

TEORETICKÉ STUDIUM INTERAKCÍ PŘECHODNÝCH KOVŮ S BIOMOLEKULAMI

LUBOMÍR RULÍŠEK

Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky a Výzkumné centrum komplexních molekulových systémů a biomolekul, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6, e-mail: lubos@uochb.cas.cz

Došlo dne 4.IV.2001

Klíčová slova: přechodné kovy, metaloproteiny, interakce, teoretické studium

Obsah

1. Úvod
2. Studium interakcí přechodných kovů s malými molekulami
3. Interakce přechodných kovů s bázemi nukleových kyselin, nukleotidy a fragmenty RNA a DNA
4. Struktura, funkce a spektroskopické chování vazebných míst kovů v metaloproteinech
5. Perspektivy kvantové bioanorganické chemie
6. Závěr

1. Úvod

Tento souhrnný článek volně navazuje na referát, týkající se obecných problémů při teoretickém studiu systémů obsahujících přechodné kovy a metodiky jejich kvantově-chemických výpočtů¹. Nyní půjde o shrnutí výsledků přesných výpočtů provedených na těchto systémech, tedy o aplikaci metod. Nezbytným základem pro pochopení složitějších systémů je porozumění strukturám menších komplexů obsahujících přechodné kovy a interakci kovů s malými ligandy (úvodní kapitola). Další část je zaměřena na nové poznatky v oblasti interakcí bází nukleových kyselin, nukleotidů, fragmentů DNA a RNA s kationty přechodných kovů. Čtvrtou kapitolu referátu věnuji struktuře, funkci a spektroskopickému chování vazebných míst kovů v proteinech a interakcím přechodných kovů s aminokyselinami a v závěru nastíním perspektivy kvantové bioanorganické chemie, oboru, který v posledních pěti letech prodělal významný rozvoj.

2. Studium interakcí přechodných kovů s malými molekulami

Komplexy přechodných kovů s malými molekulami se dají podle charakteru vazby rozdělit přibližně do dvou skupin: i) Organokovové komplexy s koordinačně-kovalentní vazbou. Pro tyto sloučeniny je charakteristický velký přenos náboje mezi ligandem (donor elektronů) a kovem (akceptor

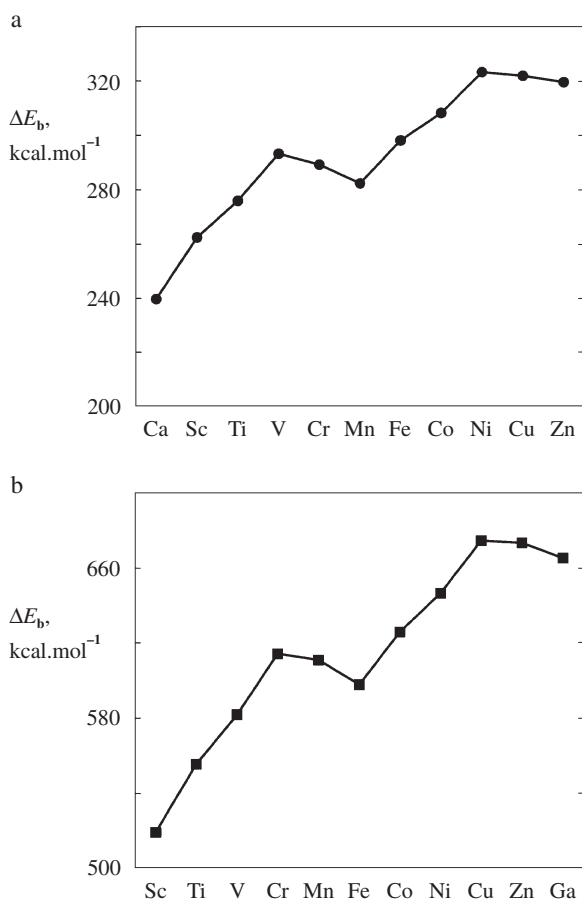
elektronů) s následnou zpětnou donací. Vazebná situace se popisuje pomocí Dewarova-Chattova-Duncansonova modelu^{2,3}. Typickými ligandy jsou alkeny, alkiny, karbeniové ionty, kyanidové anionty, karbonyly a jim příbuzné sloučeniny. ii) Komplexy s převážně iontovým charakterem. Zde nedochází k velkému přenosu náboje a jednotlivé komponenty v systému (kov, ligandy) si do značné míry zachovávají svůj charakter. Typickými ligandy jsou molekuly s volnými elektronovými páry, například H_2O , H_2S , NH_3 , halogenidové anionty a jim chemicky příbuzné sloučeniny.

Jelikož téměř všechny ligandy, vyskytující se jako vazebné funkční skupiny v biomolekulách, patří do druhé skupiny, bude pozornost zaměřena právě na ni (výjimkou je třída Ni–Fe bakteriálních hydrogenas, u které jak rentgenová strukturní analýza⁴, tak infračervená spektroskopie⁵ odhalily zcela překvapivé a v biochemii bezprecedentní ligandy – CN^- a CO). Případné zájemce o teoretická studia organokovových komplexů s využitím pro katalýzu nebo průmyslově důležité reakce odkazují na rozsáhlé souhrnné články^{6,7}.

Z druhé skupiny je nejčastěji studovaným ligandem voda. Důvodem je jistě fakt, že většina koordinační chemie se odehrává ve vodném prostředí a aquakomplexy se dají považovat za standardní stav kationtů přechodných kovů. Z výpočetního hlediska navíc patří mezi menší systémy, a proto lze pro jejich studium použít přesných metod. Prvním krokem k porozumění fyzikálně-chemickým vlastnostem je výpočet vazebných energií, vazebných vzdáleností a efektů ligandového pole pro hexahydratované ionty kovů (což je pro většinu z nich stav, ve kterém se ve vodě vyskytují).

Proto byly již v první polovině 90. let provedeny výpočty na úrovni SCF (případně CAS SCF pro systémy s degenerovaným základním stavem) a získány teoretické vazebné energie a vazebné vzdálenosti Me–O izolovaných klastrů $[\text{Me}(\text{H}_2\text{O})_6]^{+}$, kde $\text{Me} = \text{Sc}^{2+}, \text{Sc}^{3+}, \dots, \text{Cd}^{2+}, \text{Cd}^{3+}$ (cit. 8,9). Pro oktaedricky koordinované komplexy sleduje závislost vypočtených vazebných energií na rostoucím atomovém čísle (v dané periodě přechodných kovů) křivku s dvěma vrcholy (obr. 1), tedy v zásadě stejného tvaru, jakou poskytnou experimentálně naměřené solvatační entalpie.

Jedinou výjimkou je kation Ca^{2+} , kde je odchylka patrně způsobena vyšším koordinačním číslem v roztoku. Tyto trendy se kvalitativně vysvětlují pomocí teorie krystalového pole¹⁰, neboť vazba kov–ligand je převážně iontová, d -orbitály na kovu si zachovávají svůj charakter, a tudíž předpoklady této teorie jsou splněny. V oktaedrickém krystalovém poli pak dochází k rozštěpení jejich energetických hladin na třikrát degenerovanou hladinu t_{2g} a dvakrát degenerovanou e_g , což má za následek dodatečný energetický příspěvek k celkové energii molekuly, tzv. LFSE (ligand field stabilization energy, pokles celkové energie molekuly v důsledku rozštěpení energie d -orbitálů polem okolních ligandů). Dále toto rozštěpení dává vzniknout elektronovému spektru $d-d$ přechodů ve viditelné a ultrafialové oblasti a u některých komplexů též Jahnovy-Tellerovy distorzi (pramenící z degenerace základního molekulového stavu). Ukazuje se však, že snížení celkové energie v důsledku Jahnovy-Tellerovy distorze je zanedbatelné ve



Obr. 1. Závislost celkové vazebné energie, ΔE_b ($\Delta E_b = E\{\text{Me}^{n+}(\text{g})\} + 6E\{\text{H}_2\text{O}(\text{g})\} - E\{[\text{Me}(\text{H}_2\text{O})_6]^{n+}(\text{g})\}$) pro hexaaquakomplexy divalentních (a) a trivalentních (b) kationtů první řady přechodných kovů na rostoucím atomovém čísle. Trendy sledují vzrůstající křivku (danou zmenšujícím se iontovým poloměrem kovů s vyšším atomovým číslem) se dvěma vrcholy v důsledku LSFE (ligand field stabilization energy)

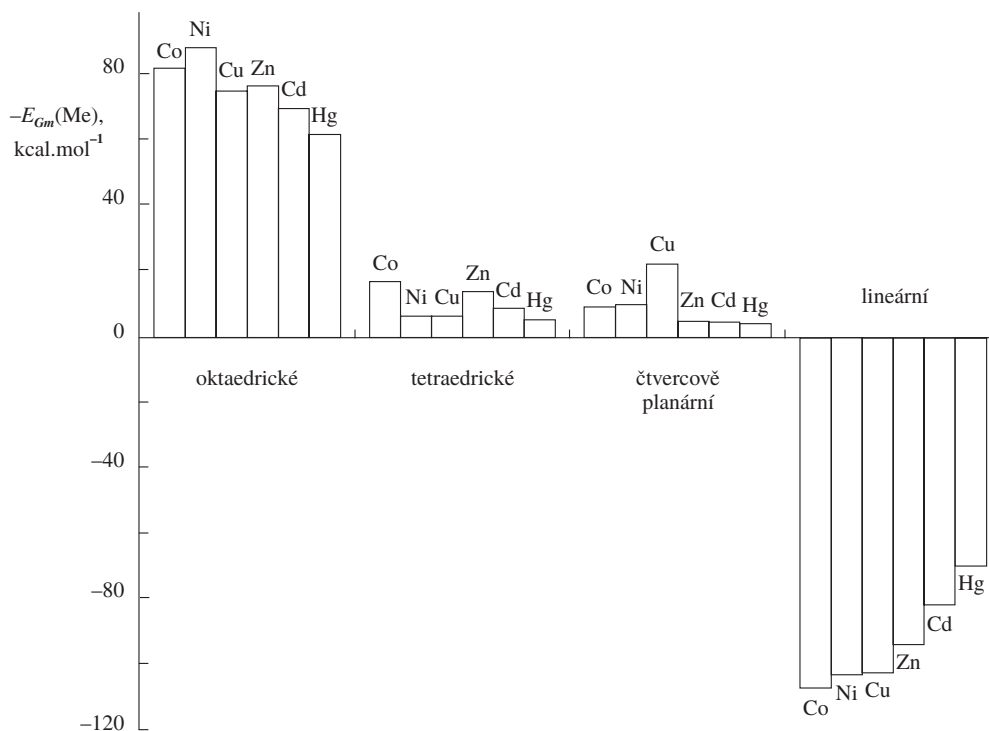
srovnání s energetickými příspěvky pocházejícími od ligandového pole. V krajním případě je důsledkem rozštěpení d -orbitalů změna základního stavu iontu kovu z vysokospinového (neboť voda je ligandem, který vytváří slabé krystalové pole) na nízkospinový, jak se děje například u $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$, kde základním stavem je singlet s formální elektronovou konfigurací $(t_{2g})^6(e_g)^0$. Konečně posledním poučením z provedených výpočtů je poznatek, že trendy ve vazebných energiích lze v prvním přiblížení přímo korelovat s experimentálními entalpiemi. V přesnější aproximaci lze přidat pomocí Bornova-Haberova termodynamického cyklu rozdíl solvatačních energií mezi reaktanty a produkty a dostat se v absolutní stupnici blíže k experimentálním entalpiím.

Co se týče reaktivity a dynamiky aquakomplexů, důležitou reakcí je výměna molekuly vody v první koordinační sféře. Substituční mechanismy byly klasifikovány Langdorffem a Grayem¹¹ pomocí symbolů A , I_a , I_d , D . Symboly A , D znamenají asociativní nebo disociativní mechanismus, tedy zda reakce probíhá přes hepta- nebo pentakoordinované meziproducty; I_a , I_d pak rozlišují mezi současnou záměnou ligan-

dů (concerted mechanism) s asociativním či disociativním charakterem. Teoretické studie těchto mechanismů^{12,13} se opírají o disociační energii šesté molekuly vody v komplexu při disociativním mechanismu a vazebnou energii sedmé, přistupující vody při asociativním mechanismu. Těmito veličinami se aproximuje skutečná aktivační energie $\Delta E^\ddagger$, která vystupuje jako směrnice přímky v Arrheniově diagramu a koreluje s experimentální aktivační entalpií $\Delta H^\ddagger$. Pomocnou veličinou je $\Delta V^\ddagger$, tedy změna molárního objemu při aktivaci. Tato veličina sice nepatří mezi kvantově-mechanické veličiny, avšak z jejích experimentálních hodnot lze usoudit na reakční mechanismus ($\Delta V^\ddagger > 0$ indikuje asociativní, $\Delta V^\ddagger < 0$ disociativní). I při kvantově-chemickém výpočtu se dají nalézt rozumné definice této veličiny, takže její vyhodnocení poskytuje teoretickou předpověď, jakým mechanismem pro ten který kov záměna molekuly vody probíhá. Lze prohlásit, že divalentní přechodné kovy z první periody s větším počtem d -elektronů (Fe^{2+} , ..., Zn^{2+}) preferují disociativní mechanismus, zatímco kovy z počátku této řady (Sc^{3+} , Ti^{3+} , $\text{V}^{2+/3+}$, Cr^{3+}) preferují asociativní mechanismus.

Deprotonizace jedné nebo několika molekul vody v aqua-komplexech vede ke vzniku hydroxokomplexů. Zatímco $\text{p}K_a$ molekuly vody ve vodném prostředí je přibližně 15,7, při vazbě na kov se snižuje o několik jednotek¹⁴. Tím hydroxokomplexy nabývají na významu nejen samy o sobě, ale jako nejjednodušší modely pro interakci deprotonizovaných funkčních skupin (včetně protických aminokyselinových zbytků) s ionty přechodných kovů. Dále lze na příkladu hydroxokomplexů studovat zajímavý jev, tzv. *trans*-efekt¹⁵. *Trans*-efektem se rozumí rozdílná kinetická a termodynamická stabilita *cis*- a *trans*-isomerů daného komplexu. V chemické praxi se těchto znalostí používá k vytvoření empirických pravidel pro dirigování následné substituce do *cis*- nebo *trans*-polohy k danému ligandu, zejména u čtvercově planárních komplexů kationtu platiny (II). Jev byl studován i teoreticky na příkladech několika neutrálních komplexů typu $\text{Me}(\text{OH})_n(\text{H}_2\text{O})_{6-n}$ ($\text{Me} = \text{Mn(III)}, \text{Mn(IV)}, \text{Mn(V)}, \text{Fe(II)}, \text{Fe(III)}, \text{Fe(IV)}$; n je takové, aby byl komplex elektroneutrální) a několika oxo-komplexů těchto kovů¹⁶. V souladu s očekáváním bylo zjištěno, že pro některé oxo-komplexy je dokonce preferována penta-koordinace kvůli silnému *trans*-efektu oxo-skupiny, vedoucímu k disociaci protilehlého ligandu.

Celou další oblastí aplikací kvantově-chemických výpočtů na malé komplexy přechodných kovů iontového charakteru je studium jejich spektroskopických vlastností. Zatímco elektronová spektra hexaaqua-, hexaammin-, hexafluorokomplexů byla změřena před mnoha lety, jejich interpretace pomocí kvantově-chemických metod je stále aktuální. Cílem je nejen výpočetně zreprodukovat naměřená spektra, ale též identifikovat původ naměřených elektronových excitací. Tak byla například vypočtena $d-d$ elektronová spektra pro CoO v pevné fázi, na CoO (100) povrchu, a u oktaedrických Co^{2+} komplexů¹⁷. Velmi zajímavá je v tomto ohledu práce pojednávající v detailech o spektru hydratovaného iontu Co^{2+} (cit.¹⁸). Elektronové spektrum Co^{2+} ve vodě vykazuje dva široké absorpční píky, jeden okolo 8000 cm^{-1} a druhý, strukturovaný, okolo $20\,000 \text{ cm}^{-1}$. V něm lze dekonvolucí rozlišit dva píky: $19\,400 \text{ cm}^{-1}$ a $21\,550 \text{ cm}^{-1}$. Téměř bez jakýchkoliv dalších pochyb byly tyto píky přisuzovány $d-d$ elektronové excitaci v oktaedrickém komplexu $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$, což je dominantní forma iontu Co^{2+} ve vodě. Z velmi pečlivé studie provedené



Obr. 2. Relativní komplexační energie divalentních (2+) kationtů jednotlivých kovů v různých koordinačních geometriích

pomocí pokročilých kvantově-chemických metod vyplynulo, že takové píky by mohly v $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ existovat, ale ze symetrických důvodů musí mít téměř nulovou intenzitu. Ani distorze tohoto komplexu, porušující symetrii, výrazně nezvyšují jejich intenzitu. Zároveň bylo nastíněno několik dalších možností, týkajících se původu těchto elektronových excitací. Jako možné částice byly uvedeny aquakomplexy s nižším koordinačním číslem či hydroxokomplexy, jež jsou sice zastoupeny zanedbatelně, avšak jejich elektronové excitace mají vyšší intenzitu. Závěry práce nelze brát v ultimativním duchu, spíše jako možný popud pro experimentální snahu o jejich potvrzení či vyvrácení.

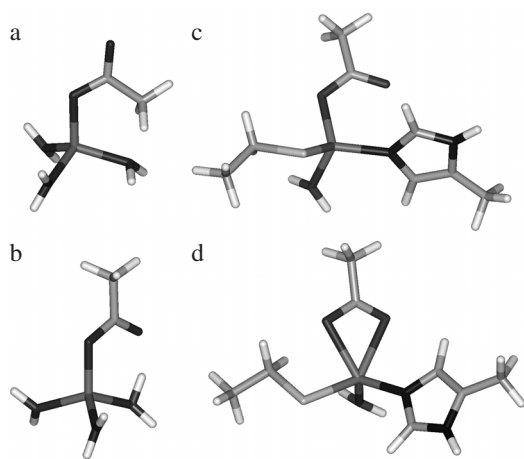
V naší laboratoři jsme se též zabývali spektry Co^{2+} , hlavně pak vlivem porušení oktaedrické symetrie substitucí vody za jednu či dvě funkční skupiny z množiny $\{\text{CH}_3\text{OH}, \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{CH}_3\text{SH}\}$, tedy skupin reprezentujících jednoduché modely aminokyselinových postranních řetězců¹⁹. Došli jsme k závěru, že ač je štěpení původně degenerovaných hladin malé (řádu stovek cm^{-1}), jednotlivé stavy se nekříží a každý z nich je dominantně tvořen jednou elektronovou konfigurací, což má kromě důsledků pro spektroskopii i velký význam pro provádění kvantově-chemických výpočtů na těchto systémech. Není asi nutné na závěr tohoto odstavce připomínat, jak velkou úlohu hraje porozumění spektrům malých komplexů přechodných kovů pro teoretické i experimentální studium spektroskopických vlastností vazebných míst kovů v biomolekulách.

Další zajímavou informací, kterou poskytují studie aquakomplexů, je preference pro dané koordinační uspořádání. Zde je nutno, na rozdíl od předešlých prací, uvažovat a mezi sebou porovnávat různé koordinační geometrie. Toto porovnání však není zdaleka triviální, neboť problémem je schopnost chemic-

kého modelu (izolovaného systému $[\text{Me}(\text{H}_2\text{O})_n]^{c+}$) korelovat s tak vzdálenou a nepřliš rigorózně definovanou veličinou, jakou je afinita kovu k dané koordinační geometrii. Je tedy nutno buď důkladně zahrnovat vliv okolí, v nejjednodušším případě hydrataci systému, nebo porovnat několik kovů v několika koordinačních uspořádáních mezi sebou navzájem. První přístup byl zvolen v práci zabývající se hydratací iontů Be^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} (cit.²⁰). Pomocí trendů v přírůstcích vazebných energií připadajících na jednu molekulu vody jejich postupným přidáváním až k vysycení první koordinační sféry a dále k hypotetickému vzniku druhé solvatační sféry, byly těmto iontům připsány preferované koordinační geometrie ve vodném prostředí. Druhý přístup byl zvolen při studii provedené v naší laboratoři²¹. Studovali jsme komplexační energie šesti kationtů (Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+}) s vazebným místem $(\text{H}_2\text{O})_n$ uspořádaným v lineární ($n = 2$), tetraedické, čtvercově planární ($n = 4$) a oktaedrické ($n = 6$) koordinační geometrii. Výsledky jsou znázorněny na obrázku 2.

Z obrázku jsou patrné trendy, které kvalitativně souhlasí se závěry rozsáhlé studie analyzující preferované koordinační geometrie v experimentálně změřených strukturách malých molekul a metaloproteinů²². Z ní vyplývá, že Co^{2+} a Ni^{2+} preferují oktaedrické uspořádání, Cu^{2+} čtvercově planární, Zn^{2+} tetraedické, Hg^{2+} lineární, Cd^{2+} tetraedické a oktaedrické.

Zatím byla pozornost věnována hlavně aqua- (v malé míře též hydroxo-) komplexům. Ligandy, běžně se vyskytující v bioanorganické chemii, mají jako donorové atomy převážně síru, dusík, a kyslík. Kromě vody jsou (ve vztahu k interakcím kovů s biomolekulami) zajímavými ligandy amoniak (NH_3), thioly (RSH), thioláty (RS^-) a thioethery (RSR'), karboxylo-



Obr. 3. Různé způsoby vazby karboxylátu (RCOO^-) ke kationtům kovů, demonstrováné na modelových komplexech $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CH}_3\text{COO})]^+$ a $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})(\text{His})(\text{Cys})(\text{CH}_3\text{COO})]$: a – *anti* (torzní úhel $\text{Zn}-\text{O}-\text{C}-\text{O}$ je přibližně 180°), b – *syn* ($t_{\text{Zn}-\text{O}-\text{C}-\text{O}} \sim 0^\circ$), c – monodentátní, d – bidentátní

vé kyseliny (RCOOH) a jejich anionty (RCOO^-), alkoholy (ROH) a alkoholáty (RO^-). O několika studiích pojednávajících o interakcích těchto ligandů s kationty přechodných kovů se nyní stručně zmíníme.

Velmi pěknou a instruktivní práci týkající se reakčního mechanismu $\text{Co}^+(\text{F}, \text{F})$ s NH_3 publikovali Taketsugu a Gordon²³. Díky multikonfiguračnímu charakteru daného problému museli použít velmi pokročilé metody MR-CI. V prvním kroku vytvoří reaktanty ion-molekulový komplex CoNH_3^+ s vazebnou energií 49 (triplet) a 45 (kvintet) kcal.mol^{-1} . Posléze je aktivována vazba N–H, což vede k meziproduktu $\text{H}-\text{Co}-\text{NH}_2^+$, který je o 60 (triplet) a 44 (kvintet) kcal.mol^{-1} energeticky výše. Poté následuje štěpení vazby Co–N nebo Co–H a vytvoření $\text{HCO}^+ + \text{NH}_2$ nebo $\text{H} + \text{CoNH}_2^+$. Oba dva reakční kanály (pro triplet i kvintet) jsou endotermické (54 až 64 kcal.mol^{-1}), v dobrém souladu s experimentem. Tato práce poukazuje na nutnost použití velmi náročných výpočetních metod pro dosažení kvantitativní shody s experimentem a představuje poučný příklad studia reakčního mechanismu. Podobným postupem, avšak s použitím metod DFT, je řešen problém aktivace O–H vazby atomem Ni v methanolu (CH_3OH)²⁴. Výpočty vazebných energií jedné či dvou molekul amoniaku se všemi monovalentními kationty první řady přechodných kovů a srovnání amminokomplexů s jejich aquaanalogy jsou námětem jiné studie²⁵, jejíž výsledkem jsou odhady afinity těchto dvou molekul (H_2O , NH_3) ke studovaným kovům. Povaha vazby Cu–N v komplexech Cu^+ s NH_3 , CH_3NH_2 , NHCH_2 , HCN je náplní práce²⁶, která demonstruje použití populačních analýz: Baderovy analýzy AIM a analýzy NBO¹. Z dalších prací lze uvést teoretické studium fotolytických produktů molekul $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})$ a $\text{Cu}(\text{NH}_3)$ (cit.²⁷), studium vazby amoniaku na atom mědi, jeho dimer (Cu_2) a trimer (Cu_3) (cit.²⁸) a studium výměnné reakce $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{2+/3+}$, které ukazuje odvození kinetických rovnic a výpočet rychlostních konstant pro procesy, ve kterých vystupují koordinační sloučeniny²⁹. Tento výčet, který si nečiní nárok na úplnost, bych zakončil poukazem na studii, která má přímý vztah ke způsobu vazby karbo-

xylátů (Asp^- , Glu^-) v metaloproteinech obsahujících zinek (II)³⁰. Vazba se může realizovat čtyřmi způsoby: bidentátně, monodentátně, *syn* a *anti*. Tyto způsoby jsou znázorněny na obrázku 3.

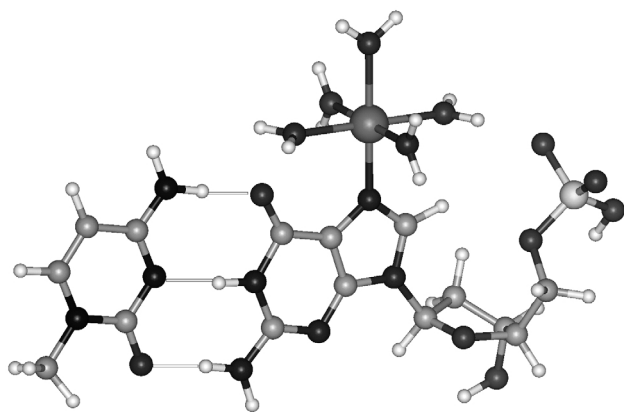
Všechny čtyři způsoby byly vyšetřeny pomocí metody DFT/B3LYP. Bylo zjištěno, že jsou-li ostatní ligandy v tetrakoordinovaném komplexu neutrální (celkový náboj systému je +1), je rozdíl mezi mono- a bidentátním vazebným módem velmi malý (2,5 kcal.mol^{-1}). Avšak je-li zde další záporně nabitý ligand, je preferován monodentátní způsob (tedy vazba přes jeden atom kyslíku). Celkově se dá říci, že rozdíl mezi oběma způsoby je malý a konkrétní realizace může být určena interakcemi s druhou solvatační sférou nebo sousedními ligandy. Energetický rozdíl mezi vazebným módem *syn* a *anti* při monodentátní vazbě karboxylátu je větší (16 až 22 kcal.mol^{-1} ve prospěch modu *syn*). Rovněž je ve studii zmíněn výpočet vedoucí k odhadu, že pK_a vody vázané k zinku (II) v karboxy-
petidase a termolysinu je 8 až 9.

Věřím, že bylo uvedeno dostatečné množství argumentů a příkladů ilustrujících, proč je důležité studovat struktury menších systémů obsahujících přechodné kovy. Dovolil bych si tyto argumenty shrnout. Díky tomu, že kationty přechodných kovů jsou významnými molekulovými centry, a to kvůli silné elektrostatické interakci s nejbližšími ligandy, lze jejich chemické chování dobře odhadnout ze struktury a vlastností malých komplexů, tedy lokálního chování. Jejich studium nám ozřejmí spinové stavy, ve kterých se přechodné kovy ve vazebných místech biomolekul nacházejí, dále poskytuje informaci o preferovaném koordinačním čísle a koordinační geometrii, lze z něj dobře usuzovat na spektroskopické chování složitějších vazebných míst kovů (určovaném do velké míry lokálním okolím kovu) a na reakční mechanismy, pro které také platí výše zmíněný princip korespondence. Navíc u malých molekul lze lépe provádět porovnání výsledků s experimentem, neboť výpočet není zkrácen přijatým chemickým modelem.

3. Interakce přechodných kovů s bázemi nukleových kyselin, nukleotidy a fragmenty RNA a DNA

Připomeňme si na úvod výše zmíněný důležitý rys interakce kationtů přechodných kovů s ligandy nesoucími parciální záporný náboj, kterým je síla této interakce (měřená například vazebnou energií komplexu kov–biomolekula). Ta přibližně o jeden řád převyšuje nevazebné interakce (ač v úhrnu početnější) stabilizující supramolekulární strukturu biomolekul. Přítomnost kationtu (přechodného) kovu tedy výrazným způsobem ovlivní jinak velmi vyvážené rovnováhy mezi různými formami téhož útvaru. Zdá se, že příroda tohoto fenoménu využívá i v případě struktur DNA a RNA.

Z tohoto důvodu jsou interakce přechodných kovů s bázemi nukleových kyselin a (poly)nukleotidy předmětem intenzivního výzkumu, neboť je téměř jisté, že kovy mají velký význam při replikaci DNA³¹, tedy ovlivňují přenos genetické informace. Jeden z velmi důležitých efektů, pramenící z nespecifické elektrostatické interakce mezi kationtem a záporně nabitou fosfátovou skupinou, vede ke stabilizaci polynukleotidových řetězců. Kromě toho dochází k přímé, tedy specifické vazbě na fosfát, nebo, i když vzácněji, k vazbě na atomy



Obr. 4. Znáznornění interakce pentahydratovaného iontu Cd^{2+} s Watsonovým-Crickovým párem bází dpG-C (dpG, guanin deoxyribonukleotid monofosfát; C, cytosin). Ion kovu se váže k pozici N7 v guaninu

kyslíku z cukerné jednotky. Konečně posledním, avšak velmi důležitým místem vazby kovu jsou vlastní nukleobáze obsahující atomy kyslíku a dusíku. Zde se opět rozlišuje mezi vnější koordinací, většinou zprostředkovanou molekulami vody, a vnitřní koordinací (inner-sphere coordination), kdy je atom báze přímo vázán ke kationtu kovu³². Zatímco interakce ion kovu s fosfátem pravděpodobně převládá v biologických polynukleotidech, vnitřní koordinace kov–nukleobáze je velice důležitá v několika genetických procesech. Je celkem všeobecně známo, že nejlepší vazebné místo pro kov je pozice N7 v guaninu. Dále následují atom O6 v guaninu, N3 v cytosinu, N7 a N1 v adeninu, N3 v adeninu a guaninu³³. Je ale třeba mít na paměti, že ne všechna tato místa jsou přístupná po spárování bází. V přírodě se lze s těmito interakcemi setkat v několika případech. Ukazuje se například, že koordinace iontu Zn^{2+} na dusík N7 guaninu a adeninu v 5 S RNA genové sekvenci *Xenopus borealis* má za následek silný ohyb molekuly³⁴. Kationty Mn^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} a Cd^{2+} zase stabilizují jisté typy intramolekulárních purin•purin•pyrimidin DNA triplexů, patrně díky vazbě na místa N7 guaninů a adeninů³⁵. Rovněž chemoterapeutický účinek *cis*-diammindichloroplatinatého (DDP) komplexu je dán vazbou platiny(II) na pozici N7 v purinových nukleotidech³⁶.

Po shrnutí stavu problematiky v oblasti interakcí přechodných kovů s RNA, DNA a jejich složkami bych na několika vybraných pracích ukázal, jak konkrétně kvantově-chemické výpočty přispívají nejen k akumulaci, ale i třídění a zpřesňování těchto znalostí. Chemickým modelem je zpravidla hydratovaný kation kovu a fragment molekuly DNA či RNA (většinou však pouze pár bází). Fyzikálními veličinami, které se získávají z výpočtu, jsou *a*) rozdíly v interakčních energiích jednotlivých iontů se studovanými fragmenty, které jsou vodítkem při rozhodování o specifitě interakce, *b*) rovnovážné vzdálenosti v optimalizovaných strukturách, které poskytují informace o místě vazby kovu a geometrických změnách, které tuto vazbu provázejí, *c*) energetické bilance vztahující se k rozličným konstantám rovnováh (tautomerizace, protonizační) a konečně *d*) parciální náboje na jednotlivých atomech, dipó-

lové momenty a mapy elektronových hustot, které umožňují vypočtené číselné hodnoty veličin *a*)–*c*) převést do chemicky srozumitelných termínů (elektrostatické příspěvky, ion-dipólové příspěvky, přenosy náboje atp.). Na rozdíl od komplexů malých molekul však není optimalizace molekulové geometrie a nalezení globálního minima snadnou záležitostí. Jednak jsou minima na povrchu potenciální energie slabě vázaných systémů velmi plochá (což v praxi znamená přísná konvergenční kritéria), jednak tento povrch obsahuje množství lokálních minim, ve kterých může minimalizační algoritmus skončit. Je tedy nutné zkoumat paralelně několik možných struktur (jejich počet a odhad počátečních geometrií je víceméně věcí zkušenosti) a srovnáním celkových energií získat globální minimum. Pro dokreslení situace je na obrázku 4 znázorněna modelová situace interakce hydratovaného kationtu kovu s párem bází.

Co se týká kvantově-chemických metod, v případě interakce Watsonova-Crickova páru bází s kationtem kovu se jeví jako neefektivnější používat hybridní metody DFT (např. B3LYP). V případě, že chemický model obsahuje patrové interakce (báze jsou umístěny nad sebou), mohou metody DFT selhat, a je nutné přejít k výpočetně náročnějším metodám. Většinou se používá Møllerovy-Plessetovy poruchové metody druhého řádu (MP2).

První ilustrativní příklad, týkající se konkrétních kvantově-chemických výpočtů, bude pojednávat o vlivu kationtů na stabilitu párů bází nukleových kyselin. V sérii prací^{37–39} byly zkoumány parametry interakce přechodného kovu s páry bází či celými nukleotidy, a to Watsonovými-Crickovými adenin–thymin (AT), cytosin–guanin (CG) a reverzními Hoogsteenovými AA, GG. Bylo zjištěno, že tzv. energie BPE (base pairing enhancement, rozdíl energie při párování bází bez a v přítomnosti kovu) je –6 až –14 kcal.mol^{–1}, tedy pár bází je kovem stabilizován. Důležitá je však přítomnost záporně nabitých fosfátových skupin stínící ion kovu (celý systém pak má náboj +1), která činí definici energie BPE smysluplnou.

Není-li modelový systém jako celek elektroneutrální, lze přesto srovnávat interakční energie a geometrické parametry vazby stejně nabitých kationtů k nukleobázím, a z těchto usuzovat na jejich biologickou roli. Velmi zajímavý je v tomto ohledu rozdíl v chování jednotlivých iontů, který byl podrobně rozebrán na případu Zn^{2+} versus Mg^{2+} . Je známo, že tyto dva kationty mají rozdílnou roli v určitých biochemických procesech, zatímco v jiných je jejich role identická⁴⁰. Výpočty interakcí těchto kovů (hydratovaných) s nukleobázemi odhalily rozdíl v jejich chemickém chování³⁷. Rozkladem celkové energie systému hydratovaný kov + báze se zjistilo, že interakce zinku s bází je podstatně silnější, avšak na úkor oslabení interakce s vodami první koordinační sféry. U hořčičku je tomu naopak. Systém se zinkem může být tedy spíše považován za hydratovaný metalo-komplex, zatímco s hořčičkem jako komplex hydratovaného kationtu s bází. Tento fakt se vysvětluje vyšším kovalentním příspěvkem ve vazbě Zn–N7. Tedy zinek má spíše tendenci se pevně vázat k bází a měl by mít flexibilnější solvatační sféru, zatímco hořčičk by se měl snáze uvolnit z této vazby do roztoku.

V dalším příkladu bude rozebrán možný vliv kationtů přechodných kovů na vznik vzácných tautomerů posunutím protonizační rovnováhy⁴¹. Usuzuje se, že tyto vzácné tautomery poté mohou způsobovat vznik nesprávných párů (mismatch pairs, mispairs), a tedy poruchy v přepisu genetické informace.

Princip celého jevu spočívá v posunu vyvážené rovnováhy mezi jednotlivými tautomery způsobeném přítomností kovu. Z experimentů zaměřených na acidobazické chování jednotlivých vodíků v bázích⁴² je zřetelná změna jejich acidity při vazbě báze na kov (například pK_a protonu v pozici N1 klesá o 1,5–2, tento se stává kyslejší). Stejnou odpověď poskytuje i analýza krystalových struktur⁴³, kde byl nalezen guanin deprotonovaný v pozici N1 a s kovem vázaným v pozici N7. Z těchto důvodů byly podrobeny kvantově-chemickému zkoumání dva elektroneutrální komplexy:

- $\text{Hg}(1,3\text{-DimeU}^--\text{C5})(9\text{-MeA}^--\text{N6})$, kde 1,3-DimeU⁻ je 1,3 dimethyl uracilový a 9-MeA⁻ 9-methyladeninový anion s kovem navázaným ve vyznačených pozicích (obr. 5a).
- $\text{trans}-(\text{am})_2\text{Pt}(1\text{-MeC}^--\text{N4})_2$, kde am = NH_3 nebo CH_3NH_2 , 1-MeC⁻ je methylcytosinový anion s kovem vázaným v pozici N4 (obr. 5b)

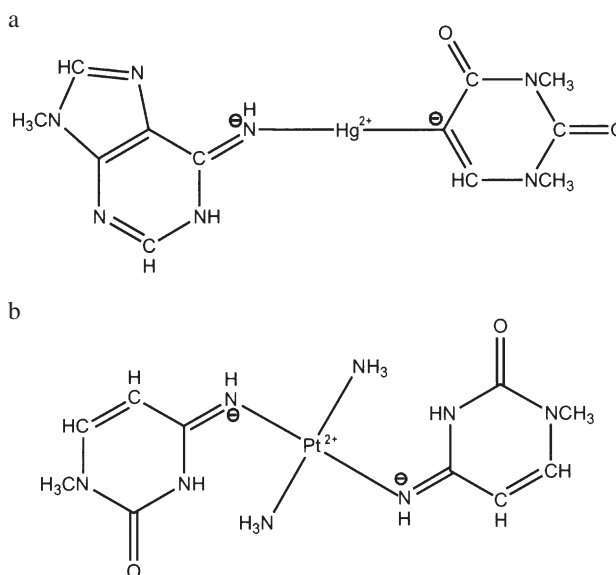
Výpočty⁴¹ prokázaly, že vazba kovu destabilizuje neutrální imino tautomery s úplně deprotonovanou aminoskupinou o 2 až 10 kcal.mol⁻¹. Na druhou stranu má za následek, že protonizační energie aromatického kruhu báze je o 30 až 34 kcal.mol⁻¹ (Pt^{2+}), resp. 10 až 14 kcal.mol⁻¹ (Hg^{2+}) příznivější. Přesně stejný posun protonu byl sledován i v experimentálních studiích. Efekt se nazývá vytvoření metalické formy vzácných imino tautomerů bází nukleových kyselin a může vést ke stabilizaci nesprávných párů. Je zde tedy jistý náznak procesu, který může být odpovědný za mutagenní aktivitu mnohých kovů.

Věřím, že z výše uvedených příkladů je patrné, jak široké možnosti uplatnění má teoretická chemie při výzkumu struktury a chování nukleových kyselin. Zároveň je nutno poznamenat, že v této podoblasti je stále mnoho nevyřešených problémů, které budou vyžadovat realističtější modely a přesnější výpočty.

4. Struktura, funkce a spektroskopické chování vazebných míst kovů v metaloproteinech

Jestliže se dá role přechodných kovů ve fragmentech RNA a DNA stručně charakterizovat jako strukturní, v metaloproteinech k ní přibývá ještě role funkční, kterou dělíme na dvě podskupiny. První podskupina zahrnuje ty systémy, ve kterých se přechodný kov či jeho kation přímo účastní přeměny substrátu, avšak jeho elektronový stav zůstává nezměněn. Druhá podskupina pokrývá zbývající systémy, ve kterých přechodný kov při katalytickém procesu mění své oxidační číslo. Tyto procesy jsou zpravidla spojeny s přenosem elektronu mezi jeho účastníky. Pro větší přehlednost této podkapitoly bude dále zachováno toto dělení, tedy nejprve se zaměříme na strukturní roli přechodných kovů, která úzce souvisí s jejich interakcemi s aminokyselinovými zbytky, dále budou probrány teoretické modely aktivních míst v metaloproteinech první podskupiny a nakonec redoxní procesy v metaloproteinech druhé podskupiny.

Vazebná místa kovů v metaloproteinech mohou vypadat různě. Přesto mají charakteristické rysy, kterými se výrazně odlišují od způsobu vazby kov–krátký peptid. Krátké peptidy interagují s kovy především prostřednictvím koncových skupin, tedy COO^- a NH_2 , a tvoří komplexy 1:1, 1:2, případně 1:3 (molární poměr kov:peptid)⁴⁴. Postranní řetězce aminokyselin pak vzniklé komplexy (cheláty) pouze dodatečně stabi-



Obr. 5. Strukturní vzorce komplexů: a) $[\text{Hg}(1,3\text{-DimeU}^--\text{C5})(9\text{-MeA}^--\text{N6})]$, b) $\text{trans}[\text{Pt}(1\text{-MeC}^--\text{N4})_2(\text{NH}_3)_2]$, které byly použity jako modelové struktury ve studii týkající se stabilizace vzácných tautomerů vazbou ke kationtu kovu

lizují. Naproti tomu vazba kovu v metaloproteinu se odehrává převážně prostřednictvím postranních řetězců aminokyselin. Ve většině zbylých případů se tvoří vazba prostřednictvím karbonylového kyslíku peptidové vazby a pouze v malém počtu případů se vazby účastní deprotonovaný dusík peptidové vazby či koncové karboxylové a aminové skupiny. Poměr kov:protein je ve vzniklých komplexech téměř výlučně 1:1 (s výjimkou polynukleárních center, kde tento poměr může být i například 2:1).

Z teoretických studií pojednávajících o interakcích volných aminokyselin a malých peptidů s kovy lze uvést práce Hoyaua a Ohanessiana⁴⁵ a de Bruina a spol.⁴⁶ V první z nich autoři studují vazbu volných molekul glycinu, serinu a cysteinu s kationtem Cu^+ . Cílem práce je prozkoumat několik konformačních isomerů a taktéž zwitteriontové formy od každé aminokyseliny a způsob jejich vazby k mědi (I). Jako energeticky nejvýhodnější vychází u glycinu vazba prostřednictvím koncových skupin COOH a NH_2 (bidentátní chelát), která je navíc u serinu a cysteinu doplněna koordinací postranních řetězců CH_2OH , resp. CH_2SH . V tomto pořadí jsou i jejich vazebné energie: $E_b(\text{Gly}) < E_b(\text{Ser}) < E_b(\text{Cys})$, což je ve shodě s experimentálním pořadím relativních afinit a-aminokyselin k Cu^+ . Pro zajímavost, nejlepší odhad komplexační energie D_0 (tedy včetně zahrnutí energií nulových bodů reaktantů i produktů) získaný výpočtem činí pro glycin 64,3 kcal.mol⁻¹. Je-li tento odhad doplněn výše uvedenou řadou experimentálních relativních afinit, lze získat řadu absolutních afinit, tedy veličiny, které lze posléze přímo porovnávat s experimenty v plynné fázi.

Ve druhé práci⁴⁶ se pak autoři zabývají strukturou a vlastnostmi komplexu bis-(glycinato)- $\text{Cu}^{\text{II}} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$. Dvě molekuly glycinu se váží ve čtvercově planárním uspořádání (komplex 1:2), dvě zbývající axiální pozice jsou doplněny dvěma molekulami vody. Pomocí DFT/B3LYP metody byla nalezena dvě

minima na povrchu potenciální energie tohoto systému, z nichž jedno odpovídá *trans* (dusíkové a kyslíkové atomy naproti sobě), druhé *cis* konfiguraci (dusík a kyslík vedle sebe). Ve shodě s experimentálními daty vychází, že ve vakuu je *trans* struktura o 18 kcal.mol⁻¹ stabilnější, kdežto v modelovém vodném prostředí se tento rozdíl snižuje na 10 kcal.mol⁻¹. Výsledné geometrie pak do velké míry závisí na počtu vodíkových vazeb mezi karboxyláty, aminoskupinami na jedné straně a zbývajících dvěma molekulami vody na straně druhé, které soutěží s axiálními interakcemi Cu²⁺...OH₂. Tento poznatek upozorňuje na důležitost nevazebných interakcí typu ligand–ligand v komplexech přechodných kovů.

Asi nejobecnější práce pojednávající o teoretických výpočtech interakcí mezi všemi aminokyselinovými zbytky schopnými tvořit koordinační vazbu s přechodnými kovy (tedy postranními řetězci obsahujícími kyslík, dusík, síru a fragmenty CH₃CONHCH₃, CH₃CONCH₃, reprezentujícími kyslík a deprotonizovaný dusík peptidové vazby), byla provedena v naší laboratoři²¹. Pro každý z vybrané série kovů (Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, Hg²⁺) byly provedeny výpočty interakčních energií ve čtyřech nejběžnějších koordinačních geometriích (lineární, tetraedické, čtvercové planární a oktaedrické) za účelem kvantitativního vyhodnocení selektivity příslušných aminokyselinových zbytků k vybraným kovům. Výpočty byly provedeny metodou DFT/B3LYP, přičemž interakční energie byla definována jako energie záměny jedné vody v příslušném aquakomplexu [Me(H₂O)_n]²⁺ (*n* je koordinační číslo) za funkční skupinu reprezentující postranní řetězec aminokyseliny. Práce pojednává o třech klíčových faktorech určujících selektivitu vazebného místa pro daný kov. Prvním faktorem je preference kovu pro danou koordinační geometrii, diskutovaná výše. Druhým je optimální velikost dutiny ohraničené *n* donorovými atomy ligandů, která by měla co nejlépe korelovat s iontovým průměrem kovu. Ten se dá odvodit z výpočtu jako průměrná rovnovážná vzdálenost mezi kovem a sérií ligandů, tvořenou v tomto případě aminokyselinovými zbytky. Pro zajímavost, byl nalezen následující bezrozměrný poměr iontových poloměrů kationtů studovaných kovů:

$$r(\text{Co}^{2+}) : r(\text{Ni}^{2+}) : r(\text{Cu}^{2+}) : r(\text{Zn}^{2+}) : r(\text{Cd}^{2+}) : r(\text{Hg}^{2+}) = \\ = 1,01 : 1 : 1 : 1,01 : 1,12 : 1,15$$

Třetím, a patrně nejdůležitějším faktorem je různá afinita přechodných kovů k aminokyselinovým zbytkům. Pojednává o ní semikvantitativní teorie tvrdých a měkkých kyselin a zásad (HSAB, hard and soft acids and bases) Parra a Pearsona. Podle této teorie platí, že čím je u kovu menší poměr poloměr/náboj, tím výrazněji preferuje ligandy stejného charakteru (tedy malé a záporně nabitě) a naopak. Například lze očekávat, že kation Co³⁺ bude preferovat karboxyláty, zatímco Hg₂²⁺ thiolovou skupinu. Je tedy nasnadě tuto afinitu kvantifikovat, k čemuž byly právě použity vypočtené interakční energie a z nich odvozené faktory selektivity. Ve shodě s experimentálními poznatky se zcela přesvědčivě ukázalo, že mezi neutrálními ligandy má nejpříznivější interakční energii histidin, který je také nejhojněji zastoupeným zbytkem účastnícím se vazby na kov v metaloproteinech. Dokonce výpočty ukázaly,

že po vazbě na kov se mění rovnováha mezi jeho isomery. Ve volné formě je energeticky výhodnější 4-methylimidazol, zatímco po vazbě na kov je tomu naopak. To přesně koreluje s četností jejich zastoupení (koordinace prostřednictvím Nε, odpovídající 5-methylimidazolu, je asi dvakrát častější) ve vazebných místech metaloproteinů. Mezi záporně nabitými ligandy vychází nejpříznivější interakční energie pro Cys⁻, následovaném Glu⁻, Asp⁻, Tyr⁻, což opět koreluje s tím, že tyto ligandy jsou na druhém až pátém místě v četnosti zastoupení v metaloproteinech. Přes velkou celkovou afinitu histidinu se však ukázalo, že je ke studovaným kovům velmi málo selektivní. Naopak ligandy obsahující síru (Cys, Met) by měly patřit mezi nejvíce selektivní zbytky.

Po uvedení přehledu prací pojednávajících o interakcích kationtů přechodných kovů s aminokyselinami lze přejít k modelům vazebných míst kovů v metaloproteinech. Jedna z prvních studií týkajících se působení kovu v aktivním místě enzymu pochází z počátku 90. let (cit.⁴⁷). Autoři se zabývají teoretickými výpočty vlastností aktivního místa karboanhydrasy (CA, carbonic anhydrase), enzymu, který posunuje rovnováhu reakce H₂O + CO₂ ↔ H₂CO₃. V nativní formě enzymu je v aktivním místě ion zinku (II), který je vázán ke třem histidinovým zbytkům a výrazně snižuje protonovou afinitu čtvrtého ligandu – hydroxidového iontu, který v reakci vystupuje jako nukleofilní centrum⁴⁸. Experimentální studie ukazují, že zatímco po substituci Zn²⁺ za ion Co²⁺ zůstává aktivita enzymu zachována, ionty Mn²⁺ a Cd²⁺ působí jako katalytické jedy. Cílem studie⁴⁷ je vysvětlení tohoto fenoménu. Byl použit zjednodušený model, kde histidiny byly nahrazeny molekulami amoniaku, a zkoumány tetra- a pentakoordinované komplexy, kde čtvrtá pozice byla obsazena hydroxidovým iontem a pátá molekulou vody. Výpočty prokázaly rozdíly v energetických bilancích pro Co²⁺, Zn²⁺ na jedné straně a Cd²⁺, Mn²⁺ na straně druhé. Pro první dva ionty je výhodnější setrvat v tetraedrickém koordinačním uspořádání s molekulou vody vytlačenou až do druhé solvatační vrstvy, zatímco druhé dva preferují pentakoordinaci s molekulou vody v první koordinační sféře. Tento fakt vede ke zhoršení přístupnosti aktivního místa, tedy hydroxidového iontu pro molekulu CO₂ a ke ztrátě aktivity. Silnější vazba vody k vazebnému místu s Cd²⁺ a Mn²⁺ se dá nazvat inhibičním účinkem.

Dalším zajímavým enzymem je alkoholdehydrogenasa (ADH), která katalyzuje vratnou oxidaci primárních a sekundárních alkoholů a využívá molekuly NAD⁺ jako koenzymu^{49,50}. Ve svém aktivním místě má rovněž zinek (II). Jelikož byla experimentálně provedena řada substitučních studií v aktivním místě enzymu⁵¹, stal se rovněž objektem zájmu teoretických chemiků. Zajímavou práci, pojednávající o substituci zinku (II) za kadmium (II) publikovali Ryde a Hemmingsen⁵². Za účelem interpretace experimentálních dat získaných metodou porušené úhlové korelace γ paprsků byla provedena optimalizace geometrií 11 různých struktur aktivního místa Cd-substituované ADH s koenzymem, bez koenzymu a s dalšími neproteinovými ligandy za pomoci kombinovaných metod QM/MM (quantum mechanics/molecular mechanics). Rovnovážné geometrie nevykazovaly výrazné rozdíly od nativních struktur (samozřejmě až na vzdálenosti kov–ligand), z čehož plyne, že kadmium by mohlo sloužit jako dobrá strukturní

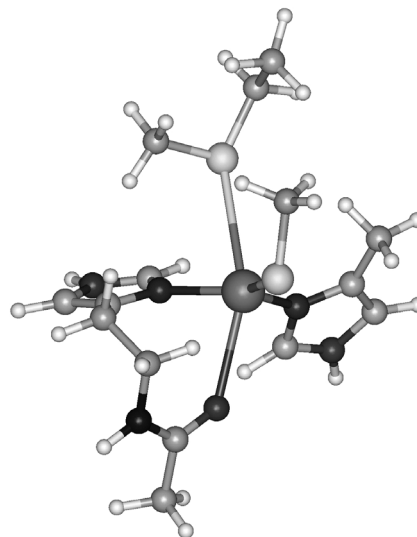
* Tento ligand reprezentuje strukturní molekulu vody při vysokém pH, při kterém enzym působí.

sonda pro koordinační geometrie zinku (II). Velmi dobrá shoda gradientu elektrického pole vypočteného v bodě totožném s jádrem kadmia s experimentální hodnotou pro tetrakoordinovaný komplex potvrzuje, že by se koordinace na iontu kovu neměla při substituci měnit. Důsledkem této shody je potvrzení domněnky, že čtvrtým ligandem tvořícím vazbu s kovem by měl být Glu-68.

Po dvou příkladech metaloenzymů, ve kterých je kov přítomen v katalytickém centru, ale neúčastní se přenosu elektronů, lze přejít k poslední skupině, tedy metaloproteinům obsahujícím redoxní centra. Předem je nutno poznamenat, že tato skupina je zřejmě teoreticky nejobtížnější. Aktivní místa těchto enzymů většinou obsahují více iontů kovu spojených rozličnými strukturními vzory. Někdy se přímo vyskytují vazby typu kov–kov, jindy jsou interakce mezi kovy zprostředkovány thiolátovými, karboxylátovými, či oxo-můstky. Zde je prvním problémem sestavení přijatelného chemického modelu (tedy o velikosti, která nepřesahuje současné možnosti výpočetní chemie) tak, aby byly zachovány všechny podstatné rysy skutečného místa a aby se všechny fyzikálně-chemické procesy odehrály uvnitř modelu. Druhým, neméně obtížným problémem je určení správného elektronového stavu studovaného systému. Díky vazbě nebo alespoň silné interakci mezi kovy (například tzv. (anti)feromagnetické vazbě) jde o netriviální problém a stále ještě existují systémy, kde není uspokojivě vyřešen⁵³. Mnohdy tyto problémy přesahují hranice standardních metod elektronové struktury, a do výpočtu je pak nutné explicitně zahrnout spin-spinovou interakci.

K „jednodušším“ systémům této skupiny patří proteiny typu „blue copper“ (např. nitritreduktasa, pseudoazurin, bazický okurkový protein, plastocyanin), obsahující mononukleární centra. Důležitým procesem je zde oxidace mědi Cu^+ na Cu^{2+} a mezi jejich neobyčejné vlastnosti patří intenzivní modrá barva (pásky u 460 a 600 nm), charakteristická spektra elektronové spinové resonance (ESR), vysoké redoxní potenciály, doprovázené ještě neobvyklou geometrií vazebného místa kovu. Ion mědi je vázán v trigonálním uspořádání (Cys a dva His ligandy), kdežto v axiálních polohách je slabě vázán Met a v některých z nich ještě karbonylový kyslík z proteinové páteře. Na obrázku 6 je znázorněna struktura vazebného místa mědi (II) v jednom ze zástupců této třídy proteinů – azurinu.

Díky výše uvedeným vlastnostem byly tyto proteiny námětem několika teoretických studií^{54–56}. Tyto studie především prokázaly, že struktura modelového místa ve vakuu je téměř identická s krystalovou strukturou proteinu. Tím byly popřeny teorie, které vysvětlovaly tyto vlastnosti pomocí velké rigidity proteinové struktury, nutící ion Cu^{2+} zaujímat identické koordinační uspořádání, jako má ion Cu^+ před oxidací, což mělo mít za následek velký konformační stres ve struktuře. Při hledání alternativního vysvětlení se nejprve hledala odpověď na otázku, proč tyto proteiny preferují trigonální bipyramidální uspořádání, když většina komplexů mědi je čtvercově planárních. Vysvětlení přinesla analýza elektronové struktury, která ukázala, že zatímco vazby σ mezi ligandy a kovem vedou k čtvercově planárnímu uspořádání, π vazby (které lze chápat jako interakce neobsazených d orbitalů na atomu síry s obsazenými d orbitaly atomu kovu) formálně obsazují dvě pozice v koordinační sféře kovu; tedy pro ligandy obsahující atomy síry (Cys, Met) lze očekávat výrazné odchylky od čtvercově planárního uspořádání. Od porozumění strukturním rysům vede další krok k výpočtu spektroskopických vlastností těchto



Obr. 6. Vazebné místo mědi (II) v azurinu získané z krystalové struktury tohoto enzymu. Třemi ekvatoriálními ligandy jsou dva histidiny a cystein (na obrázku ve vertikálním směru), zatímco v axiálních polohách jsou slabě vázány methionin a peptidový kyslík glycínu sousedícího s histidinem

systémů a jejich vztahu ke struktuře. Elektronová spektra byla vypočtena pomocí metody CASPT2 a šest nejnižších excitací bylo určeno s chybou menší než 1800 cm^{-1} . Díky použití multikonfigurační metody bylo snadné dva píky ve viditelné oblasti spektra interpretovat jako excitace způsobené přenosem náboje mezi cysteinem a mědí: jeden (600 nm) z vazebného π orbitalu a druhý (460 nm) z vazebného σ orbitalu. Poměr jejich intenzit pak závisí na struktuře vazebného místa kovu. Proteiny typu „blue copper“ s trigonální strukturou mají nízký poměr $\epsilon_{460}/\epsilon_{600}$, zatímco u struktur s čtvercově planárním uspořádáním je tomu naopak. Posledním fenoménem, který byl podroben teoretickému zkoumání, jsou redoxní potenciály komplexu. Bylo například prokázáno, že axiální ligandy mají na jejich hodnotu malý vliv, zatímco solvatační efekty jejich hodnotu ovlivňují významným způsobem.

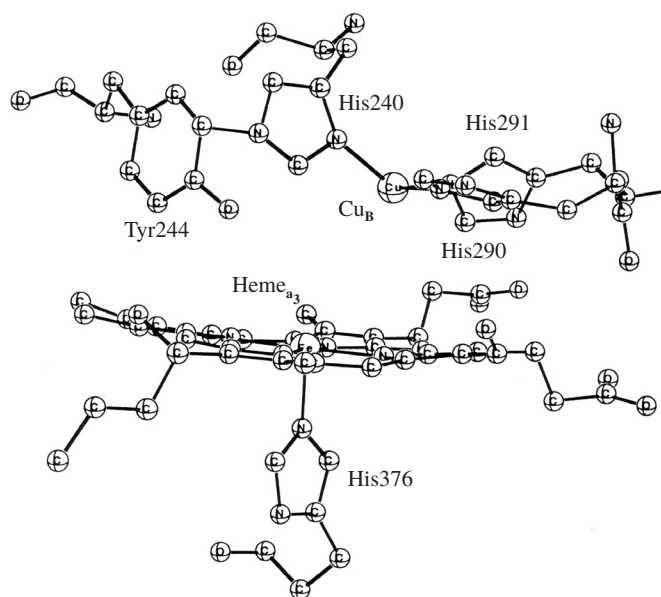
Poslední část této podkapitoly se bude týkat pokroků dosažených při studiu systémů obsahujících více atomů kovu v aktivním místě. Mimo jiné bude na příkladu dvou systémů, cytochromu *c* oxidasy a fotosystému II, demonstrováno použití kvantově-chemických metod pro vysvětlení reakčních mechanismů v systémech, kde dochází k přenosu elektronů.

Cytochrom *c* oxidasa (CcO) zprostředkovává redukci O_2 na vodu, přičemž získaná energie je uložena ve formě ATP. Při tomto procesu nastává relativně komplikovaný tok elektronů a protonů, jehož detailní znalost je nutná k tomu, aby se vůbec mohlo začít s výpočty. Vlastní reakce probíhá v binukleárním centru se dvěma atomy kovů, mědí vázanou ke třem histidinům a železu obsaženému v hemové jednotce a_3 , ke kterému se v axiální poloze váže ještě jeden histidin. Struktura tohoto komplikovaného centra je znázorněna na obrázku 7.

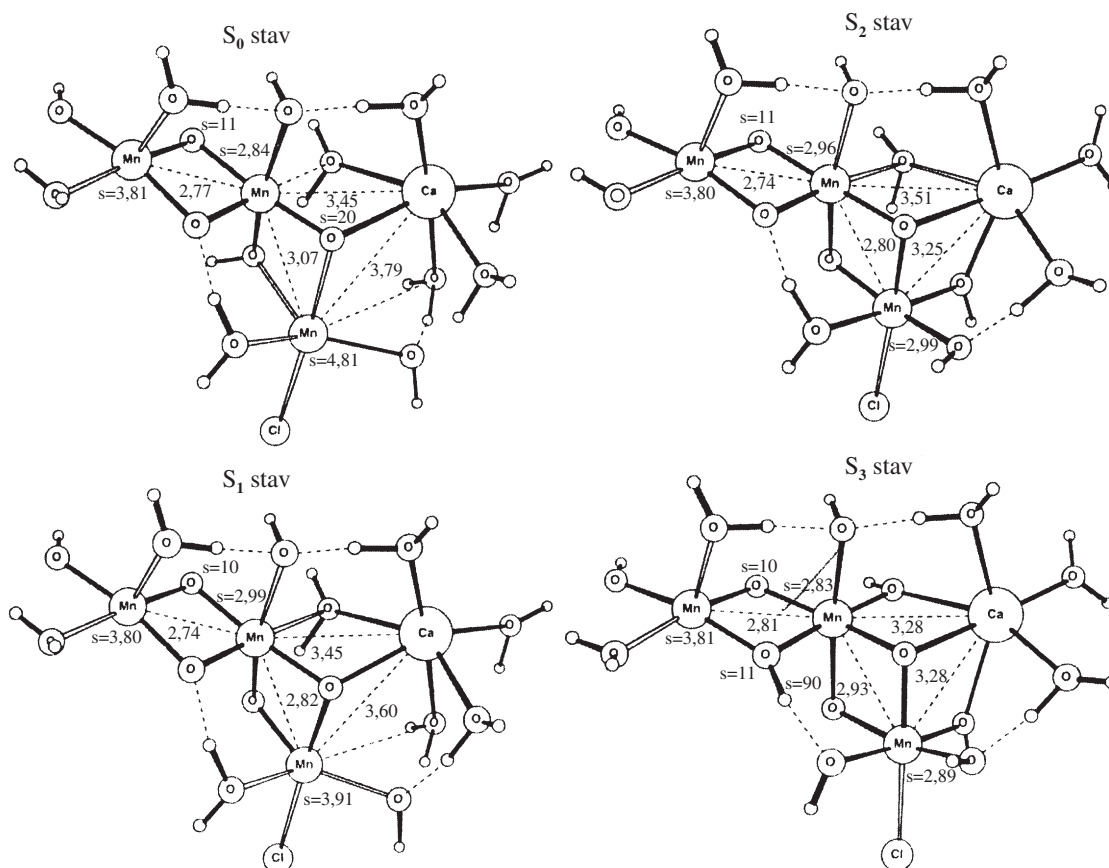
Stav centra před reakcí je Cu (I)–Fe (II) a po reakci se mění na Cu (II)–Fe (III). Zbývající dva elektrony, potřebné k plné redukci O_2 , přicházejí ze sousedního hemu_a. Tento základní model byl použit při kvantově-chemickém studiu⁵⁷, přičemž

je známo, že reakční mechanismus musí splňovat tato kritéria: *i)* každý reakční krok musí být přibližně termoneutrální, aby se energie nevyplývala ve formě tepla; *ii)* nesmějí být přítom-

ny vysoké energetické bariéry pro tvorbu meziproduktů a tranzitní stavy; *iii)* reakce musí především zvyšovat elektronovou afinitu aktivního místa.



Obr. 7. Struktura binukleárního centra Cu-Fe v katalytickém místě cytochrom *c* oxidasy⁵⁷



Obr. 8. Modelové struktury jednotlivých stavů S_0 až S_3 v katalytickém centru WOC⁶⁵

První krok ve složité kaskádě následných dějů je aktivace molekuly O_2 vazbou na Fe (II) v hemu. Kyslík je zde velmi slabě vázán, jak vyplývá z vypočtené hodnoty vazebné energie (2 kcal.mol^{-1}) (cit.⁵⁸). Druhým krokem je vznik komplexu, který byl z optických spekter interpretován jako $(\text{porf})\text{Fe(III)}-\text{O}-\text{OH}$ (cit.⁵⁹). Proton pochází z molekuly vody slabě vázané na druhé centrum, Cu (I). Ve stejné chvíli je zároveň přenesen elektron z mědi a výsledkem tohoto druhého kroku je stav $\text{Fe (III)}-\text{O}-\text{OH} + \text{Cu (II)OH}$. Tato reakce je endotermická (6 kcal.mol^{-1}). Třetí krok je rozštěpení $\text{O}-\text{O}$ vazby a vznik oxoferrylového meziprojektu $(\text{porf})\text{Fe (IV)}=\text{O}$. Existují rozpory, zdali k tomuto procesu dochází před nebo po příchodu třetího elektronu ze sousedního hemu. Zde se naskytá možnost, jak kvantově-chemickým výpočtem rozhodnout mezi těmito dvěma hypotézami. Byly proto vypočteny hodnoty reakčních energií pro obě možnosti (6 kcal.mol^{-1} a 30 kcal.mol^{-1}). Jelikož ve druhém případě je reakce příliš exotermická a přebytek energie by se vypotřeboval na tvorbu tepla, musí ke štěpení dojít před příchodem třetího elektronu. Reakční energie je využita ke zvýšení elektronové afinity binukleárního centra, která je vlastní hnací silou pro přenos elektronu. Po rozštěpení $\text{O}-\text{O}$ vazby je proces dokončen transportem protonů, jejichž cesty jsou známy, na O^{2-} (cit.⁶⁰).

Podstatně těžší je výzkum reakčního mechanismu v komplexu oxidujícím vodu (WOC, water oxidizing complex) ve fotosystému II. Při této unikátní reakci je energie čtyř světelných fotonů přeměněna v energii chemickou za vzniku molekuly O_2 . Ač je výzkumu tohoto systému věnováno nesmírné úsilí, stále panuje mnoho nejistot okolo jednotlivých kroků v procesu. Zároveň však představuje jednu z největších výzev v dnešní chemii⁶¹. Velkým problémem je fakt, že dosud nebyla vyřešena krystalová struktura komplexu, což činí jakékoliv detailní předpovědi mimořádně obtížnými. Pro počáteční výpočty se však jeví jako dostatečné informace, které podávají měření EXAFS. Je tedy známo, že WOC obsahuje čtyři atomy manganu a též zřejmě vápník a chloridový anion. Oxidace vody probíhá ve čtyřech krocích⁶². Meziprojektu se označují S_0 až S_4 , z nichž struktury S_0 až S_3 jsou znázorněny na obrázku 8.

Základním stavem před reakcí je S_1 . V každém kroku vede absorpce fotonu k separaci náboje, proton i elektron pak každý zvlášť opouští WOC. Jedna ze studií provedených metodou DFT/B3LYP testovala hypotézu, že jedním z úkolů tyrosinu, který v každém S stavu vystupuje jako tyrosylový radikál, je odebrání vodíkových atomů z ligandů vody a hydroxidu v klastru manganu⁶³. Výpočty bylo prokázáno, že takový proces je možný, tedy síla vazby $\text{O}-\text{H}$ v molekule vody a hydroxylu koordinovaném k manganu je přibližně stejná jako ve volném tyrosinu. V dalším studiu byl učiněn pokus modelovat celou sekvenci událostí za použití pouze jednoho manganového centra⁶⁴. Nejdůležitějším poznatkem byl fakt, že pro typické redoxní reakce ve slabém ligandovém poli je nesmírně důležitá poloha excitovaných stavů před a po reakci. Buď excitovaný stav reaktantu, korespondující se základním stavem produktu, nebo excitovaný stav produktu, korespondující se základním stavem reaktantu, musí ležet dostatečně nízko. V případě oxidace vody to znamená, že nejprve musí být v S_3 stavu vytvořen radikál kyslíku a teprve poté může dojít k vytvoření O_2 . V nejnovější studii⁶⁵ je již zkoumán model obsahující všechny atomy manganu spojené oxo- můstky. Z výsledků výpočtů lze usuzovat, že pouze jeden z atomů manganu vykazuje redoxní aktivitu. Vápník má roli silně chelatujícího

kofaktoru, který napomáhá vytvoření nezbytného radikálu kyslíku. Vlastní tvorba vazby $\text{O}-\text{O}$ by pak mohla probíhat v nekompletní kubanové struktuře (s jedním chybějícím vrcholem), z nichž ve dvou vrcholech jsou atomy manganu a v jednom ion vápníku, zbylé jsou pak tvořeny oxo- můstky. Externí molekula vody, která poskytuje druhý kyslík, vstupuje právě do tohoto volného rohu. Tyto výsledky jsou ve shodě s experimenty EXAFS. Ač se tyto teoretické studie zatím zabývají modelovými strukturami, je obdivuhodné, jakým způsobem pomáhají skládat z neúplných střípků experimentálních informací výsledný obraz.

5. Perspektivy kvantové bioanorganické chemie

V referátu byl prezentován průřez studiemi, týkajícími se interakcí přechodných kovů a jejich kationtů s molekulami RNA/DNA, aminokyselinami, peptidy a proteiny. Důraz byl kladen ne tak na úplnost výčtu všech prací z této oblasti, jako spíše na podrobnější rozebrání některých příkladů. Věřím, že byly srozumitelně vysvětleny postupy, které se při teoretickém studiu používají. Přestože je zatím studium vazebných míst kovů v biomolekulách v počátcích, dosažené výsledky jsou optimistické.

Pro větší úplnost tohoto referátu bych si dovilil připomenout, že i v relativně mladé oblasti, jakou je kvantová bioanorganická chemie, již byla napsána řada souhrnných článků. V těch lze nalézt mnoho informací komplementárních nebo částečně se překrývajících s obsahem referátu. Kromě monografií citovaných v předešlém článku¹, které shrnují jak experimentální, tak teoretické znalosti o přechodných kovech v biologických systémech, lze poukázat na souhrnné práce Zieglerovy z první poloviny 90. let^{66,67}, ve kterých popisuje první úspěšné výpočty pomocí metod DFT a ukazuje jednoduché prostředky umožňující analýzu vlnové funkce (nebo matice elektronové hustoty) v pojmech bližších chemickému uvažování. Rovněž z počátku 90. let je Veillardova práce⁶⁸, v níž shrnuje výpočty struktury a vlastností organokovových sloučenin. Cory a Zerner⁶⁹ shrnují studie týkající se elektronové výměny mezi kovem a ligandem, která má význam ve spektroskopii těchto systémů. Velmi srozumitelná široká okruhu chemiků se mi jeví práce Deetheho⁷⁰, která se snaží v jednoduchých pojmech popsat výpočetní chemii pro systémy s přechodnými kovy. Z konce 90. let je práce Comby⁷¹, ve které se zabývá možnostmi (byť omezenými) empirických metod (založených na empirických meziatomových potenciálech, tzv. force fields) pro studia přechodných kovů. Dospívá k závěru, že hlavním přínosem je možnost určit energetickou výhodnost či nevýhodnost pre-organizace daného vazebného místa pro kov. Stručný přehled, který publikoval Chermette⁷², shrnuje rozsah aplikací metod DFT pro komplexy přechodných kovů (vazebné energie, molekulové struktury, plochy potenciální energie a reakční profily, ionizační potenciály, elektronové afinity, vibrační frekvence, UV-VIS spektroskopie, ESR, NMR). Mnoho informací o přechodných kovech lze také nalézt v rozsáhlé encyklopedii výpočetní chemie⁷³. Z poslední doby jsou souhrnné články Niu a Halla⁶ o reakcích přechodných kovů (obzvláště organokovových systémů majících velký význam pro homogenní katalýzu), Loewové a Harrise⁷⁴ o roli hemového aktivního místa a proteinového okolí pro strukturu, spektra a funkci cytochromu P450, Siegbahna

a Blombergové⁵⁷ o teoretických studiích reakčních mechanismů metaloproteinů. Dedieu⁷⁵ pak podává kompletní přehled o kvantové chemii paladia a platiny, Hush a Reimers⁷⁶ shrnují vliv solvatačních efektů na elektronová spektra komplexů přechodných kovů a konečně lze odkázat na velmi instruktivní a poučnou souhrnnou práci Frenkinga a Fröhliche⁷⁷, pojednávající o charakteru rozličných typů vazeb mezi přechodnými kovy a ligandy.

Nyní lze přejít k vlastnímu tématu této kapitoly, tedy nastínění dalších perspektiv kvantové bioanorganické chemie. Jak bylo zmíněno, tento obor je relativně mladý, a přes četné úspěchy při popisu struktur biomolekul obsahujících přechodné kovy jsme v našich snaženích spíše na začátku, než v dohledu bezrozporných vysvětlení chemických procesů v těchto systémech. Základní otázkou zůstává, proč si příroda k plnění svých úkolů vybírá konkrétní přechodné kovy a jsme-li schopni technickými prostředky přírodní procesy napodobit a využít. Tomu ale musí předcházet důkladné porozumění. Zde vidím i do budoucna největší přínos teoretických studií. Zdá se mi, že v současné době nastává v chemii rovnováha mezi teoretickým a experimentálním snažením tak, jak byla popsána v předešlém článku¹. Proces kladení otázek a hledání odpovědí vedoucích k odhalování přírodních zákonitostí se stává víceúrovňovým a závislým na jejich těsném spojení. Konkrétně mnozí experimentální chemici oceňují, když teorie napovídá, jak daný experiment uspořádat a na co je potřeba zaměřit pozornost při analýze výsledků tak, aby bylo odděleno náhodné a zkreslující od zákonitého⁷⁸. O tom, jak je přesný a dobře povedený experiment důležitý pro teorii, není třeba mluvit.

Příští vývoj v kvantové bioanorganické chemii se dá předpovědět jak přímou extrapolací současných trendů do budoucna, tak i odhadem, jaké problémy budou námětem teoretického zkoumání. Co se týče přímé extrapolace, lze očekávat, že vývoj výpočetní techniky bude pokračovat nezpomaleným tempem, tedy umožní provádění přesnějších výpočtů a studium větších systémů. Vedle toho lze očekávat další rozvoj hybridních metod typu QM/MM nebo solvatačních metod, které posunou studované systémy blíže k experimentálnímu uspořádání (dle terminologie referátů vylepší chemický model). Rovněž ve vlastní metodologii *ab initio* výpočtů lze očekávat nové algoritmy, jejichž cílem bude vylepšení efektivitu výpočtu při zachování přesnosti. Ideálem je dosáhnout lineárního růstu náročnosti výpočtu s růstem systému – $O(n)$. Vyjmenuji tři aktuální trendy, které se jeví velmi slibné pro přesnost a rychlost výpočtů. Prvním jsou tzv. lokální korelační metody⁷⁹ předpokládající, že korelační efekty (bez jejichž zahrnutí jsou výpočty na systémech přechodných kovů téměř bezcenné) klesají úměrně r^{-6} , kde r je vzdálenost mezi elektrony (přesněji mezi atomy, pohyb jejichž elektronů koreluje). Jinými slovy, bez velké ztráty přesnosti ve výpočtu lze zanedbat korelaci dvou elektronů, které se nacházejí na opačných koncích větších molekul. Musí být ale splněna podmínka, že lze provést účinnou lokalizaci molekulových orbitalů, a tedy elektronům formálně přisoudit jejich přibližnou polohu v molekule, což ale není u všech chemických systémů proveditelné. Druhým trendem jsou výpočty metodou Monte Carlo⁸⁰ aplikované na řešení elektronového problému, tzv. kvantové MC. Ač je růst této metody přibližně $O(n^5)$, představuje vlastně jeden z přístupů k přímému numerickému řešení Schrödingerovy rovnice, tedy nalezení přesné nerelati-

vistické energie elektronových stavů molekuly. Dříve se zdálo, že oblast použití zůstane omezena na velmi malé systémy, avšak dnes lze počítat i systémy obsahující až dvacet atomů. Třetím přístupem, který je velmi vhodný pro velké systémy a mohl by zanedlouho konkurovat empirickým potenciálům, je tzv. metoda DFT Tight-Binding⁸¹, která provádí řádný výpočet DFT pouze pro atomy přímo spojené vazbou a aproximuje ostatní příspěvky. Je samozřejmě nutné vyzkoušet přijatelnost této aproximace na jednodušších systémech stejného typu, jaký bude námětem cílové studie. V současné chvíli se výpočetní náročnost této metody jeví srovnatelná se semiempirickými výpočty, poskytuje však výrazně přesnější a obecněji použitelné výsledky.

Co se týče konkrétních oblastí v oboru a formulace problémů, očekávám stále větší prosazování výpočtů na větších systémech, které budou blíže konkrétnímu uspořádání v metaloproteinu, fragmentu DNA atp. Budou viditelné jemnější rozdíly v chování těchto systémů ve srovnání s malými molekulami, které doposud sloužily jako jejich modely. Stále asi budou středem zájmu jednotlivé složky fotosyntézy, dále základní metabolické procesy, jichž se účastní přechodné kovy, interakce iontů kovů s RNA, DNA a jejich význam při přenosu genetické informace. Na těchto systémech se kromě klasických kvantově-chemických výpočtů budou provádět molekulárně dynamické studie s potenciálem *ab initio* (Carova-Parrinellova metoda), pro které je extrapolace do budoucna přímočará. Jsme-li dnes na určitém systému schopni provést simulaci zachycující evoluci systému po dobu řekněme 1 ps (tedy 1000 kroků s integračním krokem 1 fs), desetinasobný vzrůst výpočetního výkonu nám za jinak stejných podmínek umožní provést 10 ps simulaci, která už může být schopna zachytit rychlé procesy v systému, tisícinásobný vzrůst (rok 2010?) nás přenesne do nanosekundové oblasti, kde by již mohly být popsány například rychlé konformační změny po nějakém iniciačním procesu (přenos protonu, fotoexcitace).

Kvantová bioanorganická chemie patří k oborům, které budou v příštích letech upoutávat pozornost stále většího počtu (nejen) kvantových chemiků.

6. Závěr

V předchozí kapitole jsem prezentoval svůj mírně optimistický pohled na další vývoj oboru. Závěrem bych chtěl vyslovit ale i určité varování. Jako v dalších oblastech výzkumu, také v aplikované kvantové chemii se prosazují programy, které mají sloužit jako „černé skříňky“, které od uživatele vyžadují pouze povrchní znalost problému a tváří se, že je to vše, co potřebuje k provádění výpočtů. Navíc jsou některé z těchto programů velmi komerční, přičemž například pro přechodné kovy chybějí parametry do empirických potenciálů, a to proto, že obecnou parametrizaci téměř nelze provést. Místo toho se doplňují jakési generické parametry, což vede k tomu, že výpočtem získané výsledky jsou téměř bezcenné. Nechci odrazovat zájemce o kvantovou bioanorganickou chemii, musím ale upozornit, že za kvalitními výsledky z této oblasti stojí roky poctivé práce a sbírání zkušeností.

Autor děkuje za podporu projektu LN00A032 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (Výzkumné centrum komplexních molekulových systémů a biomolekul)

a grantům 203/01/0832 (GA ČR) a A4055103/01 (GA AV ČR).
RNDr. Zdeňku Havlasovi, DrSc. pak děkuji za pečlivé přečtení rukopisu.

LITERATURA

- Rulíšek L.: Chem. Listy 95, 796 (2001).
- Dewar M. S. J.: Bull. Soc. Chim. Fr. 18, C71 (1951).
- Chatt J., Duncanson L. A.: J. Chem. Soc. 1953, 2939.
- Volbeda A., Charon M. H., Piras C., Hatchikian E. C., Frey M., Fontecilla-Camps J. C.: Nature 373, 580 (1995).
- Happe R. P., Roseboom W., Pierik A. J., Albracht S. P. J., Bagley K. A.: Nature 385, 126 (1997).
- Niu S., Hall M. B.: Chem. Rev. 100, 353 (2000).
- Torrent M., Solà M., Frenking G.: Chem. Rev. 100, 439 (2000).
- Åkesson R., Pettersson L. G. M., Sandström M., Siegbahn P. E. M., Wahlgren U.: J. Phys. Chem. 96, 10773 (1992).
- Åkesson R., Pettersson L. G. M., Sandström M., Wahlgren U.: J. Am. Chem. Soc. 116, 8691 (1994).
- Bethe H. A.: Ann. Phys. (Leipzig) 3, 133 (1972).
- Langdorf C. H., Gray H. B.: *Ligand Substitution Dynamics*. Benjamin, New York 1965.
- Åkesson R., Pettersson L. G. M., Sandström M., Wahlgren U.: J. Am. Chem. Soc. 116, 8705 (1994).
- Rotzinger F. P.: J. Am. Chem. Soc. 119, 5230 (1997).
- Baer C. F., Jr., Mesmer R. E.: *The Hydrolysis of Cations*. Wiley, New York 1976.
- Cotton F. A., Wilkinson G.: *Advanced Inorganic Chemistry*. Wiley, New York 1980.
- Blomberg M. R. A., Siegbahn P. E. M.: Theor. Chem. Acc. 97, 72 (1997).
- Shi S., Staemmler V.: Phys. Rev. B 52, 12345 (1995).
- Gilson H. S. R., Krauss M.: J. Phys. Chem. A 102, 6525 (1998).
- Rulíšek L., Havlas Z.: J. Chem. Phys. 112, 149 (2000).
- Pavlov M., Siegbahn P. E. M., Sandström M.: J. Phys. Chem. A 102, 219 (1998).
- Rulíšek L., Havlas Z.: J. Am. Chem. Soc. 122, 10428 (2000).
- Rulíšek L., Vondrášek J.: J. Inorg. Biochem. 71, 115 (1998).
- Taketsugu T., Gordon M. S.: J. Chem. Phys. 106, 8504 (1997).
- Fournier R.: Theor. Chim. Acta 91, 129 (1995).
- Langhoff S. R., Bauschlicher C. W., Jr., Partridge H., Sodupe M.: J. Phys. Chem. 95, 10677 (1991).
- Luna A., Amekraz B., Tortajada J.: Chem. Phys. Lett. 266, 31 (1997).
- Pápai I.: J. Chem. Phys. 103, 1860 (1995).
- Fournier R.: J. Chem. Phys. 102, 5396 (1995).
- Newton M. D.: J. Phys. Chem. 95, 30 (1991).
- Ryde U.: Biophys. J. 77, 2777 (1999).
- Sigel A., Sigel H., ed.: *Metal Ions in Biological Systems*, sv. 32, *Interactions of Metal Ions with Nucleotides, Nucleic Acids, and Their Constituents*. Marcel Dekker, New York 1996.
- Cowan J. A.: *Inorganic Biochemistry, An Introduction*. VCH Publishers, New York 1993.
- Sigel H.: Chem. Soc. Rev. 22, 255 (1993).
- Nickol J., Rau D. C.: J. Mol. Biol. 228, 1115 (1992).
- Bernues J., Azorin F., v knize: *Nucleic Acids and Molecular Biology* (Eckstein F., Lilley D. M., ed.), sv. 9, str. 1. Springer-Verlag, Berlin 1995.
- Lippert B. (ed.): *Cisplatin. Chemistry and Biochemistry of Leading Anticancer Drug*. Wiley-VCH, Zürich 1999.
- Šponer J., Burda J. V., Sabat M., Leszczynski J., Hobza P.: J. Phys. Chem. A 102, 5951 (1998).
- Šponer J., Sabat M., Burda J. V., Leszczynski J., Hobza P.: J. Phys. Chem. B 103, 2528 (1999).
- Šponer J., Sabat M., Gorb L., Leszczynski J., Lippert B., Hobza P.: J. Phys. Chem. B 104, 7535 (2000).
- Bock C. W., Katz K. A., Glusker J. P.: J. Am. Chem. Soc. 117, 3754 (1995).
- Šponer J., Šponer J. E., Gorb L., Leszczynski J., Lippert B.: J. Phys. Chem. A 103, 11406 (1999).
- Song B., Zhao J., Griesser R., Meiser C., Sigel H., Lippert B.: Chem. Eur. J. 5, 2374 (1999).
- Schröder G., Lippert B., Sabat M., Lock C. J. L., Faggiani R., Song B., Sigel H.: J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1995, 3767.
- Pettit L. D., Robbins R. A., v knize: *Handbook of Metal-Ligand Interactions in Biological Fluids* (Berthou G., ed.), sv. 1, str. 648. Marcel Dekker, New York 1995.
- Hoyau S., Ohanessian G.: J. Am. Chem. Soc. 119, 2016 (1997).
- deBruin T. J. M., Marcelis A. T. M., Zuilhof H., Sudhölter E. J. R.: Phys. Chem. Chem. Phys. 1, 4157 (1999).
- Garner D. R., Krauss M.: J. Am. Chem. Soc. 114, 6487 (1992).
- Silverman D. N., Lindskog S.: Acc. Chem. Res. 21, 30 (1988).
- Petterson G.: CRC Crit. Rev. Biochem. 21, 349 (1987).
- Eklund H., Brändén C. I., v knize: *Zinc Enzymes* (Spiro T. G., ed.), str. 124. Wiley, New York 1983.
- Bill E., Haas C., Ding X.-O., Maret W., Winkler H., Trautwein A. X., Zeppezauer M.: Eur. J. Biochem. 180, 111 (1989).
- Ryde U., Hemmingsen L.: J. Biol. Inorg. Chem. 2, 567 (1997).
- Ceulemans A., Chibotaru L. F., Heylen G. A., Pierloot K., Vanquickenborne L. G.: Chem. Rev. 100, 787 (2000).
- Olsson M. H. M., Ryde U., Roos B. O., Pierloot K.: J. Biol. Inorg. Chem. 3, 109 (1998).
- Pierloot K., De Kerpel J. O. A., Ryde U., Olsson M. H. M., Roos B. O.: J. Am. Chem. Soc. 120, 13156 (1998).
- Olsson M. H. M., Ryde U., Roos B. O.: Protein Sci. 7, 2659 (1998).
- Siegbahn P. E. M., Blomberg M. R. A.: Chem. Rev. 100, 421 (2000).
- Ferguson-Miller S., Babcock G. T.: Chem. Rev. 96, 2889 (1996).
- Babcock G. T., Wikström M.: Nature 356, 301 (1992).
- Wikström M.: Biochem. Biophys. Acta 1365, 185 (1998).
- Yachandra V. K., Sauer K., Klein M. P.: Chem. Rev. 96, 2927 (1996).
- Kok B., Forbush B., McGloin M.: Photochem. Photobiol. 11, 457 (1970).
- Blomberg M. R. A., Siegbahn P. E. M., Styring S., Babcock G. T., Åkermark B., Korall P.: J. Am. Chem. Soc. 119, 8285 (1997).

64. Siegbahn P. E. M., Crabtree R. H.: J. Am. Chem. Soc. 121, 117 (1999).
65. Siegbahn P. E. M.: Inorg. Chem. 39, 2923 (2000).
66. Ziegler T.: Chem. Rev. 91, 651 (1991).
67. Ziegler T.: Can. J. Chem. 73, 743 (1995).
68. Veillard A.: Chem. Rev. 91, 743 (1991).
69. Cory M. G., Zerner M. C.: Chem. Rev. 91, 813 (1991).
70. Deeth R. J.: Coord. Chem. 82, 1 (1995).
71. Comba P.: Coord. Chem. Rev. 185–186, 81 (1999).
72. Chermette H.: Coord. Chem. Rev. 178–180, 691 (1998).
73. Schleyer P. v. R., Allinger N. R., Clark T., Gasteiger J., Kollman P. A., Schaefer H. F., III, Schreiner P. R. (ed.): *Encyclopedia of Computational Chemistry*. Wiley, Chichester 1998.
74. Loew G. H., Harris D. L.: Chem. Rev. 100, 407 (2000).
75. Dediue A.: Chem. Rev. 100, 543 (2000).
76. Hush N. S., Reimers J. R.: Chem. Rev. 100, 775 (2000).
77. Frenking G., Fröhlich N.: Chem. Rev. 100, 717 (2000).
78. Doyle A. C.: *Sherlock Holmes: The Complete Illustrated Short Stories*. Chancellor Press, London 1985.
79. Schütz M., Werner H.-J.: Chem. Phys. Lett. 318, 370 (2000).
80. Anderson J. B.: J. Chem. Phys. 112, 9699 (2000).
81. Han W. G., Elstner M., Jalkanen K. J., Frauenheim T., Suhai S.: Int. J. Quant. Chem. 78, 459 (2000).

L. Rulišek (*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*):
Theoretical Studies of the Interactions of Transition Metals with Biomolecules

Theoretical studies of various aspects of interactions of transition metal (TM) ions with biomolecules make it possible to analyze the principles governing the fundamental chemical processes, in which they participate, at the atomic or even electronic level. We present a concise review of the recent achievements in the field of quantum bioinorganic chemistry, i.e. the studies dealing with the structure and energetics of TM-containing systems of biological relevance. In the first part, the interactions of TM ions with smaller molecules are analyzed, since they constitute the elementary knowledge that helps understand more complex systems. Then, the work in the field of interactions of TM ions with nucleic acids and their components is briefly summarized. In the third part, we focus on structure, function, and spectroscopic behaviour of metal-binding sites in metalloproteins and, finally, the perspectives of quantum bioinorganic chemistry are outlined.

POKROKY V CHROMATOGRAPHII A ELEKTROFORÉZE 2002

&

CHIRANAL 2002



CHIRANAL



OLOMOUC

24. AŽ 27. ČERVNA 2002