

**КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ  
НАИБОЛЕЕ УСТОЙЧИВЫХ ТАУТОМЕРОВ МЕТИЛАМИН-  
ПИРИДОКСАЛЬ-5'-ФОСФАТА С ВОДОЙ.  
СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА МОНО- И ДИГИДРАТОВ**

© 2020 г. Э. И. Хорошева<sup>а</sup>, С. А. Шарапова<sup>а</sup>, Г. М. Курамшина<sup>а,\*</sup>

<sup>а</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия

\*e-mail: kuramshi@phys.chem.msu.ru

Поступила в редакцию 24.12.2019 г.

После доработки 24.12.2019 г.

Принята к публикации 21.01.2020 г.

В рамках теории функционала плотности на уровнях B3LYP/6-31+G\*\*, M062X/6-31+G\*\* и BVP86/TZVP выполнены квантово-химические расчеты наиболее устойчивых конформеров для трех (енольной, кето- и цвиттер-ионной) таутомерных форм Шиффова основания метиламин-пиридоксаль-5'-фосфата и их моно- и дигидратов, для которых получены оптимизированные структуры, гармонические силовые поля и частоты колебаний. В рамках модели поляризованного континуума исследовано влияние макрогидратирования на конформационный состав таутомеров. Рассчитаны величины вертикальных энергий ионизации устойчивых моно- и дигидратов наиболее стабильных таутомеров метиламин-пиридоксаль-5'-фосфата, а также их моно- и дигидратов. Обсуждено влияние макро- и микрогидратирования на строение, спектры и величины вертикальных энергий ионизации моно- и дигидратов таутомеров метиламин-пиридоксаль-5'-фосфата.

*Ключевые слова:* метиламин-пиридоксаль-5'-фосфат, таутомер, конформер, микрогидратирование, теория функционала плотности, колебательный спектр

DOI: 10.31857/S004445372011014X

Пиридоксаль — биологически активное соединение, один из представителей витамина B6, который включен в большое число разнообразных ферментативных систем, связанных с азотным и аминокислотным обменом, и играет ключевую роль в процессах метаболизма аминокислот. Важным свойством этого соединения являются его способность модифицировать протеины и менять их функциональные состояния и свойства.

Пиридоксаль-5'-фосфат является коферментной формой пиридоксаля и является коэнзимом, катализирующим различные реакции, происходящие при метаболизме аминокислот [1–12]. Наличие альдегидной группы в молекуле способствует образованию шиффовых оснований с субстратами, в то время как фенольная группа стабилизирует эти шиффовы основания за счет внутримолекулярной водородной связи и также может участвовать в стабилизирующих межмолекулярных водородных связях.

Наличие пиридинового азота и гидроксильной группы способствует образованию двух таутомерных форм пиридоксаля — нейтральной гидроксидной и цвиттер-ионной структур. Гидроксиметильная

группа пиридоксаля играет важную физиологическую роль, являясь местом присоединения фосфатной группы. Равновесие между двумя таутомерами пиридоксаля исследовано спектральными методами в ряде работ [13–19], колебательные спектры соединения в жидком и твердом состояниях и в растворах в CCl<sub>4</sub> изучены в [20–23], а спектры ЯМР в [11, 12]. На основе данных низкотемпературных исследований колебательных спектров пиридоксаль-5'-фосфата в аргоновой матрице [24], интерпретация которых была выполнена с помощью квантово-химических расчетов на уровне B3LYP/6-311++G(2p,2d), был сделан вывод о возможности существования пяти устойчивых конформеров молекулы пиридоксаль-5'-фосфата, имеющих внутримолекулярные водородные связи между фенольной и карбонильной группами и 13 конформеров, отличающихся взаимным расположением альдегидной и гидроксильной групп. Наиболее стабильными оказались два конформера, стабилизирующиеся за счет сильных внутримолекулярных водородных связей.

Среди многих возможных производных пиридоксаль-5'-фосфата особый интерес представляет

метиламин пиридоксаль-5'-фосфат, являющийся конечным продуктом распада аминокрупп в лизине. Ранее [10] нами на различных уровнях теории были проанализированы возможные конформации трех основных таутомеров метиламин пиридоксаль-5'-фосфата и сделан вывод о том, что из 30 возможных структур енольной, кето- и цвиттер-ионной форм соединения наиболее устойчивыми являются енольная и кетонная формы, стабилизирующиеся за счет образования сильных внутримолекулярных Н-связей. По результатам расчета на уровне V3LYP/6-31+G\*\* енольная форма оказалась более устойчивой с разницей в полной энергии с кето-формой ~3.2 ккал/моль [10]. В [10] была предложена детальная интерпретация экспериментальных спектров ИК-поглощения и КР енольного таутомера метиламин пиридоксаль-5'-фосфата с учетом возможной таутомерии на основе квантово-химических расчетов изолированных молекул, выполненных на уровне V3LYP/6-31+G\*\*.

Целью настоящей работы является исследование влияния микрогидратации (взаимодействия с ограниченным количеством молекул воды) и макрогидратации (взаимодействия с водой как континуумом молекул) на строение и спектры устойчивых таутомеров метиламин-пиридоксаль-5-фосфата, поскольку физико-химические свойства производных пиридоксаля в водной среде представляют особый интерес. Внимание к гидратации объясняется очевидным влиянием водного окружения на биологические функции метиламин пиридоксаль-5-фосфата. Для метиламина пиридоксаль-5-фосфата отсутствуют экспериментальные и теоретические исследования влияния подобных эффектов на физико-химические свойства соединения. С помощью квантово-химических расчетов на трех уровнях теории (V3LYP/6-31+G\*\*, M062X/6-31+G\*\*, VVP86/TZVP) и в рамках континуальной модели сольватации [25, 26]) полностью углубленное исследование влияния микро- и макрогидратации на строение и геометрические параметры моно- и дигидратов метиламин пиридоксаль-5'-фосфата. Используемая модель сольватации, в которой растворитель рассматривается как среда с бесконечной диэлектрической проницаемостью ( $\epsilon \rightarrow \infty$ ), т.е. как идеальный проводник, обеспечивает достаточно высокую точность оценок эффектов сольватации для растворителей, имеющих большие значения диэлектрической проницаемости среды, в том числе для воды. При использовании других континуальных моделей, в которых растворитель рассматривается как изотропная непрерывная среда, к сожалению, не в полной мере учитываются специфические взаимодействия, возникающие между молекулами растворителя и растворенного вещества. Для оценок такого рода эффектов можно использовать прямые квантово-

химические расчеты молекулярных кластеров типа растворитель—субстрат. При учете большого числа молекул растворителя можно надеяться на получение более детальной информации о взаимодействии субстрата с молекулами воды, однако увеличение числа молекул растворителя ведет к существенному росту времени расчета, поэтому на практике начинают анализ влияния с небольшого числа молекул растворителя.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ. МЕТОДЫ РАСЧЕТА

Квантово-химические расчеты выполнены с помощью комплекса программ Gaussian 09 (Revision D.01) [27] с использованием теории функционала плотности в виде функционалов V3LYP и M062X с рядом базисных наборов (6-31G\*, 6-31+G\* and 6-31+G\*\*) и функционала VVP86 с базисным набором TZVP [28–36]. Уровень расчета VVP86/TZVP продемонстрировал хорошие результаты для расчетов водных биологических молекул [37].

На всех использованных уровнях теории были рассчитаны оптимизированные структуры и гармонические силовые поля различных конфигураций комплексов енол-метиламин пиридоксаль-5-фосфата с молекулами воды в различных конфигурациях, а также для сравнения соответствующие комплексы кето- и цвиттер-ионной форм. Оптимизация геометрических структур проводилась без каких-либо ограничений. Все величины разностей энергий, приведенные далее в работе, рассчитаны с учетом поправки на нулевой колебательный уровень. Для визуализации оптимизированных структур и колебательных спектров использована программа Chemcraft [38]. Учет влияния водного окружения на геометрические параметры, дипольные моменты и энергии таутомеров проводили методом самосогласованного реакционного поля в модели поляризованного континуума (CPCM) [25, 26]. Для интерпретации теоретических колебательных спектров рассчитанных таутомеров метиламин-пиридоксаль-5-фосфата и их моно- и дигидратов использовались результаты анализа нормальных координат, выполненные с помощью программы СПЕКТР [39, 40].

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В табл. 1 приведены величины энергий связывания (стабилизации) микрогидратированных молекул енольного и кетонного таутомеров метиламин пиридоксаль-5-фосфата. Наиболее устойчивые конформации двух таутомеров и их моно- и дигидратов, оптимизированные на уровне VVP86/TZVP, приведены на рис. 1 и 2. Для рассмотренных структур также оценены величины вертикальных энергий ионизации, результаты

**Таблица 1.** Энергии связывания ( $E_{св.}$ , ккал/моль) моногидратов и дигидратов енольного (1–3) и кетонного (4,5) таутомеров метиламина-5'-пиридоксальфосфата

№	Соединение	M062X/6-31+G**	B3LYP/6-1+G**	BVP86/TZVP
1	енол-Н <sub>2</sub> O (Н <sub>2</sub> O...N)	13.64	13.64	11.77
2	енол-Н <sub>2</sub> O (Н <sub>2</sub> O...O)	3.67	3.63	3.44
3	енол-2Н <sub>2</sub> O	10.19	10.73	7.66
4	кетон-Н <sub>2</sub> O (Н <sub>2</sub> O...N)	10.18	10.73	7.66
5	кетон-Н <sub>2</sub> O (Н <sub>2</sub> O...O)	17.71	13.20	14.57
6	кетон-2Н <sub>2</sub> O	18.21	18.19	11.76

расчетов на уровне BVP86/TZVP приведены в табл. 2. Результаты расчетов на уровнях M062X/6-31+G\*\* и BVP86/TZVP подтверждают выводы об относительной устойчивости таутомеров, сделанные ранее [10] на основании расчетов на уровне B3LYP/6-31+G\*\*, однако, на уровне BVP86/TZVP более устойчивой (~ на 2 ккал/моль) оказывается кето-форма.

Анализ структурных параметров для межмолекулярных водородных связей NH...O и OH...O в оптимизированных на уровне BVP86/TZVP структурах исследованных комплексов (рис. 1, 2) показывает, что оба варианта присоединения первой молекулы воды к молекуле енольной формы метиламин пиридоксаль-5-фосфата приводят к образованию межмолекулярных водородных связей, характеризующихся длинами связей OH...O и OH...N, равными ~1.91 и 1.86 Å соответственно. При этом в случае образования гидрата енольной формы через связь OH...O происходит заметное укорочение (примерно на 0.10 Å) внутримолекулярной водородной связи OH...N(CH<sub>3</sub>) до 1.50 Å. Присоединение первой молекулы воды к енольной форме по пиридиновому циклу приводит к образованию дополнительной достаточно сильной водородной связи O...HO с фосфатной группой (с длиной связи 1.66 Å), это наиболее прочный из рассмотренных ассоциатов с одной молекулой воды, энергия стабилизации которого равна ~12–14 ккал/моль по результатам расчетов на использованных уровнях. Для сравнения, энергия стабилизации моногидрата енола с присоединением молекулы воды к гидроксигруппе составляет около 3.5 ккал/моль.

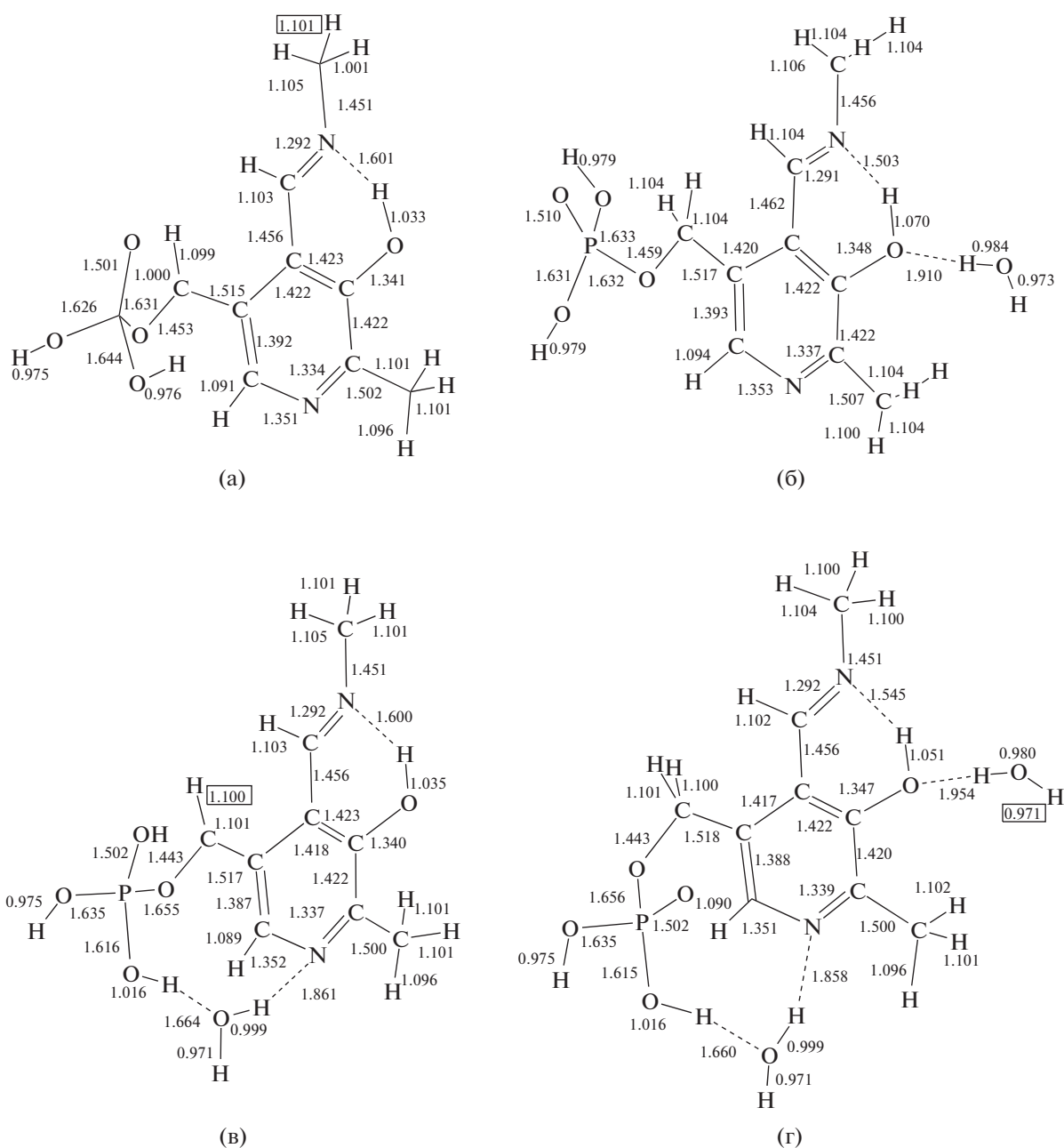
В молекуле дигидрата енольного таутомера происходит дальнейшее усиление внутримолекулярной Н-связи, что отражается в существенном (до 1.54 Å) уменьшении ее длины. Для енольной формы также были рассмотрены микрогидратированные структуры с участием трех и четырех молекул воды, результаты расчетов которых демонстрируют, что при введении в окружение данного таутомера дополнительных молекул воды происходит дальнейшее усиление внутримолекулярной водородной связи и ее длина уменьшается

до 1.49 и 1.47 Å соответственно. Присоединение третьей молекулы воды к кето-форме также ведет к укорочению внутримолекулярной Н-связи на 0.1 Å.

Заметим, что результаты расчетов негидратированных молекул таутомеров в приближении поляризованного континуума (СРСМ) демонстрируют, что учет макрогидратации в рамках данной модели также приводит к подобным, хотя и не столь существенным изменениям в соответствующих структурных параметрах. Анализ полученных величин энергий вертикальной ионизации показывает, что в моно- и дигидратах енольного и кетонного таутомеров потенциал ионизации практически не меняется по сравне-

**Таблица 2.** Рассчитанные на уровне BVP86/TZVP величины вертикальных потенциалов ионизации ( $E$ , эВ) и дипольные моменты ( $\mu$ , Д) для енольного таутомера метиламин-пиридоксаль-5-фосфата и его моно- и дигидратов

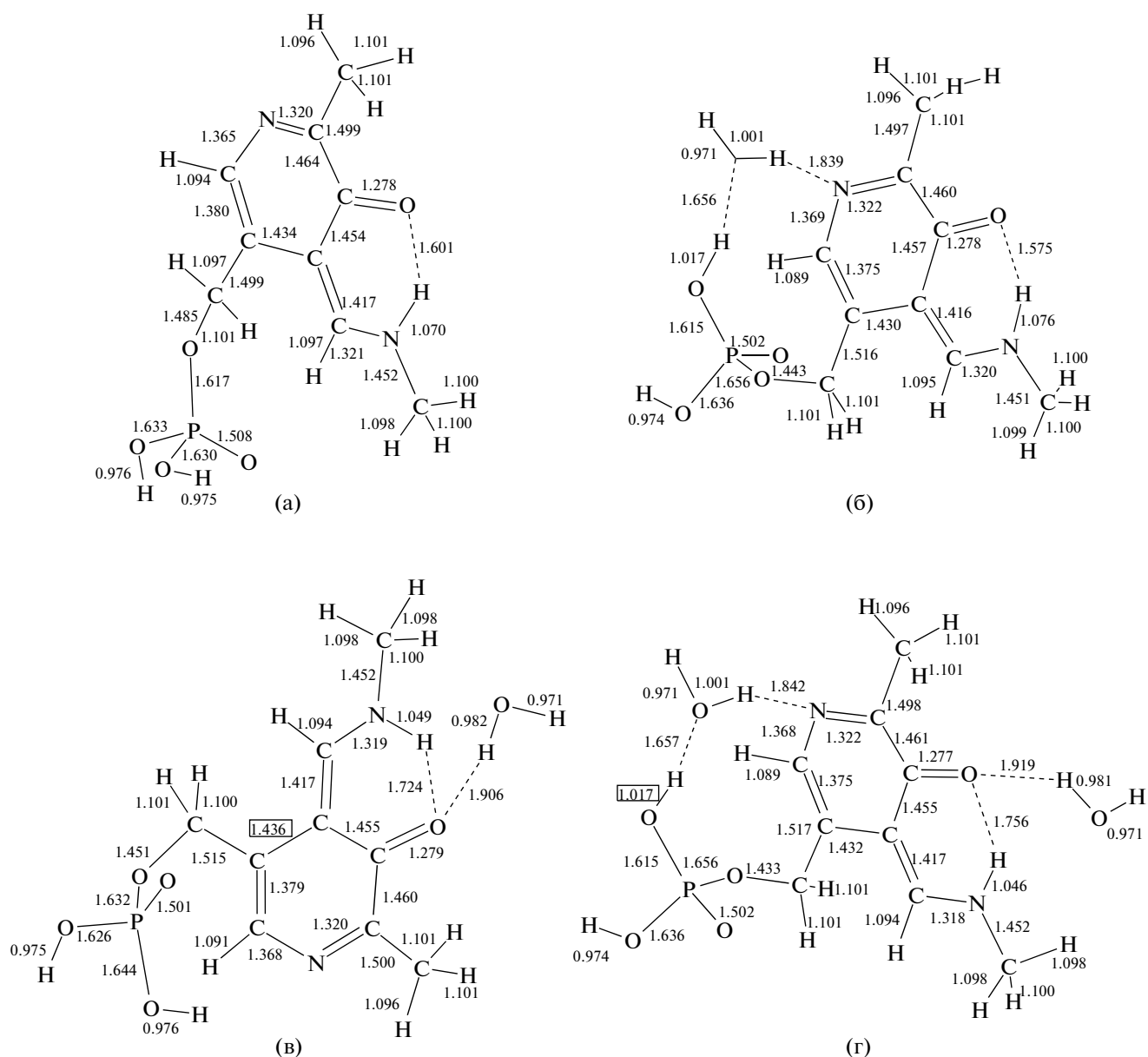
Соединение	$\mu$ , (нейтральная система)	$E$	$\mu$ , (катион)
Енол	2.84	8.12	6.43
Енол-Н <sub>2</sub> O (Н <sub>2</sub> O...O)	4.73	8.19	5.70
Еенол-Н <sub>2</sub> O (Н <sub>2</sub> O...N)	3.24	8.15	6.58
Енол-2Н <sub>2</sub> O	1.70	8.24	5.21
Енол (СРСМ)	6.39	6.33	9.16
Енол-Н <sub>2</sub> O (Н <sub>2</sub> O...O) (СРСМ)	6.34	6.45	6.93
Енол-Н <sub>2</sub> O (Н <sub>2</sub> O...N) (СРСМ)	4.45	6.46	10.90
Енол-2Н <sub>2</sub> O (СРСМ)	2.45	5.82	7.19
Кетон	5.35	7.58	5.24
Кетон-Н <sub>2</sub> O	4.19	8.06	6.18
Кетон-2Н <sub>2</sub> O	3.13	7.87	6.36
Кетон (СРСМ)	7.85	5.92	7.42
Кетон-Н <sub>2</sub> O (СРСМ)	6.62	5.98	12.83
Кетон-2Н <sub>2</sub> O (СРСМ)	5.15	6.11	8.70



**Рис. 1.** Равновесные (оптимизированные на уровне теории BVP86/TZVP) геометрические конфигурации енольного таутомера (а) и его моно- (б, в) и ди- (г) гидратов. Длины связей приведены в ангстремах.

нию с аналогичными потенциалами изолированных структур, в то время как учет водного макросреды в рамках модели СРСМ существенно снижает величину вертикальной энергии ионизации молекул, как изолированных, так и микрогидратированных. Понижение потенциалов ионизации под действием макрогидратации составляет 1.7–3.5 эВ, что находится в хорошем соответствии с диапазоном средних величин (2.0–3.5 эВ), известным для биологических молекул.

Изменения строения таутомеров, происходящие при микрогидратации, оказывают влияние на рассчитываемые ИК-спектры, прежде всего, в высокочастотной области, соответствующей колебаниям гидроксильных групп, в которой появляются дополнительные полосы валентных колебаний ОН-связей. Существенные изменения, в частности, перераспределение интенсивностей ИК-полос также происходят в области “отпечатков пальцев”, в которой с увеличением числа молекул водного окружения молекулы, происходит



**Рис. 2.** Равновесные (оптимизированные на уровне теории BVP86/TZVP) геометрические конфигурации кетонного таутомера (а) и его моно- (б, в) и (г) дигидратов. Длины связей приведены в ангстремах.

заметное перераспределение интенсивностей полос рассчитываемого спектра ИК-поглощения, практически воспроизводящее картину экспериментального спектра соединения [10]. Аналогичные, хотя и менее выраженные изменения происходят в теоретических ИК-спектрах поглощения рассмотренных соединений, рассчитанных с учетом водного окружения в рамках модели СРСМ.

Таким образом, выполненные квантово-химические расчеты с учетом корреляции электронов в рамках теории функционала плотности Шиффа основания метиламин пиридоксаль-5-фосфата в изолированном состоянии и при взаи-

модействии с ограниченным (для моно- и дигидратов) и неограниченным количеством молекул воды (в рамках континуальной модели) позволяют сделать вывод о том, что взаимодействие данного соединения и его моно- и дигидратов с молекулами воды существенно изменяет ряд их биологически важных физических и химических свойств по сравнению с изолированным состоянием. Для адекватного описания механизмов функционирования производных витамина В6 в биологических системах необходимо учитывать степень гидратации рассматриваемых объектов.

Данная работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта № 18-03-00412а).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Metzler D.E., Ikawa M., Snell E.E. // J. Am. Chem. Soc. 1954. V. 76. № 3. P. 648.
2. Metzler D.E., Snell E.E. // Ibid. 1952. V. 74. № 4. P. 979.
3. Metzler D.E., Longenecker J.B., Snell E.E. // Ibid. 1953. V. 75. № 11. P. 2786.
4. Metzler D.E., Olivard J., Snell E.E. // Ibid. 1954. V. 76. № 3. P. 644.
5. Bartl F., Urjasz H., Brzezinski B. // J. Mol. Struct. 1998. V. 441. № 1. P. 77.
6. Sanchez-Ruiz J.M., Martinez-Carrion M. // Biochemistry. 1986. V. 25. № 10. P. 2915.
7. John R.A. // Biochem. Biophys. Acta. 1995. V. 1248. № 2. P. 81.
8. Krämer R., Zundel G., Brzezinski B., Olejnik J. // J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1992. V. 88. № 12. P. 1659.
9. Kiruba G.S.M., Wong M.W. // Ibid. 2003. V. 68. № 7. P. 2874.
10. Kuramshina G.M., Takahashi H. // J. Mol. Struct. 2005. V. 735–736. № 1. P. 39.
11. Sharif S., Denisov G.S., Toney M.D., Limbach H.H. // J. Am. Chem. Soc. 2007. V. 129. № 19. P. 6313.
12. Chan-Huot M., Niether C., Sharif S. et al. // J. Mol. Struct. 2010. V. 976. № 1–3. P. 282.
13. Sanchez-Ruiz J.M., Llor J., Cortijo M. // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2. 1984. № 12. P. 2047.
14. Llor J., Asensio S.B. // J. Sol. Chem. 1995. V. 24. № 12. P. 1293.
15. Metzler D.E., Snell E.E. // J. Am. Chem. Soc. 1955. V. 77. № 9. P. 2431.
16. Nakamoto K., Martell A.E. // Ibid. 1959. V. 81. № 22. P. 5857.
17. Nakamoto K., Martell A.E. // Ibid. 1959. V. 81. № 22. P. 5863.
18. Matsushima Y., Martell A.E. // Ibid. 1967. V. 89. № 6. P. 1331.
19. Heinert D., Martell A.E. // Ibid. 1963. V. 85. № 9. P. 1334.
20. Heinert D., Martell A.E. // Ibid. 1959. V. 81. № 15. P. 3933.
21. Person W.B., Del Bene J.E., Szajda W. et al. // J. Phys. Chem. 1991. V. 95. № 7. P. 2770.
22. Buyl F., Smets J., Maes G., Adamowicz L. // Ibid. 1995. V. 99. № 41. P. 14967.
23. Anderson F.J., Martell A.E. // J. Am. Chem. Soc. 1964. V. 86. № 4. P. 715.
24. Kwiatek A., Mielke Z. // Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc. 2015. V. 135. P. 1099.
25. Barone V., Cossi M. // J. Phys. Chem. A. 1998. V. 102. P. 1995.
26. Cossi M., Rega N., Scalmani G. et al. // J. Comp. Chem. 2003. V. 24. P. 669.
27. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B. et al. Gaussian 03, Revision C.02, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
28. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B. et al. // Gaussian 09, Revision D.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2013.
29. Becke A.D. // Phys. Rev. A. 1988. V. 38. P. 3098.
30. Becke A.D. // J. Chem. Phys. 1993. V. 98. P. 5648.
31. Rassolov V.A., Ratner M.A., Pople J.A. et al. // J. Comp. Chem. 2001. V. 22. P. 976.
32. Jensen F. // Introduction to Computational Chemistry. Chichester. England. John Wiley and Sons Ltd. 1999. P. 446.
33. Yang Y., Weaver M.N., Weaver K.M. et al. // J. Phys. Chem. A. 2009. V. 113. P. 9843.
34. Zhao Y., Truhlar D.G. // Theor. Chem. Acc. 2008. V. 120. P. 215.
35. Schaefer A., Horn Y., Ahlrichs R. // J. Chem. Phys. 1992. V. 97. P. 2571.
36. Schaefer A., Huber C., Ahlrichs R. // Ibid. 1994. V. 100. P. 5829.
37. Kosenkov D., Kholod Y.A., Gorb L. et al. // J. Phys. Chem. A. 2009. V. 113. P. 9386.
38. <http://www.chemcraftprog.com>. Version 1.8 (build 486).
39. Кочиков И.В., Кураמיшина Г.М. // Вестн. МГУ. Сер. 2. Химия. 1985. Т. 26. № 4. С. 354.
40. Кочиков И.В., Кураמיшина Г.М., Пентин Ю.А. и др. // Журн. физ. химии. 1990. Т. 64. № 12. С. 3393.