

УДК 541.135.2:541.013.036

**ХИРАЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ В ПАРАМЕТРАХ СЕЧЕНОВА РАСТВОРИМОСТИ АРГОНА
В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ α -ВАЛИНА И α -ФЕНИЛАЛАНИНА****В.К. Абросимов, Е.Ю. Лебедева***Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Иваново*

E-mail: vxa@isc-ras.ru

Статья поступила 20 августа 2012 г.

Из данных по растворимости аргона в воде и водных растворах L- и D-энантиомеров α -валина и α -фенилаланина при $T = 283\text{—}328\text{ K}$ и парциальном давлении аргона $p_2 = 0,1\text{ МПа}$ рассчитаны стандартные параметры солевого эффекта Сеченова. В рамках формализма теории МакМиллана—Майера проведена оценка параметров парного взаимодействия растворенное вещество—растворенное вещество. Установлено наличие хирального эффекта в параметрах Сеченова.

Ключевые слова: аргон, вода, водные растворы аминокислот, растворимость, влияние температуры, параметры Сеченова, параметры парных взаимодействий.

ВВЕДЕНИЕ

Взаимодействие белков с водой *in vivo* играет важную роль в стабильности состояния, структуре и функции биологических полимеров. В связи с этим изучение *in vitro* физико-химических свойств водных растворов фрагментов белков — аминокислот является предметом многочисленных исследований, проводимых на протяжении многих десятков лет. При этом одной из основных задач является установление влияния аминокислот на структуру взаимодействующей с ними воды, природы взаимодействий "растворенное вещество—растворитель" и роли перечисленных факторов в конформационной устойчивости протеинов.

Поскольку α -атом углерода в молекуле аминокислоты хиральный, аминокислоты образуют два ряда диастереомеров — L- и D-энантиомеров. Белок любого организма образуют стереоизомеры, принадлежащие только к одному ряду. Для белков млекопитающих это L-аминокислоты. L-формы хорошо усваиваются растениями и животными и легко включаются в обменные процессы.

D-формы аминокислот в природе встречаются сравнительно редко и обнаружены лишь в составе белков клеточной стенки (гликопротеинов) бактерий и в пептидных антибиотиках.

Вопрос, почему жизнь на Земле основана на белках, построенных именно из L- α -, а не D- α -аминокислот, до сих пор остается интригующей загадкой. До настоящего времени в литературе бытует устоявшееся мнение, что L- α - и D- α -аминокислоты в растворах имеют одинаковые свойства. Однако можно назвать несколько работ, в которых на основании точных измерений обнаружен достаточно четко фиксируемый хиральный эффект в некоторых термодинамических свойствах.

Барон с сотр. [1] на основании калориметрического исследования энтальпий разбавления водных растворов L- и D-форм N-ацетилаланиламида обнаружили заметную разность в величинах энтальпийных коэффициентов парного взаимодействия между гидратированными молекулами растворенного вещества.

Авторы работы [2] провели измерения энтальпий растворения L- α -аланина и D- α -аланина в воде и водных растворах мочевины при 298,15 К. Разность между предельными молярными энтальпиями растворения $\Delta_{\text{sol}}H_{n,2}^{\infty}$ L- и D-энантиомеров аланина в воде составила ≈ 50 Дж·моль⁻¹ при погрешности измерения менее ± 20 Дж·моль⁻¹. Эту разницу можно было бы объяснить за счет различия в энтальпиях кристаллической решетки энантиомеров. Однако разность в величинах $\Delta_{\text{sol}}H_{n,2}^{\infty}$ в растворе мочевины отсутствует.

Выполненные нами ранее [3] прецизионные измерения плотности водных растворов L- и D-энантиомеров α -валина и α -фенилаланина показали наличие хирального эффекта в величинах предельных парциальных молярных объемов аминокислот.

Полезный подход к исследованию конкурентных взаимодействий растворенных веществ друг с другом и с молекулами растворителя дают измерения относительной растворимости одного из веществ в чистом растворителе и в растворе другого вещества. Количественным критерием таких взаимодействий является коэффициент или *параметр Сеченова* [4, 5].

Цель настоящей работы — рассчитать из данных по растворимости аргона в водных растворах энантиомеров α -валина и α -фенилаланина параметры Сеченова и проанализировать полученные данные с точки зрения влияния на эти параметры энантиоморфизма аминокислот.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В экспериментах использовали: аргон особо высокой чистоты с содержанием основного вещества 99,996 мол.%, воду природного изотопного состава, очищенную путем предварительной деионизации и двукратной дистилляции в аппаратуре из боросиликатного стекла ("пирекс") с добавлением при первой перегонке KMnO_4 . Удельная электрическая проводимость очищенной таким способом воды составляла $1,3 \pm 2$ мкСим·см⁻¹. Аминокислоты L- α -валин (L-Val), D- α -валин (D-Val), L- α -фенилаланин (L- α -амино- β -фенилпропионовая кислота, L-Phe) и D- α -фенилаланин (D- α -амино- β -фенилпропионовая кислота, D-Phe) квалификации Ч с содержанием основного вещества ≥ 98 мас.% подвергали дополнительной очистке путем перекристаллизации из бидистиллята и после сушки в течение 48 ч *in vacuo* при 323 К сохраняли в вакуумном эксикаторе над P_2O_5 .

Растворы аминокислот готовили весовым методом из дегазированных компонентов в "сухом" вакуумированном боксе. Взвешивание проводили на аналитических весах с погрешностью, не превышающей $5 \cdot 10^{-4}$ г. Верхний предел концентрации раствора аминокислоты соответствует ее растворимости при данной температуре. Техника дегазирования подробно описана в [6].

Измерения растворимости проводили при парциальном давлении газа 101325 Па методом изотермического насыщения на прецизионной микрогазометрической установке, подобной описанной в работе [7], с некоторыми конструктивными изменениями [8]. В указанных работах подробно рассмотрены все вопросы, связанные с процедурой и методикой измерения. Первичные данные по растворимости были опубликованы ранее в [9]. Относительная погрешность измерения растворимости $\leq 0,3$ %. Растворимость аргона выражали в молярной шкале* m_2 , моль·кг⁻¹. Первичные данные по растворимости обрабатывали методом наименьших квадратов с использованием модели $m_2^{m_3} - m_2^0 = \sum_{i=1}^2 m_3^i$, где $m_2^{m_3}$ и m_2^0 — концентрация (растворимость) аргона в растворе аминокислоты с концентрацией m_3 и в чистой воде соответственно. Данные

* Здесь и далее по тексту используется рекомендованная ИЮПАК [10, 11] система буквенных и символьных обозначений рассматриваемых величин. Подстрочные индексы 1, 2 и 3 означают, что данное свойство характеризует растворитель, газ и аминокислоту соответственно.

Т а б л и ц а 1

Численные значения растворимости аргона $10^4 m_2$, моль · кг⁻¹ в воде и водных растворах энантиомеров валина и фенилаланина при различных температурах и концентрациях аминокислоты

m_3 , моль · кг ⁻¹	T, K											
	283,15		288,15		298,15		308,15		318,15		328,15	
	L-Val	D-Val	L-Val	D-Val	L-Val	D-Val	L-Val	D-Val	L-Val	D-Val	L-Val	D-Val
0	18,71		16,82		13,98		12,04		10,69		9,746	
0,05	18,51	18,55	16,67	16,65	13,82	13,80	11,91	11,90	10,51	10,51	9,60	9,58
0,10	18,34	18,41	16,52	16,49	16,67	13,63	11,77	11,75	10,36	10,34	9,45	9,42
0,15	18,21	18,27	16,39	16,34	13,52	13,48	11,64	11,60	10,21	10,18	9,31	9,27
0,20	18,10	18,14	16,27	16,21	13,39	13,33	11,51	11,46	10,07	10,03	9,17	9,12
0,25	18,03	18,02	16,15	16,08	13,27	13,19	11,38	11,31	9,95	9,89	9,03	8,98
0,30	17,98	17,91	16,05	15,97	13,16	13,07	11,24	11,16	9,84	9,75	8,90	8,84
0,35	17,97	17,80	15,95	15,87	13,06	12,95	11,11	11,01	9,74	9,62	8,76	8,71
	L-Phe	D-Phe	L-Phe	D-Phe	L-Phe	D-Phe	L-Phe	D-Phe	L-Phe *	D-Phe	L-Phe	D-Phe *
0,025	18,61	18,61	16,73	16,70	13,88	13,84	11,97	11,96	—	10,58	9,66	—
0,050	18,53	18,52	16,65	16,61	13,76	13,74	11,90	11,88	—	10,48	9,57	—
0,075	18,47	18,45	16,58	16,53	13,72	13,67	11,83	11,79	—	10,39	9,50	—
0,100	18,41	18,39	16,52	16,48	13,66	13,64	11,76	11,71	—	10,31	9,43	—
0,125	18,38	18,35	16,47	16,45	13,63	13,65	11,69	11,63	—	10,24	9,37	—
0,150	18,36	18,32	16,42	16,43	13,60	13,70	11,62	11,54	—	10,18	9,32	—

* Для L-Phe при 318,15 К и для D-Phe при 328,15 К измерения растворимости не проводились.

по растворимости аргона в воде* и водных растворах рассматриваемых аминокислот приведены в табл. 1.

ПРОЦЕДУРА РАСЧЕТОВ

Если растворимость газа и концентрация аминокислоты выражены в моляльной шкале, параметр Сеченова обозначают как $K_{Sm_3m_2}$, кг · моль⁻¹ и рассчитывают по формуле

$$K_{Sm_3m_2} = [\ln(m_2^{m_3} / m_2^0) m_3^{-1}]. \quad (1)$$

Существенный интерес представляет нахождение стандартных (предельных) параметров солевого эффекта K_S^\ominus при $m_3 \rightarrow 0$ [5]. Величины K_S^\ominus не содержат вкладов от взаимодействий растворенное вещество—растворенное вещество и зависят только от температуры и с успехом используются [5, 12, 13] при обсуждении влияния на растворимость газа изменений структурного состояния растворителя, индуцируемых присутствием третьего компонента (в нашем случае аминокислоты) и изменением температуры.

Термодинамически обоснованной и поэтому более подходящей для расчетов является дифференциальная форма уравнения (1), записываемая в общем виде как:

$$K_{SC_3C_2} = \left(\frac{\partial \ln C_2}{\partial C_3} \right)_{\mu_2}, \quad (2)$$

где μ_2 — химический потенциал неэлектролита (газа).

* Использованы рекомендованные данные по растворимости аргона в воде, полученные нами путем экспертного отбора и статистической обработки собственных и литературных данных в рамках проекта Российского фонда фундаментальных исследований № 10-08-00564-а.

Рассматривая процесс переноса одного моля газа из *стандартного раствора** в чистом растворителе в стандартный относительно состояния газа раствор электролита, можно записать:

$$K_S^\varnothing = \lim_{(C_2 \rightarrow C_2=1, \text{ гип.})} \left(\frac{\partial \ln C_2}{\partial C_3} \right)_{\mu_2^\varnothing}, \quad (3)$$

μ_2^\varnothing — химический потенциал газа в стандартном растворе.

Выразив зависимость $\ln C_2$ от C_3 какой-либо подходящей аналитической функцией, например полиномом n -ой степени, можно, если $C_2 = m_2$ и $C_3 = m_3$, записать:

$$\ln m_2^{m_3} = \ln m_2^0 + \sum_{j=1}^n a_j m_3^j. \quad (4)$$

Подставив (4) в (2), получим $K_{Sm_3m_2} = \frac{\partial \left(\sum_{j=1}^n a_j m_3^j \right)}{\partial m_3} = \sum_{j=1}^{n-1} n a_j m_3^{j-1}$. Если $m_3 \rightarrow 0$ ($m_3^{-1} \rightarrow \infty$), то $K_{Sm_3m_2} \rightarrow K_{Sm_3m_2}^\varnothing$ и $a_1 = K_{Sm_3m_2}^\varnothing$. В итоге из уравнений (3) и (4) получаем уравнение зависимости параметра солевого эффекта Сеченова от концентрации аминокислоты:

$$K_{Sm_3m_2} = K_{Sm_3m_2}^\varnothing (= a_1) + \sum_{j=2}^{n-1} n a_j m_3^{j-1}. \quad (5)$$

Параметр Сеченова связан с гиббсовским параметром g_{23} парного взаимодействия между молекулами газа и аминокислоты. Согласно теории МакМиллана—Майера, зависимость избыточной энергии Гиббса от концентрации растворенных веществ (оба вещества — неэлектролиты) можно выразить в виде вириального разложения в ряд по степеням концентрации растворенных веществ:

$$\Delta_{tr} G^m = 2g_{23}m_3 + 6g_{223}m_2^2m_3 + 3g_{233}m_2m_3^2 + \dots \quad (6)$$

Для стандартного состояния членами третьего и более высокого порядка в разложении (6) можно пренебречь, поэтому $2g_{23}m_3 = \Delta_{tr} G^\varnothing$. С другой стороны, стандартное изменение энергии Гиббса в процессе переноса $[Ar, H_2O \rightarrow Ar, (H_2O + \text{аминокислота})]$ равно $\Delta_{tr} G^\varnothing = RTK_{Sm_3m_2}^\varnothing m_3$ [12]. В итоге получаем $g_{23} = -RTK_{Sm_3m_2}^\varnothing / 2 = -RTa_1 / 2$.

РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЧЕТА И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из приведенных в табл. 1 данных следует, что добавление в воду аминокислоты приводит к уменьшению растворимости аргона. При 283 К в области концентраций до $m_3 = 0,25$ моль · кг⁻¹ эффект снижения растворимости в случае D-Val проявляется в меньшей степени, чем для L-Val. При $T > 283$ К наблюдается противоположная картина. Добавки D-энантиомера фенилаланина при всех температурах и концентрациях по сравнению с L-энантиомером более сильно уменьшают растворимость газа.

Принимая во внимание особенности механизма растворения аргона в воде и водных растворах [5, 15], заключающиеся в способности атомов благородного газа (по крайней мере, до температуры минимальной растворимости) распределяться по участкам упорядоченной структуры растворителя, стабилизируя ее и развивая области упорядоченности, можно сказать, что молекулы аминокислот суммарно оказывают на структуру воды разрушающее влияние.

В табл. 2 приведены численные значения предельных параметров Сеченова растворимости аргона.

* Гипотетический раствор стандартной концентрации i -го растворенного вещества $C_i^\varnothing = 1$ при стандартном давлении $p^\varnothing = 0,1$ МПа = 1,0 бар обладающий свойствами бесконечно разбавленного (идеального) раствора [14].

Из приведенных данных видно, что во всем изученном диапазоне температур величины $K_{Sm_3m_2}^\ominus < 0$, и с ростом T наблюдается значительный рост $K_{Sm_3m_2}^\ominus$ по абсолютной величине. При каждой из температур величины $K_{Sm_3m_2}^\ominus$ L-энантиомера заметно меньше величин $K_{Sm_3m_2}^\ominus$ D-энантиомера. С ростом температуры эта разница возрастает. Параметры Сеченова для фенилаланина существенно превышают численные значения этого параметра для валина. Хиральный эффект в случае фенилаланина выражен более заметно.

Основываясь только на экспериментальных данных, трудно дать строгое физически обоснованное толкование различного влияния L- и D-энантиомеров на растворимость аргона. Можно, однако, предположить, что природа хирального эффекта заключается не в различном влиянии отдельных молекул энантиомеров на структуру воды. Изменение последовательности расположения групп NH_3^+ , COO^- и радикала $-\text{R}$ при переходе $\text{L} \rightarrow \text{D}$, вероятно, приводит к тому, что из-за стерических затруднений молекулы L- и D-энантиомеров по-разному взаимодействуют друг с другом в водном растворе с образованием отличающихся по структуре ассоциатов, влияние которых на структуру воды различно. Причем переход $\text{L} \rightarrow \text{D}$ сопровождается усилением гидрофобного взаимодействия между молекулами аминокислоты [1]. По этой причине наклоны зависимостей растворимости аргона от концентрации L- и D-аминокислот различаются, что, в свою очередь, отражается на рассчитываемых путем экстраполяции величинах $K_{Sm_3m_2}^\ominus$.

На рисунке представлены гиббсовские параметры парного взаимодействия гидратированных молекул аргона и аминокислот при различных температурах. Как следует из приведенных на рисунке данных, величины g_{23} положительны во всем исследованном диапазоне температур, что свидетельствует об общем преобладании взаимного отталкивания между гидратированными атомами аргона и молекулами аминокислот (или их ассоциатами). При повышении температуры g_{23} возрастают.

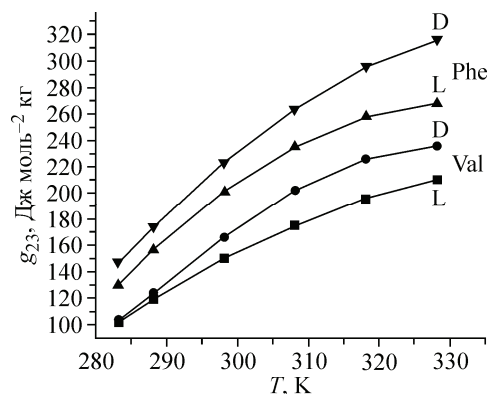
Как известно, молекулы аминокислот в растворенном состоянии присутствуют в цвиттер-ионной форме, т.е. являются заряженными частицами. С другой стороны, в состав молекул рассматриваемых здесь аминокислот входит образованная неполярными радикалами боковая цепь. Бифункциональность молекул аминокислот приводит к тому, что их гидратация имеет двойственную природу, и, рассматривая взаимодействие гидратированных молекул аминокислот с молекулами гидратированного аргона, необходимо учитывать конкуренцию гидрофильных и гидрофобных эффектов.

В ряде работ (например, в [16—18]) было показано, что аминокислоты гидратируются преимущественно по гидрофильному механизму, оказывая на структуру воды разрушающее влияние. В соответствии с концепцией структурного всаливания—высаливания Денуайе [19], перекрывание гидратных косфер гидрофильно и гидрофобно гидратированных молекул вызывает их взаимное отталкивание, что наглядно демонстрируют результаты данной работы. С ростом температуры

Т а б л и ц а 2

Численные значения предельного параметра Сеченова
($-K_{Sm\alpha}^\ominus \pm 0,005$), $\text{кг} \cdot \text{моль}^{-1}$

Аминокислота	T, K					
	283,15	288,15	298,15	308,15	318,15	328,15
L-Val	0,172	0,197	0,240	0,272	0,294	0,306
D-Val	0,174	0,205	0,266	0,314	0,340	0,344
L-Phe	0,220	0,260	0,323	0,365	0,388	0,390
D-Phe	0,248	0,289	0,358	0,410	0,444	0,460

Зависимость g_{23} от температуры

вклад гидрофильной гидратации возрастает, что и приводит к увеличению численных значений параметра Сеченова и гиббсовских параметров парного взаимодействия.

Работа выполнена при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 10-08-00564-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Barone G., Castronuovo G., Elia V., Giancola C.* // *J. Thermal Anal.* – 1985. – **30**. – P. 1367 – 1374.
2. *Abu-Hamdiyyah M., Shehabuddin A.* // *J. Chem. Eng. Data.* – 1982. – **27**. – P. 74 – 76.
3. *Абросимов В.К., Сибрина Г.В.* // *Изв. АН СССР. Сер. хим.* – 1989. – Вып. 6. – С. 1256 – 1260.
4. *Sechenow J.M.* // *Z. Phys. Chem.* – 1889. – **4**. – S. 117 – 125.
5. *Абросимов В.К.* В: *Современные проблемы химии растворов* / Отв. ред. Б.Д. Березин. – М.: Наука, 1986. – С. 97 – 156.
6. *Страхов А.Н., Крестов Г.А.* // *Журн. физ. химии.* – 1972. – **46**, № 12. – С. 2666 – 2667.
7. *Страхов А.Н., Крестов Г.А., Абросимов В.К., Баделин В.Г.* // *Журн. физ. химии.* – 1975. – **49**, № 6. – С. 1583 – 1584.
8. *Абросимов В.К., Страхов А.Н.* В: *Экспериментальные методы химии растворов: денсиметрия, вискозиметрия, кондуктометрия и другие методы. (Сер. "Проблемы химии растворов")* / Под ред. А.М. Кутепова. – М.: Наука, 1997. – С. 215 – 255.
9. *Абросимов В.К., Сибрина Г.В.* Растворимость аргона в водных растворах α -аминокислот различной концентрации при 238—328 К. – М., 1986. – Деп. в ВИНТИ 06.11.86, № 7581-В 86.
10. *Quantities, Units and Symbols in Physical Chemistry (Green Book of IUPAC phys. chem. div.), 2nd ed.* – Oxford: Blackwell Science Ltd., 1993.
11. *Glossary of terms related to solubility (IUPAC Recommendation 2008)* // *Pure Appl. Chem.* – 2008. – **80**, N 2. – P. 233 – 276.
12. *Баделин В.Г., Абросимов В.К.* // *Журн. физ. химии.* – 2000. – **74**, № 3. – С. 418 – 421.
13. *Абросимов В.К., Лебедева Е.Ю.* // *Журн. структур. химии.* – 2012. – **53**, № 3. – С. 493 – 500.
14. *Standard quantities in chemical thermodynamics* // *Pure Appl. Chem.* – 1994. – **66**, N 3. – P. 533 – 552.
15. *Абросимов В.К., Крестов Ал.Г.* В: *Достижения и проблемы теории сольватации. Структурно-термодинамические аспекты. (Сер. "Проблемы химии растворов")* / Под ред. А.М. Кутепова. – М.: Наука, 1998. – С. 5 – 20.
16. *Leyendekkers J.V.* // *J. Phys. Chem.* – 1986. – **90**. – P. 5449 – 5455.
17. *Spink Ch.H., Auker M.* // *J. Phys. Chem.* – 1970. – **74**. – P. 1742 – 1747.
18. *Абросимов В.К., Сибрина Г.В.* // *Журн. структур. химии.* – 1990. – **31**, № 3. – С. 60 – 65.
19. *Desnoyers J.E.* // *Pure Appl. Chem.* – 1982. – **54**. – P. 1464 – 1478.