

**ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОЙ СВЯЗИ В НАНООБЪЕКТАХ.
БЕЛКИ И ЭЛЕМЕНТАРНЫЕ ФОРМЫ УГЛЕРОДА****Т.А. Романова, П.В. Аврамов***

В обзоре рассматривается природа химической связи в нанобъектах на примере белковых структур и элементарных форм углерода. Подчеркиваются особенности формирования химической связи в каждом из представленных классов и взаимосвязь с физико-химическими и функциональными характеристиками нанобъектов. Показано, что несмотря на ряд серьезных отличий между белками и элементарными формами углерода оба класса объектов проявляют специфические для них свойства, связанные с их характерными размерами порядка 1-100 нм.¹

Внимание исследователей в последние годы привлекает новый класс объектов – наноструктуры. В него входят как ранее хорошо известные молекулы – белки и другие биомолекулы наноразмеров, так и вновь открытые углеродные наноструктуры – фуллерены (Ф) и нанотрубки (НТ). Объединяют эти два класса объектов характерные размеры - порядка одного – ста нанометров, которые определяют основные химические и физические свойства, а в случае биологических наноструктур и биологические функции этих макромолекул.

Нанобъекты интересны прежде всего своими супрамолекулярными свойствами: динамикой ионов, атомов и молекул-гостей, а также способностью отдавать и принимать электроны в мягких условиях. С ними, в частности, связаны основные биологические функции белковых тел (электронный и протонный транспорт, подавляющее количество каталитических биохимических реакций). Для углеродных наноструктур супрамолекулярные свойства (динамика кристаллической решетки фуллерита и жгутов одностенных НТ, а также динамика ионов, атомов и молекул-гостей внутри углеродных наноструктур) тоже во многом являются определяющими. Характерно для углеродных наноструктур и то, что они способны выступать как в роли восстановителей, так и в роли слабых окислителей. В свою очередь, подобные свойства определяются электронной структурой объектов, которая имеет как общие черты, так и безусловные и яркие отличия. Все это позволяет рассматривать два, на первый взгляд весьма различных, класса соединений в одном контексте. В данном обзоре мы остановились на детальном сравнении природы химической связи в вышеописанных нанобъектах.

Итак, белки, как известно, представляют собой неразветвляющиеся полимеры, минимальная структурная единица которых – аминокислота (АК). В состав белков входит 20 АК в α -форме (т. е. аминокислоты, содержащие NH_2 – группу у α - углеродного атома), расположенных в различной, но строго определенной для каждого белка последовательности. Пептиды - это полимеры, образованные из остатков α -АК, соединенных между собой пептидной (амидной) связью, когда карбоксильная группа одной АК ацилирует аминогруппу другой АК. Разрыв такой связи происходит лишь при участии катализаторов – специфических ферментов.

Основной особенностью белков с точки зрения химической связи является то, что полипептидные цепи формируются сильно локализованными s-связями, одной из видов которых и является пептидная, она же формирует потолок валентной зоны.

Посредством пептидной связи АК объединяются в достаточно длинные цепочки, которые носят название полипептидных. В случае, если они способны самопроизвольно формировать и удерживать определенную конформацию, их относят к белкам. Стабилизация такой структуры возможна лишь при достижении полипептидами определенной длины, поэтому белками обычно считают полипептиды молекулярной массой более 5000 Да [12]. Важный момент: только имея определенное пространственное строение, белок может выполнять свою специфическую функцию.

Прежде чем говорить об особенностях химической связи и электронной структуры белков, имеет смысл вспомнить ряд их физико-химических свойств.

Физико-химические свойства белков

Растворы белка относятся к растворам высокомолекулярных соединений и обладают рядом свойств гидрофильных коллоидов: медленной диффузией, высокой вязкостью, опалесценцией, дают конус Тиндаля. Амфотерность связана с наличием в молекуле белка катионообразующих – аминогрупп и анионообразующих – карбок-

* © Т.А. Романова, Институт вычислительного моделирования СО РАН, г. Красноярск; Красноярский государственный университет; П.В. Аврамов, Институт физики ми. Л.В. Киренского, г. Красноярск; Красноярский государственный университет, 2003.

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке 6-го конкурса – экспертизы 1999 года научных проектов Российской академии по фундаментальным и прикладным исследованиям (грант №218) и Лаврентьевского конкурса молодежных проектов СО РАН 2002 года (проект № 4).

сильных групп. За счет амфотерности растворы белка обладают буферными свойствами. Знак заряда молекулы зависит от количества свободных групп. Если преобладают карбоксильные, то заряд молекулы отрицательный (проявляются свойства слабой кислоты), если аминогруппы – положительный (основные свойства). Заряд белка также зависит от значений pH среды. Значение pH, при котором число разноименных зарядов в белковой молекуле одинаково, т. е. суммарный заряд равен нулю, называется изоэлектрической точкой данного белка. Устойчивость белковой молекулы к воздействию физических и химических факторов в изоэлектрической точке наименьшая.

Поскольку молекула белка содержит полярные амино- и карбоксильные группы, то в растворе поверхностные остатки аминокислот гидратируются – происходит образование коацервата, т.е. слияние водных оболочек нескольких частиц без объединения самих частиц. При удалении гидратной оболочки происходит коагуляция – склеивание белковых частиц и выпадение их в осадок. Для этого достаточно изменить структуру частицы белка так, чтобы ее гидрофильные группы, которые связывают воду растворителя, оказались внутри частицы. Реакции осаждения белка в растворе делятся на: обратимые (высаливание) и необратимые (денатурация). Денатурацией называют существенное изменение вторичной и третичной структуры белка, т. е. нарушение системы нековалентных взаимодействий, не затрагивающее его первичной структуры, что образована ковалентной пептидной связью. Денатурированный белок лишен всякой биологической активности в клетке и в основном используется как источник аминокислот. Денатурирующими агентами могут быть химические (кислоты, щелочи, легко гидратирующие соли, органические растворители, различные окислители) и физические (действие высокого давления и температуры, многократное замораживание и оттаивание, ультразвуковые волны, УФ-лучи, ионизирующая радиация) факторы [5; 14].

В отличие от твердых тел белки являются типичными нанообъектами. Конечно, и твердые тела проявляют близкие свойства вне зависимости от их размеров (очень часто, но все же не всегда, там имеют место поверхностные явления), тогда как для биохимической активности белковых структур важны достаточно большие, порядка сотен ангстрем, участки. При этом характер их функциональной активности существенным образом лимитирован по энергии, а именно энергии разрыва водородных связей, что будет подробно изложено далее. Во всех других разделах химии и физики таких жестких ограничений нет.

В твердых телах и молекулах, не участвующих в образовании биологических макромолекулярных систем, гораздо шире вариации типов химических связей, особенно это касается энергетики связей. В биологических молекулах такие типы легко пересчитать: σ - связь углерод - углерод, σ - связь углерод - кислород и пр., но их в общей сложности не наберется более двух десятков.

Силы в молекулах и химическая связь

Исследование характера связи на уровне сил, действующих на ядра со стороны различных участков электронного облака молекулы, открывает многообразие деталей и особенностей химической связи в разных видах соединений, о которых ничего не говорит классическая структурная формула. При этом особенности связи во многом определяются особенностями формирования сил. Так, в двухатомных молекулах главную роль в формировании связывающей силы играют ближайшие соседи и электронное облако, распределенное между парами ядер. В циклических и каркасных структурах существенную роль в связывании могут играть участки электронного облака, которые невозможно отнести к определенным парам атомов.

Одним из условий повышения электронной плотности в определенных участках является наличие областей повышенного потенциала, создаваемого ядрами молекул, куда и стремятся электроны. Поведение внутренних оболочек атомов при этом будет мало зависеть от наличия вблизи данного атома других ядер, именно поэтому вариационные методы решения задач о состоянии электронов в молекулах базируются на молекулярной функции, имеющей вид **линейной комбинации атомных орбиталей** (ЛКАО). Но наличие в молекуле только сферически симметричных потенциальных ям вокруг ядер не позволило бы существовать многоатомной системе, поэтому искажение атомных потенциалов за счет действия других ядер и появление новых областей с повышенным положительным потенциалом приводит к перераспределению электронной плотности и увеличению ее в межъядерных промежутках. Т.е. необходимое условие образования химической связи - появление дополнительных областей положительного потенциала (потенциальных ям для электронов). Следовательно, все учение о строении молекулы и принципах образования химической связи держится на трех китах: взаимодействиях электронов и ядер, подчиняющихся закону Кулона, «волновом» характере поведения электронов в пространстве молекулы, что описывает уравнение Шредингера, и принципе Паули.

Распределение валентной электронной плотности в простой двухатомной молекуле (N_2 и пр.) имеет следующую особенность, которая характерна для **ковалентного типа связи**: в пространстве между ядрами сосредоточен симметрично расположенный сгусток электронного облака. Именно межъядерная часть электронного облака дает связывающую силу и компенсирует как силу ядерно-ядерного отталкивания, так и антисвязывающую силу от заядерных областей. Максимум связывающей силы приходится на середину связи.

В двухатомных молекулах с **ионной связью** для распределения валентной электронной плотности характерно значительное ее смещение к одному из атомов, поэтому силы, действующие на ядра в молекуле, формируются в основном за счет этой смещенной части электронного облака. Для ядра атома, к которому смещено облако электронной плотности, оно выступает как связующее, в отношении второго ядра в роли связующей выступает та часть облака, что заключена между ядрами. Заядерная часть облака создает компоненту, действующую как сила ядерного отталкивания [4].

Начать разговор об особенностях химической связи в нанобъектах имеет смысл с детального анализа ее природы в твердом теле. Пожалуй, наиболее пригодными для проведения подобного рода сравнений, особенно в контексте данного обзора, могут быть элементарные формы углерода.

Физико-химические свойства фуллеренов и других углеродных наноструктур

Самым известным типом наноструктур являются новые формы элементарного углерода. Открытие в середине 90-х годов новых аллотропных форм элементарного углерода – фуллеренов [17] и нанотрубок [16] – перевернуло все устоявшиеся представления об этом, казалось бы, давно и хорошо изученном элементе. Как оказалось, элементарный углерод способен образовывать сложные вогнутые поверхности, состоящие из пяти-, шести- и семиугольников. Пятиугольники формируют 30° положительное искривление плоскости шестиугольников (купол), а семиугольники – 30° отрицательное искривление плоскости (внутренняя сторона «бублика»). Самый низший Ф C_{20} – правильный додекаэдр, состоящий из 12 пятиугольников, структура остальных Ф обязательно содержит 12 пятиугольников и какое-то количество шестиугольников (в C_{60} их 20). Поскольку особенностью элементарного углерода является его способность образовывать практически любые сложные объемные структуры, состоящие из многоугольников, то углеродные наноструктуры, из-за своих размеров, фактически служат переходным мостом между отдельными молекулами и кристаллами.

Электрические, оптические и механические свойства Ф в конденсированном состоянии указывают на богатое физическое содержание явлений, происходящих при участии Ф. Кристаллические Ф и пленки из них представляют собой полупроводники с шириной запрещенной зоны 1,2–1,9 эВ и обладают фотопроводимостью при оптическом облучении. Ф в кристаллах характеризуются относительно невысокими энергиями связи, поэтому в них уже при комнатной температуре наблюдаются фазовые переходы, приводящие к ориентационному разупорядочению и размораживанию вращения молекул Ф. Кристаллы C_{60} , легированные атомами щелочных металлов, обладают металлической проводимостью и переходят в сверхпроводящее состояние в диапазоне от 19 до 55 К в зависимости от типа щелочного металла.

Необычными физико-химическими свойствами обладают также растворы Ф в органических растворителях. Так, температурная зависимость растворимости C_{60} в толуоле, гексане имеет немонотонный характер, принимая максимальное значение при $T=280\text{K}$. Растворы Ф характеризуются нелинейными оптическими свойствами, что проявляется, в частности, в резком снижении прозрачности раствора при превышении интенсивности оптического излучения некоторого критического значения.

С открытием Ф многие связывают возможный переворот в органической химии. Молекулы Ф, в которых атомы углерода связаны между собой как одинарными, так и двойными связями, являются трехмерными аналогами ароматических структур. Обладая высокой электроотрицательностью, они выступают в химических реакциях как достаточно сильные окислители. Присоединяя к себе радикалы различной химической природы, Ф способны образовывать широкий класс химических соединений, обладающих различными физико-химическими свойствами.

Присоединение к C_{60} радикалов, содержащих металлы платиновой группы, позволяет получить ферромагнитный материал на основе Ф. Новые химические свойства обнаруживают соединения, структура которых получается в результате замены части атомов углерода на металлы. К таким соединениям, называемым металлокарбонами, относятся, например, Ti_8C_{12} , V_8C_{12} , Hf_8C_{12} , Zr_8C_{12} .

Другими уникальными соединениями Ф являются эндоэдральные комплексы. В этих соединениях, уже синтезируемых в макроколичествах, один или несколько атомов металлов, неметаллов или даже отдельных молекул помещаются внутрь углеродной сферы. В частности, ожидается, что на основе эндоэдральных комплексов в будущем будут созданы высокоэффективные лекарства против рака.

Разнообразие физико-химических и структурных свойств соединений на основе Ф позволяет говорить о химии Ф как о новом перспективном направлении органической химии, развитие которого может привести к непредсказуемым результатам [20].

Зарождение науки об элементарных формах углерода стало триумфом теоретических квантово-химических методов, в рамках которых основные типы углеродных структур были предсказаны и описаны [2,6]. Уже после экспериментального открытия Ф эти данные были во многом подтверждены широким набором спектроскопических и других экспериментальных методов, с помощью которых получают информацию об атомной и электронной структуре вещества.

Объяснение таких уникальных физических и химических свойств Φ кроется в особенностях их электронной и атомной структуры. Если в классических плоских ароматических структурах s - и p -связи геометрически ортогональны, то в Φ и нанотрубках (НТ), за счет ненулевой кривизны поверхностей, – нет. Эта неортогональность и определяет практически все многообразие и отличие их свойств [7].

Природа химической связи в фуллеренах

В бензоле (и в других плоских ароматических структурах) молекулярные уровни делятся на два вида: σ -характера ($p_{||}$), в которых присутствуют смешанные вклады от атомных p_x, p_y и s -орбиталей углерода и водорода, и π -типа, сформированные только p_z орбиталями углерода (p_{\perp}). Анализ парциальных плотностей состояний показывает четкое разделение соответствующих пиков для π -системы, представленной двумя максимумами, и всех остальных уровней (рис. 1а). С увеличением числа атомов в молекуле (антрацен, пирин) количество пиков, соответствующих π -системе, возрастает. При этом расположение энергетических уровней и их природа существенно не меняются (рис. 1б).

В молекуле C_{60} вследствие кривизны ее поверхности происходит перекрывание атомных орбиталей, лежащих в плоскости поверхности молекулы ($p_{||}$), и атомных орбиталей, располагающихся по нормали к молекулярной поверхности (p_{\perp}). В результате в Φ отсутствуют уровни, имеющие четко выраженный σ - или π -характер, свойственный плоским молекулам (Рис. 1с). При этом для систем с различным зарядом на углеродной части комплекса соотношение вкладов p_{\perp} и $p_{||}$ электронов в уровни потолка валентной зоны изменяется [7].

Добавление электронов или образование электронных вакансий на углеродной сфере приводит к существенному изменению относительных вкладов p_{\perp} и $p_{||}$ электронов во всю электронную структуру: любое изменение количества электронов в системе приводит лишь к одному эффекту – к увеличению σ -компоненты, что и определяет изменение всех физических свойств производных Φ .

Немалый интерес в контексте данного обзора представляет и электронная структура производных Φ . Рассмотрим подобное влияние на примере изменений координации лития в экзо- и эндодральных соединениях на электронную структуру этих металлокомплексов.

Присоединение к молекуле Φ атомов лития снимает многократное вырождение электронных уровней, характерное для C_{60} . Это объясняется значительным понижением симметрии получаемых молекул по сравнению с исходной высокосимметричной молекулой C_{60} . Вследствие этого ранее вырожденные энергетические уровни углеродной основы оказываются сгруппированными в пакеты.

Еще одно отличие в электронной структуре металлокомплексов от молекулы C_{60} – это появление заполненного уровня (внедренное состояние), располагающегося в запрещенной щели. Появление внедренного состояния объясняется присутствием на углеродной основе комплекса двух электронов атомов лития.

Верхний заполненный уровень в молекуле C_{60} является пятикратно вырожденным связывающим состоянием (h_u), а нижний вакантный – трехкратно вырожденным антисвязывающим (t_{1u}). В случае синглетных состояний комплексов пара электронов металла находится на одном из трех уровней, ранее принадлежавшем состоянию t_{1u} , которое расщепляется при присоединении атомов лития. Природа внедренного состояния остается неизменной – это антисвязывающая орбиталь [2], что также подтверждается и отличиями пространственной структуры металлокомплексов Φ от C_{60} , а именно увеличением межатомных расстояний в изомерах металлокомплексов.

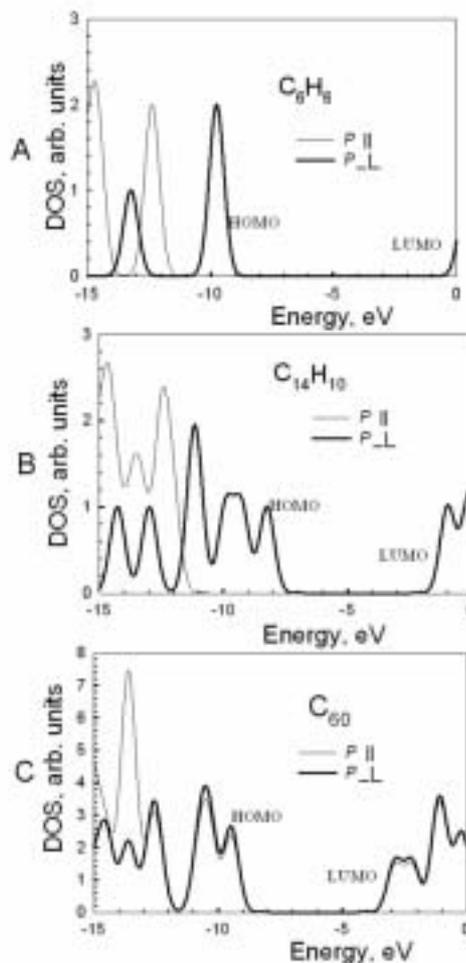


Рис. 1. а) Парциальные электронные плотности состояний для молекулы C_6H_6 ; б) Парциальные электронные плотности состояний для молекулы $C_{14}H_{10}$; в) Парциальные электронные плотности состояний для молекулы C_{60} ; жирными линиями нарисованы вклады π -связей (\perp), а тонкими – σ (\parallel). Видно четкое разделение этих состояний в традиционной ароматике и смешивание – в молекуле фуллерена

Электронная и атомная структура нанотрубок

На сегодняшний день НТ - единственный материал, из которого возможно конструировать различные макромолекулярные структуры, размеры которых достигают сотен нанометров. Открытие НТ вызвало большой интерес у исследователей, занимающихся созданием материалов с необычными физико-химическими свойствами.

НТ должны обладать достаточно большой, в сравнении с теми же Φ , p_{\perp} плотностью в валентной области. Они по своей структуре занимают как бы промежуточное положение между плоским бензолом и графитом и идеально сферическим (симметрия I_h) ΦC_{60} . При большом разбросе по диаметру в НТ, так же как и в Φ , происходит замешивание между $p_z(p_{\perp})$ и $p_x, p_y(p_{\parallel})$ орбиталями в валентной области, но в существенно меньших пропорциях. При этом энергетически выгоднее оказываются структуры с одним набором (N) атомов углерода по периметру, но с меньшим диаметром, в то время как в Φ — обратная ситуация: энергетически выгоднее структуры с большим диаметром.

Сравнение электронной структуры НТ с Φ и бензолом демонстрирует наличие, как и у Φ [7], замешивания между собой p_{\parallel} и p_{\perp} в отличие от плоских ароматических молекул (бензол). Однако уровни на потолке валентной области нанотрубок представлены преимущественно p_{\parallel} составляющей и малой долей p_{\perp} состояний, в то время как в бензоле валентная полоса представлена исключительно $\pi(p_{\perp})$ связыванием, а в C_{60} наблюдается присутствие в замешанном виде p_{\parallel} и p_{\perp} состояний, примерно в равной пропорции.

Поскольку молекула бензола плоская, $\sigma(p_{\parallel})$ и $\pi(p_z$ или $p_{\perp})$ связи разделены и верхние орбитали представлены исключительно $p_z(p_{\perp})$ орбиталями, а молекула ΦC_{60} имеет форму икосаэдра, шестиугольники лежат на гранях фигуры и не деформированы, вследствие кривизны поверхности происходит замешивание между $p_z(p_{\perp})$ и $p_x, p_y(p_{\parallel})$ орбиталями, валентные уровни представляют собой смесь p_{\perp} и p_{\parallel} состояний, то в нанотрубках, структура которых имеет вид цилиндра, исходя из общих предположений, пропорция замешивания p_{\perp} и p_{\parallel} должна лежать между бензолом и Φ . Тем не менее, этого не происходит.

Анализ атомной структуры НТ показывает, что углеродные шестиугольники в них существенно деформированы (торсионные углы шестиугольников могут достигать 22°), что и объясняет малую плотность p_{\perp} на потолке валентной зоны.

σ/π модель химической связи в углеродных нанобъектах

Вследствие кривизны поверхности в углеродных наноструктурах происходит замешивание атомных орбиталей, направленных тангенциально (p_{\parallel} - связывание) и по нормали к поверхности (p_{\perp} - связывание). Соотношение вкладов этих волновых функций определяет природу химической связи в объектах. Из-за особенностей геометрии в подавляющем большинстве углеродных наноструктур шестиугольники, формирующие поверхность, искажены. Данные пространственные искажения приводят к заметным отличиям в электронной структуре.

В плоской молекуле перекрывание между p_z орбиталями ведет к образованию классической π связи. За счет сферической формы Φ возникает неэквивалентность в перекрывании p_z над и под плоскостью молекулы, что ведет к появлению смешанных состояний, образованных классическими σ - и π -связями. Искажение шестиугольников НТ приводит к тому, что p_z -орбитали из-за своего пространственного расположения перекрываются между собой.

Вследствие неравномерного перекрывания p_{\perp} -орбиталей над и под плоскостью молекулы из-за ее сферичности плотность перекрывания над плоскостью Φ меньше, и поэтому данные орбитали становятся более доступными для атаки электрофильными агентами. Благодаря этому Φ легче вступает в химическую реакцию в отличие от графита, у которого плотность перекрывания p_{\perp} орбиталей над и под плоскостью одинаковая. В бензоле ситуация с p_{\perp} -орбиталями такая же, как и в случае графита, поэтому для него характерны реакции замещения водорода, а не электрофильного присоединения к π -облаку [13].

Другим хорошо известным классом нанобъектов являются биологические макромолекулы. Функциональная роль биологических структур обуславливает существенно более сложное электронное и атомное строение макромолекул. Здесь, в отличие от большинства неорганических объектов, характерной энергией взаимодействия между биологическими макромолекулами является энергия водородной связи, так как в противном случае возможно просто разрушение активной части белковых структур (ее нативной конформации). Такая особенность предопределяет основные трудности как при экспериментальном, так и при теоретическом исследовании биохимических процессов, поскольку требует или очень точных теоретических методов описания электронной структуры, или прецизионных экспериментальных методов исследования вещества с низкой энергетикой возбуждающего излучения при температурах функционирования биологических объектов, что не всегда возможно.

Природа химической связи в белках

Химические свойства в биологических объектах определяют достаточно ограниченное количество орбиталей, большинство из которых носит локализованный характер. Исключая, пожалуй, только порфириновые кольца, которые играют ключевую роль в процессах электронного транспорта.

В современной литературе принято рассматривать 4 уровня организации структуры молекулы белка. Последовательность АК остатков, соединенных между собой пептидной связью, называют **первичным уровнем** организации белковой молекулы. Он кодируется структурным геном каждого белка. Связи его формирующие: пептидная и дисульфидные мостики между относительно близко расположенными остатками цистеинов. Это ковалентные взаимодействия, которые разрушаются только под действием протеолитических ферментов (пепсин, трипсин и т.д.). Двойная связь C=O карбонильной группы поляризована и в определенном смысле может быть представлена как одинарная связь с разделением зарядов, причем отрицательный локализован на атоме кислорода. Расстояние C-O примерно на 10 % больше, чем в альдегидах и кетонах. Напротив, C-N за счет смещения свободной электронной пары азота к углероду приобретает в определенной мере характер двойной и укорочена также на 10 % [12].

Пептидная связь вследствие π -сопряжения π -связи карбонильной группы и р-орбиталей атома N, на которой находится неподделенная пара электронов, не может рассматриваться как одинарная, и вращение вокруг нее практически отсутствует [5]. Электронную конфигурацию молекулы простейшего амида HC(O)NH₂ можно представить в виде комбинации орбиталей фрагментов HC=O и NH₂. Ортогональность двух верхних несвязывающих *n*-орбиталей объясняет отсутствие «отталкивания» этих уровней несмотря на близость их энергий. [3].

Вторичной структурой называют пространственное расположение атомов главной цепи молекулы белка. Существует три типа вторичной структуры: альфа-спираль, бета-складчатость и бета-изгиб, которые образуются и удерживаются в пространстве за счет образования водородных связей между боковыми группировками АК основной цепи.

Как известно, водородная связь возникает, когда атом водорода удерживает вблизи себя два других электроотрицательных атома. В ее основе лежит взаимодействие между постоянными диполями, которое часто усиливается благодаря вкладу энергии резонанса ионных структур [14]. В разных структурах водородные связи могут иметь различную длину, энергию и симметрию, а следовательно, и полярность. Величина энергии разрыва водородных связей находится где-то в пределах от 2 до 7 ккал/моль, тогда как для ковалентных связей она равна 30-150 ккал/моль. Обычно в биологических молекулах атомы, участвующие в образовании водородной связи, находятся на расстоянии 2,5–3,2 Е. Водород, как правило, отстоит на 0,95–1,0 Е от одного и на 1,4-2,2 Е от другого электроотрицательного атома [14].

Водородные связи в полипептидной цепи образуются между электроотрицательными атомами кислорода карбонильных групп и атомами водорода двух АК. По данным рентгеноструктурного анализа (из Protein Data Bank) в молекуле цитохрома *F* водородные связи имеют длину 1,78–2,24 Е. При расчете полипептида Asn-Cys-Phe-Gly-Ser-Gln-Trp полуэмпирическим методом РМЗ длина водородной связи находится в пределах 1,86–2,79 Е. РМЗ расчет свойств водородной связи между двумя аминокислотами (Gln и Gly) показал, что ее длина - 1,83 Е, а энергия разрыва - 5,58 ккал/моль.

При разрыве водородной связи в пептиде, атомы, ранее участвующие в амид-амидной водородной связи, образуют водородные связи с молекулами воды, т.е. в реальных условиях не происходит разрыва ничем не компенсируемых водородных связей, а имеет место лишь замена связей одного типа другим [14].

Третичная структура – это свойственный данному белку способ укладки полипептидной цепи в пространстве. Это основа функциональности белка. Она обеспечивает стабильность обширных участков белка, состоящих из множества аминокислотных остатков и боковых групп. В формировании третичной структуры решающую роль играют различного рода нековалентные взаимодействия, но большинство белков дополнительно стабилизируются ковалентными – дисульфидными связями. Последние образуются при окислении сближенных в пространственной структуре белка остатков Cys. Полученные для некоторых белков оценки вклада дисульфидных связей в энергию стабилизации нативной пространственной структуры находятся в пределах 2,3–5,0 ккал/моль, при этом энергия стабилизации белковой глобулы лежит в пределах 10 ккал/моль. По-видимому, роль этих связей состоит в уменьшении числа возможных конфигураций в денатурированной полипептидной цепи и тем самым понижении энтропии, поскольку данный вид связи не разрушается денатурирующими агентами как ковалентный [5].

Реальная картина характеристики третичной структуры белка существенно зависит от учета его взаимодействия с окружающей водой. Действительно, вода способна образовывать водородные связи как с пептидными группировками, так и с функциональными группами белка, конкурируя с формированием внутримолекулярных связей. При свертывании глобулы убывает энтропия пептидной связи. Но одновременно происходит возрастание энтропии растворителя – воды.

Как известно, вода представляет собой весьма необычный и чрезвычайно структурированный растворитель. Каждая ее молекула участвует в образовании четырех водородных связей с другими молекулами воды, в результате образуются и находятся в динамическом равновесии со свободными молекулами относительно протяженные квазикристаллические льдоподобные структуры. При этом полярные группы белка легко включаются в подобные взаимодействия посредством водородных связей. Все же представление о белковой глобуле как о квазикристаллическом образовании не вполне точно, поскольку для пространственной структуры белка, включая и плотно упакованные участки, характерна определенная динамика. Система водородных и других нековалентных

тных связей допускает локальные флуктуации. Так, проникновение молекулы кислорода к месту его связывания гемом в миоглобине не могло бы произойти за разумный период времени, поскольку доступ к этой части белка закрыт боковыми цепями аминокислот и лишь их флуктуации позволяют кислороду проникнуть к центру связывания и выйти наружу. Причиной слабых флуктуаций в белковых молекулах могут быть тепловые колебания, тогда как более крупные изменения конформации происходят, как правило, за счет энергии взаимодействия белка с лигандами. Для изучения динамических возможностей, заложенных в молекулах белка и их отдельных участках, прибегают к методу молекулярно-динамического моделирования [12].

Собственно к белкам относятся полипептиды, способные самопроизвольно формировать и удерживать определенную пространственную структуру. Стабилизация пространственной структуры требует хорошо развитой системы нековалентных взаимодействий, что может быть достигнуто, начиная с некоторой длины полипептидной цепи. Следует отметить, что переход от пептида к пространственно структурированной белковой глобуле определяется не механическим удлинением полипептидной цепи, а специфической последовательностью аминокислотных остатков. Иными словами, не всякая случайно построенная полипептидная цепь самопроизвольно образует пространственную структуру. Именно пространственная структура служит основой всех и прежде всего биологических свойств конкретного белка. Химические и функциональные свойства белка зависят от специфических взаимодействий функциональных групп, сближенных в его пространственной структуре [12], т.е. от конформации и, следовательно, атомной и электронной структуры активных центров.

Структура активного центра белков на примере гемопротеинов

Пожалуй, наиболее интересен в этом смысле активный центр гемопротеинов – сложных белков, которые содержат в своем составе железопорфирин, или гем. Основу его составляет металлопорфирин - комплекс тетрапиррольного макроцикла (порфирина) с атомом железа в центре (Рис. 2).

Спектры поглощения растворов порфиринов в видимой области при комнатной температуре состоят из четырех основных полос небольшой интенсивности ($\epsilon_{\text{max}} \sim 10^3 - 10^4$ л/(моль*см)), которые традиционно нумеруют римскими цифрами, начиная с длинноволновой полосы [1]. Вблизи границы видимой и УФ-областей у всех порфиринов имеется очень интенсивная полоса ($\epsilon_{\text{max}} \sim 10^5$ л/(моль*см)), которую называют полосой Соре. Появление атома металла в центре порфиринового кольца приводит к сужению полосы Соре и обеднению видимого спектра: вместо четырех полос наблюдаются две (I, II) [15]. При введении заместителей в различные положения порфиринового кольца общий тип спектра поглощения сохраняется. Наибольшее влияние замещение оказывает на интенсивность полос I и III у порфиринов и полосы I у металлокомплексов, что в первую очередь связано с изменением симметрии молекул.

Комплексообразование порфиринов с ионами металлов, имеющими незаполненные d - или f -оболочки, приводит к усложнению системы возбужденных энергетических уровней. Помимо синглетных и триплетных $\pi\pi^*$ -переходов возможны $dd(ff)$ -переходы, локализованные на ионе металла, а также переходы с переносом заряда от лиганда к металлу $\pi d^*(\pi f^*)$ либо металла к лиганду $d\pi^*(f\pi^*)$. Вместе с тем, для комплексов порфиринов с ионами металлов, имеющими неспаренные d - или f -электроны, в результате обменного взаимодействия $d(f)$ и p -электронов возможно и образование состояний высокой мультиплетности, и смешивание состояний лиганда и металла.

Молекула гемоглобина представляет собой типичный гемопротейд. В дезоксигемоглобине железо находится в высокоспиновом состоянии и один из электронов занимает орбиталь $d_{x^2-y^2}$, доли которой направлены прямо на четыре порфириновых атома азота. Появление шестого лиганда изменяет силу поля лигандов, железо переходит в низкоспиновое состояние, в котором шесть d -электронов занимают орбитали d_{xy} , d_{zx} и d_{yz} . Орбиталь $d_{x^2-y^2}$ становится вакантной. Валентность железа в гемоглобине при присоединении или потере кислорода не меняется (II), а при действии феррицианида она переходит в III. При этом образуется метгемоглобин, который не способен обратимо функционировать в качестве переносчика кислорода [12].

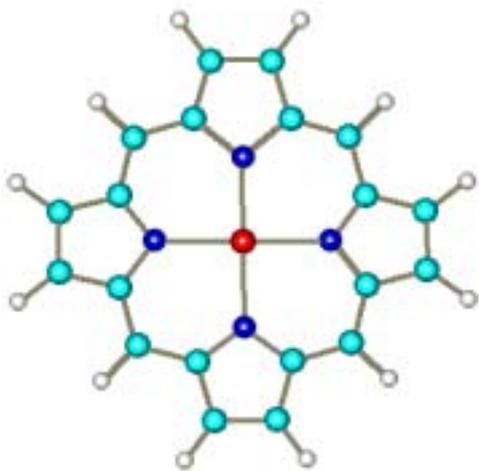


Рис. 2. Атомная структура гемо-комплекса тетрапиррольного макроцикла (порфирина) с атомом Fe в центре.

Цитохромы, еще одно семейство типичных гемопротейдов, принимают электрон от вещества, являющегося немного более сильным восстанавливающим агентом, и передают его более сильному окислителю. В митохондриях клеток высших животных и растений идентифицировано пять цитохромов: b , c , c_1 , a , a_3 , в эндоплазматическом ретикулуме - b_5 . Известны также и другие геминные ферменты – пероксидаза и каталаза. У цитохромов валентность обратимо изменяется, так как их истинная функция состоит в переносе электронов, а гемоглобина – в переносе лигандов (кислород). Окисленная форма системы цитохром $a+a_3$ (Fe III) может принимать электроны от восстановленного цитохрома c ,

переходя в Fe II, затем вновь окисляясь в Fe III, но уже молекулярным кислородом. Цитохром *a*, так же как и гемоглобин, может соединяться с окисью углерода, которая конкурирует с кислородом. Это ингибирование снимается видимым светом. Цианид и сероводород также ингибируют активность цитохрома $a+a_3$.

Как известно, химическая активность молекул обусловлена молекулярными орбиталями потолка валентной зоны. Верхняя заполненная молекулярная орбиталь (ВЗМО) порфиринового кольца цитохромов *F* и *c* в основном сформирована *p*-орбиталями атомов углерода (рис. 3). Эти же орбитали наполовину формируют ВЗМО-1 и дают наибольший вклад в двукратно вырожденную нижнюю вакантную молекулярную орбиталь (НВМО). Оставшиеся вклады в НВМО и ВЗМО-1 приходятся на *p*-орбитали атомов азота порфиринового кольца [18].

При анализе коэффициентов атомных орбиталей и заселенностей по Малликену в железорпорфирине установлено, что химическая связь между атомами железа и азота обусловлена, во-первых, перекрыванием *s*-орбитали Fe и p_x, p_y -орбиталей N. Вклады в образование соответствующей МО составляют 14% от железа и около 46% от атомов азота. При этом происходит перенос электронов с дважды заполненной *s*-орбитали железа на орбитали азота, после чего заселенность первой становится 0,517. Во-вторых, при перекрывании вакантных p_x, p_y -орбиталей Fe и p_x, p_y -орбиталей N происходит перенос электронов с атомов азота на атом железа. Заселенность данных *p*-орбиталей N увеличивается при этом на 0,833. В то же время не наблюдается существенного перекрывания *d*-орбиталей атома железа с орбиталями атомов азота порфирина. $d_{xz}, d_{yz}, d_{x^2-y^2}, d_{xy}$ -орбитали Fe практически полностью формируют три МО (одна, из которых дважды вырождена), не перекрываясь при этом с другими атомными орбиталями. Вклад d_{xy} -орбитали в соответствующую МО относительно мал, около 8,5%. В области 1эВ по отношению к данной МО находятся еще пять молекулярных орбиталей, и суммарный вклад в них d_{xy} -орбитали Fe незначителен. Таким образом, *d*-орбитали принимают небольшое суммарное участие в образовании химической связи с порфириновым кольцом, тогда как основным эффектом является их расщепление в электрическом поле лигандов.

Тот факт, что валентная область полностью сформирована орбиталями атомов углерода и азота порфиринового кольца, нашел отражение в распределении добавленного электронного заряда. При расчете гемов с зарядом -1 эффективный отрицательный заряд (рассчитывался по Малликену) атомов углерода и азота порфиринового кольца увеличивается на 0,54 (для *F*) и 0,53 (для *c*) единицы соответственно, а атома железа – лишь на 0,02. Следовательно, добавленный электрон больше чем наполовину распределяется в порфириновой части кластера. Оставшаяся часть электронной плотности распределяется на ближайшем аминокислотном окружении. При добавлении второго электрона (расчет с зарядом -2) наблюдаются те же соотношения величин в распределении эффективного отрицательного заряда.

Поскольку функциональная активность биологических молекул обусловлена в основном структурой молекулярных орбиталей валентной зоны, то можно утверждать: для изучения связи электронной структуры цитохромов, участвующих в электронном транспорте, с их биохимической активностью достаточно использовать кластерные модели активных центров (гем и несколько ближайших пространственно локализованных аминокислот) [10], но не отдельные железорпорфирины. Тем не менее, квантово-химические и молекулярно-динамические исследования функциональной активности таких гемопротеинов, как цитохром P450, $a+a_3$, гемоглобин и пр., требуют обязательного учета аминокислотного окружения гема, поскольку оно обеспечивает селективный доступ лигандов к железу активного центра молекулы.

Как уже говорилось, промежуточными переносчиками электронов в дыхательной цепи у высших организмов являются представители особого семейства гемосодержащих белков - цитохромы *b, c, c_1, a, a_3*. Все участники этой цепи разделены на четыре окислительно-восстановительные системы. Хотя обычно считается, что на участке между цитохромом *b* и кислородом осуществляется одноэлектронный перенос, нельзя исключать и другие возможности [11]. Квантово-химический расчет методом ZINDO/1 дал возможность проверить гипотезу об одноэлектронном переносе в комплексе III.

Сравнение величин и характера изменений полных энергий систем (гемы цитохромов *b* и *c_1*) при расчете с отрицательными зарядами (табл. 1) показало что появление отрицательного заряда для кластера цитохрома *c_1* является термодинамически невыгодной реакцией, что неудивительно, поскольку этот гемопроtein входит в состав комплекса III и служит лишь промежуточным переносчиком заряда с цитохрома *b* на цитохром *c* [8]. Для кластера *b* минимальное значение энергии принимает система с зарядом -1 . В то время как с зарядом -2 энергия напротив максимальна. Именно это косвенно указывают на неэффективность переноса цитохромом *b* двух электронов одновременно. Таким образом, сравнение полных энергий систем, полученных при расчетах с разными зарядами, показало, что в комплексе III электронтранспортной цепи более реален механизм одноэлектронного переноса заряда.

Ведущую роль в лигандсвязывающей и каталитической активности гемопротеинов играют координированные в 5-м и 6-м положениях к железу гема аминокислоты. Роль их становится очевидной при изучении свойств мутантных форм гемопротеинов. Так, при замене в результате направленного мутагенеза, проксимально расположенного относительно плоскости гема His, в активном центре миоглобина на Cys значительно повышается способность к гетеролитическому расщеплению O-O связи в гидропероксиде кумола. При замене дистального

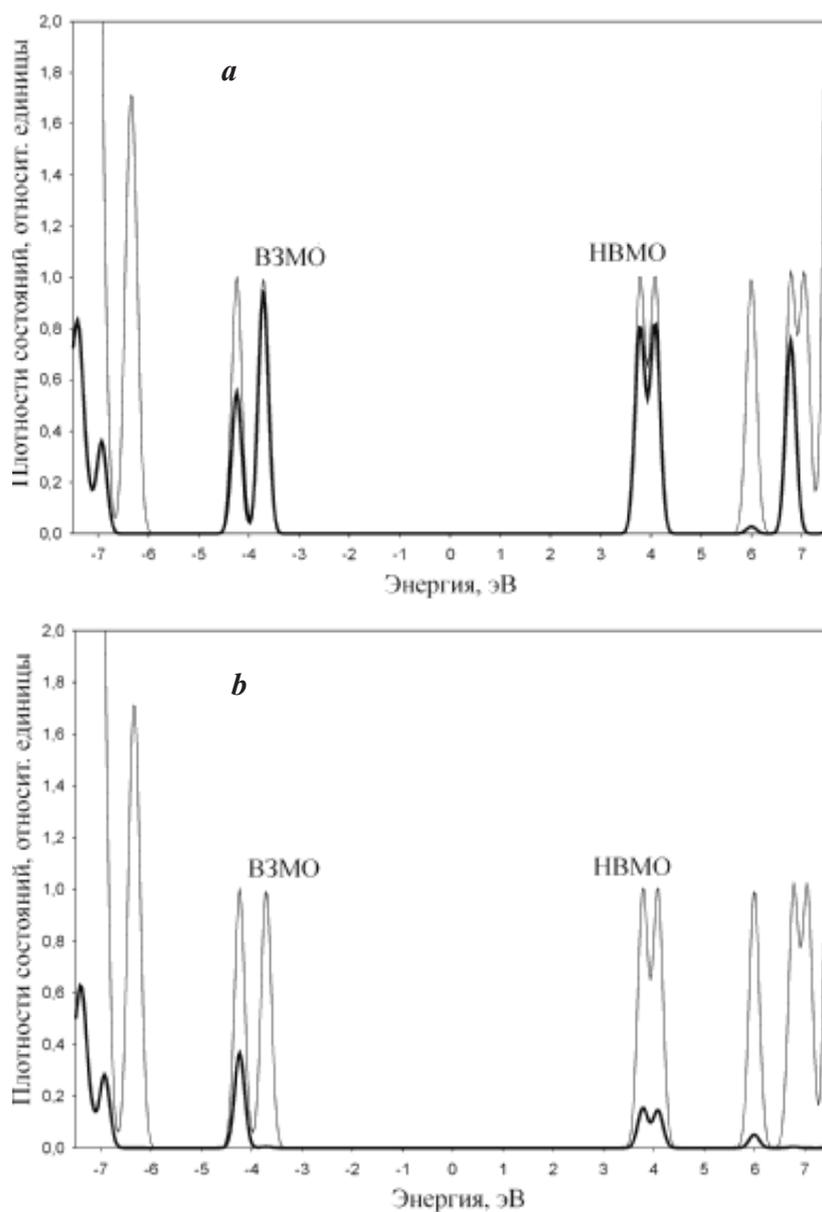


Рис. 3. Обице плотности состояний (тонкая линия) валентной области гема цитохрома с. Толстой линией обозначены парциальные плотности состояний р-орбиталей атомов углерода (а) и азота (b) порфиринового кольца

Таблица 1

Изменение полных энергий кластеров при изменении зарядов

Изменение заряда системы	Изменение полных энергий, эВ	
	Кластер c_1	Кластер b
0 @ -1	120,992 -	1,43Ī
-1 @ -2	15,219 -	15,223 -
0 @ -2	136,211 -	13,813 -

His на Gly или Val аминокислотный карман в области активного центра белка становится гидрофобным, что затрудняет входение в него полярной молекулы H_2O_2 , хотя эффективность расщепления O-O практически не меняется [19].

Совместный анализ экспериментальных данных и квантово-химических расчетов показывает, что His играет ключевую и уникальную роль в лигандсвязывающих свойствах гема [9]. В формировании координационной связи аминокислоты с железом гема принимают участие p -орбитали атома азота His и серы у Cys и Met. Природа ВЗМО определяет прочность этой химической связи. Сравнение парциальной электронной плотности p -состояний в ВЗМО атома лиганда (либо одного из атомов азота, либо атома серы) позволило выяснить, что уникальной аминокислотой в этом смысле является гистидин. Для него характерна максимальная электронная плотность p -состояний координирующегося атома азота по сравнению с другими аминокислотами. За счет высокой электронной плотности p -состояний в ВЗМО His может формировать более прочную донорно-акцепторную связь с комплексообразователем, которым, в данном случае, выступает атом железа порфиринового кольца.

Биохимические реакции характеризуются относительно невысокими энергетическими эффектами, поскольку для молекулярных биологических структур весьма важной характеристикой является их конформация, которая определяется, в основном, слабыми водородными связями. Естественно предположить, что высокие энергетические эффекты (или барьеры активации) способны необратимо менять конформацию белковых структур. В процессе электронного транспорта гем цитохрома принимает или отдает электрон, фактически изменяя степень окисления железа, а это достаточно серьезные изменения в электронной структуре активного центра системы.

Возможно, этот эффект нивелируется за счет насыщения химической связи максимальным количеством электронов лиганда (так называемый p -электронный буфер). В этом случае достаточно высокая электронная плотность ВЗМО обеспечивает незначительные энергетические изменения в процессе миграции электронов. Следовательно, основной критерий для аминокислот, которые координируются в 5-м и 6-м положении с железом гема, - емкость их p -электронного буфера. Относительная стабильность молекулярной системы в таком случае обеспечивается минимальными изменениями в ее электронной структуре в процессе электронного транспорта. Среди всех аминокислот максимальные значения электронной плотности p -состояний в ВЗМО, а следовательно, емкости p -электронного буфера определены на основе квантово-химических расчетов для His и серусодержащих Met и Cys. Именно эти аминокислоты и координируются с железом гема цитохромов электронтранспортной цепи и P-450.

Таким образом, несмотря на огромное разнообразие химических свойств белков в них наблюдаются две принципиально разные структуры: делокализованные электронные облака гемов и s -последовательности полипептидов. При этом в биологических структурах нет повторяемости твердых тел, но и аморфными телами их тоже назвать нельзя, так как они строго организованы структурно и функционально, что подтверждается наличием у некоторых белков четвертичного уровня организации.

Размещение в пространстве взаимодействующих между собой субъединиц, образованных отдельными полипептидными цепями, называется **Четвертичной структурой**. В ее формировании участвуют не пептидные цепи сами по себе, а глобулы, образованные каждой из этих цепей в отдельности. Четвертичная структура – это высший уровень организации белковой молекулы и он присущ далеко не всем белкам. Связи, формирующие эту структуру: водородные и электростатическое взаимодействие.

Фундаментальный принцип молекулярной биологии: последовательность аминокислотных остатков полипептидной цепи белка несет в себе всю информацию, которая необходима для формирования определенной пространственной структуры. То есть имеющаяся в данном белке аминокислотная последовательность предопределяет образование альфа- или бета-конформации вторичной структуры за счет образования между этими АК водородных или дисульфидных связей и в дальнейшем формирование глобулярной либо фибриллярной структуры также за счет нековалентных взаимодействий между боковыми участками определенных аминокислот. Как итог, формируется уникальная нативная конформация белковой макромолекулы, которая предопределяет строго специфическую ее функцию в клетке.

Заключение

Развитие нанонауки в физике, химии и биологии в последнее десятилетие ярко продемонстрировало общность объектов, характерные размеры которых составляют от одного до ста нанометров. Эта общность определяется электронными и молекулярными транспортными свойствами и тем, что практически все нанообъекты характеризуются развитой динамикой атомного остова. Все это, безусловно, позволяет рассматривать белки и углеродные наноструктуры совместно и демонстрирует общность их основных физических, химических и биологических свойств.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аскарлов К.А. Порфирины: спектроскопия, электрохимия, применение / К.А. Аскарлов, Б.Д. Березин, Е.В. Быстрицкая и др. - М.: Наука, 1987.- 314 с.
2. Бочвар Д. А. Электронная структура молекул C_{20} и C_{60} / Д. А. Бочвар, Е. Г. Гальперн // Докл. АН СССР. – 1973. – Т. 209. – с. 610 - 615.
3. Вовна В.И. Электронная структура органических соединений / В.И. Вовна. - М.: Наука. – 1991. – 247 с.
4. Грибов Л. А. Квантовая химия / Л. А. Грибов, С.П. Муштаков. - М.: Гардарики. – 1999. - 390 с.
5. Кнорре Д. Г. Биологическая химия / Д. Г. Кнорре, С. Д. Мызина. - М.: Высш. шк. - 1998. – 479 с.
6. Корнилов М.Ю. Структура и свойства трубчатых углеводородов / М.Ю. Корнилов // Доклады АН УССР, серия «Б». - 1977. – Т.12. – с. 1097 – 1102.
7. Кузубов А.А. Электронная и атомная структура изомеров эндо- и экзоэдральных комплексов фуллеренов с двумя атомами лития / А.А. Кузубов, П.В. Аврамов, С.Г. Овчинников, С.А. Варганов, Ф.Н. Томилин // ФТТ. – 2001. – Т.43. – с. 1721-1726.
8. Ленинджер А. Биохимия: Молекулярные основы структуры и функции клетки / А. Ленинджер. - М.: Мир. – 1974. – с. 957.
9. Романова Т.А. Особенности природы верхней заполненной молекулярной орбитали аминокислот, формирующих активные центры гемовых белков / Т.А. Романова, П.В. Аврамов. // ДАН. – 2001. – Т. 383. – с. 116- 119.
10. Романова Т.А. Выбор кластерных моделей для исследования электронной структуры и динамики атомного остова гемсодержащих белков методами QM/MM и ONIOM / Т.А. Романова, П.О. Краснов, П.В. Аврамов // Электронный журнал «Исследовано в России». - 2001, <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2008/098.pdf> - с. 1005 -1112.
11. Скулачев В. П. Энергетика биологических мембран / В. П. Скулачев. - М.: Наука. – 1989. – с. 565.
12. Степанов В. М. Молекулярная биология. Структура и функции белков / В. М. Степанов. - М.: Высшая школа. – 1996. – 335 с.
13. Томилин Ф.Н. Автореф. Дисс. ... канд. хим. наук / Ф.Н. Томилин. – Красноярск: ИхиХТ, 2002. – 16 с.
14. Уильямс В. Физическая химия для биологов / В. Уильямс, Х. Уильямс. - М.: Мир 1976. – 600 с.
15. Iijima S. Possible structure of tubular graphite / S. Iijima // Nature. – 1991. V. 354. – P. 56 - 59.
16. Krotto H.W. Structure of C_{60} molecule / H.W. Krotto // Nature. - 1992. – V. 358. – P. 220 - 225.
17. Romanova T., Krasnov P., Avramov P. Electronic structure of nanoclusters of active sites of hemoproteins // Abstract XVIth International Winterschool on Electronic Properties of Novel Materials. Molecular Nanoclusters, 2 – 9 March 2002, Kirchberg, Tirol, Austria. – P. 74.
18. Watanabe Y. Roles of amino acid residues around heme on the formation of high valent intermediates // Abstract 11th Int. Symp. Microsomes and Drug. Oxid., Los Angeles, Calif. – 1996. – P. 84.
19. Yeletskii A.V. Fullerenes and atomic clusters of carbon / A.V. Yeletskii, B.M. Smirnov // Physics – Uspekhi. – 1995. - 38. – P. 935 - 948.

NATURE OF CHEMICAL BONDING OF NANOOBJECTS. PROTEINS AND ELEMENTARY CARBON

T.A. Romanova, P.V. Avramov

The review has been devoted to the nature of chemical bonding of protein and elementary carbon nanoobjects. The peculiarities of chemical bonding of both types of substances have been connected with physical, chemical and functional characteristics of the objects. It has been shown that both types of substances have common properties due to the characteristic dimensions in the range 1 – 100 nm.