

УДК 547.962.541.63

КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИЕ РАСЧЕТЫ СТРОЕНИЯ ДИНИТРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА С ЦИСТЕИНОМ

С.Д.ДЕМУХАМЕДОВА, Ш.Н.АЛИЕВ*, Л.И.ВЕЛИЕВА, И.Н.АЛИЕВА,
Д.И.АЛИЕВ

*Бакинский Государственный Университет,
370148, Баку, ул.З.Халилова 23
Азербайджанский Технологический Университет, Гянджа*
374711, Азербайджан, Гянджа, ул.28 мая 103*

Полуэмпирическими квантово-химическими методами МПДП, АМ1 и РМ3 проведено сравнительное исследование пространственной и электронной структуры динитрозильного комплекса негемового железа с цистеином. Методом молекулярной динамики изучена конформационная подвижность комплекса в вакууме и в водной среде. Установлено влияние лигандного окружения на реакционную способность и геометрию координационной сферы комплекса.

ВВЕДЕНИЕ

Почти сорок лет прошло со времени обнаружения в биосистемах комплексов 2,03, характеризующихся сигналом ЭПР с $g_{\text{ср}} \sim 2,03$ и в связи с этим получивших свое название [1]. Являясь единственной формой сосуществования двух важнейших внутриклеточных комплексов – свободного негемового железа и оксида азота (NO) и обладая мощным сосудорасширяющим действием, эти комплексы привлекают к себе пристальное внимание исследователей [2-4]. Это связано прежде всего с тем, что по современным представлениям комплексы 2,03 рассматриваются в качестве промежуточного звена в переносе NO, возникающего в организме, на гемовую группу гуанилатциклазы (ГЦ)- фермента, который связывает гормональные воздействия на клетку с внутриклеточными процессами [5,6]. Участвуя в метаболизме оксида азота, комплексы 2,03 связывают NO и предотвращают его от возможных превращений, например, воздействия активных форм кислорода. Все основные данные о структурно-функциональной организации комплексов 2,03 были получены при изучении соединений, моделирующих эти комплексы. Этими соединениями оказались динитрозильные комплексы закисного железа с SH-содержащей аминокислотой-цистеином [7]. В комплексах 2,03 неспаренный электрон локализован, главным образом, на атоме железа, который имеет конфигурацию d^7 . Одни авторы допускают, что NO-группы в этих комплексах находятся в неионизированной форме, другие считают, что реализуется иная ситуация, а именно, NO группы представлены в комплексах в форме NO^+ . Не исключается возможность присутствия в комплексах 2,03 также двух молекул растворителя, которые не проявляются в спектре ЭПР [8,9]. Предполагается также, что неспаренные электроны двух молекул NO в комплексе спариваются и локализуются на MO, охватывающей в основном участок ON-Fe-NO.

Электронная и пространственная структура комплексов 2,03 с использованием полуэмпирического метода ППДП/2 (в расширенном s,p,d- базисе) и теоретического конформационного анализа была изучена в [10,11]. Однако, очевидно, что более точная информация о структуре комплекса 2,03 может быть

получена лишь при сравнении одних и тех же молекулярных параметров, рассчитанных различными методами. Известно, что полуэмпирические квантово-химические методы базируются на приближении нулевого дифференциального перекрытия и параметризуются с учетом расчета определенных свойств молекул и химических элементов, которые входят в эти молекулы.

Целью данного исследования явилось изучение влияния тиолсодержащих лигандов на молекулярную структуру комплексов 2,03 и исследование перераспределения электронной плотности и изменения электростатического поля всей системы в результате "потери" молекул NO. Расчеты проводились для различных расположений NO групп с целью установления зависимости валентных параметров связи Fe-N-O от электронных и стерических характеристик других лигандов в комплексе. Важным аспектом теоретических исследований является также изучение влияния температуры на динамику атомного остова комплексных соединений. Поэтому было рассмотрено влияние тепловых колебаний на геометрию комплексов 2,03 при физиологической температуре (310 К). Расчеты проводили методом неэмпирической молекулярной динамики, который не требует введения эмпирических межмолекулярных потенциалов для расчетов.

МЕТОДЫ РАСЧЕТА

Применение полуэмпирических схем в квантовой химии основано на использовании возможностей, предоставляемых приближением ПДДП. В их рамках широкое распространение получили методы МПДП, AM1 и PM3, различающиеся способами расчета интегралов межэлектронного отталкивания как для s, p-, так и расширенных s, p, d-атомных базисов [12,13]. Метод AM1 используется, в основном, для описания межмолекулярных взаимодействий, расчетов геометрии и теплот образования молекул, поверхностей потенциальной энергии, структуры и энергии переходных состояний в химических реакциях [14]. Метод PM3 позволяет исследовать указанные параметры для большого числа элементов, в том числе и для переходных металлов, содержащих d-орбитали [15].

В работе использован пакет компьютерных программ "Hyper.chem" версии 6.02, где содержатся соответствующие наборы атомных параметров для переходных металлов, в частности, железа [16]. Силовые и электрооптические параметры комплекса, молекулярные электростатические потенциалы, электронные плотности и ядерные силы были вычислены с помощью комплекса сервисных программ LEV [17,18]. В качестве базисного набора функций были выбраны 1s-орбиталь водорода, 2s- и 2p-орбитали кислорода, азота и углерода, 3s- и 3p-орбитали серы и 3d-, 4s- и 4p-орбитали железа.

РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЧЕТА И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Расчетная модель комплекса 2,03 приведена на Рис.1., а в Таблице1 и Таблице2 обобщены результаты расчетов его электронной структуры и геометрии. Для изучения влияния двух SH-содержащих лигандов рассматривались величины параметров, характеризующих электронную структуру как в отсутствии двух остатков цистеина, так и в комплексе с ними. Мерой изменения электронного распределения служит обычно изменение заряда на атомах, координирующихся с металлом. Кроме того, по изменению электронного распределения в области атома металла при замещении лигандов можно судить о прочности связи металл-лиганд.

Таблица 1.

Энергетические и геометрические параметры комплекса 2,03: (1)-в отсутствие и (2)-в комплексе с цистеином

Комплекс		Метод расчета					
		МПДП		AM1		PM3	
		1	2	1	2	1	2
Заряд, в ед.заряда электрона	Fe	0.300	0.363	0.300	0.390	0.403	0.440
	S	-0.145	-0.125	-0.173	-0.159	-0.186	-0.168
	N	0.282	0.294	0.228	0.260	0.326	0.331
	O	-0.117	-0.109	-0.093	-0.106	-0.204	-0.177
Длина связи, Å	Fe-N	1.50	1.55	1.40	1.51	1.51	1.55
	Fe-S	1.95	1.78	2.15	1.90	2.1	1.83
	N-O	1.16	1.15	1.14	1.12	1.18	1.15
Валентный угол, град	N-Fe-N	109.1	93.4	128.2	109.2	101.9	89.5
	S-Fe-S	136.2	133.1	133.8	132.8	132.1	130.2
	N-Fe-S	91.3	101.9	90.8	109.9	85.9	108.9
	Fe-N-O	122.6	120.6	128.6	125.4	128.8	124.8
Энергия комплекса, ЭВ	Электронная	-5504.4	-23915.8	-5291.2	-23712.9	-5082.6	-23044.6
	Ядерная	3840.9	19679.3	3700.9	19553.2	3656.6	19292.1
	Полная	-1663.5	-4241,3	-1590.3	-4159.7	-1426.1	-3752.1
Дипольный момент, Д		1.9	5.1	2.7	7.3	2.1	6.6

Таблица 2.

Электронные характеристики NO групп в комплексе 2,03: (1)-в отсутствие и (2)-в комплексе с цистеином

Параметры	Метод расчета					
	МПДП		AM1		PM3	
	1	2	1	2	1	2
Суммарный заряд	0.165	0.185	0.135	0.154	0.122	0.154
Энергия диссоциации, ЭВ	11.4	11.0	9.5	9.1	8.9	8.5

Такое замещение может менять характер взаимодействия и функциональные свойства комплексных соединений. При этом следует отметить, что рассматривается та часть электронной плотности, которая расходуется на образование координационных связей, играющих важную роль при участии комплексов железа в биохимических процессах.

Согласно результатам расчетов существенное изменение электронной плотности при введении цистеиновых лигандов наблюдается на атоме железа и атомах азотов NO групп. Об этом свидетельствуют также и рельефные карты перераспределения валентной плотности при замещении (Рис.2.). Распределения плотности построены в сечениях, проходящих через плоскость комплекса и на расстоянии 0,5Å от нее, где изменения плотности максимальны. Разность электронных плотностей в координационном центре максимальна, в то время как уже на расстоянии более одной химической связи от места введения лиганда не превышает нескольких процентов (Рис.2.). Несмотря на небольшую величину

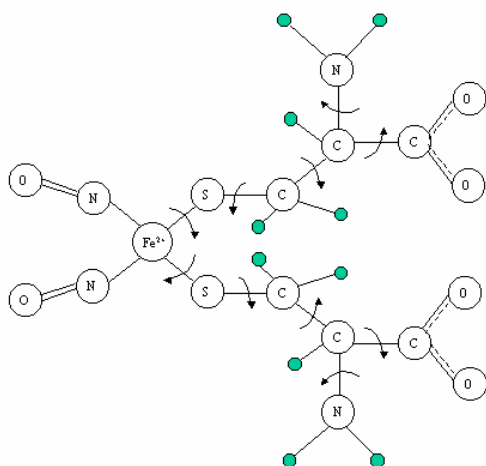


Рис.1.
Расчетная модель и переменные
геометрические параметры
динитрозильного комплекса
железа с цистеином

подобных эффектов было бы ошибочным игнорировать их вообще. Как следует из результатов расчета суммарный заряд, локализованный на NO группах комплекса положителен и свидетельствует об ионизации этих групп при связывании лигандов. Этот вывод был сделан на основе результатов оптимизации геометрии координационного центра комплекса. Изменение межатомного расстояния позволяет судить об изменении силы химической связи между атомами комплекса. Наблюдаемое в комплексах увеличение длины связи Fe-N ($0,1\text{\AA}$) и уменьшение связи Fe-S ($0,2\text{\AA}$) свидетельствует об ослаблении взаимодействия между железом и оксидом азота. В результате увеличивается как суммарный положительный заряд на NO группах, так и уменьшается величина энергии диссоциации NO групп.

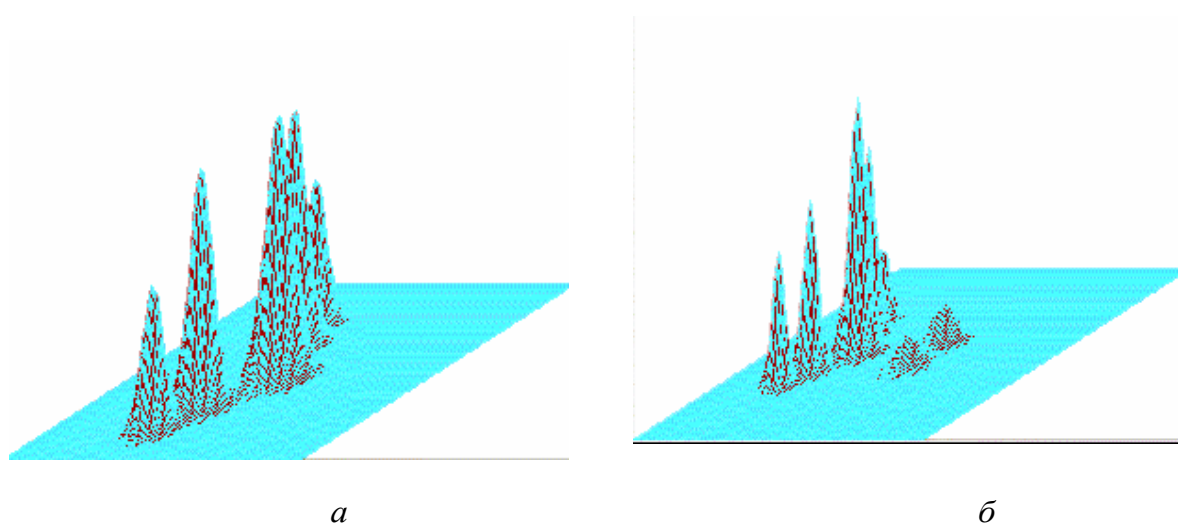


Рис.2.

Перераспределение валентной электронной плотности при введении цистеиновых лигандов в структуру комплексов 2,03 (над плоскостью): (а)- в отсутствие и (б)- в комплексе с цистеином.

Таким образом связывание комплексами цистеиновых лигандов приводит к упрочению связи между Fe и атомом серы лиганда, и ослаблению связи Fe-NO, что создает благоприятные условия для перехода NO из состава комплексов 2,03 на гемовую группу гуанилатциклазы. Таким образом, включение NO в комплексы 2,03 с одной стороны предохраняет его от возможных превращений, а с другой стороны способствует участию оксида азота в активации гуанилатциклазы. Анализ

карт электростатического потенциала, создаваемого ядрами атомов и электронным зарядом в области реакционной сферы комплекса показал, что в отсутствие лиганда он близок к нулю. Хотя следует отметить, что при добавлении цистеиновых лигандов вокруг комплекса создается большой по величине положительный потенциал и изменение внешнего электростатического поля сильнее зависит от дальних заместителей, чем изменение электрической плотности (Рис.3).

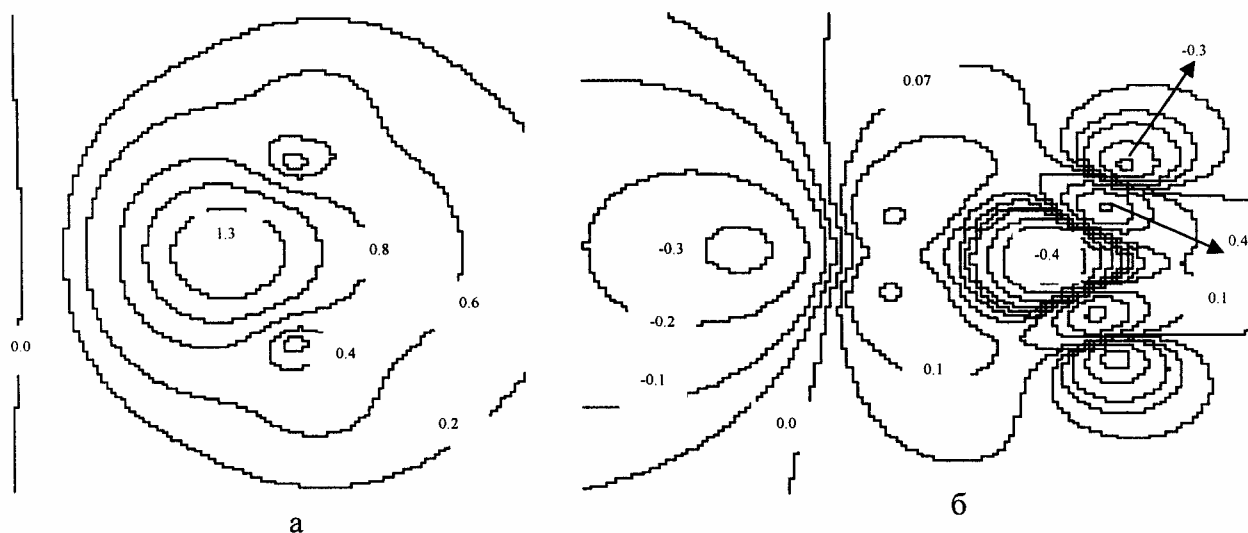


Рис.3.

Молекулярные электростатические потенциалы комплекса 2,03 (в логарифмической шкале) без лиганда (а) и с цистеиновыми заместителями (б) (над плоскостью расположения NO -групп)

Важную информацию о структуре комплексов 2,03, как указывалось выше, может дать изучение динамики атомного остова комплекса при физиологической температуре. Поэтому нами были проведены молекулярно-динамические исследования структуры комплекса как в вакууме, так и в условиях водного окружения. Такие исследования позволяют установить не только равновесное состояние комплекса, но и выявить кинетику поведения в окрестностях установленного минимума. Динамика отбора продолжалась в течении 30пс при 310К (~15.000 значений энергии и ее производных с шагом $1 \cdot 10^{-15}$ сек). Для моделирования водного окружения комплекса он был помещен в гипотетический объем с размерами: $x=12\text{\AA}$; $y=8\text{\AA}$; $z=12\text{\AA}$, заполненный молекулами воды. Максимальное число молекул воды в таком объеме равно 39, а минимальное расстояние между атомами комплекса и раствора взято равным $2,3\text{\AA}$. На Рис.4 приведены равновесные состояния комплекса как в вакууме, так и в водной среде. Результаты расчета свидетельствуют, что среднеквадратичные амплитуды флуктуации атомов остова комплекса на 60% определяются осцилляциями в пределах одной энергетической ямы и на 40%- переходом из одной ямы в другую. Любое конформационное состояние достигает глобального минимума уже в течении 10пс. Как следует из результатов расчета под действием температуры меняются относительные вклады р-орбиталей атомов азота и d-орбиталей железа. В Таблице3 приведена заселенность d-орбиталей железа, усредненная для геометрии комплекса, рассчитанной различными методами.

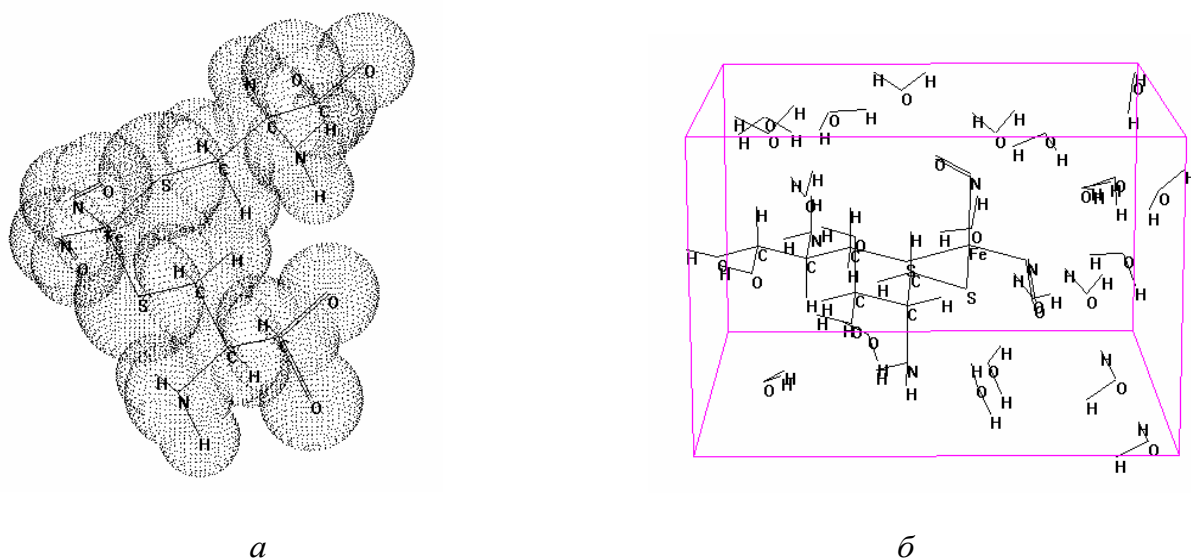


Рис.4

Равновесные конформационные состояния комплекса 2,03
(а) – в вакууме; (б) – в водной среде

Результаты вычислений подтверждают высказываемое ранее предположение о локализации неспаренного электрона на d_z^2 -орбитали железа [8,19,20]. Поскольку молекула оксида азота в основном состоянии парамагнитна и содержит на π^* -орбитали один неспаренный электрон, то эта орбиталь оказывается вытянутой в направлении иона железа.

Таблица 3.

Парциальные вклады d-орбиталей в МО комплекса 2,03

Расстояние Fe-N, Å	Заселенность d-орбиталей			
	$d_{x^2-y^2}$	d_{xy}	d_{z^2}	d_{π}
1.40	0.36	0.41	2.0	3.63
1.50	0.32	0.40	2.0	3.64
1.51	0.31	0.40	2.0	3.65
1.55	0.24	0.40	2.0	3.80

На основе результатов проведенных исследований можно предположить, что реакционная способность комплексов 2,03 связана с изменением электронной структуры комплексов при присоединении лиганда. В частности, установлено, что связывание с лигандом приводит к изменению межядерного расстояния между железом и атомами азота и серы. В результате между Fe^{2+} и $N(NO)$ формируются слабые ион-дипольные взаимодействия и оксид азота приобретает положительный заряд. Установлено, что изменение прочности связи Fe-NO пропорционально изменению электростатического поля комплекса.

Таким образом, на основе использования полуэмпирических методов расчета электронной и пространственной структуры комплексов 2,03 получены результаты, которые позволяют предположить, что образующиеся в биологических системах соединения типа Fe-NO-RS способны эффективно

связывать NO, создавая тем самым его высокие стабильные концентрации у так называемых "мишеней действия" и обеспечивая тем самым реализацию физиологической роли оксида азота.

1. А.Ф.Ванин, Л.А.Блюменфельд, А.Г.Четвериков, *Биофизика*, **12** (1967) 820.
2. D.I Aliev, A.F.Vanin, *Studia biophysica*, **93** (1983) 63.
3. Д.И.Алиев, А.Ф.Ванин, *Известия АН Азерб. (серия биол.наук)*, №5 (1986) 123.
4. A.L.Klechev, P.I.Mordvintsev, A.F.Vanin, *Studia biophysica*, **105** (1985) 93.
5. A.F.Vanin, I.V.Malenkova, V.A.Screzhenkov, *Nitric Oxide: Biol.Chem*, **1** (1997) 191.
6. K.A.Lucas, G.M.Pitari et al., *Pharm.Rev.*, **52** No 3 (2000)375.
7. А.Ф.Ванин *Биохимия*, **32** (1967) 281.
8. Д.Ш.Бурбаев, А.Ф.Ванин, Л.А.Блюменфельд, *Ж.струк.химия*, 12 №2 (1971) 252.
9. Y.A.Henty, A.Guissani, B.Ducastel, *Nitric Oxide: Research from Chemistry to Biology: EPR Spectroscopy of Nitrosylated Compounds*, R.G.Landes Company, Austin, Texas, USA, (1997).
10. Д.И.Алиев, И.Н.Алиева, Н.М.Годжаев, *Ж.физ.химии*, **LXIII** (1989) 2656.
11. I.N.Alieva, D.I.Aliev, N.M.Godjaev, *Studia biophysica*, **139** (1990) 17.
12. К.Я.Бурштейн, П.П.Шорыгин, *Квантово-химические расчеты в органической химии и молекулярной спектроскопии*, М.Наука, (1989) 104.
13. W.Thiel, A.A.Voityuk, *J.Phys.Chem.*, **100** (1996) 616.
14. M.S.Dewar, E.G.Zoebisch, E.F.Horsley, J.J.P.Stewart, *J.Amer.Chem.Soc.*, **107** (1985) 3902.
15. J.J.P.Stewart, *J.Comput.Chem.*, **10** (1989) 209.
16. N.L.Allinger, V.Yuh, *QCPE-395*, Indiana Univ., (2000).
17. L.A.Gribov, *Light elucidation of vibrations. The description of the program and instruction to the user*, ООО "INLAN", (1995).
18. Л.А.Грибов, С.П.Муштакова, *Квантовая химия*, Москва, (1999) 390.
19. A.R.Butler, C.Glidwill, M-H Li, *Adv.Inorg.Chem*, **32** (1988) 335.
20. T.R.Bryaz, D.R.Eaton Can, *J.Chem.*, **70** (1992) 1917.

**DƏMİRİN SİSTEİNLƏ DİNİTROZİL KOMPLEKSİ QURULUŞUNUN KVANT-
KİMYƏVİ ÜSULLARLA HESABLANMASI**

S.D.DƏMƏHƏMMƏDOVA, Ş.N.ƏLİYEV, L.İ.VƏLİYEVA, İ.N.ƏLİYEVA, C.İ. ƏLİYEV

DÖTN, AM1 və PM3 yarımempirik kvant-kimyəvi üsullarla dəmirin sisteinlə dinitrozil kompleksi quruluşunun müqayisəli fəza və electron quruluşları nəzərdən keçirilmişdir. Molekulyar dinamika üsulu ilə kompleksin vakuunda və su mühitində konformasiya mütəhərriqliyi tədqiq edilmişdir. Liqand mühitinin kompleksin reaksiya qabiliyyətinə və koordinasiya sferasına təsiri təyin edilmişdir.

**QUANTUM-CHEMICAL CALCULATIONS OF STRUCTURE OF THE
DINITROSYL NON-HEME IRON COMPLEXES WITH CYSTEINE**

S.D.DEMUKHAMEDOVA, SH.N.ALIEV, L.I.VELIEVA, I.N.ALIEVA, D.I.ALIEV

Comparative study of the spatial and electron structure of the dinitrosyl non-heme iron complexes with cysteine has been of carried out by the MNDO, AM1 and PM3 semiempirical quantum-chemistry methods. Conformational flexibility of the complexes was revealed on the base molecular dynamics simulation in vacuum and water solution. Ligand effect on the geometry of coordination moiety has been established.

Редактор: А.Гарибов