

УДК 539.2+543.422+544.142.4+547.466

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ИК СПЕКТРЫ
КРИСТАЛЛИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ, ДИПЕПТИДОВ И ПОЛИАМИНОКИСЛОТ.
V. L-СЕРИЛГЛИЦИН**© 2009 Г.Б. Чернобай^{1,2}, Ю.А. Чесалов^{1,3*}, Е.В. Болдырева^{1,2}¹НОЦ "МДЭБТ", Новосибирский государственный университет²Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск³Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Новосибирск

Статья поступила 1 декабря 2008 г.

С доработки — 24 февраля 2009 г.

Исследованы ИК спектры L-серилглицина ($\text{H}_3^+\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2-\text{OH})-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COO}^-$), зарегистрированные в интервале температур 413—93 К, и предложено отнесение наблюдаемых частот. На основании полученных данных сделано заключение об изменении прочности водородных связей в структуре при варьировании температуры. Выводы сопоставлены с результатами ИК-спектроскопических исследований кристаллов α -глицилглицина, DL-серина и глицина в аналогичных условиях.

Ключевые слова: пептидная связь, дипептиды, L-серилглицин, водородная связь, ИК спектроскопия.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время вышло много работ, посвященных описанию структур кристаллов дипептидов [1—11]. Интерес к данным объектам, в основном, вызван возможностью образования молекулами дипептидов систем наноразмерных трубок: гидрофильные и гидрофобные части нескольких молекул взаимодействуют между собой с образованием полостей. В некоторых случаях размер полостей достаточен для того, чтобы в них входили молекулы растворителя, причем диаметр полости можно регулировать за счет варьирования боковых заместителей в исходных дипептидах [1—3]. Дипептиды, не образующие нанополостей, а кристаллизующиеся в цепочечные и слоистые структуры, также представляют большой интерес, в частности, как модели β -складок белков. В предыдущей публикации [12] нами были подробно описаны ИК спектры простейшего дипептида α -глицилглицина, измеренные в широком интервале температур. В продолжение этой работы были исследованы в аналогичных условиях ИК спектры другого дипептида — L-серилглицина. Фрагменты $-(\text{ser-gly})-$ встречаются в структурах многих природных волокон и важных ферментов [13, 14].

В отличие от α -глицилглицина [15], в кристалле L-серилглицина, как и в кристаллах многих дипептидов [16], не образуются водородные связи между фрагментами пептидных групп N—H и C=O соседних цвиттер-ионов, характерные для белков и пептидов: фрагмент N—H связан с фрагментом O—H аминокислотного остатка. Интересно отметить, что в единственной работе по определению кристаллической структуры данного дипептида [17] утверждается, что фрагмент C=O не участвует в образовании системы водородных связей. Проведенный нами независимый анализ структурных данных статьи [17] при помощи программы Mercury [18] показал, что расстояние N...O между NH_3^+ и C=O соседних цвиттер-ионов составляет примерно

* E-mail: chesalov@ngs.ru

2,99 Å, при этом угол N—H...O примерно равен 103°, а следовательно, данный контакт можно отнести к слабой водородной связи. Отсутствие его в списке водородных связей в статье [17], скорее всего, объясняется тем, что данная работа была выполнена в 1978 г, когда использовались более жесткие геометрические критерии существования водородных связей [19].

В структуре L-серилглицина присутствуют также водородные связи между ионизованными концевыми группами, которые характерны для кристаллов аминокислот [20]. При этом данные водородные связи образуют трехмерную водородную сетку, наподобие сетки в кристалле β-полиморфной модификации глицина [21]. Кроме того, в кристалле L-серилглицина присутствуют водородные связи между гидроксильной и ионизованной карбоксильной группами, которые образуются также в кристалле серина DL-формы [22].

Насколько нам известно, кристаллы L-серилглицина не были ранее изучены методами колебательной спектроскопии. В настоящей статье описан ИК спектр кристаллического L-серилглицина при комнатной температуре, а также его изменения при охлаждении в интервале температур 413—93 К. На основании полученных данных сделано заключение об изменении прочности водородных связей в структуре L-серилглицина при охлаждении. Результаты сравнили с ранее полученными данными ИК-спектроскопических исследований кристаллов β-глицина [23], DL-серина [24] и α-глицилглицина [12] в аналогичных условиях.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для исследований был использован реактив L-серилглицина (ICN Biomedicals [637-63-8], химическая чистота 99 %), который не подвергался дополнительной очистке. Чистоту фазового состава реактива проверили методом рентгенофазового анализа на порошковом дифрактометре с двухкоординатным детектором GADDS D8 Bruker, $\text{CuK}\alpha$, 2Θ 10—40°. В качестве матрицы при регистрации ИК спектров использовали BaF_2 (химическая чистота — ос.ч.). Смесь порошков L-серилглицина и BaF_2 в весовом соотношении 1:5 отпрессовали до образования тонких пластинок. Пластины исследовали с использованием просвечивающего ИК микроскопа UMA-400 (фирма Varian) ИК спектрометра Digilab Excalibur 3100. ИК спектры регистрировали в диапазоне частот 4000—600 см^{-1} при разрешении 4 см^{-1} . Для нагревания и охлаждения образцов использовали столик переменной температуры FTIR 600 фирмы Linkam с программатором температур (исследованный в данной работе температурный интервал 413—93 К, шаг по температуре 20 К, точность определения температуры 0,1 К).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как уже упоминалось, данные по колебательным спектрам L-серилглицина не были ранее опубликованы, поэтому нами было проведено отнесение наблюдаемых частот с учетом данных по колебательным спектрам форм глицина, DL-серина и α-глицилглицина [12, 23, 24]. Общий вид ИК спектра L-серилглицина, зарегистрированного при комнатной температуре, а также значения и отнесение частот колебаний представлены на рис. 1 и в табл. 1 соответственно.

При охлаждении в спектре наблюдается смещение максимумов поглощения (см. табл. 1) и уменьшение полуширины полос поглощения (п.п.), что приводит к некоторому усложнению спектра. Наибольшие изменения при понижении температуры, как и следовало ожидать, претерпевают п.п. колебаний групп, которые участвуют в образовании системы водородных связей (рис. 2, табл. 2): пептидной и гидроксильной групп и ионизованной аминогруппы.

Полосы поглощения валентных колебаний N—H пептидной группы (3237 см^{-1}) и группы NH_3^+ (3178 см^{-1}) при охлаждении в интервале 413—93 К смещаются в область более низких частот на 24 и 10 см^{-1} соответственно (рис. 3, а, б), что свидетельствует об упрочнении водородных связей с участием данных групп.

Полосы поглощения валентных колебаний ОН-группы должны находиться в области ниже 3100 см^{-1} и перекрываться с п.п. валентных колебаний С—Н, обертонов и составных частот. Причины будут обсуждены ниже.

Полосы поглощения амид I (преимущественно валентные колебания C=O) — 1680 см^{-1} и амид II (плоскостные деформационные колебания N—H, смешанные с валентным колебанием

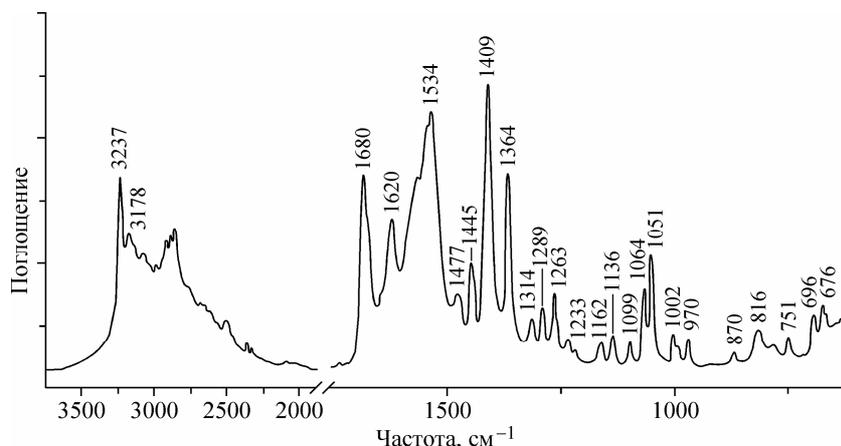


Рис. 1. ИК спектр L-серилглицина, зарегистрированный при комнатной температуре

CN) — 1542 и 1534 см^{-1} . При охлаждении положение максимума п.п. амид I практически не меняется, но форма п.п. усложняется: становится заметным плечо примерно при 1670 см^{-1} . В случае колебаний амид II полоса поглощения смещается на 6 см^{-1} в область больших частот и проявляется компонента данного колебания с частотой 1526 см^{-1} (при 93 К).

Частоты деформационных колебаний аминогруппы: асимметричных (1620 см^{-1}) и симметричных (1477 см^{-1}) при варьировании температуры в интервале $413\text{—}93\text{ К}$ увеличиваются на 6 и 10 см^{-1} соответственно. Это подтверждает предположение об упрочнении водородных связей, в образовании которых участвует NH_3^+ -группа, при понижении температуры.

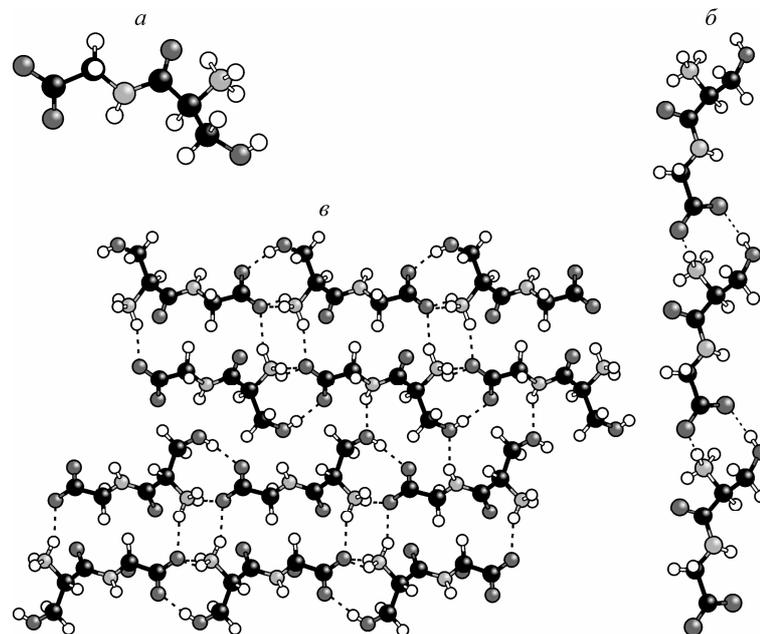
Т а б л и ц а 1

Частоты, см^{-1} и отнесение полос поглощения при комнатной температуре в ИК спектре L-серилглицина, а также их смещение Δ , см^{-1} при охлаждении в интервале температур $413\text{—}93\text{ К}$ (отрицательное изменение частоты—уменьшение частоты при охлаждении)

Отнесение	$\nu(T_{\text{комн}})$	$\Delta(\nu_{93\text{К}} - \nu_{413\text{К}})$, см^{-1}	Отнесение	$\nu(T_{\text{комн}})$	$\Delta(\nu_{93\text{К}} - \nu_{413\text{К}})$, см^{-1}
$\nu(\text{NH})_{\text{непг}}$	3237	-24	$\rho(\text{NH}_3^+)$	1162	6
$\nu(\text{N}^+\text{H})$	3178	-10		1135	8
Амид I	1680	2	$\nu(\text{CO})$,	1099	4
$\delta_{\text{ас}}(\text{NH}_3^+)^*$	1620	6	$\nu(\text{CCN})$,	1064	3
$\nu_{\text{ас}}(\text{COO})^*$	1562	3	$\gamma(\text{CH}_2)$,	1051	2
Амид II*	1542	3	$\gamma(\text{OH})$,	1002	3
	1534	6	Амид V	995	5
$\delta_s(\text{NH}_3^+)$	1477	10		970	3
$\delta(\text{CH}_2)^*$	1445	4		870	6
$\nu_s(\text{COO})$	1409	4		816	20
$w(\text{CH}_2)$,	1364	2		781	10
$\tau(\text{CH}_2)$,	1314	2		751	6
$\delta(\text{CH})$,	1289	2	$\delta(\text{COO})$	696	5
Амид III,	1263	3		$\rho(\text{COO})$	676
$\delta(\text{COH})$	1233	6			
	1218	3			

* Усложнение контура п.п. и проявление второй компоненты колебаний при охлаждении.

Рис. 2. Цвиттер-ион L-серилглицина — *a* и упаковка и межмолекулярные водородные связи в кристалле: *б* — цепочка вдоль оси *b*, *в* — слой-проекция *bc*



Частоты маятниковых колебаний ионизованной аминогруппы 1162 и 1135 см^{-1} также увеличиваются при понижении температуры на 6 и 8 см^{-1} соответственно.

Полосы поглощения 816 и 781 см^{-1} в аналогичных условиях смещаются на 20 и 10 см^{-1} соответственно (см. рис. 3, *в*, *з*). Поэтому можно предположить, что в данные п.п. вносят вклад колебания амид V (преимущественно внеплоскостное колебание N—H) и внеплоскостные колебания OH-группы. Следовательно, водородные связи, в которых участвует гидроксильная группа, также упрочняются при охлаждении.

Остальные п.п. в ИК спектре L-серилглицина при охлаждении в интервале 413 — 93 К смещаются в область больших частот на 2 — 6 см^{-1} .

Было проведено сравнение полученных данных с результатами исследований ИК спектров кристаллов аминокислот, из которых состоит данный дипептид, с теми их формами, в которых образуется система водородных связей, аналогичная системе L-серилглицина: DL-серина и β -формы глицина, а также ИК спектра простейшего дипептида — α -глицилглицина с иной системой водородных связей. Частоты полос поглощения в ИК спектрах вышеперечисленных веществ при комнатной температуре приведены в табл. 3.

Частота $\nu(\text{N—H})$ пептидной группы L-серилглицина при комнатной температуре заметно ниже, чем α -глицилглицина (см. табл. 3), хотя соответствующее расстояние N...O в L-серилглицине на $0,04\text{ \AA}$ больше (см. табл. 2). Это, вероятно, связано с более коротким внутримолекулярным контактом между атомом N пептидной группы и атомом O ионизованной карбоксильной группы: соответствующее расстояние N...O для L-серилглицина короче примерно на

Т а б л и ц а 2

Расстояние между донором и акцептором протона D...A для водородных связей в кристаллах L-серилглицина, α -глицилглицина, DL-серина и β -глицина

D(H)...A	<i>l</i> , Å			
	L-sergly [17]	α -glygly [15]	DL-ser [22]	β -gly [21]
O(—H)...O(OC)	2,62	—	2,6772(19)	—
H ₂ N ⁺ (H)...O(OC)	2,78	2,727(2)	2,8789(19)	2,7626(11)
	3,04	2,783(3)	2,8220(18)	2,8509(13)
	2,81	2,7435(19)		2,9795(15)
				2,9785(13)
N—(H) _{пепт} ...O(—H)	3,00	—	—	—
H ₂ N ⁺ (H)...O(—H)	—	—	2,7741(18)	—

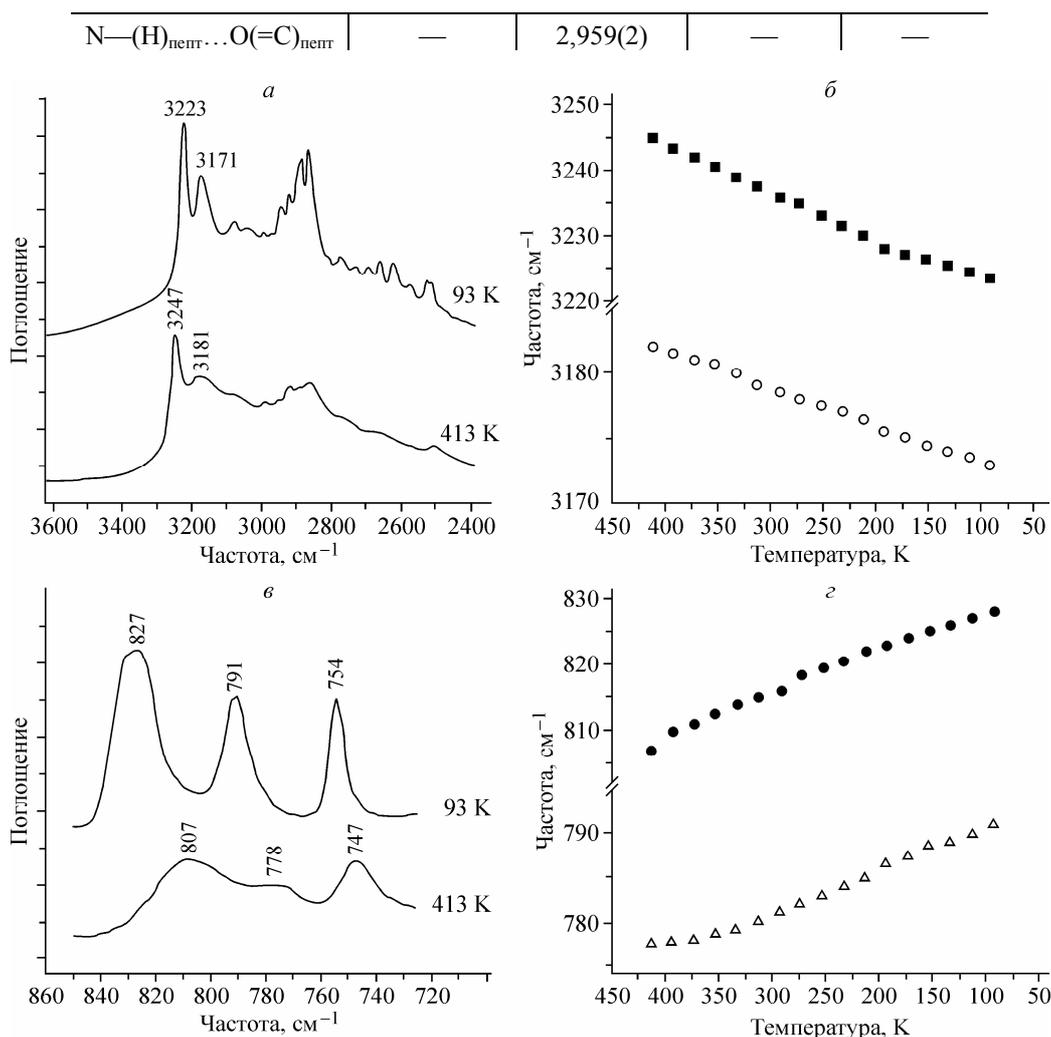


Рис. 3. Изменения в ИК спектре L-серилглицина при охлаждении в интервале температур 413—93 К в области 3600—2400 см⁻¹ (а) и 860—700 см⁻¹ (в), а также зависимость частот валентных колебаний N—H (б), амид V и γ(OH) (г) от температуры

0,086 Å. При этом п.п. $\nu(\text{N—H})$ в ИК спектре L-серилглицина менее чувствительна к температуре, чем в спектре α -глицилглицина: соответствующие частоты уменьшаются при охлаждении на 10 и 15 см⁻¹ соответственно.

В ИК спектре L-серилглицина п.п. колебаний амид I наблюдаются примерно на 10 см⁻¹ выше, чем в случае α -глицилглицина, что не подтверждает и не опровергает изложенное выше (см. введение) предположение об образовании в данной структуре слабой водородной связи $\text{NH}_3^+ \dots \text{O=C}$.

Полоса поглощения ионизованной аминогруппы наблюдается в ИК спектре при 3178 см⁻¹, причем при комнатной температуре значение частоты валентных колебаний ионизованной аминогруппы близко к частотам колебаний этого же типа в ИК спектре β -глицина, в котором водородные связи также образуют трехмерную сетку (см. табл. 3).

Цвиттер-ионы в L-серилглицине соединяются в цепочки посредством водородных связей $\text{N—H} \dots \text{O}$ между ионизованными концевыми группами, а также водородных связей $\text{O—H} \dots \text{O}$ между гидроксильной и ионизованной карбоксильной группами. Аналогичные цепочки присутствуют в кристалле DL-серина. В ИК спектрах обоих веществ п.п. валентных колебаний гидроксильной группы находятся ниже 3100 см⁻¹. Ранее в [25] были описаны исследования

и теоретические расчеты DL-серина, согласно которым частота $\nu(\text{OH})$ равна 2905 см^{-1} . Расстояние $\text{O}\dots\text{O}$ в кристалле L-серилглицина несколько меньше, чем в кристалле DL-серина

Т а б л и ц а 3

Частоты колебаний групп, участвующих в образовании системы водородных связей, и их отнесение для ИК спектров L-серилглицина, α -глицилглицина, DL-серина и β -глицина при комнатной температуре

Отнесение	ν			
	L-серилглицин	α -глицилглицин [12]	DL-серин [24]	β -глицин [23]
$\nu(\text{NH})_{\text{пепт}}$	3237	3287	—	—
$\nu(\text{N}^+\text{H})$	3178	~3056	<3100	3188
Амид I	1680	1673 1659	—	—
$\delta_{\text{ас}}(\text{NH}_3^+)$	1620	1629, 1580, 1550	1657, 1650, 1639, 1619	1655
$\nu_{\text{ас}}(\text{COO})$	1562	1600	1580	1606
Амид II	1542	—	—	—
	1534	1533	—	—
$\delta_{\text{с}}(\text{NH}_3^+)$	1477	1494	1511	1562, 1543, 1526
$\nu_{\text{с}}(\text{COO})$	1409	1409	1434	1416
$\gamma(\text{CH}_2)$	1289	—	—	—
$\delta(\text{COH})$	1263	1253	1248	—
	1233	1234	—	—
	1218	—	—	—
$\rho(\text{NH}_3^+)$	1162	1158	1182	1135
	1135	1135	1163	1120
			1151	
$\nu(\text{C—O})$	1099	—	1095	—
$\gamma(\text{OH})$	816	713	729	—
Амид V	781			
	751			
$\delta(\text{COO})$	696	734	629	704
$\rho(\text{COO})$	676	663	—	—

(см. табл. 2), а значит, скорее всего, частота валентных колебаний гидроксильной группы будет ниже. При этом п.п. внеплоскостных деформационных колебаний гидроксильной группы находятся примерно при 780 см^{-1} , что более чем на 50 см^{-1} выше частоты данного колебания в кристалле DL-серина. Интересно отметить, что заметные различия в частоте внеплоскостных колебаний O—H наблюдались также для ранее исследованных DL- и L-форм серина: в случае L-серина, в кристалле которого образуются гораздо более слабые водородные связи $\text{O—H}\dots\text{O}$, п.п. внеплоскостных колебаний гидроксильной группы находятся в области $435\text{—}480 \text{ см}^{-1}$ [26]. Следовательно, можно предположить, что частота данных колебаний достаточно хорошо отражает качественное различие энергий водородных связей с участием OH -группы в кристаллах аминокислот и дипептидов.

Частоты асимметричного и симметричного валентных колебаний COO^- для L-серилглицина меньше, чем для DL-серина, что также свидетельствует о большей прочности водородных связей с участием группы COO^- и согласуется с геометрическими данными.

ВЫВОДЫ

Впервые зарегистрированы ИК спектры L-серилглицина при 413—93 К и проведено отнесение наблюдаемых частот.

Система водородных связей в кристалле L-серилглицина по структуре и свойствам очень близка к системе в кристалле DL-серина. Так, например, в кристаллах обоих веществ образуются связи O—H...OOC. В случае L-серилглицина эти связи более прочные, что подтверждается данными ИК-спектроскопических и рентгеноструктурных исследований.

При охлаждении в ИК спектре L-серилглицина наблюдается смещение максимумов полос поглощения, наибольшие изменения при этом претерпевают п.п., которые относят к колебаниям пептидной группы и ионизованной аминогруппы. На основании вышеописанных результатов эксперимента можно предположить, что при охлаждении происходит упрочнение всех водородных связей в структуре кристалла.

Хотя, согласно геометрическим параметрам, в структуре L-серилглицина возможно образование водородной связи C=O пептидной группы с ионизованной аминогруппой, в данных экспериментальных условиях не удалось найти доказательства наличия или отсутствия данной водородной связи в кристалле.

Авторы благодарят А.Ф. Ачкасова за помощь в проведении экспериментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта CRDF и Минобразования Российской Федерации (REC-008 NO-0008-X1), гранта Российского фонда фундаментальных исследований 05-03-32468, Интеграционных проектов СО РАН № 49 и № 110, а также программы РАН "Супрамолекулярная химия".

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gorbitz C.H., Etter M.C. // *Int. J. Pept. Protein Res.* – 1992. – **39**. – P. 93.
2. Gorbitz C.H. // *Chem. Eur. J.* – 2001. – **7**, N 23. – P. 5153.
3. Gorbitz C.H. // *New J. Chem.* – 2003. – **27**. – P. 1789.
4. Guillot R., Muzet N., Dahaoui S. et al. // *Acta Crystallogr.* – 2001. – **B57**. – P. 567.
5. Netland K.A., Andresen K., Gorbitz C.H., Dalhus B. // *Ibid.* – 2004. – **E60**. – P. o951.
6. Moen A., Froseth M., Gorbitz C.H., Dalhus B. // *Ibid.* – 2004. – **C60**. – P. o564.
7. Soldatov D.V., Moudrakovski I.L., Grachev E.V., Ripmeester J.A. // *J. Amer. Chem. Soc.* – 2006. – **128**. – P. 6737.
8. Helle I.H., Lokken C.V., Gorbitz C.H., Dalhus B. // *Acta Crystallogr.* – 2004. – **C60**. – P. o771.
9. Cheng F., Sun H., Zhang Y. et al. // *J. Amer. Chem. Soc.* – 2005. – **127**. – P. 12544.
10. Stievater T., Srikrishnan T. // *J. Chem. Cryst.* – 2005. – **35**. – P. 529.
11. Bombicz P., Dittrich B., Strumpel M. et al. // *Acta Crystallogr.* – 2000. – **C56**. – P. 1447.
12. Chernobay G.B., Chesalov Y.A., Boldyreva E.V. // *J. Struct. Chem. (Engl. Transl.)*. – 2008. – **49**, № 6. – P. 1012.
13. Stewart F.H.C. // *Austr. J. Chem.* – 1966. – **19**, N 3. – P. 489.
14. Lo Th.W.C., Thornalley P.J. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* – 1992. – P. 639.
15. Biswas A.B., Hughes E.W., Sharma B.D., Wilson J.N. // *Acta Crystallogr.* – 1968. – **24B**. – P. 40.
16. Cambridge Structural Database. Version 5.26. University of Cambridge, UK.
17. Jones P.G., Falvello L., Kennard O. // *Acta Crystallogr.* – 1978. – **B34**. – P. 2379.
18. Mercury 1.3. – UK, The Cambridge Crystallographic Data Centre, copyright 2001-2004-free version.
19. Steiner T. // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2002. – **41**. – P. 48.
20. Suresh C.G., Vijayan M. // *Int. J. Peptide Protein Res.* – 1983. – **22**. – P. 129.
21. Boldyreva E.V., Drebuschak T.N., Shutova E.S. // *Z. Kristallogr.* – 2003. – **218**. – S. 366.
22. Kistenmacher T.J., Rand G.A., Marsh R.E. // *Acta Crystallogr.* – 1974. – **B30**. – P. 2573.
23. Chernobai G.B., Chesalov Y.A., Burgina E.B. et al. // *J. Struct. Chem. (Engl. Transl.)*. – 2007. – **48**, N 2. – P. 332.
24. Chernobay G.B., Chesalov Y.A., Boldyreva E.V. // *Ibid.* – 2008. – **49**, N 4. – P. 627.
25. Jarmelo S., Reva I., Rozenberg M. et al. // *Vibr. Spectr.* – 2006. – **41**, N 1. – P. 73.
26. Jarmelo S., Reva I., Carey P.R., Fausto R. // *Ibid.* – 2007. – **43**. – P. 395.