

TEORETICKÁ BIOANORGANICKÁ CHEMIE A SPEKTROSKOPIE

Věnováno Zdeňku Havlasovi k jeho 65. narozeninám.

DANIEL BÍM^a, ONDREJ GUTTEN^a, JAKUB CHALUPSKÝ^a, MARTIN SRNEC^{a,b} a LUBOMÍR RULÍŠEK^a

^a Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i., Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6, ^b Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i., Dolejškova 3, 182 23 Praha 8
rulisek@uochb.cas.cz

Došlo 8.12.15, přijato 20.1.16.

Klíčová slova: teoretická bioanorganická chemie, sloučeniny přechodných kovů, kvantově-chemické metody, reakční mechanismy, metaloproteiny, selektivita vazby iontů kovů

Obsah

1. Úvod
2. Elektronová struktura sloučenin přechodných kovů a jejich spektroskopie
3. Kvantově-chemické metody v teoretické bioanorganické chemii
 - 3.1. Metody funkcionálu hustoty (DFT)
 - 3.2. Metody vlnové funkce
 - 3.3. Relativistické efekty ve sloučeninách přechodných kovů
4. Příklady (aplikace)
 - 4.1. Teoretické studium reakčních mechanismů metaloproteinů
 - 4.1.1. „Multi-copper“ oxidasy
 - 4.1.2. Nehemové systémy s ionty železa (NHFe)
 - 4.1.3. Oxidace vody ve fotosystému II (OEC – oxygen evolving complex)
 - 4.2. Selektivita vazby iontů kovů v biomolekulách
5. Závěr a výhledy

1. Úvod

Bioanorganická chemie v nejobecnějším smyslu pojednává o interakcích iontů kovů s biomolekulami (s proteiny, DNA, či různými nízkomolekulárními látkami při-

tomnými v organismech). Mezi těmito biomolekulami mají význačnou pozici metaloproteiny¹, které katalyzují mnohé biochemické reakce a díky tomu se řadí mezi základní stavební bloky přírodních procesů. Téměř žádný z těchto procesů by v nepřítomnosti katalyzátoru (metaloenzymu) za normálních fyziologických podmínek fakticky neprobíhal. Přítomnost iontů kovů je nutná téměř ve všech oxidačně-redukčních procesech, ve spinově zakázaných reakcích a v tzv. „obtížně proveditelných“ reakcích jako jsou štěpení (či vznik) velmi pevných a stabilních vazeb, jako například $N\equiv N$, $O=O$, či $C-H$. Netřeba zmiňovat, že tyto reakce lze nalézt v tak základních biologických procesech, jakými jsou fotosyntéza či buněčné dýchání. Zcela pochopitelně bylo v několika posledních desetiletích vyvinuto nesmírné úsilí směřované k porozumění funkci a struktuře metaloproteinů. Zatímco experimenty (např. rentgenová strukturní analýza, rozličná spektroskopická, či elektrochemická měření) hrají nezastupitelnou roli v prvotních krocích zkoumání daného metaloenzymu, výpočetní metody teoretické chemie je postupně doplňují tím, že poskytují často jednoznačné přiřazení strukturní a energetické charakterizace daného metaloproteinu, či alespoň jeho aktivního místa, a to v libovolném kroku enzymové reakce. Spojením a porovnáním (tzv. korelací) experimentálních a teoretických dat lze pak plně popsat reakční mechanismus studovaného metaloenzymu². To nejen umožňuje pochopit fyzikálně-chemické principy těchto biologických dějů, ale zároveň přispívá k pochopení specifity vazby iontů kovů v biomolekulách³. Jednoho dne tak možná budeme znát odpověď na jednu z ústředních otázek (nejen) bioanorganické chemie: „Proč si příroda vybrala ten který iont kovu pro příslušný chemický či biologický děj?“ V tomto příspěvku se snažíme shrnout poslední vývoj v oblasti výpočetní chemie aplikované na biologické systémy obsahující ionty přechodných kovů – teoretické bioanorganické chemie.

2. Elektronová struktura sloučenin přechodných kovů a jejich spektroskopie

V aktivních centrech metaloenzymů jsou obsaženy ionty přechodných kovů v různých oxidačních a spinových stavech. Mohou koordinovat různý počet ligandů a nacházet se v rozličném geometrickém uspořádání^{4,5}. Tyto rozdíly pak mají vliv jak na fyzikálně-chemické vlastnosti aktivního centra, tak především na reaktivitu metaloenzymů. Je tedy nasnadě, že přesné a úplné pocho-

*Všichni autoři přispěli k referátu rovným dílem, pořadí bylo určeno bowlingovým zápasem mezi autory.

pení jejich elektronové struktury je podmínkou nutnou pro pochopení jejich reaktivity, a to jak přímo u metaloenzymů, tak u menších modelových (biomimetických) komplexů, které jsou jim strukturně podobné. K tomu je možné využít celou řadu spektroskopických metod; výčet těch nejvýznamnějších z nich uvádíme níže v textu, zatímco jejich detailnější popis lze nalézt v celé řadě různě pokročilých učebnic a přehledných referátů (např. cit.^{6,7,8}).

Budeme-li spektroskopické metody řadit dle vzrůstající hodnoty energie použitého záření, již hodnoty energií v rozsahu 0,1–10 cm⁻¹ jsou dostatečné pro studium nepárových valenčních elektronů v základním stavu, a to v přítomnosti vnějšího magnetického pole. Zde je možné využít například měření magnetické susceptibility, která sama o sobě není spektroskopickou metodou, ale která poskytuje informace o oxidačním a spinovém stavu příslušného iontu kovu. Zpola zaplněné orbitály a delokalizaci elektronů na ligandy je možné zkoumat elektronovou paramagnetickou rezonancí (EPR). Vyššího rozlišení lze poté dosáhnout použitím dvojitě rezonančních (ENDOR, ELDOR) nebo pulzních (ESEEM) EPR technik, které ke studiu delokalizace elektronů na ligandy využívají interakci elektronového a jaderného spinu (tedy tzv. hyperjenného štěpení).

K excitaci elektronů mezi neúplně zaplněnými *d* orbitály kovů je zapotřebí energie přibližně v oblasti infračerveného a viditelného záření, tedy cca 4000–25 000 cm⁻¹. Intenzita *d* → *d* přechodů, jejich energie a tvar spektrálních páسů jsou závislé na typu a geometrickém uspořádání ligandů. Zmíněné *d* → *d* přechody jsou v ideálním oktaedrickém poli prostorově zakázané kvůli paritě. V reálných systémech pak díky porušení ideální symetrie a možné vibračně-elektronové vazbě je důsledkem této skutečnosti jejich nízká intenzita v absorpční spektroskopii. Poskytují však relativně intenzivní spektrální páсы ve spektroskopii cirkulárního dichroismu (CD), resp. ve spektroskopii magnetického cirkulárního dichroismu (MCD), které se řídí jinými výběrovými pravidly⁹.

Absorpční spektra jsou většinou měřena až ve viditelné a ultrafialové (UV/Vis) oblasti, kde je energie fotonů dostatečná k excitaci elektronu z orbitalu ligandu do *d* orbitalu kovu či naopak (ligand-to-metal charge transfer, LMCT; metal-to-ligand charge transfer, MLCT). Vysoká intenzita přechodů v absorpční spektroskopii je zapříčiněna významnou změnou elektronové hustoty (dipólového momentu), ke které dochází při excitaci elektronu z ligandu na kov. Elektronové přechody spojené s přenosem náboje jsou klíčové pro porozumění povahy vazby mezi ligandem a kovem.

Vyrazení (excitace) vnitřních (tzv. core) elektronů kovových komplexů či metaloenzymů je možné pomocí rentgenového záření. Rentgenová spektroskopie pak díky celé řadě pozorování a sadě vytvořených empirických pravidel poskytuje především informace o struktuře aktivního centra. Mezi využívané metody patří mimo jiné rentgenová absorpční spektroskopie (XAS), rentgenová absorpce v blízkosti absorpční hrany (XANES) nebo tzv. metoda EXAFS (extended X-ray absorption fine structure)¹⁰.

V neposlední řadě má své místo mezi bioanorganickými spektroskopickými metodami i Mössbauerova spektroskopie, tedy absorpce elektromagnetického záření γ jádry atomů s vhodným celkovým jaderným spinem, která je ovlivněna elektronovou strukturou molekuly (tzv. isomerní posun a kvadrupólové štěpení). Mössbauerova spektroskopie hraje nezastupitelnou roli při zkoumání strukturních vlastností enzymů, které obsahují v aktivním místě ionty železa (je však nutné připravit metaloenzym s isotopem ⁵⁷Fe). Využití nalézá především při studiu jejich oxidačních a spinových stavů. Další vysoce účinnou metodou, která vychází právě z Mössbauerovy spektroskopie a jejíž rozvoj byl umožněn až v posledních letech společně s rozvojem synchrotronového zařízení, je jaderné rezonanční vibrační spektroskopie (NRVS). Detaily a použití metody NRVS lze nalézt v nedávném přehledném referátu¹¹. Jedná se o unikátní metodu, jež je vhodná k přímočarému a jednoznačnému určení geometrické struktury aktivních center reakčních intermediátů obsahujících atomy železa.

Uvedené experimentální techniky poskytují cenné informace, které jsou nutné ke studiu elektronové struktury kovových komplexů. Abychom tyto informace mohli plně využít, je však nutné znát vztah mezi experimentem a teoretickými poznatky. Například oktaedrický Fe³⁺ komplex bude vykazovat jiná spektroskopická data než tetraedrický, tentýž oktaedrický komplex bude v jiném základním spinovém stavu, jestliže bude koordinovat šest ligandů H₂O nebo CN⁻, jiná data pak dostaneme, zaměníme-li železo za kobalt, apod. Chceme-li proto na základě spektroskopických dat určit strukturu reakčního centra obsahujícího atom kovu, musíme vědět, jak se ta která změna v experimentálním měření projeví. Pokud jsou ligandy vázány slabě ke kovovému centru, tedy vazba kov–ligand není příliš kovalentní, bývá často dostatečný popis pomocí teorie krystalového či ligandového pole¹². Na jejím základě je možné nejen vysvětlit, ale také kvantifikovat vliv struktury koordinačních sloučenin (typ ligandů a jejich geometrie, náboj centrálního kovu a vazebné schopnosti ligandů) na rozštěpení energetických hladin *d* orbitalů kovu, jejich magnetické chování, vzhled absorpčních spekter, apod. Problém může nastat v případě komplexů, které mají ligandy vázané více kovalentně nebo v případě složitějších systémů, např. u vícejaderných komplexů (s více než jedním kovovým centrem v aktivním místě). Popis spinového stavu vícejaderných komplexů bývá často ztížen schopností kovových (spinových) center spolu vzájemně magneticky interagovat. V takových případech se většinou neobejdeme bez výpočetně náročnější teorie molekulových orbitalů. Popisu moderních přístupů se věnuje následující kapitola.

Ačkoliv technické možnosti v dnešní době přinášejí ohromný potenciál pro využití teoretických metod v chemii, je vždy nutné pečlivě korelovat vypočtená data s experimentem a mít na paměti, že často pouze spojením obou přístupů je možné dospět ke správnému výsledku a úplnému pochopení neobyčejné katalytické účinnosti metaloenzymů. Potřebná kombinace experimentálních

a teoretických metod bude ilustrována níže v kapitole 4 na aktuálních příkladech ze současné bioorganické chemie.

3. Kvantově-chemické metody v teoretické bioorganické chemii

Porozumění elektronové struktuře (nejen) komplexů přechodných kovů, včetně koordinačních míst v metaloproteinech, by nebylo možné bez kvantové chemie, která se v průběhu více než osmi desetiletí vyvíjela společně s experimentálními poznatky získanými často na nově syntetizovaných systémech či charakterizovaných metaloenzymech. V této části následuje velmi stručný přehled nejpoužívanějších kvantově-chemických metod v bioorganické chemii, včetně krátké zmínky o relativistických efektech, které často hrají v těchto systémech důležitou roli.

3.1. Metody funkcionálu hustoty (DFT)

Mezi nejpoužívanější metody teoretické bioorganické chemie patří bezesporu metody založené na funkcionálu hustoty (density functional theory, DFT), které se ve své moderní podobě zrodily před více než půl stoletím. Jejich hlavní výhodou je poměrně nízká výpočetní náročnost, což v praxi znamená jejich použitelnost pro systémy obsahující až několik set atomů. DFT, ať už plynoucí z Hohenbergových-Kohnových teorémů či v tzv. Kohnově-Shamově (KS) formulaci, je teorií exaktní. Nicméně neznalost funkcionálu, který by pro správnou elektronovou hustotu základního stavu poskytl přesnou energii molekuly, limituje přesnost DFT metod v praktických výpočtech. V rámci KS přístupu je pro model vzájemně neinteragujících elektronů jednoduchým způsobem vypočtena hodnota funkcionálu kinetické energie. Interakce nad rámec tohoto modelu (někdy též nazývaného „modelem průměrného pole“), jsou zahrnuty do tzv. výměnně-korelačního funkcionálu. Lze bez nadsázky říci, že vývoj DFT je téměř synonymem pro vývoj nových výměnně-korelačních funkcionálů. Důležitým rysem KS přístupu je skutečnost, že hledáme elektronovou hustotu prostřednictvím optimalizace „vlnové funkce“ ve tvaru jednoho Slaterova determinantu. Obdobně jako u Hartreeho-Fockovy metody (HF/SCF) pak řešení spočívá v nalezení optimálního tvaru molekulových orbitalů, které jsou tvořeny lineárními kombinacemi orbitalů atomových, či přesněji řečeno bazových funkcí.

K vývoji DFT metod výrazně přispěly i výpočty z oblasti bioorganické chemie, které motivovaly k vývoji nových typů funkcionálů a technik orientovaných na řešení výpočetních problémů pro systémy s komplexní elektronovou strukturou. I přes veškerý vývoj v této oblasti se ale zatím nepodařilo uspokojivě vyřešit zásadní nedostatek prakticky používaných DFT metod, kterým je užití „vlnové funkce“ ve tvaru pouze jednoho Slaterova determinantu. Tento tvar není při použití přibližných výměnně-korelačních funkcionálů vhodný pro popis molekul s tzv.

multikonfiguračním charakterem, mezi které patří velká část bioorganických sloučenin.

Kromě výpočtů energie a vlnové funkce základního elektronového stavu se DFT metody hojně používají též k optimalizaci geometrií a výpočtům spektroskopických vlastností bioorganických molekul. V případě optimalizace geometrií metaloproteinů není, vzhledem k jejich velikosti, v dnešních možnostech popisovat celý systém na úrovni kvantové mechaniky. Většinou se proto používají tzv. QM/MM metody kombinující kvantově-mechanický (DFT) popis nejdůležitější části metaloproteinu (aktivní místo) a molekulárně-mechanický popis zbylé části. V případě spektroskopie jsme z podstaty DFT omezení na popis vlastností základního stavu, lze tedy například studovat vibrační přechody. Elektronové přechody (UV/Vis spektroskopie a mnohé další) je obecně možné popsat pouze na základě metod, které fungují jako nadstavba DFT, například pomocí metod založených na teorii lineární odezvy (LR-DFT nebo TD-DFT).

Závěrem lze konstatovat, že zcela právem je – dle našeho odhadu – více než 90 % výpočtů v chemii prováděno pomocí DFT metod. Tyto metody se tak staly naprosto integrální součástí chemického a biochemického výzkumu. Vývoj v této oblasti byl vskutku impresivní, což přineslo řadu moderních funkcionálů – lze zmínit zkratky jako B3LYP, TPSS(h), M06, PBE, ω B97-XD představující jistou osobní preferenci autorů tohoto referátu – poskytující za zlomek výpočetní ceny výsledky na úrovni mnohých pokročilých metod založených na vlnové funkci. Na druhou stranu existence stovky různých dnes dostupných funkcionálů představuje jisté riziko pro nalezení „správné odpovědi ze správného důvodu“ a nikoliv z důvodu špatného a náhodného použití „správného funkcionálu“.

3.2. Metody vlnové funkce

Vzhledem ke zmíněným nedostatkům DFT metod je v bioorganické chemii v mnoha případech nutné použít pokročilé metody vlnové funkce, které vedou v prvním přiblížení alespoň ke kvalitativně správnému popisu elektronové struktury, v ideálním případě až ke kvantitativní shodě vypočtených výsledků s experimentálními měřeními. Ovšem zde je nutné podotknout, že kvantitativní shody jsme, vzhledem k výrazně vyšší výpočetní náročnosti těchto metod a velikosti studovaných molekul, schopni dosáhnout pouze v některých případech. Pokročilé metody vlnové funkce převážně používané v bioorganické chemii lze rozdělit do dvou skupin: multikonfigurační a multi-referenční. Obě tyto skupiny metod jsou založeny na explicitním zahrnutí elektronové korelace.

Metody multikonfigurační slouží především k popisu tzv. statické korelace. Ta je přičítána vzájemnému ovlivňování pohybu valenčních elektronů. U sloučenin přechodných kovů obvykle hraje statická korelace významnou roli, protože velmi úzce souvisí mimo jiné s degenerací základního elektronového stavu izolovaného iontu přechodného kovu (která je u jejich většiny přítomná), a vede k multikonfiguračnímu elektronovému charakteru těchto

sloučenin, zjednodušeně řečeno k několika možným elektronovým konfiguracím významně přispívajícím k charakteru základního stavu.

Do kategorie multikonfiguračních metod se řadí především metoda CASSCF (nebo obecněji typ metod MCSCF), která je založena na popisu vlnové funkce ve formě lineární kombinace více Slaterových determinantů (konfigurací). U CASSCF metody jsou molekulové orbitály systému rozděleny do několika podmnožin, přičemž v podmnožině tzv. aktivních orbitalů (obvykle zahrnující nejdůležitější valenční orbitály iontů kovů a jejich ligandů) se uvažují všechny možné elektronové konfigurace, kterých lze s příslušným počtem aktivních elektronů a orbitalů dosáhnout (tzv. úplná konfigurační interakce, FCI). Řešení spočívá v nalezení optimální lineární kombinace těchto konfigurací, a současně i optimálního tvaru molekulových orbitalů obdobně jako u DFT (či SCF) metod. Vzhledem k charakteru CASSCF vlnové funkce je metoda vhodná nejen pro popis základního, ale i excitovaných elektronových stavů, a často se proto používá i pro výpočty různých spektroskopických vlastností molekul. Především v posledním desetiletí byla dále vyvinuta nová metodologie sloužící k nalezení optimální kombinace konfigurací v prostoru aktivních orbitalů založená na teorii renormalizační grupy matice hustoty (density matrix renormalization group, DMRG). Ta umožňuje zahrnutí výrazně většího počtu aktivních orbitalů a ukazuje se proto být velmi užitečnou pro teoretickou bioorganickou chemii.

Metody multireferenční (metody s více jednokonfiguračními nebo jednou či několika multikonfiguračními referenčními vlnovými funkcemi) slouží k zahrnutí zbylé části elektronové korelace, pro kterou se používá termín dynamická, a která pochází především od korelace pohybu elektronů vnitřních slupek. K nejpoužívanějším metodám z této skupiny patří nadstavba CASSCF založená na poruchové teorii do druhého řádu (CASPT2), u které je dynamická korelace započítávána zahrnutím konfigurací vzniklých jednonásobnými a dvounásobnými excitacemi mezi různými podmnožinami molekulových orbitalů definovaných na CASSCF úrovni. Dále do této skupiny patří metody založené na konfigurační interakci (MRCI) nebo teorii vázaných klastrů (MRCC), ty jsou však výpočetně velmi náročné a jejich použití se omezuje spíše na menší molekuly. V případě zájmu čtenáře odkazujeme na přehledné články o CASSCF/CASPT2 a DMRG (cit.^{13,14}).

3.3. Relativistické efekty ve sloučeninách přechodných kovů

Jak jsme zmínili již v úvodu, bioorganické sloučeniny se mimo jiné účastní i tzv. spinově-zakázaných reakcí. Ty nelze popsat výše diskutovanými metodami nerelativistické kvantové chemie. To platí jak pro tento typ reakcí, tak i pro mnoho dalších jevů, které v přírodě pozorujeme, a které jsou například základem různých spektroskopických metod. Pro správný popis těchto jevů je nutné použít metody založené na relativistické kvantové mechanice, která vychází ze sjednocení nerelativistické kvantové teo-

rie a speciální teorie relativity, a která tudíž respektuje konečnou rychlost světla. Jako jeden z velmi ilustrativních příkladů relativistické povahy světa můžeme zmínit typickou „žlutou“ barvu zlata, kterou bychom v „nerelativistickém světě“ nepozorovali.

Jelikož rozdíl mezi nerelativistickou a relativistickou kvantovou mechanikou je značný, tyto teorie používají odlišné základní rovnice popisující pohyb částic systému. V případě relativistické teorie je to rovnice Diracova, jejíž řešení je ještě výrazně komplikovanější než řešení nerelativistické Schrödingerovy rovnice. Díky tomu je použití plně relativistických metod (tzv. čtyřsložkových nebo alespoň dvousložkových) v dnešní době prakticky omezeno na jednodeterminantové výpočty molekul s konfigurací uzavřených slupek či jedním nepárovým elektronem.

V následujících odstavcích se zaměříme na aproximační metody nejhodněji používané pro sloučeniny přechodných kovů, které jsou založeny jak na přidání některých chybějících členů k nerelativistickému hamiltoniánu ve formě dodatečných poruch, tak na modifikacích některých členů v nerelativistickém hamiltoniánu obsažených. Tyto relativistické korekce lze v zásadě rozdělit do dvou skupin, na tzv. skalární a spinově závislé. Zde je důležité podotknout, že k těmto účelům používané metody výrazně nemění (alespoň v prvním přiblížení) charakter použitého hamiltoniánu, a jejich základem tedy i nadále zůstává především řešení Schrödingerovy rovnice jako v případě čistě nerelativistických výpočtů, což je v praxi velmi výhodné.

Skalární relativistické efekty nezávisí na spinu elektronů (stejně jako tomu je u nerelativistického hamiltoniánu – spin elektronů uvažujeme pouze při tvorbě elektronových konfigurací s předem danou celkovou multiplicitou či projekcí spinu, nikoliv na úrovni operátoru), a řadíme mezi ně závislost „relativistické hmotnosti“ částic na jejich rychlosti a tzv. Darwinův člen. Skalární efekty mají za následek především změnu tvaru a energie atomových (potažmo molekulových) orbitalů, a k jejich popisu se v bioorganické chemii používají hlavně dva typy metod. První je založen na tzv. pseudopotenciálech (ECP, effective core potentials), kterými se popisují elektrony vnitřních slupek atomů a tyto elektrony se pak ve výpočtu neuvažují explicitně. Do druhé kategorie řadíme metody založené na různých typech transformace původního Diracova hamiltoniánu (lze zmínit například Douglasovu-Krollovu-Hessovu transformaci vedoucí k tzv. DKH hamiltoniánu), které nám poskytnou členy nahrazující (modifikující) jejich nerelativistické protějšky. U obou typů těchto metod spočívá rozdíl vůči nerelativistickým výpočtům v modifikaci integrálů a řešení Schrödingerovy rovnice zůstává beze změny – jsou proto vhodné pro kombinaci s nerelativistickými metodami kvantové chemie, od HF či DFT až po sofistikované multireferenční metody.

Mezi spinově závislé relativistické efekty důležité pro bioorganickou chemii řadíme především spin-orbitální vazbu (SOC), která je dána interakcí spinu elektronu s magnetickým polem vytvořeným jeho relativním pohybem vůči atomovým jádrům a ostatním elektronům (tedy řečneme interakci s vnitřním magnetickým polem moleku-

ly). V případě molekul složených pouze z lehkých atomů může hrát velmi důležitou roli i spin-spinová vazba (SSC, vzniká vzájemnou interakcí spinů elektronů), u sloučenin přechodných kovů je však obvykle ve srovnání s SOC zanedbatelná. Vliv SOC obvykle započítáváme přidáním příslušného členu (získaného například též DKH transformací) k nerelativistickému hamiltoniánu ve formě poruchy, přičemž metodologie takových výpočtů je z podstaty SOC složitější než výpočty zahrnující pouze skalární efekty. Jedním ze základních důvodů je skutečnost, že žádný orbitálně nedegenerovaný elektronový stav neinteraguje prostřednictvím SOC sám se sebou, ale pouze s dalšími elektronovými stavy (i o různé spinové multiplicity viz například interakce singletového-tripletového páru, která je příčinou mnoha známých spinově-zakázaných reakcí v organické chemii). To v důsledku znamená, že se před zavedením poruchy nemůžeme omezit pouze na nerelativistický výpočet základního elektronového stavu (jako například u DFT metod), ale stavů musíme spočítat více. Tato „předpočítaná“ množina stavů se poté nechá interagovat prostřednictvím SOC a výsledné SOC-korigované energie a vlnové funkce se získají metodami poruchového počtu. Z tohoto důvodu se SOC velmi často zahrnuje formou nadstavby nad CASSCF/CASPT2 metodologií, která implicitně umožňuje zahrnutí většího počtu elektronových stavů. Kromě již zmíněných spinově-zakázaných reakcí přispívá SOC (a SSC) k mnoha dalším pozorovaným jevům jako je štěpení v nulovém poli (například štěpení na nerelativistické úrovni třikrát degenerovaného tripletu), interakce spinu s vnějším magnetickým polem, která je podstatou EPR spektroskopie, atd. Je tedy zřejmé, že zahrnutí SOC, ale i skalárních relativistických efektů, do kvantově-chemických výpočtů je v mnoha studovaných případech naprostou nutností, obzvláště pak u molekul obsahujících těžší atomy, mezi které můžeme bioorganické systémy řadit.

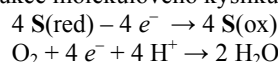
4. Příklady (aplikace)

4.1. Teoretické studium reakčních mechanismů metaloproteinů

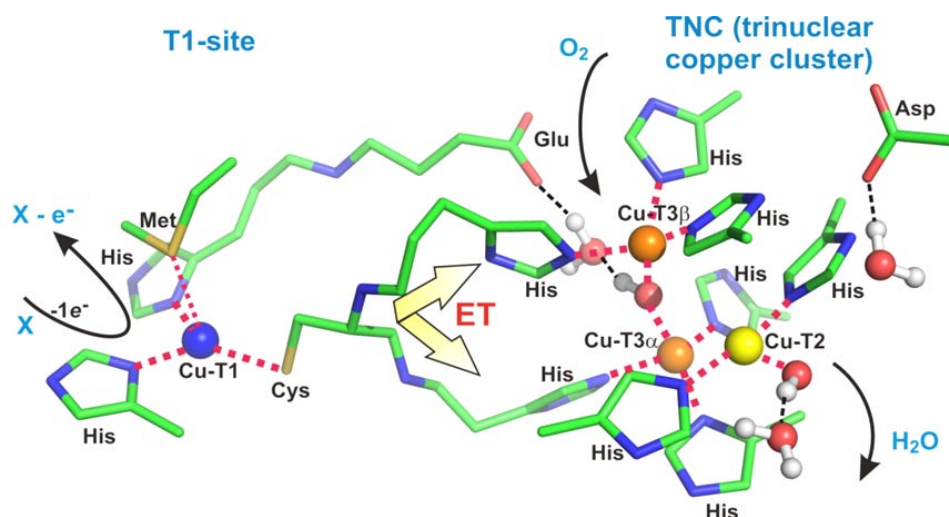
V předešlých odstavcích jsme se snažili načrtnout základní rysy elektronové struktury bioorganických komplexů a letmo popsat arsenál běžně dostupných a používaných metod v teoretické bioorganické chemii. Jejich použití lze nejlépe popsat na příkladech. Zvolili jsme tři okruhy (systémy), které se podle nás řadí k těm nejsložitějším – experimentálně i teoreticky – ale tím i nejzajímavějším systémům v bioorganické chemii: multi-copper oxidasy se čtyřmi ionty mědi v aktivním místě, nehemové systémy s jedním či dvěma ionty železa, a konečně tzv. oxygen-evolving complex ve fotosystému II, který má ve svém reakčním centru klastr CaMn_4O_4 . Jsme přesvědčeni, že pochopení funkce a reakčního mechanismu by u žádného z těchto systémů nebylo možné bez vzájemné součinnosti experimentu a teorie, reprezentované hlavně kvantově-chemickými výpočty.

4.1.1. „Multi-copper“ oxidasy

Multicopper oxidasy (MCO) jsou enzymy, které oxidují rozličné, zpravidla nízkomolekulární substráty (S), za současné redukce molekulového kyslíku na vodu:



Zatímco oxidace probíhá v aktivním místě s jedním iontem mědi – většinou jde o standardní „blue copper site“ neboli spektroskopickým názvoslovím též „Cu-T1 site“ – čtyřelektronová redukce O_2 na H_2O probíhá v tzv. tříjaderném klastru s atomy mědi v triangulárním uspořádání (trinuclear copper cluster, TNC). TNC je vzdáleno přibližně 13 Å od Cu-T1 a přenos elektronu mezi těmito dvěma centry spojenými „rozdvojeným (bifurcated)“ Cys-(His)₂



Obr 1. Struktura aktivních míst („Cu-T1“, levá část; TNC, pravá část) spolu s vyznačenými oxidačně-redukčními reakcemi a cestou pro přenos elektronu (electron transfer, ET). Převzato se svolením z cit.¹⁵, copyright (2013) Elsevier

řetězcem patří rovněž k vděčným objektům jak experimentálního, tak teoretického zájmu. Struktura obou aktivních míst je znázorněna na obr. 1. Pro úplnost lze ještě poznamenat, že MCO se vyskytují téměř ve všech organismech, mezi známé zástupce patří lakasy, ceruloplasmin, askorbát oxidasa, či bilirubinoxidasa.

V minulých desetiletích, především díky práci prof. Solomona a spol., bylo shromážděno obrovské množství experimentálních, převážně spektroskopických dat: CD, (VTVH-)MCD, EPR, ESEEM, EXAFS, atd., ze kterých byly odvozeny základní rysy dvou spektroskopicky charakterizovaných meziproductů štěpení molekuly O_2 – tzv. peroxy-intermediátu a nativního intermediátu – tedy stavu před a po vlastním štěpení vazby $O=O$. Tyto pak poskytly prvotní stopy k pochopení celého reakčního mechanismu.

Kolem roku 2002 se objevily první krystalové struktury lakasy se všemi čtyřmi ionty mědi (zatímco krystalové struktury askorbát oxidasy byly známy od počátku 90. let). To umožnilo provést rozsáhlou sérii QM/MM výpočtů, které jednoznačně určily strukturu pozorovaných intermediátů a poskytly chybějící střípky do úplného popisu reakčního mechanismu. Zároveň tyto výpočty ukázaly problém mnohých krystalových struktur obsahujících ionty kovů, vyplývající z jejich částečné redukce v průběhu rentgenostrukturální analýzy. Domníváme se, že z několika desítek dnes známých krystalových struktur MCO je pouze několik z nich v dobře definovaných oxidačních stavech (tedy např. plně oxidovaném či plně redukováném), zatímco ostatní představují směs oxidačních stavů tří iontů mědi (Cu^+ či Cu^{2+}), což pak vede ke zřetelně jiným vzdálenostem Cu-Cu v TNC. Přesnost QM/MM výpočtů v lokálních strukturálních detailech je natolik velká, že jsme dle vzdáleností Cu-Cu téměř jednoznačně schopni přiřadit oxidační stavy iontů k dané experimentální krystalové struktuře.

Celá tato rozsáhlá série výpočtů nemohla být prováděna jinak než za pomoci DFT metod (viz výše) popisujících kvantově-mechanickou oblast. Nicméně, mnohé chybějící detaily a přesnou korelaci mezi výpočtem a spektroskopii pak poskytly *a posteriori* tzv. multireferenční metody vlnové funkce (viz výše) – CASPT2, MRCI, apod. Ty například vysvětlily pozorované anomálie v EPR spektrech (jedna ze složek g-faktoru menší než 2,0, což je pro iont Cu^{2+} velmi neobvyklé), správně předpověděly spinovou multiplicitu základního elektronového stavu v jednotlivých intermediátech a podaly velmi úplný popis jejich elektronové struktury včetně tzv. „spinové frustrace“. Spinová frustrace je stav, kdy např. tři atomy dvoj-mocné mědi spojené do „trojúhelníku“ (obr. 1), každý s jedním nepárovým elektronem, nemohou jednoduchým způsobem dát vzniknout základnímu elektronovému dubletu ($S = 1/2$) v tzv. konfiguraci „up-up-down“. V neposlední řadě pak QM/MM výpočty s poruchovými metodami výpočtu volné energie (free energy perturbation, FEP) – QM-MM/FEP – poskytly hodnoty reorganizačních energií, ze kterých lze odvodit pomocí Markusovy rovnice rychlost přenosu elektronu mezi dvěma reakčními centry v MCO. QM-MM/FEP výpočty rovněž poskytly rozumně přesné

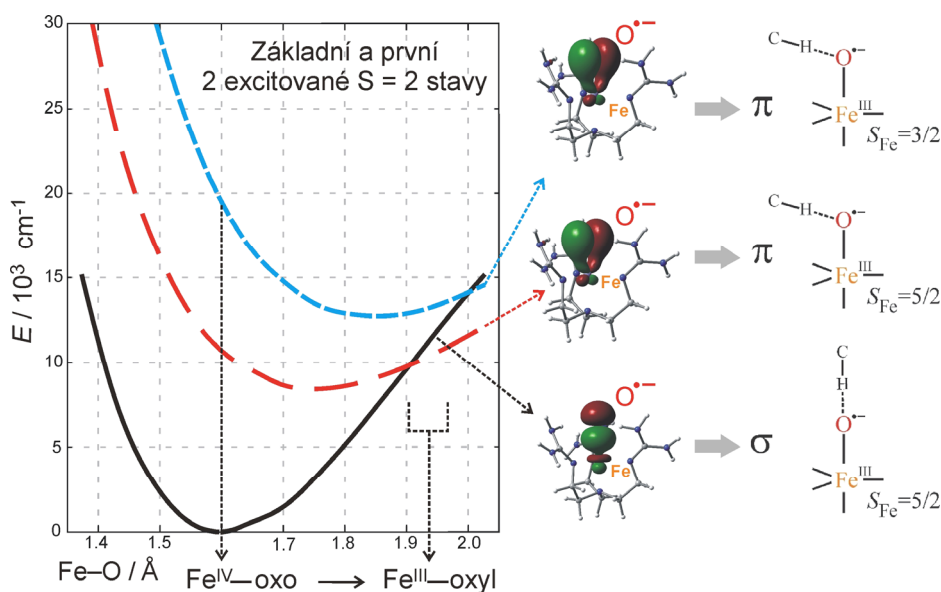
hodnoty redukčních potenciálů – E^0 – a konstant kyselosti (pK_a) všech přibližně deseti teoreticky možných intermediátů v reakčním cyklu MCO. To vedlo k formulaci úplného reakčního mechanismu této skupiny enzymů, který je v plném souladu jak s teoretickými, tak experimentálními daty. Téměř všechny tyto teoretické a experimentální poznatky jsou shrnuty ve dvou nedávno publikovaných přehledných článcích^{15,16} a nedávne originální studii¹⁷.

4.1.2. Nehemové systémy s ionty železa (NHFe)

Reaktivní centra s jedním nebo více ionty železa patří z výpočetního hlediska k nejobtížnějším bioorganickým systémům. To je dáno především jejich komplexní elektronovou strukturou, která se navíc může výrazně měnit v průběhu katalyzované reakce (změna oxidačního a spinového stavu kovového iontu) a zahrnovat i podstatné změny v elektronové struktuře ligandů (jedno, dvou, či čtyřelektronová redukce molekulárního kyslíku, oxidace ligandujícího hemu apod.). Kromě hemových komplexů, u kterých jsou 4 ekvatoriální pozice v koordinační sféře iontu železa obsazeny chelátem porfyrinového typu, se v přírodě uplatňuje mnoho „nehemových“ forem, jako jsou například (i) přenašeči elektronů – feredoxiny obsahující např. skupiny Fe_2S_2 , Fe_4S_4 ; (ii) nehemové enzymy s jedním centrem železa (mononuclear non-heme iron enzymes, NHFe); tyto proteiny se obvykle vážou k iontu železa přes tzv. kanonickou faciální triádu ligandů, tj. přes dva histidiny a jednu karboxylovou skupinu; (iii) nehemové enzymy se dvěma magneticky spřaženými centry železa (binuclear non-heme iron enzymes, NHFe₂).

Zmíníme se nejprve o systémech NHFe obsahujících ferrylovou (Fe^{IV} -oxo) skupinu (v dalším textu označované „komplexy Fe^{IV} -oxo“) v tripletovém a kvintetovém ($S = 1$ a $S = 2$) spinovém stavu¹⁸. Tyto komplexy dokážou buď aktivovat jinak velmi pevnou a stabilní alifatickou vazbu C–H pro následnou hydroxylaci, halogenaci, či desaturaci, nebo provést elektrofilní substituci na aromatickém kruhu. Korelaci experimentálních (spektroskopických) dat získaných technikou MCD a kvantově-chemických výpočtů metodou CASPT2 se podařilo v nedávne době definovat tři mechanismy, kterými dokáže skupina Fe^{IV} -oxo homolyticky štěpit alifatickou vazbu C–H (cit.¹⁹). Ukazuje se, že pro základní a dva nejnižší excitované $S = 2$ stavy se vazba Fe^{IV} -oxo (po prodloužení její délky) spinově polarizuje, čímž oxo skupina získá výrazný radikálový (oxylový) charakter, a to buď v ose Fe–O (σ polarizace), nebo kolmo na tuto vazbu (π polarizace), viz obr. 2. Ve skutečnosti rozlišujeme dva různé typy π polarizace podle toho, jestli se na Fe^{III} lokalizují tři nebo pět nespárovaných elektronů.

Daný typ polarizace předznamenává ideální způsob přiblížení atakované vazby C–H, což je v případě komplexů ve stavu $S = 2$ jak σ , tak i $\pi(S_{Fe}=5/2)$ a $\pi(S_{Fe}=3/2)$ trajektorie (obr. 2). Na druhou stranu komplexy Fe^{IV} -oxo ve stavu $S = 1$ realizují (pokud nejsou výrazně sterické překážky) tzv. π atak na vazbu C–H (cit.²⁰). Tento zásadní rozdíl mezi komplexy Fe^{IV} -oxo ve stavech $S = 1$ a $S = 2$



Obr. 2. Křivky potenciální energie podél Fe–O koordináty počítané metodou CASPT2. Protažením koordináty dochází ke spinové polarizaci v elektronové struktuře základního a dvou prvních excitovaných $S = 2$ stavů, implikující tři možné mechanismy pro trhání vazby C–H

by mohl být důvodem, proč jsou v přírodě pozorovány pouze druhé ($S = 2$) z nich, ve kterých je skupina $\text{Fe}^{\text{IV}}\text{-oxo}$ více flexibilní k orientaci substrátu s možností vyšší kontroly enzymové selektivity. Z teoretického pohledu je nutné podotknout, že pokročilá metoda CASPT2, která jinak poskytuje poměrně přesnou elektronovou strukturu pro daný systém, nemusí být vždy vhodná pro studium samotné reakční cesty (např. trhání vazby C–H) a to kvůli omezenému počtu valenčních elektronů a molekulových orbitalů. Aktivní prostor by měl být stejný pro všechny struktury podél reakční koordináty, což nemusí být vždy proveditelné. Vlastní reaktivita NHFe systémů je tak v současné době především studována metodami DFT. Z výměnně-korelačních funkcionalů se osvědčil B3LYP, který poskytuje bariéry pro trhání vazeb C–H srovnatelné s kinetickými daty²¹ (nejčastěji 15–20 kcal mol⁻¹).

Metoda DFT však může být velmi nespolehlivá při řešení reaktivity silně multireferenčních systémů (např. NHFe₂ komplexů), jak je diskutováno v práci zabývající se reakčním mechanismem v Δ^9 desaturase ($\Delta^9\text{D}$) – enzymu, který kazalzuje desaturaci alifatického řetězce a používá molekulu O₂ jako kofaktor²². Srovnání energetiky 9 různých reakčních cest (zahrnujících trhání vazby C–H či O–O) na úrovni velmi pokročilé DMRG-CASPT2 metody a 9 DFT funkcionalů poukázalo na velké rozdíly v přesnosti použitých funkcionalů. Studie dále upozornila na možné problémy spojené s použitím geometrií optimalizovaných na úrovni DFT, které pak vedou k nesprávnému popisu elektronové struktury na úrovni DMRG-CASPT2 (např. podceněná délka vazby v peroxidové

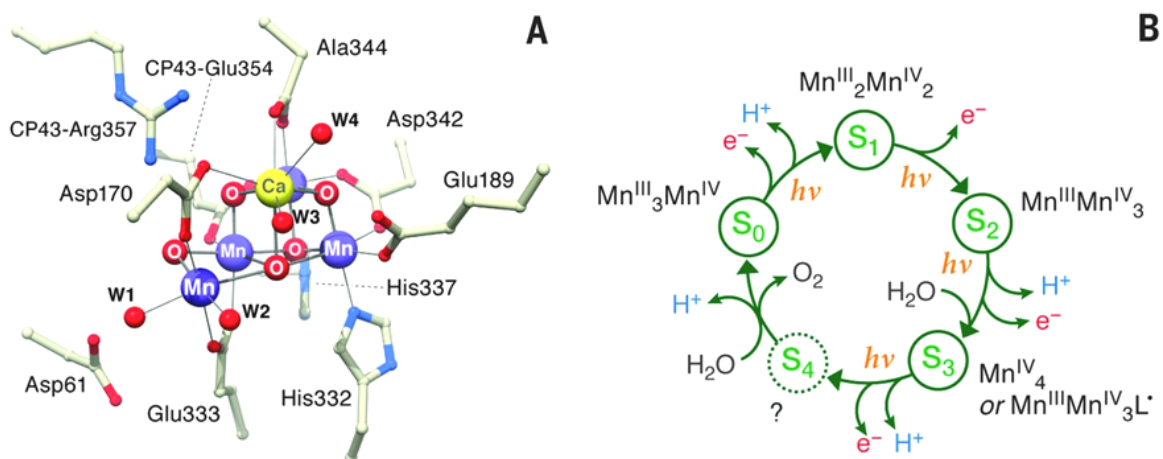
skupině, která se pak z pohledu DMRG-CASPT2 jeví jako superoxid).

Někdy je obtížné určit správnou elektronovou strukturu a/nebo správné energetické rozdělení elektronových stavů s použitím i těch nejmodernějších kvantově-chemických metod, což můžeme na závěr dokumentovat na příkladu modelového, hemového komplexu $\text{Fe}^{\text{IV}}\text{-oxo}$. Zatímco RASPT2(29e,28o)²³ a DMRG-MRCI+Q(29e,29o)²⁴ shodně popisují základní stav jako $^+ (\text{hem})\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$, zásadní rozpor je v určení stability excitovaného elektronového stavu $(\text{hem})\text{Fe}^{\text{V}}=\text{O}$. V prvním případě je excitovaný stav kvazi-degenerovaný se základním stavem (a je tudíž termálně dostupný), v druhém naopak leží více než 7 kcal mol⁻¹ nad základním stavem.

4.1.3. Oxidace vody ve fotosystému II (OEC – oxygen evolving complex)

Jedna z klíčových a zároveň z fyzikálně-chemického hlediska záhadných a teprve nedávno dostatečně charakterizovaných reakcí je oxidace (formálně) dvou molekul vody na molekulu kyslíku ve fotosystému II (PSII). Tato reakce se uskutečňuje v tzv. „kyslík vyvíjejícím centru“ (oxygen evolving complex, OEC, alternativně též water-oxidizing complex, WOC). Aktivní centrum OEC se sestává z kubické struktury tvořené třemi atomy (ionty) manganu a jedním atomem vápníku, vzájemně přemostěnými atomy (anionty) kyslíku. Další iont manganu je připojen μ -oxo-můstkem (viz obr. 3a, cit.²⁵).

Stechiometrie reakce byla vypracována již v 70. letech dvacátého století²⁶. Pomocí série krátkých



Obr. 3. a) Polynukleární manganovo-vápenatý klastr. b) Kokov cyklus. Převzato se svolením z cit.²⁵, copyright (2014) American Association for the Advancement of Science

světelných impulsů bylo pozorováno, že vývoj kyslíku vrcholil s každým čtvrtým světelným impulsem. V kombinaci s dalšími pozorováními byl sestaven tzv. Kokov cyklus, viz obr. 3b. Číslování stavů odpovídá množství oxidačních ekvivalentů systému. Stavy S_0 až S_3 byly spektroskopicky charakterizovány, zatímco stav S_4 rychle přechází na výchozí stav S_0 . V průběhu reakčního cyklu opouštějí elektrony a protony reakční centrum střídavě. Tím je dosaženo maximálního zachování náboje systému, čímž se minimalizují překážky pro jednotlivé kroky reakce.

Nicméně až do roku 2011 byly známé krystalové struktury PSII, a tedy i OEC, pouze ve velmi nízkém rozlišení (3,5 a 3,0 Å)^{27,28}. Ty sice poskytly v hrubých obrysech strukturu celého proteinového komplexu, ale nikoliv přesné uspořádání aktivního místa OEC, které je nezbytné pro pochopení celého reakčního mechanismu. Další experimentální přístupy – například EPR, či její varianty (ENDOR, ELDOR), rentgenová absorpční spektroskopie (např. EXAFS či XANES), či sledování výměn molekul vody pomocí časově rozlišené hmotnostní spektrometrie – pak byly použity k charakterizaci geometrické a elektronové struktury systému v průběhu celého reakčního cyklu. Konečné pochopení reakčního mechanismu však bylo umožněno až v kombinaci s výpočetní chemií, především díky pracím prof. Siegbahna²⁹. Za jeden z největších úspěchů teoretické bioanorganické chemie pak autoři tohoto článku považují přesnou předpověď struktury manganovo-vápenatého klastru, která byla poměrně nedávno potvrzena experimentálně³⁰ určením krystalové struktury PSII s kvalitním rozlišením 1,9 Å. Naopak tato experimentální krystalová struktura vyvrátila mnohé jiné předchozí návrhy vycházející z neúplných spektroskopických či výpočetních dat.

Současné poznání reakčního mechanismu OEC se tedy díky kombinaci teoretických a experimentálních me-

tod významně posunulo od fenomenologického popisu na úrovni Kokova cyklu až k detailnímu popisu a porozumění na úrovni jednotlivých atomů či dokonce elektronů, včetně detailního energetického profilu celé reakce (zasvěcený čtenář jej může nalézt v cit.²⁹). Toto vede mnohé odborníky k odvážnému tvrzení, že problém oxidace vody v PSII je na elementární úrovni vyřešen. Jako jeden z velmi zajímavých nevyřešených problémů se jeví role iontu vápníku v celém reakčním mechanismu.

Je tedy zřejmé, že uvolnění jedné molekuly kyslíku vyžaduje plnou oxidaci dvou molekul vody (substrátu). Tyto dvě molekuly substrátu jsou přítomny v blízkosti tří manganitých iontů. Manganité ionty jsou pak postupně oxidovány na manganicité excitovaným chlorofylem P680⁺, což je systém s nejvyšším známým redukčním potenciálem mezi biologickými systémy. Manganicité ionty pak oxidují v konečné fázi cyklu oxo skupiny obou substrátů (molekul vody). Předtím však slouží k minimálně dvěma důležitým úkolům. Za prvé, okyselují molekuly substrátů a usnadňují uvolňování protonů. Za druhé, přibližně oktaedrální uspořádání ligandů manganitých iontů umožňuje tzv. Jahnovu-Tellerovu distorzi, ke které však nedochází u manganicitých iontů. Oxidace z manganitých na manganicité ionty tak způsobuje ztrátu této distorze a vede ke zkrácení některých vzdáleností mezi iontem manganu a ligandy. Tato změna hraje roli při správném polohování substrátů, které po deprotonaci a oxidaci dohromady vytváří molekulu kyslíku²⁹.

Pouze tři ze čtyř iontů manganu jsou oxidovány během cyklu. Čtvrtým krokem je pak oxidace jednoho ze substrátů za vzniku oxylového radikálu. Ionty manganu se pak regenerují za současné oxidace oxo/oxylového páru a vzniku molekulárního kyslíku. Okolí reakčního centra je obklopeno proteinovou maticí, která nejen stabilizuje a vymezuje vícejaderný manganovo-vápenatý klastr, ale je

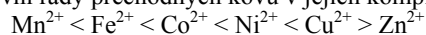
také zásadní pro udržení sítě vodíkových vazeb. Tato síť slouží k několikakrokové přepravě uvolněných protonů přes sousední molekuly vody ven z reakčního centra.

4.2. Selektivita vazby iontů kovů v biomolekulách

V předchozích odstavcích jsme se zabývali specifickými uspořádáními aktivních míst v metaloproteinech, obsahujících konkrétní kombinace iontů kovů. Ionty kovů tedy mohou být v jistém ohledu považovány za nejjednodušší kofaktory biologických systémů. Jejich nezastupitelná úloha v celé řadě procesů je dána jejich výjimečnými schopnostmi, jako je například stabilizace náboje, ligandová selektivita, koordinační geometrie, oxidačně-redukční vlastnosti či interakce s molekulami vody. Jedna ze zásadních otázek bioorganické chemie zní: „Jak příroda zajistí, že se právě tyto kombinace vyskytnou v daných metaloenzymech, tedy selektivitu jejich vazby ve srovnání s ionty jiných kovů?“ O tomto fenoménu a způsobech, jak jej lze studovat metodami kvantové a výpočetní chemie, se stručně zmíníme v tomto závěrečném odstavci.

Nejméně třináct kovových prvků³¹ (Na, K, Mg, Ca, V, Cr, Mo, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn), některé z nich v několika oxidačních stavech, je nezbytných pro celou řadu organismů. Nicméně, jejich využití je možné pouze ve spojení s jejich správnou manipulací a regulací. Různorodost iontů, ale také podmínek, ve kterých se v prostředí nacházejí, předurčuje existenci účinných, flexibilních, ale i mnohých konkurenčních mechanismů. Reaktivita či nespecifická vazba iontů kovů může vést k poškození, nebo jednoduše zabránit řádné funkci buněčných mechanismů. V zájmu zachování hladin iontů kovů v náležité formě, většina organismů disponuje mechanismy pro regulaci jejich příjmu, vylučování, skladování, dopravu a kompartmentalizaci.

Pro dvojmocné ionty kovů, které představují pro mnohé přechodné kovy biologicky nejrelevantnější formu, vede kombinace iontových poloměrů a stabilizace ligandovým polem k tzv. Irvingově-Williamsově řadě³². Ta kvalitativně popisuje relativní konstanty stability iontů kovů z první řady přechodných kovů v jejich komplexech:



Konstanty stability se pro tuto sérii pohybují v rozsahu mnoha řádů. V přírodě jsou však hojně využívány všechny zmiňované ionty. Jak tedy zabezpečit vazbu iontů, které mají přirozeně nižší afinitu? Část odpovědi lze nalézt ve faktu, že buněčné koncentrace volných iontů jsou přibližně nepřímo úměrné jejich pořadí v Irvingově-Williamsově řadě, tj. nejvyšší koncentrace volných iontů (z výše uvedených členů IW řady) lze v cytozolu buňky zaznamenat pro manganaté ionty, zatímco nejnižší pro ionty měďnaté³. To pomáhá neutralizovat nerovnoměrnou afinitu danou Irvingovou-Williamsovou řadou.

K dosažení selekce toho správného iontu je však využívána řada dalších faktorů, které poskytují různou míru stabilizace pro různé ionty – náboj kationtu (většinou +1 až +3), celkový náboj vazebného místa, dipól-dipólové interakce s ligandy a širším okolím, polarizovatelnost ligandů, koordinační číslo a geometrie komplexu, velikost

vazebného místa³. Rovněž přítomnost iontů s opačným nábojem ve vazebném místě – jejichž účinek je modulován hodnotou lokální dielektrické konstanty – může působit jako účinný diskriminační mechanismus pro kationty s jiným nábojem než má nativní iont.

Ligandy a ionty s podobnou polarizovatelností poskytují příznivější interakce. Obecně platí, že „měkké“, tedy snadno polarizovatelné ligandy, jako jsou například thiolové skupiny, preferují měkké kovové ionty, tedy relativně velké ionty s malým nábojem, jako např. Cu^+ ; zatímco tvrdé ligandy, např. karboxyláty, poskytují lepší interakci s vysoce nabitými menšími ionty, tzv. HSAB princip (hard-and-soft acids and bases).

V neposlední řadě neúplně obsazené *d* orbitály iontů přechodných kovů kladou rozdílné požadavky nejen na počet ligandů, ale také na jejich geometrické uspořádání. Tyto faktory jsou velice efektivně využívány v proteinových strukturách, které umožňují precizní ladění 3D struktury ligandů, které by nebylo možné v jednoduchých komplexech.

Velikost dostatečně rigidního vazebného místa může být omezující jak pro větší, tak i pro menší ionty. Menší ionty se hůře zbavují své první solvatační vrstvy a mají proto tendenci vstupovat do vazebného místa s navázanými molekulami vody. Výsledný komplex (částice) pak může být paradoxně příliš velký pro dané vazebné místo. Kromě toho, přítomnost molekul vody modifikuje interakce vazebného místa s (solvatovaným) iontem, což může také sloužit ke zvýšení specifity. Tento případ je ilustrován tzv. EEEE motivem, kde čtyři glutamátové postranní řetězce mohou být selektivní jak pro sodné, tak pro vápenaté ionty, v závislosti na velikosti vstupní dutiny³³.

V řeči výpočetní chemie lze specifitu systému charakterizovat ziskem volné energie při navázání různých iontů kovů. Tyto změny volné energie (ΔG) se většinou pohybují v rozmezí několika desítek kcal mol⁻¹. Mnoho kvantově-chemických metod je tak i v případě chyby několika jednotek kcal mol⁻¹ postačujících pro získání přibližné představy o specifitě daného systému³⁴.

Pro biologii je neopomenutelný vliv vodného prostředí. Explicitní popis i pouhých dvou solvatačních vrstev okolo studovaného komplexu kovů však neúnosně zvyšuje nejen velikost studovaného systému, ale i jeho konformační komplexitu. Praktickým řešením tak zůstávají tzv. implicitní solvatační modely (běžně též nazývané jako model dielektrického kontinua), ovšem jejich přesnost pro popis systémů s nenulovým celkovým nábojem může být limitující³⁵. Pro studium selektivity jsou však důležité rozdíly mezi hodnotami volné energie vázaných systémů, nikoliv jejich absolutní hodnoty. Této skutečnosti lze využít k výraznému vzájemnému vyrušení chyb a zásadnímu zvýšení přesnosti vypočtené selektivity³⁶.

Tato úvaha je rozšiřitelná i na složitější vazebná místa, jako například metaloproteiny. Síla interakce iontu kovu s partnery mimo jeho blízké okolí může být velká, není však specifická. Specifita těchto systémů je tak dána primárně vazebným místem, ale také rozdíly v konformačním prostoru částí systému výrazně interagujícími s iontem kovu³⁷.

5. Závěr a výhledy

Díky komplikované elektronové struktuře mnohých iontů přechodných kovů patří teoretická bioanorganická chemie mezi metodicky nejtěžší, ale zároveň nejzajímavější částí kvantové chemie. V tomto referátu jsme se jak v obecné rovině, tak na konkrétních příkladech snažili nastínit mnohá z těchto úskalí, a zároveň ukázat i mnohé úspěchy, kterých bylo dosaženo díky úzké spolupráci mezi experimentálními a teoretickými badateli. V bioanorganické chemii platí snad více než kdekoliv jinde, že významného pokroku ve studiu daného problému či spíše systému (např. metaloenzymu) lze dosáhnout jen oním „šťastným svazkem“ mezi experimentem a teorií.

Autoři děkují Grantové agentuře České republiky za finanční podporu (granty 15-10279Y, 14-31419S a 15-19143S). Upřímně pak chceme poděkovat Zdeňku Havlasovi ze vše, co vykonal pro náš profesní i osobnostní růst a přeje mu pevně zdraví a mnoho životních i pracovních úspěchů v následujících letech.

LITERATURA

- Messerschmidt A., Bode W., Cygler W.: *Handbook of Metalloproteins*, Vol. 6, 3. vyd. Wiley, Chichester 2004.
- Rokob T. A., Srnec M., Rulíšek L.: *Dalton Trans.* 41, 5754, (2012).
- Dudev T., Lim C.: *Chem. Rev.* 114, 538 (2014).
- Rulíšek L., Vondrášek J.: *J. Inorg. Biochem.* 71, 115 (1998).
- Zheng H., Chruszcz M., Lasota P., Lebioda L., Minor W. J.: *Inorg. Biochem.* 102, 1765 (2008).
- Atkins P., de Paula J.: *Fyzikální chemie*, 1. vyd. VŠCHT Praha 2013.
- Housecroft C. E., Sharpe A. G.: *Anorganická chemie*, 1. vyd. VŠCHT Praha 2014.
- Holm R. H., Kennepohl P., Solomon E. I.: *Chem. Rev.* 96, 2239 (1996).
- Solomon E. I., Brunold T. C., Davis M. I., Kemsley J. N., Lee S.-K., Lehnert N., Neese F., Skulan A. J., Yang Y. S., Zhou J.: *Chem. Rev.* 100, 235 (2000).
- De Groot F.: *Chem. Rev.* 101, 1779 (2001).
- Srnec M.: *Chem. Listy* (2016), v tisku.
- Cotton A. F., Wilkinson G., Murillo A. C., Bochman M.: *Advanced Inorganic Chemistry*, 6. vyd. Wiley-Interscience, New York 1999.
- Pierloot K., v: *Computational Organometallic Chemistry*; (Cundari T. R., ed.), str. 123. Marcel Dekker, New York 2001.
- Yanai T., Kurashige Y., Mizukami W., Chalupský J., Lan T. N., Saitow M.: *Int. J. Quantum Chem.* 115, 283 (2015).
- Rulíšek L., Ryde U.: *Coord. Chem. Rev.* 257, 445 (2013).
- Solomon E. I., Heppner D. E., Johnston E. M., Ginsbach J. W., Cirera J., Qayyum M., Kieber-Emmons M. T., Kjaergaard C. H., Hadt R. G., Tian L.: *Chem. Rev.* 114, 3659 (2014).
- Li J.-L., Farrokhnia M., Rulíšek L., Ryde U.: *J. Phys. Chem. B* 119, 8268 (2015).
- McDonald A. R., Que L.: *Coord. Chem. Rev.* 257, 414 (2013).
- Srnec M., Wong S. D., England J., Que L., Solomon E. I.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, 14326 (2012).
- Decker A., Rohde J.-U., Klinker E. J., Wong S. D., Que L., Solomon, E. I.: *J. Am. Chem. Soc.* 129, 15983 (2007).
- Borowski T., Noack H., Radon M., Zych K., Siegbahn P. E. M.: *J. Am. Chem. Soc.* 132, 12887 (2010).
- Chalupský J., Rokob T. A., Kurashige Y., Yanai T., Solomon E. I., Rulíšek L., Srnec M.: *J. Am. Chem. Soc.* 136, 15977 (2014).
- Radon M., Broclawik E., Pierloot K.: *J. Chem. Theory Comput.* 7, 898 (2011).
- Saitow M., Kurashige Y., Yanai T.: *J. Chem. Theory Comput.* 11, 5120 (2015).
- Cox N., Retegan M., Neese F., Pantazis D. A., Bous-sac A., Lubitz W.: *Science* 345, 804 (2014).
- Kok B., Forbush B., McGloin M.: *Photochem. Photobiol.* 11, 457 (1970).
- Ferreira K. N., Iverson T. M., Maghlaoui K., Barber J., Iwata S.: *Science* 303, 1831 (2004).
- Loll B., Kern J., Saenger W., Zouni A., Biesiadka J.: *Nature* 438, 1040 (2005).
- Siegbahn P. E. M.: *Biochim. Biophys. Acta* 1827, 1003 (2013).
- Umena Y., Kawakami K., Shen J.-R., Kamiya N.: *Nature* 473, 55 (2011).
- Bertini I., Gray H. B., Stiefel E. I., Valentine J. S.: *Biological Inorganic Chemistry*. University Science Books, Sausalito, CA 2007.
- Irving H. M. N. H., Williams R. J. P.: *J. Chem. Soc.* 1953, 3192.
- Dudev T., Lim C.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 14, 12451 (2012).
- Gutten O., Beššeová I., Rulíšek L.: *J. Phys. Chem. A* 115, 11394 (2011).
- Bím D., Rulíšek L., Srnec, M.: *J. Phys. Chem. Lett.* 7, 7 (2016).
- Gutten O., Rulíšek L.: *Inorg. Chem.* 52, 10347 (2013).
- Gutten O., Rulíšek L.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17, 14393 (2015).

D. Bím^a, O. Gutten^a, J. Chalupský^a, M. Srnec^{a,b}, and L. Rulíšek^a (^a*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*, ^b*J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*):
Theoretical Bioinorganic Chemistry and Spectroscopy

Among various essential components in biocatalysis, metalloproteins play a specific role by catalyzing reactions that would not occur under physiological conditions. The presence of metal ions is thus crucial for the oxidation/reduction processes, electron transfer, spin-forbidden reactions and ‘difficult reactions’, such as bond cleavage (or formation) in N₂, O₂ or C–H. These processes are intimately involved in the fundamental elements of life, e.g. respiration and photosynthesis. Enormous efforts, both experimental and theoretical, have been exerted to understand

the structure and function of metalloproteins. While experiments (e.g., X-ray crystallography, various spectroscopic techniques, electrochemistry) are essential in initial phases of exploring of a particular system, theoretical calculations complement these data by providing a unique one-to-one structure-energy mapping. By correlating experimental and theoretical data, the reaction mechanisms of bioinorganic systems can be elucidated. This not only sheds light on the physicochemical principles (laws) governing the chemical behavior of bioinorganic systems, but also provides an insight into the phenomena of metal-ion selectivity. Ultimately, we hope to understand the fundamental question: „Why Nature selected particular metal ion(s) to perform the specific task(s)?“ In this contribution, recent advances in computational treatment of transition-metal ion containing systems (most notably metalloproteins) are reviewed.