

УДК 541.8:541.13

И. Н. Межевой, В. Г. Баделин

**ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ БОКОВЫХ РАДИКАЛОВ L-ЦИСТЕИНА
И L-АСПАРАГИНА НА ИХ ТЕРМОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
СОЛЬВАТАЦИИ В ВОДНО-ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРАХ**

**INFLUENCE OF STRUCTURE OF SIDE RADICALS OF L-CYSTEINE
AND L-ASPARAGINE ON THEIR THERMOCHEMICAL CHARACTERISTICS
OF SOLVATION IN AQUEOUS-ORGANIC SOLUTIONS**

Институт химии растворов РАН, 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 ацетонитрилом, 1,4-диоксаном, диметилсульфоксидом и ацетоном при концентрации органических соразтворителей 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 водно-органических растворов носят экстремальный характер. Рассчитанные энтальпийные коэффициенты парных взаимодействий аминокислот с молекулами соразтворителей имеют положительные значения, за исключением системы аспарагин-ацетонитрил. 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 acetonitrile, dioxane, dimethyl sulfoxide and acetone at concentration of alcohol up to 0,32 m.d. are measured by the method of dissolution calorimetry. Standard values of dissolution enthalpies ($\Delta_{sol}H^0$) and transfer ($\Delta_{tr}H^0$) of amino acids from water in the mixed solvent are designed. It is established, that dependences of $\Delta_{sol}H^0$ and $\Delta_{tr}H^0$ on structure of water-organic solutions have extreme character. The designed enthalpic coefficients of pair interactions of amino acids with molecules of cosolvent have positive values, except for L-asparagine-acetonitrile system. 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 fragments on thermochemical characteristics of dissolution.

Ключевые слова: аминокислоты, калориметрия, растворы, водно-органические растворы

Key words: amino acids, calorimetry, solutions, aqueous-organic 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-органические растворители широко используются в фармакологии, неводной энзимологии, биохимии и влияют на многочисленные параметры, например растворимость и стабильность белковых систем. Особый интерес представляет ДМСО, обладающий высокой проникающей способностью через животные ткани и использующийся в качестве лечебного средства и криопротектора лекарственных препаратов. В настоящей работе измерены энтальпии растворения двух аминокислот – L-цистеина (L-Cys) и L-аспарагина (L-Asn) в системах вода-ацетонитрил (AN), вода-1,4-диоксан (DO), вода-диметилсульфоксид (DMSO) и вода-ацетон (Ac).

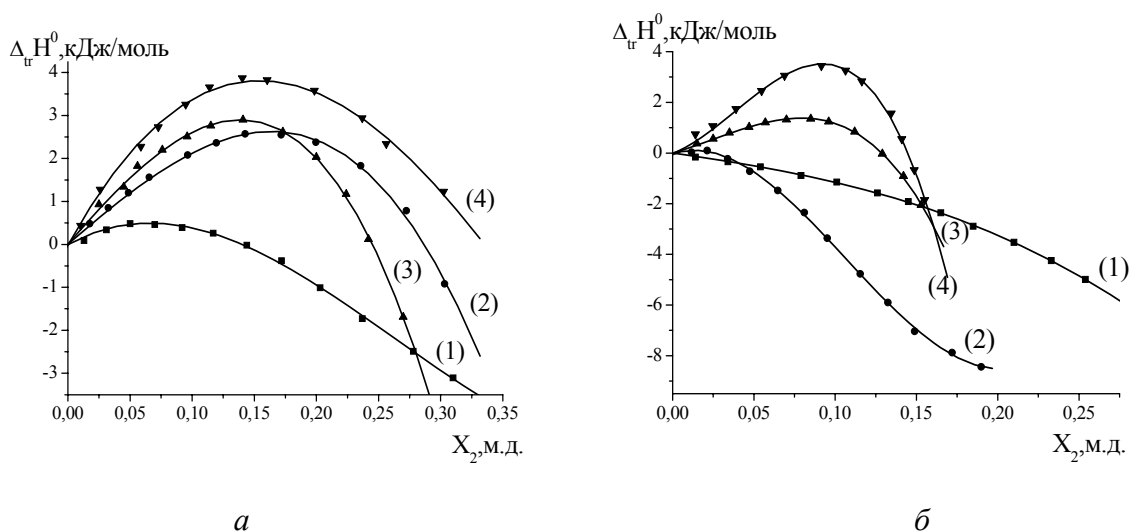
### Экспериментальная часть

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 [1]. Реакционная часть калориметра и все внутренние детали, соприкасающиеся с раствором, выполнены из титанового сплава ВТ-1. Емкость калориметрического стакана составили ~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 [2], 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) [3].

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>). Органические растворители очищали по методикам, описанным в [4]. Содержание воды контролировали титрованием по методу Фишера [5]. Оно не превышало (масс %) в ацетонитриле – 0,03, 1,4-диоксане – 0,08, диметилсульфоксиде – 0,05 и ацетоне – 0,07. Смеси готовили весовым методом.

## Обсуждение результатов

Основу структуры изученных соединений составляет алифатическая аминокислота L-аланин ( $H_2N-CH(CH_2R)-COOH$ ). Групповой заместитель R в молекуле L-аланина представляет собой атом водорода, в L-цистеине группу  $-SH$  и в L-аспарагине группу  $O=C-NH_2$ . Цель данной работы – изучить роль различных по природе боковых заместителей аминокислот в процессах сольватации в водно-органических растворителях. Зависимости энтальпий переноса  $\Delta_{tr}H^0$  Cys и Asn из воды в водно-органические смеси от мольной доли соразтворителя ( $X_2$ ) представлены на рис. а и б, соответственно.



Зависимости энтальпий переноса ( $\Delta_{tr}H^0$ ) L-цистеина (а) и L-аспарагина (б) из воды в ее смеси с ацетонитрилом (1), 1,4-диоксаном (2), диметилсульфоксидом (3) и ацетоном (4) от концентрации органического соразтворителя ( $X_2$ ) при 298,15 К

Как видно из рисунка, зависимости имеют экстремальный характер и при изменении  $\Delta_{tr}H^0$  происходит перемена знака для Cys в водных растворах AN при концентрации  $X_2 \sim 0,14$  м.д., в DO при  $X_2 \sim 0,29$  м.д., в DMSO при  $X_2 \sim 0,25$  м.д. и для Asn в водных растворах DO при  $X_2 \sim 0,03$ , DMSO при  $X_2 \sim 0,13$  и Ac при  $X_2 \sim 0,14$  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 [6]. В трехкомпонентных системах аминокислота – органический растворитель – вода молекулы гидратированных растворенных веществ находятся на достаточно близком расстоянии, чтобы их гидратные оболочки перекрывались. Получаемые  $\Delta_{tr}H^0$  для аминокислот будут определяться суммой вкладов с различными знаками:

$$\Delta_{tr}H^0 = -\Delta N_1 - \Delta N_2 + \Delta N_3 + \Delta N_4, \quad (1)$$

где  $\Delta N_1$  – ион-биполярные взаимодействия, происходящие между цвиттерионными центрами аминокислот и полярными группами органических растворителей;  $\Delta N_2$  – гидрофильно-гидрофильные групповые взаимодействия между  $-SH$ ,  $O=C-NH_2$  груп-

пами аминокислот и полярными группами соразтворителей, происходящие через образование водородной связи;  $\Delta H_3$  – гидрофобно-гидрофильные взаимодействия между неполярными частями аминокислоты или органических соразтворителей и SH-группой цистеина ( $O=C-NH_2$  аспарагина) или цвиттерионных центров аминокислот;  $\Delta H_4$  – гидрофобно-гидрофобные взаимодействия между неполярными частями аминокислот и неполярных частей соразтворителей. 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  $\Delta_{tr}H^0$  Cys в водных растворах AN, DO и DMSO и Asn в растворах DO, DMSO и Ac до точки смены знака 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 полярными группами органических растворителей и боковыми радикалами и цвиттерионными центрами аминокислот становятся более интенсивными, что приводит к увеличению доли экзо-эффектов в трехкомпонентном растворе. Кроме того, увеличение концентрации органических соразтворителей в водном растворе уменьшает эффект гидрофобной гидратации, характеризующийся более прочными водородными связями воды вокруг неполярных групп, например в Ac [7]. Аналогично ведут себя аминокислоты с неполярными заместителями (например, DL- $\alpha$ -аланин [8]), эффект растворения которых более эндотермичен по сравнению с аминокислотами с полярными боковыми группами. Максимумы при различных мольных доля соразтворителей показывают, что вклады от гидрофобно-гидрофильных и гидрофобно-гидрофобных групповых взаимодействиях максимальны при соответствующих концентрациях соразтворителя.

Межчастичные взаимодействия в трехкомпонентных водных системах охарактеризованы в рамках теории МакМиллана – Майера [9] путем расчета энтальпийных коэффициентов парных взаимодействий ( $h_{xy}$ ) аминокислот с молекулами апротонных растворителей. Для их расчета концентрационная зависимость  $\Delta_{sol}H^0 = f(m_y)$  аминокислот в водно-органических 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 органического растворителя,  $a_0, a_1, a_2$  – 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-AN   | 10,84 ± 0,05 | 0,20 ± 0,02  | 0,999 | 0,055 | 12 |
| Cys-DO   | 10,88 ± 0,05 | 0,46 ± 0,02  | 0,998 | 0,052 | 12 |
| Cys-DMSO | 10,84 ± 0,09 | 0,64 ± 0,03  | 0,998 | 0,062 | 12 |
| Cys-Ac   | 10,83 ± 0,06 | 0,86 ± 0,02  | 0,997 | 0,068 | 12 |
| Asn-AN   | 22,51 ± 0,02 | -0,13 ± 0,01 | 0,999 | 0,022 | 12 |
| Asn-DO   | 22,59 ± 0,10 | 0,09 ± 0,07  | 0,999 | 0,092 | 12 |
| Asn-DMSO | 22,55 ± 0,04 | 0,44 ± 0,03  | 0,999 | 0,027 | 12 |
| Asn-Ac   | 22,59 ± 0,09 | 0,64 ± 0,07  | 0,992 | 0,022 | 12 |

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  $\Delta_{\text{sol}}H^0(\text{Cys}) = 11,15 \pm 0,03$  [10]. Значения для L-аспарагина в литературе сильно отличаются  $\Delta_{\text{sol}}H^0(\text{Asn}) = 20,95 \pm 0,14$  [11], 24,06 [12], 31,51 [13]. Полученная нами энтальпия растворения L-Asn в воде согласуется с данными работ [11] и [12] и ее можно считать надежной величиной.

Для расчета энтальпийного коэффициента парных взаимодействий  $h_{xy}$  использован коэффициент  $a_1$ , который связан с ним соотношением  $h_{xy} = a_1/2$  [14]. Полученные нами значения для аминокислот в водных растворах органических растворителей представлены в табл. 2.

Таблица 2

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

| Вещество    | L-цистеин | L-аспарагин |
|-------------|-----------|-------------|
| ацетонитрил | 103±10    | -66±6       |
| 1,4-диоксан | 230±11    | 47±36       |
| ДМСО        | 322±17    | 219±18      |
| ацетон      | 429±12    | 322±34      |

Как видно из табл. 2, все коэффициенты имеют положительные значения в водно-органических растворителях, за исключением системы Asn-AN-H<sub>2</sub>O. Это означает, что эндотермические процессы, связанные со структурной перестройкой трехкомпонентного раствора и высвобождением молекул воды из гидратных оболочек аминокислот и органических растворителей, преобладают над прямыми взаимодействиями сольватированных полярных групп взаимодействующих молекул. Наименьший коэффициент для AN по сравнению с другими соразтворителями для аминокислот связан с высокой полярностью связи C≡N и слабыми межмолекулярными связями ацетонитрила с водой [15]. DMSO является гораздо более сильным донором электронов по сравнению с AN, что способствует образованию более прочных связей с водой и в результате эндотермичность растворения аминокислот увеличивается. Наличие в молекулах DMSO и Ac двух CH<sub>3</sub>-групп способствует гидрофобной гидратации, проявляющейся в упрочнении водородных связей воды вокруг метильных групп. Это способствует увеличению структурной перестройке раствора при взаимодействии сольватированных молекул, увеличению эндо-эффектов и росту  $h_{xy}$  для аминокислот. Компенсация эндо-эффектов происходит за счет образования водородных связей и дополнительного вклада ион-дипольных взаимодействий молекулы диметилсульфоксида с заряженной карбоксильной группой аминокислот через мостик O=S<sup>+</sup> ... O-C- [16]. Большой энтальпийный коэффициент парного взаимодействия в области большого содержания воды, наблюдаемый для DO по сравнению с AN, можно объяснить наличием циклической структуры молекулы, что довольно сильно понижает донорную способность атомов кислорода. Более отрицательный коэффициент для Asn во всех растворителях определяется наличием в нем дополнительного центра специфической сольватации O=C-NH<sub>2</sub>, вызывающего увеличение экзотермичности растворения.

Таким образом, на энтальпийные характеристики сольватации 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 органических сорбителей.

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

### Список литературы

1. Баделин В. Г., Тюнина Е. Ю., Межевой И. Н. // ЖПХ. 2007. Т. 80. № 5. С. 732.
2. Parker V. B. // Washington. Ed. NSRDS-NBS 2. 1965. P. 66.
3. Wadsø I., Goldberg R. N. // Pure Appl. Chem. 2001. Vol. 73. P.1625.
4. Гордон А., Форд Р. // Спутник химика. М.: Мир, 1976. 243 с.
5. Климова В. А. Основные методы анализа органических соединений. М.: Химия, 1967. 208 с.
6. Franks H. S., Evans E. W. // J. Chem. Phys. 1945. Vol. 13. P. 507.
7. Talukdar H., Kundu K. K. // J. Phys. Chem. 1992. Vol. 96. P. 970.
8. Смирнов В. И., Межевой И. Н., Баделин В. Г. // ЖФХ. 2004. Т. 78. № 2. С. 280.
9. McMillan W. G., Mayer J. E. // J. Chem. Phys. 1945. Vol. 13. P. 276.
10. Palecz B., Nadolna A. // Fluid Phase Equilibria. 2006. Vol. 250. № 1. P. 49.
11. Abu-Hamdlyyah M., Shehabuddin A. // J. Chem. Eng. Data. 1982. Vol. 27. № 1. P. 74.
12. Zittle C. A., Schmidt C. L. A. // J. Biol. Chem. 1935. Vol. 108. P. 161.
13. Rodante F. // Thermochim. Acta. 1989. Vol. 149. № 1/2. P. 157.
14. Piekariski H., Tkaczyk M. // J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1991. Vol. 87. P. 3661.
15. Белоусов В. П., Морачевский А. Г. Теплоты смешения жидкостей: Справочник. М.: Химия, 1970. 256 с.
16. Баделин В. Г., Куликов О. В., Крестов Г. А. // Биофизика. 1993. Т. 38. С. 213.

Поступила в редакцию 22.08.2008 г.