

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА
ШЕВЧЕНКА**

ФАКУЛЬТЕТ РАДІОФІЗИКИ, ЕЛЕКТРОНІКИ ТА КОМП'ЮТЕРНИХ СИСТЕМ

Кафедра медичної радіофізики

Робота допущена до захисту в ЕК
рішенням кафедри медичної радіофізики
від _____ 2024 року, протокол № _____
Завідувач кафедри канд. фіз.-мат. наук
_____ Сергій РАДЧЕНКО

«На правах рукопису»

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА БАКАЛАВРА

на тему:

**«КВАНТОВО-МЕХАНІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СПЕКТРІВ ПОГЛИНАННЯ
МОЛЕКУЛИ ГЕМОГЛОБІНУ»**

Виконала:

студентка 4-го курсу
денної форми навчання
спеціальності 105 Прикладна фізика та наноматеріали
ОПП «Електроніка та інформаційні технології в медицині»
Прохорець Вероніка Андріївна _____

Науковий керівник:

канд. фіз.-мат. наук,
Афанасьєва Тетяна Вікторівна _____
канд. хім. наук
Кириченко Вадим Вікторович _____

Рецензент:

докт. фіз.-мат. наук, старший науковий співробітник
Голуб Володимир Олегович _____

Засвідчую, що у цій бакалаврській роботі
немає запозичень з праць інших авторів без
відповідних посилань

Студентка _____ Вероніка ПРОХОРЕЦЬ

Київ – 2024

Реферат

Робота містить 44 сторінки, 21 рисунок, 2 таблиці та 9 джерел посилання.

Кваліфікаційна робота бакалавра присвячена квантово-механічному дослідженню спектрів поглинання молекули гемоглобіну, аналізу властивості молекули гемоглобіну та дослідженню особливостей впливу просторової структури та середовища на спектри поглинання цієї молекули.

Для досягнення мети роботи було використано такі методики: побудова теоретичної моделі за допомогою гібриду квантово-механічних (QM) та молекулярно-механічних (MM) методів, гібридний метод інтегрованої молекулярної орбіталі молекулярної механіки (IMOMM) і дослідження спектрів поглинання за допомогою теорії функціоналу густини (DFT). Для проведення обчислень були використані програмні пакети GAMESS і TINKER.

Показано, що при сольватації наявний червоний зсув спектру поглинання обох субодиниць у межах смуги поглинання Soret. Він зумовлений поляризаційними властивостями середовища. Для смуги поглинання Q спостерігається червоний зсув лише у β - субодиниці, що можна пояснити іншим розташуванням залишків в активному центрі бета-субодиниці оксигемоглобіну.

Отримані результати можуть бути використані для подальших досліджень та для діагностики захворювань, зумовлених аномаліями в спектрах поглинання гемоглобіну.

Ключові слова: Гемоглобін, α - та β - субодиниці, спектр поглинання, TDDFT, Смуга поглинання Soret та Q.

Зміст

Вступ	4
Розділ 1 Огляд літератури	5
1.1 Введення	5
1.2 Гемоглобін	5
1.3 Зв'язування кисню супроводжується структурними змінами гемоглобіну	7
1.4 Механізми спінової інверсії в гемоглобіні	11
Розділ 2 Постановка задачі	13
2.1 Актуальність роботи	13
2.2 Постановка задачі	14
2.3 Мета роботи	14
Розділ 3 МЕТОДИКА	15
3.1 Побудова моделі	15
3.1.1 Вимоги до моделі	15
3.1.2 Модель Хартрі-Фока	17
3.2 Обрахунки	19
3.2.1 Теорія функціоналу густини	19
3.2.2 Автоматизація обрахунків	21
3.2.3 Програмні пакети	22
3.3 Хід роботи	25
3.4 Завдання для програми GAMESS	26
4. Результати	29
5. Висновки	42
Список використаних джерел	43

Вступ

У сучасній науці та медицині велику увагу приділяють дослідженню гемоглобіну, ключового компонента крові, який відповідає за перенос кисню по організму. Проте, попри велику кількість досліджень цього важливого білку ми досі не до кінця розуміємо процес транспортування кисню. Вивчення властивостей молекули гемоглобіну методами квантової хімії відкриває широкий спектр можливостей для розуміння та оптимізації його біологічних функцій. Застосування методів квантової хімії в аналізі гемоглобіну дозволяє глибше досліджувати його молекулярну структуру, електронну конфігурацію та взаємодії на атомному рівні. Такий підхід не лише розкриває та деталізує складні механізми функціонування гемоглобіну, але й дозволяє прогнозувати можливі зміни в його структурі та функціях, які можуть відігравати роль у патологічних станах чи відкривати нові перспективи для створення лікарських засобів.

Розділ 1 Огляд літератури

1.1 Введення

Білки це динамічні молекули, їх основними функціями є взаємодія з іншими молекулами. Регулювання цих взаємодій відбувається за допомогою змін конформації білків. Однією з головних взаємодій є оборотне зв'язування інших молекул. Молекули, що здатні до оборотного зв'язування з білком називаються лігандом (ним може бути будь-яка молекула та навіть інший білок). Функція оборотного зв'язування відіграє важливу роль у забезпеченні життєдіяльності організму та підтриманні гомеостазу, оскільки дозволяє швидко реагувати на зміни внутрішнього та зовнішнього середовища.

Молекули білку мають велику гнучкість, завдяки чому ледь помітні переміщення амінокислотних залишків та коливання всередині молекули призводять до зміни їх конформації. Цей процес називають “дихання білка”. Зв'язування ліганду з білком також обумовлено зміною конформації білку для покращення їх сумісності та надійності з'єднання. На прикладі міоглобіну та гемоглобіну можна побачити майже всі ключові аспекти оборотного зв'язування.[1]

1.2 Гемоглобін

Гемоглобін це тетрамірний, залізовмісний глобулярний білок, наявний у хребетних тварин. Він транспортує молекулярний кисень від легень по організму. Роль та функції гемоглобіну є ключовим аспектом у роботі всього організму, бо він відповідає за найважливіший процес життєдіяльності всіх організмів- дихання.[1] Гемоглобін може бути двох видів: перший це оксигемоглобін, він насичений молекулами кисню і другий- дезоксигемоглобін, тобто ненасичений киснем. Насичення гемоглобіну киснем відбувається при фізіологічному диханні у легневих капілярах, прилеглих до легневих альвеол. Через те, що кисень погано розчиняється у

воді, наявність лише розчиненого кисню у сироватці крові майже унеможлиблювала б його нормальне надходження до тканин.[2] Крім знання точної структури гемоглобіну та відповідних функціональних груп, знання впливу різних середовищ на його поведінку є важливими для терапевтичного застосування та аналізу поведінки для зондування, прогнозування та інших практичних застосувань. Деякі дослідження показують, що молекулярна активність і структура гемоглобіну можуть бути змінені кислотністю середовища та різною газовою атмосферою.[1] У процесі еволюції великих багатоклітинних організмів виникли білки, що здатні запасати та переносити кисень. У цьому процесі важливим є також і оборотність зв'язування молекули кисню. Цю функцію виконують перехідні метали, такі як залізо та мідь, через те, що мають велику спорідненість до кисню. Клітини використовують залізо у зв'язаній формі через його невелику активність, так як вільні іони заліза здатні створити високо-реакційноздатні з'єднання з киснем, що може призвести до пошкодження ДНК та інших макромолекул. Для вирішення проблеми переносу комплексу заліза з киснем на великі відстані у багатоклітинних організмах залізо часто буває вбудовано у зв'язану з білком групу- гем. [1,2]

Гем це складна структура, яку ще називають протопорфірином, вона є зв'язаною з іоном заліза Fe^{2+} . Атом заліза має шість координаційних зв'язків, чотири з яких утворені з частиною порфіринового кільця, тобто з атомами азоту, а інші два зв'язки мають напрям, перпендикулярний до площини порфіринового кільця. Зв'язок заліза з атомами азоту перешкоджає окисленню гемового заліза до стану Fe^{3+} , тим самим дозволяючи Fe^{2+} безперешкодно та оборотно зв'язуватись з молекулою кисню. За рахунок розташування гему глибоко всередині білкової структури, два вільних координаційних зв'язки (два вільних іони Fe^{2+}), що направлені перпендикулярно до порфіринового кільця, не взаємодіють з молекулою O_2 і не спричиняють до необоротного перетворення Fe^{2+} у Fe^{3+} . У цей час один із координаційних зв'язків направлений у бік атому азоту одного з залишків His бічного ланцюга, а інший

слугує центром зв'язування O_2 . У процесі зв'язування кисню структура та властивості гемового заліза змінюються, що і є причиною зміни кольору венозної крові з темно-червоної на яскраво-червону- артеріальну і збагачену киснем. Проте й інші невеликі молекули мають велику спорідненість з гемовим залізом, такі як CO (монооксид вуглецю) та NO (монооксид азоту). Їх спорідненість з гемовим залізом є вищою ніж у O_2 , тому при зв'язуванні молекули CO з гемом відбувається вивільнення O_2 , що призводить до оточення та блокування гему. Це і є причиною, чому чадний газ настільки небезпечний для аеробних організмів. [1]

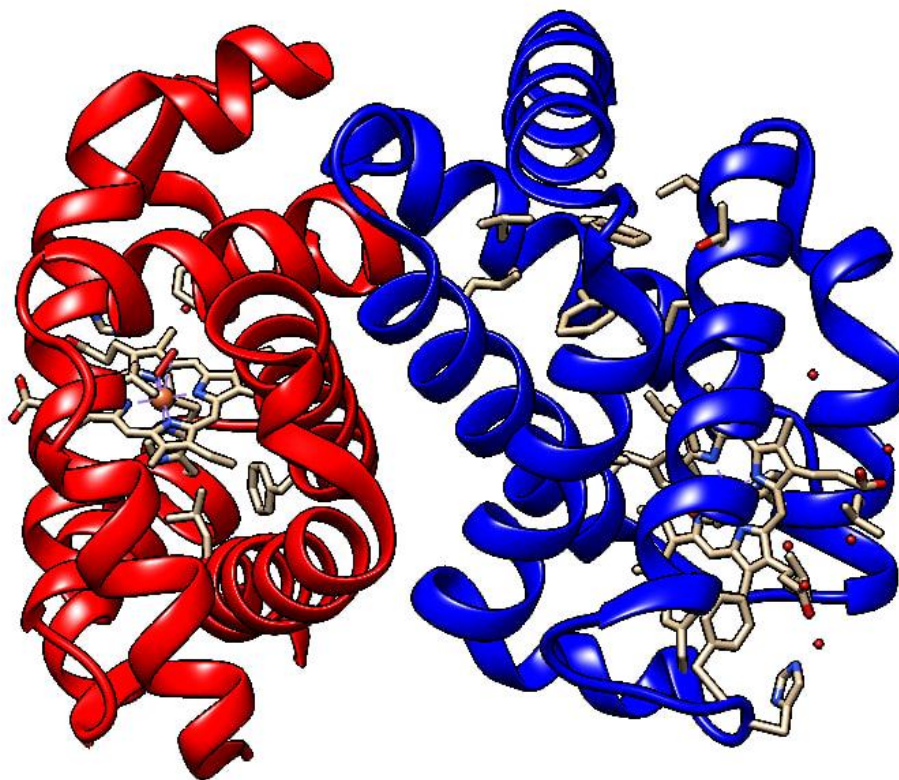


Рис.1 Оксигемоглобін

1.3 Зв'язування кисню супроводжується структурними змінами гемоглобіну

Зв'язування ліганду з білком значною мірою залежить від структури білку, цей процес може супроводжуватись і значними змінами їх конформації.

Наприклад, спорідненість монооксиду вуглецю до вільного гемму більше його спорідненості до кисню у 20 000 разів, проте з геммом у складі міоглобіну, різниця лише у 200 разів. Утворення зв'язку керується геометрією структури, при зв'язуванні O_2 з вільним геммом створюється кут між Fe-O, але при зв'язуванні гемму з CO усі атоми C, O та Fe знаходяться на одній прямій. У гемі, в складі міоглобіну, залишок гістидину *His*⁶⁴, на кисне-зв'язуючій частині гемму, має таке розташування, що дозволяє вільно взаємодіяти з лігандом гемму, але у той же час не координувати гемове залізо. Зниження спорідненості гемму у складі міоглобіну пояснюється тим, що цей залишок- дистальний гістидин, має водневий зв'язок з O_2 і може перешкоджати утворенню цього зв'язку з CO. Є й інші фактори, що впливають на зв'язування з геммом, наприклад, коливання молекули білку. Через те, що гем знаходиться глибоко всередині білкової структури, кисень не може напряду проникнути до центру зв'язування, але по причині відсутності чітко фіксованої структури білку O_2 може вільно зв'язуватись та вивільнятись з гемового комплексу. Через короточасні зміни положень бокових ланцюгів у структурі білку створюють дірки, на кшталт пор, що дозволяють кисню вільно потрапляти до центру зв'язування та так само вивільнятись з нього. У ході комп'ютерного моделювання було знайдено декілька таких шляхів, один з яких відкривається при обертанні одного з бічних ланцюгів *His*. Це відбувається у інтервалі декількох наносекунд і підтверджує важливість навіть найменших конформаційних змін у структурі білку. [2]

Майже весь кисень у організмі транспортується гемоглобіном у складі еритроцитів. Еритроцити людини це малі двояковогнуті диски, діаметром шість-дев'ять мкм. Вони утворюються з гемоцитобластів, тобто, з стовбурових клітин попередників. При "дозріванні", стовбурові клітини синтезують дочірні клітини, що втрачають деякі внутрішньоядерні органели, такі як ядро та мітохондрії і при цьому, синтезують велику кількість молекул гемоглобіну. Можна вважати, що еритроцити є рудиментарними та неповноцінними

клітинами. У організмі людини вони живуть приблизно 120 днів, до того ж, еритроцити не здатні до самовідтворення.[2]

При проходженні артеріальної крові крізь серце, від легень до периферичних тканин, гемоглобін насичений киснем приблизно на 96%, а на зворотному шляху до серця, у складі венозної крові, гемоглобін насичений киснем всього на 64%. Можна порахувати, що кожен 100 мл крові залишають у тканинах 6,5 мл газоподібного O_2 , тобто майже третину кисню, що міститься у крові. Гемоглобін, що містить декілька субодиниць та має декілька центрів зв'язування є добре пристосованим для переносу кисню. Саме взаємодія між субодиницями мультимірного білку забезпечує його високу чутливість до зміни концентрації ліганду, який впливає на спорідненість білку до кисню. Це дозволяє організму швидко реагувати на зміну концентрацію O_2 у тканинах.[2]

Гемоглобін має масу у 64 500 одиниць атомної маси та має майже сферичну структуру з діаметром 5,5 нм. Цей білок має чотири гемові групи і кожна з яких з'єднана з одним поліпептидним ланцюгом. Гемоглобін (Hb) має глобіни двох типів: два α -ланцюга, що мають 141 амінокислотний залишок та два β -ланцюга, кожен з яких має 146 амінокислотних залишків. Тривимірні структури цих двох субодиниць дуже схожі, незважаючи на те, що їх амінокислотні послідовності співпадають менше ніж на 50%. Структура Hb має сильну взаємодію між субодиницями різних типів, це зумовлено наявністю більше ніж тридцяти амінокислотних залишків у зонах контакту $\alpha_1\beta_1$ та $\alpha_2\beta_2$. У цих місцях контакту здебільшого утворюються гідрофобні взаємодії, проте також наявні і водневі та іонні пари (сольові мостики).[2]

За допомогою рентгеноструктурного аналізу було доведено існування двох основних станів або ж конформацій гемоглобіну, це R- та T- стани. Кисень може зв'язуватись з Hb у будь-якому з цих станів, проте більшу спорідненість він має до R-гемоглобіну, це з'єднання стабілізує R-стан. Навпаки ж, при відсутності кисню найбільш стабільним є T-стан, тобто Hb набуває конформації дезоксигемоглобіну. Свою назву R- та T- стани отримали від слів

relaxed (розслаблений) та tense (напружений), це відбулось через наявність у Т-стані великої кількості іонних пар, в основному у зоні контакту $\alpha_2\beta_2$, для його стабілізації. Зв'язування кисню з гемоглобіном у Т-стані призводить до змін його конформації та подальшого переходу у R-стан. При переході з Т-стану у R-стан пари $\alpha\beta$ -субодиниць ковзають між собою та повертаються, в результаті зменшуючи відстань між β -субодиницями. У процесі цього відбувається руйнування деяких іонних пар, що стабілізують Т-стан.[2]

Вчений Макс Перутц висунув припущення, що зміна положення бічних ланцюгів, що оточують гем, є сигналом для переходу з Т- у R-стан. При Т-стані порфіринове кільце трохи стиснуте таким чином, що гемове залізо висунуто у бік, до проксимального гістидину (His F8). У процесі зв'язування кисню гем приймає більш плоску форму, тим самим, призводячи до коригування іонних пар у зоні контакту $\alpha_1\beta_2$.

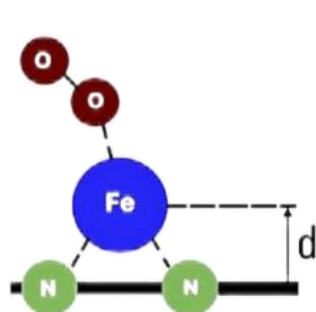
Гемоглобін має ефективно взаємодіяти з киснем при різному тиску, наприклад зв'язувати у легенях, де pO_2 приблизно 13,3 кПа та вивільняти його у тканинах, де pO_2 становить приблизно 4 кПа. Білок, що характеризується високою спорідненістю до кисню буде добре зв'язувати його у легенях, але не буде вивільняти його у достатній кількості у тканинах. У випадку гемоглобіну, ця проблема вирішується наявністю переходу з стану Т (низькоафінного) у стан R (високоафінний), тому крива зв'язування гемоглобіну з киснем має сигмовидний характер.[1],[2]

Зв'язок першої молекули O_2 з дезоксигемоглобіном є слабким, так як субодиниця знаходиться у Т-стані. Ця взаємодія призводить до конформаційних змін, що полегшують наступні з'єднання гемоглобіну з O_2 . Т→R перехід у другій субодиниці відбувається швидше, якщо перша субодиниця вже зв'язана з киснем, ці зміни впливають на всю структуру, тому четверта і остання субодиниця зв'язується з O_2 знаходячись вже у R-стані. Такі білки, в яких зв'язування з лігандом у одному центрі зв'язування впливає на зв'язування у іншому, називають алостеричними білками. Їх назва пішла від

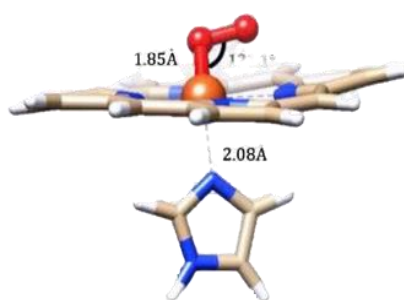
грецьких слів *allos* (інший) та *stereos* (твердий або форма) і завдячує цим їх властивостям змінювати свою конформацію при зв'язуванні з лігандом. Структурні зміни, спричинені модулятором по суті є переходами між більш-та менш-активними станами білку. Якщо роль модулятора та ліганду виконує одна речовина, то таку взаємодію називають гомотропною, в іншому ж випадку- гетеротропною. Деякі білки мають два та більше модуляторів, що дозволяє їм брати участь як у гомотропних та і у гетеротропних взаємодіях. [1]

1.4 Механізми спінової інверсії в гемоглобіні

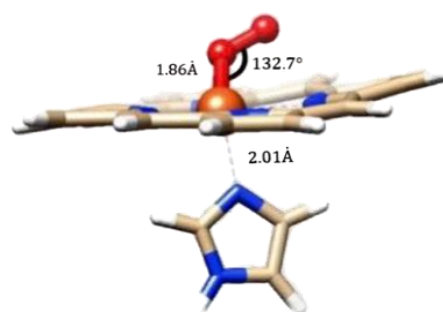
Більшість досліджень розглядали механізми інверсії спіну при зв'язуванні молекули O_2 лише зі спрощеною та неповною моделлю гему. Ці дослідження показали, що основним електронним станом комплексу Fe (II)-порфірину є квінтетний стан, а наступним, за своєю енергією є триплетний стан, незважаючи на те, що різниця і їх енергіях є дуже малою. Ця властивість спінового стану показує, що зв'язування комплексу Fe (II)- порфірину з O_2 може відбуватись по чотирьом потенційним енергетичним поверхням з синглетним, триплетним, квінтетним або септетним спіновими станами. На сьогоднішній день відомі два механізми інверсії спіну: це моделі вузької та широкої зони перетину. У моделях з широкою зоною перетину інверсія спіну в основному відбувається на довших відстанях Fe- O_2 , для яких відповідні потенційні енергетичні поверхні, з різними спіновими станами, системи гем- O_2 є майже виродженими. [7]



а)Схема позначень



б) синглетний стан



в) триплетний стан

б) кут (Fe-O1-O2)=121.1° Fe-O1= 1.85Å Fe-His92=2.08Å

в) кут (Fe-O1-O2)=132.7° Fe-O1= 1.86Å Fe-His92=2.01Å

Рис.2 Оптимізовані структури комплексу Fe-O₂ у різних спінових станах

Розділ 2 Постановка задачі

2.1 Актуальність роботи

Вивчення транспортування заряду у молекулярних переходах представляє великий інтерес та потенційне застосування у молекулярній електроніці. Останні роки все більше уваги приділяється використанню металопорфіринів у одномолекулярних з'єднаннях. Гемоглобін має чудову геометричну гнучкість і можливість для електронного налаштування. Добре розвинена синтетична хімія дозволяє адаптувати його фізичні та хімічні властивості шляхом модифікації або зміни його геометричної структури та вибору центрального іона металу. Були вивчені швидкості передачі збудженої енергії за допомогою димерів порфірину, що склались з вільної основи порфірину та Zn-порфірину. Компоненти гемоглобіну широко використовувались для дослідження транспортування заряду в молекулярних контактах. Дослідження гемоглобіну, його електричних та поглинальних властивостей є перспективним напрямом і може використовуватись у багатьох галузях науки, одним з яких є фотодинамічна терапія (ФДТ). ФДТ є методом лікування, що використовує світло певної довжини для активації фотосенсибілізатора- речовини, що створює активні форми кисню шляхом поглинання світла та передачі енергії навколишнім молекулам. Після вводу в організм, фотосенсибілізатор накопичується в ураженій ділянці, через її підвищений метаболізм, після чого він активується випромінюванням лазера або іншого джерела світла, що відповідає спектральним характеристикам фотосенсибілізатора. Поглинене світло призводить до збудження фотосенсибілізатора, а він в свою чергу передає енергію кисню, що знаходиться поруч. Кисень теж змінює свою форму та приходить у синглетний стан або інші активні форми кисню, що призводять до некрозу і апоптозу навколишнього середовища. Вони ушкоджують ДНК, мембрани клітин та інші структури що може зупинити розвиток хвороби або знищити злоякісні утворення.

2.2 Постановка задачі

Були поставлені такі задачі:

- Побудувати адекватні моделі для моделювання взаємодії з молекулами кисню (O_2 , а також CO , NO , H_2O і др.) альфа та бета субодиниць оксигемоглобінів.
- Отримати геометричні структури α та β субодиниць гемоглобіну до та після приєднання молекули кисню.
- Розрахувати спектри поглинання α та β субодиниць оксигемоглобіну у вакуумі та водному розчині.

2.3 Мета роботи

Головними задачами дослідження було:

- Виділити з початкової структури α - та β - субодиниці молекули гемоглобіну.
- Отримати оптимізовані геометричні структури α - та β -субодиниць гемоглобіну.
- За допомогою квантово-хімічних розрахунків з перших принципів проаналізувати властивості молекули гемоглобіну.
- Дослідити особливості впливу просторової структури та середовища на спектри поглинання молекули гемоглобіну.

Розділ 3 МЕТОДИКА

3.1 Побудова моделі

3.1.1 Вимоги до моделі

У 1926 році Гейзенбергом була запропонована матрична механіка, а Шредінгером- нерелятивістське хвильове рівняння, що описує рух ядер та електронів у молекулах:

$$H\Psi = E\Psi \quad (1)$$

H -оператор Гамільтона, а Ψ залежна від декартових та спінових координат частинок. Це рівняння є диференціальним на власні значення для енергії E та хвильової функції Ψ конкретного стану. Єдиним обмеженням є симетричність Ψ відносно постановки частинок для деяких частинок, наприклад, асиметричною для електронів та симетричною для бозонів. Невдовзі Дірак запропонував релятивістське узагальнення цього рівняння.

Рівняння Шредінгера можна було легко вирішувати для атому водню, до того ж, з урахуванням релятивістських поправок при використанні рівняння Дірака отримані результати співпадали з експериментальними спектрометричними даними. На жаль, для будь-якої іншої системи знайти точне рішення не вдавалось, бо у ході розв'язання, ці закони призводили до великої кількості складних рівнянь, вирішити які було неможливо. Тоді і була запропонована ідея розробки математичних процедур, що дозволили б якісно інтерпретувати хімічні рівняння.

Теоретичну модель можна назвати добре визначеним наближенням. Для хімічних процесів використовується інформація про кількість, положення та властивості частинок, з яких складається молекула. Можливим є виділення п'яти етапів створення моделі:

- Цільова точність
Модель має враховувати необхідну нам точність і можливість розрізнити властивості окремих молекул, що дозволить передбачити їх поведінку.
- Формулювання
Математична модель має бути чітко сформульованою, повною та узагальненою. Це дозволить проводити декілька досліджень на базі однієї повної хімічної теоретичної моделі.
- Реалізація
Метод має мінімізувати час та обчислювальні потужності, що будуть використані при розрахунках. В наш час це можна вважати створенням зручної комп'ютерної програми.
- Перевірка адекватності
Після створення, модель має бути перевірена на відповідність відомим хімічним фактам для розуміння, чи була отримана необхідна цільова точність. Для перевірки на кількісну точність має використовуватись велика кількість експериментальних даних.
- Передбачення
Після проходження моделі перевірки на адекватність, за необхідними нам параметрами, вона може застосовуватись для вирішення задачі. При виборі великої кількості експериментальних даних, можна вважати, що точність теоретичних результатів буде близькою до цільової точності.

Ще одним важливим фактором при побудові моделі є емпірична параметризація. Якщо модель використовує лише фундаментальні фізичні сталі, то вона вважається побудованою з перших принципів, але якщо були введені параметри, що встановлювались методом підгону під експериментальні дані, то вона стає напівемпіричною. [4]

3.1.2 Модель Хартрі-Фока

Основи для теорії орбіталей були закладені Хартрі, Фоком та Слетером. Нехай ми маємо $2n$ електронів у молекулі, що має замкнуті електронні оболонки. Електрони розподілені по n орбіталям $\psi_i (i=1, \dots, n)$, тоді багатоелектронні хвильова функція записується:

$$\Psi = (n!)^{-1/2} \det[(\psi_1 \alpha)(\psi_2 \beta)(\psi_2 \alpha) \dots] \quad (2)$$

ψ_i молекулярні орбіталі (ортонормовані)

α, β - спінові функції

Це однокофігураційна хвильова функція, що має назву слейтерівський детермінант. При варіюванні молекулярних орбіталей таким чином, щоб мінімізувати енергію що обрховується, як середнє значення H повного гамільтоніана:

$$E = \langle \Psi | \quad (3)$$

ми отримаємо, що енергія E є повністю визначеною і, згідно до варіаційного методу, є верхньою межею для шредінгерської енергії з загального хвильового рівняння (1). Послідовність цих дій приводить нас до системи пов'язаних диференціальних рівнянь для ψ_1 , що вперше була отримана Фоком і застосована Хартрі, тому цей метод має назву Хартрі-Фока. Новий розвиток цій теорії дав Рутан, після того, як розглянув молекулярні орбіталі у вигляді лінійних комбінацій набору визначених тривимірних одноелектронних функцій χ_μ ($\mu=1, 2, \dots, N$, де $N > n$). З чого отримуємо

$$\psi_1 = \sum_{\mu=1}^N c_{\mu 1} \chi_\mu \quad (4)$$

Повна енергія (3) варіюється у відношенні до коефіцієнту $c_{\mu i}$. Це призводить до системи алгебраїчних рівнянь, яку можна представити у матричному вигляді:

$$Fc = SCE \quad (5)$$

Де

$$F_{\mu\nu} = H_{\mu\nu} + \sum_{\lambda\sigma} P_{\lambda\sigma} \left[(\lambda\sigma) - \frac{(\nu\sigma)}{2} \right] \quad (6)$$

$$H_{\mu\nu} = \int \chi_{\mu} H \chi_{\nu} d\tau \quad (7)$$

$$S_{\mu\nu} = \int \chi_{\mu} \chi_{\nu} d\tau \quad (8)$$

$$E_{ij} = \varepsilon_i \delta_{ij} \quad (9)$$

$$P_{\mu\nu} = 2 \sum_i^n c_{\mu i} c_{\nu i} \quad (10)$$

$$(\lambda\sigma) = \int \int \chi_{\mu}(1) \chi_{\nu}(1) \frac{1}{r_{12}} \chi_{\lambda}(2) \chi_{\sigma}(2) d\tau_1 d\tau_2 \quad (11)$$

Для молекулярних орбіталей використовувались латинські індекси ψ , а для функцій, по яким виконувалось розкладання – грецькі χ . Н у рівнянні це гамільтоніан остова, що описує рух одного електрону тільки у полі ядер. Власні значення ε_i є одно-електронними фоковськими енергіями, з урахуванням того, що n нижніх власних значень є зайнятими молекулярними орбіталями з індексами $1, 2, \dots, n$. Функції χ_{μ} визначаються положенням ядер, а нелінійні рівняння, описані вище, є закінченою математичною моделлю. Їх називають рівняннями самоузгодженого поля- self-consistent field (SCF). В перших варіантах методу молекулярних орбіталей для χ_{μ} обирались атомні орбіталі атомів, з яких складається молекула. Цей метод має назву метод лінійної комбінації атомних орбіталей- linear combination of atomic orbitals (LCAO) або LCAO SCF. Набір функцій $\{\chi_{\mu}\}$ є базисним набором, зазвичай функції обирають такі, що залежать лише від атомного номеру ядер та які центровані на ядрах. Рівняння типу Рутана можуть бути узагальнені на випадок, коли одні орбіталі заповнені одним електроном, а інші- двома. Інше узагальнення базується на тому, що електрони, що мають спіни α та β належать до різних молекулярних орбіталей, ψ^{α} та ψ^{β} відповідно. Такі наближення

мають назву спин-необмежена конфігурація, в такому випадку записується два набори коефіцієнтів $c_{\mu i}^{\alpha}$ та $c_{\mu i}^{\beta}$. Це наближення має назву- необмежений метод Хартрі-Фока (UHF- unrestricted Hartree-Fock), а наближення, де можливе поодинокі або подвійне заповнення орбіталей носить назву- Restricted open shell Hartree-Fock method (ROHF) або обмежений метод Хартрі-Фока для відкритих оболонок (ОХФ) [4].

3.2 Обрахунки

3.2.1 Теорія функціоналу густини

Теорія функціоналу густини (DFT) дозволяє досягти високої точності обрахунків завдяки тому, що розглядає реальні величини у тривимірному просторі. Зазвичай це $n(r)$ - електронна густина основного стану, $n_{cx}(r, r')$ - густина обмінно-кореляційної дірки, що описує зменшення повної густини електронів у точці r' та $\chi(r, r', \omega)$ - функція лінійного відгуку. Ми можемо побачити та візуалізувати ці фізичні величини на моделі незалежно від величини системи. При дослідженні системи з великою кількістю частинок інші методи, що базуються на багаточастинкових хвильових функціях, стикаються з експоненційною стінкою, це випадок, коли кількість атомів N перевищує критичну величину N_0 (для несиметричної системи $N_0 \approx 10$). Покращення цих методів, на будь-якому з напрямлень, призводить лише до незначного збільшення N_0 , тому задачі, де $N/N_0 \gg 1$ не можуть бути вирішеними жодним з цих методів. При використанні DFT час, необхідний для виконання обрахунків зростає повільно- як $T \sim N^{\alpha}$, де $\alpha \approx 2 - 3$, при чому відбувається лінійний скейлінг та α постійно прямує до значення $\alpha \approx 1$.

Так як гемоглобін є багатоелектронною системою, розглянемо загальний випадок системи з N атомами, що має N взаємодіючих електронів, при цьому встановимо значення $N \gg 10$. З цього можемо отримати, що кількість необхідних параметрів M :

$$M = p^{3N}, \quad 3 \ll p \ll 10 \quad (12)$$

У просторі цих M параметрів ми маємо мінімізувати енергію. Позначимо \underline{M} як максимальне число, що доступне для сучасних комп'ютерів, а \underline{N} позначимо як максимальну відповідну кількість електронів. Тоді, повертаючись до (12) знайдемо

$$\underline{N} = \frac{1}{3} \frac{\log \underline{M}}{\log \log p} \quad (13)$$

Для прикладу візьмемо значення $p=3$ та $\underline{M} \approx 10^9$, з чого отримаємо

$$\underline{N} = \frac{1}{3} \frac{9}{0,48} = 6(!) \quad (14)$$

На практиці можна збільшити $\underline{N} \approx 20$, але наявність залежності (12) є завадою, що суттєво обмежує зростання \underline{N} .

При розв'язанні задачі у зворотному напрямку, при $N=100$ і $p=3$ з залежності (12) можемо отримати M :

$$M \approx 3^{300} \approx 10^{150} (!) \quad (15)$$

Складно навіть уявити, не кажучи про розрахунки, мінімізацію величини у просторі з 10^{150} вимірами. Проте, експоненційна стінка має ще одне визначення, як відображення внутрішнього обмеження $\Psi(r_1, \dots, r_N)$ у просторі $3N$ вимірів, з усіма r_j в межах області простору, де знаходиться молекула.

По мірі розвитку теорії, Хартрі була запропонована система самоузгоджувальних одночастинкових рівнянь для опису електронної структури атомів. У основу було покладено, що кожен електрон рухається у одночастковому потенціалі:

$$v_H(r) = -\frac{Z}{r} + \int \frac{n(r')}{|r-r'|} dr' \quad (16)$$

Де $-\frac{Z}{r}$ є потенціалом, який задається ядром, з атомним номером Z , а $\int \frac{n(r')}{|r-r'|} dr'$ є потенціалом, пов'язаним до усередненого розподілом густини $n(r)$

(від'ємний заряд електрону враховується). З цього виходить, що рух кожного електрона у системі зводиться до одночасткового рівняння Шредингера:

$$\left\{-\frac{1}{2}\nabla^2 + v_H(r)\right\} \varphi_j(r) = \varepsilon_j \varphi_j(r) \quad (17)$$

$$n(r) = \sum_{j=1}^N |\varphi_j(r)|^2 \quad (18)$$

У цьому рівнянні, у основному стані, сума $\sum_{j=1}^N$ береться по власним нижнім значенням. Рівняння (16)-(18) є самоузгоджувальними рівняннями Хартрі. Початок їх вирішення полягає у коректному виборі першого наближення для густини $n(r)$, після чого будується $v_H(r)$ і вирішується рівняння (17) для φ_j та за формулою (18) знаходиться нова густина $n(r)$. Якщо кінцеве та початкове значення густини не рівні, то процедура буде повторюватись до тих пір, поки значення не стануть рівними між собою. [6]

3.2.2 Автоматизація обчислень

Гібрид квантової механіки та молекулярної механіки все частіше використовується для моделювання великих молекул. При такому підході передбачається, що велика молекулярна система може мати дві частини: малу ділянку- активний центр, де відбувається реакція, та більшу ділянку, що буде розглядатись як оточення. Іноді у електронно делокалізованих системах, наприклад у випадку графіту, розділення є майже неможливим. Хімічно активний центр моделюється за допомогою QM, а не активна частина моделюється за допомогою MM. Це дозволяє спростити обчислення, але врахувати механічний вплив неактивної частини, що забезпечується MM. Забезпечення коректної роботи гібридної техніки полягає у передбаченні впливу області MM у області QM. Мазераз та Морокума розробили гібридний метод, що називається інтегрованою молекулярною орбітальною молекулярної механіки- integrated molecular orbital molecular mechanics (IMOMM). У IMOMM, сили (градієнти енергії), що діють на область QM від MM

поєднуються з внутрішніми силами QM і тоді цей сумарний гібридний градієнт використовується для оптимізації області активного центру. [3]

Моделі, на основі Хартрі-Фоковського наближення, краще за все працюють при наявності у базисі по одному набору незгрупованих d -функцій на кожен атом важкого металу. Такий базис має назву 6-31G(d). При наявності у базисі не тільки набору незгрупованих d -функцій, а й по одному набору незгрупованих p -функцій на кожен атом водню, він буде позначатись як 6-31G(d,p).[4] Саме він і був використаний для проведення обрахунків при виконанні роботи.

3.2.3 Програмні пакети

Для виконання обрахунків використовувався програмний пакет GAMESS (General Atomic and Molecular Electronic Structure System). Для проведення обрахунків він здатен використовувати багато методів обчислювальної квантової хімії, наприклад теорію функціоналу густини (DFT), метод Хартрі-Фока та багатоконфігураційне самоузгоджене поле (MCSCF). GAMESS може використовувати SIMOMM (Surface Integrated Molecular Orbital/Molecular Mechanics) та IMOMM (Integrated Molecular Orbital/Molecular Mechanics), але SIMOMM є загальним методом, тому може використовуватись не тільки для вивчення сфери хімічних систем. SIMOMM та IMOMM це моделі, у яких деяка група атомів- активний центр, що обраховується за допомогою квантової механіки, вбудована у іншу групу атомів. При виокремленні активного центру з моделі “вісячі” або вільні кінці, зазвичай, закриваються атомами водню, тим самим створюючи межу між групами атомів для подальшого обрахунку. IMOMM розміщує ці блокуючі атоми під фіксованими кутами, у той час як SIMOMM дозволяє таке їх розміщення, що надалі буде придатним для оптимізації структури. Перевагою SIMOMM є відсутність обмеження розташування “закриваючих” атомів, що забезпечує більш точну та реалістичну оптимізацію геометрії у квантово-механічній зоні. TINKER це пакет програмного забезпечення для

молекулярної механіки та молекулярної динаміки. Він був інтегрований до GAMESS для молекулярно механічних (ММ) обчислень. TINKER не працює паралельно, квантово-механічна частина пробігу, яку обробляє GAMESS проходить свій цикл, тоді яка набагато коротша молекулярно-механічна частина TINKER просто повторюється на кожному вузлі. У коді ми підключаємо пакет за допомогою команди COORD=TINKER, а координати для молекулярно-механічного розрахунку вводяться у необхідному форматі, як нова група даних \$TINKER. У розділі \$DATA, що містить квантово-механічні атоми, порядок атомів має відповідати оригінальному порядку і тим самим, співпадати з порядком для \$TINKER. Закриваючі атоми обов'язково мають бути одновалентними, зазвичай використовується водень, але він може бути зміненим на інший, наприклад фтор, шляхом редагуванням групи \$DATA, під час модифікацій структури важливо зберігати порядок запису атомів. Вибір саме одновалентних атомів обумовлюється можливістю їх розриву межею ОМ та ММ. У той же час це є і своєрідним обмеженням по використанню SIMOMM, бо електронегативність повинна відповідати дійсній, наприклад перехідні металеві поверхні будуть поганими кандидатами для SIMOMM моделювання, бо така поверхня погано підходить для Н у електронегативності і процес закривання обірваних зв'язків не буде проходити адекватно і не буде відповідати дійсності. [5]

Обрахунок загальної енергії відбувається шляхом додавання QM енергії та ММ енергії. QM енергія відображається у атомних одиницях (Хартрі) та є від'ємною, тоді як ММ виражається у ккал/моль і є додатною. У процесі обрахунку "Final" або кінцева енергія дає QM енергію до того, як відома енергія ММ. Пізніше, вже оптимізована область ММ повністю релаксує за час обчислення градієнта на кожному кроці геометрії QM, даючи повністю оптимізовану енергію ММ для цієї визначеної геометрії QM. Саме ця загальна енергія згодом зчитується та оптимізується програмою. Іноді, під час мінімізації геометрії системи ММ енергія може підвищуватись.(через те, що іноді атоми QM можуть бути враховані у ММ)[3],[5]

Попередні дослідження показали, що основним спіновим станом гему є високоспіновий квінтетний стан, проте при приєднанні O_2 основним стає низькоспіновий синглетний стан. Так як для O_2 основним є триплетний спіновий стан, то зв'язування з гемом супроводжується численними процесами спінової інверсії. Зазвичай, вона викликана значними релятивістськими спін-орбітальними зв'язками важких елементів, наприклад атомами перехідних металів. З цього виходить, що спінове квантове число, визначене у нерелятивістському електронному Гамільтоновому каркасі не можна вважати точним, через наявність сильного спінового змішування, викликаного релятивістськими спін-орбітальними ефектами. Було проведено багато теоретичних досліджень механізмів спінової інверсії на прикладі зв'язування O_2 з спрощеною моделлю гема з Fe(II). Результати дослідження показали, що основним станом Fe(II)-порфіринового комплексу є квінтетний стан, а другий найнижчий стан це триплетний, не зважаючи на те, що різниця енергії між цими станами є дуже малою. Звідси ми розуміємо, що приєднання O_2 до Fe(II) може відбутися за чотирма потенціальними енергіями поверхні: з синглетним, триплетним, квінтетним і септетним спіновими станами. На даний момент існує два різних механізми спінової інверсії: моделі широкої та вузької області перетину. У моделі широкого перетину спінова інверсія відбувається на великих відстанях Fe- O_2 , для яких поверхні потенційної енергії з різними спіновими станами системи гем- O_2 є майже виродженими, тобто енергетичний стан квантово-механічної системи має декілька відповідних лінійно незалежних хвильових функцій. [2]

3.3 Хід роботи

За основу розрахунків була взята модель оксигемоглобіну (R - гемоглобіну) з бази даних RCSB Protein Data Bank [9]

Чисельний експеримент починається з проектування великої кластерної моделі гемоглобіну. Активний центр знаходиться в центрі структури, так як більша частина цього кластеру буде хімічно неактивною, вона може адекватно розраховуватись за допомогою молекулярної механіки. Розмір кластеру обмежений обчислювальною вартістю, тобто від сотень до тисяч атомів.

З початкової моделі було окремо виділено α та β субодиниці, з яких згодом прибрались зайві молекули води.

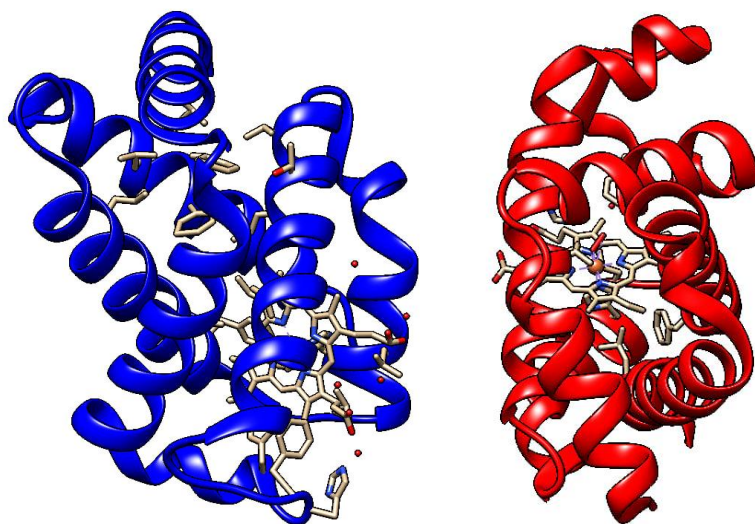


Рис.3 α та β субодиниці оксигемоглобіну

А) α -субодиниця

Б) β -субодиниця

Важливим етапом підготовки до розрахунків є правильний вибір активного центру у моделі. Для α -субодиниці це НЕМЕ, РНЕ 43, HIS 58, HIS 87, VAL 62, LEU 101, а для β -субодиниці : НЕМЕ, РНЕ 42, HIS 63, VAL 67, HIS 92, LEU 106. Відновлена з експериментальних даних [9] та вручну відредаговані структури альфа та бета субодиниць молекули оксигемоглобіну є нерівноважними, тому наступним кроком стає оптимізація геометрії цих

структур. У роботі проводилась оптимізація геометрії альфа та бета субодиниць молекули оксигемоглобіну у двох середовищах: у вакуумі та у водному розчині.

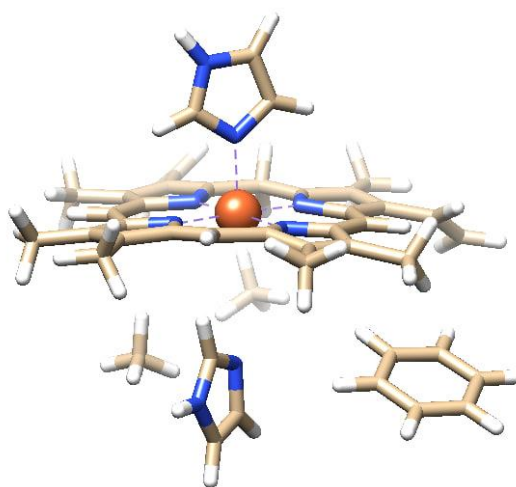


Рис. 4 Активний центр α -субодиниці

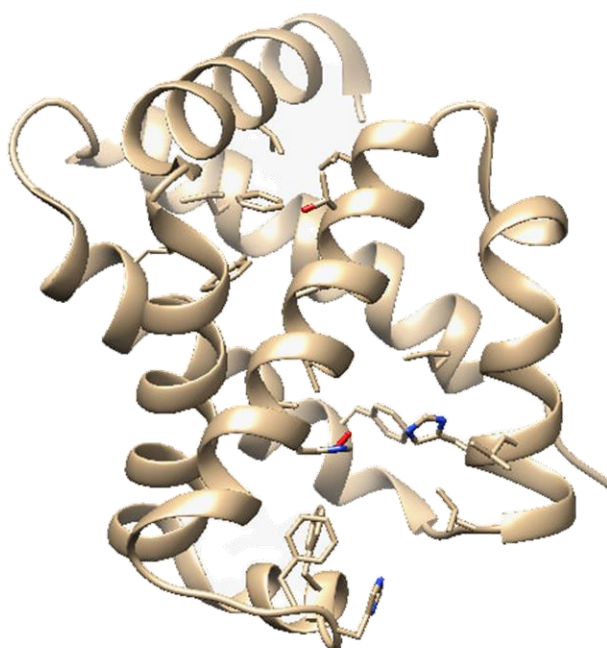


Рис. 5 Неактивний центр α -субодиниці

Після оптимізації геометрії структури альфа та бета субодиниць молекули оксигемоглобіну можна використовувати для подальших обчислень. На їх основі далі проводились обчислення електронних збуджених станів залежним від часу методом теорії функціоналу густини TDDFT.

3.4 Завдання для програми GAMESS

```
$CONTRL SCFTYP=RHF RUNTYP=energy COORD=UNIQUE MAXIT=200
```

(Задається метод розрахунку хвильової функції SCFTYP=RHF обмежений метод Хартрі-Фока, RUNTYP=energy - розраховується енергія заданої конфігурації молекули, геометрична структура молекули задається через декартові координати, кількість ітерацій самоузгодженого поля MAXIT=200)

MULT=1 ispher=1 nzvar=1 tddft=excite \$END

(MULT=1 - задається синглетний стан молекули гемоглобіну, ispher=1 - використовуються сферичні базисні функції, tddft=excite - використовується залежний від часу метод теорії функціоналу густини для розрахунку збуджених станів системи)

\$TDDFT NSTATE=30 mult=1 iroot=1 \$END

(Для TDDFT задається кількість збуджених станів, які потрібно знайти, тут встановлений показник у 30 станів. Розраховуємо виключно синглетні збуджені стани, для кожного збудженого стану беремо один розв'язок)

\$DFT DFTTYP=B3LYP SG1=.t. \$END

(В якості функціонала густини обирається гібридний функціонал B3LYP, який складається з трипараметричного обмінного функціонала Беке з кореляційним функціоналом Лі-Янга-Парра та створюється сітка для визначення ядерних градієнтів, в цьому прикладі вона дуже швидка, але досягає відносно низької точності)

\$PCM SOLVNT=water \$END

(Вибір середовища. Тут представлений водний розчин)

\$PCMCAV rin(1)=2.796 \$END

(Генерація поляризуючої моделі, задаємо радіус сфери для атому феруму)

\$STATPT NSTEP=500 DXMAX=0.01 \$END

(Визначається контроль пошуку геометрії, максимальна кількість кроків для оптимізації та радіус кроку)

```
$SYSTEM TIMLIM=2000000000 MEMORY=1000000000 $END
```

(Ініціалізація лімітів часу та пам'яті)

```
$GUESS GUESS=moread $END
```

(Початковий вибір орбіталі та вказівка на зчитування даних)

```
$SCF DIRSCF=.TRUE. diis=.t. shift=.t. damp=.t. $END
```

(Прапорець для активації прямого розрахунку SCF для хвильових функцій Харті-Фока, вказівка для вибору інтерполяції Pulay DIIS, зсуву електронних рівнів матриці Фока для покращення процесу самоузгодження)

```
$BASIS GBASIS=n31 NGAUSS=6 NDFUNC=1 NPFUNC=1 $END
```

(Визначення стандартного базисного набору, з основними функціями для s- та p- валентних орбіталей, до яких додаються окремо задані поляризаційні функції d для важких атомів і p для легкого атому H)

```
$ZMAT DLC=.t. auto=.t.
```

(Ініціалізація автоматичного визначення внутрішніх координат, в яких буде проводиться оптимізація геометрії)

```
IXZMAT(1)=2,45,46,1, 2,47,45,42, 3,42,45,46,1, 3,42,45,47,1, 3,42,45,47,40,  
3,47,51,1,3 2,24,25,42, 2,13,2,42 $END
```

(Визначення додаткових внутрішніх координат)[8]

4. Результати

Спочатку були отримані за допомогою QM/MM розрахунків оптимізовані структури для α - та β - субодиниць оксигемоглобіну (R - гемоглобіну) у вакуумі та у розчині (воді). Для оптимізованих геометрій α - та β - субодиниць оксигемоглобіну розраховувались спектри поглинання за допомогою методу TDDFT. Для цього були розраховані перші 30 синглет-синглетних та 30 синглет-триплетних збуджених станів. Спектри оптичного поглинання були отримані з вертикальних синглет-синглетних переходів $S_0 \rightarrow S_n$ з гаусовим розширенням із шириною на півпіку 20 нм. (рис.5, рис.6, рис.7). На спектрах поглинання спостерігаються характерні смуги поглинання - Соре при $\lambda=380$ нм та Q смуги при $\lambda=480-540$ нм у відповідності з експериментальними даними [1]. Найбільш інтенсивною є Соре смуга. Для експериментальних досліджень зазвичай використовуються Q-смуги. Для кожної розрахованої смуги розглядалися відповідні електронні переходи.

Як видно з рис.5-рис.7 смуги поглинання для α - та β - субодиниць оксигемоглобіну не співпадають.

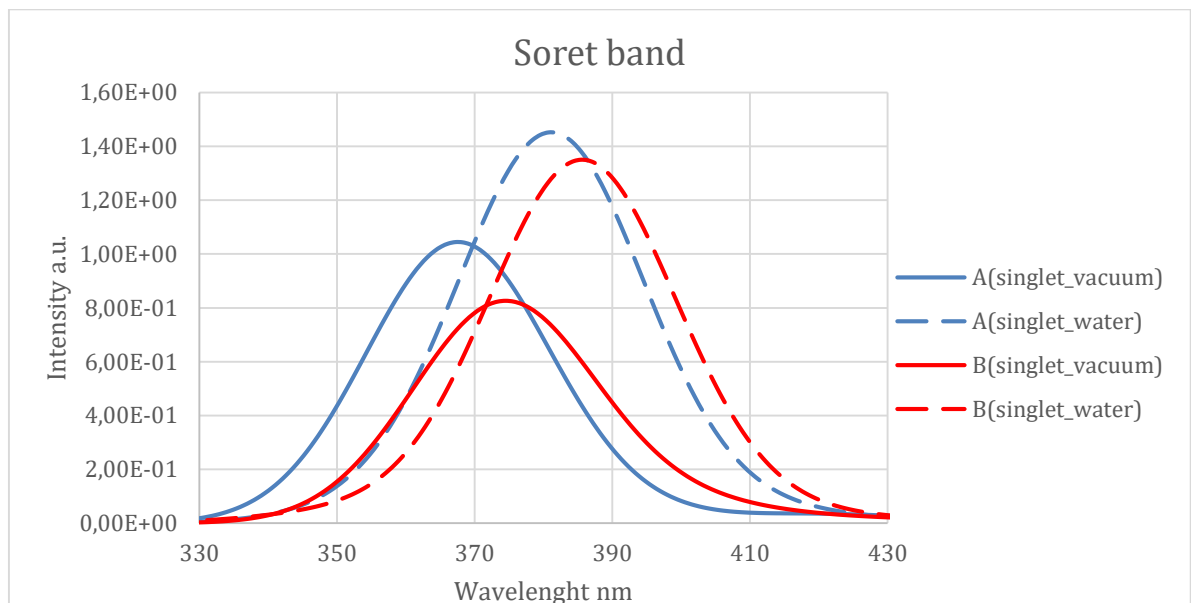


Рис.6 Спектри поглинання α - та β - субодиниць. Смуга поглинання Соре (Soret-band)

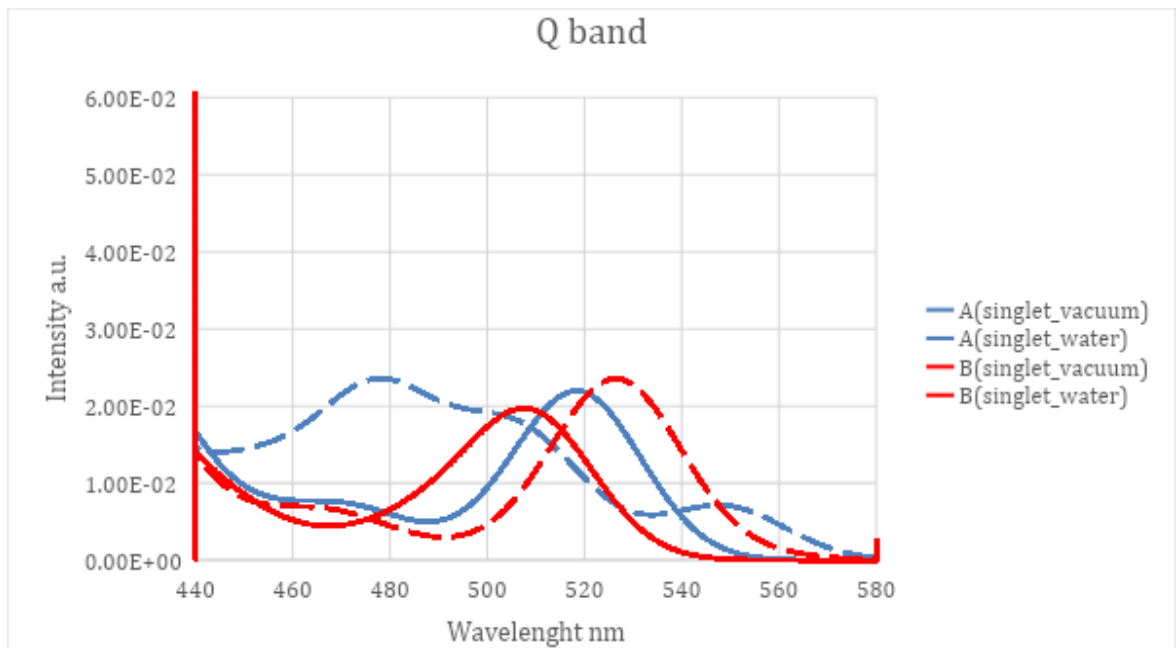


Рис.7 Спектри поглинання α - та β - субодиниць. Смуга поглинання Q (Q-band)

Розглянемо спектр поглинання для α - субодиниці детальніше.

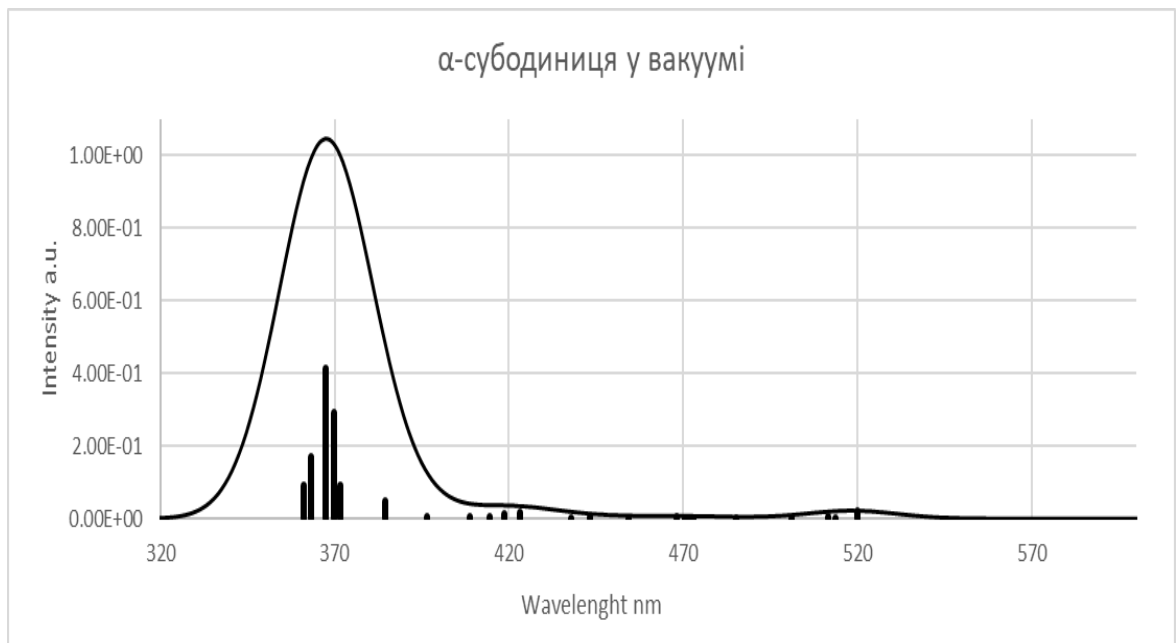


Рис. 8 Спектр поглинання α - субодиниці молекули оксигемоглобіну у вакуумі: обвідна та сили осциляторів

Номер піку	Довжина хвилі	З якої орбіталі (1)	На яку орбіталь (2)	Амплітуда (1)	Амплітуда (2)
30	1382.67	134	142	-0.672617	0.047201
29	1155.59	132	140	0.621254	-0.004905
28	1105.12	135	139	0.419133	-0.080810
27	1023.16	132	140	-0.588403	-0.002284
26	962.035	125	138	0.707170	-0.013344
25	875.475	125	138	-0.438933	-0.000207
24	520.0125	134	140	-0.364065	0.007639
23	513.692	133	140	0.660491	-0.001056
22	511.745	133	139	-0.667322	0.004707
21	501.032	134	139	-0.701634	0.007812
20	485.312	126	138	0.592182	-0.007103
19	472.849	126	138	0.602113	0.005672
18	471.699	133	142	0.527365	-0.022051
17	470.623	124	138	0.571182	-0.011343
16	468.259	130	138	-0.997957	0.000779
15	454.187	129	138	0.759414	-0.005418
14	443.164	134	143	0.600942	-0.003988
13	437.752	137	140	0.665431	-0.003113
12	423.102	131	138	0.736064	-0.004022
11	418.764	137	139	-0.657792	0.002886

10	414.471	128	142	-0.792730	0.012885
9	408.713	137	140	-0.526131	-0.007516
8	396.608	137	139	-0.613903	0.000286
7	384.507	133	138	0.599347	-0.086579
6	377.261	137	138	-0.635405	-0.000061
5	371.499	135	138	0.744383	-0.005191
4	369.912	128	138	-0.784798	0.051976
3	367.260	137	138	0.576925	-0.002316
2	363.117	132	138	-0.811350	0.101870
1	361.238	134	139	0.648094	-0.100121

Табл.1 Електронні переходи α - субодиниці у вакуумі

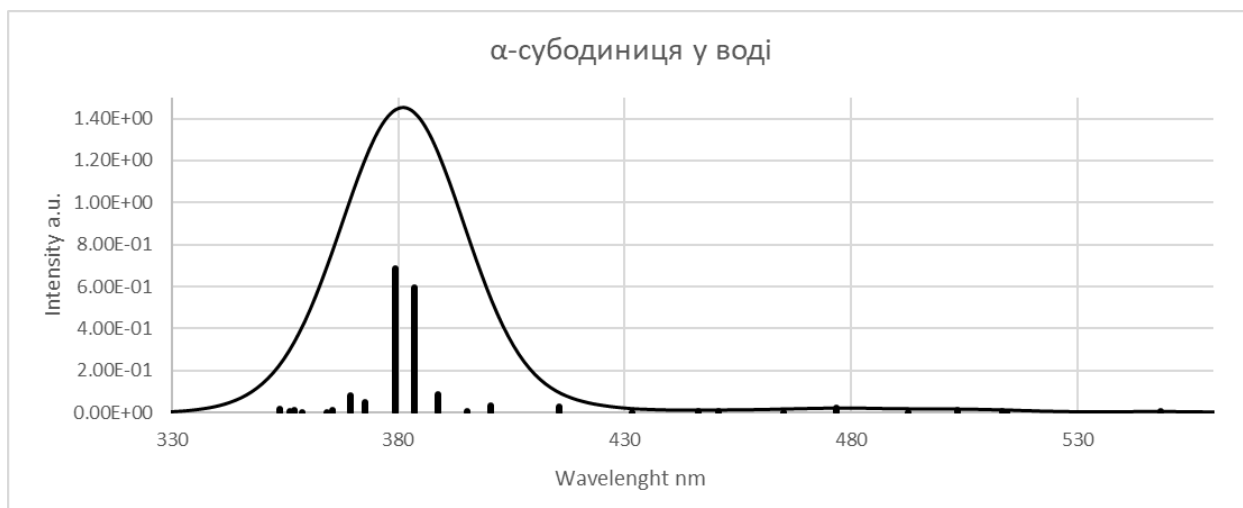


Рис. 9 Спектр поглинання α - субодиниці молекули оксигемоглобіну у воді: обвідна та сили осциляторів S0-Sn синглет-синглетних переходів

Номер піку	Довжина хвилі	З якої орбіталі (1)	На яку орбіталь (2)	Амплітуда (1)	Амплітуда (2)
30	1542.829	134	138	-0.702119	0.122935
29	1268.458	137	138	0.846078	-0.004887
28	1108.918	136	138	0.549620	-0.006829
27	1083.212	132	138	-0.667475	0.069655
26	1055.062	132	138	0.641040	-0.071648
25	607.770	135	138	0.988713	0.000080
24	548.449	133	138	-0.622794	0.075928
23	514.339	136	139	-0.491842	-0.008585
22	513.456	137	139	-0.586282	0.000604
21	503.471	131	138	-0.629520	0.019497
20	492.635	129	141	-0.643447	0.009635
19	476.812	130	138	-0.799270	0.016429
18	465.113	134	143	-0.672366	0.006962
17	450.693	124	138	0.701734	-0.020647
16	446.222	129	138	0.620024	-0.008022
15	431.648	134	141	-0.476739	0.052372
14	415.659	127	138	0.769712	-0.033008
13	400.511	134	140	0.592082	-0.005815
12	395.325	133	139	-0.770224	0.007004
11	388.707	134	139	0.527284	-0.008410

10	383.598	136	140	-0.641857	0.102399
9	379.405	136	139	-0.614275	0.111545
8	372.669	135	139	-0.929898	0.001821
7	369.541	133	140	-0.583212	0.013852
6	365.612	135	140	0.970075	-0.000430
5	364.352	125	138	-0.931888	0.000633
4	358.824	132	139	-0.924154	0.003248
3	357.022	126	138	0.822934	-0.001463
2	356.091	123	138	0.910656	-0.001783
1	353.732	134	141	-0.627700	0.046277

Табл.2 Електронні переходи α - субодиниці молекули оксигемоглобіну у воді

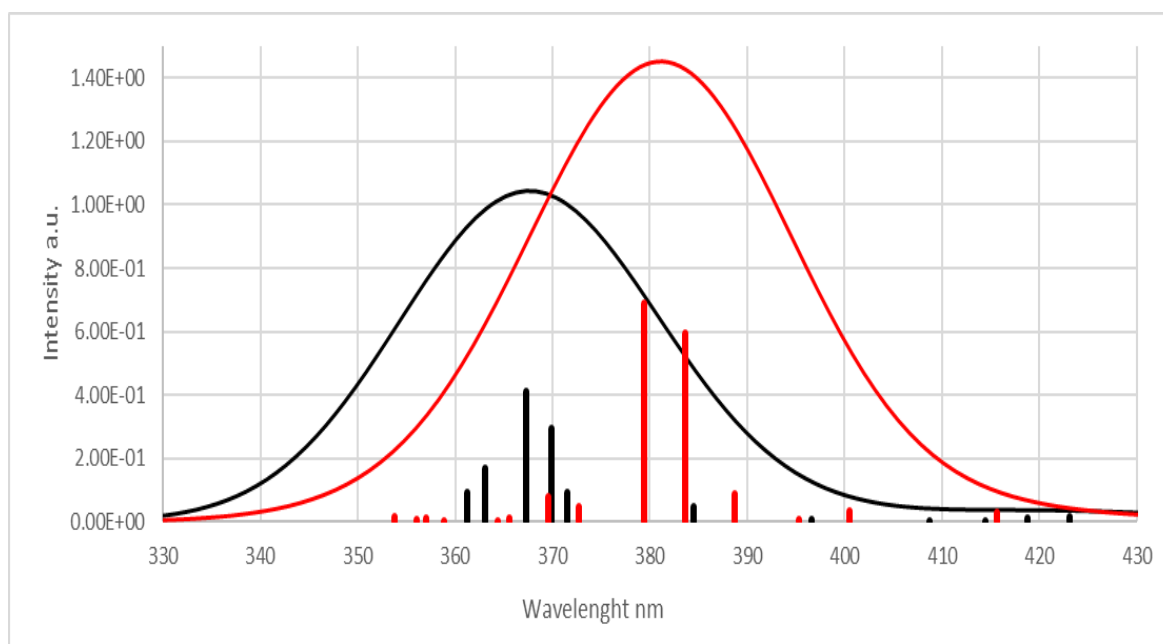


Рис.10 Порівняння спектрів поглинання α - субодиниці молекули оксигемоглобіну у вакуумі (чорна крива) та у воді (червона крива)

Soret band

При порівнянні цих двох спектрів ми бачимо, що сольватація спричиняє зсув піків інтенсивності в сторону червоної області спектру. На прикладі двох найінтенсивніших піків, значення довжин хвиль яких: 367.260 нм для першого піку та 369.912 нм для другого, змістились до 379.405 нм для першого та 383.598 нм для другого піку, відповідно. До того ж, збільшуються сили осциляторів й інтенсивність, з 0.41 а.о. до 0.69 а.о. для першого піку ($\lambda=379.405$ нм), та з 0.29 а.о. до 0.59 а.о. для другого ($\lambda=383.598$ нм). Цій смугі поглинання відповідає електронний перехід показаний на рис 10, рис.11. Як видно з рис.10 при цьому відбувається перерозподіл електронної густини, головним чином, від атому феруму на молекулу кисню.

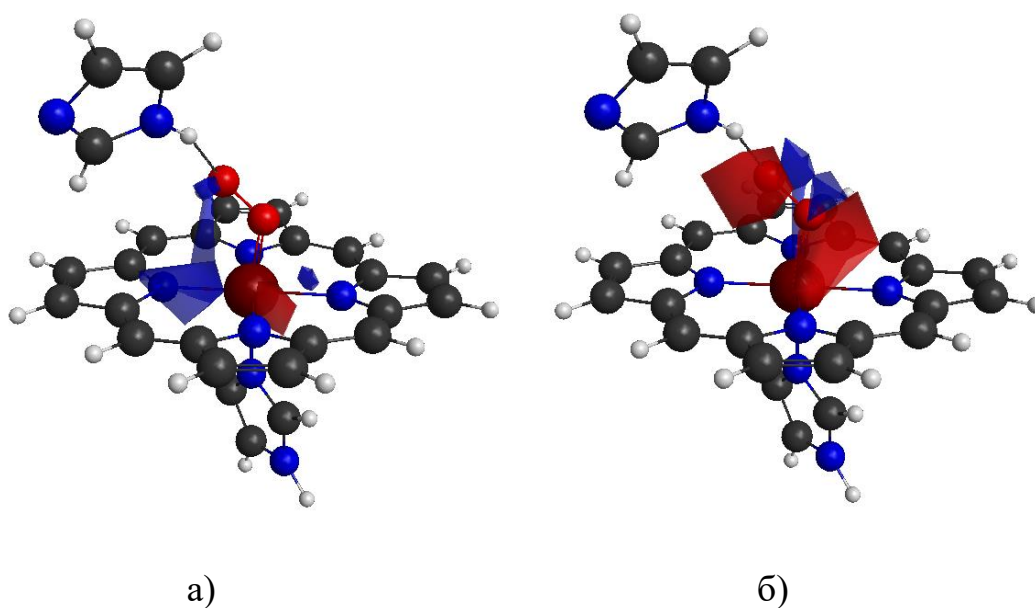


Рис.11 Електронний перехід S0-S3 (перехід з 128 орбіталі а) на 138 б) орбіталь), який відповідає піку ($\lambda=369.912$ нм) з найбільшою силою осциляторів на спектрі поглинання α - субодиниці оксигемоглобіну у вакуумі.

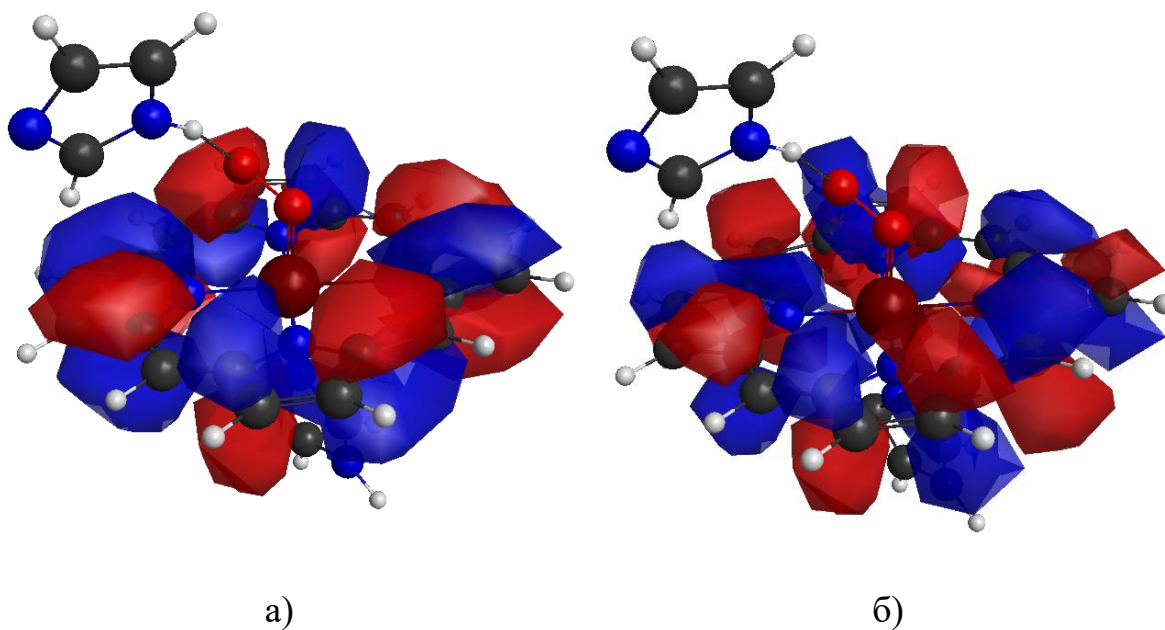


Рис. 12 Електронний перехід (перехід з 136 орбіталі а) на 139 б) орбіталі), який відповідає піку ($\lambda=514.339$ нм) з найбільшою силою осциляторів на спектрі поглинання α - субодиниці оксигемоглобіну у воді.

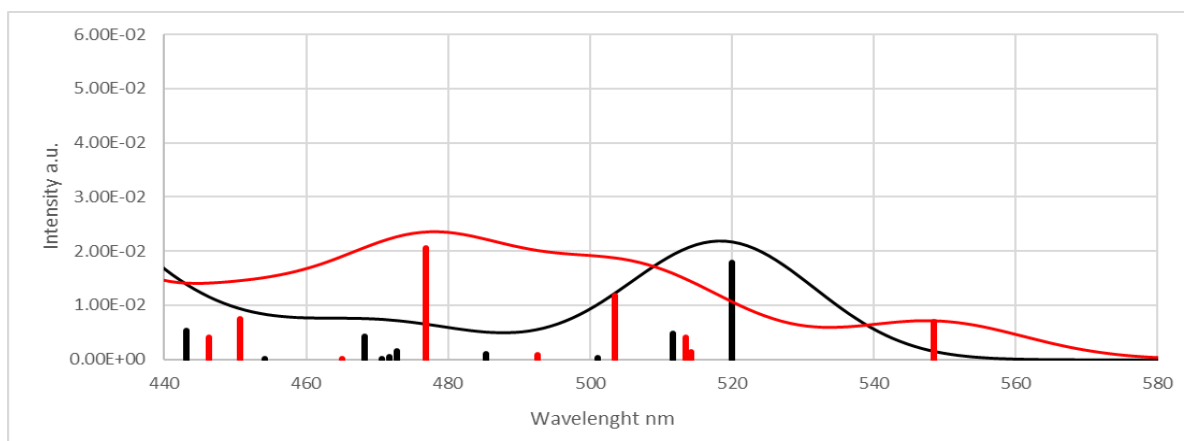


Рис.13 Електронні переходи α - субодиниці оксигемоглобіну у вакуумі (чорна лінія) та у воді (червона лінія) в смузі поглинання Q

Для Q-смузи найбільше значення спектру теж зсунулось, але у синю область. Для найінтенсивнішого піку з спектру поглинання у вакуумі довжина хвилі дорівнює 520.012 нм, якому відповідає електронний перехід $S_0 \rightarrow S_3$ (з 133 орбіталі, з амплітудою 0.60, на 138 орбіталі, з амплітудою -0.09). А для спектру поглинання у воді довжина хвилі дорівнює вже 476.812 нм та перехід з 130 орбіталі, з амплітудою -0.79, на 138 орбіталі, з амплітудою 0.016.

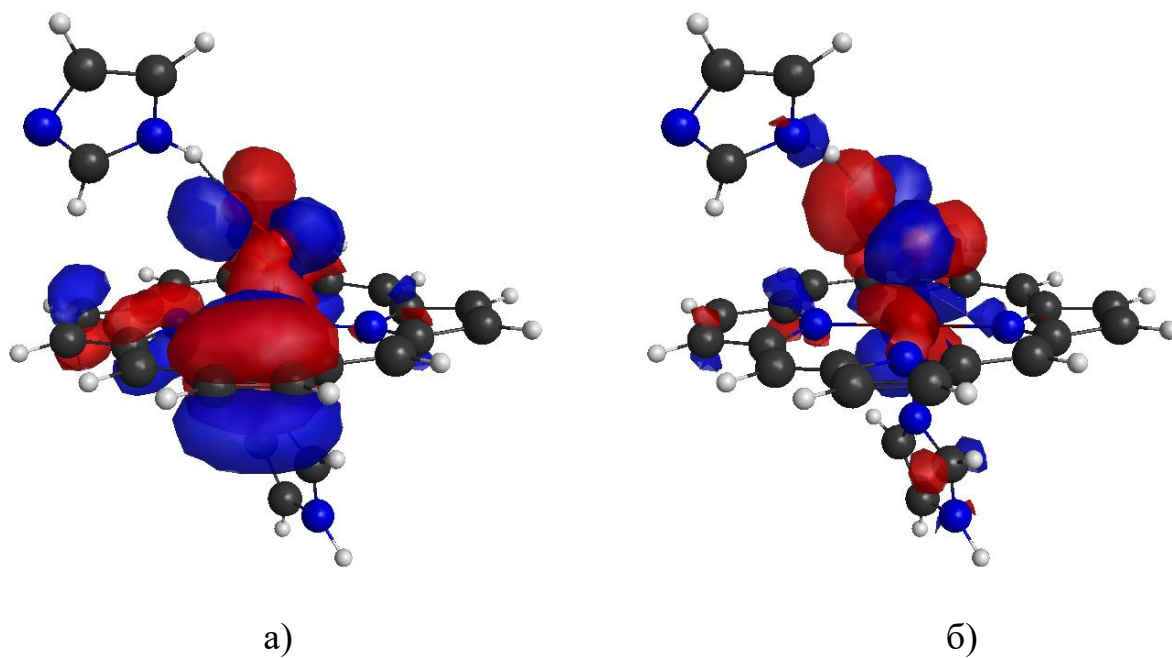


Рис. 14 Електронний перехід (перехід з 133 орбіталі а) на 138 б) орбіталь), який відповідає піку ($\lambda = 548.449$ нм) з найбільшою силою осциляторів на спектрі поглинання α - субодиниці оксигемоглобіну у вакуумі.

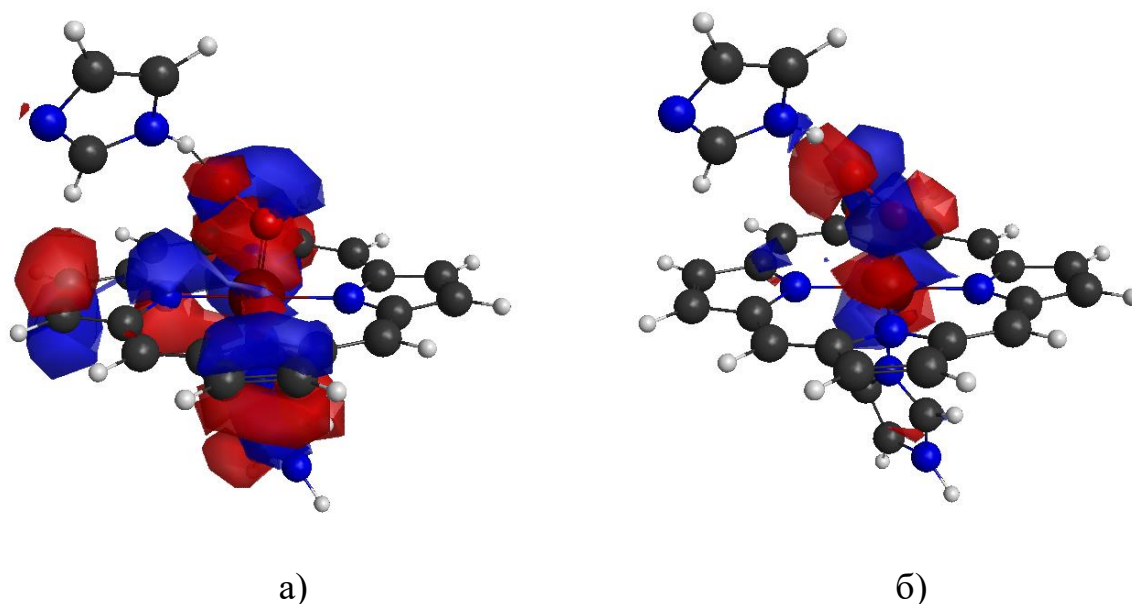


Рис. 15 Електронний перехід (перехід з 130 орбіталі а) на 138 б) орбіталь), який відповідає піку ($\lambda = 476.812$ нм) з найбільшою силою осциляторів на спектрі поглинання α - субодиниці оксигемоглобіну у воді.

Тепер порівняємо ті ж значення, але для β - субодиниці

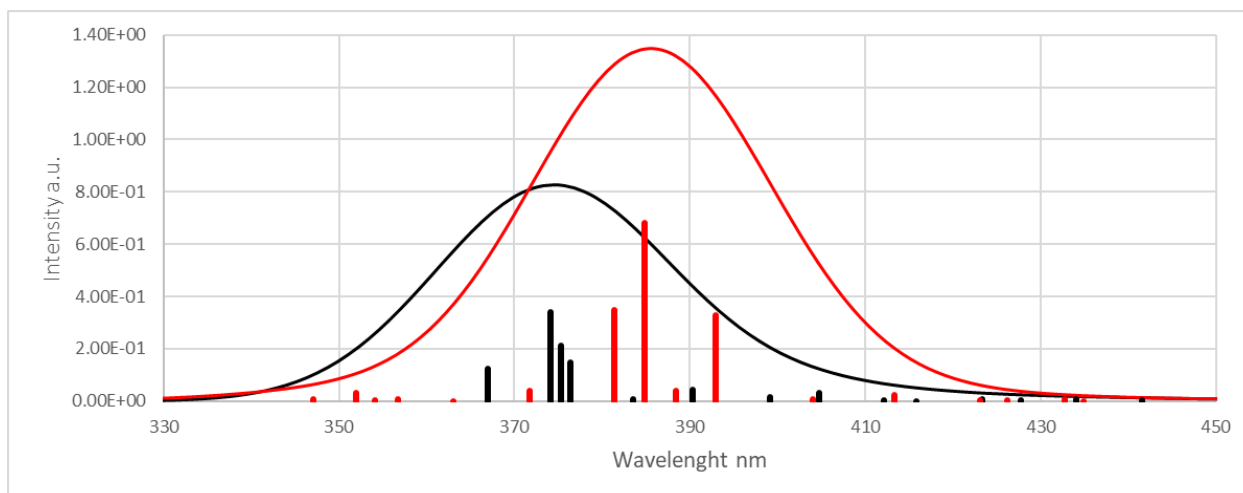


Рис.16 Порівняння електронних переходів β - субодиниці у вакуумі (чорна крива) та у воді (червона крива)

Soret band

Для β - субодиниці у вакуумі пік Соре з найбільшою інтенсивністю заходиться на довжині хвилі у 374.076 нм, де відбувся перехід з 157 орбіталі, з амплітудою 0.47, на 161 орбіталь, де амплітуда дорівнювала -0.08. У воді пік був вже на 384.843 нм, де перехід був з 154 орбіталі, з амплітудою -0.75, на 160 орбіталь, з амплітудою 0.0053.

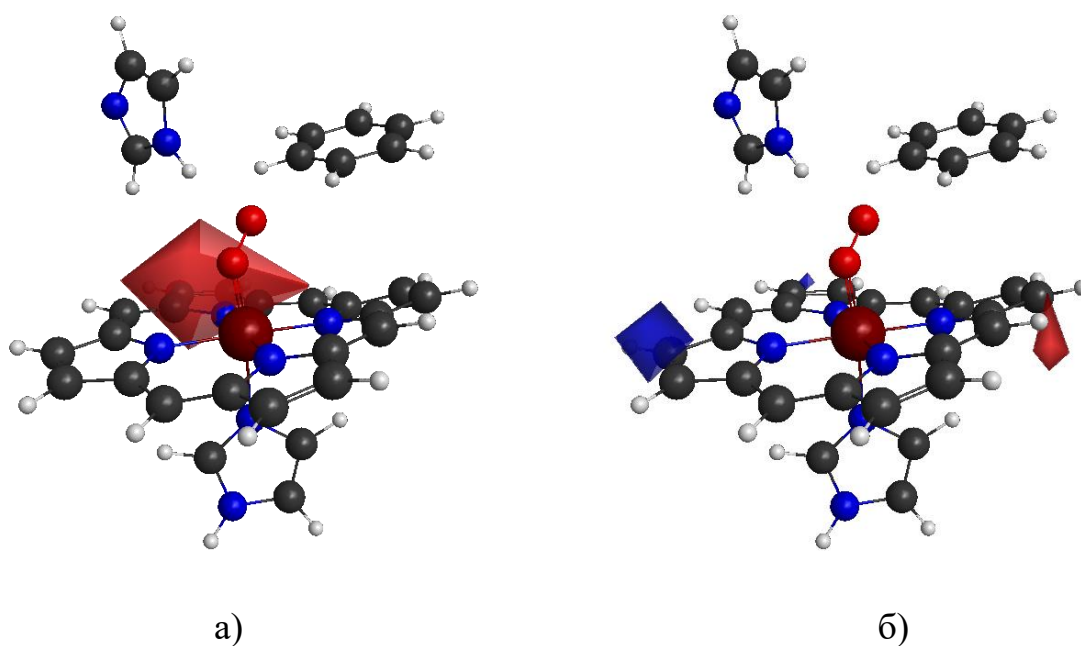


Рис.17 Електронний перехід (перехід з 157 орбіталі а) на 161 б) орбіталі), який відповідає піку ($\lambda = 374.076$ нм) з найбільшою силою осциляторів на спектрі поглинання β - субодиниці оксигемоглобіну у вакуумі.

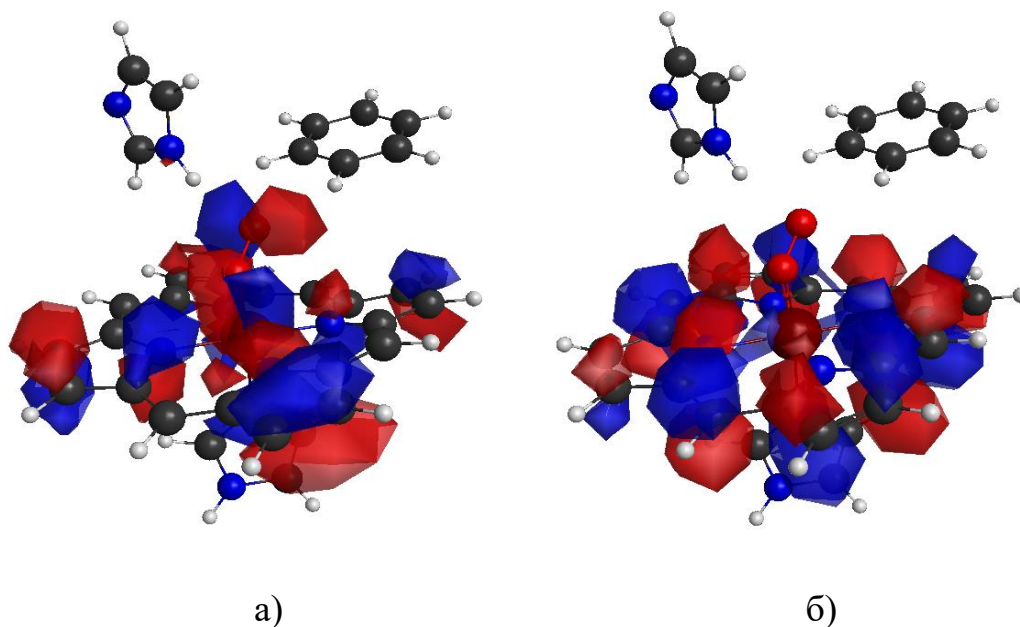


Рис.18 Електронний перехід (перехід з 154 орбіталі а) на 160 б) орбіталі), який відповідає піку ($\lambda = 384.843$ нм) з найбільшою силою осциляторів на спектрі поглинання β - субодиниці оксигемоглобіну у воді

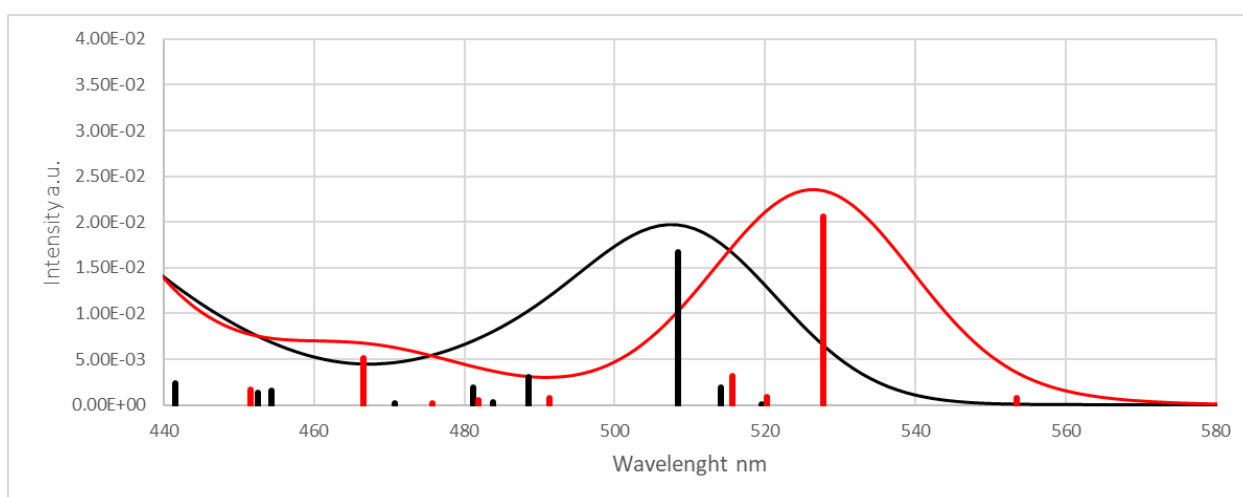


Рис.19 Порівняння електронних переходів β - субодиниці у вакуумі (чорна крива) та у воді (червона крива) Q-band

Для β - субодиниці у вакуумі пік Q- band з найбільшою інтенсивністю заходиться на довжині хвилі у 374.076 нм, де відбувся перехід з 154 орбіталі, з амплітудою -0.84, на 159 орбіталі з амплітудою 0.10. У воді, відповідний пік був на довжині хвилі у 384.843 нм. На ній теж відбувся перехід з 154 орбіталі на 159, проте зі зміною амплітуди з -0.90 на 0.10.

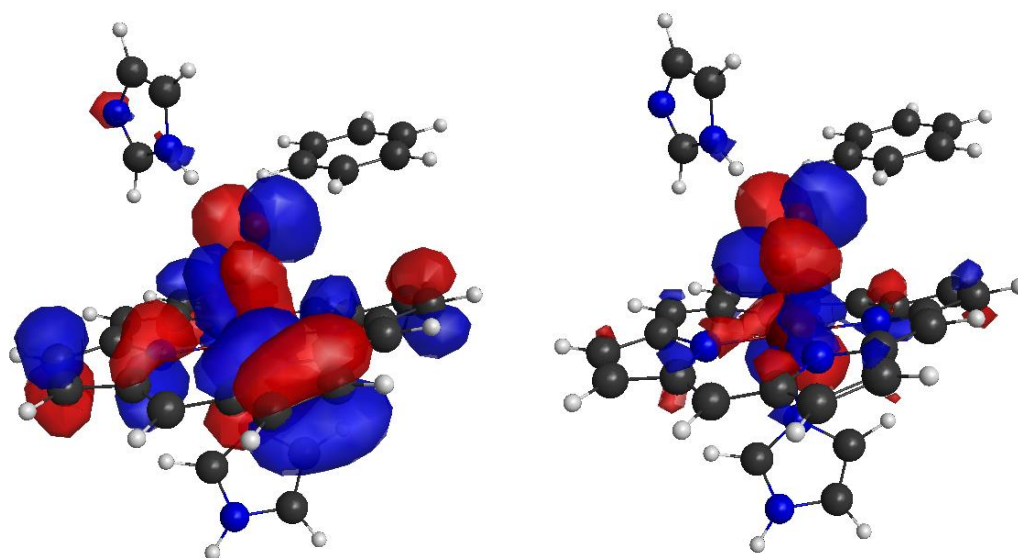


Рис.20 Електронний перехід (перехід з 154 орбіталі а) на 159 б) орбіталі), який відповідає піку ($\lambda= 374.076$ нм) з найбільшою силою осциляторів на спектрі поглинання β - субодиниці оксигемоглобіну у вакуумі

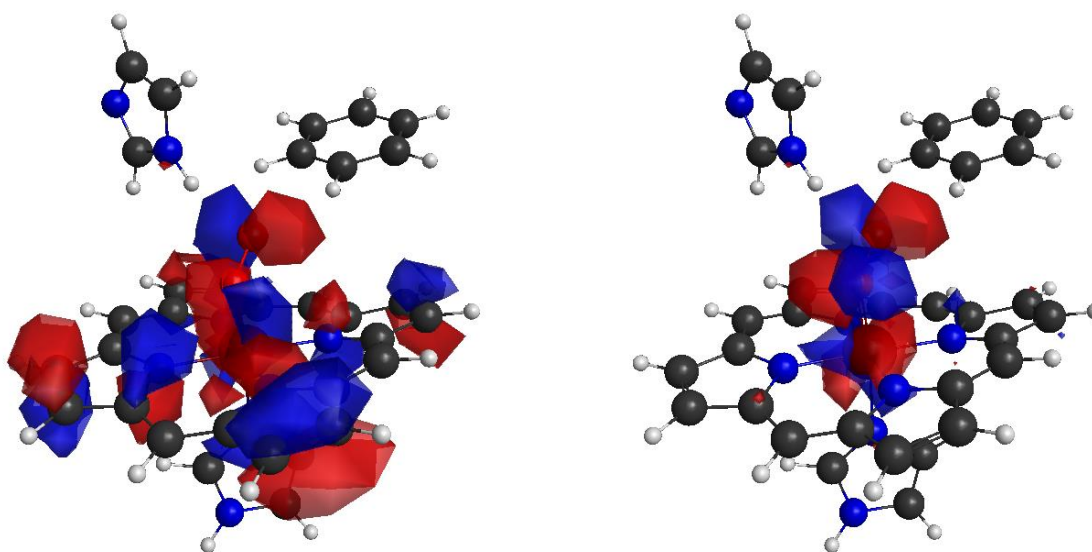


Рис.21 Електронний перехід (перехід з 154 орбіталі а) на 159 б) орбіталь), який відповідає піку ($\lambda = 384.843$ нм) з найбільшою силою осциляторів на спектрі поглинання β - субодиниці оксигемоглобіну у воді

5. Висновки

У дипломній роботі, мною було досліджено спектри поглинання та взаємодія з молекулами кисню альфа- та бета-субодиниць гемоглобіну за допомогою квантово-хімічних методів. В результаті проведених досліджень було отримано та розшифровано спектри поглинання окремо для альфа- та бета-субодиниць молекули оксигемоглобіну у вакуумі та у розчині. Розраховані спектри поглинання узгоджуються з експериментальними даними.

Червоний зсув спектру поглинання обох субодиниць у межах смуги поглинання Core (Soret-band), він зумовлений поляризаційними властивостями середовища. Через наявність сольватаційних взаємодій молекул розчину з субодиницями гему, інтенсивності електронних переходів з основного до збуджених станів збільшуються. Для смуги поглинання Q спостерігається червоний зсув лише у β - субодиниці. Це можна пояснити іншим розташуванням залишків в активному центрі бета-субодиниці оксигемоглобіну.

Результати дослідження можуть бути використані для розробки нових методів діагностики захворювань, пов'язаних з аномаліями в спектрах поглинання гемоглобіну.

Список використаних джерел

1. Jalilian, B., Zakerhamidi, M. S., & Sahrai, M. (2021). Linear and nonlinear optical properties of human hemoglobin. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 244. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118855>
2. Lehninger Principles Of Biochemistry 5th Edition By David L. Nelson, Michael M. Cox (2000)
https://www.researchgate.net/publication/48376766_Lehninger_Principles_of_Biochemistry
3. Shoemaker J. R. SIMOMM: An Integrated Molecular Orbital/Molecular Mechanics Optimization Scheme for Surfaces [Text] / J. R. Shoemaker, L. W. Burggraf, and M. S. Gordon // *J. Phys. Chem. A* – 1999. – V. 103, P. 3245-3251. – ISSN: 1089-5639. <https://doi.org/10.1021/jp982600e>
4. Pople, J. A. (1999). Quantum chemical models (Nobel lecture). In *Angewandte Chemie - International Edition* (Vol. 38, Issues 13–14).
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1521-3773\(19990712\)38:13/14<1894::aid-anie1894>5.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/(sici)1521-3773(19990712)38:13/14<1894::aid-anie1894>5.0.CO;2-1)
5. Cheol, H. C. (1999). QM/MM computations with GAMESS and TINKER. Manual.
https://www.msg.chem.iastate.edu/gamess/GAMESS_Manual/docs-input.txt
6. Kohn, W. (1999). Nobel lecture: Electronic structure of matter - Wave functions and density functional. *Reviews of Modern Physics*, 71(5).
<https://doi.org/10.1103/revmodphys.71.1253>
7. Saito K. Spin-inversion mechanisms in O₂ binding to a model heme complex revisited by density function theory calculations [Text] / K. Saito, Y. Watabe, T. Fujihara, T. Takayanagi, J. Hasegawa // *J Comput Chem*. 2020. – V. 41, № 11. –P. 1130–1138. <https://doi.org/10.1002/jcc.26159>
8. Schmidt M. W. GAMESS, The General Atomic and Molecular Electronic Structure System [Текст] / M. W. Schmidt, K. K. Baldrige, J. A. Boatz, S. T.

Elbert, M. S. Gordon, J. H. Jensen, S. Kosesi, N. Matsunaga, K. A. Nguyen, T. L. Windus, S. Su, M. Dupuis, J. A. Jr. Montgomery // J. Comput. Chem. – 1993. – V. 14. – P. 1347-1358. – ISSN: 1096-987X.

9. Park S.-Y. 1.25 Å Resolution Crystal Structures of Human Haemoglobin in the Oxy, Deoxy and Carbonmonoxy Forms [Text] / S.-Y. Park, T. Yokoyama, N. Shibayama, Y. Shiro, , J.R. Tame // J. Mol. Biol. – 2006. – V. 360. – P. 690-701.
<https://www.rcsb.org/structure/2DN1>.