

## СПЕКТРАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КОНТАКТНОЙ ИОННОЙ ПАРЫ ГУАНИДИН-АЦЕТАТ В ВОДЕ. ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДАМИ НПВО И ТЕОРИИ ФУНКЦИОНАЛА ПЛОТНОСТИ

М. В. Венер<sup>1</sup>, В. Н. Попов<sup>2</sup>, Б. З. Май<sup>2</sup>, Б. В. Локшин<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «РХТУ им. Д.И. Менделеева», г. Москва

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж

<sup>3</sup>ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова РАН, г. Москва

Поступила в редакцию 8.06.2016 г.

**Аннотация.** ИК спектр комплекса гуанидин-ацетат в воде был получен методом спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Отнесение полос выполнено с помощью расчетов водородо-связанной контактной ионной пары гуанидин-ацетат в воде методами теории функционала плотности в приближении поляризуемого континуума. Спектральными особенностями этого комплекса в воде являются три ИК-интенсивные полосы, с частотами 1670, 1550 и 1410 см<sup>-1</sup>, обусловленные валентными и деформационными колебаниями групп, образующих контактную ионную пару с двумя водородными связями.

**Ключевые слова:** солевой мостик, межмолекулярные водородные связи, приближение поляризуемого континуума.

**Abstract.** The spectrum of guanidinium acetate in aqueous solution has been recorded by attenuated total reflectance infrared spectroscopy (ATR-IR). Assignments of the bands have been done using the polarizable continuum model. Three IR intensive bands at 1670, 1550, and 1410 cm<sup>-1</sup> are associated with stretching and bending vibrations of the groups forming a ring of six heavy atoms of the bidentate configuration of guanidinium acetate.

**Keywords:** salt bridges, intermolecular hydrogen bonds, polarizable continuum model

Понятие «солевой мостик» или контактная ионная пара (КИП) с межмолекулярными водородными связями, может быть определено как взаимодействие между двумя противоположно заряженными группами, в которых, по меньшей мере, одна пара тяжелых атомов (обычно атом кислорода и азота) образуют водородную связь (Н-связь). Солевые мостики характеризуются короткими расстояниями O...N ( $< 3\text{Å}$ ) [1, 2] и играют значительную роль в формировании и стабилизации вторичной структуры белка:  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -листа [3 – 8]. Более 40% солевых мостиков в белках возникают в результате взаимодействия аргининовой и карбоксильной групп, например, взаимодействия Arg–Glu и Arg–Asp из чего можно сделать вывод,

что КИП гуанидин-ацетат является наиболее удобным объектом для моделирования такого рода взаимодействий в водных растворах. Строение и процессы диссоциации КИП гуанидин-ацетат в воде и ДМСО изучались различными экспериментальными [9, 10] и расчетными [11-13] методами. ИК спектр водного раствора гуанидин-ацетата в области 400 – 4000 см<sup>-1</sup> также опубликован [14], однако, отнесения полос произведено не было.

В данной работе ИК спектр комплекса гуанидин-ацетат в воде был получен методом спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Отнесение полос в спектре выполнено с помощью расчетов комплекса гуанидин-ацетат в воде методами теории функционала плотности в приближении поляризуемого континуума (РСМ) [15].

## МЕТОДИКА

Спектры измерены на ИК-фурье-спектрометре VERTEX 70v фирмы BRUKER (ФРГ) методом НПВО с использованием приставки НПВО фирмы PIKE (США) с алмазным рабочим элементом. ИК спектры получены в области 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  с разрешением 4  $\text{cm}^{-1}$ .

Квантово-химические расчеты проводились с использованием программы Gaussian03 [16]. При этом использовались методы теории функционала плотности (приближение B3LYP/6-31G\*\*). Строение комплекса находилось в результате полной оптимизации геометрических параметров. Учет влияния растворителя (вода) проводился в приближении РСМ. Частоты колебаний, и ИК интенсивности находились в гармоническом приближении. Расчетные значения частот газофазного комплекса масштабировались, масштабирующий коэффициент составлял 0.9686 [17].

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

ИК спектр комплекса гуанидин – ацетат в водном растворе, полученный после вычитания спектра поглощения воды (метод НПВО), приведен на рис. 1. Его характерными особенностями является триплет ИК интенсивных полос в области 1400 – 1700  $\text{cm}^{-1}$  и низкоинтенсивная широкая полоса около 2200  $\text{cm}^{-1}$ . Для отнесения полос в экспериментальном спектре были проведены расчеты КИП гуанидин – ацетат с двумя Н-связями в газовой фазе и водном растворе методом ТФП в приближении B3LYP/6-31G\*\* (рис. 2). Согласно нашим расчетам, структура КИП с двумя Н-связями соответствует глобальному минимуму в газе и водном растворе. Сопоставление экспе-

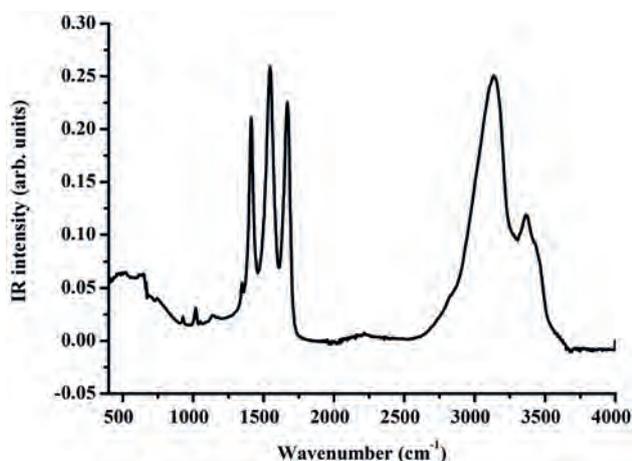


Рис. 1. ИК спектр комплекса гуанидин – ацетат в водном растворе, полученный после вычитания спектра поглощения воды (метод НПВО).

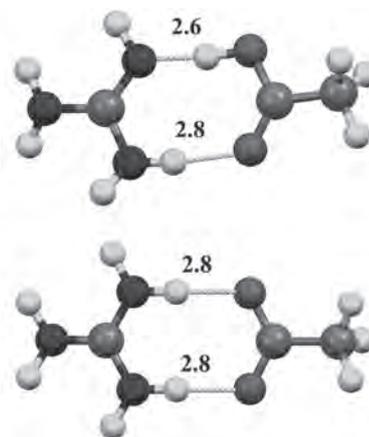


Рис. 2. Структуры контактной ионной пары гуанидин-ацетат с двумя межмолекулярными Н-связями, реализующаяся в ходе расчетов методами ТФП в газовой фазе (верхняя панель) и в водном растворе (нижняя панель). Водородные связи обозначены пунктирными линиями. Расчетные значения расстояний N...O приведены в Å.

риментальных и расчетных значений максимумов полос поглощения представлено в таблице 1. Из таблицы 1 следует, что данные расчетов в приближении РСМ удовлетворительно согласуются с экспериментальными данными. Единственным исключением является полоса около 2200  $\text{cm}^{-1}$ , которая будет рассмотрена ниже. Различия в значениях волновых чисел и ИК-интенсивностей максимумов полос поглощения, полученных в ходе расчетов с и без учета растворителя обусловлены изменением структуры КИП с Н-связями при переходе от газовой фазы к водному раствору (рис. 2). Значения частот, относящихся к N-N колебаниям, полученные из расчета в газовой фазе, оказываются несколько завышенными по сравнению с экспериментальными значениями, из-за отсутствия учета эффектов растворителя. Из данных, представленных в табл. 1, следует, что интенсивная полоса около 1670  $\text{cm}^{-1}$  главным образом обусловлена антисимметричными колебаниями карбоксильной группы и валентными колебаниями связей C-N, что согласуется с существующими литературными данными [18, 19]; полосы же около 1500  $\text{cm}^{-1}$  и 1410  $\text{cm}^{-1}$  обусловлены деформационными колебаниями  $-\text{NH}_2$  и  $-\text{COO}$  групп. Таким образом, в среднечастотной области спектра комплекс гуанидин-ацетат характеризуется ИК интенсивными полосами поглощения около 1670, 1550 и 1410  $\text{cm}^{-1}$ .

Для отнесения широкой полосы с частотой ~ 2200  $\text{cm}^{-1}$  необходимо учесть, что в этой области проявляются асимметричные валентные колебания

фрагментов +N-H...O- с расстояниями N...O < 2.8 Å [20-24]. В приближении РСМ используется некоторая усреднённая структура с расстоянием N...O ~ 2.8 Å, то есть возникновение структур с более короткими Н-связями невозможно. Из молекулярно-динамических расчетов известно [11, 13, 25], что в водном растворе гуанидин-ацетата реализуются КИП с одной или двумя Н-связями, характеризующиеся расстояниями N...O ~ 2.6 - 2.7 Å. Время жизни таких структур составляет от 20 до 100 пс [13], то есть их характеристические колебания могут быть зафиксированы методами ИК спектроскопии. Понятно, что интенсивность этих колебаний будет незначительная из-за низкой концентрации указанных структур в растворе. Из вышесказанного следует, что широкая полоса около 2200 см<sup>-1</sup> может быть обусловлена асимметричным колебанием фрагмента +N-H...O- КИП гуанидин-ацетата.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Совместное использование методов спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения и теории функционала плотности позволило вывить спектральные особенности контактной ионной пары гуанидин-ацетат в воде. В средне-частотной области спектра этот комплекс характеризуется ИК интенсивными полосами поглощения около 1670, 1550 и 1410 см<sup>-1</sup>. Эти полосы

обусловлены деформационными и валентными колебаниями групп, образующих две межмолекулярные водородные связи, стабилизирующие контактную ионную пару. Слабая широкая полоса в области 2200 см<sup>-1</sup> может быть обусловлена асимметричным валентным колебанием +N-H...O-фрагмента.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. The geometries of interacting arginine-carboxyls in proteins / J. Singh [et al.] // FEBS Lett. — 1987. — Vol. 224. — P. 161 – 171.
2. First-shell solvation of ion pairs: correction of systematic errors in implicit solvent models / Z. Yu [et al.] // J. Phys. Chem. B. — 2004. — Vol. 108. — P. 6643 – 6654.
3. Strength and co-operativity of contributions of surface salt bridges to protein stability / A. Horvitz [et al.] // J. Mol. Biol. — 1990. — Vol. 216. — P. 1031 – 1044.
4. The energetics of ion-pair and hydrogen-bonding interactions in a helical peptide/ J.M. Scholtz [et al.] // Biochemistry. — 1993. — Vol. 32. — P. 9668 – 9676.
5. Are buried salt bridges important for protein stability and conformational specificity?/ C.D. Waldburger [et al.] // Nat. Struct. Biol. — 1995. — Vol. 2. — P. 122 – 128.

Таблица 1

Сравнение экспериментальных частот максимумов полос поглощения (см<sup>-1</sup>) с расчетными значениями частот и ИК интенсивностей <sup>a)</sup>, полученными для контактной ионной пары в газовой фазе (газ) и воде (PCM) в приближении B3LYP/6-31G\*\*.

Эксп. <sup>b)</sup>	Газ <sup>b)</sup>	PCM	Отнесение полос <sup>c)</sup>
3363 оч.с.	3537 (59)	3253 (546) <sup>a)</sup>	$\nu(\text{N-H})$
3135 с.	3241 (861)	3081 (2219) <sup>a)</sup>	$\nu(\text{C-H}) + \nu(\text{N-H})$
2212 оч.сл.	2458 (2659)	-	$\nu_{\text{ас}}(+\text{N-H}\dots\text{O}-)$
1669 оч.с.	-	1682 (870)	$\nu(\text{C-H}) + \delta(\text{NH}_2)$
	1726 (579)	1632 (642)	$\nu_{\text{ас}}(\text{COO}-)$
	1477 (105)	1624 (585)	$\nu(\text{C-N}) + \delta(\text{NH}_2)$
1546 оч.с.	1613 (190)	1552 (11)	$\delta(\text{NH}_2)$
1412 оч.с.	1314 (209)	1425 (436)	$\delta(\text{CO}_2) + \nu(\text{C-C})$
1344 сл.	1371 (197)	1362 (42)	$\delta(\text{CH}_2)$
1138 сл.	1138 (22)	1143 (38)	Маятниковые колебания NH <sub>2</sub>
1018 сл.	1000 (6)	1053 (14) <sup>a)</sup>	Маятниковые колебания CH <sub>3</sub>
926 сл.	882 (18)	915 (18)	$\nu(\text{C-C}) + \delta(\text{CO}_2)$
742 ср.	706 (119)	808 (122)	$\gamma(\text{NH}_2)$
521 ср.	505 (21)	552 (38)	$\delta(\text{N-C-N})$

<sup>a)</sup> расчетные значения ИК интенсивностей (км/моль) даны в скобках;

<sup>b)</sup> оч.с. – очень сильная полоса, с. – сильная, ср. – полоса средней интенсивности, сл. – слабая, оч.сл. – очень слабая;

<sup>b)</sup> масштабирующий множитель - 0,9686 [17];

<sup>c)</sup>  $\nu$  – валентное,  $\delta$  – деформационное,  $\gamma$  – неплоское деформационное колебание;

<sup>a)</sup> наиболее интенсивная полоса среди группы полос с близкими значениями волновых чисел (+/- 10 см<sup>-1</sup>).

6. Direct measurement of salt-bridge solvation energies using a peptide model system: implications for protein stability / W.C. Wimeley [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. — 1996. — Vol. 93. — P. 2985 – 2990.
7. Kumar S. Close-range electrostatic interactions in proteins / S. Kumar, R. Nussinov // ChemBioChem. — 2002. — Vol. 3. — P. 604 – 617.
8. Salt-bridge energetics in halophilic proteins / A. Nayek [et al.] // PLoS one. — 2014. — Vol. 9. — P. e93862.
9. Springs B. Equilibrium constants for association of guanidinium and ammonium ions with oxyanions / B.Springs, P. Haake // Bioorg. Chem. — 1997. — Vol. 6. — P. 181 – 190.
10. The structure of salt bridges between Arg<sup>+</sup> and Glu<sup>-</sup> in peptides investigated with 2D-IR spectroscopy: Evidence for two distinct hydrogen-bond geometries / A. Huerta-Viga [et al.] // J. Chem. Phys. — 2015. — Vol. 142. — P. 212444 (8).
11. Rozanska X. Modeling ion-ion interaction in proteins: A molecular dynamics free energy calculation of the guanidinium-acetate association / X. Rozanska, C. Chipot // J. Chem. Phys. — 2000. — Vol. 112. — P. 9691 – 9694.
12. Nagy P.I. Theoretical studies of salt-bridge formation by amino acid side chains in low and medium polarity environments / P.I. Nagy, P.W. Erhardt // J. Phys. Chem. B. — 2010. — Vol. 114. — P. 16436 – 16442.
13. Evaluating the strength of salt bridges: a comparison of current biomolecular force fields / K.T. Debiec [et al.] // J. Phys. Chem. B. — 2014. — Vol. 118. — P. 6561 – 6569
14. NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>).
15. Quantum Mechanical Continuum Solvation Models / J. Tomasi [et al.] // Chem. Rev. — 2005. — Vol. 105. — P. 2999 – 3093.
16. Frish M.J. Gaussian 03/ M.J. Frish [et al.]. — Gaussian Inc.: Pittsburg, — 2003.
17. An evaluation of harmonic vibrational frequency scale factors / J.P. Merrick [et al.] // J. Phys. Chem. A. — 2007. — Vol. 111. — P. 11683 – 11700.
18. Lotze S. Structure and dynamics of a salt-bridge model system in water and DMSO/ S. Lotze, H.J. Bakke // J. Chem. Phys. — 2015. — Vol. 142 — P. 212436 – 212436.
19. Kuroda D.G. Ultrafast relaxation and 2D IR of the aqueous trifluorocarboxylate ion / D.G. Kuroda, D.Y. Vorobyev, R.M. Hochstrasser // J. Chem. Phys. — 2010. — Vol. 132 — P. 044501 (10).
20. Johnson S.L. Infrared Spectra of Solid 1:1 Pyridine-Benzoic Acid Complexes; the Nature of the Hydrogen Bond as a Function of the Acid-Base Levels in the Complex / S.L. Johnson, K.A. Rumon // J. Phys. Chem. — 1965. — Vol. 69 — P. 74 – 76.
21. Kong S. Density Functional Study of the Proton Transfer Effect on Vibrations of Strong (Short) Intermolecular O-H...N/O...H-N<sup>+</sup> Hydrogen Bonds in Aprotic Solvents / S. Kong, I.G. Shenderovich, M.V. Vener // J. Phys. Chem. A. — 2010. — Vol. 114. — P. 2393 – 2399.
22. Hiding in Plain Sight: Unmasking the Diffuse Spectral Signatures of the Protonated N-Terminus in Isolated Dipeptides Cooled in a Cryogenic Ion Trap / C.M. Leavitt [et al.] // J. Phys. Chem. Lett. — 2013. — Vol. 4. — P. 3450 – 3457.
23. Synthron transferability probed with IR spectroscopy: cytosine salts as models for salts of lamivudine / S. Chakraborty [et al.] // Cryst.Eng. Comm. — 2014. — Vol. 16. — P. 4732 – 4741.
24. The structure and IR signatures of the arginine-glutamate salt bridge. Insights from the classical MD simulations / M.V. Vener [et al.] // J. Chem. Phys. — 2015. — Vol. 142. — P. 215106 (9).

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева

Венер М. В., Доктор физико-математических наук, кафедра квантовой химии,

E-mail: [mikhail.vener@gmail.com](mailto:mikhail.vener@gmail.com)

Воронежский государственный университет

Попов В. Н., Доктор биологических наук, профессор, проректор по научной работе и информатизации, кафедра генетики, цитологии и биоинженерии

E-mail: [popov@vsu.ru](mailto:popov@vsu.ru)

Mendeleev University of Chemical Technology  
Vener M. V., Dr.Sc., Department of Quantum Chemistry

E-mail: [mikhail.vener@gmail.com](mailto:mikhail.vener@gmail.com)

Voronezh State University  
Popov V. N., Dr.Sc., Professor, Vice-Rector (Research and Information), Department of Genetics, Cytology and Bioengineering,

e-mail: [popov@vsu.ru](mailto:popov@vsu.ru)

*Венер М. В., Попов В. Н., Май Б. З., Локишин Б. В.*

*Май Б. З., аспирант, кафедра генетики, цитологии и биоинженерии*

*E-mail: maibichdung86@gmail.com*

*ИНЭОС РАН*

*Локишин Б. В., Доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной спектроскопии*

*E-mail: blokch@ineos.ac.ru*

*Mai B. D., post-graduate student, Department of Genetics, Cytology and Bioengineering*

*E-mail: maibichdung86@gmail.com*

*INEOS RAS*

*Lokshin B.V., Dr.Sc., Professor, Head of Laboratory of Molecular Spectroscopy*

*E-mail: blokch@ineos.ac.ru*