

Член-корреспондент АН СССР М. В. ВОЛЬКЕНШТЕЙН, И. Б. ГОЛОВАНОВ,
В. М. СОБОЛЕВ

МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЗМА РЕАКЦИИ ЩЕЛОЧНОГО ГИДРОЛИЗА ЭФИРОВ КАК ОДИН ИЗ ПОДХОДОВ К ИЗУЧЕНИЮ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ ГИДРОЛИЗА

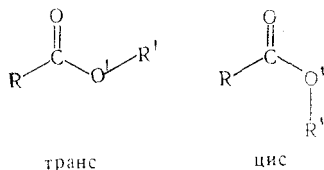
Для строгого и подробного описания событий, происходящих в активном центре фермента (а.ц.ф.) в ходе реакции необходимы точные сведения о расположении так называемых активных групп, их зарядовом состоянии и т. д. на каждой из стадий реакции. Расстояния между взаимодействующими атомами активных групп фермента (ф) и молекулы субстрата должны быть определены с точностью, большей чем 0,1 Å. В подавляющем большинстве случаев таких данных нет, поэтому нет ясного представления о взаимодействии между отдельными группами в а.ц.ф., а значит — и о возможных превращениях, происходящих в а.ц.ф. Это, в свою очередь, означает, что соображения о механизме ферментативной реакции, как правило, являются не чем иным, как правдоподобными предположениями, основанными на данных о механизмах аналогичных неферментативных реакций.

Сведения о механизме ферментативной реакции представляют несомненный интерес как с практической, так и с теоретической точки зрения. Одним из способов их получения является квантово-химическое рассмотрение модельных систем. В этой области исследований весьма существенно проведение машинных экспериментов по изучению механизма реакций и моделей фермент-субстратных комплексов (ф.с.к.) в рамках существующих методов расчета. Действительно, на модельных системах можно «проиграть» любую из возможностей и найти ту, при которой происходит «нужное» изменение в молекуле субстрата. При этом мы получаем сведения об окружении, которое вызывает изменение характеристик субстрата соответствующее тенденции перехода его в продукт, а это означает, что мы в грубых чертах поняли особенности строения а.ц.ф.

Далее мы продемонстрируем возможности использования этих представлений на примере реакции щелочного гидролиза сложных эфиров. Эта реакция представляет большой интерес с биохимической точки зрения (например, модель гидролиза ацетилхолина), а с другой стороны — является одной из наиболее изученных и поэтому может рассматриваться как «тестовая задача».

Имеющиеся экспериментальные данные и предположения (¹⁻³) существенны для дальнейших рассуждений.

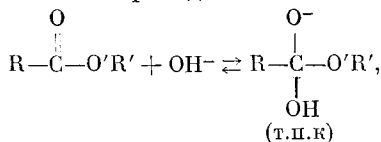
1. Молекулы эфиров имеют плоскую конфигурацию и существуют преимущественно в транс-форме:



Обычно это объясняется взаимодействием неподеленной электронной пары эфирного кислорода с электронами карбонильной группы, а также взаимо-

действием валентно-несвязанных атомов, входящих в группы R и R'. Предполагают, что цис-форма более реакционноспособна.

2. Принято считать, что при щелочном гидролизе эфиров происходит образование тетраэдрического переходного комплекса (т.п.к.):



на который затем переносится протон от молекул воды. Нейтральный т.п.к. $\text{RC}(\text{OH})_2\text{O}'\text{R}'$ распадается, давая либо продукты реакции, либо исходные продукты.

3. Предполагается ⁽⁴⁾, что взаимная ориентация групп в т.п.к. влияет на направление распада комплекса. Оно контролируется взаимодействием неподеленных электронных пар атомов O.

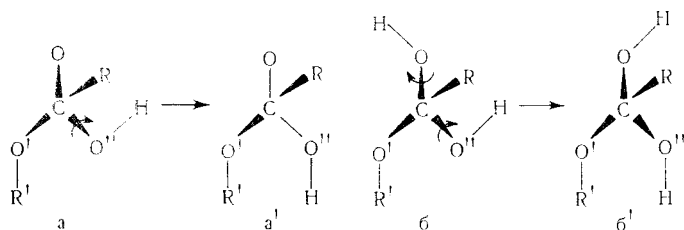
Все приведенные выше данные можно получить в машинных экспериментах, используя на каждом из шагов лишь правдоподобные предположения. Обсуждаемые ниже результаты получены при использовании метода CNDO/2 ⁽⁵⁻⁷⁾. Некоторые равновесные характеристики свободных молекул компонентов комплекса, а также близких к равновесию т.п.к. представлены в табл. 1.

Таблица 1

Некоторые характеристики т.п.к. и отдельных его компонент

Система	$-E_{\text{полн.}}$ эв	$R_{\text{CO}}, \text{\AA}$	E_{CO}^r	$R_{\text{CO}'}, \text{\AA}$	$E_{\text{CO}'}^r$	$R_{\text{O}'\text{C}'}, \text{\AA}$	$E_{\text{O}'\text{C}'}^r$	$R_{\text{CO}''}, \text{\AA}$	$E_{\text{CO}''}^r$	q_{C}	$-q_{\text{O}}$
ОН-	514,95										0,760
H ₂ O	541,24										0,267
Э (цис)	1705,01	1,27	0,849	1,38	0,605	1,38	0,603	—	—	0,389	0,313
Э (транс)	1705,94	1,27	0,846	1,36	0,623	1,38	0,595	—	—	0,395	0,336
а	2230,98	1,36	0,636	1,41	0,521	1,37	0,614	1,41	0,537	0,431	0,676
а'	2230,74	1,35	0,650	1,43	0,502	1,37	0,617	1,41	0,541	0,435	0,675
б	2254,92	1,39	0,581	1,39	0,566	1,38	0,596	1,39	0,576	0,458	0,289
б'	2254,58	1,39	0,582	1,41	0,549	1,38	0,600	1,39	0,582	0,453	0,281

Примечание. Э — метилацетат ($\text{R}=\text{R}'=\text{CH}_3$).



Из табл. 1 следует, что цис-форма эфира (Э) незначительно отличается по устойчивости от транс-формы. Главное отличие между ними состоит в различии характеристик связи $\text{C}-\text{O}'\text{R}'$. В цис-форме Э связь $\text{C}-\text{O}'\text{R}'$ более растянута, и ее прочность, характеризуемая резонансной энергией связи $E_{\text{AB}}^{\text{R}} = 2 \sum_{\mu} \sum_{\nu} P_{\mu\nu} S_{\mu\nu} \beta_{\text{AB}} = E_{\text{AB}}^{\text{r}} \beta_{\text{AB}}$ ⁽⁸⁾, меньше, чем в транс-форме. Это

делает цис-форму потенциально более реакционноспособной, однако указанное справедливо лишь в том случае, если цис-форма сохранится при образовании т.п.к.

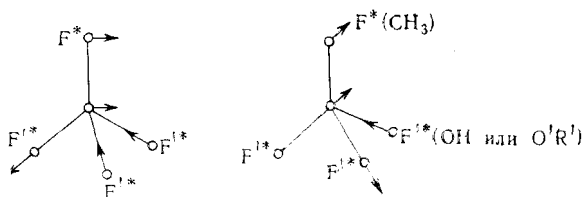
Данные об электронном распределении показывают, что наибольшим по величине является положительный заряд карбонильного атома C. В молекулах нуклеофилов наибольшим по величине зарядом является отрицательный заряд на электроотрицательном атоме. Очевидно, что местом его

атаки будет область максимального положительного заряда в молекуле Э. Весьма правдоподобно, что отрицательно заряженный атом молекулы нуклеофила будет атаковать карбоксильный атом С по линии, проходящей через него перпендикулярно плоскости сложноэфирной группы Э. Нами были проведены расчеты ряда конфигураций комплекса Э с ОН при произвольно выбранных расстояниях между карбоксильным С эфира и атомом О гидроксила и показано, что при этом происходит выведение атома С из плоскости, удлинение связей $C=O$ и $C=O'R'$ и увеличение отрицательного заряда на карбоксильном О, т. е. проявляются тенденции к образованию т.п.к. Далее были найдены конфигурации нескольких т.п.к., близкие к равновесным (не варьировались длины связей СН и углы между ними, углы при карбоксильном С выбраны тетраэдрическими и не варьировались также).

В наших расчетах, так и в подавляющем большинстве расчетов комплексов, не учитывается взаимодействие с молекулами среды. Полезность этих расчетов заключается в том, что они выявляют характеристики, присущие различным комплексам, и те «внутренние тенденции», которые в принципе могут проявиться. Из табл. 1 следует, что в комплексах $(Э...ОН^-)$ увеличивается положительный заряд на карбоксильном С и отрицательный заряд на карбоксильном О, связь СО при этом переходит практически в одинарную. Главной особенностью является то, что связь $C-O'R'$ становится наименее прочной. Именно эта связь «наиболее чувствительна» к изменению конфигурации комплекса. Например, поворот группы ОН в направлении $O'R'$, соответствующий небольшому конформационному возмущению, приводит к ослаблению связи $C-O'R'$, в то время как другие связи остаются без изменений или даже незначительно упрочняются.

Если т.п.к. $(Э...ОН^-)$ не претерпевает дальнейших превращений, то разумно предположить, что в водной среде к отрицательно заряженному атому О подходит протон и т.п.к. превращается в нейтральный комплекс, в котором, как показывают расчеты, связь $C-O'R'$ является наименее прочной из всех связей, образуемых центральным атомом С. Как и в предыдущем случае, возмущение, соответствующее поворотам групп ОН в направлении $O'R'$, приводит к дополнительному ослаблению связи $C-O'R'$.

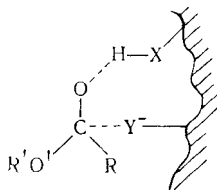
Теперь рассмотрим, что может произойти с т.п.к. при случайных возмущениях, соответствующих возбуждению тех или иных нормальных колебаний. В соответствии с идеями Бейдера ⁽⁹⁾, возмущения (нормальные колебания), которые смешивают МО основного состояния с низшими возбуждениями, имеют ту же симметрию, что и прямые произведения $\psi_0 \times \psi_k$ (ψ_0 — м.о. основного состояния, из которой переводится электрон на возбужденную м.о. ψ_k). Далее, для большей наглядности следует перейти от нашей задачи к более грубой. Группы CH_3 , ОН и $O'R'$ будем рассматривать как квазиатомы (F^*) ⁽¹⁰⁾ и нейтральный т.п.к. как систему $F^*CF_3^*$, имеющую симметрию C_{3v} . На этом этапе все связи СО в т.п.к. считаются одинаковыми. Электронная конфигурация комплекса такова: $... (A_1)^2 (E)^4 | (A_1)^0 ...$. Следующие свободные м.о. располагаются существенно выше м.о. A_1 , и поэтому при грубом рассмотрении их можно не учитывать. Нормальные колебания, смешивающие указанные состояния, соответствуют типам $A_1(A_1 \times A_1)$ и $E(E \times A_1)$. Наибольший интерес представляют валентные колебания Е-типа, которые схематически могут быть представлены следующим образом:



Каждое из них может соответствовать как разрыву связи $C-O'R'$ (прямая реакция), так и связи OH (обратная реакция), но если учесть, что прочность связи $C-O'R'$ во всех т.п.к. наименьшая, то очевидно, что скорость прямой реакции должна быть несколько большей.

Таким образом, образование т.п.к. приводит к ослаблению связи $C-O'R'$. Перевод т.п.к. в возбужденную конфигурацию вызывает дополнительное ослабление связи $C-O'R'$ и под влиянием возмущений, соответствующих возбуждению нормальных колебаний т.п.к., происходит преимущественный разрыв именно этой связи. Следовательно, в машинном эксперименте выявились все особенности механизма реакции гидролиза эфиров, которые были установлены экспериментально.

Приведенные выше данные о механизме гидролиза эфиров позволяют представить правдоподобные соображения о некоторых шагах ферментативной реакции гидролиза сложных эфиров: 1) при взаимодействии эфира с а.д.ф. образуется ф.с.к.; 2) за счет выделившейся энергии взаимодействия эфира с а.д.ф. происходит конформационный переход в молекуле фермента и изменение строения а.д.ф. Поворот группы OH в т.п.к. является одним из возможных конформационных переходов (и одновременно — одним из вариантов «дыбы»); 3) молекула эфира взаимодействует с несколькими группами а.д.ф.:



При такой конфигурации а.д. группа $O'R'$ может легко уйти, а остальным группам, связанным с центральным атомом, уход практически запрещен. Произошло выделение одной конформационной степени свободы, и дальнейшее движение системы будет проходить вдоль нее. Любое возмущение, которое будет возбуждать нормальные колебания A_1 и E , теперь будет приводить только к разрыву связи $C-O'R'$.

Приведенные соображения являются простейшим примером интерпретации полученных в машинном эксперименте результатов в духе идей об электронно-конформационных взаимодействиях (¹¹).

Институт биологической физики
Академии наук СССР
Пушино Московской обл.

Поступило
20 V 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. Бендер, Механизмы катализа нуклеофильных реакций производных карбоновых кислот, М., «Мир», 1964. ² Т. Брюс, С. Бенкович, Механизмы биоорганических реакций, М., «Мир», 1970. ³ В. Дженкс, Катализ в химии и энзимологии, М., «Мир», 1972. ⁴ P. Deslongchamps, P. Atlani et al., Canad. J. Chem., v. 50, 3405 (1972). ⁵ J. A. Pople, D. P. Santry, G. A. Segal, J. Chem. Phys., v. 43, 129 (1965). ⁶ J. A. Pople, G. A. Segal, J. Chem. Phys., v. 43, 136 (1965). ⁷ J. A. Pople, F. A. Segal, J. Chem. Phys., v. 44, 3289 (1966). ⁸ H. Fischer, H. Kollmar, Theoret. chim. acta, v. 16, 163 (1970). ⁹ R. F. W. Bader, Canad. J. Chem., v. 40, 1464 (1962). ¹⁰ И. Б. Голованов, В. М. Себолев, Теоретич. и эксп. хим., т. 10, 327 (1974). ¹¹ М. В. Волькенштейн, Изв. АН СССР, сер. биол., № 6, 805 (1974).