

УДК 541.8:541.13

И. Н. Межевой, В. Г. Баделин

**ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ БОКОВЫХ РАДИКАЛОВ АМИНОКИСЛОТ
НА ИХ ТЕРМОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТВОРЕНИЯ
В ВОДНО – СПИРТОВЫХ РАСТВОРАХ**

**INFLUENCE OF SIDE GROUPS STRUCTURE OF AMINO ACIDS
ON THEIR THERMOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF DISSOLUTION
IN AQUEOUS – ALCOHOL SOLUTIONS**

Институт химии растворов Российской академии наук,
лаборатория термодинамики растворов неэлектролитов и биологически активных
веществ. 153045 Иваново, ул. Академическая, д. 1. E-mail: inm@isc-ras.ru

Методом калориметрии растворения измерены интегральные энтальпии растворения $\Delta_{sol}H^m$ L-цистеина и L-аспарагина в смесях воды с этанолом, n-пропанолом и изо-пропанолом при концентрации спиртов до 0,32 м.д. Рассчитаны стандартные значения энтальпий растворения ($\Delta_{sol}H^0$) и переноса ($\Delta_{tr}H^0$) аминокислот из воды в смешанный растворитель. Установлено, что зависимости $\Delta_{sol}H^0$ и $\Delta_{tr}H^0$ от состава в водно – спиртовых растворах носят экстремальный характер. Рассчитанные энтальпийные коэффициенты парных взаимодействий аминокислот с молекулами спиртов имеют положительные значения и увеличиваются в ряду этанол, n-пропанол, изо-пропанол. Полученные данные интерпретированы с точки зрения различных типов взаимодействий в растворах и влияния природы аминокислотных остатков на термохимические характеристики растворения.

Integrated enthalpies of dissolution $\Delta_{sol}H^m$ L-cysteine and L-asparagine in mixes of water with ethanol, n-propyl alcohol and i-propyl alcohol at concentration of alcohol up to 0,32 mole fraction are measured by method of calorimetry dissolution. Standard values of enthalpies of dissolution ($\Delta_{sol}H^0$) and transfer ($\Delta_{tr}H^0$) of amino acids from water in the mixed solvent are calculated. It is established, that dependences of $\Delta_{sol}H^0$ and $\Delta_{tr}H^0$ on structure of aqueous – alcoholic solutions have extreme character. Designed enthalpic coefficients of pair interactions of amino acids with molecules of spirits have positive values and increase in order ethanol, n-propyl alcohol, i-propyl alcohol. The data received are interpreted from the point of view of various types of interactions in solutions and influences of the nature of amino acid side groups on thermochemical characteristics of dissolution.

Ключевые слова: калориметрия, интегральная энтальпия растворения, боковые радикалы аминокислоты, водно – спиртовые растворы

Key words: calorimetry, integrated enthalpy of dissolution, side groups of amino acids, aqueous – alcohol solutions

В последние годы важным направлением исследований стали процессы, связанные с энергетикой и самосборкой наносистем, структурными элементами которых яв-

~~~~~

ляются молекулы белков, олигопептидов и т. д. Термодинамические характеристики биосоединений являются необходимыми параметрами для анализа устойчивости образующих ими наносистем. Поэтому большое значение в изучении высокомолекулярных соединений белковой природы имеет знание физико-химических свойств низкомолекулярных пептидов и аминокислот в различных средах. Сольватация, являясь начальной стадией биохимических процессов, определяет биологическую активность сложных по структуре макромолекул. Водно-спиртовые растворители представляют интерес, ввиду различного характера взаимодействия с компонентами раствора в зависимости от концентрации соразтворителя.

Закономерности термодинамического поведения различных аминокислот в водно-спиртовых растворителях в широкой области концентраций соразтворителя почти не исследованы. Обычно изученная область составов ограничена 0,09 м.д. органического компонента [1], в то время как ход зависимостей термодинамических характеристик растворения и переноса изменяется при более высоких концентрациях соразтворителя. В настоящей работе измерены энтальпии растворения двух аминокислот – L-цистеина (L-Cys) и L-аспарагина (L-Asn) в системах вода – этанол (EtOH), вода – *n*-пропанол (PrOH) и вода – *изо*-пропанол (*i*-PrOH) и сравнены с полученными нами ранее результатами для L-серина (Ser).

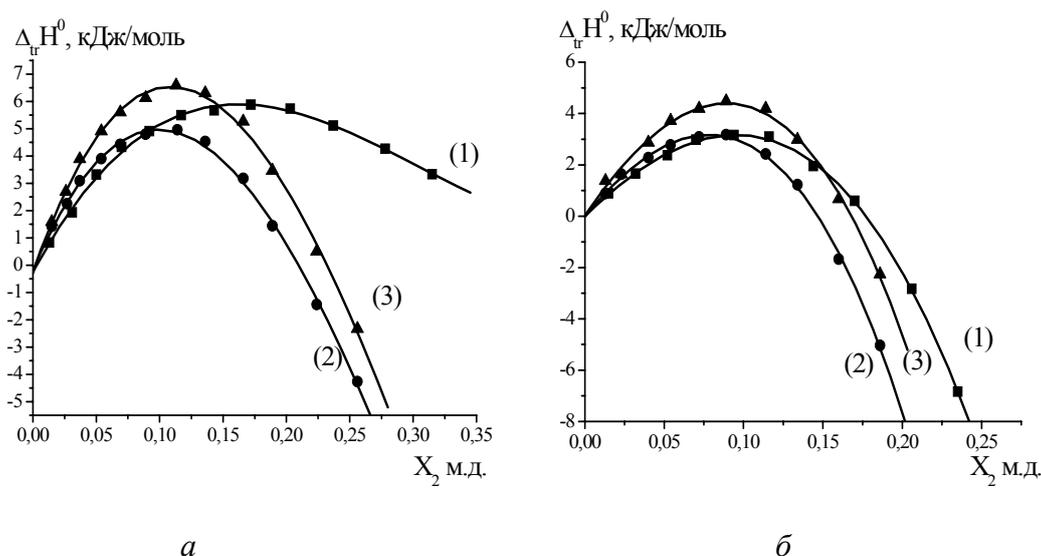
### Экспериментальная часть

Измерения интегральных энтальпий растворения проводили на герметичном четырехампульном калориметре переменной температуры с изотермической оболочкой, позволяющем проводить последовательные измерения серии тепловых эффектов при растворении нескольких навесок вещества в одном и том же объеме растворителя без перезарядки калориметрической ячейки [2]. Реакционная часть калориметра и все внутренние детали, соприкасающиеся с раствором, выполнены из титанового сплава ВТ-1. Емкость калориметрического стакана составила ~110 мл. Стабильность системы термостатирования в ходе калориметрических измерений поддерживалась с точностью  $10^{-3}$  К. Термометрическая и энергетическая чувствительности калориметра составляли  $2 \cdot 10^{-4}$  К/мм и  $1 \cdot 10^{-3}$  Дж/мм шкалы регистрирующего прибора. Компенсация теплового эффекта проводилась электрическим током. Для оценки точности и надежности работы калориметрической установки были измерены тепловые эффекты растворения KCl в воде при 298,15 К. Из десяти независимых измерений энтальпий растворения KCl в H<sub>2</sub>O и энтальпий разведения, приведенных в работе [3], получено значение стандартной  $\Delta_{\text{sol}}H^0 = 17,23 \pm 0,06$  кДж/моль, которое хорошо согласуется с общепринятой величиной ( $17,22 \pm 0,33$  кДж/моль) [4].

Концентрация аминокислот варьировалась в интервале  $0,005 \div 0,008$  моль/кг. Величины энтальпий растворения  $\Delta_{\text{sol}}H^m$  аминокислот в исследованной концентрационной области (до 0,008 моль/кг) не зависят от концентрации биомолекул, поэтому за стандартные значения  $\Delta_{\text{sol}}H^0$  приняты средние арифметические значения тепловых эффектов растворения  $\Delta_{\text{sol}}H^m$  из 5 – 7 измерений. L-цистеин и L-аспарагин (Aldrich, 99 %) перед экспериментом подвергали перекристаллизации из смеси вода – этанол, сушили под вакуумом при 343 К в течение 48 часов. Воду после деионизации дважды дистиллировали (удельная электропроводность  $10^{-5}$  Ом<sup>-1</sup>.см<sup>-1</sup>). Спирты очищали по методикам, описанным в [5]. Содержание воды контролировали титрованием по методу Фишера [6]. Оно не превышало (мас. %) в этаноле – 0,05, *n*-пропаноле – 0,03, *изо*-пропаноле – 0,04. Смеси готовили весовым методом.

## Обсуждение результатов

Основу структуры изученных соединений составляет алифатическая аминокислота L-аланин ( $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{R})-\text{COOH}$ ). Групповой заместитель R в молекуле L-аланина представляет собой атом водорода, в L-цистеине группу  $-\text{SH}$ , в L-аспарагине группу  $\text{O}=\text{C}-\text{NH}_2$  и в аминокислоте L-серине  $-\text{OH}$ . Цель данной работы – изучить роль различных по природе боковых заместителей аминокислот в процессах сольватации в водно-спиртовых растворителях. Зависимости энтальпий переноса  $\Delta_{\text{tr}}\text{H}^0$  Cys и Asn из воды в водно-спиртовые смеси от мольной доли соразтворителя ( $X_2$ ) представлены на рисунках а и б, соответственно.



Зависимости энтальпий переноса ( $\Delta_{\text{tr}}\text{H}^0$ ) L-цистеина (а) и L-аспарагина (б) из воды в ее смеси с EtOH (1), PrOH (2) и *i*-PrOH (3) от концентрации спирта ( $X_2$ ) при 298,15 К

Как видно из рисунков, при изменении  $\Delta_{\text{tr}}\text{H}^0$  происходит перемена знака для Cys в растворах Pro при концентрации  $X_2 \sim 0,2$  м.д., в *i*-Pro при  $X_2 \sim 0,23$  м.д. В растворах Asn смена знака энтальпии переноса происходит во всех трех растворах (для EtOH  $X_2 \sim 0,18$  м.д., PrOH  $X_2 \sim 0,15$  м.д., *i*-PrOH  $\sim 0,17$  м.д.). Это означает, что энтальпии переноса определяются различными вкладами с противоположными знаками от конкурирующих в растворе взаимодействий различной природы и сольватационных процессов. Для интерпретации наблюдаемых зависимостей использован модельный подход на основе взаимодействий растворенного вещества и соразтворителя, предложенный в работе [7]. В трехкомпонентных системах аминокислота – спирты – вода молекулы гидратированных растворенных веществ находятся на достаточно близком расстоянии, чтобы их гидратные оболочки перекрывались. Получаемые  $\Delta_{\text{tr}}\text{H}^0$  для аминокислот будут определяться суммой вкладов с различными знаками:

$$\Delta_{\text{tr}}\text{H}^0 = -\Delta\text{H}_1 - \Delta\text{H}_2 + \Delta\text{H}_3 + \Delta\text{H}_4, \quad (1)$$

где  $\Delta\text{H}_1$  – ион-биполярные взаимодействия, происходящие между цвиттерионными центрами аминокислот и  $-\text{OH}$  группы спиртов;  $\Delta\text{H}_2$  – гидрофильно-гидрофильные групповые взаимодействия между  $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$  и  $-\text{NH}_2$ -группами аминокислот и  $\text{OH}$ -группой спиртов, происходящие через образование водородной связи ( $\Delta\text{H}_2$ );

$\Delta H_3$  – гидрофобно-гидрофильные взаимодействия между неполярными частями аминокислот или спиртов и боковыми группами аминокислот (ОН-группой спиртов) или цвиттер-ионных центров аминокислот ( $\Delta H_3$ );  $\Delta H_4$  – гидрофобно-гидрофобные взаимодействия между неполярными частями аминокислот и неполярных частей спиртов. Согласно этой модели, первый и второй из этих типов взаимодействий вносит отрицательный, а третий и четвертые типы – положительные вклады в  $\Delta_{tr}H^0$ . Положительные значения  $\Delta_{tr}H^0$  в растворах Cys с PrOH и *i*-PrOH и системах Asn со спиртами для приведенных выше концентраций (рис. ) указывают на преобладание третьего ( $\Delta H_3$ ) и четвертого ( $\Delta H_4$ ) типов взаимодействий над остальными. Затем после прохождения максимума  $\Delta_{tr}H^0$  начинают уменьшаться и переходят в отрицательные значения, что означает доминирование ион-биполярных и гидрофильно-гидрофильных взаимодействий. По-видимому, при увеличении концентраций соразтворителя взаимодействия между ОН-группами спиртов и боковыми заместителями в аминокислотах становятся более интенсивными, что приводит к увеличению доли экзо-эффектов в трехкомпонентном растворе. Кроме того, увеличение концентрации спиртов в водном растворе уменьшает эффект гидрофобной гидратации, характеризующийся более прочными водородными связями воды вокруг неполярных групп, например в *i*-PrOH [8]. При взаимодействии с аминокислотами эффекты дегидратации спиртов становятся более энергозатратными, что вызывает повышение эндотермичности растворения биомолекул. Аналогично ведут себя аминокислоты с неполярными заместителями (например, DL- $\alpha$ -аланин [9]), эффект растворения которых более эндотермичен по сравнению с аминокислотами с полярными боковыми группами. Максимумы при различных мольных долях спиртов показывают, что вклады от гидрофобно-гидрофильных и гидрофобно-гидрофобных групповых взаимодействиях максимальны при соответствующих концентрациях соразтворителя. Более размытый максимум для этанола и смещение его в более концентрированную область по сравнению с PrOH и *i*-PrOH определяется сильной ассоциированностью EtOH.

Межчастичные взаимодействия в трехкомпонентных водных системах охарактеризованы в рамках теории МакМиллана-Майера [10] путем расчета энтальпийных коэффициентов парных взаимодействий ( $h_{xy}$ ) аминокислот с молекулами спиртов. Для их расчета концентрационная зависимость  $\Delta_{sol}H^0 = f(m_y)$  аминокислот в водно-спиртовых растворах была аппроксимирована полиномом третьей степени:

$$\Delta_{sol}H^0 = a_0 + a_1m_y + a_2m_y^2 + a_3m_y^3, \quad (2)$$

где  $m_y$  – моляльная концентрация спирта,  $a_0, a_1, a_2$  – коэффициенты аппроксимации, рассчитываемые методом наименьших квадратов. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Коэффициенты уравнения 2

| Система             | $a_0$        | $a_1$       | R     | SD    | N  |
|---------------------|--------------|-------------|-------|-------|----|
| Cys-EtOH            | 10,92 ± 0,18 | 1,24 ± 0,07 | 0,989 | 0,197 | 12 |
| Cys-PrOH            | 10,89 ± 0,10 | 1,71 ± 0,05 | 0,999 | 0,094 | 12 |
| Cys- <i>i</i> -PrOH | 10,84 ± 0,16 | 2,09 ± 0,09 | 0,998 | 0,155 | 12 |
| Asn-EtOH            | 22,66 ± 0,12 | 1,08 ± 0,06 | 0,999 | 0,095 | 10 |
| Asn-PrOH            | 22,63 ± 0,18 | 1,36 ± 0,12 | 0,998 | 0,140 | 10 |
| Asn- <i>i</i> -PrOH | 22,45 ± 0,18 | 1,79 ± 0,12 | 0,997 | 0,141 | 10 |

Значения свободных членов  $a_0$  соответствуют стандартным энтальпиям растворения аминокислот в чистой воде и хорошо согласуются с полученными нами и литературными данными для L-цистеина  $\Delta_{\text{sol}}H^0(\text{Cys}) = 11,15 \pm 0,03$  [11]. Значения для L-аспарагина в литературе сильно отличаются  $\Delta_{\text{sol}}H^0(\text{Asn}) = 20,95 \pm 0,14$  [12], 24,06 [13], 31,51 [14]. Полученная нами энтальпия растворения L-Asn в воде согласуется с данными работ [12] и [13] и ее можно считать надежной величиной.

Для расчета энтальпийного коэффициента парных взаимодействий  $h_{xy}$  использован коэффициент  $a_1$ , который связан с ним соотношением  $h_{xy} = a_1/2$  [15]. Полученные нами значения для Ser [16] и аминокислот в растворах спиртов и литературные данные для L-аланина (Ala) [17] в смесях с этанолом представлены в табл. 2.

Таблица 2

Энтальпийные коэффициенты парных взаимодействий  $h_{xy}$  (Дж·кг·моль<sup>-2</sup>) аминокислот со спиртами в водных растворах при 298,15 К

| Вещество           | EtOH     | PrOH     | <i>i</i> -PrOH |
|--------------------|----------|----------|----------------|
| L-Asn              | 540 ± 30 | 682 ± 61 | 895 ± 61       |
| L-Ser <sup>a</sup> | 568 ± 27 | 825 ± 27 | 1023 ± 63      |
| L-Cys              | 623 ± 35 | 853 ± 24 | 1043 ± 40      |
| L-Ala <sup>b</sup> | 658 ± 26 | –        | –              |

Примечание: <sup>a</sup>наши данные [16], <sup>b</sup>литературные данные [17]

Как видно из табл. 2, все коэффициенты имеют положительные значения во всех спиртах и уменьшаются для растворов EtOH в ряду  $h_{xy}(\text{Ala}) > h_{xy}(\text{Cys}) > h_{xy}(\text{Ser}) > h_{xy}(\text{Asn})$ . Это означает, что эндотермические процессы, связанные со структурной перестройкой трехкомпонентного раствора и высвобождением молекул воды из гидратных оболочек аминокислот и спиртов, преобладают над прямыми взаимодействиями сольватированных полярных групп взаимодействующих молекул. Коэффициент для Ala с неполярной группой –CH<sub>3</sub> больше по сравнению с аминокислотами с полярными боковыми заместителями, что связано с эффектами гидрофобной гидратации. Замена –SH группы на –OH вызывает возрастания экзотермических взаимодействий между молекулами спиртов и цвиттер-ионами аминокислоты, что обусловлено большей способностью –OH группы серина образовывать донорно-акцепторные связи по сравнению с –SH группой цистеина [18]. Более отрицательный коэффициент для Asn определяется наличием в нем дополнительного центра специфической сольватации O=C-NH<sub>2</sub>, вызывающего увеличение экзотермичности растворения. Аналогично нами наблюдалось ранее повышение экзотермичности растворения при переходе от глицина к диглицину в результате появления дополнительной пептидной группы O=C-N-H [19].

Таким образом, на энтальпийные характеристики растворения исследованных аминокислот оказывает влияние природа боковых заместителей (полярные и неполярные, донорно-акцепторные способности), эффекты структурной перестройки трехкомпонентного раствора (дегидратация взаимодействующих веществ и гидрофобные эффекты), а также концентрация и структурные особенности молекул спиртов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 07-03-00369а и Совета по грантам Президента РФ для поддержки молодых российских ученых и их научных руководителей МК-4905.2006.3.

## Список литературы

1. *Palecz B.* // Fluid Phase Equilibria. 2000. Vol. 167. № 2. P. 253.
2. *Баделин В. Г., Тюнина Е. Ю., Межевой И. Н.* // ЖПХ. 2007. Т. 80. № 5. С. 732.
3. *Parker V. B.* // Washington. Ed. NSRDS-NBS 2. 1965. P. 66.
4. *Мищенко К. П., Полторацкий Г. М.* Термодинамика и строение водных и неводных растворов электролитов. Л.: Химия, 1976. 328 с.
5. *Гордон А., Форд Р.* // Спутник химика. М.: Мир, 1976. 243 с.
6. *Климова В. А.* Основные методы анализа органических соединений. М.: Химия, 1967. 208 с.
7. *Franks H. S., Evans E. W.* // J. Chem. Phys. 1945. Vol. 13. P. 507.
8. *Talukdar H., Kundu K. K.* // J. Phys. Chem. 1992. Vol. 96. P. 970.
9. *Смирнов В. И., Межевой И. Н., Баделин В. Г.* // ЖФХ. 2004. Т. 78. № 2. С. 280.
10. *McMillan W. G., Mayer J. E.* // J. Chem. Phys. 1945. Vol. 13. P. 276.
11. *Palecz B., Nadolna A.* // Fluid Phase Equilibria. 2006. Vol. 250. № 1. P. 49.
12. *Abu-Hamdlyah M., Shehabuddin A.* // J. Chem. Eng. Data. 1982. Vol. 27. № 1. P. 74.
13. *Zittle C. A., Schmidt C. L. A.* // J. Biol. Chem. 1935. Vol. 108. P. 161.
14. *Rodante F.* // Thermochim. Acta. 1989. Vol. 149. № 1/2. P. 157.
15. *Piekarski H., Tkaczyk M.* // J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1991. Vol. 87. P. 3661.
16. *Межевой И. Н., Баделин В. Г.* // Жидкие кристаллы и их практическое использование. 2007. Вып. 3. С. 21 – 26.
17. *Palecz B.* // Thermochim. Acta. 2005. Vol. 435. P. 99.
18. *Pillai L., Boss R. D., Greenberg M. S.* // J. Solut. Chem. 1979. Vol. 8. P. 635.
19. *Смирнов В. И., Баделин В. Г.* // ЖФХ. 2005. Т. 79. № 4. С. 673.

Поступила в редакцию 20.03.2008 г.