

Дослідження моделей зв'язування кисню гемом за допомогою теорії функціоналу густини

Б. П. Мінаєв, В. О. Мінаєва, О. М. Обушко, Д. М. Говорун¹

Черкаський національний університет ім. Б. Хмельницького
Бульвар Шевченка, 81, Черкаси, Україна, 18031

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, Україна, 03680

minaeva@cdu.edu.ua

Мета. Для дослідження механізму зв'язування кисню гемом розглянуто три моделі геометричної структури комплексу ферум(II)-порфіну з молекулою O_2 : молекула кисню розташована перпендикулярно до макроциклу порфіну, паралельно і під кутом. **Методи.** Квантово-хімічним методом теорії функціоналу густини на рівні UB3LYP/6-311G проведено розрахунок моделей комплексів ферум(II)-порфіну з молекулою кисню. **Результати.** Описано геометричні та електронні структури, а також інфрачервоні спектри поглинання комплексів у високоспіновому (септетному) стані. **Висновки.** Зроблено припущення стосовно того, що основний механізм виявлення спин-орбітальної взаємодії у ході присаднання O_2 до гему пов'язаний з особливостями електронної структури молекули O_2 .

Ключові слова: оксигемоглобін, спінові стани, ІЧ спектр, спин-орбітальна взаємодія.

Вступ. Ферум-порфірини відіграють важливу роль у багатьох біологічних системах, де вони утворюють активні центри, які сприяють зв'язуванню кисню і проходженню каталітичних реакцій [1]. Гем, який вважається активним центром гемоглобіну і міоглобіну, є комплексом порфірину з іонами Fe^{2+} . У структурі гему Fe^{2+} -іон координаційно зв'язаний з чотирма атомами Нітрогену пірольних кілець, а два координаційних зв'язки Fe^{2+} -іона орієнтовані перпендикулярно до площини гему. Один із цих зв'язків зайнятий імідазольною групою гістидинового залишку, що входить до складу глобіну, другий – не заміщений або заміщується киснем [1].

Зв'язування кисню з Fe^{2+} -іоном гему інтенсивно вивчають як експериментально, так і теоретично

[1–11]. Але на сьогодні не існує єдиної точки зору на орієнтацію кисню відносно площини порфінового макроциклу і на ступінь перенесення електронів від іона Fe^{2+} до молекули кисню.

У перших дослідженнях структури гем– O_2 передбачалося, що молекула O_2 розташована перпендикулярно до макроциклу порфірину (рис. 1, а); у структурі Гриффіта (рис. 1, б) молекула діоксигену розміщена паралельно макроциклу порфірину, а в структурі Полінга – під кутом, рівним 120 [1] (рис. 1, в). У більшості розрахунків за допомогою теорії функціоналу густини (ТФГ) [6–8] показано, що основний стан комплексу імідазол– $Fe(II)P-O_2$ є низькоспіновим (синглетним) з відкритою оболонкою і структура комплексу відповідає моделі 3. У недавній теоретичній роботі [5] відстоюють точку зору, відмінну від викладеної в роботах [6–8].

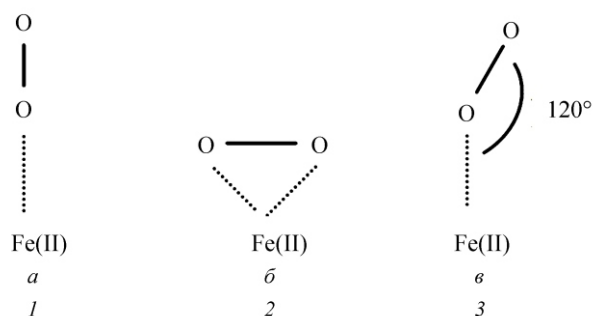


Рис. 1. Різні геометричні структури продукту зв'язування молекули діоксигену гемом: молекула кисню розташована перпендикулярно (*а*, модель 1), паралельно (*б*, модель 2) та під кутом (*в*, модель 3) до макроциклу порфірину

Реакція зв'язування кисню з Fe^{2+} -іоном гему формально є забороненою за спіном, оскільки ферум(II)-іон містить чотири неспарених електрони на 3d-орбіталях (квінтетний стан), а молекула кисню, що містить два неспарених електрони, перебуває в триплетному стані. Залежно від взаємного розташування повних спінів цих частинок можливі декілька збуджених станів оксигемоглобіну: септетний, квінтетний і триплетний вихідні стани сумарного спіну всієї системи. Якщо реакція розпочинається із септетного стану, то в ході приєднання O_2 гемом повинен послідовно відбуватися триступеневий перехід із септету в квінтет, із квінтету в триплет та з триплету в синглет, оскільки при кожному переході спін може змінюватися на одиницю під впливом спін-орбітальної взаємодії (СОВ). На відміну від атомів спін-орбітальна взаємодія у молекулах не спостерігається експериментально, тому що орбітальний кутовий момент для них дорівнює нулю, але вона може проявитися у вигляді зняття заборони за спіном для триплетно-синглетних та інших переходів як у молекулярних спектрах, так і в хімічних реакціях [12].

Зазвичай вважають, що заборона за спіном у реакції O_2 з гемом знімається за рахунок СОВ у атомі Fe, оскільки Fe^{2+} -іон має квазівироджені 3d-орбіталі, слабо розщеплені під впливом поля лігандів. При цьому орбітальний кутовий момент неповністю погашений у Fe^{2+} -іоні і при спінових триплетно-синглетних переходах виникають ненульові спін-орбітальні взаємодії, які частково знімають спінову заборону [13]. Але, як ми припус-

тили в даній роботі, головний механізм виявлення СОВ у ході реакції приєднання O_2 до гему пов'язаний винятково з молекулою O_2 і особливостями її електронної структури.

Складність взаємодії молекули O_2 з гемоглобіном пов'язана не лише з проблемою спіна, але й з енергетикою різних спінових мультиплетів, бар'єрами активації при перетинанні термів, взаємним розташуванням атомів Феруму й Оксигену, виходом ферум-іона з площини порфірину, з частотами коливань різних активних груп. Усі наведені ефекти можливо вивчати лише на квантово-хімічному рівні, застосовуючи різні моделі і наближення. У даній роботі як модель гему ми використали Fe(II)-порфін.

Матеріали і методи. Геометричною моделлю оксигемоглобіну для теоретичних розрахунків нами обрано комплекси ферум(II)-порфірину з киснем (Fe(II)P O_2), де периферичні замісники в макроциклі порфірину замінені на атоми Гідрогену, а молекула кисню розташована перпендикулярно макроциклу Fe(II)P (модель 1), паралельно (модель 2) і під кутом (модель 3) (рис. 1).

Для розрахунку рівноважної геометрії та електронної будови досліджуваних комплексів ми використали квантово-хімічний метод теорії функціоналу густини [14, 15] на рівні теорії B3LYP [16] з розширеним розщепленим базисом атомних орбіталей 6-311G. Відкрита оболонка системи розглядається з використанням необмеженого за спіном функціоналу B3LYP. Вихідні структури оптимізували, мінімізуючи градієнт повної енергії відносно усіх внутрішніх ступенів свободи. Потім обчислювали інші похідні $\partial^2 U / \partial q^2$ (матриця Гессіана) і знаходили частоти гармонійних коливань усієї системи. Для сполук 1–3 розраховано ІЧ спектри. Інтенсивність останніх знаходили через похідні від дипольних моментів комплексів відносно координат нормальної моди при зміщенні з положення рівноваги. Усі обчислення виконано за допомогою програми GAUSSIAN-03 [17].

Оптимізовані структури вибраних нами моделей представлено на рис. 2, *а–в*. Досліджувані комплекси були нейтральними (заряд дорівнює нулю) і мали максимальну мультиплетність високоспінового стану, яка дорівнює семи. Гемоглобін і

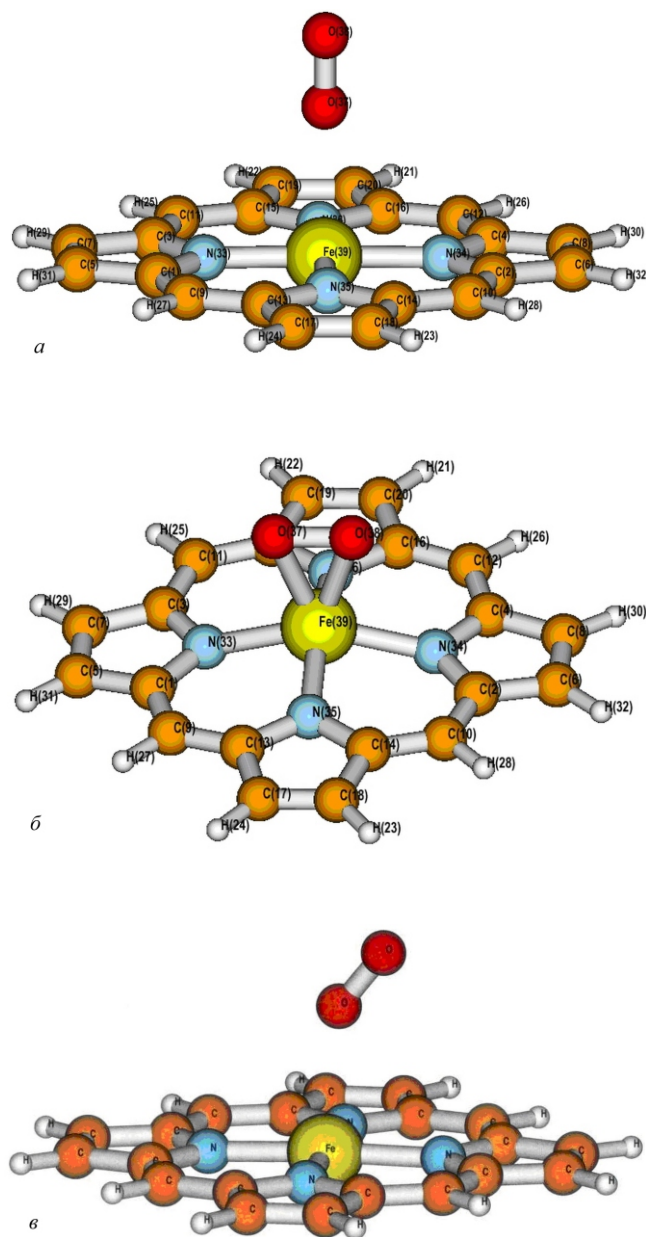


Рис. 2. Оптимізовані структури моделей (а-в, див. рис. 1) оксигемоглобіну

міоглобін, як і їхня модель Fe(II)P [18], характеризуються високим спіном в основному стані. Високоспіновий стан не є основним в оксигемоглобіні, але він близький за енергією до основного синглетного стану і дозволив нам виявити особливості спінової поляризації у подібних мультиплетних станах. У досліджених моделях зайняті лише п'ять координаційних місць Fe(II)-іона, що є недоліком

цих моделей. Щоб наситити шосту координаційну позицію і, таким чином, визначити вплив аксіального ліганда на геометрію і електронні властивості гему, в модель 3 нами введено як аксіальний ліганд аніон хлориду.

При розгляді геометрії та електронної будови молекули ми користувалися традиційною системою позначень [19]: атоми Карбону в α -положеннях пірольних кілець – C, в β -положеннях – C_m, в мезо-положеннях макроциклу (метинові містки) – C_m; положення місткових атомів Карбону (мезо-положення) позначено грецькими літерами α , β , γ , δ ; атоми пірольних кілець з N³⁵ і N³⁶ – штрихом (C³⁵, C³⁶).

Результати і обговорення. Вірогідність утворення, а також стійкість структур комплексу Fe(II)O₂ можна оцінювати, виходячи з повної енергії комплексу. Розраховані нами повні енергії для п'яти координованих комплексів дорівнюють: -65373,768 – для комплексу 1, -65374,547 – для комплексу 2 і -65374,466 eV – для комплексу 3. З отриманих даних випливає, що комплекс 2 є стійкішим (у септетному стані). Повна енергія комплексу, в якому молекула кисню розміщена під кутом 121,0° до макроциклу, лише на 0,081 eV більша, ніж комплексу 2.

Як показали розрахунки двограних кутів, у синглетному, триплетному і квінтетному станах Fe²⁺-іон у Fe(II)P знаходиться у площині порфіринового макроциклу [18]. При зв'язуванні кисню Fe²⁺-іон виходить з площини порфіринового макроциклу на 0,003 нм у комплексі 1, приблизно на 0,03 нм – у комплексі 3 і на 0,045 нм – у комплексі 2. Таким чином, приєднання кисню до гемоглобіну може спричинити зсув атома Феруму всередині молекули, що, очевидно, полегшує міжгемову взаємодію в гемоглобіні. Вона здійснюється білковими ланцюгами, зв'язки яких з іонами Fe(II) дуже чутливі до зміщення Феруму з площини гему. При введенні аксіального ліганда (Cl⁻-іона) в шосте координаційне положення комплексу 3 центральний атом переміщується з площини порфіринового макроциклу в протилежний від Оксигену бік приблизно на 0,01 нм.

У комплексі Fe(II)P з киснем (сполука 1) порівняно з Fe(II)P (таблиця) відмічено невелику делокалізацію спінової густини на атомах Карбону

Спінові густини на атомах у молекулі Fe(II)-порфіну та в його комплексах з киснем

Кут	Сполуки				
	Fe(II)P	[Fe(II)P(O ₂)] (1)	[Fe(II)P(O ₂)] (2)	[Fe(II)P(O ₂)] (3)	[Fe(II)P(O ₂)Cl] ⁻
C ¹⁽³⁾	0,0039	0,0121	-0,0066	0,0061	0,0088
C ²⁽⁴⁾	0,0039	0,0121	-0,0066	0,0095	-0,0038
C ¹³⁽¹⁵⁾	-0,0048	0,0121	-0,0022	0,0071	0,0056
C ¹⁴⁽¹⁶⁾	-0,0048	0,0121	-0,0022	0,0080	0,0021
C ⁵⁽⁷⁾	0,0061	0,0082	0,0032	0,0079	0,0057
C ⁶⁽⁸⁾	0,0061	0,0082	0,0032	0,0089	0,0040
C ¹⁷⁽¹⁹⁾	-0,0003	0,0082	0,0078	0,0095	0,0059
C ¹⁸⁽²⁰⁾	-0,0003	0,0082	0,0078	0,0085	0,0038
C _m ⁽¹⁾	-0,0043	-0,0078	0,0171	0,0059	-0,0197
C _m ⁽²⁾	-0,0043	-0,0078	0,0171	0,0019	0,0098
m-H ⁽¹⁾	0,0004	0,0002	-0,0070	-0,0002	0,0010
m-H ⁽²⁾	0,0004	0,0002	-0,0070	0,0001	-0,0004
N ³³	0,0261	0,0080	0,0918	0,0613	0,0401
N ³⁴	0,0261	0,0080	0,0918	0,0554	0,0635
N ³⁵⁽³⁶⁾	0,0370	0,0080	0,0809	0,0624	0,056
Fe	3,8649	3,8325	4,1654	4,1218	4,1521
O ³⁷	-	0,9824	0,7050	0,6767	0,6989
O ³⁸	-	1,0184	0,7050	0,8095	0,7574
Cl ⁻	-	-	-	-	0,1239

і зменшення спінової густини на атомах Нітрогену. Два неспарених електрони Оксигену зберігаються майже без змін, тобто при орієнтації молекули O₂ перпендикулярно до макроциклу спінова поляризація в порфіновому макроциклі суттєво не проявляється.

В інших моделях (рис. 2) спінова густина перерозподіляється значно сильніше. У сполуках 2 і 3 (таблиця) спостерігається перенесення спіну з атомів Оксигену в макроцикл, головним чином на атом Феруму і атоми Нітрогену. У сполуці 2 всі атоми С пірольних кілець і атоми Гідрогену метинових містків несуть на собі незначну негативну спінову густина, тобто частку спіну з протилежною орієнтацією до спіну Fe²⁺-іона. Довжина зв'язку Fe–O при перенесенні спінової густини зменшується з 0,268 нм у комплексі

1 до 0,214 нм – у комплексі 2 і до 0,208 нм – у комплексі 3 (рис. 3), тобто у слабкозв'язаному комплексі 1 молекула кисню знаходиться на такій відстані від гемму, що можна говорити про незначну міжмолекулярну взаємодію, а в комплексах 2 і 3 – про координаційний зв'язок між Fe і O.

Довжина зв'язку O–O змінюється від 0,125 нм у комплексі 1 до 0,137 і 0,133 нм у комплексах 2 і 3 відповідно; окремий розрахунок молекули O₂ в такому ж наближенні ТФГ дає довжину зв'язку 0,126 нм, що знову свідчить про майже незмінність властивостей кисню у першому випадку. Нагадаємо, що даний метод ТФГ завищує значення довжини зв'язку в молекулі O₂, оскільки, за експериментальними даними, вона становить 0,121 нм [20]. У комплексах 2 і 3 довжини зв'язку O–O ближчі до

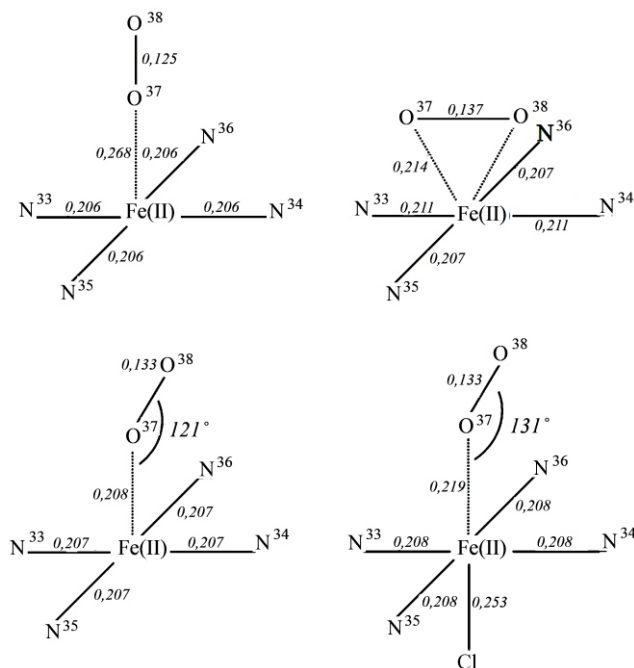


Рис. 3. Довжини зв'язків (нм) у досліджуваних моделях оксигемоглобіну

їхнього значення в O_2^- (0,135 нм [20]). Таким чином, у цих сполуках відбувається перенесення електрона з гему на кисень.

Введення іона хлориду в комплекс 3 зменшує перенесення спінової густини з O^{37} на атом Fe (таблиця), що призводить до послаблення зв'язку Fe–O. Важливо відмітити, що у разі приєднання іона хлориду в шосте положення Fe^{2+} -іона з'являється спін-поляризація у порфіновому макроциклі на його периферії, а саме – на атомах Карбону метинових містків.

Так, на атомі C_m у положеннях i виникає спінова густина з протилежним знаком (–спін) порівняно великої величини (–0,02), а з протилежного боку (у i положеннях) метинові містки несуть –спіни (0,01). Таке викривлення з'являється не за рахунок зниження симетрії при введенні молекули O_2 , а через додавання аксіального ліганда, який, як здавалося б, сам по собі не повинен спричиняти подібні викривлення. Таким чином, вплив аксіального ліганда, який проявляється не лише в спіновій густині, а й у структурних викривленнях (рис. 3), визначається нетривіальними обмінними взаємодіями між –системою макроциклу та інши-

ми лігандами через неспарені електрони 3d-орбіталей Fe^{2+} -іона. Оскільки діамagnetний іон хлориду моделює білковий залишок міоглобіну і гемоглобіну, то даний механізм специфічного обміну, розкритий розрахунками ТФГ, є дуже важливим для розуміння специфіки зв'язування O_2 міоглобіном і гемоглобіном. Це, без сумніву, пов'язано з кооперативними властивостями останнього, відкритими Перутцом [21], на що вказує також перенесення спінової густини на діамagnetний хлорид-іон, який у нашій моделі гемоглобіну несе на собі досить велику спінову густина (0,12).

Зв'язування молекули O_2 призводить до перерозподілу електронної густини у вивчених комплексах. Як видно з рис. 4, зв'язування молекули кисню у сполуці 1 спричиняє невелике перенесення електронної густини на атом O^{37} з атомів Нітрогену (33, 34) порфінового макроциклу і з сусіднього атома Оксигену, що викликає незначну поляризацію зв'язку O–O. Така електрична поляризація призводить до збільшення інтенсивності ІЧ поглинання валентного коливання зв'язку O–O у сполуці 1 порівняно з вільною молекулою O_2 . Заборонена в ІЧ спектрі $Fe(II)P$ коливальна мода при 1457 см^{-1} , пов'язана із скелетними коливаннями у порфіновому макроциклі, і заборонена в ІЧ спектрі O_2 мода при 1455 см^{-1} , обумовлена валентними коливаннями зв'язку O–O, у спектрі комплексу $Fe(II)P\ O_2$ (1) змішуються і утворюють дві дозволені коливальні моди з частотами $1453\text{ (}I = 2,1\text{ км/моль)}$ і $1456\text{ см}^{-1}\text{ (}I = 0,2\text{ км/моль)}$, у кожній з яких поряд зі скелетними коливаннями у макроциклі спостерігаються валентні коливання зв'язку O–O із значною амплітудою. При цьому частота коливання зв'язку O–O практично не змінюється.

При утворенні комплексів 2 і 3 спостерігається інша картина, а саме – значне перенесення електронної густини з Fe^{2+} -іона порфінового макроциклу на атоми Оксигену, в результаті чого заряд Fe^{2+} -іона в моделях 2 і 3 меншою мірою скомпенсований порівняно з комплексом $Fe(II)P$, у якому заряд на іоні Феруму дорівнює $1,491\text{ e}$. Із порфінового макроциклу у сполуці 2 на молекулу кисню переноситься $0,273\text{ e}$, а з Fe^{2+} -іона – $0,213\text{ e}$; у сполуці 3 – $0,248$ і $0,192\text{ e}$ відповідно. Молекула кисню, зв'язана з $Fe(II)P$, набуває значного негативного заряду

(стає нуклеофільною), який у моделі 2 рівномірно розподілений на атомах Оксигену, а в моделі 3 більшою мірою локалізований на атомі Оксигену (O^{37}), що безпосередньо зв'язаний з атомом Феруму. Таким чином, порфіновий макроцикл і атом Феруму (меншою мірою) у модельних сполуках 2 і 3 є джерелами електронної густини. Це відповідає попередньому висновку щодо значного внеску структури супероксид-іона, зробленому нами на основі аналізу довжин зв'язків. Але це перенесення електрона з іона $Fe(II)$ на O_2 не є повним і структура іона Феруму близька до $Fe(II)$.

Введення в структуру 3 іона хлориду призводить до зсуву електронної густини з Cl^- -іона ($0,24 e$) в основному на порфіновий макроцикл і лише $0,045 e$ – на атоми Оксигену.

Валентне коливання зв'язку $O-O$ у комплексі 2 включає не лише рух атомів уздовж осі зв'язку $O-O$, але й зміщення молекули O_2 відносно макроциклу (валентне коливання зв'язку $Fe-O$). При такому русі виникає і змінюється дипольний момент. Похідна від дипольного моменту по зміщенню координати не дорівнює нулю, що й дає ненульову інтенсивність ІЧ поглинання. У комплексі 3 ефект значно посилений за рахунок поляризації зв'язку $O-O$ (рис. 4) і через те, що коливання зазначеного зв'язку пов'язано з коливанням $Fe-O$ безпосередньо, як це видно з геометричної структури (рис. 3). Останнє й визначає збільшення інтенсивності з $112,5$ в моделі 2 до $335,9$ км/моль в моделі 3 і зміну частот коливання з 1078 до 1103 cm^{-1} . При цьому в даній коливальній моді комплексу 3 з'являються деформаційні коливання $C-N$. Амплітуда валентного коливання зв'язку $O-O$ у комплексах 2 і 3 дуже значна (приблизно $0,037$ нм).

Суттєве посилення інтенсивності коливання $O-O$ при зв'язуванні кисню гемом та його залежність від зв'язування наведено на рис. 5, де представлені ІЧ спектри поглинання, розраховані методом ТФГ. Як і очікувалося, спектр комплексу 1 дуже схожий на ІЧ спектр $Fe(II)P$ у квінтетному стані [22]. Смуга поглинання кисню, яка є суто забороненою для вільної молекули O_2 , дуже слабо проявляється в ІЧ спектрі даного комплексу. У комплексах 2 і 3 смуга поглинання кисню посилюється в 1000 разів і зсувається з 1453 cm^{-1} у бік низьких

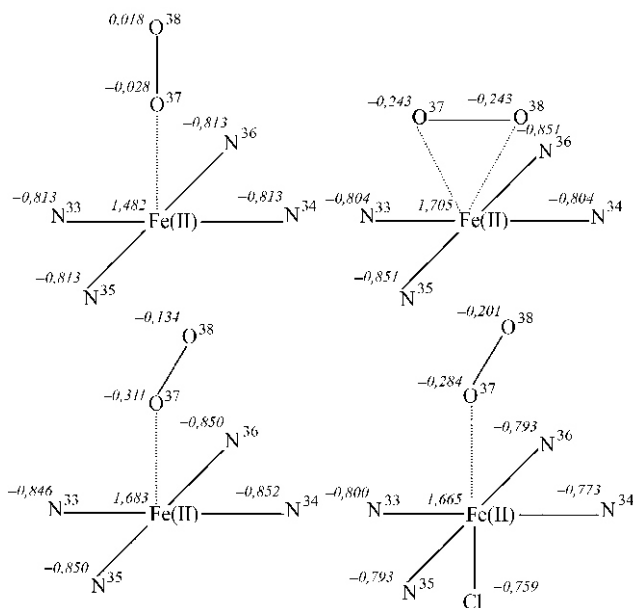


Рис. 4. Заряди на атомах у досліджуваних моделях оксигемоглобіну

частот (1078 cm^{-1} у моделі 2 і 1103 cm^{-1} у моделі 3). В комплексі 3 валентні коливання $O-O$ спостерігаються також при розрахованих частотах 1001 , 1006 і 1110 cm^{-1} , в ІЧ спектрі (рис. 5, в) ці моди перекриваються дуже інтенсивною модою при 1103 cm^{-1} . За даними робіт [2, 3], валентні коливання O_2 в ІЧ спектрах гемоглобіну і міоглобіну відмічаються при 1155 , 1130 і 1105 cm^{-1} . Автори роботи [4] в ІЧ спектрі комплексу Ферум-тетрафенілпорфіну з киснем спостерігали смугу ($O-O$) при 1106 cm^{-1} .

У високочастотній і проміжній областях спектрів не помічено значних відмінностей частот та інтенсивностей коливальних мод при порівнянні ІЧ спектрів сполук $Fe(II)P$ [18] і $Fe(II)P O_2$, за винятком смуг, пов'язаних з валентними коливаннями зв'язку $O-O$. Однак при аналізі низькочастотної області ІЧ спектрів можна спостерігати певні відмінності. Низькочастотна мода 3 в ІЧ спектрі $Fe(II)P$ ($\nu = 78$ cm^{-1} , $I = 1,6$ км/моль, у квінтетному стані), у якій під час руху відбувається утворення куполу або прогинання молекули, в ІЧ спектрах сполук 2 і 3 комплексів $Fe(II)P O_2$ (рис. 5, мода 5) набуває інтенсивності ($6,0$ і $5,2$ км/моль відповідно), достатньої для експериментальних досліджень.

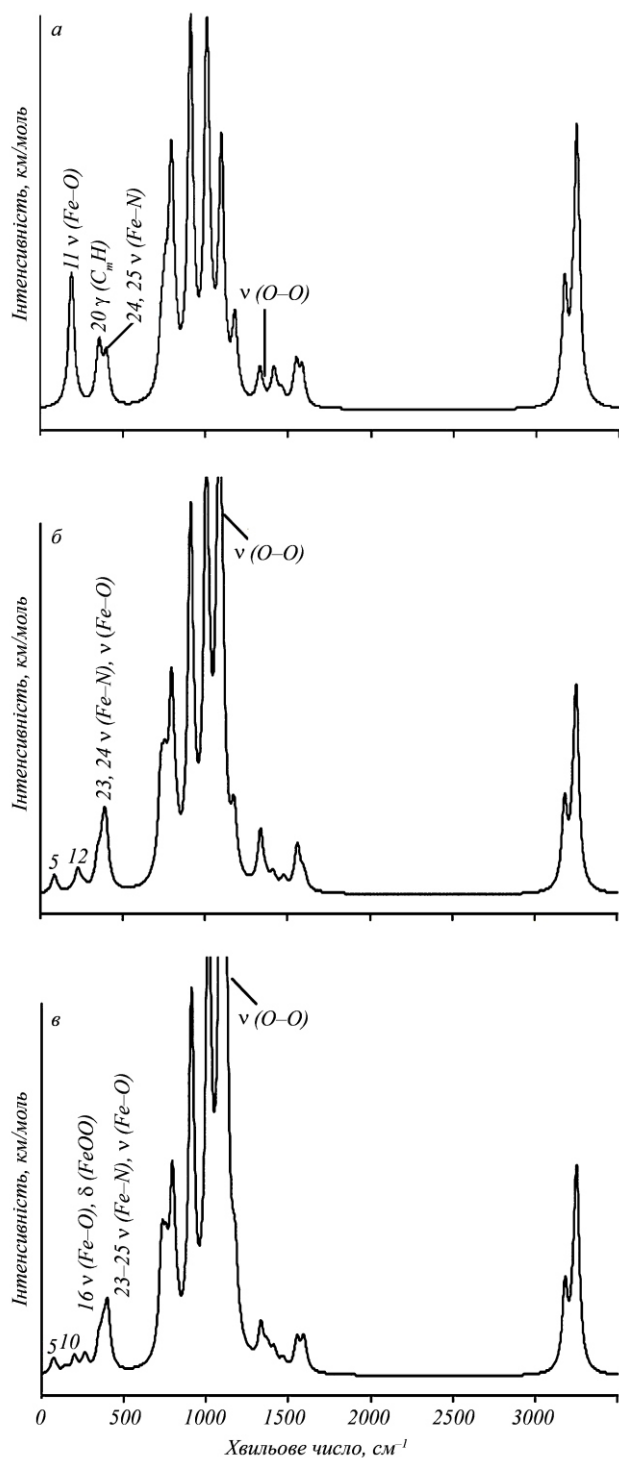


Рис. 5. Коливальні ІЧ спектри поглинання комплексу Fe(II)P з O₂, розраховані методом B3LYP/6-311G: а – модель 1 (максимальна інтенсивність 163,8 км/моль); б – модель 2 (максимальна інтенсивність 112,5 км/моль); в – модель 3 (максимальна інтенсивність 335,8 км/моль). Напівширина смуг 20 см⁻¹

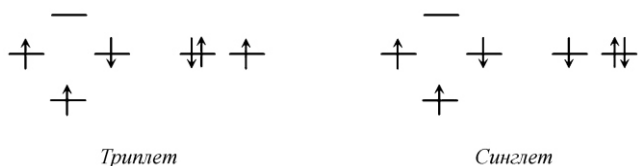


Рис. 6. Схема триплет-синглетного переходу при зв'язуванні кисню гемом

Комплексоутворення Fe(II)P з O₂ більш за все вплинуло на неплосинну коливальну моду, яка в молекулі Fe(II)P є сьомою. Особливості цієї моди детально описані в роботі [18]. У комплексі 1 цій моді відповідають дві коливальні моди (8 і 11) із відмінними частотами (82 і 191 см⁻¹ відповідно) та інтенсивностями (0,1 і 60,1 км/моль). В цих модах, окрім гойдання всього порфінового скелету, відбуваються валентні коливання зв'язку Fe–O. Інтенсивність моди 11 набагато більша, ніж інтенсивність моди 7 у Fe(II)P (26,0 км/моль). У комплексах 2 і 3 інтенсивність відповідних коливальних мод (12 і 10) значно зменшується (8,8 і 6,9 км/моль відповідно). У цих модах атоми Оксигену зміщуються вздовж осі Oz слідом за зміщенням атома Феруму без зміни відстані між ними.

Варто відмітити появу в ІЧ спектрі комплексу 3 при частоті 262 см⁻¹ малоінтенсивної смуги (мода 16, I = 4,7 км/моль), обумовленої лише валентними коливаннями зв'язку Fe–O і деформаційним коливанням FeOO (рис. 5, в). Такої смуги у комплексі 2 не спостерігається.

Таким чином, наш розрахунок дозволив передбачити основну відмінність між комплексами 2 і 3 при аналізі низькочастотної частини спектру. Валентні коливання Fe–O у комплексі 3 відмічено також при частотах 377 см⁻¹ (мода 23) і 403 см⁻¹ (мода 25), а в комплексі 2 – при частотах 380 (мода 23) і 397 см⁻¹ (мода 24). У цих модах коливання Fe–O зміщуються з $\nu_{as}(\text{Fe-N})$ із зсувом пірольних кілець і значним зміщенням атома Феруму.

У комплексі 1 в аналогічних модах (Fe–O) не спостерігається. У комплексі 2 валентне коливання O₂ (мода 19) зі значною амплітудою помітно також при 346 см⁻¹ (I=7,19 км/моль), яке зміщується із неплосинним коливанням C_mH-груп. В ІЧ спектрі на цю моду накладаються моди 23–25 і утворюють один пік.

Як показано в роботах [7, 8], усі мультиплетні стани упродовж реакції зв'язування кисню гемом мають близькі енергії і їхні потенціальні криві змінюються симбатно із зменшенням відстані між O_2 і гемом. При цьому найнижчі за енергією стани, що виникають при зв'язуванні кисню, мають значний внесок структури $Fe^{3+}-O_2^-$. Така структура, притаманна моделі 3, більше відповідає розподілу спінової густини і меншою мірою – розподілові зарядів [8]. Виходячи з цього ми пропонуємо схему, яка пояснює триплетно-синглетний перехід при зв'язуванні кисню з гемом, наведену на рис. 6. Вона не протирічить аналізу спінової густини, отриманої в роботі [8]. Справа в тому, що в структурі $Fe^{3+}-O_2^-$ можливі декілька орбітальних конформацій. Нами спеціально обрано ті з них (рис. 6), які дають максимально великий матричний елемент оператора спін-орбітальної взаємодії для забезпечення високої швидкості триплетно-синглетного переходу.

Дві орбітальні структури, представлені на рис. 6, відрізняються перескакуванням електрона з однієї виродженої x -орбіталі кисню на іншу y -орбіталь [12]. Таке перескакування рівнозначне обертанню електронної орбіталі навколо осі молекули, яке породжує коловий струм і магнітне поле вздовж осі, що й викликає переворот спіну. У моделі 3 ці x -орбіталі кисню майже вироджені і перескакування електрона не потребує значної енергії. Таке спрощене пояснення механізму спін-орбітальної взаємодії повністю підтверджене прямим квантово-хімічним розрахунком для аналогічних моделей з перенесенням заряду [12]. Найнижча молекулярна орбіталь на рис. 6 має малий внесок від іона $Fe(II)$ і пов'язана більше з порфіновим кільцем.

Висновки. Розрахунки методом теорії функціоналу густини трьох відомих з літератури моделей комплексу $Fe(II)P$ з O_2 у високоспіновому стані показали, що модель 1 не відповідає експериментальним даним за ІЧ спектрами і характеризується дуже слабким міжмолекулярним зв'язуванням. Моделі 2 і 3 відповідають міцним координаційним зв'язкам кисню з Ферумом і дають сильний перерозподіл як спінової, так і зарядової густини. При цьому лише модель 3 відповідає всім експериментальним даним як за ІЧ спектрами, так і

за даними ЕПР і рентгеноструктурного аналізу [1–11].

Величезне посилення ІЧ смуги валентних коливань зв'язку $O-O$ у комплексах $Fe(II)P$ з O_2 (моделі 2 і 3) у наших розрахунках пояснюється тим, що дана нормальна коливальна мода змішана з коливаннями порфінового макроциклу і відносним рухом кисню ($Fe-O$), що спричиняє значну зміну дипольного моменту всього комплексу.

Роботу виконано за фінансової підтримки ДФФД (Ф25.5/008).

B. F. Minaev, V. A. Minaeva, E. N. Obushko, D. M. Hovorun

Study on models of O_2 binding to heme using density functional theory

Summary

Aim. To study a mechanism of molecular oxygen binding to heme three models of geometry structure of the complex are considered: the axis of O_2 molecule is situated perpendicularly to the porphyrin macrocycle, parallel, and angularly. **Methods.** The $Fe(II)$ porphyrin complexes with dioxygen are calculated by the quantum-chemical method of density functional theory with the UB3LYP/6-311G approximation. **Results.** The optimized geometry and electron structures as well as the absorption IR spectra of the complexes in the high-spin (septet) state are described. **Conclusions.** It is shown that the main mechanism of spin-orbit coupling during the O_2 binding to heme is connected with peculiarity of the O_2 molecule electronic structure.

Keywords: oxyhemoglobin, spin states, IR absorption spectrum, spin-orbit coupling.

Б. Ф. Минаев, В. А. Минаева, Е. Н. Обушко, Д. М. Говорун

Исследование моделей связывания кислорода гемом при помощи теории функционала плотности

Резюме

Цель. Для исследования механизма связывания кислорода гемом рассмотрены три модели геометрической структуры комплекса ферум(II)-порфина с молекулой O_2 : молекула кислорода размещена перпендикулярно к макроциклу порфина, параллельно и под углом. **Методы.** Квантово-химическим методом теории функционала плотности на уровне UB3LYP/6-311G проведен расчет моделей комплексов ферум(II)-порфина с молекулой кислорода. **Результаты.** Описаны геометрические и электронные структуры, а также ИК спектры поглощения комплексов в высокоспиновом (септетном) состоянии. **Выводы.** Показано, что основной механизм спин-орбитального взаимодействия в ходе реакции присоединения O_2 к гему связан с особенностями электронного строения молекулы O_2 .

Ключевые слова: оксигемоглобин, спиновые состояния, ИК спектр, спин-орбитальное взаимодействие.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Inorganic biochemistry* / Eds M. E. Volpin, K. B. Jacimirskij.—Moscow: Mir, 1978.—Vol. 2.—736 p.
2. *Wagner W.-D., Paeng I. R., Nakamoto K.* Simultaneous observation of O-O and Fe-O₂ stretching vibration of Fe(TPP)O₂ in dioxygen matrices by resonant Raman spectroscopy // *J. Amer. Chem. Soc.*—1988.—**110**, N 16.—P. 5565–5567.
3. *Potter W. T., Tucker M. P., Houtchens R. A., Caughey W. S.* Oxygen infrared spectra of oxyhemoglobins and oxymyoglobins. Evidence of two major liganded oxygen structures // *Biochemistry.*—1987.—**26**, N 15.—P. 4699–4707.
4. *Watanabe T., Ama T., Nakamoto K.* Matrix-isolation infrared spectra of dioxygen adducts of iron(II) porphyrins and related compounds // *J. Phys. Chem.*—1984.—**88**, N 3.—P. 440–445.
5. *Jensen K. P., Roos O. B., Ryde U.* O₂-binding to heme: electronic structure and spectrum of oxyheme, studied by multi-configurational methods // *J. Inorg. Biochem.*—2005.—**99**, N 1.—P. 45–54.
6. *Blomberg L. M., Blomberg M. R. A., Siegbahn P. E. M.* A theoretical study on the binding of O₂, NO and CO to heme proteins // *J. Inorg. Biochem.*—2005.—**99**, N 4.—P. 949–958.
7. *Franzen S.* Spin-dependent mechanism for diatomic ligand binding to heme // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—2002.—**99**, N 26.—P. 16754–16759.
8. *Jensen K. P., Ryde U.* How O₂ binds to heme? // *J. Biol. Chem.*—2004.—**279**, N 15.—P. 14561–14569.
9. *Tsuda M., Dino W. A., Kasai H.* Spin polarization effect on O₂ dissociation from Heme-O₂ adduct // *Jap. J. Appl. Phys.*—2005.—**44**, N 2.—P. L57–L59.
10. *Kozłowski M. P., Kuta J., Ohta T., Kitagawa T.* Resonance Raman enhancement of Fe^{IV}=O stretch in high-valent iron porphyrins: An insight from TD-DFT calculations // *J. Inorg. Biochem.*—2006.—**100**, N 4.—P. 744–750.
11. *Momenteau M., Reed C. A.* ESR study of hemoglobin and myoglobin // *Chem. Rev.*—1994.—**94**, N 3.—P. 659–685.
12. *Minaev B. F.* Electronic mechanisms of activation of molecular oxygen // *Rus. Chem. Rev.*—2007.—**76**, N 11.—P. 989–1012.
13. *Strickland N., Harvey J. N.* Spin-forbidden ligand binding to the Ferrous-Heme group: *ab initio* and DFT studies // *J. Phys. Chem.*—2007.—**111**, N 4.—P. 841–852.
14. *Becke A. D.* Density-functional thermochemistry. The role of exact exchange // *J. Chem. Phys.*—1993.—**98**, N 7.—P. 5648–5655.
15. *Burke K., Werschnik J., Gross E. K. U.* Time-dependent density functional theory: Past, present, and future // *J. Chem. Phys.*—2005.—**123**, N 6.—P.062206.
16. *Lee C., Yang W., Parr R. G.* Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density // *Phys. Rev.*—1988.—**37**, N 2.—P. 785–789.
17. *Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Montgomery Jr., J. A., Vreven T., Kudin K. N., Burant J. C., Millam J. M., Iyengar S. S., Tomasi J., Barone V., Mennucci B., Cossi M., Scalmani G., Rega N., Petersson G. A., Nakatsuji H., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Klene M., Li X., Knox J. E., Hratchian, H. P., Cross J. B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R. E., Yazyev O., Austin A. J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J. W., Ayala P. Y., Zakrzewski V. G., Dapprich S., Daniels A. D., Strain M. C., Farkas O., Malick D. K., Rabuck A. D., Raghavachari K., Foresman J. B., Ortiz J. V., Cui Q., Baboul A. G., Clifford S., Cioslowski J., Stefanov B. B., Liu G., Liashenko A., Piskorz P., Komaromi I., Martin R. L., Fox D. J., Keith T., Al-Laham M. A., Peng C. Y., Nanayakkara A., Challacombe M., Gill P. M. W., Johnson B., Chen W., Wong M. W., Gonzalez C., Pople J. A.* Gaussian 03, Revision C.02.—Wallingford CT: Gaussian Inc., 2004.
18. *Minaev B. F., Minaeva V. A., Vasenko A. N.* Spin states of the Fe(II)-porphin molecule: quantum chemical study by the density functional method // *Ukr. Bioorg. Acta.*—2007.—**5**, N 1.—P. 24–31.
19. *Solovjev K. N., Gladkov L. L., Starukhin A. C., Shkirman C. F.* Spectroscopy of porphyrins: vibrational states.—Minsk: Nauka i Tehnika, 1985.—415 p.
20. *Huber K.-P., Herzberg G.* Constants of diatomic molecules.—New York: Van Nostrand, 1984.—368 p.
21. *Perutz M. F.* Stereochemistry of cooperative effects in haemoglobin // *Nature.*—1970.—**228**.—P. 726–734.
22. *Minaev B. F., Minaev A. B., Hovorun D. M.* Study of the infrared spectrum of the Fe(II)-porphin molecule in different spin states by quantum chemical method of the density functional theory // *Biopolymers and Cell.*—2007.—**23**, N 6.—P. 519–528.

УДК 577.175.6:544.18:543.422
Надійшла до редакції 07.06.08