

УДК 535.32/58

ПЕРОКСИНИТРИТ В СОСТАВЕ ГЕММА

К.В. Симон, А.В. Тулуб

Санкт-Петербургский государственный университет, Россия
E-mail: tulub@NK7099.spb.edu

Статья поступила 3 февраля 2015 г.

Выполнен расчет электронных характеристик гемма trHbN, в состав которого входит группа (ONOO) со структурой, близкой к структуре пероксинитрита и нитратного аниона в газовой фазе. Электронная корреляция рассмотрена методом МКССП при оптимизации геометрии всей структуры. В качестве стартовых молекулярных орбиталей (МО) использованы локализованные МО. В волновой функции метода МКССП заданы два подпространства полного взаимодействия (CAS): подпространство 3*d*-орбиталей атома железа и подпространство, описывающие химические связи в пероксинитрите, это связывающие и разрыхляющие МО плюс орбиталь одной неподеленной электронной пары на фрагменте O₂. В состав системы включены две молекулы воды. Пероксинитритная структура рассмотрена в двух различных спиновых состояниях, которые соответствуют синглетному и триплетному состояниям этого аниона в газовой фазе, где колебательный спектр характеризуется частотами порядка (70—30) см⁻¹. Обсуждается защитная реакция активного центра туберкулезной палочки.

DOI: 10.15372/JSC20160103

Ключевые слова: структура гемма, неэмпирические расчеты, O₂/NO химия.

Пероксинитрит (ONOO)⁻ образуется в газовой фазе в результате взаимодействия аниона O₂⁻ с радикалом NO



и представляет значительный интерес в биохимических процессах как сильный окислитель, он упоминается наряду с такими наиболее известными оксидантами, как O₂⁻, OH⁻, H₂O₂. Электронное строение и геометрия (ONOO)⁻ хорошо известны из квантово-химических расчетов [1, 2], в том числе и в воде [3]. Нитратный анион NO₃⁻ с симметрией правильного треугольника D_{3h} представляет основное состояние системы (NOOO)⁻. Образование аниона NO₃⁻ в ходе реакции



в газовой фазе затруднено, перегруппировка (ONOO)⁻ → NO₃⁻ не происходит ввиду значительных активационных барьеров [4]. В присутствии же входящего в состав гемма железа реакция (2) становится возможной и схематически записывается как



В реакции (3) в составе активного центра гемоглобина, структура trHbN (truncated hemoglobin N) туберкулезной палочки *M. tuberculosis*, существенно присутствие молекул воды, способствующих разрыву связи Fe—ONO₂ между железом и нитратным анионом. Как следствие

стерического эффекта наибольший интерес представляет в случае аниона $(\text{NO}_3)^-$ взаимодействие с двумя молекулами воды, последние включены ниже в состав системы. Путь миграции аниона $(\text{NO}_3)^-$ в белковой матрице описан в литературе (см. [5, 6], где приведена библиография) и определяется по мере удаления от железа по всей вероятности взаимодействием с фрагментами аминокислот GlnE и TyrB, с которыми этот анион связан водородными связями. Взаимодействие нитратного аниона, равно как и пероксинитрита с водой, в объеме не разрушает структуру комплекса [3, 4]. Процесс (3) является ключевым в понимании защитной реакции бактерии туберкулеза. Электронный и колебательный спектр анионов $(\text{ONOO})^-$ и $(\text{NO}_3)^-$ неоднократно исследовался (см., например, [7, 8] и цитированную там литературу), они имеют в основном электронном состоянии равный нулю спин.

При сближении аниона NO^- в основном электронном состоянии (терм $^3\Sigma^-$) с молекулой кислорода O_2 (терм $^3\Sigma_g^-$) возможные спиновые состояния объединенной системы равны $S = 2, 1, 0$. Триpletное состояние пероксинитрита является связанным и характеризуется большей длиной связи NO , оно может рассматриваться как димерная форма $(\text{OO}\cdots\text{NO})^-$ пероксинитрита, длина связи $r(\text{O}-\text{N}) \approx 2,885 \text{ \AA}$ [4]. Состояние $(\text{OO}\cdots\text{NO})^-$ со спином $S = 2$ неустойчиво [4].

Реакция (3) идет в полости, в состав которой входят фрагменты аминокислот (см., например, [5, 6]), присутствие последних, возможно, и создает условия образования на конечной стадии аниона NO_3^- , схема (3) фиксирует продукт реакции, но не ее путь. Возникает вопрос, не может ли реакция (3) развиваться по другому каналу, а именно:



В правой части (4) предполагается возможным образование пероксинитрита в основном состоянии, возможно, и в упомянутой выше димерной форме. Представляет интерес расчет электронного строения всего комплекса, что является более реалистичной моделью в плане понимания реакций (3) или (4). Этот комплекс включает ферропорфирин (FeP), имидазол ($\text{C}_3\text{N}_2\text{H}_4$), анионы NO_3^- или $(\text{ONOO})^-$ в различных структурных формах, а также две молекулы воды. Упомянутые анионы возникают в результате переноса заряда с FeP на $(\text{ONOO})^-$, изображение структур приводится ниже.

Известно, что расчет электронных характеристик пероксинитрита требует детального учета энергии электронной корреляции [1–3]. При расчете различных спиновых состояний $(\text{ONOO})^-$ в [4] были использованы различные варианты многоконфигурационного метода самосогласованного поля (МКССП). Этот же метод используется ниже. Принята следующая последовательность изложения: 1) выбор базиса на атоме железа; 2) расчет основного и первых возбужденных состояний FeP; 3) описание структуры типа пероксинитрита и нитратного аниона в молекулярном комплексе. При расчете структуры предусматривается, что волновая функция является собственной функцией оператора S^2 . Анионы $(\text{ONOO})^-$ и $(\text{NO}_3)^-$ имеют в основном электронном состоянии равный нулю спин. Замена пероксинитрита на его димерную форму в реакции (4) сопровождается изменением спина, переходом на другую поверхность потенциальной энергии (PES). В случае газовой фазы в области локального минимума аниона $(\text{ON}\cdots\text{OO})^-$ имеет место практически точное совпадение полных энергий синглетного и триpletного состояний [4], что облегчает изменение спина в ходе реакции. Интерес к таким процессам увеличился в последнее время (см. обзорные статьи [9, 10]).

Переходим к расчетам электронного строения. Они выполнены по программе GAMESS(2009) [11] методом МКССП в варианте ограниченного активного пространства (RAS) [12]. Система характеризуется существенным переносом заряда с железопорфиринового кольца на комплекс $[(\text{O}_2\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_2]$, который приобретает отрицательный эффективный заряд. Основная роль принадлежит атому железа. Потенциалы ионизации (IP) железа (первый, второй и третий потенциалы) заметным образом зависят от выбранного базиса и от расчетной схемы. Может возникнуть существенная разница во втором и третьем потенциалах ионизации при условии хорошей величины первого, может иметь место и обратная картина. На атоме железа выбран специальный базис, обеспечивающий приемлемые значения первых трех потенциалов

Т а б л и ц а 1

Полные энергии и потенциалы ионизации атома Fe в методах ROMP2 и CR-CC(2,3) в базисе 6-31G*(s,p,d)

| Заряд | Терм | ROMP2 | | CR-CC(2,3) | | Эксп. IP, эВ |
|------------------|-----------------------------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|
| | | E, ат. ед. | IP, эВ | E, ат. ед. | IP, эВ | |
| Fe ⁰ | ⁵ D _g | -1262,604250 | 7,427 | -1262,627364 | 7,715 | 7,896 |
| Fe ⁺ | ⁶ D _g | -1262,331313 | 15,96 | -1262,343845 | 16,02 | 16,18 |
| Fe ²⁺ | ⁵ D _g | -1261,744718 | 30,26 | -1261,755008 | 30,08 | 30,64 |
| Fe ³⁺ | ⁶ S _g | -1260,632847 | — | -1260,649719 | — | — |

ионизации. За основу был взят базис 6-31G(f), к которому затем были добавлены три дополнительные оболочки, содержащие гауссовы функции s-, p- и d-типа. Показатели добавленных функций были оптимизированы с сохранением всех остальных функций базисного набора 6-31G*. Различные методы — ROMP2, MCQDPT [13] и метод связанных кластеров в варианте CR-CC(2,3) [14, 15] — дают близкие значения показателей экспонент при оптимизации полной энергии основного состояния атома железа (терм ⁵D_g), в методе CR-CC(2,3) показатели оказались равными:

$$\zeta(s) = 0,280829, \quad \zeta(p) = 0,120767, \quad \zeta(d) = 0,136335.$$

В построенном таким путем базисе, он обозначен как базис 6-31G*(s,p,d), были получены (как разности полных энергий) в приближении ROMP2 и CR-CC(2,3) приведенные в табл. 1 потенциалы ионизации. Интересно отметить, что потенциалы ионизации в релятивистском методе HFD (численное интегрирование уравнений HFD) передаются довольно уверенно, именно IP1 = 6,88 эВ, IP2 = 16,18 и далее IP3 = 31,71 эВ.

Переходим к расчету оптимальной геометрии нижних электронных состояний FeP для различных спиновых состояний. Нумерация атомов указана на рис. 1. В методе RASSCF [12] в подпространство полного взаимодействия были включены: 1) 3d-оболочка атома железа, 2) две орбитали (две занятых и две виртуальных) порфиринового кольца, это "нижнее" и "верхнее" подпространства, см. табл. 1 в Приложении 1, 4s-электроны железа делокализованы в плоскости кольца. Максимальная кратность возбуждений между подпространствами равна двум. Использованные базисные наборы показаны в табл. 3 в Приложении 1.

Основное состояние плоского кольца FeP оказалось отвечающим терму ⁵A_{1g}, группа симметрии D_{4h}, геометрия показана на рис. 1. Оптимальные длины связей Fe—N приведены в табл. 2 в Приложении 1, заряды на атомах — в табл. 3 Приложения 1.

Волновые функции 3d хорошо локализованы на железе, заряд, в единицах электронного заряда, составляет по Малликену +1,69. Заряды на атомах азота, которые удерживают атом железа, близки к -1,30. Эти довольно значительные отрицательные заряды способствуют стабилизации катиона железа в составе порфиринового кольца. Вол-

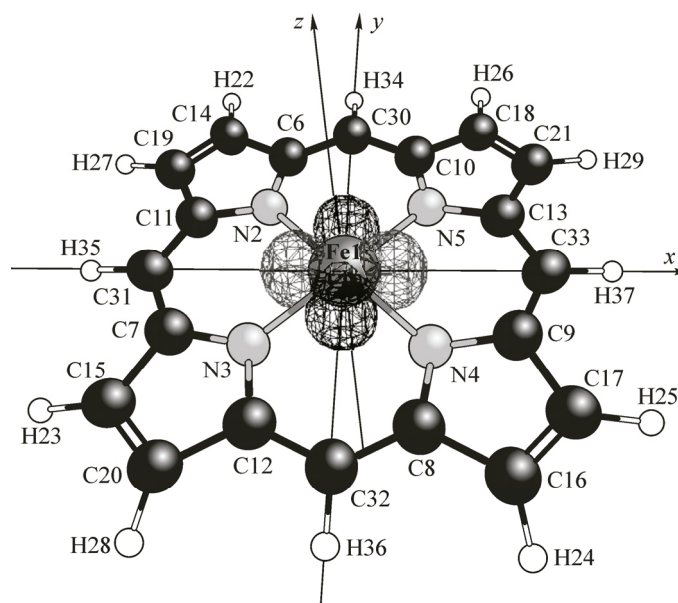


Рис. 1. Молекула ферропорфирина и активная $3d_{x^2-y^2}$ орбиталь на атоме железа

Приложение 1

Т а б л и ц а 1_П1

Выбор активного пространства в методе RASSCF*

| "Нижнее" подпространство | | Подпространство полного взаимодействия (3d-оболочка атома железа) | | | | | "Верхнее" подпространство | |
|--------------------------|-----------|---|-----------|--------|--------|------------|---------------------------|--------|
| 89 | 90 | 91 | 92 | 93 | 94 | 95 | 96 | 97 |
| $5a_{2u}$ | $1a_{1u}$ | $15a_{1g}$ | $9b_{1g}$ | $4e_g$ | $4e_g$ | $10b_{2g}$ | $5e_g$ | $5e_g$ |
| Кольцо | | $3z^2-r^2$ | x^2-y^2 | yz | xz | xy | Кольцо | |

* Максимальная кратность возбуждений между подпространствами равна 2.

Т а б л и ц а 2_П1

Характеристики некоторых нижних электронных состояний в оптимальной геометрии в методе RASSCF

| Терм | Полная энергия, ат. ед. | Относительная энергия, эВ | Длина связи Fe—N, Å |
|------------|-------------------------|---------------------------|---------------------|
| $^5A_{1g}$ | -2244,254989 | 0 | 2,076 |
| $^3A_{2g}$ | -2244,210522 | 1,210 | 2,033 |
| $^1A_{1g}$ | -2244,162560 | 2,515 | 2,035 |
| $^1B_{2g}$ | -2244,156721 | 2,674 | 2,035 |

Т а б л и ц а 3_П1

Заряды на атомах по Малликену в оптимальной геометрии (D_{4h}) некоторых состояний в методе RASSCF

| Атом* | Базисный набор | $^5A_{1g}$ | $^3A_{2g}$ | $^1A_{1g}$ | $^1B_{2g}$ |
|---------|----------------|------------|------------|------------|------------|
| Fe1 | 6-31G*(s,p,d) | 1,692 | 1,669 | 1,655 | 1,663 |
| N2—N5 | 6-31G(d) | -1,296 | -1,290 | -1,270 | -1,287 |
| C6—C13 | 6-31G | 0,545 | 0,542 | 0,536 | 0,542 |
| C14—C21 | 6-31G | -0,150 | -0,147 | -0,149 | -0,147 |
| H22—H29 | STO-6G | 0,088 | 0,088 | 0,088 | 0,088 |
| C30—C33 | 6-31G | -0,179 | -0,178 | -0,179 | -0,178 |
| H34—H37 | STO-6G | 0,085 | 0,085 | 0,085 | 0,085 |

* Нумерация атомов согласно рис. 1 в основном тексте.

новая функция состояния $^5A_{1g}$ качественно правильно описывается методом Хартри—Фока, причем дважды занятой оказывается орбиталь ($3z^2 - r^2$) в 3d-оболочке атома железа (см. табл. 1 в Приложении 1).

Энергии нижних возбужденных состояний в геометрии основного $^5A_{1g}$ приведены в табл. 2, они вычислены методом RASCI с тем же выбором активного пространства (см. табл. 1 в Приложении 1). Молекулярные орбитали в методе RASCI были получены методом RASSCF с оптимизацией по группе из восьми нижних состояний. По этой причине полная энергия термина $^5A_{1g}$ в табл. 2 отличается от полной энергии в табл. 2 Приложения 1.

Первым возбужденным состоянием молекулы ферропорфирина является 5E_g с энергией возбуждения около 0,18 эВ. Энергия возбуждения в нижнее триплетное состояние $^3A_{2g}$ составляет около 1,31 эВ, в нижнее синглетное $^1A_{1g}$ — около 2,64 эВ. Эти два состояния также качественно правильно описываются хартри-фоковскими конфигурациями, что хорошо видно из преобладающих конфигураций. Среди рассмотренных восьми возбужденных состояний в пределах энергий возбуждений до 2,64 эВ не отмечено значительных вкладов в волновую функцию от возбуждений порфиринового кольца, все возбуждения главным образом обусловлены различными спиновыми состояниями 3d-оболочки атома железа.

Характеристики нижних триплетного $^3A_{2g}$ и синглетного $^1A_{1g}$ состояний в оптимальной геометрии приведены в Приложении 1, табл. 2. Оптимизация геометрии лишь немного понижает их энергии относительно основного состояния: 1,21 эВ для триплетного и 2,52 эВ для синглетного. Для состояния $^1A_{1g}$ получено решение с нарушенной симметрией: симметрия понижается до C_s . Энергия того же решения с ограничениями симметрии по группе D_{4h} оказывается

Т а б л и ц а 2

Нижние электронные состояния молекулы ферропорфирина
в оптимальной геометрии основного состояния $^5A_{1g}$ (метод RASCI)

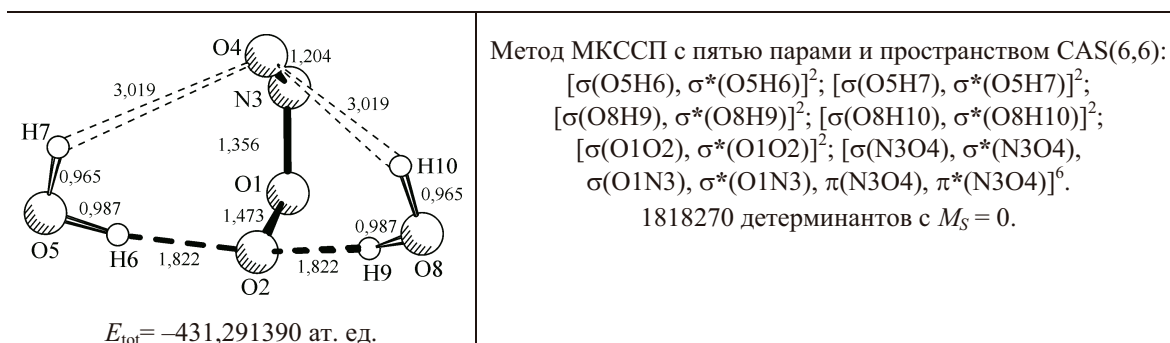
| № | Терм | Полная энергия, ат. ед. | Относительная энергия, эВ | Преобладающие конфигурации в 3d-оболочке |
|---|------------|-------------------------|---------------------------|--|
| 0 | $^5A_{1g}$ | -2244,251999 | 0 | $(15a_{1g})^2(9b_{1g})^1(4e_g)^2(10b_{2g})^1$ $C^2 = 0,94$ |
| 1 | 5E_g | -2244,245381 | 0,180 | $(15a_{1g})^1(9b_{1g})^1(4e_g)^3(10b_{2g})^1$ $C^2 = 0,94$ |
| 2 | $^5B_{1g}$ | -2244,236585 | 0,419 | $(15a_{1g})^1(9b_{1g})^2(4e_g)^2(10b_{2g})^1$ $C^2 = 0,94$ |
| 3 | $^3A_{2g}$ | -2244,203736 | 1,313 | $(15a_{1g})^2(9b_{1g})^2(4e_g)^2(10b_{2g})^0$ $C^2 = 0,89$ |
| 4 | 3E_g | -2244,202493 | 1,347 | $(15a_{1g})^1(9b_{1g})^2(4e_g)^3(10b_{2g})^0$ $C^2 = 0,79$ $(15a_{1g})^2(9b_{1g})^1(4e_g)^3(10b_{2g})^0$ $C^2 = 0,11$ |
| 5 | $^3B_{1g}$ | -2244,184790 | 1,829 | $(15a_{1g})^1(9b_{1g})^1(4e_g)^4(10b_{2g})^0$ $C^2 = 0,78$ $(15a_{1g})^1(9b_{1g})^2(4e_g)^2(10b_{2g})^1$ $C^2 = 0,13$ |
| 6 | $^5B_{2g}$ | -2244,166340 | 2,331 | $(15a_{1g})^1(9b_{1g})^1(4e_g)^2(10b_{2g})^2$ $C^2 = 0,94$ |
| 7 | 3E_g | -2244,163050 | 2,420 | $(15a_{1g})^2(9b_{1g})^1(4e_g)^3(10b_{2g})^0$ $C^2 = 0,42$ $(15a_{1g})^1(9b_{1g})^1(4e_g)^3(10b_{2g})^1$ $C^2 = 0,30$ $(15a_{1g})^2(9b_{1g})^2(4e_g)^1(10b_{2g})^1$ $C^2 = 0,13$ |
| 8 | $^1A_{1g}$ | -2244,155102 | 2,637 | $(15a_{1g})^0(9b_{1g})^2(4e_g)^4(10b_{2g})^0$ $C^2 = 0,79$ $(15a_{1g})^2(9b_{1g})^2(4e_g)^2(10b_{2g})^0$ $C^2 = 0,10$ $(15a_{1g})^2(9b_{1g})^0(4e_g)^4(10b_{2g})^0$ $C^2 = 0,02$ |

всего на 7×10^{-6} ат. ед. выше приведенной в табл. 2 Приложения 1. Терм $^1A_{1g}$ является невырожденным, крайне малая величина понижения энергии при снятии ограничений на симметрию находится в пределах погрешности метода и может рассматриваться как артефакт. При этом длины связей отличаются лишь в четвертом знаке после запятой, приведена усредненная длина связи Fe—N. Терм $^1B_{2g}$ не описывается одним детерминантом, его энергия в оптимальной геометрии на 0,16 эВ выше энергии $^1A_{1g}$. Заряды на атомах в оптимальных геометриях рассматриваемых состояний приведены в табл. 3 Приложения 1. В случае состояния $^1A_{1g}$ заметны небольшие отличия в зарядах эквивалентных атомов из-за нарушения симметрии, они не отражены в приведенных численных значениях.

Из приведенных данных можно заключить, что основное состояние плоского FeP является квинтетным. Имидазол не изменяет спина системы, однако может иметь место смещение катиона железа относительно плоскости кольца. Оптимизация геометрии ниже выполнена для всей системы, поэтому здесь влияние имидазола на положение атома железа отдельно не рассматривается. Типичное координационное число атома железа равно шести, происходит образование еще двух координационных связей. Пятая связь образуется с атомом азота в имидазоле, шестая связь осуществляется с молекулой кислорода и сопровождается переносом электрона из 3d-оболочки атома железа на фрагмент O₂. При присоединении радикала (ONOO) к ферропорфиру FeP, спин которого принят равным $S = 2$, полный спин всей структуры составит $S = 5/2$ или $S = 3/2$. В соответствии с правилом Гунда, ниже принимается, что спин $S = 5/2$. В случае димерной структуры пероксинитрита спин положен равным $S = 7/2$.

Переходим к описанию структуры комплекса $[O_2+NO]^- + 2(H_2O)$ первоначально в газовой фазе. Она показана в табл. 3, численные данные — в приближении метода МКССП [4], расчеты выполнены в базе локализованных орбиталей с включением в активное пространство связывающих и разрыхляющих орбиталей, как это пояснено в правой части табл. 3. Видно, что пероксинитритная структура может оказаться как бы захваченной в клещи двумя молекулами воды.

Переходим к описанию всей молекулярной структуры, первоначально в случае образования пероксинитритной структуры, затем — в случае нитратного аниона. Использованная вол-

Структура комплекса $[\text{O}_2+\text{NO}]^-+2(\text{H}_2\text{O})$ в методе МКССП

новая функция МКССП близка к представленной в табл. 3, техника изображения МО описана в [16].

Расчет системы был первоначально выполнен методом UHF для полного спина $S = 2,5$ с максимально возможной проекцией полного спина $M_S = 2,5$, что предполагает задание полного числа электронов со спином "вверх" (α) и спином "вниз" (β). Были построены натуральные орбитали метода UHF, девять из которых имеют близкие к единице заселенности, их просмотр удобно осуществить по программе MacMolPlt [16] или Chemcraft. Они оказались лишь частично локализованными на $3d$ -функциях атома железа.

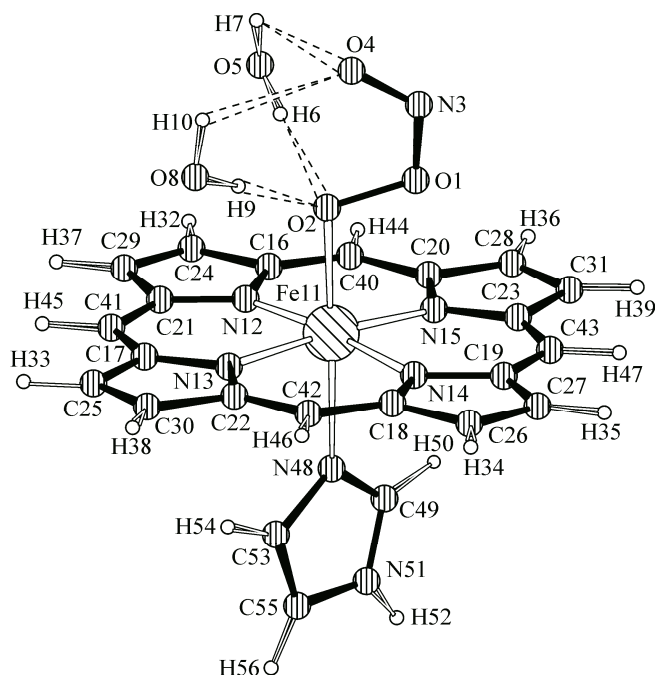
Далее был использован стандартный метод CASSCF. В качестве стартовых активных орбиталей были заданы девять натуральных орбиталей метода UHF, затем был выполнен расчет волновой функции системы для полного спина $S = 2,5$ с использованием оптимизатора SOSCF. Полученные после 100 итераций натуральные орбитали метода CASSCF были просмотрены: 7 из них имели близкие к единице заселенности и также были лишь частично локализованы в $3d$ -оболочке атома железа.

Эти 7 натуральных орбиталей были в дальнейшем оптимизированы (оптимизатор SOSCF) в рамках метода МКССП с включением одной конфигурации, отвечающей полному спину $S = 3,5$. Среди полученных семи активных орбиталей две имели форму похожую на π -орбитали фрагмента NO в пероксинитрите, они описывают возбуждение типа $\pi \rightarrow \pi^*$ для π -связи N3—O4. Эти две орбитали были выведены из активного пространства (одна как остовная, а другая как виртуальная), а оставшиеся пять орбиталей, наиболее похожие на $3d$ -функции железа, были снова оптимизированы методом МКССП с одной конфигурацией с $S = 2,5$ при помощи оптимизатора SOSCF. Полученные активные однократно занятые орбитали оптимально напоминают локализованные, найденные выше для FeP $3d$ -функции атома железа. Это решение соответствует по энергии решению метода ROHF для $S = 2,5$.

Подчеркнем, что расчет в варианте ROHF позволяет построить локализованные занятые орбитали по методу Бойса (LOCAL = BOYS) и модифицированные виртуальные орбитали (алгоритм MVOQ = -1), которые напоминают разрыхляющие МО для валентных связей в молекуле. Виртуальные МО получаются при этом путем диагонализации оператора Фока положительного иона внутри виртуального пространства так, что каждая занятая орбиталь заселена только одним электроном. Локализованные и модифицированные виртуальные МО были снова просмотрены с помощью упоминавшихся программ визуализации и из них были отобраны те, которые больше всего напоминали необходимые связывающие и разрыхляющие МО для связей в пероксинитрите, однократно занятые $3d$ -орбитали железа взяты без изменения.

Полученные таким образом локализованные МО были использованы в качестве стартовых для расчета МКССП с оптимизацией геометрии всей структуры. В волновой функции метода МКССП заданы два подпространства полного взаимодействия (CAS): в первое включены $3d$ -орбитали атома железа, во второе — четыре пары молекулярных орбиталей (связывающая—разрыхляющая), описывающие химические связи в пероксинитрите, плюс орбиталь одной

Рис. 2. Оптимальная геометрия комплекса [(H₂O)₂OO—NO]+Fe-порфирин+имидазол



неподеленной электронной пары на фрагменте O₂. Формы некоторых молекулярных орбиталей приведены в Приложении 2. Многоконфигурационную задачу решали с использованием детерминантного алгоритма ORMAS [12, 17], для которого заданы следующие ограничения на заселенности в подпространствах:

- подпространство 1 [3*d*] 6(max)—5(min) электронов;
- подпространство 2 [φ(O1), σ(N3O4), σ(O1N3), σ(O1O2), π(N3O4), π*(N3O4), σ*(O1O2), σ*(O1N3), σ*(N3O4)] 10(max)—9(min) электронов.

Такие ограничения обеспечивают возможность переноса электрона из 3*d*-оболочки атома железа на пероксинитрит. Построенная волновая функция принадлежит терму ⁶A с числом S = 2,5. Оптимальная геометрия комплекса [(H₂O)₂OO—NO]+Fe-порфирин+имидазол, содержащая анион [O₂+NO][−] со структурой пероксинитрита, показана на рис. 2.

В использованном базисном наборе (488 базисных гауссовых функций) полная энергия терма ⁶A составляет −2900,030203 ат.ед., оптимизация геометрии выполнена с точностью по максимальному градиенту до 10^{−4} ат.ед. В полученной гекстетной волновой функции преобладает хартри-фоковская конфигурация с весом C² = 0,80, в которой однократно занятыми оказываются орбитали 3*d*-оболочки атома железа. В конфигурациях, отвечающих заселению разрыхляющих орбиталей на пероксинитрите, неспаренные электроны продолжают оставаться внутри 3*d*-оболочки атома железа.

Конфигурация, соответствующая обратному переносу заряда с пероксинитрита в 3*d*-оболочку атома железа, входит с незначительным весом C² = 0,003, дважды занятая 3*d*-орбиталь показана на рис. 1 Приложения 2. Под состоянием железа Fe(III) понимается состояние, описываемое такого рода волновой функцией, что согласуется с зарядом +2,84 по Малликену на атоме железа, в табл. 4 приведены заряды всех атомов вместе с атомными базисами. Отметим достаточно значительные отрицательные заряды на атомах азота N12, N13, N14 и N15, такое перераспределение заряда способствует стабилизации атома железа в составе порфиринового кольца.

Сопоставим некоторые характеристики пероксинитритного фрагмента в зависимости от окружения: в газовой фазе, при гидратации двумя молекулами воды и в составе активного центра гемоглобина. Эти данные приведены в табл. 5. Обращают на себя внимание достаточно близкие значения длин связей в пероксинитритном фрагменте, длина пероксидной связи O1—O2 становится заметно длиннее при гидратации пероксинитрита, а расстояние *r*(O1N3)

Приложение 2

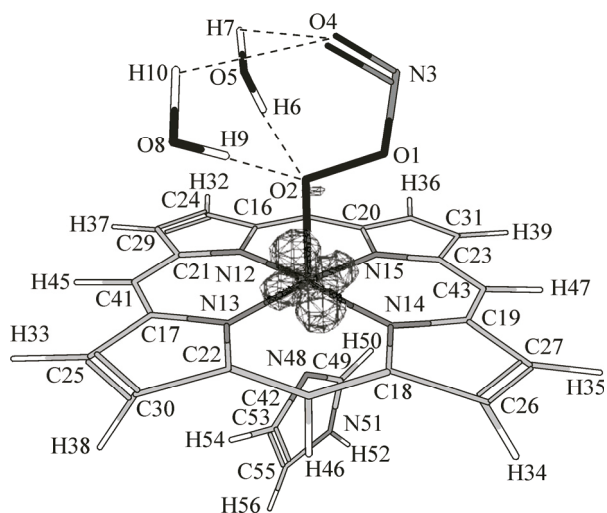


Рис. 1_П2. Молекулярная орбиталь, $3d$ -оболочка атома Fe

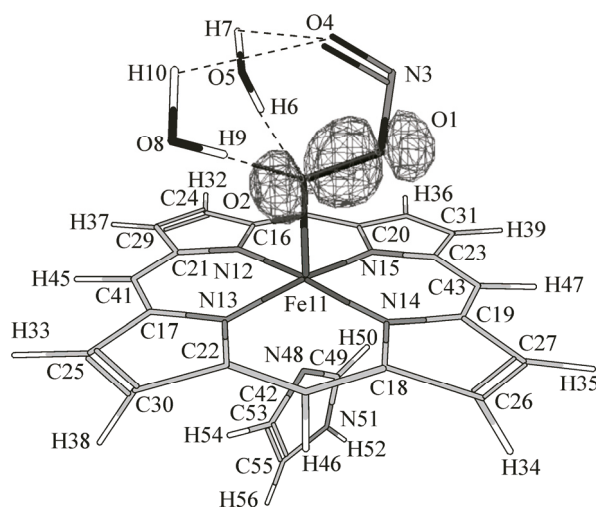


Рис. 2_П2. Молекулярная орбиталь, связывающая $\sigma(O1O2)$

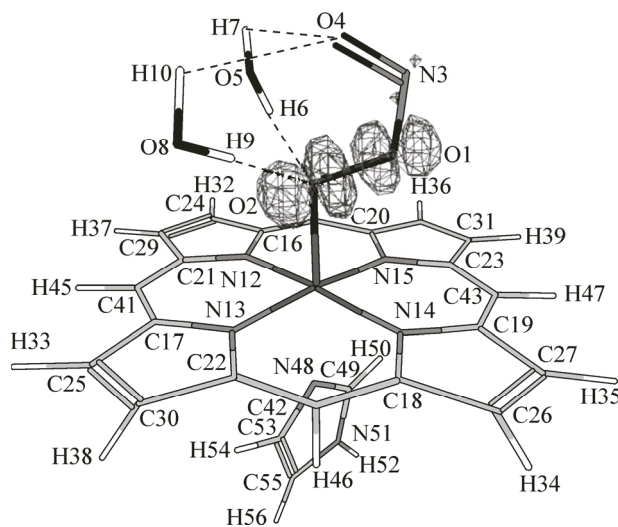


Рис. 3_П2. Молекулярная орбиталь, разрыхляющая $\sigma^*(O1O2)$

заметно уменьшается при координации с активным центром гемоглобина. Эти изменения с химической точки зрения естественно интерпретировать как ослабление пероксидной связи $O1—O2$ и стабилизацию фрагмента NO_2 . Последнее косвенно должно указывать на уменьшение энергии активации реакции перегруппировки пероксинитритного фрагмента в нитратный анион, при которой обособляется фрагмент NO_2 в точке переходного состояния. Согласно [4], энергия активации этой реакции в газовой фазе составляет около 36,2 ккал/моль.

Заряды на атомах в пероксинитритном фрагменте еще существеннее зависят от окружения. В наименьшей степени меняется заряд на отрицательно заряженном атоме кислорода $O2$, который участвует в водородных связях с молекулами воды и координируется с атомом железа. Заряды на атомах кислорода $O1$ и $O4$ в составе комплекса (см. рис. 2) становятся наиболее близкими по значению, а заряд на атоме азота $N3$ становится наиболее положительным. Это тоже косвенно указывает на "обособление" фрагмента NO_2 , что необходимо для облегчения протекания реакции перегруппировки $[O_2—NO]^- \rightarrow NO_3$ на активном центре гемоглобина в присутствии двух молекул воды.

Т а б л и ц а 4

Заряды на атомах по Малликену и использованные базисные наборы

| Атом | Заряд | Атомный базис | Атом | Заряд | Атомный базис | Атом | Заряд | Атомный базис |
|------|--------|---------------|------|--------|---------------|------|--------|---------------|
| O1 | -0,356 | aug-cc-pVDZ | C20 | 0,390 | 6-31G | H39 | 0,087 | STO-6G |
| O2 | -0,758 | aug-cc-pVDZ | C21 | 0,473 | 6-31G | C40 | -0,108 | 6-31G |
| N3 | 0,725 | aug-cc-pVDZ | C22 | 0,464 | 6-31G | C41 | -0,195 | 6-31G |
| O4 | -0,579 | aug-cc-pVDZ | C23 | 0,378 | 6-31G | C42 | -0,189 | 6-31G |
| O5 | -0,763 | 6-31G++(d,p) | C24 | -0,073 | 6-31G | C43 | -0,107 | 6-31G |
| H6 | 0,430 | 6-31G++(d,p) | C25 | -0,099 | 6-31G | H44 | 0,087 | STO-6G |
| H7 | 0,357 | 6-31G++(d,p) | C26 | -0,157 | 6-31G | H45 | 0,087 | STO-6G |
| O8 | -0,754 | 6-31G++(d,p) | C27 | -0,096 | 6-31G | H46 | 0,087 | STO-6G |
| H9 | 0,416 | 6-31G++(d,p) | C28 | -0,158 | 6-31G | H47 | 0,086 | STO-6G |
| H10 | 0,360 | 6-31G++(d,p) | C29 | -0,147 | 6-31G | N48 | -0,820 | 6-31G |
| Fe11 | 2,840 | 6-31G*(s,p,d) | C30 | -0,091 | 6-31G | C49 | 0,570 | 6-31G |
| N12 | -1,191 | 6-31G | C31 | -0,151 | 6-31G | H50 | 0,115 | STO-6G |
| N13 | -1,248 | 6-31G | H32 | 0,090 | STO-6G | N51 | -0,676 | 6-31G |
| N14 | -1,180 | 6-31G | H33 | 0,091 | STO-6G | H52 | 0,208 | STO-6G |
| N15 | -1,184 | 6-31G | H34 | 0,090 | STO-6G | C53 | 0,192 | 6-31G |
| C16 | 0,402 | 6-31G | H35 | 0,089 | STO-6G | H54 | 0,104 | STO-6G |
| C17 | 0,470 | 6-31G | H36 | 0,088 | STO-6G | C55 | 0,164 | 6-31G |
| C18 | 0,465 | 6-31G | H37 | 0,090 | STO-6G | H56 | 0,101 | STO-6G |
| C19 | 0,392 | 6-31G | H38 | 0,091 | STO-6G | | | |

Т а б л и ц а 5

Некоторые характеристики пероксинитрита в зависимости от окружения

| Соединение | Длина связи, Å | | | Заряд на атоме | | | |
|--|----------------|---------|---------|----------------|--------|--------|--------|
| | r(O1O2) | r(O1N3) | r(N3O4) | q(O1) | q(O2) | q(N3) | q(O4) |
| [O ₂ +NO] ⁻ | 1,426 | 1,361 | 1,216 | 0,048 | -0,735 | 0,183 | -0,496 |
| [O ₂ +NO] ⁻ +2(H ₂ O) | 1,473 | 1,356 | 1,204 | -0,063 | -0,804 | -0,063 | -0,103 |
| [(H ₂ O) ₂ OO—NO]+Fe-порфирин+имидазол | 1,469 | 1,339 | 1,212 | -0,356 | -0,758 | 0,725 | -0,579 |

Т а б л и ц а 6

Некоторые характеристики нитратного аниона в зависимости от окружения

| Соединение | Длина связи, Å | | | Заряд на атоме | | | |
|---|----------------|---------|---------|----------------|--------|--------|--------|
| | r(N3O1) | r(N3O2) | r(N3O4) | q(N3) | q(O1) | q(O2) | q(O4) |
| [NO ₃] ⁻ | 1,260 | 1,260 | 1,260 | 0,968 | -0,656 | -0,656 | -0,656 |
| [(H ₂ O) ₂ NO ₃]+Fe-порфирин+имидазол | 1,225 | 1,334 | 1,232 | 1,556 | -0,691 | -1,053 | -0,787 |

Переходим к описанию изомерной структуры, в состав которой входит не пероксинитрит, а нитратный анион [NO₃]⁻ с геометрией правильного треугольника (*D*_{3h}) в газовой фазе. Оптимальная геометрия нитратного комплекса изображена на рис. 3, а заряды на атомах и геометрические параметры нитратного аниона в газовой фазе и в составе гемма сопоставлены в табл. 6.

Заметно удлинение химической связи N3—O2 по сравнению с двумя другими (N3—O1 и N3—O4), так как атом кислорода O2 участвует в образовании координационной связи с атомом железа. Атом кислорода O2 также оказывается наиболее отрицательно заряженным по сравнению с двумя другими, а положительный заряд на центральном атоме азота N3 становится

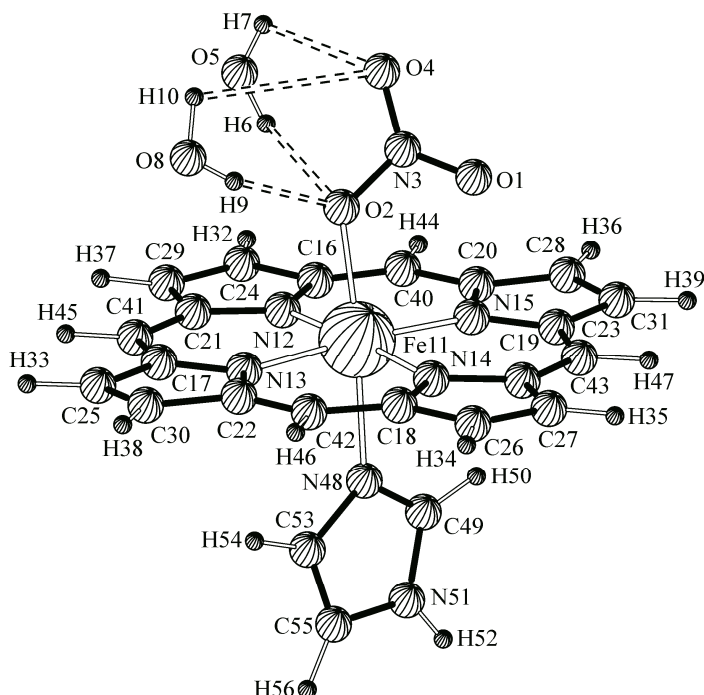


Рис. 3. Оптимальная геометрия комплекса $[(\text{H}_2\text{O})_2\text{NO}_3]^+\text{Fe}$ -порфирин+имидазол

заметно больше по сравнению с изолированным нитратным анионом $[\text{NO}_3]^-$. Таким образом можно утверждать, что образование координационной связи одним из атомов кислорода в нитратном анионе приводит к дополнительной поляризации химической связи этого атома кислорода с центральным атомом азота N3.

На поверхности потенциальной энергии (PES), отвечающей полному спину $S = 3,5$, можно отметить локальный минимум на расстоянии $r(\text{O1N3}) \approx 3,5 \text{ \AA}$, который можно сопоставить с локальным минимумом в "димерной" структуре пероксинитрита в газовой фазе на триплетной PES [4]. Структура димерного комплекса представлена на рис. 4.

В дополнение к неспаренным электронам в $3d$ -оболочке железа этот комплекс имеет неспаренные электроны на радикальных центрах NO и фрагмента O_2^- , на что указывают две натуральные орбитали с заселенностями, близкими к 1, и локализованные на этих фрагментах. Этот комплекс, по всей видимости, характеризуется крайне слабой энергией связи NO с фрагментом O_2^- , на что указывает достаточно большое расстояние $r(\text{O1N3}) \approx 3,5 \text{ \AA}$, которое заметно больше 3 \AA с двумя молекулами воды (энергия связи около 2 ккал/моль) и $2,9 \text{ \AA}$ в газовой фазе (энергия

связи около $3,7 \text{ ккал/моль}$). Обращает на себя внимание крайне большой положительный заряд на атоме железа в димерном комплексе $+2,9$.

Также интересно сопоставить энергетические эффекты реакций перегруппировки пероксинитрита в димер и в нитратный анион, отсчитываемые от энергии пероксинитрита в зависимости от окружения. Эти данные приведены в табл. 7. Как видно, энергетический эффект перегруппировки в димер почти не зависит от окружения и остается положительным. Энергетический эффект перегруппировки в нитратный анион отрицателен и становится на $\sim 20 \text{ ккал/моль}$ по модулю меньше на активном центре гемоглобина.

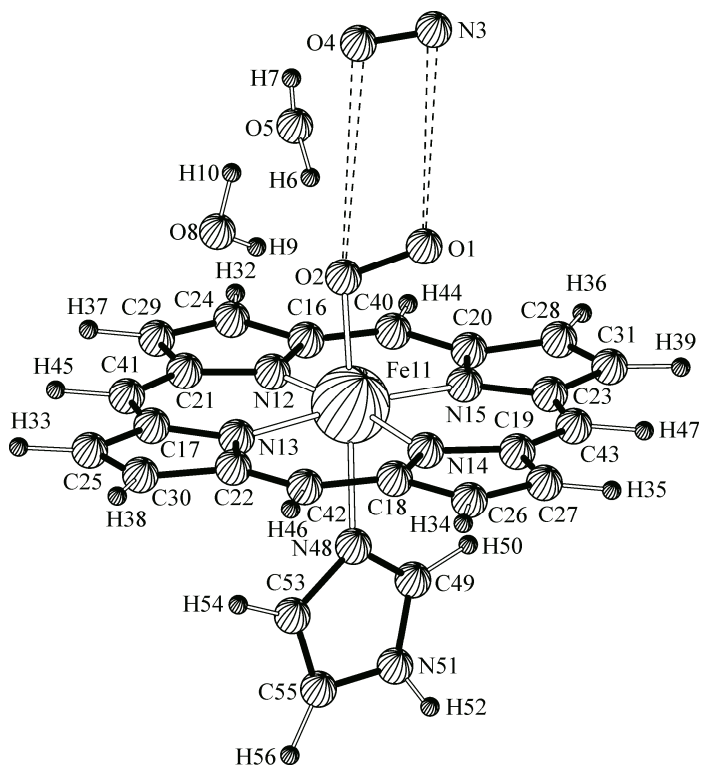


Рис. 4. Оптимальная геометрия комплекса $[(\text{H}_2\text{O})_2\text{O}_2 \cdots \text{NO}]^+\text{Fe}$ -порфирин+имидазол

Т а б л и ц а 7

Энергетические эффекты (ккал/моль) химических реакций пероксинитрита

| Реакция | Газовая фаза | С двумя H ₂ O | На активном центре гемоглобина с двумя H ₂ O |
|---|--------------|--------------------------|---|
| [O ₂ —NO] ⁻ → O ₂ ⁻ ·NO | +14,5 | +16,8 | +16,8 |
| [O ₂ —NO] ⁻ → NO ₃ ⁻ | -51,0 | — | -30,1 |

Образование NO₃⁻ в структуре гемма принято рассматривать в качестве конечного продукта реакции (3) в латентном состоянии *M. tuberculosis*. Фактически реакция (3) протекает в полости, содержащей помимо описанной структуры фрагменты аминокислот. В пользу такого понимания процесса (3) свидетельствует воздействие лекарственных препаратов; последние, по-видимому, несколько изменяют структуру полости, что нарушает "нормальный" ход защитной реакции (3), уменьшается вероятность образования NO₃⁻.

Подведем некоторые итоги выполненного расчета. Описано электронное строение активного центра гемоглобина trHbN с включением в состав этого соединения трех изомерных структур, NO₃⁻, (ONOO)⁻ и (ON··OO)⁻. Отмечена тенденция к уменьшению активационных барьеров в превращении (ONOO)⁻ → NO₃⁻ в области гемма по сравнению с газовой фазой. Возникает предположение, что и реакция (4) при надлежащем воздействии со стороны полости в случае *M. tuberculosis* является возможной.

Если допустить, как и в случае NO₃⁻, дальнейшее удаление (ONOO)⁻ из активного центра гемма, то процесс (4) будет существенным. Колебательный спектр в области низких частот также информативен, частота колебаний в димерной форме пероксинитрита (70—30) см⁻¹ является в этом отношении примечательной. Полный расчет колебательного спектра является отдельной задачей.

Авторы благодарят О. Рогачеву за дискуссию относительно различных вариантов расчета ферропорфирина.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tsai H., Hamilton T.P., Tsai J.M., van der Woerd M., Harrison J.G., Jablonsky M.J., Beckman J.S., Koppenol W.J. // J. Phys. Chem. – 1996. – **100**. – P. 15087 – 15095.
2. Harkless J.A.W., Rodriguez J.H., Lester Jr.W.A. // J. Chem. Phys. – 2003. – **118**. – P. 4887 – 4992.
3. Lebrero M.C.G., Perissinotti L.L., Estrin D.A. // J. Phys. Chem. A. – 2005. – **109**. – P. 9598 – 9604.
4. Симон К.В., Тулуб А.В. // Оптика и спектроскопия. – 2009. – **107**. – С. 46 – 53.
5. Marti M.A., Bidon-Chanal A., Crespo A. et al. // J. Am. Chem. Soc. – 2008. – **130**. – P. 1688 – 1693.
6. Bidon-Chanal A., Marti M.A., Estrin D.A., Luque F.J. In the book: Self-Organization of Molecular Systems. NATO Science for Peace and Security. Series A / Ed. N. Russo, V.Ya. Antonchenko, E. Kryachko. – Springer Verlag, 2009.
7. Formey D., Thompson W.E., Jacox M.E. // J. Chem. Phys. – 1993. – **99**. – P. 7393 – 7403.
8. Stanton J. // J. Chem. Phys. – 2007. – **126**. – P. 134309 – 134314.
9. Poli R., Harvey J.N. // Chem. Soc. Rev. – 2003. – **32**. – P. 1 – 8.
10. Pau M.Y.M., Lipscomb J.D., Solomon E.I. // PNAS. – 2007. – **104**. – P. 18355 – 18362.
11. Schmidt M.W., Baldrige K.K., Boatz J.A., Elbert S.T., Gordon M.S., Jensen J.H., Koseki S., Matsunaga N., Nguyen K.A., Su S.J., Windus T.L., Dupuis M., Montgomery J.A. // J. Comput. Chem. – 1993. – **14**. – P. 1347.
12. Panin A.I., Simon K.V. // Intern. J. Quant. Chem. – 1996. – **59**. – P. 471 – 475.
13. Nakano H. // J. Chem. Phys. – 1993. – **99**. – P. 7983 – 7992.
14. Piecuch P., Wloch M. // J. Chem. Phys. – 2005. – **99**. – P. 224105-1 – 224105-10.
15. Wloch M., Gour J.R., Piecuch P. // J. Phys. Chem. A. – 2007. – **111**. – P. 11359 – 11382.
16. Bode B.M., Gordon M.S. // J. Mol. Graph. Model. – 1998. – **16**. – P. 133 – 138.
17. Ivancic J. // J. Chem. Phys. – 2003. – **119**. – P. 9364 – 9376.