

УДК 543.421/.424: 577.29

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНФОРМАЦИОННОГО СОСТАВА α -АЛАНИНА В ГАЗОВОЙ ФАЗЕ

¹Тен Г.Н., ²Щербакова Н.Е., ³Баранов В.И.

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет
им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, e-mail: TenGN@yandex.ru;

²Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»,
Саратов, e-mail: hainl@yandex.ru;

³Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва

Выполнена интерпретация ИК-спектров трёх конформеров незаряженного α -аланина, имеющих разную ориентацию карбоксильной и аминной групп друг относительно друга и характеризующихся образованием внутримолекулярных водородных связей $\text{OH}\dots\text{O}$ и $\text{OH}\dots\text{N}$ в случае конформеров I и III соответственно. Конформер II может быть получен вращением связи OH конформера III относительно связи CO на 148 град. Энергии конформеров I и II выше на 1,44 и 2,44 ккал/моль энергии конформера III, что предполагает возможность их одновременного существования. Для определения конформационного состава Ala в газовой фазе был выполнен расчёт частот нормальных колебаний конформеров Ala в гармоническом и ангармоническом приближениях. Оптимизация геометрии и расчёт колебательных спектров проводился методом DFT в приближении B3LYP и базисного набора 6-311++g(d,p). Согласно выполненному расчёту существует ряд полос, появление которых нельзя объяснить наличием только одного конформера, например Ala I, в теоретическом спектре которого отсутствуют экспериментально наблюдаемые полосы поглощения в области 3500 и 1400 cm^{-1} . Кроме того, в вычисленных колебательных спектрах всех конформеров Ala отсутствует полоса поглощения с частотой 1590 cm^{-1} , наличие которой также фиксируется в экспериментальном спектре. Для определения конформационного состава Ala в газовой фазе был вычислен суммарный спектр, представляющий суперпозицию всех трёх конформеров со следующим процентным содержанием в смеси: 50% Ala I, 40% Ala III и 10% Ala II. Полученный суммарный вычисленный спектр хорошо согласуется с экспериментальным ИК-спектром Ala.

Ключевые слова: α -аланин, газовая фаза, ИК колебательный спектр, ангармоническое приближение, интерпретация, конформационный состав

DETERMINATION OF α -ALANINE CONFORMATIONAL COMPOSITION IN THE GAS PHASE

¹Ten G.N., ²Scherbakova N.E., ³Baranov V.I.

¹N.G. Chernyshevsky Saratov State University, Saratov, e-mail: TenGN@yandex.ru;

²Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, e-mail: hainl@yandex.ru;

³V.I. Vernadskiy Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow

Performed was interpretation of IR spectra of the three conformers I, II, III of uncharged α -alanine with different orientation of the carboxyl and amine groups in relation to each other and characterized by the formation of intramolecular hydrogen bonds $\text{OH}\dots\text{O}$ and $\text{OH}\dots\text{N}$ in the case of conformers I and III, respectively. The conformer II can be obtained by revolving OH connection of conformer III with respect to CO connection through 148 deg. Energies of conformers I and II are 1,44 and 2,44 kcal/mol higher respectively than that of conformer III, which suggests the possibility of their simultaneous existence. To determine the conformational composition of Ala in the gas phase calculated were frequencies of normal vibrations of the conformers of Ala in harmonic and anharmonic approximations. Geometry optimization and calculation of vibrational spectra were carried out using DFT at the B3LYP approach and the basis set 6-311++g(d,p). According to the calculation, there exist a number of bands, the occurrence of which cannot be explained by the presence of only one conformer, such as Ala I, in the theoretical spectrum of which experimentally observable absorption bands in the region? 3500 and 1400 cm^{-1} are absent. In addition, in the calculated vibrational spectra of all Ala conformers absorption band with a frequency of 1590 cm^{-1} is absent, which is fixed in the experimental spectrum. To determine the conformational composition of Ala in the gas phase the total spectrum was calculated which represents the superposition of all three conformers with the following percentage in the mixture: 50% Ala I, 40% Ala III and 10% Ala II. The obtained total calculated spectrum is in good agreement with the experimental IR spectrum of Ala.

Keywords: α -alanine, gas phase, infrared vibrational spectrum, of anharmonic approximation, interpretation, conformational composition

Спектральное исследование колебательных спектров цвиттер-ионных форм α -аланина (Ala) для конденсированных состояний проводилось неоднократно – и экспериментально, и теоретически [1–5]. Одной из причин, не позволившей ранее уделить изучению ИК- и КР-спектров неза-

ряженных конформеров Ala в газовой фазе большего внимания, являлось отсутствие соответствующих экспериментальных спектров. Теоретические спектры, несмотря на высокий уровень прогнозирования расчётов колебательных спектров, выполненных с помощью современных программных

продуктов, таких как, например, Gaussian, без сравнения с соответствующими экспериментальными спектрами не давали возможности определить конформационный состав Ala в газовой фазе. Авторам работ [6, 7] удалось создать необходимые экспериментальные условия и выполнить регистрацию колебательных ИК Фурье-спектров некоторых аминокислот, в том числе и Ala, при температуре 520 К.

Цель данной работы – выполнить расчёт колебательных (ИК и КР) спектров трёх конформеров Ala в гармоническом и ангармоническом приближениях и провести интерпретацию колебательных спектров с целью определения качественного и количественного конформационного состава Ala в газовой фазе.

Оптимизация геометрии и расчёт колебательных спектров проводился по программе Gaussian-09 [8] с использованием метода DFT в приближении B3LYP и базисного набора 6-311++g(d,p).

Результаты исследования и их обсуждение

Молекулярные диаграммы трёх конформеров Ala, полученных в результате поворота фрагмента COOH относительно аминной группы NH₂, приведены на рис. 1, а вычисленные значения частот в гармоническом и ангармоническом приближениях – в табл. 1 и 2.

Разница энергий $\Delta E = E_{I,II} - E_{III}$ для конформеров Ala I и II по сравнению с энергией конформера Ala III, обладающего, как показал расчёт, наименьшей энергией среди конформеров I–III, составляет 1,44 и 2,44 ккал/моль соответственно, что предполагает возможность одновременного существования нескольких конформеров Ala в газовой фазе.

Для анализа смеси конформеров Ala в газовой фазе – выяснения качественного и количественного состава – был выполнен расчёт частот нормальных колебаний трёх конформеров Ala в гармоническом и ангармоническом приближениях.

Анализ форм нормальных колебаний Ala I, II и III показал, что имеются некоторые отличия в интерпретации колебаний 2–4, 8–12, 16–22 и 31–33, что связано с разным пространственным расположением аминной группы относительно связи OH. Например, возможное образование внутримолекулярной водородной связи N...HO в конформере Ala III приводит к понижению частоты валентного колебания связи OH на 285 см⁻¹, а частота деформационного колебания $\delta(\text{NH}_2)$ повышается на 25 см⁻¹ по сравнению с частотами аналогичных колебаний конформеров Ala I и Ala II (табл. 1).

В работе [6] интерпретация колебательного спектра Ala в газовой фазе была выполнена для Ala, структура которого отвечает конформеру Ala I, т.е. согласно авторам этой работы состав газовой фазы определяется только присутствием Ala I. Действительно, сравнение ИК-спектра Ala I (рис. 2, а) с экспериментальным ИК-спектром Ala, зарегистрированным в газовой фазе (рис. 3, а), показывает их достаточно хорошее согласие. В то же время существует ряд полос, появление которых нельзя объяснить присутствием в газовой фазе только одного конформера Ala I. Например, отсутствие в вычисленном ИК-спектре Ala I полос поглощения в области ~ 3500 и 1400 см⁻¹. Кроме того, в вычисленных спектрах всех конформеров Ala отсутствует полоса поглощения с частотой 1590 см⁻¹, присутствие которой фиксируется в экспериментальном спектре.

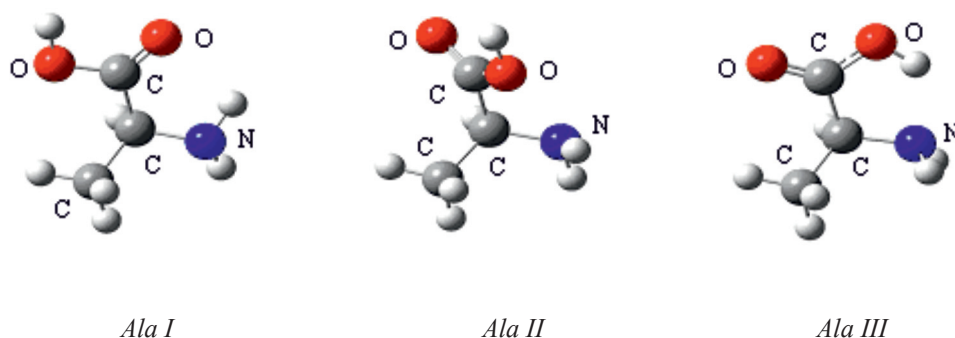


Рис. 1. Молекулярные диаграммы трёх конформеров Ala с обозначением атомов

Таблица 1

Вычисленные значения частот колебаний конформеров Ala
в гармоническом ($\nu_{\text{гарм}}, \text{см}^{-1}$) приближении

№	Ala I		Ala II		Ala III	
	$\nu_{\text{гарм}}$	Отнесение	$\nu_{\text{гарм}}$	Отнесение	$\nu_{\text{гарм}}$	Отнесение
1	60	$\tau(\text{COOH})$	52	$\tau(\text{COOH})$	58	$\tau(\text{COOH})$
2	210	$\tau(\text{NH}_2)$	224	$\tau(\text{CH}_3)$	233	$\tau(\text{CH}_3)$
3	230	$\tau(\text{CH}_3)$	236	$\delta(\text{CCC})$	274	$\delta(\text{CCC})$
4	265	$\delta(\text{CCC})$	244	$\tau(\text{NH}_2)$	281	$\tau(\text{NH}_2)$
5	331	$\delta(\text{CCO})$	304	$\delta(\text{CCO})$	354	$\delta(\text{CCO})$
6	416	$\delta(\text{CCN})$	362	$\delta(\text{CCN})$	405	$\delta(\text{CCN})$
7	493	$\delta(\text{COO})$	528	$\delta(\text{COO})$	529	$\delta(\text{COO})$
8	559	$\tau(\text{C-O})$	585	$\tau(\text{C-O})$	567	$\delta(\text{COO})$
9	617	$\omega(\text{COO})$	608	$\delta(\text{COO})$	737	$\tau(\text{C-O})$
10	730	$\delta(\text{COO})$	769	$\omega(\text{COO})$	802	$\omega(\text{COO})$
11	797	$\nu(\text{C-COOH})$	786	$\nu(\text{C-COOH})$	846	$\omega(\text{NH}_2)$
12	825	$\omega(\text{NH}_2)$	835	$\omega(\text{NH}_2)$	880	$\nu(\text{C-COOH})$
13	938	$\nu(\text{C-CH}_3)$	913	$\nu(\text{C-CH}_3)$	935	$\nu(\text{C-CH}_3)$
14	1024	$\rho(\text{CH}_3)$	1021	$\rho(\text{CH}_3)$	1018	$\rho(\text{CH}_3)$
15	1102	$\rho(\text{CH}_3)$	1075	$\rho(\text{CH}_3)$	1074	$\rho(\text{CH}_3)$
16	1133	$\nu(\text{CN})$	1096	$\nu(\text{C-O})$	1142	$\nu(\text{CN})$
17	1185	$\nu(\text{C-O})$	1185	$\nu(\text{CN})$	1206	$\nu(\text{C-O})$
18	1233	$\tau(\text{NH}_2)$	1247	$\tau(\text{NH}_2)$	1231	$\tau(\text{NH}_2)$
19	1320	$\delta(\text{COH})$	1340	$\delta(\text{CH})$	1311	$\delta(\text{CH})$
20	1344	$\delta(\text{CH})$	1343	$\delta(\text{COH})$	1390	$\delta(\text{CH})$
21	1403	$\delta(\text{CH}_3) \text{ sym}$	1400	$\delta(\text{CH}_3) \text{ sym}$	1409	$\delta(\text{CH}_3) \text{ sym}$
22	1416	$\delta(\text{CH})$	1416	$\delta(\text{CH})$	1414	$\delta(\text{COH})$
23	1495	$\delta(\text{CH}_3) \text{ asym}$	1490	$\delta(\text{CH}_3) \text{ asym}$	1491	$\delta(\text{CH}_3) \text{ asym}$
24	1500	$\delta(\text{CH}_3) \text{ asym}$	1500	$\delta(\text{CH}_3) \text{ asym}$	1501	$\delta(\text{CH}_3) \text{ asym}$
25	1639	$\delta(\text{NH}_2)$	1635	$\delta(\text{NH}_2)$	1659	$\delta(\text{NH}_2)$
26	1808	$\nu(\text{C=O})$	1819	$\nu(\text{C=O})$	1835	$\nu(\text{C=O})$
27	2920	$\nu(\text{CH})$	3024	$\nu(\text{CH}_3) \text{ sym}$	3029	$\nu(\text{CH}_3) \text{ sym}$
28	3040	$\nu(\text{CH}_3) \text{ sym}$	3075	$\nu(\text{CH})$	3041	$\nu(\text{CH})$
29	3105	$\nu(\text{CH}_3) \text{ asym}$	3094	$\nu(\text{CH}_3) \text{ asym}$	3093	$\nu(\text{CH}_3) \text{ asym}$
30	3127	$\nu(\text{CH}_3) \text{ asym}$	3103	$\nu(\text{CH}_3) \text{ asym}$	3128	$\nu(\text{CH}_3) \text{ asym}$
31	3516	$\nu(\text{NH}_2) \text{ sym}$	3502	$\nu(\text{NH}_2) \text{ sym}$	3476	$\nu(\text{OH})$
32	3603	$\nu(\text{NH}_2) \text{ asym}$	3585	$\nu(\text{NH}_2) \text{ asym}$	3511	$\nu(\text{NH}_2) \text{ sym}$
33	3760	$\nu(\text{OH})$	3761	$\nu(\text{OH})$	3596	$\nu(\text{NH}_2) \text{ asym}$

Примечание. ν – валентные колебания связи; δ – деформационные колебания; ω – веерные, ρ – маятниковые и τ – крутильные колебания.

Для уточнения структурного состава Ala в газовой фазе был выполнен расчёт частот нормальных колебаний трёх конформеров Ala I, II, III в ангармоническом приближении, результаты которого отражены в табл. 2.

Как показывает сравнение вычисленных и экспериментальных частот в области

1000–1800 см^{-1} , в газовой фазе обязательно присутствие конформера Ala III, т.к. именно в спектре Ala III проявляется колебание 25 с частотой 1590 см^{-1} . Аналогичное сравнение в высокочастотной спектральной области 2000–4000 см^{-1} говорит о присутствии одного или обоих конформеров

Ala I и Ala II, т.к. колебательные спектры этих конформеров содержат колебание 33 с частотой 3575 см⁻¹. Экспериментальное колебание с частотой 1627 см⁻¹ может быть отнесено к составному колебанию 8 + 16 конформера Ala II. При этом интенсивность составного колебания сопоставима с интен-

сивностью основного колебания с частотой 1590 см⁻¹, что является следствием резонанса Ферми, приводящего к перераспределению интенсивностей между фундаментальными и составными колебаниями.

На рис. 2 приведены теоретические ИК-спектры таутомеров Ala I, Ala II и Ala III.

Таблица 2

Экспериментальные [6] ($\nu_{\text{эксп}}$, см⁻¹) и вычисленные значения частот и интенсивностей ИК-спектров ($I_{\text{р,ИК}}$, км/моль) конформеров Ala в ангармоническом ($\nu_{\text{ангарм}}$, см⁻¹) приближении

№	[6]	Ala I		Ala II		Ala III	
	$\nu_{\text{эксп}}$ ($I_{\text{отн}}$)	$\nu_{\text{ангарм}}$	$I_{\text{р,ИК}}$	$\nu_{\text{ангарм}}$	$I_{\text{р,ИК}}$	$\nu_{\text{ангарм}}$	$I_{\text{р,ИК}}$
1		56	1,0	45	1,0	22	0,8
2		223	37,5	274	10,1	221	0,3
3		242	6,5	243	0,3	256	14,7
4		272	0,5	290	269	200	12,7
5		336	0,1	303	12,4	341	11,3
6		411	13,1	357	5,6	408	4,2
7		494	9,1	522	9,4	520	1,5
8		562	38,9	556	73,1	568	4,0
9		609	65,9	594	54,6	728	9,7
10		721	54,4	752	59,1	788	7,1
11		774	57,4	769	14,9	746	111,2
12		615	105,8	587	135,2	825	77,4
13		912	4,0	889	16,6	907	39,1
14		1004	1,2	998	39,2	1000	0,9
15		1072	7,9	1040	17,2	1028	45,4
16	1114 (0,92)	1101	240	1065	119,1	1109	13,7
17		1150	73	1144	97,3	1160	26,7
18		1195	8,7	1208	34,2	1202	11,5
19		1262	24,0	1303	18,3	1268	6,7
20		1297	5,2	1279	26,9	1352	8,4
21		1364	8,5	1369	5,1	1374	17,8
22	1372 (0,2)	1380	4,2	1378	18,9	1360	378,2
23		1470	8,6	1476	3,3	1475	3,7
24		1484	10,2	1490	12,6	1486	11,3
25	1590 (0,15) 1627 (0,14)	1463	67,4	1477	38,5	1595	35,5
26	1785 (1,0)	1775	316,0	1785	341,1	1799	342,9
27		2788	44,8	2904	17,5	2901	12,6
28	2924 (0,17)	2903	19,8	2935	2,8	2907	14,0
29		2964	21,5	2951	23,3	2951	27,2
30	2991 (0,18)	2981	16,0	2960	27,6	2983	6,7
31		3373	4,7	3364	1,7	3203	288,9
32		3444	11,2	3423	4,7	3378	4,3
33	3575 (0,31)	3573	74,6	3558	72,4	3424	11,6

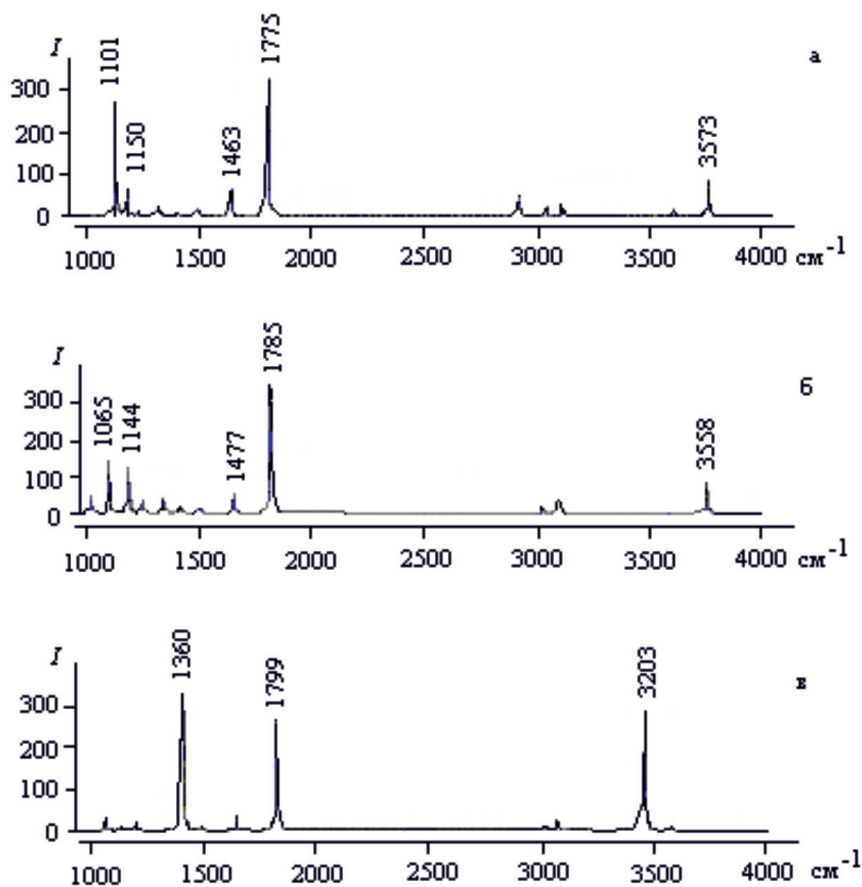


Рис. 2. ИК-спектры конформеров Ala I (а), Ala II (б) и Ala III (в)

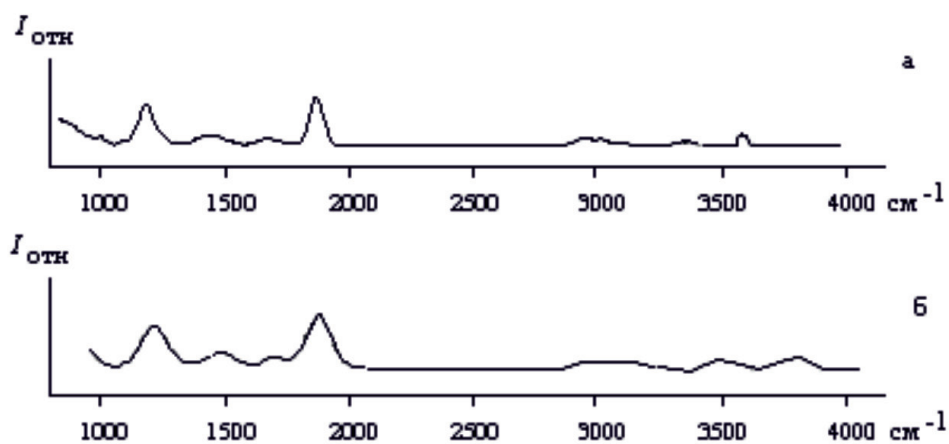


Рис. 3. Экспериментальный (а) [6] и вычисленный (б) ИК-спектр смеси конформеров Ala I (50%), Ala III (40%) и Ala II (10%)

Для определения конформационного состава Ala в газовой фазе был вычислен суммарный спектр, представляющий супер-

позицию спектров всех трёх конформеров со следующим процентным содержанием в смеси: 50% Ala I, 40% Ala III и 10% Ala II.

Точность определения конформационного состава составляет 3–5%. Полученный вычисленный спектр, хорошо согласующийся с экспериментальным ИК-спектром Ala (рис. 3, а), представлен на рис. 3, б.

Выводы

В данной работе было выполнено моделирование структуры и колебательных спектров трёх конформеров Ala I, II и III, энергии которых отличаются друг от друга на 1,44 и 2,44 ккал/моль, что предполагает возможность их одновременного существования в газовой фазе.

Расчёт частот нормальных колебаний конформеров Ala I, II и III в ангармоническом приближении позволил выполнить надёжную интерпретацию колебательного спектра и определить состав Ala в газовой фазе как смесь трёх конформеров Ala I (50%), Ala III (40%) и Ala II (10%). Полученный суммарный ИК-спектр находится в хорошем согласии с экспериментальным спектром поглощения Ala, зарегистрированным в газовой фазе.

Список литературы

1. Pearson J.F., Slifkin M.A. The infrared spectra of amino acids and dipeptides // *Spectrochim. Acta.* – 1972. – V. 28A. – P. 2403–2417.
2. Michaux C., Wouters J., Perpete E., Jacquemin D. Modeling the Microhydration of Protonated Alanine // *J. Phys. Chem. B.* – 2008. – V. 112. – P. 9896–9902.
3. Dokmaisrijan S., Lee V. S., Nimmanpipug P. The gas phase conformers and vibrational spectra of valine, leucine and isoleucine: An ab initio study // *J. of Mol. Structure: Theochem.* – 2010. – V. 953. – P. 28–38.
4. Hernandez B., Pfluger F., Nsangou M., Ghomi M. Vibrational Analysis of Amino Acids and Short Peptides in Hydrated Media. IV. Amino Acids with Hydrophobic Side

Chains: L-Alanine, L-Valine, and L-Isoleucine // *J. Phys. Chem. B.* – 2009. – V. 113. – P. 3169–3178.

5. Ten G.N., Kадров Д.М., Баранов В.И. Влияние гидрофобного радикала на структуру и колебательные спектры цвиттер-ионных форм глицина и аланина в конденсированных состояниях. // *Журнал прикл. спект.* – 2014. – Т. 81, № 2. – С. 178–186.

6. Linder R., Seefeld K., Vavra A., Kleinermanns K. Gas phase infrared spectra of nanoromatic amino acids // *Chem. Phys. Lett.* – 2008. – V. 453. – P. 1–6.

7. Linder R., Nispel M., Häber T., Kleinermanns K. Gas-phase. FT-IR-spectra of natural amino acids // *Chem. Phys. Lett.* – 2005. – V. 409. – P. 260–264.

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

References

1. Pearson J.F., Slifkin M.A. The infrared spectra of amino acids and dipeptides // *Spectrochim. Acta.* 1972. V. 28A. P. 2403–2417.
2. Michaux S., Wouters J., Perpete E., Jacquemin D. Modeling the Microhydration of Protonated Alanine // *J. Phys. Chem. B.* 2008. V. 112. P. 9896–9902.
3. Dokmaisrijan S., Lee V. S., Nimmanpipug P. The gas phase conformers and vibrational spectra of valine, leucine and isoleucine: An ab initio study // *J. of Mol. Structure: Theochem.* 2010. V. 953. P. 28–38.
4. Hernandez B., Pfluger F., Nsangou M., Ghomi M. Vibrational Analysis of Amino Acids and Short Peptides in Hydrated Media. IV. Amino Acids with Hydrophobic Side Chains: L-Alanine, L-Valine, and L-Isoleucine // *J. Phys. Chem. B.* 2009. V. 113. P. 3169–3178.
5. Ten G.N., Kадров Д.М., Баранов В.И. Влияние гидрофобного радикала на структуру и колебательные спектры цвиттер-ионных форм глицина и аланина в конденсированных состояниях. // *Zhurnal prikl. spektr.* 2014. T. 81, no. 2. pp. 178–186.
6. Linder R., Seefeld K., Vavra A., Kleinermanns K. Gas phase infrared spectra of nanoromatic amino acids // *Chem. Phys. Lett.* 2008. V. 453. P. 1–6.
7. Linder R., Nispel M., Häber T., Kleinermanns K. Gas-phase. FT-IR-spectra of natural amino acids // *Chem. Phys. Lett.* 2005. V. 409. P. 260–264.
8. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B. et al. Gaussian 09. Gaussian Inc., Wallingford CT. 2009. 394 p.