

УДК 543.421/.424:[577.112.383.2 + 577.112.383.5]

ВЛИЯНИЕ ГИДРОФИЛЬНОСТИ ЦВИТТЕР-ИОННЫХ ФОРМ СЕРИНА И ТРЕОНИНА НА КОЛЕБАТЕЛЬНЫЕ СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ**¹Щербакова Н.Е., ²Тен Г.Н., ³Баранов В.И.**¹*Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, e-mail: hainl@yandex.ru;*²*Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, e-mail: TenGN@yandex.ru;*³*Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва*

Выполнен расчёт частот и интенсивностей полос поглощения ИК-спектров цвиттер-ионных форм серина и треонина для водного раствора, учитывающий взаимодействие с водой двумя методами: методом учёта влияния сил Ван-дер-Ваальса (модель самосогласованного реактивного поля SCRF) и методом образования водородных связей между серином, треонином и молекулами воды. Сравнение экспериментальных спектров серина и треонина, измеренных в водном растворе, с теоретическими ИК-спектрами показывает, что спектры находятся в хорошем согласии только в том случае, если применяются одновременно оба метода, что является результатом проявления их гидрофильности. При образовании комплексов наблюдаются конформационные изменения серина и треонина, связанные с уменьшением CC , CN^+ и увеличением CO длин связей на 0,3%, а также изменением на 3–5 град валентных углов. Значения длин водородных связей, как для серина, так и треонина, имеют характерные значения для биполярной и карбоксильной группы и равны 2,86, 2,74 и 2,80 Å для $N^+H \dots O_w$, $O \dots HO_w$ и $OH \dots O_w$ соответственно. Влияние водородных связей на колебательные ИК-спектры серина и треонина приводит к уменьшению интенсивности полос поглощения, относящихся к валентным колебаниям $\nu(COO^-)$, а также смещению в высокочастотную область частот деформационных колебаний $\delta(N^+H_3)$.

Ключевые слова: серин, треонин, водный раствор, метод самосогласованного реактивного поля, комплексы с молекулами воды, ИК колебательный спектр, интерпретация, гидрофильность

THE EFFECT OF HYDROPHILITY OF ZWITTERIONIC-IONIC FORMS OF SERINE AND THREONINE ON THE VIBRATIONAL ABSORPTION SPECTRUM**¹Scherbakova N.E., ²Ten G.N., ³Baranov V.I.**¹*Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, e-mail: hainl@yandex.ru;*²*N.G. Chernyshevskiy Saratov State University, Saratov, e-mail: TenGN@yandex.ru;*³*V.I. Vernadskiy Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow*

Carried out was calculation of frequencies and intensities of the absorption bands of IR spectra of serine and threonine zwitterionic-ionic forms for the aqueous solution, taking into account the interaction with water by two methods: the method of accounting the influence of the Van der Waals forces (model of self-consistent reaction field SCRF) and the method of formation of hydrogen bonds between serine, threonine and water molecules. Comparison of the experimental spectra of serine and threonine, measured in an aqueous solution, with the theoretical IR spectra shows that the spectra are in good agreement only if both methods are applied simultaneously, that is the result of their hydrophilicity. The formation of complexes with observed conformational changes of serine and threonine is associated with a decrease in SS , SP^+ and an increase in the CO bond lengths of 0.3 % and a variation on 3–5 degrees of valence angles. Values of the lengths of the hydrogen bonds for serine and threonine are typical values for bipolar and carboxyl groups and are equal to 2,86, 2,74 and 2,80 Å for $N^+H \dots O_w$, $O \dots HO_w$ and $OH \dots O_w$, respectively. The influence of hydrogen bonds on the vibrational IR spectra of serine and threonine leads to decrease in the intensity of the absorption bands related to the stretching vibrations $\nu(COO^-)$ and offset of the frequency of deformation vibrations $\delta(N^+H_3)$ in the high-frequency region.

Keywords: serine, threonine, aqueous solution, self-consistent reaction field method, complexes with water molecules, the IR vibrational spectrum, interpretation, hydrophilicity

Многие свойства и функции аминокислот (АК) зависят от их способности взаимодействовать с водой. Одни из АК легко образуют различные комплексы с молекулами воды, структура других, напротив, содержит различные молекулярные фрагменты (гидрофобные группы), препятствующие взаимодействию АК с водой. Именно гидрофильность или гидрофобность АК, характеризующие их сродство к воде, играют определяющую роль в таких важных процессах жизнедеятельности, как усвоение

аминокислот и выведение продуктов реакции из организма, а также обеспечивают сворачиваемость белков [1–3].

Важным аспектом исследования АК в водном растворе является их структура. Как известно, в водном растворе АК в соответствии со своей амфотерной природой могут иметь разную ионную форму при разных рН. Поскольку в нейтральном водном растворе все АК, независимо от их гидрофильности или гидрофобности, имеют цвиттер-ионную форму, то возникает

необходимость определить, как гидрофильность влияет на колебательные спектры АК.

Для решения этой задачи необходимо в первую очередь определить, какой использовать метод для анализа гидрофильности вещества. В настоящее время существуют различные экспериментальные и теоретические методы исследования этого свойства. В частности, предлагаются различные статистические модели расчета гидрофобной и гидрофильной гидратации, методы молекулярной динамики для исследования структурных и энергетических характеристик гидратации вещества, используется методика расчёта энергии сольватации малых гидрофобных частиц и вычисления потенциала их взаимодействия и т.д. [4].

Несомненно, спектральные методы являются одними из самых широко используемых традиционных методов исследования взаимодействия вещества с водой. Межмолекулярное взаимодействие вещества с водой приводит к смещению частот валентных колебаний, участвующих в образовании водородных связей, и изменению интенсивности соответствующих полос поглощения.

Цель данной работы – определить влияние гидрофильности на колебательные спектры цвиттер-ионных форм серина (Ser) и треонина (Thr).

Метод расчёта

Оптимизация структуры АК и их комплексов с молекулами воды, а также расчёт колебательных спектров проводился по программе Gaussian-09 с использованием метода DFT в приближении B3LYP и базисного набора 6-311++g(d,p) [5].

Для характеристики межмолекулярного взаимодействия (ММВ) можно использовать два метода: метод эффективного учёта ММВ (например, с помощью модели самосогласованного реактивного поля SCRF), либо непосредственный учёт ММВ, который предполагает образование молекулярных комплексов АК с молекулами воды. Цвиттер-ионные формы всех АК, независимо от их гидрофобности или гидрофильности, стабилизируются первым методом. При этом для алифатических аминокислот, а также цистеина и метионина, обладающих свойством гидрофобности, наблюдается хорошее согласие экспериментальных и вычисленных колебательных спектров. Очевидно, что для АК, обладающих свойством гидрофильности, возможно образование водородных связей с молекулами воды, что окажет влияние на колебательные спектры и при-

ведёт к значительному изменению спектров по сравнению со спектрами, вычисленными только с помощью метода эффективного учёта ММВ. Основным критерий проявления гидрофильности цвиттер-ионных форм Ser и Thr в водном растворе сравнение вычисленных и экспериментальных колебательных спектров рассматриваемых АК.

Результаты исследования и их обсуждение

Наиболее целесообразно выполнять расчёт ИК-спектров Ser и Thr, поскольку спектры КР менее чувствительны к проявлению водородных связей. Кроме того, анализ проявления гидрофильности ограничить спектральной областью 600–1700 см⁻¹, что связано с наличием экспериментальных колебательных спектров водных растворов Ser и Thr для этой области. Большинство колебаний в области 600–1700 см⁻¹ являются деформационными, которые значительно меньше подвержены влиянию водородных связей и для большинства молекул редко бывают характеристичными. Именно поэтому влияние водородных связей на колебательный спектр в рассматриваемой области будет иметь индивидуальный характер и давать однозначный ответ о характере взаимодействия Ser и Thr с молекулами воды.

Молекулярные диаграммы Ser и Thr, а также комплексы Ser с шестью (Ser:6w) и Thr с семью (Thr:7w) молекулами воды приведены на рис. 1.

Образование водородных связей между Ser, Thr и молекулами воды приводит к конформационному изменению АК. В комплексе Ser:6w наблюдается уменьшение СС, СN⁺ и увеличение СО⁻ длин связей на 0,3%; изменение валентных углов не превышает 3–5 град. Длины водородных связей N⁺H...O_w, O...HO_w и OH...O_w равны 2.86, 2.74 и 2.80 Å, соответственно. Для комплекса Thr:7w структурные изменения носят аналогичный характер.

Вычисленные в гармоническом приближении значения частот нормальных колебаний Ser и комплекса Ser:6w приведены в табл. 1.

Влияние водородных связей на колебательный ИК-спектр Ser приводит к следующим характерным изменениям:

- 1) наблюдается уменьшение интенсивности (в ~ 2 раза) полосы поглощения, относящейся к валентному колебанию ν(COO⁻);
- 2) частоты деформационных колебаний δ(N⁺H₃) смещаются в высокочастотную область на 150–200 см⁻¹.

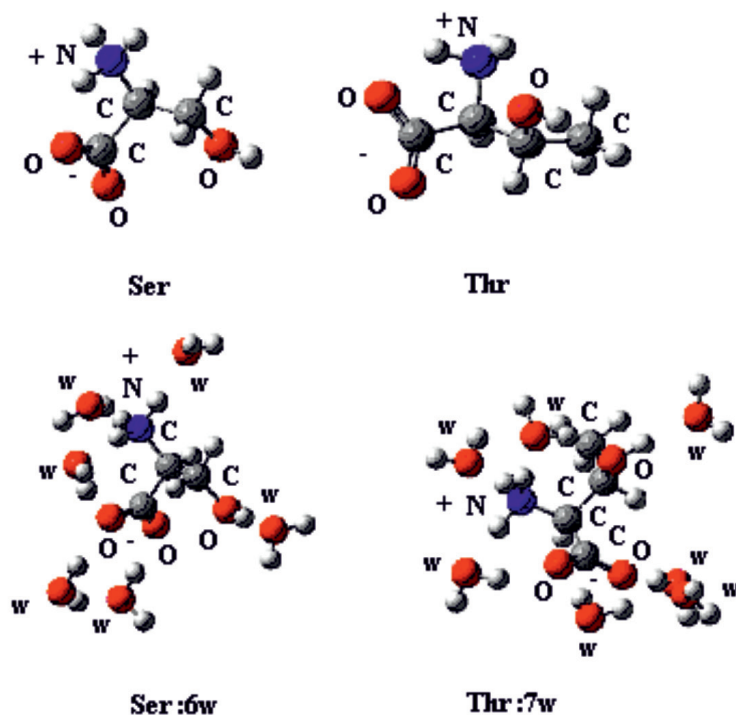


Рис. 1. Молекулярные диаграммы цвиттер-ионных форм Ser, Thr и комплексов Ser с 6 и Thr с 7 молекулами воды

Таблица 1

Вычисленные (ν_p , см^{-1}) значения частот и интенсивностей спектров ИК ($I_{\text{ИК}}$, км/моль) Ser и комплекса Ser:6w

№	Ser			Ser:6w		
	ν_p	$I_{\text{ИК}}$	Отнесение	ν_p	$I_{\text{ИК}}$	Отнесение
10	667	15,2	$\delta(\text{CCN}^+)$	634	26,3	$\delta(\text{CCN}^+)$
11	764	9,0	$\omega(\text{COO}^-)$	775	127,2	$\tau(\text{COH})$
12	833	97,0	$\tau(\text{COH})$	785	49,1	$\omega(\text{COO}^-)$
13	934	57,9	$\nu(\text{C-C})$	993	21,1	$\nu(\text{C-C})$
14	976	53,2	$\nu(\text{CN}^+)$	1000	13,4	$\nu(\text{CN}^+)$
15	1027	49,2	$\omega(\text{CH}_2)$	1046	23,0	$\omega(\text{N}^+\text{H}_3)$
16	1088	87,5	$\nu(\text{CO})$	1090	42,8	$\nu(\text{CO})$
17	1100	56,7	$\omega(\text{N}^+\text{H}_3)$	1169	17,2	$\tau(\text{N}^+\text{H}_3)$
18	1139	30,5	$\tau(\text{N}^+\text{H}_3)$	1195	9,0	$\omega(\text{CH}_2)$
19	1255	1,1	$\tau(\text{CH}_2)$	1249	8,7	$\delta(\text{COH})$
20	1273	69,4	$\delta(\text{COH})$	1328	83,4	$\tau(\text{CH}_2)$
21	1325	126,0	$\nu(\text{COO}^-)$ sym	1342	76,1	$\delta(\text{CH}_2)$ asym
22	1353	89,4	$\delta(\text{CH}_2)$ asym	1380	73,7	$\delta(\text{CH})$
23	1358	61,9	$\delta(\text{CH})$	1405	68,5	$\nu(\text{COO}^-)$ sym
24	1428	526,6	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$ sym	1477	15,1	$\omega(\text{CH}_2)$
25	1475	30,0	$\omega(\text{CH}_2)$	1510	6,1	$\delta(\text{CH}_2)$ sym
26	1520	5,2	$\delta(\text{CH}_2)$ sym	1596	114,4	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$ sym
27	1623	114,4	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$ asym	1655	374,1	$\nu(\text{COO}^-)$ asym
28	1665	47,9	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$ asym	1724	28,7	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$ asym
29	1670	736,8	$\nu(\text{COO}^-)$ asym	1733	54,3	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$ asym

Примечание: ν – валентные колебания связи; δ – деформационные колебания; ω – веерные, τ – крутильные колебания.

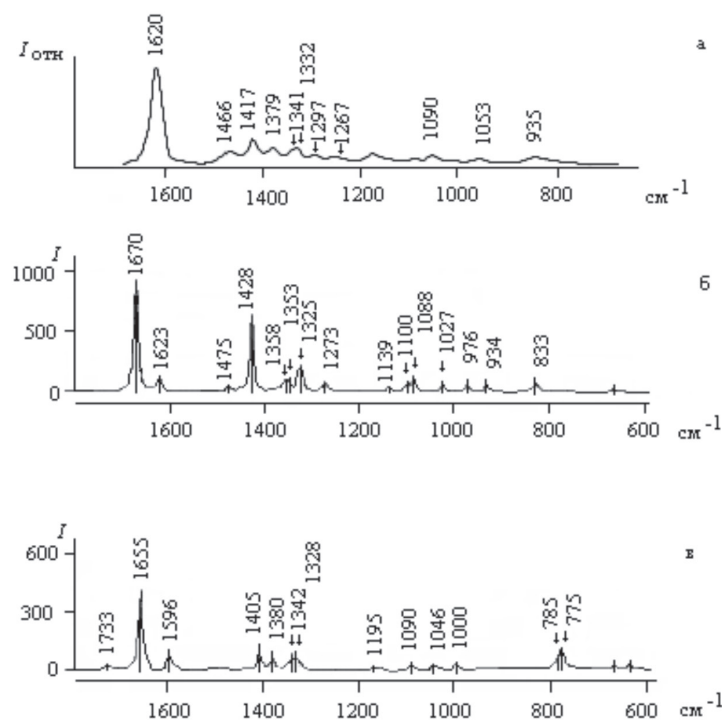


Рис. 2. Экспериментальный (а) [б] и вычисленные ИК-спектры Ser (б) и комплекса Ser:6w (в) в водном растворе

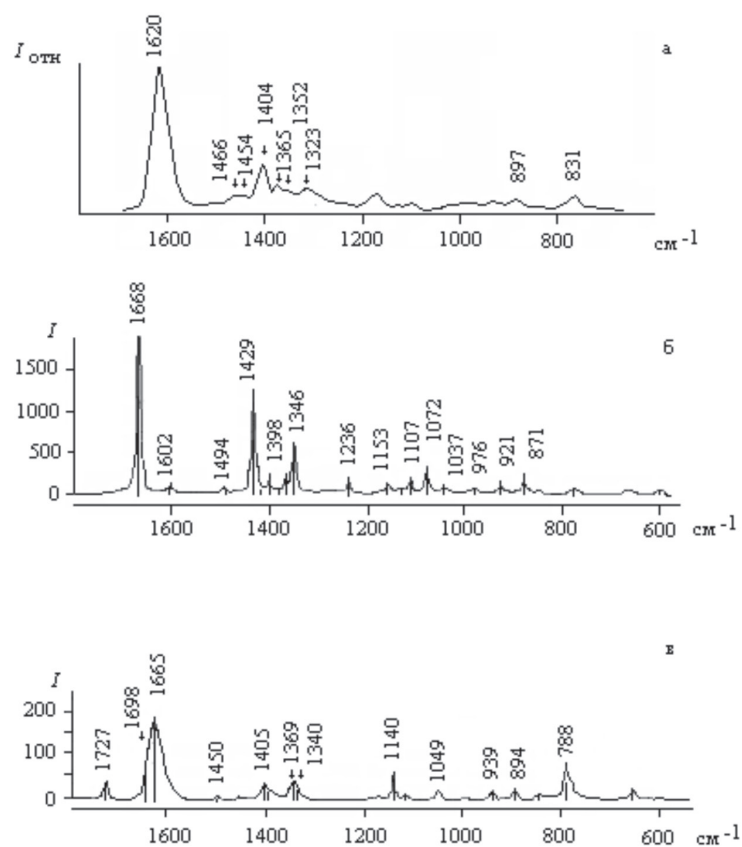


Рис. 3. Экспериментальный (а) [б] и вычисленные ИК-спектры Thr (б) и комплекса Thr:7w (в) в водном растворе

Таблица 2

Вычисленные (ν , см^{-1}) значения частот и интенсивностей спектров ИК ($I_{\text{ИК}}$, км/моль) Thr и комплекса Thr:7w

№	Thr			Thr:7w		
	ν	$I_{\text{ИК}}$	Отнесение	ν	$I_{\text{ИК}}$	Отнесение
13	660	18,8	$\delta(\text{CCN}^+)$	651	31,1	$\delta(\text{CCN}^+)$
14	768	21,3	$\delta(\text{CCC})$	788	122,1	$\delta(\text{CCC})$
15	839	7,0	$\delta(\text{CCC})$	846	9,0	$\delta(\text{CCC})$
16	871	97,0	$\omega(\text{COO}^-)$	894	35,5	$\omega(\text{COO}^-)$
17	921	60,6	$\omega(\text{N}^+\text{H}_3)$	939	28,9	$\nu(\text{CN}^+)$
18	976	34,8	$\nu(\text{CN}^+)$	986	10,5	$\omega(\text{N}^+\text{H}_3)$
19	1037	43,4	$\nu(\text{C-C})$	1049	36,9	$\nu(\text{C-C})$
20	1072	121,6	$\tau(\text{COH})$	1114	14,5	$\tau(\text{COH})$
21	1107	67,4	$\tau(\text{N}^+\text{H}_3)$	1140	84,1	$\tau(\text{CH}_3)$
22	1124	32,0	$\tau(\text{CH}_3)$	1168	11,3	$\tau(\text{N}^+\text{H}_3)$
23	1153	52,0	$\nu(\text{CO})$	1186	11,2	$\nu(\text{CO})$
24	1236	65,8	$\delta(\text{COH})$	1295	6,3	$\delta(\text{CH})$
25	1285	4,4	$\delta(\text{CH})$	1340	30,8	$\delta(\text{COH})$
26	1346	278,3	$\nu(\text{COO}^-) \text{ sym}$	1369	40,0	$\delta(\text{CH})$
27	1364	65,5	$\delta(\text{CH})$	1376	20,5	$\nu(\text{COO}^-) \text{ sym}$
28	1382	22,8	$\delta(\text{CH})$	1402	23,1	$\delta(\text{CH})$
29	1398	73,5	$\omega(\text{CH}_2)$	1405	33,3	$\omega(\text{CH}_2)$
30	1416	20,0	$\delta(\text{CH}_3) \text{ sym}$	1450	13,3	$\delta(\text{CH}_3) \text{ sym}$
31	1429	510,5	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3) \text{ sym}$	1495	10,8	$\delta(\text{CH}_3) \text{ asym}$
32	1487	8,7	$\delta(\text{CH}_3) \text{ asym}$	1502	6,5	$\delta(\text{CH}_3) \text{ asym}$
33	1494	22,7	$\delta(\text{CH}_3) \text{ asym}$	1601	15,3	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3) \text{ sym}$
34	1602	53,6	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3) \text{ asym}$	1665	190,8	$\nu(\text{COO}^-) \text{ sym}$
35	1668	707,7	$\nu(\text{COO}^-) \text{ sym}$	1698	79,7	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3) \text{ asym}$
36	1670	85,7	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3) \text{ asym}$	1727	50,4	$\delta(\text{N}^+\text{H}_3) \text{ asym}$

Примечание: ν – валентные колебания связи; δ – деформационные колебания; ω – веерные, τ – крутильные колебания.

В результате образования водородных связей Ser с молекулами воды наблюдается изменение частот и интенсивностей полос поглощения по сравнению с частотами и интенсивностями ИК-спектра, вычисленного методом SCRF (рис. 2, б), что приводит к хорошему согласию с экспериментальным спектром Ser (рис. 2, а и в).

Результаты расчёта частот нормальных колебаний и интенсивностей полос поглощения ИК-спектра Thr и комплекса Thr:7w приведены в табл. 2.

Влияние внутримолекулярной водородной связи между полярной группой N^+H_3 и связью OH приводит к тому, что частота деформационного колебания $\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$ в спектре Thr выше частоты валентного $\nu(\text{COO}^-)$ колебания. Образование водород-

ных связей Thr с молекулами воды приводит к ещё большему (на $\sim 50\text{--}150 \text{ см}^{-1}$) смещению частот деформационных колебаний $\delta(\text{N}^+\text{H}_3)$ в высокочастотную область. Также, как и в спектре Ser, наблюдается уменьшение интенсивности полос поглощения, относящихся к валентному колебанию $\nu(\text{COO}^-)$, но оно более существенно от 3, 5 до 10 раз (табл. 2).

Изменения, наблюдающиеся в ИК-спектре комплекса Thr:7w (рис. 3, б, в), приводят к хорошему согласию с экспериментальным спектром Thr, измеренным для водного раствора (рис. 3, а).

Выводы

Таким образом, расчёт частот и интенсивностей ИК-спектров поглощения комплек-

сов гидроксиаминокислот показал, что при расчёте колебательных спектров Ser и Thr в водном растворе недостаточно выполнять расчёты только методом эффективного учёта ММВ. Необходимо одновременно использовать и метод эффективного учёта ММВ, и метод непосредственного учёта ММВ за счёт образования молекулярных комплексов АК с молекулами воды, что подтверждается хорошим согласием экспериментальных и вычисленных ИК-спектров Ser и Thr и является результатом их гидрофильности.

Список литературы

1. Гараев С.Н., Редкозубова Г.В., Постолати Г.В. Аминокислоты в живом организме. – Кишинев, 2009. – 552 с.
2. Кухта В.К., Морозкина Т.Е., Олецкий З.И., Таганович А.Д. Биологическая химия: учебник / под ред. А.Д. Тагановича. – М.: БИНОМ, 2008. – 688 с.
3. Parker F.S. Application of infrared spectroscopy in biochemistry, biology and medicine. – New York: Plenum press, 1971. – 483 p.
4. Чуев Г.Н., Соколов В.Ф. Оценка гидрофобного эффекта на основе метода функционала плотности среды // Биофизика. – 2006. – Т. 51, № 3. – С. 402–408.

5. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B. et al. Gaussian 09. Gaussian Inc., Wallingford CT. – 2009. – 394 p.

6. Hernández B., Pflüger F., Adenier A., Nsangou M., Kruglik S.G., Ghomi M. Energy maps, side chain conformational flexibility, and vibrational features of polar amino acids L-serine and L-threonine in aqueous environment // J. Chem. Phys. – 2011. – V. 135. – P. 055101–055107.

References

1. Garaev S.N., Redkozubova G.V., Postolati G.V. Aminokisloty v zhivom organizme. Kishinev, 2009. 552 p.

2. Kuhta V.K., Morozkina T.E., Oleckij Z.I., Taganovich A.D. Biologicheskaja himija: uchebnik / pod red. A.D. Taganovicha. M.: BINOM, 2008. 688 p.

3. Parker F.S. Application of infrared spectroscopy in biochemistry, biology and medicine. New York: Plenum press, 1971. 483 p.

4. Chuev G.H., Sokolov V.F. Ocenka gidrofobnogo jeffekta na osnove metoda funkcionala plotnosti sredy // Biofizika. 2006. T. 51, no. 3. pp. 402–408.

5. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B. et al. Gaussian 09. Gaussian Inc., Wallingford CT. 2009. 394 p.

6. Hernández B., Pflüger F., Adenier A., Nsangou M., Kruglik S.G., Ghomi M. Energy maps, side chain conformational flexibility, and vibrational features of polar amino acids L-serine and L-threonine in aqueous environment // J. Chem. Phys. 2011. V. 135. pp. 055101–055107.