

УДК 577.1.535

БИОХИМИЯ

В. Ф. ЗОЛИН, Л. Г. КОРЕНЕВА

ПРИМЕНИМОСТЬ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В КАЧЕСТВЕ МЕТОК ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

(Представлено академиком А. Е. Браунштейном 23 III 1973)

Редкоземельные элементы как «метки» для исследования биологически активных соединений привлекают внимание ряда исследователей (¹⁻⁴). Европий и тербий употреблялись в качестве люминесцентной (^{2, 4}), а гадолиний — парамагнитной (³) метки. Известны исследования структуры стероидов методами я.м.р. с использованием комплексов РЗЭ в качестве шифтреагентов (⁵).

Представляют интерес систематические исследования потенциальных возможностей редкоземельной метки при изучении структуры и свойств биологически активных соединений. В качестве первого объекта нами были выбраны азометины — пиридоксалиденаминокислоты (ПЛАК). Мы убедились, что трехзарядные редкоземельные ионы (РЗИ) ускоряют модельную реакцию переаминирования (пиридоксамин + α -кетоглутаровая кислота $\rightarrow$ пиридоксаль + глутаминовая кислота), заменяя в этой реакции другие металлы. Ускорение реакции происходит как в водной среде с подогревом (⁶), так и в метаноле при 20°, причем скорость реакции в присутствии Eu^{3+} очень близка к скорости реакции с цинком. Сходство функции наводит на мысль о сходстве строения соответствующих комплексов.

Строение комплексов ПЛАК с РЗИ и другими металлами изучалось с помощью спектров люминесценции, кругового дихроизма (к.д.) и магнитного кругового дихроизма (м.к.д.).

Комплексы ПЛАК с металлами получались аналогично (⁷), при pH 7 в водном растворе, содержащем АК, ПЛ и металл. АК и металл брались обычно не менее чем в двукратном избытке по отношению к ПЛ. Таким способом получались комплексы со всеми АК, кроме цис. Для некоторых ПЛАК (четвертой группы, см. ниже) исследовались также комплексы, полученные без избытка РЗИ и АК. К.д. растворов таких комплексов в области 330—430 м μ обычно не отличается от к.д. комплексов, полученных с избытком АК.

К.д. исследовался для комплексов всех РЗИ со всеми ПЛАК, м.к.д. — для комплексов неодима и эрбия, так как эти ионы имеют сравнительно интенсивные ($\epsilon_m \sim 1$) полосы поглощения в видимой области (Nd^{3+} в области 590—560 и 530—510 м μ , Er^{3+} — в области 505—485 м μ). Яркие спектры люминесценции в видимой области имеют Eu^{3+} и Tb^{3+} (⁸), но Tb^{3+} в комплексах с ПЛАК не люминесцирует, по-видимому, вследствие того, что первый триплетный уровень лиганда расположен ниже метастабильного $^5\text{D}_4$ уровня Tb^{3+} . Люминесценция тербия появляется при замене ПЛ салициловым альдегидом. Однако эти спектры люминесценции очень сложны, и их интерпретация затруднена. Систематически исследовались спектры люминесценции только для комплексов Eu^{3+} с ПЛАК.

Сравнение спектров к.д. комплексов ПЛАК с РЗИ и другими металлами показывает, что к.д. для большинства комплексов с РЗИ очень близок к к.д. комплексов с Zn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{3+} и содержит одну полосу, для которой выполняется «правило знаков» (⁷). Для ряда ПЛАК (Плсер, Плглу, Пллиз, Плларг, Плмет, первая группа) спектры к. д. со всеми вышеуказан-

ными металлами совпадают, а для разных аминокислот этой группы различаются только силой вращения оптически активной полосы в области 360 мμ. Для других ПЛАК (ПЛвал, ПЛлей, ПЛизолей, вторая группа) к.д. по ряду металлов различаются незначительно (наблюдается небольшой коротковолновый сдвиг полосы к.д. относительно полосы поглощения при переходе $Zn^{2+} \rightarrow Nd^{3+}$). Для третьей группы ПЛАК (ПЛфен, ПЛтир, ПЛтрип) к.д. комплексов Pr^{3+} , Nd^{3+} практически совпадают с к.д. комплексов Zn^{2+} , Fe^{3+} , а к.д. комплексов Er^{3+} , Yb^{3+} имеет втрое большую силу вращения и совпадает с к.д. комплексов меди. По-видимому, комплексы первых двух групп со всеми РЗИ, а также комплексы третьей группы с Pr^{3+} , Nd^{3+} двухлигандны, как и комплексы с Zn^{2+} , Fe^{3+} , а комплексы третьей группы с Er^{3+} и Yb^{3+} — однолигандны, как с медью ⁽⁹⁾.

Электронные спектры Eu^{3+} в комплексах первых двух групп подобны друг другу. Они свидетельствуют о значительной симметричности окружения Eu^{3+} в этих комплексах, возможной только при координации двух лигандов. Электронноколебательные (э.к.) спектры, в которых проявляются только колебания группы, непосредственно связанных с центральным ионом, показывают, что координированы α-карбоксилы (монодентатно) и оксигруппы ПЛ. Об этом свидетельствует проявление колебаний примерно равной интенсивности с частотами 520, 620 и 680 cm^{-1} (колебания карбоксилла) и колебания с частотой 1320 cm^{-1} (колебания оксигруппы, связанной с ароматическим кольцом ⁽¹⁰⁾). По аналогии с ⁽⁹⁾ можно предположить, что в рассматриваемых комплексах координированы также атомы азота азометинов. Спектры люминесценции комплексов третьей группы говорят о том, что в растворе присутствуют как двухлигандные комплексы, имеющие спектр, похожий на спектры комплексов первых двух групп, так и однолигандные, дающие диффузный спектр.

Спектры м.к.д. Nd^{3+} или Er^{3+} в комплексах всех трех групп отличаются друг от друга лишь небольшими сдвигами полос. По сравнению с этими спектрами спектр м.к.д. комплексов с ПЛасп, ПЛасн, ПЛгис и ПЛтре (четвертая группа) намного сложнее и силы вращения больше. Спектры люминесценции комплексов этой группы с Eu^{3+} гораздо ярче, индивидуальны для каждой из АК этой группы и имеют большое расщепление уровней 7F_1 и 7F_2 иона Eu^{3+} . Э.к. спектры свидетельствуют, что координированы те же атомы, что и для остальных ПЛАК. Спектры к.д. комплексов этой группы индивидуальны. Так, например, спектры комплексов эрбия или иттербия с ПЛгис консервативны, к.д. комплексов с ПЛтре очень мал и т. д.

Все комплексы этой группы двухлигандны; об этом говорит различие спектров м.к.д. на основе оптически активных АК и рацематов (для ПЛАК других групп это различие уловить не удастся). Аминокислоты этой группы содержат в радикалах атомы, способные к координации. По-видимому, РЗИ координируют эти атомы, что и приводит к усложнению спектров м.к.д. и изменению спектров люминесценции. Другие металлы не могут координировать эти атомы, поэтому спектр к.д. этих комплексов практически совпадает со спектрами к.д. первых двух групп.

Судя по совпадению строения комплексов, РЗИ, по-видимому, могут в некоторых случаях замещать Zn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{3+} в биологических структурах. Eu^{3+} можно с успехом применять в качестве люминесцентной, а Nd^{3+} и Er^{3+} — в качестве м.к.д.-метки. По спектрам люминесценции и м.к.д. можно регистрировать небольшие изменения строения первой и второй координационной сферы этих ионов (в радиусе до 5—8 Å).

Ряд комплексов ПЛАК с Eu^{3+} , благодаря хорошей растворимости в воде, может быть использован в качестве шифт-реагентов при исследованиях структуры биологических объектов методом я.м.р.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ G. E. Smolka, E. R. Birnbaum, D. E. Durnall, *Biochemistry*, **10**, 4556 (1971).
- ² C. K. Luk, *Biochemistry*, **10**, 2838 (1971).
- ³ G. Reuben, *Biochemistry*, **10**, 2834 (1971).
- ⁴ В. Ф. Золин, Л. Г. Коренева и др., Тез. IV Всесоюз. конфер. по применению физических методов к комплексным соединениям, Кишинев, 1971, стр. 16.
- ⁵ C. C. Hinkley, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 5160 (1969).
- ⁶ D. E. Metzler, M. Ikawa, E. E. Snell, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 648 (1954).
- ⁷ Ю. М. Торчинский, Л. Г. Коренева, *Биохимия*, **30**, 39 (1965).
- ⁸ B. G. Wybourné, *Spectroscopic Properties of Rare Earths*, N. Y., 1965.
- ⁹ A. N. Christensen, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 4073 (1957).
- ¹⁰ З. М. Алиханова, В. Ф. Золин и др., *ЖНХ*, **15**, 3119 (1970).