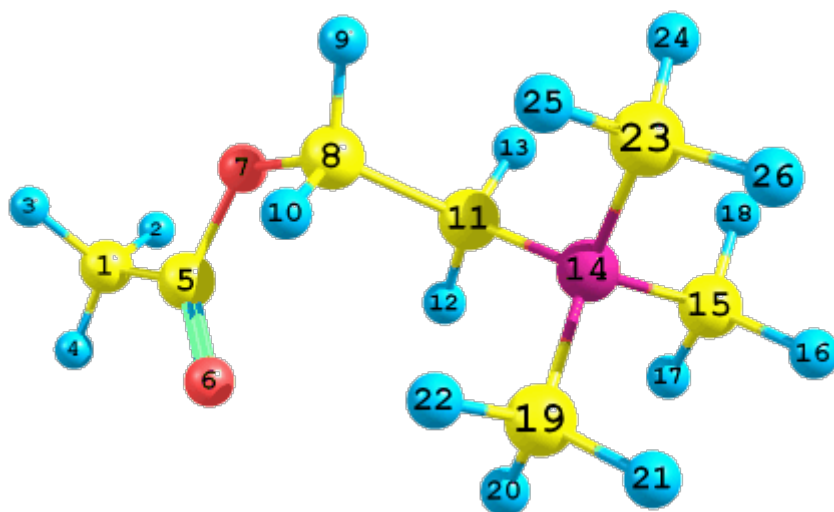
Hình 3. 10 Sự biến đổi cấu trúc acetylcholine trong hốc phản ứng so với trạng thái tự do

với giá trị độ lệch tiêu chuẩn

$$\text{RMSD} = 0.232 \text{ \AA}$$

Cấu trúc của acetylcholine đã bị biến đổi dưới tác dụng của enzyme và ở đây mới chỉ có ảnh hưởng của hiệu ứng không gian và tĩnh điện. Sự thay đổi cấu trúc thể hiện chi tiết trong bảng 2.

(Cách đánh số các nguyên tử trong acetylcholine như hình 3.11).



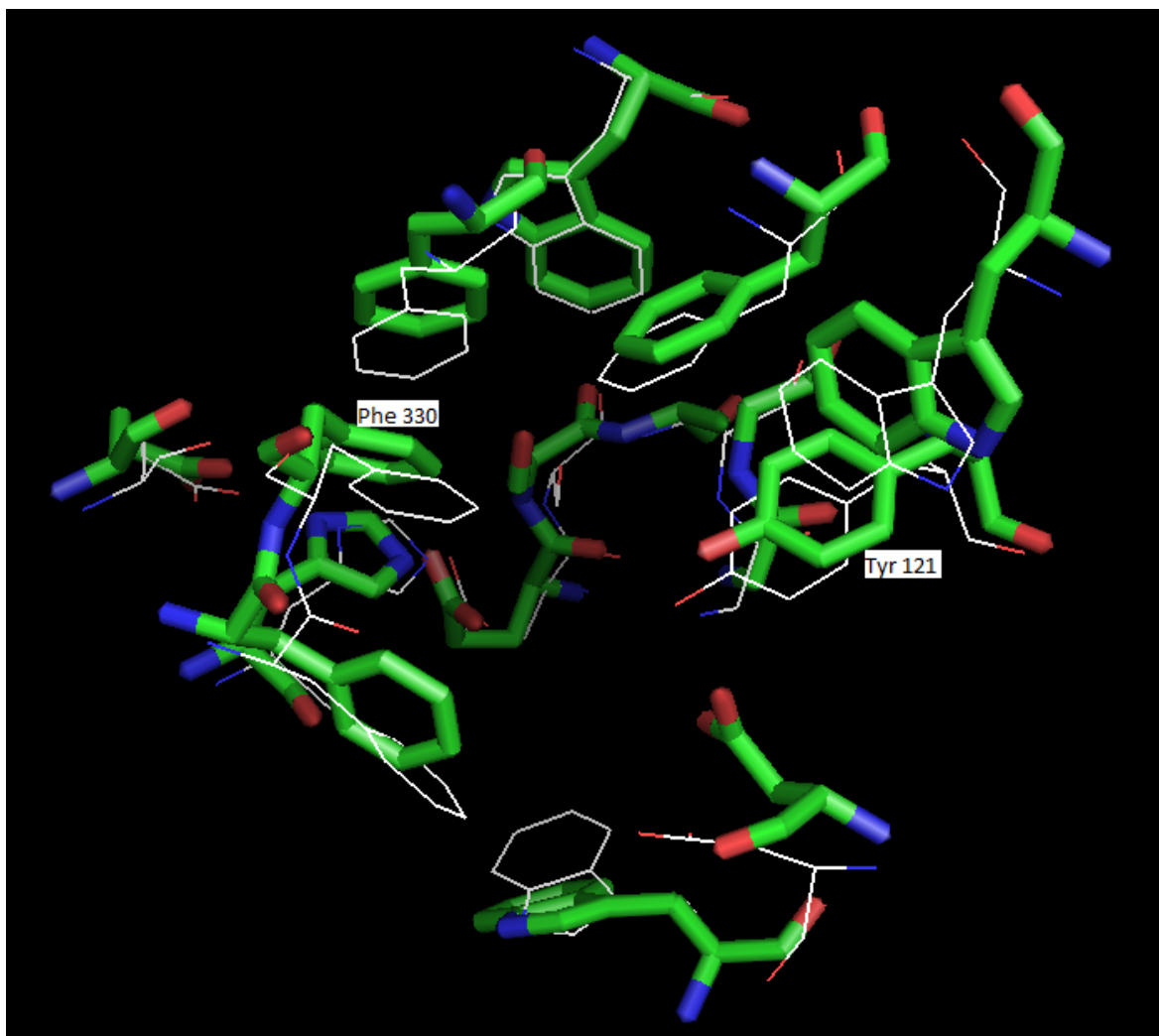
Hình 3. 11 Thứ tự các nguyên tử trong acetylcholine

Từ các số liệu trong bảng 2 ta thấy độ dài của các liên kết khi acetylcholine vào trong hốc phản ứng nói chung lớn hơn so với trạng thái tự do, sự biến đổi góc liên kết thể hiện không rõ ràng. Một số góc xoắn có sự thay đổi đáng kể như góc $O(6)-C(5)-C(1)-H(4)$, $C(11)-C(8)-O(7)-C(5)$. Độ dài liên kết $C(5)-O(7)$ tăng lên đến 1.398 Å, gần với độ dài liên kết $C(8)-O(7)$ (1.404 Å-độ dài của liên kết đơn ở trạng thái tự do), tính chất đồng phẳng của các nguyên tử $C(1)$, $C(5)$, $O(6)$ và $O(7)$ giảm. Những thay đổi trên tạo thuận lợi về hình học cho sự tiếp cận của $C(5)$ lên O trong nhóm OH trên Ser(200).

Bảng 2. Độ dài liên kết, góc liên kết và góc nhị diện của acetylcholine trong hốc phản ứng và trạng thái tự do.

STT	Kí hiệu nguyên tử	NA	NB	NC	Acetylcholine trong hốc phản ứng			Acetylcholine tự do		
					Độ dài liên kết	Góc liên kết	Góc nhị diện	Độ dài liên kết	Góc liên kết	Góc nhị diện
1	C									
2	H	1			1.099			1.084		
3	H	1	2		1.094	106.400		1.084	107.797	
4	H	1	2	3	1.085	110.372	120.407	1.079	110.505	120.380
5	C	1	4	3	1.503	111.039	122.063	1.496	109.477	119.976
6	O	5	1	4	1.204	127.795	31.252	1.184	126.668	-3.525
7	O	5	1	6	1.398	109.599	176.044	1.342	112.014	179.862
8	C	7	5	1	1.421	119.154	-168.039	1.404	117.199	174.293
9	H	8	7	5	1.096	107.812	-134.332	1.080	105.487	-159.565
10	H	8	7	5	1.089	113.010	-14.261	1.079	109.597	-42.168
11	C	8	7	5	1.537	104.517	109.076	1.535	109.012	80.969
12	H	11	8	7	1.089	111.648	-64.094	1.078	109.661	-40.187
13	H	11	8	7	1.093	108.620	53.697	1.082	109.972	79.340
14	N	11	8	7	1.523	118.241	172.883	1.508	115.235	-159.868
15	C	14	11	8	1.504	106.808	-177.237	1.496	107.740	-172.925
16	H	15	14	11	1.089	109.895	-175.250	1.080	108.927	-177.908
17	H	15	14	11	1.091	109.457	-55.186	1.080	108.971	-58.027
18	H	15	14	11	1.091	109.242	63.652	1.080	109.140	62.099
19	C	14	11	8	1.506	112.351	63.361	1.499	110.964	68.688
20	H	19	14	11	1.091	108.722	59.319	1.079	108.916	55.755
21	H	19	14	11	1.090	108.007	177.632	1.080	108.329	175.842
22	H	19	14	11	1.090	109.145	-62.725	1.077	110.001	-64.198
23	C	14	11	8	1.505	110.549	-60.257	1.493	111.145	-53.851
24	H	23	14	11	1.092	108.126	-49.486	1.081	109.056	-54.885
25	H	23	14	11	1.089	109.628	70.606	1.079	109.652	65.755
26	H	23	14	11	1.090	108.674	-169.438	1.080	108.816	-174.632

Cấu trúc hốc phản ứng khi có acetylcholine cũng biến đổi so với khi chưa có acetylcholine (hình 3.12).

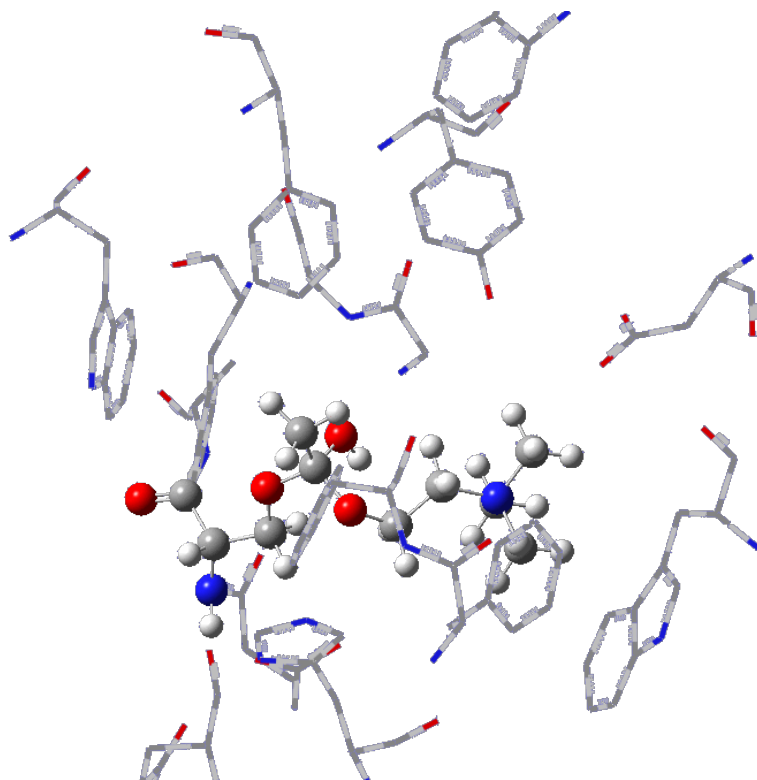


Hình 3. 12 Sự biến đổi cấu trúc hốc phản ứng khi có (nét đậm) và không có cơ chất (nét mảnh)

Các đơn vị aminoaxit trong hốc phản ứng có cấu trúc biến đổi nhiều nhất, có xu hướng giãn ra, các mạch nhánh được định hướng lại.

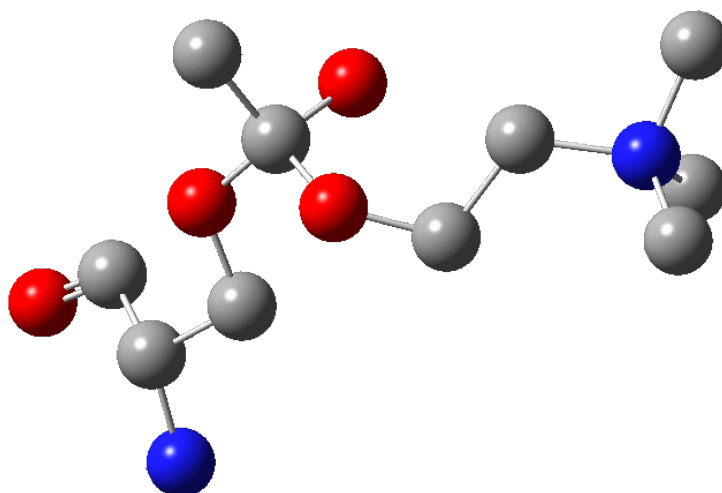
3.2.3. Cấu trúc phức enzyme-cơ chất

Phức giữa acetylcholine với enzyme cũng được tối ưu cho kết quả như hình 3.13.



Hình 3. 13 Cấu trúc phức enzyme-cơ chất

Tách riêng phần mức cao



Hình 3. 14 Cấu trúc phức giữa acetylcholine trên nhóm OH của Ser(200)

So sánh với cấu hình phức trong file pdb (trích từ 2ACE.pdb) được

$$\text{RMSD} = 0.851 \text{ \AA}$$

Độ lệch này trong giới hạn chấp nhận được khi xem xét độ phân giải của dữ liệu từ file pdb. Nếu chỉ tính phần Ser(200) thì $\text{RMSD} = 0.117 \text{ \AA}$, sai lệch chủ yếu là ở phần acetylcholine. Nếu chỉ xét phần cấu trúc khung của protein trong hốc phản ứng thì độ lệch chỉ nhỏ hơn $\text{RMSD} = 0.006 \text{ \AA}$. *(Chú ý rằng phần cơ chất không được định vị chính xác từ dữ kiện nhiễu xạ tia X).*

Năng lượng tính được cho cấu hình phức đã tối ưu

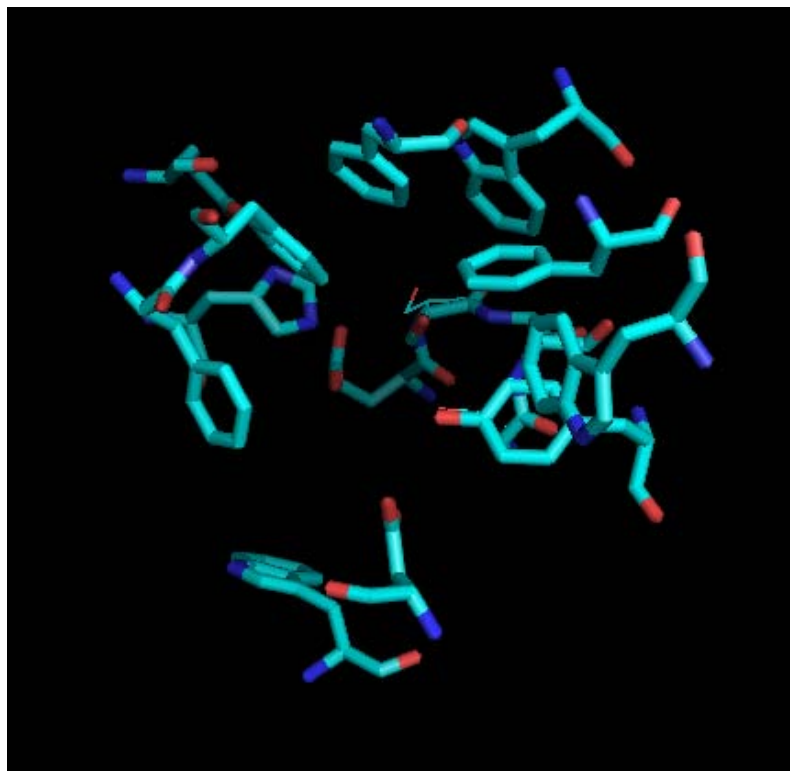
$$\text{ONIOM Total Energy} = -840.18639692 \text{ a.u.}$$

Ở đây có sự biến đổi hoàn toàn góc liên kết và độ dài liên kết trong trạng thái chưa tạo phức và trạng thái tạo phức đối với acetylcholine tại nhóm chức este. Các góc liên kết quanh C(5) đều có giá trị gần với góc tứ diện đều ($109^\circ 28'$), cấu trúc phẳng của nhóm C=O không còn nữa.

Hiệu năng lượng giữa trạng thái chưa liên kết và trạng thái phức:

$$\Delta E_1 \approx 29.98 \text{ (kJ/mol)}$$

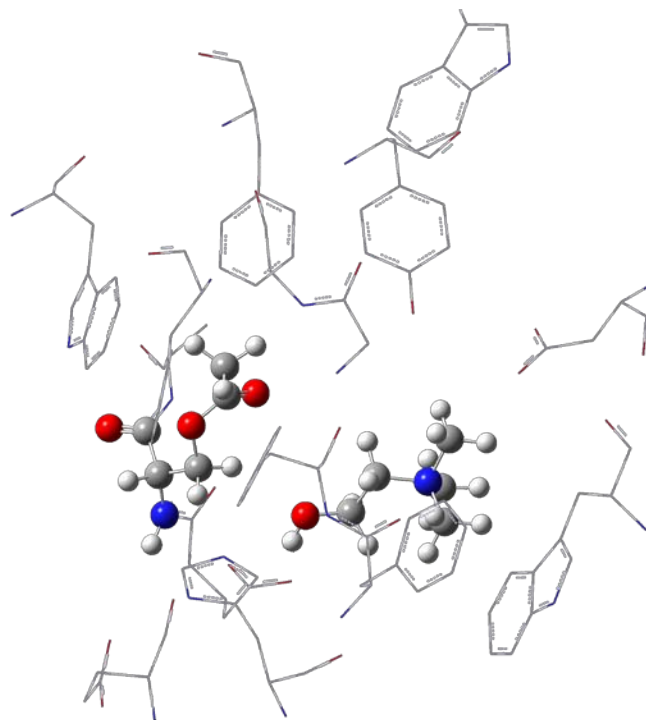
Tuy nhiên cấu trúc hốc phản ứng biến đổi không nhiều, chỉ có sự thay đổi ở nhánh của Ser(200) là rõ ràng (hình 3.15). Như vậy ở giai đoạn này, cấu trúc chỉ biến đổi mạnh tại phần có tương tác hóa học.



Hình 3. 15 Cấu trúc hốc phản ứng trong trạng thái tạo phức (nét đậm) và chưa tạo phức (nét mảnh)

3.2.4. Cấu trúc sản phẩm

Cấu trúc tối ưu khi một phân tử choline tách ra:



Hình 3. 16 Cấu trúc phân tử choline tách ra và nhóm OH trên Ser(200) bị acetyl hóa

Năng lượng tính được cho cấu trúc này

ONIOM Total Energy = -840.27146076 a.u.

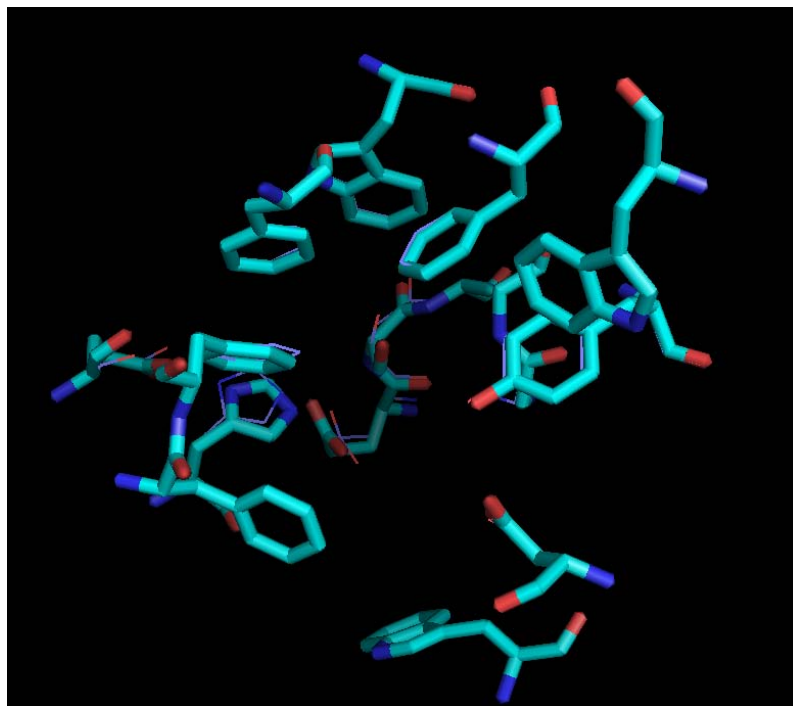
Lúc này cũng có sự biến đổi mạnh bản chất góc liên kết và độ dài liên kết giữa trạng thái phức và trạng thái sản phẩm tại phần có tương tác hóa học. Các nguyên tử C(1), C(5), O(7) và O(Ser) nằm trên mặt phẳng.

Hiệu năng lượng giữa trạng thái sản phẩm và trạng thái phức:

$\Delta E_2 \approx -223.37$ (kJ/mol)

Từ giá trị này ta thấy giai đoạn này tỏa nhiệt mạnh, thuận lợi về mặt nhiệt động học. Phân tử choline được tạo ra tương đối bền trong hốc phản ứng.

Cấu trúc hốc phản ứng thay đổi không nhiều so với trạng thái phức, chỉ có sự thay đổi ở mạch nhánh của một số aminoaxit phía cửa hốc (hình 3.17).



Hình 3. 17 Hốc phản ứng trong trạng thái sản phẩm (nét mảnh) và trạng thái phức (nét đậm)

Trong cả 3 trạng thái với sự có mặt của cơ chất trong hốc phản ứng, tuy cấu trúc cơ chất thay đổi trong khi cấu trúc hốc phản ứng không biến đổi nhiều nhưng nhóm amin bậc 4 luôn hướng vào vòng Trp(84) (hình 3.9, 3.13, 3,16). Kết quả này phù hợp với thực nghiệm [6].

Như vậy, dùng phương pháp ONIOM bước đầu đã khảo sát được cấu trúc của trạng thái acetylcholine trong hốc phản ứng khi chưa tạo phức, trạng thái phức giữa acetylcholine và enzyme, cấu trúc sản phẩm choline được tạo ra trong hốc phản ứng và hiệu năng lượng của các trạng thái trên. Ta có thể dùng phương pháp này để nghiên cứu chi tiết hơn đường phản ứng.

KẾT LUẬN

Từ các kết quả và những nhận xét trong chương 3 ta có thể đi đến một vài kết luận sau:

- Sử dụng các công cụ tính toán AutoDock, AutoDock Vina cùng với Gaussian, bước đầu đã thu được những kết quả phù hợp với thực nghiệm về phản ứng thủy phân acetylcholine nhờ enzyme acetylcholinesterase.
- Bằng phương pháp QM/MM đã khảo sát được trạng thái phức giữa enzyme acetylcholinesterase với acetylcholine, vai trò của enzyme trong phản ứng thủy phân acetylcholine, trong đó có vai trò hóa học của tâm xúc tác và vai trò không gian, tĩnh điện của phần còn lại trong phân tử enzyme.
- Dự đoán được sự biến đổi cấu trúc enzyme cũng như cơ chất trong quá trình phản ứng. Những kết quả này đã được xác nhận từ thực nghiệm.

Những kết quả thu được đã mở ra hướng nghiên cứu chi tiết cơ chế phản ứng xúc tác của enzyme acetylcholinesterase, từ đó có thể dự đoán được hoạt tính ức chế hay hoạt hóa của một số chất khác.

Định hướng phát triển đề tài:

- Nghiên cứu đầy đủ cơ chế phản ứng gồm các bước
 - Quá trình di chuyển của acetylcholine vào bên trong hốc phản ứng.
 - Quá trình di chuyển từ trạng thái chưa liên kết trong hốc phản ứng đến trạng thái tạo phức.
 - Quá trình từ trạng thái phức đến khi tạo thành sản phẩm.

Các bước trên sẽ được lập đường phản ứng chi tiết, tìm trạng thái chuyển tiếp, năng lượng hoạt hóa của mỗi giai đoạn.

- Nghiên cứu phản ứng xúc tác của acetylcholinesterase thuộc các loài khác nhau một mặt làm sáng tỏ thêm ảnh hưởng của toàn bộ phân tử enzyme, một

mặt chú trọng nghiên cứu enzyme acetylcholinesterase ở người vì đây là loại enzyme rất quan trọng trong cơ thể.

- Từ kết quả về năng lượng thu được ở trên ta nhận thấy phương pháp QM/MM chưa thể giải thích được thỏa đáng hoạt tính xúc tác đặc biệt cao của acetylcholinesterase. Do giai đoạn tạo phức của phản ứng được dự đoán là giai đoạn quan trọng, quyết định tốc độ phản ứng lại có hiệu năng lượng dương nên có thể tiên đoán ảnh hưởng cung cấp nhiệt góp phần vào hoạt tính xúc tác, làm tăng tốc độ phản ứng. Để giải thích hiệu ứng này không thể chỉ xem xét phương trình Schrodinger ở trạng thái dừng, mà có thể phải xét cả phương trình Schrodinger phụ thuộc thời gian. Hiện tại chưa có công cụ nào hỗ trợ hướng trên nên cần nghiên cứu thêm.
- Nghiên cứu ảnh hưởng của một số chất đến hoạt tính xúc tác của acetylcholinesterase nhằm tìm ra các chất có lợi tác động đến hoạt động thần kinh để khắc phục những hư tổn trong truyền dẫn thần kinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Lâm Ngọc Thiềm (2008), *Cơ sở hóa học lượng tử*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
2. Đặng Ứng Vận (2003), *Động lực học các phản ứng hóa học*, NXB Giáo dục, Hà Nội.
3. Đặng Ứng Vận (2007), *Giáo trình Hóa tin cơ sở*, NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.

Tiếng Anh

4. Axel D. Becke (1992), “Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange”, *J. Chem. Phys.*, 98(7), pp. 5648-5652.
5. Yves Bourne, Palmer Taylor, Zoran Radic, Pascale Marchot (2003), “Structural insights into ligand interactions at the acetylcholinesterase peripheral anionic site”, *The EMBO Journal*, 22(1), pp. 1-12.
6. Jacques-Philippe Colletier et al. (2006), “Structural insights into substrate traffic and inhibition in acetylcholinesterase”, *The EMBO Journal*, 25(12), pp. 2746-2756.
7. P. Hohenberg, W. Kohn (1964), “Inhomogeneous Electron Gas”, *Physical Review*, Vol.136(3B), pp. B864-B871.
8. Wolfram Koch, Max C. Holthausen, *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, Wiley-VCH, Germany.
9. Chengteh Lee, Weitao Yang, Robert G. Parr (1988), “Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density”, *Physical Review*, 37(2), pp. 785-789.

10. Chérif F. Matta (2010), *Quantum Biochemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
11. John P. Perdew, Kieron Burke, Matthias Ernzerhof (1996), “Generalized Gradient Approximation Made Simple”, *Physical Review Letters*, 77(18), pp. 3865-3868.
12. Joel L. Sussman et al. (1991), “Atomic Structure of Acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: A Prototypic Acetylcholine-binding protein”, *Science*, 253, pp. 872-879.
13. O. Trott, A. J. Olson (2010), “AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading”, *Journal of Computational Chemistry*, 31, pp. 455-461.
14. Darrin M. York, Tai-Sung Lee (2009), *Multi-scale quantum models for Biocatalysis: Modern Techniques and Applications*, Springer.

Websites

15. <http://en.wikipedia.org/wiki/Acetylcholinesterase>
16. <http://mgl.scripps.edu/forum/>
17. http://www.rcsb.org/pdb/static.do?p=education_discussion/Looking-at-Structures/

PHỤ LỤC

BẢNG KÍ HIỆU AMINOAXIT TRONG CHUỖI POLYPEPTIT

Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Aspartic acid	Asp	D
Cysteine	Cys	C
Glutamic acid	Glu	E
Glutamine	Gln	Q
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Methionine	Met	M
Phenylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Serine	Ser	S
Threonine	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V