Спиновые переходы в геме и кинетика связывания CO и O_2 миоглобином

А.Л. Чугреев
ГНЦ РФ Научно-исследовательский Физико-химический Институт им. Л.Я. Карпова
факс: +7-(095)-975-2450

Аннотация

Представлены результаты расчетов спина и симметрии основного и низших возбужденных состояний миоглобина моделируемого железо (II) порфирином с аксиальным имидазольным лигандом при различных молекулярных геометриях. Показано, что при искажениях структуры гема, сохраняющих неизменным расстояние между атомом железа и атомом азота имидазола N_ε, имеет место спиновый переход из квинтетного состояния (которое является основным состоянием для экспериментальной геометрии гема, где расстояние между атомом железа и центром плоского порфиринового цикла составляет ~ 0.5 Å) в синглетное состояние для расстояний между атомом железа и центром кольца меньших чем 0.4 Å. В окрестности точки перехода состояние промежуточного спина (триплет) имеет энергию сопоставимую с характерной величиной константы спин-орбитального взаимодействия в порфиринатах железа(II). С другой стороны относительно малое удлиннение (на 0.15 Å) связи Fe-N_ε приводит к переходу в триплетное (^3E_g) основное состояние. Обсуждается связь найденной системы электронных состояний гема с особенностями кинетики связывания CO и O_2 миоглобином.

Особенности кинетики связывания малых молекул подобных CO, O_2, или NO миоглобином (Mb) остаются недостаточно хорошо понятыми. Экспериментальные данные по кинетике связывания CO и O_2 при нормальном давлении (см. обзор [1]) демонстрируют неожиданную близость параметров этих реакции (энтальпий активации и предэкспоненциальных множителей). Это сходство особенно трудно объяснить, поскольку эти две молекулы имеют разный спин основного состояния, что должно, согласно [1], приводить к значительным различиям в их реакционной способности по отношению к квинтетному основному состоянию Mb. В работах [1-3] был предложен ряд теоретических объяснений этого неожиданного сходства. Некоторые из этих объяснений связывают наблюдаемое поведение с диффузионным характером лимитирующей стадии. Однако, это противоречит, например, наблюдаемому влиянию давления на кинетику связывания Mb, которое имеет противоположный знак для CO и O_2: увеличение давления увеличивает скорость присоединения CO и уменьшает скорость присоединения O_2 [1], что невозможно при чисто диффузионном характере кинетики.

Заметим, что какова бы ни была кинетика связывания, она в конечном итоге определяется электронными состояниями молекул реагентов и продуктов реакции. Молекулы CO и O_2 имеют, соответственно, синглетное ($^1\Sigma^+$) и триплетное ($^3\Sigma_g$) основное состояние. Оба аддукта с миоглобином (MbCO и MbO_2) имеют синглетное основное состояние, а дезоксимиоглобин (железо(II) порфирин с аксиальным имидазольным лигандом) имеет квинтетное (высокоспиновое, ВС) основное состояние. Согласно хорошо известным правилам сложения спина связывание обеих рассматриваемых малых молекул (CO и O_2) запрещено по спину в основном (ВС) состоянии гема поскольку требует изменения полного спина каждой из систем (Mb + CO и Mb + O_2) в некоторой точке на координате реакции связывания. Однако, детали спин-орбитального взаимодействия в двух системах различны и именно эти различия заставили авторов [1] думать, что кинетика связывания двух рассматриваемых молекул должна сильно отличаться, что противоречит эксперименту. Известно, однако, что в узком интервале энергий вблизи основного состояния имеется множество электронных состояний гема (железо(II) порфирина) [4,5], различающихся своим полным спином и пространственной симметрией, и любое из них может стать основным состоянием в зависимости от тонких различий в геометрии ближайшего лигандного окружения иона железа. Например, четырехкоординационный порфиринат железа(II) имеет триплетное (^3E_g, промежуточный спин, ПС), шестикоординационные порфиринаты железа(II) имеют синглетное (низкоспиновое, НС) основное состояние, а пятикоординационные (такие как в Mb) - квинтетное (ВС) основное состояние. Кроме того, в [6] было сделано предположение, что спиновый переход гема из ВС состояния в некоторое НС состояние, природа которого осталась непроясненной в [6], делает его реакционноспособным по отношению к присоединению молекулы кислорода. (Очевидно, что для того чтобы реакция триплетной молекулы кислорода с железо(II) порфирином стала разрешенной по спину, необходимо чтобы молекула порфирина также была в триплетном состоянии). Более того, в [6] было отмечено, что изменения двух расстояний, а именно, расстояния между плоскостью кольца порфирина и атомом железа и между атомом железа и атомом азота имидазола могут быть важны для связывания малых молекул с гемом.

В настоящей работе мы исследовали зависимость спина и симметрии основного состояния комплекса железо(II) порфирина с имидазолом от деталей геометрии лигандного окружения иона металла. Следуя предположению работы [6] мы рассмотрели часть двумерной плоскости в координатном пространстве, порожденой двумя координатами: расстоянием от атома железа до центра порфиринового кольца перпендикулярно к плоскости последнего: r_{Fe-Ctr} и расстоянием между атомом железа и атомом азота имидазола: r_{Fe-N_ε} и рассчитали основное и несколько низкоэнергетических возбужденных состояний имидазольного комплекса железо (II) порфирина в этой области координатного пространства. Дополнительно нас интересовал вопрос об энергии ПС состояния (триплетов) относительно состояний НС и ВС. Согласно общей теории переходов НС $\rightarrow$ ВС в комплексах железа(II) [7] близость этого состояния обеспечивает эффективную спин-орбитальную связь между ВС и НС состояниями, которая, снимая спиновый запрет, облегчает спиновый переход, во втором порядке теории возмущений.

Описание электронных состояний металлопорфиринов и в частности железопорфиринов является важной задачей для квантовой химии. Их исследовали как *ab-initio* так и полуэмпирическими методами. К сожалению результаты этих исследований не привели к значительному успеху. Даже для простейшего железо(II) порфирина сохраняются сомнения [4,5] относительно спина и симметрии его основного состояния. Кроме того *ab-initio* подходы все равно слишком дороги для того чтобы использовать их для сканирования достаточно больших областей конфигурационного пространства ядер. Для решения этой задачи мы применили метод эффективного кристаллического поля (ЭКП), недавно предложенный в [8] для описания низкоэнергетических состояний комплексов переходных металлов. Этот метод был реализован на программном уровне и широко тестировался (см. [9] и ссылки там) на комплексах переходных металлов первого ряда. В контексте настоящего исследования наиболее важны успешные результаты, показанные методом ЭКП в случае металлопорфиринов [9] и спиновых переходов в комплексе *cis*-[Fe(bipy)$_2$(NCS)$_2$] [10]. В последнем случае оказалось возможным описать изменение полного спина этого квазиоктаэдрического d^6 комплекса из НС в ВС при изменении расстояния Fe-N на $\sim 0.15 \div 0.20$ Å в согласии с экспериментом [11]. Оказалось также возможным описать несколько низкоэнергетических d-d возбуждений для обоих спиновых состояний в приемлемом согласии с экспериментом [12].

Результаты наших расчетов представлены на Рис. 1. Можно видеть, что в прямоугольнике с $r_{Fe-Ctr} = 0.0 \div 0.5$ Å и $r_{Fe-N_\varepsilon} = 2.0 \div 3.0$ Å возможны три типа основных состояний с тремя разными значениями полного спина. В рамках ECF/CNDO подхода [8-10] синглет (НС) $^1A_{1g}$ является основным состоянием комплекса в узкой области вблизи прямой $r_{Fe-N_\varepsilon} = 2.0$ Å только лишь если r_{Fe-Ctr} меньше чем 0.45 Å. В интервале между $r_{Fe-Ctr} = 0.4$ Å и $r_{Fe-Ctr} = 0.45$ Å имеет место спиновый переход в ВС $^5B_{2g}$ состояние. Последнее является основным только в малой части (в правом нижнем углу) рассматриваемой нами области координат. Экспериментальная геометрия Mb попадает именно в эту область и соответственно Mb имеет ВС основное состояние [4,5]. Напротив, даже относительно малое удлиннение Fe-N$_\varepsilon$ связи приводит к спиновому переходу в ПС ^3E_g основное состояние. Это не очень удивительно поскольку расчет [9] методом ECF/CNDO дает именно это основное состояние для четырехкоординационного железо(II) порфирина (без аксиальных лигандов) в согласии с экспериментом [13]. Несколько неожиданным является тот факт, что уже относительно малое удлиннение связи Fe-N$_\varepsilon$ (на $0.1 \div 0.15$ Å) приводит к спиновому переходу в триплетное состояние тогда как деформация, требующаяся для перехода в квинтетное состояние, намного больше.

Можно видеть, что в окрестности точки НС $\rightarrow$ ВС перехода состояние промежуточного спина (триплет) имеет очень низкую энергию. Например, при $r_{Fe-Ctr} = 0.4$ Å (перед переходом, основное состояние $^1A_{1g}$) энергия возбужденного состояния $^5B_{2g}$ составляет 877 cm^{-1}, а энергия возбужденного состояния ^3E_g - 437 cm^{-1}. При расстоянии $r_{Fe-Ctr} = 0.45$ Å (после перехода) состояния $^1A_{1g}$ и $^5B_{2g}$ меняют свое относительное положение (первое становится возбужденным, а последнее основным), однако, энергия промежуточного ^3E_g состояния остается очень близкой к энергиям НС и ВС состояний: она равна 874 cm^{-1}, тогда как энергия синглета составляет 626 cm^{-1}. Еще одно квинтетное состояние имеется в этой же области: состояние ^5E_g с энергией 665 cm^{-1} над ВС основным состоянием. Эти энергии имеют тот же порядок величины, что и константа спин-орбитального взаимодействия ζ в комплексах железа, имеюшая значение около 400 cm^{-1} [7]. По этой причине в окрестности точки перехода основное состояние гема не является состоянием определенного полного спина (каким бы оно не получалось из расчета ЭКП, не учитывающего спин-орбитальное взаимодействие), но содержит значительные вклады от всех состояний со значениями полного спина 0, 1 и 2. Таким образом, спин-орбитальные взаимодействия снимают спиновый запрет, и движение по ППЭ вдоль координаты, состоящей в одновременном смещении атома железа и имидазольного лиганда (при постоянном расстоянии $r_{Fe-N_\varepsilon} = 2.0$ Å), является скорее адиабатическим чем неадиабатическим [1]. Напротив, в областях близких к соответствующим минимумам на ППЭ полный спин основных и возбужденных состояний имеет хорошо определенные значения, поскольку разности энергий между этими состояниями велики по сравнению с константой спин-орбитального взаимодействия ζ. Например, для ВС минимума гема, который предположительно лежит при $r_{Fe-Ctr} = 0.5$ Å; $r_{Fe-N_\varepsilon}= 2.0$ Å [1,4] энергии возбуждения принимают следующие значения: $\Delta E(^5B_{2g} \to {}^5E_g) = 934$ cm^{-1}; $\Delta E(^5B_{2g} \to {}^1A_{1g}) = 2310$ cm^{-1}; и $\Delta E(^5B_{2g} \to {}^3E_g) = 2087$ cm^{-1}. В НС минимуме $r_{Fe-Ctr} = 0.0$ Å; $r_{Fe-N_\varepsilon} = 2.0$ Å соответствующие энергии таковы:$\Delta E(^1A_{1g} \to {}^5E_g) = 2878$ cm^{-1}; $\Delta E(^1A_{1g} \to {}^3B_{2g}) = 5356$ cm^{-1}; и $\Delta E(^1A_{1g} \to {}^5E_g) = 7793$ cm^{-1}.

В заключение рассмотрим выводы, которые можно сделать на основании наших расчетов, относительно загадочного сходства кинетик связывания CO и O_2 миоглобином [1]. На основании различий спинов основного состояния CO (синглет) и O_2 (триплет) авторы [1] ожидали существенных различий в кинетиках их связывания Mb. Поскольку полный спин обоих продуктов совпадает (синглет), то полный спин системы должен изменяться в разной степени при связывании каждой из малых молекул гемуом. Неожиданно параметры суммарных кинетик оказываются очень близкими для обеих молекул [1]. Существующие в литературе объяснения [1-3] этого противоречия основаны на предположении о диффузионном типе кинетики реакций связывания, что противоречит данным о влиянии давления на параметры этих реакций (см. выше). Наше предложение состоит в том, чтобы отказаться от рассмотрения координаты, отвечающей сближению малой молекулы с гемом, а рассмотреть многомерное (в нашем случае - двумерное) конфигурационное прстранство самого гема. Это предложение основано на уже принятой идее [6], что медленные движения белкового скелета, передаваясь на имидазол, могут приводить к изменениям спинового состояния иона железа и тем самым к изменениям его способности связывать молекулу кислорода. Перемещения аксиального лиганда и самого иона железа могут привести молекулу гема в те области координатного пространства, где она имеет синглетное или триплетное основное состояние. Для соответствующих состояний гема связывание CO и O_2 становится разрешенным по спину процессом, а измеряемые энергетические барьеры реакций связывания имеют стерическую природу и могут быть близки для похожих малых молекул. Суммарная кинетика связывания малых молекул определяется в этом случае, в основном, частотой, с которой молекула гема оказывается в областях координатного пространства, где она имеет основное состояние с тем полным спином, для которого реакция связывания соответствующей малой молекулы разрешена и уже не является лимитирующей стадией всего процесса. Поскольку движения белкового скелета медленные, имеется достаточно времени для перехода в любое из доступных спиновых состояний гема. Эти предположения согласуются с имеющимися данными об электронной структуре соответствующих аддуктов. Для MbCO она может быть представлена как $^1[\mathrm{Mb}(t_{2g}^6\ {}^1A_1)\mathrm{CO}({}^1\Sigma^+)]$ [1], тогда как для MbO_2 электронная структура другая: $^1[\mathrm{Mb}(t_{2g}^5 e_g\ {}^3E_g)\mathrm{O}_2({}^3\Sigma_g)]$ [14]. Эти электронные состояния коррелируют именно с теми состояниями Mb, которые мы считали реакционноспособными для соответствующих реакций связывания и которые оказываются, согласно нашим расчетам, основными состояниями в соответствующих областях конфигурационного пространства. Наше предположение о природе связывания малых молекул гемом качественно согласуется и с наблюдаемым влиянием давления на кинетику связывания CO и O_2. Можно ожидать, что увеличение давления осложнит удлиннение связи Fe-N_{ε}, а потому затруднит и доступ системы в область координатного прстранства, где гем имеет триплетное основное состояние, а реакция с O_2 разрешена по спину. В тоже время увеличение давления делает более доступной область синглетного основного состояния гема, где связывание CO разрешено по спину. Это, возможно, объясняет экспериментально наблюдаемое различие эффектов давления в случае связывания CO и O_2, соответственно.

Автор благодарен А.М. Бережковскому и Г.В. Давидовичу, за ценные дискуссии по проблеме кинетики связывания малых молекул миоглобином, А.В. Судакову за помощь в подготовке данных и И.А. Мисуркину за ценные замечания по поводу стиля изложения. Работа выполнена при финансовой поддержке INTAS (грант 94-4089).

Литература.

[1] Frauenfelder H., Wolynes P.G. // Science. 1985. V. 229. P. 337.
[2] Agmon N., Hopfield J.J. // J. Chem. Phys. 1983. V. 79. P. 2048; *ibid.* V. 80 (1984) P. 592.
[3] Jortner J., Ulsturp J. // J. Am. Chem. Soc. 1979. V. 101. P. 3744.
[4] Dedieu A., Rohmer M.-M., Veillard A. // Adv. Quant. Chem. 1982. V. 16. P. 43.
[5] Rawlings D.C., Gouterman M., Davidson E.R., Feller D. // Int. J. Quant. Chem. 1985. V. 28. P. 773.
[6] Perutz M.F. // Nature. 1970. V. 228. P. 734; *ibid.* 1972. V. 237. P. 495.
[7] König E. // Struct. & Bonding. 1991. V. 76. P. 53.
[8] Soudackov A.V., Tchougréeff A.L., Misurkin I.A. // Theor. Chem. Acta. 1992. V. 83. P. 389.
[9] Soudackov A.V., Tchougréeff A.L., Misurkin I.A. // Int. J. Quant. Chem. 1996. V. 58. P. 161.
[10] Soudackov A.V., Tchougréeff A.L., Misurkin I.A., Bolvin H., Kahn O. // Chem. Phys. 1995. V. 193. P. 19.
[11] Gallois B., Real J.-A., Hauw C., Zarembowitch J. // Inorg. Chem. 1990. V. 29. P. 1152.
[12] Gütlich P. // Struct. & Bonding. 1981. V. 44. P. 85.
[13] Kitagawa T., Teraoka J. // Chem. Phys. Lett. 1979. V. 63. P. 443.
[14] Olafson B.D., Goddard W.A. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1977. V. 74. P. 1315.

Научно-Исследовательский
Физико-Химический
Институт им. Л.Я.Карпова

Поступила в редакцию

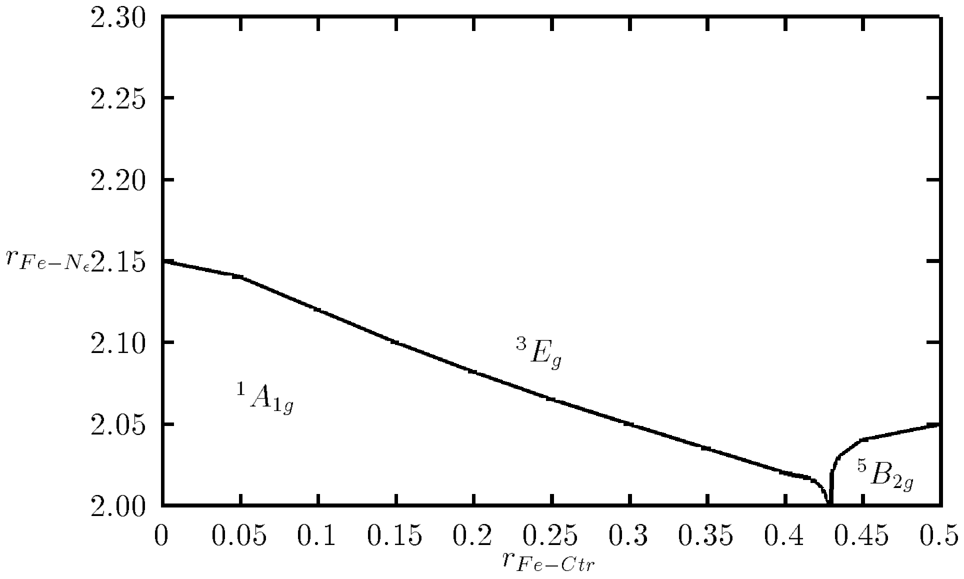

Рис. 1: Карта части координатной плоскости с областями, соответствующими основным состояниям гема разного спина