



УДК 577.164.131:541.651

ЭЛЕКТРОННАЯ СТРУКТУРА И СПЕКТРЫ
ШИФФОВЫХ ОСНОВАНИЙ ПИРИДОКСАЛЬ-5'-ФОСФАТА
И НЕКОТОРЫХ ИХ АНАЛОГОВ*Морозов Ю. В., Алмазов В. П., Савин Ф. А.,
Бажулина Н. П.**Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва*

Проведено квантовохимическое исследование спектроскопических свойств и электронной структуры различных ионных, таутомерных и изомерных форм альдимино-пиридоксальфосфата и некоторых его аналогов, а также ряда модельных кофермент-субстратных комплексов, которые образуются по ходу реакций, катализируемых пиридоксальевыми ферментами. Сопоставление результатов теоретических расчетов с экспериментальными данными показало, что для исследованных соединений имеется столь хорошее соответствие между экспериментом и теорией, что квантовохимический подход может быть использован в аналитических целях. Это означает, что в ряде случаев для пиридоксальевых ферментов идентификация промежуточных продуктов реакции может быть осуществлена на основании сопоставления данных спектроскопического эксперимента с результатами теоретических расчетов. Анализ электронной структуры промежуточных кофермент-субстратных комплексов показал, что функциональная специфичность пиридоксалевого катализа существеннейшим образом зависит от особенностей электронного строения этих комплексов и их пространственного зарядового окружения.

В основе механизмов действия различных пиридоксальевых ферментов лежат превращения Шиффовых оснований пиридоксаль- P^* [1, 2]. Изучению спектроскопических свойств этих соединений, их кислотно-основных и таутомерных равновесий посвящено большое число работ (см., например, [3, 4]), подробно рассмотренных в последнем обзоре Д. Метцлера [5]. Вопросы же их электронного строения и его взаимосвязи со спектроскопическими, фотохимическими и функциональными свойствами разобраны недостаточно подробно [6], а подчас, с нашей точки зрения, и не вполне корректно [7].

Поэтому в настоящей работе мы рассмотрим электронную структуру различных ионных и таутомерных форм Шиффовых оснований и некоторых их аналогов, а также взаимосвязь этой структуры со спектроскопическими, фотохимическими и функциональными свойствами. Следует подчеркнуть, что подобное рассмотрение весьма существенно для выяснения возможной природы различных промежуточных продуктов в реакциях, катализируемых пиридоксальевыми ферментами, и функциональной специфичности различных кофермент-субстратных комплексов, образующихся на разных стадиях этих реакций.

В наших работах [8, 9] было показано, что при соответствующем разумном выборе квантовохимических параметров можно добиться весьма хорошего соответствия между экспериментально измеренным и теоретически рассчитанными значениями энергий (E_1 , E_2 ...) π -электронных переходов (естественно, наилучшее соответствие имеет место для величин E_1 и E_2). Так, получено очень хорошее соответствие между экспериментально измеренными и теоретическими значениями E_1 и E_2 для различных ионных форм пиридоксин- P , пиридоксамин- P с протонированным азотом аминотетильной группы и альдегида пиридоксаль- P . При этом теория с высокой степенью точности предсказывает не только направления, но и величины

* Принятые сокращения: пиридоксаль — PL, 5'-дезоксипиридоксаль (d-пиридоксаль) — dPL, пиридоксаль-5'-фосфат (пиридоксаль- P) — PLP, пиридоксин-5'-фосфат — пиридоксин- P , пиридоксамин-5'-фосфат — пиридоксамин- P . См. Nomenclature for Vitamin B-6 and Related Compounds.— Eur. J. Biochem., 1973, v. 40, № 3, p. 325–327.

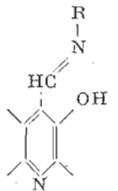
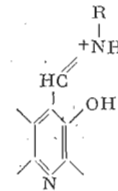
Значения энергии E_1 (эВ) для оксимов пиридоксала и пиридоксаль-*P*

Ионная форма	Экспериментальные данные		Расчетные данные	
	оксим PL	оксим PLP	сим-конформация	анти-конформация
Катион	3,83	3,83	3,85	3,95
Биполярный ион	3,42	3,42	3,33	3,42
Нейтральная молекула	3,88	3,88	3,93	4,08
Анион	3,48	3,36	3,37	3,47

спектральных сдвигов, сопровождающих присоединение к молекуле разнообразных заместителей и ионизацию молекулы. Кроме того, имеется аналогичное хорошее соответствие между экспериментом и результатами расчетов исходя из аддитивного действия заместителей, которое оказалось справедливым практически для всех исследованных нами производных витамина B_6 . Это обстоятельство весьма существенно, так как, зная величины E_1 и E_2 для ионных форм 3-оксипиридина, а также влияние на эти величины разного рода заместителей, вводимых в различные положения молекулы, можно с достаточной точностью (как правило, до нескольких сотых долей электрон-вольт) предсказывать значения E_1 и E_2 для нескольких сотен производных витамина B_6 , причем не только для нейтральных, но и для ионных форм [8].

Так как Шиффовы основания пиридоксаль-*P* по своему строению можно также рассматривать как производные 3-оксипиридина, то для проведения квантовохимических расчетов их электронной структуры и спектров в π -электронном приближении мы воспользовались параметрами, опробованными для многих десятков аналогов витамина B_6 , а также использованными нами ранее данными по их геометрии [8, 9]. Расчеты электро-

Энергия (эВ) электронных переходов для Шиффовых оснований

Ионная форма	R								
		E_1	E_2	E_3	E_4	E_1	E_2	E_3	E_4
Катион	H	4,04 (0,22)	5,13 0,05	5,99 1,15	6,23 0,01	3,74 (0,25)	5,21 0,08	5,73 0,03	5,92 0,80
	CH ₃	4,03 (0,24)	4,77 0,25	5,45 0,14	6,11 0,86	3,67 (0,25)	4,50 0,21	5,24 0,03	5,66 0,04
Биполярный ион	H	3,39 (0,26)	4,71 0,14	5,33 0,04	5,81 0,64	3,25 (0,32)	4,89 0,00	5,16 0,18	5,63 0,44
	CH ₃	3,39 (0,28)	4,69 0,10	5,30 0,05	5,71 1,08	3,21 (0,35)	4,85 0,01	5,15 0,07	5,49 0,72
Нейтральная молекула	H	4,10 (0,16)	5,18 0,09	5,95 0,26	6,05 0,84	3,62 (0,18)	4,90 0,28	5,51 0,04	5,95 0,61
	CH ₃	4,09 (0,17)	5,11 0,17	5,93 0,51	5,94 0,56	3,52 (0,18)	4,71 0,41	5,43 0,04	5,64 0,05
Анион	H	3,50 (0,27)	4,90 0,06	5,25 0,16	5,95 0,74	3,37 (0,34)	5,00 0,01	5,31 0,01	5,56 0,66
	CH ₃	3,47 (0,29)	4,89 0,03	5,23 0,17	5,90 0,93	3,33 (0,38)	4,96 0,06	5,24 0,03	5,55 0,62

* В скобках приведены расчетные значения силы осцилляторов.

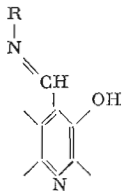
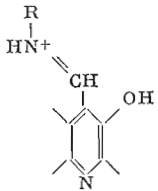
ной структуры и спектров с учетом всех валентных электронов были проведены с помощью метода ППДП/С [10].

Чтобы судить о точности такого подхода, рассмотрим спектроскопическое поведение оксимов пиридоксала и пиридоксаль-*P* [11] (см. табл. 1), строение и абсорбционные свойства которых достаточно близки к таковым альдиминов пиридоксаль-*P*. Катионы и нейтральные молекулы оксимов, как видно из сопоставления теоретических и экспериментальных данных, находятся преимущественно в конформации, в которой оксимная группа сближена с фенольным гидроксилом, а у биполярного иона эта группа ориентирована, по-видимому, главным образом в сторону фосфатной группы (соответственно *син*- и *анти*-конформации). В то же время анионы оксима пиридоксала имеют в основном *анти*-конформацию, а анионы оксима пиридоксаль-*P* — *син*-конформацию, что, по всей вероятности, связано с ионизацией гидроксильных остатков фосфатной группы и электростатическим отталкиванием. Наличие этих двух конформаций было подтверждено независимо с помощью метода ПМР [12]. Здесь следует особо подчеркнуть, что при проведении как спектроскопических измерений, так и теоретических расчетов необходимо учитывать возможность существования таких поворотных конформеров. Аналогичная ситуация, в частности, может иметь место и для альдиминов пиридоксаль-*P*. Рассмотренный пример показывает также, что в ряде случаев для предсказания наиболее вероятной конформации соединений можно исходить из соображений простых электростатических взаимодействий. Это было также подтверждено нами при исследовании некоторых аналогов компонентов нуклеиновых кислот [13].

В табл. 2 приведены энергии первых четырех электронных переходов для различных ионных форм простейших альдиминов 3-окси-4-формилпиридина в *син*- и *анти*-конформациях. Четыре значения энергии приводятся для примерного указания положения полос поглощения в спектральном диапазоне, начиная от ~200 нм и далее в длинноволновую сторону. Такие данные весьма существенны в тех случаях, когда производится разложение индивидуального спектра поглощения на полосы, соответствующие отдель-

3-окси-4-формилпиридина в двух конформациях

Таблица 2

							
E_1	E_2	E_3	E_4	E_1	E_2	E_3	E_4
4,14 (0,28)	5,18 0,13	5,88 0,87	6,48 0,06)	3,81 (0,31)	5,26 0,07	5,74 0,06	5,87 0,72)
4,15 (0,35)	4,76 0,25	5,46 0,12	6,04 0,61)	3,75 (0,34)	4,49 0,17	5,28 0,02	5,65 0,05)
3,48 (0,37)	4,79 0,21	5,38 0,04	5,70 0,56)	3,27 (0,43)	4,90 0,04	5,16 0,12	5,44 0,46)
3,48 (0,40)	4,78 0,19	5,33 0,07	5,61 0,63)	3,24 (0,48)	4,86 0,03	5,13 0,03	5,37 0,60)
4,23 (0,19)	5,27 0,21	5,94 0,86	6,12 0,02)	3,70 (0,22)	4,91 0,30	5,51 0,07	5,93 0,55)
4,23 (0,21)	5,18 0,33	5,84 0,70	6,09 0,05)	3,57 (0,23)	4,72 0,42	5,42 0,06	5,63 0,03)
3,57 (0,39)	4,95 0,10	5,33 0,18	5,68 0,53)	3,41 (0,46)	4,98 0,06	5,25 0,08	5,52 0,49)
3,54 (0,42)	4,94 0,08	5,31 0,18	5,62 0,59)	3,38 (0,50)	4,92 0,13	5,21 0,05	5,53 0,47)

ным электронным переходам. При обозначении пиковых форм в этой таблице учитывалась ионизация только пиридинового азота и фенольного гидроксидила. Важно отметить, что к приведенным в таблице расчетным значениям силы осцилляторов (f) следует относиться как к ориентировочным, условно подразделяя полосы поглощения на слабые ($f \leq 0,1$), средние ($0,1 \leq f \leq 0,6$) и интенсивные ($f \geq 0,6$). В приведенных данных не учитывается возможность образования внутримолекулярной водородной связи между атомами кислорода фенольного гидроксидила и альдиминного азота, что связано с отсутствием достаточно надежного способа учета водородной связи в π -электронном приближении.

Из рассмотрения табл. 2 можно сделать следующие выводы. Замена атома водорода альдиминной группы на группу NH_2 , практически не сказываясь на значениях E_1 , ведет к заметному понижению E_2 , E_3 и E_4 у катионов. Независимо от ионного состояния молекул первые полосы поглощения *анти*-конформеров сдвинуты в коротковолновую сторону относительно таковых для *син*-конформеров. Протонирование альдиминного азота приводит к батохромному спектральному сдвигу длинноволновой полосы поглощения, особенно существенному для форм с протонированным фенольным гидроксидилом.

Качественно спектроскопическое поведение Шиффовых оснований пиридоксаль-*P* полностью аналогично рассмотренному. Для учета количественных отличий можно воспользоваться упомянутым выше фактом аддитивного действия заместителей [8] на значения энергий электронных переходов (табл. 3). Так как 5'-фосфорные эфиры витамина B_6 обладают спектральными свойствами, неотличимыми от свойств их нефосфорилированных аналогов [14, 15], значения ΔE_i для фосфорилированной и нефосфорилированной оксиметильной группы принимали одинаковыми.

В табл. 3 приведены значения ΔE_i не только для метильной группы в положении 2 и оксиметильной в положении 5, но и для ряда других изученных нами заместителей, что может быть весьма полезно при изучении Шиффовых оснований аналогов пиридоксаль-*P*. Следует отметить, что при наличии в положении 5 заместителя типа метильной или оксиметильной группы *анти*-конформеры с протонированным атомом альдиминного азота весьма маловероятны по стерическим соображениям.

Прежде чем перейти к сопоставлению полученных нами результатов квантовохимических расчетов с экспериментальными данными, приведенными в работах [5, 16, 17], следует сделать два замечания.

Для *син*-конформеров Шиффовых оснований в ряде случаев возможно образование внутримолекулярной водородной связи, что не учитывалось нами при проведении расчетов. Однако для корректного сопоставления теории и эксперимента такой учет необходим. Это можно в принципе сделать исходя из определенных эмпирических соображений. Анализ полученных нами абсорбционно-люминесцентных данных для пиридоксала, пиридоксаль-*P* и их оксидов [11, 18] показал, что для кислых и нейтральных водных растворов образование внутримолекулярной водородной связи между фенольным гидроксидилом и формильной (или оксимной) группами приводит к батохромному спектральному сдвигу первой полосы поглощения на величину порядка $0,25 \pm 0,05$ эВ. При депротонировании пиридоксала и его производных (анионная форма хромофоров) батохромный сдвиг возрастает и составляет примерно $0,35 \pm 0,1$ эВ. Таким образом, в этих случаях для сопоставления теории с экспериментом следует из расчетных данных вычитать указанные поправки. Следует отметить, что приведенные значения этих поправок справедливы лишь для соединений типа альдиминов пиридоксаль-*P* и уже для их хиноидных структур эти поправки, судя по нашим косвенным данным, по-видимому, заметно меньше.

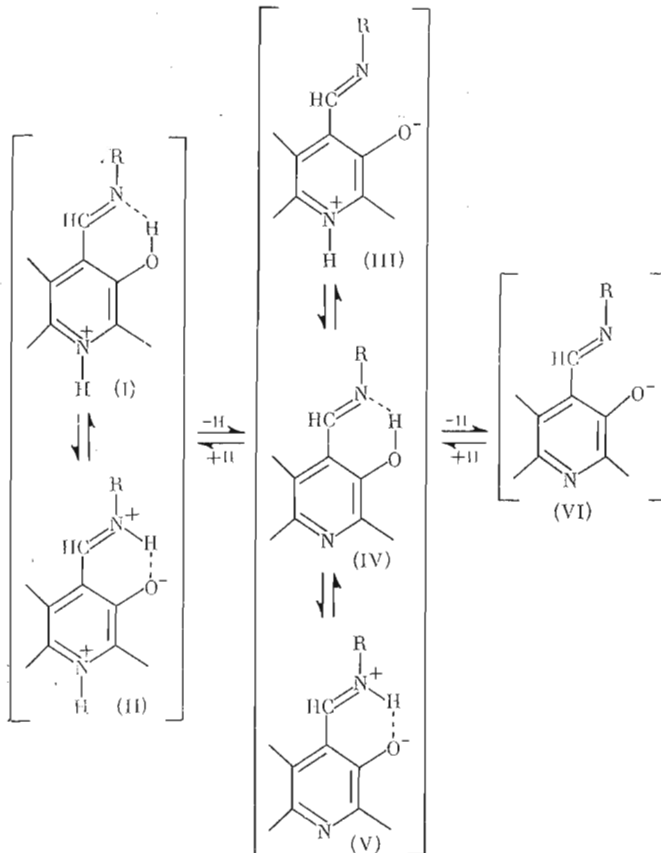
При разработке системы параметров для теоретического описания в π -электронном приближении спектроскопических свойств соединений группы витамина B_6 мы в качестве опорных данных использовали спектральные характеристики водных растворов молекул этой же группы. Поэтому, строго говоря, и сравнение теории должно производиться с экспериментальными данными, полученными также в водных растворах.

Значения ΔE_1 и ΔE_2 (эВ) спектральных сдвигов под действием различных заместителей в положениях 2, 5, 6 для молекул, показанных в табл. 2

R	Катион		Биполярный ион		Нейтральная молекула		Анион	
	ΔE_1	ΔE_2	ΔE_1	ΔE_2	ΔE_1	ΔE_2	ΔE_1	ΔE_2
2-CH ₃	-0,05	-0,05	-0,02	-0,04	-0,05	-0,09	-0,05	-0,04
5-CH ₃	0,01	-0,09	0,05	-0,02	-0,02	-0,03	0,01	-0,04
5-CH ₂ OH	-0,01	-0,08	0,01	-0,08	-0,05	-0,04	-0,06	-0,09
6-CH ₃	-0,07	0,01	-0,03	-0,06	-0,08	-0,09	-0,05	-0,19
6-F	-0,07	-0,05	-0,04	-0,05	-0,07	-0,08	-0,05	-0,06
6-Cl	-0,26	-0,21	-0,12	-0,14	-0,24	-0,31	-0,14	-0,16
6-Br	-0,25	-0,21	-0,08	-0,12	-0,17	-0,25	-0,08	-0,12
6-NH ₂	-0,54	-0,45	-0,36	-0,31	-0,70	-0,66	-0,51	-0,38
6-OH	-0,26	-0,16	-0,17	-0,13	-0,31	-0,28	-0,24	-0,16

Так как точность расчета достаточно высока, то при сравнении теории с экспериментальными данными, полученными в неводных растворах, возникает необходимость учета влияния растворителя на положение спектральных полос поглощения молекул. Переход от воды к спирту для данного класса соединений, согласно работам [5, 19, 20], всегда приводит к батохромному сдвигу длинноволновой полосы поглощения, причем величины этих спектральных сдвигов лежат в пределах от 0,03 до ~0,1 эВ в зависимости от соединения. В частности, для альдимида d-пиридоксала с валином, согласно данным работы [5], эта разница составляет 0,04–0,06 эВ. Именно эту разницу и следует учитывать при сопоставлении экспериментальных данных работ [16, 17] с теоретическими данными.

В табл. 4 приведены значения E_1 для ионных форм (I)–(VI) Шиффовых оснований пиридоксала и d-пиридоксала.



Энергия E_1 (эВ) для ионных форм (I)–(VI) Шиффовых оснований

Основание Шиффа	Экспериментальные данные [5, 16, 17]						Расчетные данные					
	(I)	(II)	(III)	(IV)	(V)	(VI)	(I)	(II)	(III)	(IV)	(V)	(VI)
dPL-метиламин	~3,84	3,00	~3,65	~4,08	2,95	—	4,00 (3,75)	3,28 (3,03)	3,42 син- 3,51 анти-	4,03 (3,78)	3,33 (2,98)	—
dPL+-валин *	~3,71	2,95	3,54	—	—	—	3,99 (3,74)	3,24 (2,99)	3,42 син- 3,51 анти-	—	—	—
dPL-глицин	~3,88	2,98	~3,57	~3,91	2,95	3,65	3,99 (3,74)	3,24 (2,99)	3,42 син- 3,51 анти-	4,02 (3,77)	3,29 (2,94)	3,43 син- 3,50 анти-
dPL-валин	~3,74	2,99	~3,57	~3,76	2,95	3,68	3,99 (3,74)	3,24 (2,99)	3,42 син- 3,51 анти-	4,02 (3,77)	3,29 (2,94)	3,43 син- 3,50 анти-
PL-валин	~3,75	3,00	~3,58	~3,89	2,99	3,39	3,94 (3,69)	3,22 (2,97)	3,38 син- 3,49 анти-	3,99 (3,74)	3,22 (2,87)	3,36 син- 3,43 анти-
PL-бутиламин	3,70–3,74 3,65–3,69 **	2,94–3,02 2,89–2,97 **	3,22–3,27 3,17–3,22 **	3,72–3,74 3,67–3,69 **	3,00–3,23 2,95–3,18 **	3,30–3,38 3,25–3,33 **	3,94 (3,69)	3,22 (2,97)	3,38 син- 3,49 анти-	3,99 (3,74)	3,22 (2,87)	3,36 син- 3,43 анти-

Примечание: знак «~» перед значениями энергий показывает меньшую надежность экспериментальных данных в силу малой интенсивности спектральных полос поглощения и их существенного перекрытия. Расчетные значения энергий приводятся как без учета внутримолекулярной водородной связи в альдимино, так и с учетом ее (последние значения заключены в скобки).

* dPL+ — метилированный по пиридиновому азоту 5'-дезоксипиридиносааль.

** Экспериментальные данные для растворов в метаноле.

Величины E_1 без учета водородной связи получены в результате суммирования значений E_1 , представленных в табл. 4 для модельного Шиффова основания 3-окси-4-формилпиридина с метиламином, и ΔE_1 для соответствующих заместителей, приведенных в табл. 3. Мы берем в качестве исходных данных величины E_1 для Шиффова основания с метиламином, спектральные свойства которого достаточно точно моделируют спектры альдиминов пиридоксала и d-пиридоксала с аминокислотами. Для учета влияния внутримолекулярной водородной связи из значений E_1 , полученных таким образом, вычиталась рассмотренная ранее поправка.

Анализ данных, приведенных в табл. 4, позволяет сделать ряд выводов и заключений.

Остановимся сначала на сопоставлении данных теории и эксперимента, полученного в работе [5], так как в ней индивидуальные спектры поглощения различных ионных форм были разложены на полосы, соответствующие отдельным электронным переходам, что существенно облегчает подобное сопоставление.

Для надежно измеренных интенсивных полос поглощения ионных форм (II) и (V) имеется очень хорошее совпадение экспериментальных и теоретических результатов при учете влияния внутримолекулярной водородной связи.

Спектр поглощения ионной формы (III) альдимины, метилированного по пиридиновому азоту d-пиридоксала с валином, также измерен вполне надежно, и, как видно из табл. 4, имеется хорошее соответствие между расчетом и экспериментом для *анти*-конформеров. Этот результат представляется вполне естественным, учитывая электростатические взаимодействия, так как ионизированный кислород фенольного гидроксила и альдиминный азот имеют заметные отрицательные заряды, тогда как метильная группа, присоединенная к атому $C_{1(5)}$, практически электронейтральна.

Экспериментальные данные для ионных форм (I), (III), за исключением отмеченного случая, и (IV) получены менее надежно, о чем говорит хотя бы тот факт, что значения E_1 для приведенных в статье [5] ионных форм (I) и (IV) альдимины d-пиридоксала с различными аминокислотами варьируют от $\sim 3,7$ до $\sim 4,8$ эВ. Мы привели в табл. 4 Шиффовы основания d-пиридоксала с глицином и валином именно потому, что для ионных форм (I) и (IV) полученные в результате спектроскопического разложения полосы весьма существенно различаются. Это расхождение, на наш взгляд, связано с тем, что при математическом разложении сложного спектра на отдельные полосы возможен достаточно большой произвол в определении параметров слабых полос поглощения, что практически не сказывается на характеристиках интенсивных полос. В то же время, если согласиться с авторами работы [5], что формы (I) и (IV) существуют с внутримолекулярной водородной связью, то, согласно теории, эти полосы следовало бы считать более длинноволновыми и расположенными в районе $\sim 3,74$ – $3,78$ эВ. Экспериментальные данные работы [5] подтверждают это.

Для ионной формы (III), за исключением рассмотренного случая, спектроскопическое разложение дало, по-видимому, несколько завышенные значения E_1 .

Экспериментальные данные для ионной формы (VI) достаточно надежны. Однако, согласно [5], переход от альдимины пиридоксала к альдимины d-пиридоксала с одной и той же аминокислотой (валином) приводит к весьма существенному ($\sim 0,3$ эВ) гипсохромному спектральному сдвигу, что представляется нам несколько неожиданным, так как, по имеющимся у нас экспериментальным данным, гипсохромный сдвиг при замене оксиметильной группы пиридоксала на метильную не превышает $\sim 0,1$ эВ, что хорошо согласуется с результатами расчетов. Следует также отметить, что для альдимины пиридоксала с валином имеется очень хорошее соответствие между теорией и экспериментом. С нашей точки зрения, для формы (VI) в силу соображений, аналогичных высказанным о форме (III), наиболее вероятно существование *анти*-конформеров.

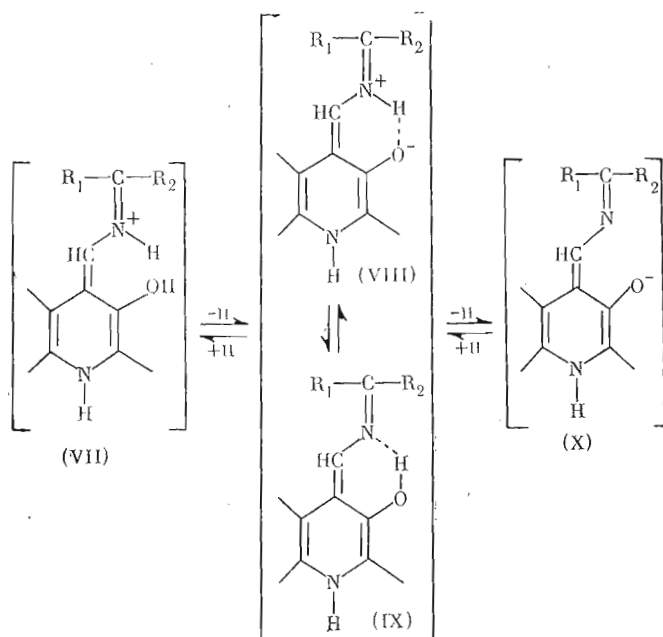
Сравним теперь результаты расчетов с экспериментальными данными, полученными в работе [17]. Так как в ней были рассмотрены спектры

поглощения Шиффовых оснований пиридоксаль с различными аминокислотами, то в табл. 4 для каждой ионной формы приводятся интервалы возможных значений E_1 ; кроме того, так как все эти данные получены в растворах метанола, в табл. 4 приводятся эти же данные, но с коррекцией для водных растворов.

Для ионных форм (I), (II), (IV) и (VI) имеется очень хорошее соответствие между теорией и экспериментом. Для ионной формы (V) наблюдается довольно большой разброс в экспериментально измеренных значениях E_1 , вероятно, связанный с тем, что в работе [17] отсутствует соответствующая математическая обработка (аналогичная проведенной в работе [5]), вследствие чего эти величины определяются менее надежно. Наконец, для формы (III) имеется весьма существенное расхождение между экспериментальными данными, полученными в работах [5] и [17]. Данные работы [5] представляются нам более надежными, так как в ней проведены соответствующие спектроскопические разложения.

Заканчивая рассмотрение спектроскопических свойств Шиффовых оснований пиридоксаль-*P* и его аналогов, следует коротко остановиться на поляризации π -электронных переходах, соответствующих первым полосам поглощения рассматриваемых молекул. Эти переходы поляризованы в плоскости пиридинового кольца примерно в направлении оси, проходящей через атомы $C_{(2)}$ и $C_{(5)}$. Следует иметь в виду, что направление поляризации переходов в молекулах рассматриваемого типа определяется с помощью приближенных полуэмпирических методов лишь ориентировочно. Изменения поляризации, происходящие при замещениях или изменениях конформации, будучи относительными величинами, могут быть оценены точнее. Из результатов расчетов следует, что при переходах молекул из *син*- в *анти*-конформацию происходит поворот направления поляризации против часовой стрелки для молекул, изображенных в табл. 2, на величину порядка $10-20^\circ$. Одновременно на $20-40\%$ увеличивается сила осциллятора этих переходов. К аналогичному, но значительно менее существенному повороту приводит протонирование атома азота альдиминной группы.

Остановимся теперь на спектроскопических свойствах хиноидных структур (VII) — (X), образующихся из Шиффовых оснований пиридоксаль-*P* в ходе реакций декарбоксилирования и трансаминирования [24, 22].



Экспериментальному исследованию их свойств посвящено очень ограниченное количество работ [23—27]. Константы равновесия между от-

Полученные в π -электронном приближении значения энергий (эВ) для хиноидных структур (VII)–(X)*

R ₁	R ₂	(VII)		(VIII)		(IX)		(X)	
		E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
H	H	2,92 (0,95)	3,85 (0,04)	2,62 (0,77)	3,49 (0,05)	3,46 (0,79)	3,77 (0,14)	2,82 (0,47)	3,55 (0,18)
H	COO ⁻	3,02 (0,76)	3,30 (0,06)	2,49 (0,59)	3,39 (0,12)	3,46 (0,25)	3,75 (0,72)	2,73 (0,32)	3,48 (0,25)
CH ₃	COOCH ₃ [7]	2,37 (1,36)	2,52 (0,37)	2,31 (1,47)	2,69 (0,19)	2,51 (1,15)	2,63 (0,33)	2,39 (1,21)	2,81 (0,14)

* При расчете не учитывалось влияние заместителей в положениях 2 и 5 пиридинового цикла. Этот учет может быть осуществлен исходя из аддитивного действия заместителей (см. табл. 3). В частности, при введении во второе положение метильной группы, а в пятое — оксиметильной значения E₁ уменьшаются на 0,1 эВ, а значения E₂ — на 0,13 эВ. В скобках приведены расчетные значения силы осцилляторов.

дельными ионными формами этих молекул неизвестны, и поэтому измеренные спектры поглощения лишь с известной осторожностью могут быть соотнесены с конкретными ионными формами. Кроме того, в этих работах имеются определенные противоречия. Так, в работе [25] в длинноволновой части спектра были экспериментально обнаружены две полосы поглощения с максимумами при ~452 и ~500 нм. Они были приписаны авторами различным ионным формам одного соединения. В другой работе примерно аналогичные полосы поглощения уже рассматриваются как соответствующие двум электронным переходам у одной ионной формы [7]. Эта интерпретация представляется нам весьма сомнительной, так как в растворе наряду с сосуществованием различных ионных форм могут присутствовать поворотные изомеры относительно связи C₍₄₎—C₍₈₎ и т. д. Наконец, в работе [17] не приводятся и не обсуждаются ни полоса при ~452 нм, которая в соответствии с работой [25] должна была бы быть обнаружена в щелочных растворах метанола, ни вообще вторые полосы поглощения рассматриваемых соединений. Из сказанного следует, что имеющиеся экспериментальные данные не являются достаточно однозначными и надежными и требуют дальнейшего уточнения и анализа. Подобный анализ может быть, в частности, проведен в результате сопоставления экспериментальных данных с результатами квантовохимических расчетов спектров рассматриваемых соединений.

Прежде чем перейти к такому сопоставлению, сравним между собой результаты квантовохимических расчетов, выполненных нами и в работе [7]. Из табл. 5 следует, что между результатами расчетов в работе [7] и выполненных нами существует два главных разногласия. Согласно данным [7], для всех ионных форм значения E₁ лежат в узком интервале от 2,31 до 2,51 эВ и разница E₂—E₁ не превышает 0,42 эВ. Согласно нашим расчетам, для формы (IX) первая полоса поглощения имеет существенный гипсохромный сдвиг по сравнению с наиболее длинноволновыми полосами других ионных форм и, кроме того, разности E₂—E₁ заметно превышают значения, приведенные в работе [7].

Можно указать несколько возможных причин этого расхождения: 1) общее отличие в системах использованных квантовохимических параметров (в работе [7] использовалась параметризация Квятковского [28, 29]), особенно для атомов протонированного азота и депротонированного кислорода; 2) различие в исходной геометрии — неясно, каким образом в работе [7] строилась геометрия пиридинового кольца для хиноидных структур: как и для Шиффовых оснований или же с учетом различия длин одинарных и двойных связей в кольце; 3) в работе [7] оба атома кислорода в группе COO⁻ считались неравноценными, что неправомерно для изолированных молекул, в то время как в нашей работе они считались эквивалентными; 4) в работе [7] при расчете возбужденных

Значения энергий (эВ) для хиноидных структур (VII)–(X),
полученные с помощью метода ШДП/С*

R ₁	R ₂	(VII)		(VIII)		(IX)		(X)	
		E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
H	H	3,36 (0,99)	3,87 (0,02)	2,99 (0,71)	3,91 (0,04)	3,40 (0,57)	3,55 (0,46)	2,98 (0,50)	3,64 (0,26)
H	COO ⁻	3,39 (0,02)	3,62 (1,03)	3,08 (0,60)	3,59 (0,30)	3,03 (0,05)	3,64 (1,13)	2,82 (0,30)	3,60 (0,50)

* В скобках приведены расчетные силы осцилляторов.

состояний учитывались 36 однократно возбужденных конфигураций, в нашей работе — все такие конфигурации; 5) в работе [7] влияние амфинокислотного остатка учитывалось введением соответствующей метильной группы в модели сверхсопряжения, в нашей работе этот учет не производился.

Специальные проверочные расчеты показали, что различия в результатах расчета связаны главным образом с использованием разных параметризаций, остальные же причины малозначительны. Для проверки того, какая из параметризаций более адекватно может описывать спектроскопические свойства рассматриваемых молекул, нами были специально проведены их расчеты с помощью метода ШДП/С (см. табл. 6). Эти расчеты показали, что разность $E_2 - E_1$ соответствует величине, полученной нами в π -электронном приближении, а значение E_1 для формы (IX) выше, чем для других форм рассматриваемых хиноидных структур. Так как эти расчеты выполнены в другом приближении и с другой параметризацией, чем расчеты в π -электронном приближении, то, хотя это и не является однозначным доказательством, тем не менее в совокупности с другими проведенными проверками служит достаточно убедительным доводом в пользу того, что наши расчеты в π -электронном приближении более адекватны при описании электронных спектров рассмотренных Шиффовых оснований и их хиноидных структур.

Сопоставим теперь результаты наших квантовохимических расчетов в π -электронном приближении (см. табл. 5) с известными экспериментальными данными. При сравнении теории с экспериментом для модельных систем следует иметь в виду, что теоретически рассчитывались структуры (VII)–(X) без внутримолекулярной водородной связи, а экспериментальные данные получены для хелатных комплексов этих структур с алюминием в растворах метанола. Здесь, правда, можно предположить, что спектры поглощения таких комплексов должны быть достаточно близки к спектру поглощения структуры (VIII) с внутримолекулярной водородной связью. Именно это обстоятельство и обуславливает, по-видимому, разумное соответствие между теорией и экспериментом для достоверно обнаруженной длинноволновой полосы поглощения в районе $\sim 2,5$ эВ [24–27]. Наблюдаемые незначительные изменения в спектрах поглощения при переходе от нейтральных растворов метанола к щелочным связаны, по всей видимости, не с изменением общего строения комплекса, а с возможным изменением свойств алюминия в этом комплексе. Следует отметить, что так как для структуры (VIII) вторая полоса поглощения отстоит от первой примерно на $\sim 0,9$ эВ, то предложенная авторами работы [7] интерпретация экспериментально обнаруженных ими полос, отстоящих от первой полосы примерно на $0,15$ – $0,2$ эВ, как соответствующих второму электронному переходу у рассматриваемого соединения, по-видимому, некорректна.

Относительно других ионных форм хиноидных структур можно сказать следующее: экспериментальных данных, которые могли бы относиться к структуре (VII), нет. Структура (X) при обсуждении свойств хелат-

Полученные в π -электронном приближении значения энергии E_1 (эВ) для ионных форм хиноидных структур (VII)–(X) ($R_1=H$, $R_2=COO^-$) в зависимости от поворотов относительно связей $C_{(4)}-C_{(8)}$ и $N_{(9)}-C_{(10)}$

Конформация *	Катион	Биполярный ион	Нейтральная молекула	Анион	Конформация *	Катион	Биполярный ион	Нейтральная молекула	Анион
A_1B_1	3,02	2,49	3,46	2,73	A_2B_1	2,89	2,38	3,43	2,72
A_1B_2	2,88	2,48	3,46	2,85	A_2B_2	3,17	2,52	3,57	2,95

* Конформация условно обозначается терминами А и В, где A_1 и A_2 — структуры, в которых атомы $N_{(9)}$ и $O_{(7)}$ соответственно сближены или удалены, а B_1 и B_2 — такие изомеры, в которых группа COO^- развернута в сторону атома $O_{(7)}$, или от него.

Таблица 8

Значения полных зарядов на атомах $C_{(4)}$, $C_{(8)}$, $N_{(9)}$ и $C_{(10)}$ для структур (VII)–(X), полученные с помощью метода ППДП/С

Структуры а: $R_1=R_2=H$, структуры б: $R_1=H$, $R_2=COO^-$

Структура		$C_{(4)}$	$C_{(8)}$	$N_{(9)}$	$C_{(10)}$	Структура	$C_{(4)}$	$C_{(8)}$	$N_{(9)}$	$C_{(10)}$	
(VII)	а	0,12	-0,10	0,11	0,05	(IX)	а	0,05	-0,03	-0,11	0,00
	б	0,08	-0,05	0,01	0,12		б	-0,02	0,03	-0,18	0,04
(VIII)	а	0,08	-0,09	0,10	-0,06	(X)	а	0,05	-0,05	-0,04	-0,10
	б	0,06	-0,08	0,03	0,03		б	0,01	0,00	-0,09	-0,05

ных комплексов хиноидных структур с металлом, по-видимому, не важна, а структура (IX), хотя и может, вообще говоря, существовать в равновесии с (VIII) (при этом должна изменяться прочность координационных связей металла с альдиминным азотом и кислородом гидроксила), однако нет никаких надежных экспериментальных данных, которые позволили бы разобратся в таком равновесии.

Наряду с исследованием модельных соединений в ряде работ [21–23] при изучении ферментативной реакции трансминирования экспериментально была обнаружена полоса поглощения с максимумом в районе $\sim 490-500$ нм ($\sim 2,5$ эВ), которую авторы приписывают структуре, аналогичной (VIII). С одной стороны, это подтверждает высказанное нами ранее предположение, что спектр поглощения хелатного комплекса с алюминием должен быть достаточно близким к спектру поглощения формы (VIII) с внутримолекулярной водородной связью, и, с другой стороны, хорошо согласуется с результатами теоретических расчетов (см. табл. 5).

Помимо этого практически во всех работах, где приводится указанный спектр поглощения, отчетливо наблюдается и вторая, более слабая полоса поглощения, расположенная около 465 нм (2,67 эВ). Здесь следует отметить одно интересное обстоятельство. В работе [21] при pH 7,2 соотношение поглощений при 492 и 465 нм (вклад более коротковолновых полос вычитался) составляет примерно 3 : 1, в работе [22] при pH 9,2 это соотношение равно 1,9 : 1; наконец, в работе [23] при pH 8,9 оно равно примерно 2 : 1. Таким образом, при повышении pH вклад полосы с максимумом при ~ 465 нм в суммарный спектр возрастает, т. е. не исключено, что она может принадлежать форме (X). Спектральное положение этой полосы хорошо согласуется с результатами квантовохимических расчетов.

В работе [30] при изучении ферментативной реакции декарбоксилирования в дифференциальных спектрах поглощения экспериментально обнаружена полоса поглощения, заведомо более длинноволновая, чем первая полоса формы (II), и в то же время более коротковолновая по сравнению с полосой поглощения формы (VIII) для ферментативной реакции трансминирования. Авторы работы [30] приписывают эту полосу поглощения хиноидной структуре (VIII) (но без карбоксильной группы). Это

согласуется с результатами квантовохимических расчетов (см. табл. 5), в соответствии с которыми удаление карбоксильной группы приводит к гипсохромному спектральному сдвигу.

Заканчивая обсуждение спектроскопических свойств рассматриваемых хиноидных структур, следует заметить, что значения E_1 зависят от конформации изучаемых молекул. В табл. 7 приведены, в частности, величины E_1 для хиноидных структур (VII) — (IX) с карбоксильной группой (R_2), присоединенной к атому $C_{(10)}$, в зависимости от возможных поворотов относительно связей $C_{(4)}-C_{(8)}$ и $N_{(9)}-C_{(10)}$. Изменения величины E_1 происходят в диапазоне 0,1—0,2 эВ. Наличие в изучаемом растворе двух (или более) таких поворотных конформеров может приводить к появлению в спектрах поглощения близких полос.

Остановимся теперь на электронной структуре альдиминов пиридоксаль-*P* с аминокислотами (структуры (I) — (VI)) и их хиноидных аналогов (структуры (VII) — (X)).

Электронная структура обсуждаемых Шиффовых оснований в целом сходна с таковой альдегидов пиридоксаля или пиридоксаль-*P* [8, 9] и их оксимов [11]. В основном состоянии протонированные атомы азота и кислорода заряжены отрицательно, протонированная группа NH — положительна, группа OH — примерно электронейтральна; атом углерода, связанный с атомом кислорода фенольного гидроксила, заряжен существенно положительно, в еще большей степени это относится к атому углерода альдиминной группы; остальные атомы углерода примерно электронейтральны, кроме атома $C_{(4)}$, несущего заметный отрицательный заряд. Общая картина изменений электронной структуры изучаемых молекул при их переходах в нижние синглетные и триплетные ll^* -состояния качественно подобна той, которая имеет место и для указанных выше соединений группы витамина B_6 .

Для всех полных форм рассматриваемых Шиффовых оснований при возбуждении происходит значительное уменьшение электронной плотности на атомах $O_{(7)}$ и $C_{(6)}$ и ее увеличение на атоме $N_{(1)}$ пиридинового цикла. Кроме того, при возбуждении имеет место также заметный перенос электронного заряда на альдиминную группу (особенно существенный, если атом $N_{(9)}$ протонирован) и связь $C_{(8)}-N_{(9)}$ заметно ослабляется. Отмеченные особенности позволяют предполагать, что с фотохимической точки зрения поведение Шиффовых оснований будет в известной мере аналогично таковому для пиридоксаля и пиридоксаль-*P* [8, 9, 18], т. е. наиболее фотореакционным центром у них должна быть, по-видимому, альдиминная группа и, кроме того, молекулярный фрагмент $N_{(1)}-C_{(6)}$. Наряду с этим для *anti*-конформеров при возбуждении возможно депротонирование фенольного гидроксила, а для *syn*-конформеров — перестройка исходной молекулы в ее хиноидный таутомер [11, 18].

Отметим здесь одно весьма важное обстоятельство. Квантовохимические расчеты электронной структуры Шиффовых оснований показали, что прочность химической связи атома $C_{(10)}$ с окружающими его атомами ($C_{(10)}-COO^-$, $C_{(10)}-H$, $C_{(10)}-R$) минимальна тогда, когда эта связь ориентирована в плоскости, перпендикулярной плоскости пиридинового цикла [30]. Этот результат, с одной стороны, полностью подтверждает гипотезу Данатана [31], с другой — прямо указывает на то, что функциональная специфичность пиридоксалевого катализа в значительной мере связана с совершенно конкретными [30] электронно-конформационными соотношениями в кофермент-субстратном комплексе.

Мы изучали также влияние возможного зарядового окружения на прочность этих связей и показали, что в ряде случаев это влияние может быть весьма существенно. Более подробно этот вопрос будет рассмотрен нами в отдельном сообщении.

Изложенные факты позволяют думать, что одной из задач фермента является создание соответствующего окружения кофермент-субстратного комплекса и фиксация его самого в определенной конформации.

Электронное строение хиноидных структур (VII) — (X) весьма существенно отличается от такового Шиффовых оснований. В первую очередь

это относится к молекулярному фрагменту $C_{(4)}-C_{(8)}-N_{(9)}-C_{(10)}$, значения полных зарядов на атомах которого приведены в табл. 8. Отсюда видно, что в отличие от Шиффовых оснований атом $C_{(4)}$ в хиноидных формах (VII) — (X) заряжен, как правило, положительно, а атом $C_{(8)}$ — отрицательно. Для структуры (VIII) (она, по-видимому, преобладает в ферментативных реакциях декарбоксилирования и трансаминирования) без карбоксильной группы атомы $C_{(8)}$ и $C_{(10)}$ заряжены отрицательно, а атом $N_{(9)}$ — положительно. При этом на указанных атомах углерода имеются существенные π -электронные заряды, что уподобляет их свойства свойствам атомов с неподеленной парой электронов в плоскости молекулы, т. е. эти атомы могут быть атакованы электрофильными агентами, в частности протонами. Присоединение к атому $C_{(10)}$ карбоксильной группы делает его заряд положительным, т. е. вероятность его атаки протоном существенно понижается. Этот факт хорошо согласуется с известным механизмом ферментативного трансаминирования [1, 2], в соответствии с которым протон должен атаковать атом $C_{(8)}$.

Если в ферментативной реакции декарбоксилирования возможно появление структуры (IX), то по сравнению со структурой (VIII) вероятность атаки протоном атома $C_{(10)}$ должна существенно понижаться, т. е. это может в принципе привести к появлению наряду с основной ферментативной реакцией побочной, более замедленной реакции.

Следует также отметить, что для рассматриваемых структур присоединение к атому $C_{(10)}$ карбоксильной группы повышает суммарные электронные заряды на молекулярных фрагментах $N_{(1)}-H$, $C_{(2)}-H$, $C_{(5)}-H$ и $C_{(6)}-H$, а также на атомах $C_{(4)}$ и $N_{(9)}$.

При возбуждении хиноидных структур в состоянии S_1 и T_1 отток π -электронного заряда от атома $O_{(7)}$ существенно меньше, чем для Шиффовых оснований. При этом заметно ослабляются двойные связи, особенно связь $N_{(9)}=C_{(10)}$ для форм (VII) и (VIII) и связь $C_{(4)}=C_{(8)}$ для форм (IX) и (X). В отличие от других соединений группы витамина B_6 , у которых происходит отток π -электронного заряда от атома $C_{(6)}$, для хиноидных структур электронная плотность на этом атоме увеличивается. В то же время для ионной структуры (X) в состоянии S_1 происходит существенное уменьшение заряда на атоме $C_{(2)}$. Однако, так как к этому атому обычно присоединена метильная группа, этот отток, по-видимому, не приводит к фотохимическим преобразованиям.

При возбуждении имеет место также значительное уменьшение электронной плотности у атома $C_{(8)}$. Этот факт может оказаться важным с точки зрения фотохимического поведения рассматриваемых молекул, поскольку частичная локализация возбуждения на этом атоме может в принципе приводить к разрыву связи $C_{(8)}-H$ с последующими фотохимическими преобразованиями, которые могут быть в известной мере аналогичны тем, которые были обнаружены для пиридоксаль-*P* и его аналогов [32].

При возбуждении увеличивается также электронная плотность на атомах $N_{(9)}$ и $C_{(10)}$. Интересно, что замена атома водорода у углеродного атома $C_{(10)}$ на группу COO^- приводит к тому, что у форм (IX) и (X) такое увеличение практически отсутствует.

В заключение следует отметить, что на основании проведенного в настоящей работе детального анализа экспериментальных и теоретических данных можно в принципе при изучении реакций, катализируемых пиридоксальными ферментами, идентифицировать промежуточные продукты этих реакций в результате сопоставления полученного спектроскопического материала с расчетными данными, представленными в табл. 2—7. Зная природу промежуточных продуктов, можно предложить возможную последовательность стадий ферментативной реакции, а из знания электронной структуры этих продуктов удается делать соответствующие выводы относительно их функциональной специфичности.

В частности, такой экспериментально-теоретический подход был успешно использован при изучении ферментативного декарбоксилирования [30].

1. Браунштейн А. Е., Шемякин М. М. Биохимия, 1953, т. 18, № 4, с. 393-411.
2. Metzler D. E., Ikawa M., Snell E. E. J. Amer. Chem. Soc., 1954, v. 76, № 3, p. 648-652.
3. Heinert D., Martell A. E. J. Amer. Chem. Soc., 1962, v. 84, № 17, p. 3257-3263.
4. Johnson R. J., Metzler D. E. In: Methods in Enzymology. N. Y.- London: Acad. Press, 1970, v. 18 (A), p. 433-471.
5. Metzler K. M., Cahill A., Metzler D. E. J. Amer. Chem. Soc., 1980, v. 102, № 19, p. 6075-6082.
6. Полюман Б., Полюман А. В кн.: Квантовая биохимия. М.: Наука, 1965, с. 495-516.
7. Karube Yo., Ono Yu., Matzushima Yo., Ueda Yo. Chem. Pharmacol. Bull., 1978, v. 26, № 9, p. 2642-2648.
8. Савин Ф. А., Бажулина Н. П., Морозов Ю. В. Молекулярн. биология, 1973, т. 7, № 5, с. 674-682.
9. Савин Ф. А., Морозов Ю. В. Молекулярн. биология, 1975, т. 9, № 2, с. 296-303.
10. Del Bene J., Jaffé H. H. J. Chem. Phys., 1968, v. 48, № 4, p. 1807-1813.
11. Bazhulina N. P., Kirpichnikov M. P., Morozov Yu. V., Savin F. A. Molec. Photochem., 1974, v. 6, № 1, p. 43-67.
12. Турчин К. Ф., Быстров В. Ф., Карнейский М. Я., Ольховой А. С., Флорентьев В. Л., Шейнкер Ю. Н. В кн.: Химия и биология шпридоксалового катализа. М.: Наука, 1968, с. 46-54.
13. Чехов В. О., Будковский Э. И., Морозов Ю. В., Савин Ф. А., Яковлев Д. Ю. Биофизика, 1979, т. 24, № 4, с. 772-773.
14. Бажулина Н. П., Морозов Ю. В., Карнейский М. Я., Иванов В. И., Кузкин А. И. Биофизика, 1966, т. 11, № 1, с. 42-47.
15. Морозов Ю. В., Бажулина Н. П., Черкашина Л. П., Карнейский М. Я. Биофизика, 1967, т. 12, № 3, с. 397-406.
16. Karube Yo., Matzushima Yo. Chem. Pharmacol. Bull., 1977, v. 25, № 10, p. 2568-2575.
17. Matzushima Yo., Karube Yo., Kono A. Chem. Pharmacol. Bull., 1979, v. 27, № 3, p. 703-709.
18. Бажулина Н. П., Морозов Ю. В. В сб.: Люминесцентный анализ в медико-биологических исследованиях. Рига: РМИ, 1980, с. 77-86, 105-115.
19. Morozov Yu. V., Cherkashina L. P. Molec. Photochem., 1977, v. 8, № 1, p. 45-88.
20. Anderson F. J., Martell A. E. J. Amer. Chem. Soc., 1964, v. 86, № 4, p. 715-720.
21. Schirch J. V., Jenkins T. W. J. Biol. Chem., 1964, v. 239, № 11, p. 3801-3807.
22. Jenkins T. W., D'Ari J. J. Biol. Chem., 1966, v. 241, № 12, p. 2845-2854.
23. Martinez-Carrion M., Tiemier D. C., Peterson D. J. Biochemistry, 1970, v. 9, № 13, p. 2574-2582.
24. Matsumoto Sh., Matsushima Yo. J. Amer. Chem. Soc., 1972, v. 94, № 20, p. 7211-7213.
25. Matsumoto Sh., Matsushima Yo. J. Amer. Chem. Soc., 1974, v. 96, № 16, p. 5228-5232.
26. Karube Yo., Matsushima Yo. J. Amer. Chem. Soc., 1976, v. 98, № 12, p. 3725-3726.
27. Karube Yo., Matsushima Yo. J. Amer. Chem. Soc., 1977, v. 99, № 22, p. 7356-7358.
28. Kwiatkowski J. S. Theoret. Chim. Acta, 1968, v. 10, № 1, p. 47-64; v. 11, № 1, p. 167-168.
29. Berndt M., Kwiatkowski J. S. Theoret. Chim. Acta, 1970, v. 17, № 1, p. 35-48.
30. Almazov V. P., Morozov Yu. V., Savin F. A., Sukhareva B. S. Int. J. Quant. Chem., 1979, v. 16, p. 769-775.
31. Dunathan H. C. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1966, v. 55, № 4, p. 712-716.
32. Bazhulina N. P., Kirpichnikov M. P., Morozov Yu. V., Savin F. A., Sinyavina L. B., Florentiev V. L. Molec. Photochem., 1974, v. 6, № 4, p. 367-396.

Поступила в редакцию
18.II.1982

ELECTRONIC STRUCTURE AND SPECTRA OF THE PYRIDOXAL 5'-PHOSPHATE SCHIFF BASES AND SOME OF THEIR ANALOGS

MOROZOV Yu. V., ALMAZOV V. P., SAVIN F. A., BAZHULINA N. P.

Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow

A quantum chemical study of spectral properties and electronic structure of various ionic, tautomeric, and isomeric species of pyridoxal phosphate (PLP)-aldimines and some of their analogs, as well of certain model coenzyme-substrate complexes formed in reactions catalyzed by PLP-dependent enzymes, has been carried out. Comparison of the theoretical data with experiment shows that for the compounds studied the agreement is so good that it permits the quantum chemical approach to be applied for analytical purposes. In other words, in many cases identification of intermediates for the PLP-dependent enzymes may be based on comparison of experimental spectral data with the results of quantum chemical calculations. Analysis of the electronic structure of the intermediate coenzyme-substrate complexes demonstrates that the functional specificity of pyridoxal catalysis heavily depends on certain features of the electronic structure of these complexes and on their charge surrounding.