

На правах рукописи



Май Бить Зунг

**ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДАМИ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ, КВАНТОВОЙ ХИМИИ
И МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ СТРОЕНИЯ И СПЕКТРАЛЬНЫХ
ОСОБЕННОСТЕЙ СИЛЬНЫХ Н-СВЯЗЕЙ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ
АМИНОКИСЛОТ И КОМПЛЕКСА ГУАНИДИН-АЦЕТАТ**

Специальность

03.01.02 – биофизика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Воронеж – 2016

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева» и в ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Научный руководитель: доктор физико-математических наук, доцент
Венер Михаил Владимирович

Научный консультант: доктор биологических наук, профессор
Попов Василий Николаевич

Официальные оппоненты: **Ефремов Роман Гербертович**
доктор физико-математических наук, профессор,
ФГБУН Институт биоорганической химии им.
академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, лаборатория моделирования
биомолекулярных систем, заведующий

Абдуллатыпов Азат Вадимович
кандидат биологических наук, ФГБУН Институт
фундаментальных проблем биологии РАН,
лаборатория биотехнологии и физиологии
фототрофных организмов, научный сотрудник

Ведущая организация: НИИ Физико-химической биологии имени А.Н.
Белозерского, Московский государственный
университет

Защита состоится «28» ноября 2016 года в 15-30 часов на заседании диссертационного совета Д 212.038.03 при ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»: 394018, г. Воронеж, Университетская пл. 1, аудитория 59.

С диссертацией можно ознакомиться в зональной научной библиотеке и на сайте <http://www.science.vsu.ru> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» и на сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки РФ – <http://vak.ed.gov.ru>.

Автореферат разослан « » 2016 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор



Грабович М.Ю.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Изучение водородной связи (далее Н-связи) как одного из наиболее распространенных в природе вида межмолекулярных взаимодействий постоянно находится в центре внимания исследователей, работающих в области физики, химии и биологии. С одной стороны, актуальность многостороннего исследования этого явления определяется назревшей необходимостью выяснения основных свойств и особенностей межмолекулярных Н-связей в растворах и структурированных средах. Исследование строения, динамики и спектральных свойств Н-связей, выяснение их специфики для растворов аминокислот и биомиметиков, дает возможность серьезно дополнить существующие представления о природе межмолекулярных взаимодействий в белках и пептидах. Одними из надежных методов исследований характеристик Н-связей в биологических объектах являются физические методы. Анализ существующей в литературе информации показывает, что наиболее перспективным подходом, позволяющим решить поставленные задачи, может быть совместное использование экспериментальных (ИК-спектроскопия) и расчетных (квантовая химия и молекулярная динамика) методов.

С другой стороны, постоянно возрастает потребность в указанных данных у исследователей, работающих в смежных областях науки: ферментативном катализе, нековалентном (супрамолекулярном) синтезе наноструктур и поиске хорошо растворимых многокомпонентных кристаллов лекарственного назначения. Образование сильной межмолекулярной Н-связи является необходимой стадией большинства реакций переноса протона, играющих ключевую роль во многих физических, химических и биологических процессах и в кислотно-основных взаимодействиях. Межмолекулярные Н-связи играют ключевую роль в процессах самоорганизации молекулярных систем в конденсированных средах и сольватации белков и пептидов.

Целью настоящей работы было развитие подхода, позволяющего изучать спектральные свойства и строение сильных (коротких) межмолекулярных N-H⁺...O связей в водных и структурированных средах, образующихся в системах/комплексах, существование которых в газовой среде или изолированном состоянии практически невозможно. Данный подход основан на совместном использовании методов ИК-спектроскопии, теории функционала плотности с учетом растворителя и молекулярной динамики (МД) с классическими силовыми полями.

В качестве объектов исследования были выбраны водные растворы аминокислот с нейтральной боковой цепью и гуанидин-ацетат. Эта контактная ионная пара является удобной моделью солевых мостиков, образующихся в белках и пептидах.

Основными задачами исследования были:

1. Методом МД с классическими силовыми полями изучить строение первой гидратной оболочки и рассчитать ИК-спектр водных растворов аминокислот с нейтральной боковой цепью;

2. Исследовать процессы микросольватации цвиттер-иона глицина в воде, в частности, описать на атомном уровне структуру гидратной оболочки, посредством расчетов кластеров глицин-6H₂O и глицин-7H₂O методами теории функционала

плотности с учетом растворителя в приближении поляризуемого континуума (приближение РСМ);

3. Выявить спектральные особенности водных растворов глицина, фенилаланина и пролина посредством совместного использования расчетных методов с явным и неявным (приближение РСМ) учетом полярного растворителя.

4. Методом спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) получить ИК-спектр водного раствора ионной пары гуанидин-ацетат;

5. Методом теории функционала плотности с неявным учетом растворителя (приближение РСМ) рассчитать ИК-спектр контактной ионной пары гуанидин-ацетат с двумя Н-связями в воде;

6. Методом классической МД изучить спектральные проявления сильной Н-связи с явным учетом динамики структурных изменений контактной ионной пары гуанидин-ацетат в водном растворе.

Научная новизна и достоверность результатов. В настоящей работе исследованы строение и спектральные свойства сильных межмолекулярных N-H⁺...O связей в водных растворах цвиттер-ионов аминокислот и комплекса гуанидин-ацетат. В незаряженных системах/комплексах такие связи образуются только в конденсированных средах, поэтому сведения о структуре и спектральных особенностях этих связей носят бессистемный характер. В настоящей работе основное внимание уделяется частотному диапазону 1900 – 2800 см⁻¹, который обычно не изучается при спектральных исследованиях белков и пептидов. Строение и спектральные свойства сильных межмолекулярных N-H⁺...O связей в водной среде исследованы с помощью подхода, развитого в настоящей работе. Этот подход заключается в совместном использовании методов ИК-спектроскопии, теории функционала плотности с учетом растворителя и МД с классическими силовыми полями.

Достоверность результатов обеспечивалась высоким техническим уровнем проведения спектральных исследований и одновременным использованием методов квантовой химии и МД, тщательным анализом расчетных характеристик и их сопоставлением с доступными экспериментальными данными, согласием с выводами других исследователей. Все основные результаты диссертации являются новыми и были впервые получены в работах соискателя.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Развита методика, позволяющая исследовать спектральные свойства и строение сильных межмолекулярных N-H⁺...O связей в водной среде, посредством совместного использования методов ИК-спектроскопии, теории функционала плотности с учетом растворителя и МД с классическими силовыми полями.

2. Данный подход использован для изучения строения сольватной оболочки и ИК-спектра водных растворов аминокислот с нейтральной боковой цепью. Специфической особенностью ИК-спектра водного раствора глицина и фенилаланина является полоса в области ~ 2300 см⁻¹. Она обусловлена валентными колебаниями NH₃⁺ группы аминокислот, образующей с молекулами воды первой гидратной оболочки сильные Н-связи. Отсутствие этой полосы у пролина объясняется низкой кислотностью протонов группы NH₂⁺ по сравнению с группой NH₃⁺ глицина и фенилаланина.

3. Методом спектроскопии НПВО был получен ИК-спектр водного раствора ионной пары гуанидин-ацетат в области $400 - 4000 \text{ см}^{-1}$. Отнесение полос в экспериментальном спектре было выполнено посредством совместного использования методов квантовой химии и МД. Показано, что ИК-интенсивные полосы в области $1670, 1550$ и 1410 см^{-1} обусловлены валентными и деформационными колебаниями групп, формирующих восьмичленное кольцо бидентатной структуры гуанидин-ацетата. Малоинтенсивная, широкая полоса в области $2100 - 2300 \text{ см}^{-1}$ обусловлена колебаниями $+N-H$ групп, образующих сильные межмолекулярные $N-H^+ \dots O$ связи в комплексе гуанидин-ацетат.

4. Показано, что идентификация сильных межмолекулярных $N-H^+ \dots O$ связей в белках и пептидах требует проведение спектральных исследований в области $1900 - 2800 \text{ см}^{-1}$.

Практическое значение полученных результатов определяется необходимостью систематизации данных по строению и спектральным свойствам сильных межмолекулярных $N-H^+ \dots O$ связей в конденсированных средах для их использования в направленном нековалентном (супрамолекулярном) синтезе наноструктур и двухкомпонентных кристаллов лекарственного назначения, а также для тестирования поляризуемых моделей классических силовых полей, необходимых для МД расчетов строения и спектральных свойств систем с сильными H -связями в водных и структурированных средах.

Апробация работы. Основные результаты диссертации докладывались на научных семинарах медико-биологического факультета ВГУ и кафедры квантовой химии РХТУ им. Д. И. Менделеева, были представлены на XII Всероссийской конференции с международным участием “Проблемы сольватации и комплексообразования в растворах” (Иваново, 2015 г.), X Всероссийской школы-конференции молодых ученых “Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем (Крестовские чтения)” (Иваново, 2015 г.), конференции “XVIII Симпозиум по межмолекулярному взаимодействию и конформациям молекул” (Ярославль, 2016 г.).

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 6 научных работ, в том числе 2 статьи в журналах из списка ВАК РФ и 1 статья в журнале, индексируемом в базах данных Web of Science и Scopus.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка использованной литературы (154 источника). Диссертация включает 37 рисунков и 10 таблиц.

Работа поддержана ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы», Соглашение № 14.574.21.0112 от 21.10.2014, идентификатор проекта RFMEFI57414X0112.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе дана общая характеристика H -связей и рассмотрены различные экспериментальные и теоретические исследования сильных H -связей в водных

растворах аминокислот и комплекса гуанидин-ацетат. Кратко изложены методы квантово-химических, молекулярно-динамических расчетов и метод спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения, использующихся в работе для моделирования исследуемых объектов.

Исходя из проведенного анализа литературы следует, что в настоящее время получен широкий набор данных, характеризующий процессы сольватации аминокислот, однако, указанные данные весьма противоречивы. Показано, что область $1900 - 2800 \text{ см}^{-1}$, в которой лежат полосы поглощения, типичные для систем с сильными (короткими) Н-связями, обычно не исследуется. Кроме того, комбинированное использование методов теории функционала плотности с учетом растворителя и молекулярной динамики (МД) с классическими силовыми полями, представляется наиболее перспективным подходом для исследований сильных Н-связей в биологических объектах и позволяет интерпретировать экспериментальные данные, полученные методом ИК-спектроскопии.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследований служили водные растворы аминокислот – глицина, фенилаланина и пролина, а также гуанидин-ацетат, который был приобретен у фирмы Sigma-Aldrich и использовался без дополнительной очистки. Спектры водного раствора гуанидин-ацетата были измерены на ИК-фурье-спектрометре VERTEX 70v фирмы BRUKER (ФРГ) методом спектроскопии НПВО с использованием приставки НПВО фирмы PIKE (США) с алмазным рабочим элементом. ИК-спектр был получен в области $4000-400 \text{ см}^{-1}$ с разрешением 4 см^{-1} . Концентрация гуанидин-ацетата составила $\sim 0.1 \text{ M}$.

Расчеты методом теории функционала плотности проводились в приближении B3LYP/6-31G** по программе Gaussian. Полярный растворитель (вода) учитывался в приближении PCM. Молекулярно-динамические расчеты проводились по программе GROMACS. Кубическая ячейка состояла из одной молекулы аминокислоты или гуанидин-ацетата и 1000 молекул воды. В расчетах использовались различные классические силовые поля (OPLS-AA и AMBER) и модели воды (SPC, SPC/E, TIP3P, TIP4P/2005). В МД расчетах использовался NPT ансамбль, длина шага составляла 0.5 фс. Длина траектории составляла 10 нс (выход на равновесие) и 1нс (сбор информации и обработка полученных данных).

Глава 3. СТРОЕНИЕ ПЕРВОЙ СОЛЬВАТНОЙ ОБОЛОЧКИ И СПЕКТРАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ АМИНОКИСЛОТ С НЕПОЛЯРНЫМИ РАДИКАЛАМИ

Расчеты радиальных функций распределения с помощью разных моделей воды и классических силовых полей.

Обычно обсуждение результатов МД расчетов начинается с рассмотрения радиальных функций распределения (РФР). Расчетные значения РФР сильно зависят от используемой модели силового поля. На рис. 1 приведены РФР водного раствора глицина. Откуда видно, что положение первого максимума РФР и его высота очень чувствительны к используемой модели силового поля.

При использовании одного и того же силового поля (OPLS-AA) с разными моделями воды (SPC и SPC/E) получаются близкие результаты (рис. 1). Это согласуется с литературными данными. Для того, чтобы выяснить, какое силовое поле дает наилучшие результаты при МД расчетах водных растворов аминокислот, необходимо сопоставление вычисленных РФР с экспериментальными данными. Из трех рассматриваемых аминокислот, только у пролина есть экспериментальные данные по РФР в водных растворах. Поэтому был проведен дальнейший анализ РФР водного раствора пролина.

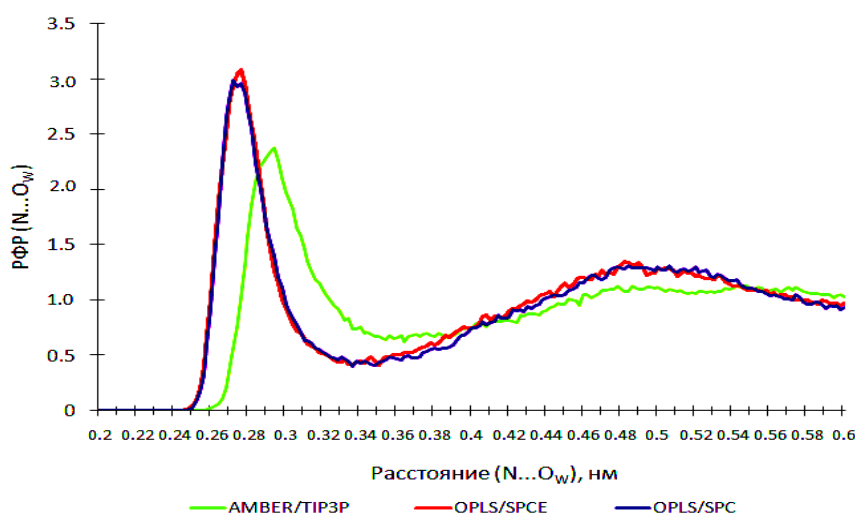


Рис. 1. РФР водного раствора глицина (расстояние N...O_w), рассчитанная при использовании силовых полей AMBER и OPLS-AA с тремя моделями воды (TIP3P, SPC, SPC/E).

На рис. 2 приведена РФР водного раствора пролина (расстояние N...O_w), рассчитанная при использовании силовых полей AMBER и OPLS-AA. Аналогично раствору глицина (рис. 1), в силовом поле OPLS первый максимум лежит при меньших значениях расстояний N...O_w, по сравнению с максимумом, рассчитанном в поле AMBER. Различие составляет ~ 0.3 Å (0.03 нм). У второго максимума РФР это различие увеличивается до ~ 1 Å (0.1 нм). Аналогичный результат получается для расстояния O...O_w, (рис. 3). Различие между параметрами РФР, полученных при использовании двух силовых полей, могут быть объяснены следующим образом. Используемое в работе поле AMBER было специально создано для описания аминокислот, в то время как поле OPLS-AA «нацелено» на расчеты белков и пептидов. По-видимому, поле OPLS-AA сильно завышает энергию взаимодействия «заряженных» групп цвиттер-ионов аминокислот с водой.

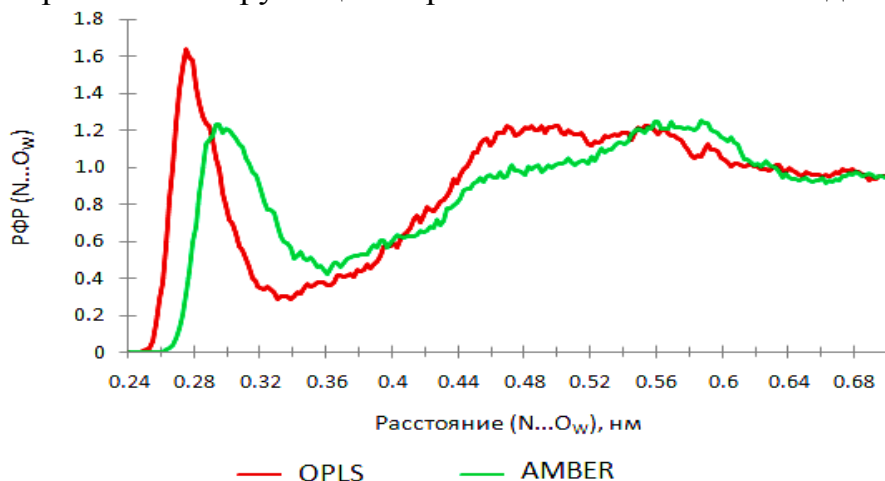


Рис. 2. РФР водного раствора пролина (расстояние N...O_w), рассчитанная при использовании силовых полей AMBER и OPLS-AA.

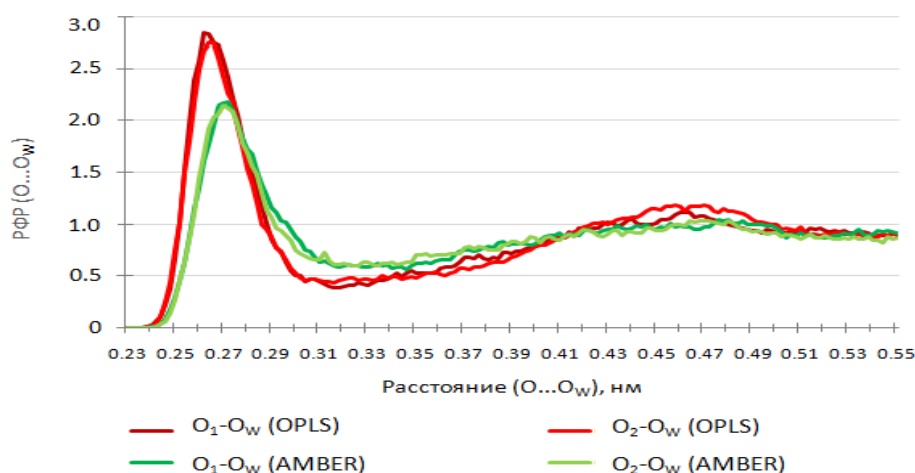


Рис. 3. РФР водного раствора пролина (расстояние O...O_w), рассчитанная при использовании силовых полей AMBER и OPLS-AA.

Значения расстояний, соответствующих первому максимуму РФР водного раствора пролина, рассчитанные в данной работе, сопоставляются в табл. 1 с экспериментальными значениями, найденными в нейтроно-дифракционных исследованиях. Откуда следует, что использование поля OPLS-AA с моделью воды SPC/E (OPLS-SPC/E) приводит к значениям, лежащим систематически ниже экспериментальных данных. В то же время, использование поля AMBER с моделью воды TIP3P (AMBER-TIP3P) дает результаты, хорошо согласующиеся с экспериментом. Это обосновывает использование поля AMBER в дальнейших расчетах трех аминокислот с нейтральной боковой цепью.

Таблица 1

Значения расстояний, соответствующих первому максимуму РФР водного раствора пролина, рассчитанные методом МД и найденные экспериментально (используемые единицы – нм)^{a)}

Расстояние	МД (OPLS-SPC/E)	МД (AMBER-TIP3P)	Нейтронная дифракция	RISM ^{a)}
N ₁ -O _w	0,274	0,292	0,290	0,300
O ₁ -O _w	0,262	0,272	0,280	0,310
O ₂ -O _w	0,266	0,270	0,280	0,313
O ₁ -H _w	0,164	0,178	0,180	0,175
O ₂ -H _w	0,166	0,178	0,180	0,178
N ₁ -H _w	0,342	0,372 (0,352)	-	0,380
H ₂ -O _w	0,170	0,198	0,180	0,175
H ₃ -O _w	0,188	0,202	0,180	0,173

^{a)} RISM - Reference Interaction Site Model

Первая гидратная оболочка цвиттер-ионов. Оценка числа молекул воды, образующих Н-связи с заряженными группами.

Один из основных вопросов, возникающих при использовании так называемого дискретно-континуального подхода – это число молекул воды, образующих Н-связи с заряженными группами цвиттер-иона, и входящих в состав первой гидратной оболочки. Возможным решением данного вопроса выступает анализ водородных связей «цвиттер-ион – вода», образующихся при МД расчетах.

В работе был осуществлён поиск сильных и средних Н-связей вокруг каждого электроотрицательного атома на каждом шаге траектории расчёта с помощью внутреннего инструмента GROMACS – `g_hbond`. Критериями поиска послужили длины Н-связей. Для контактов $O-H^+ \dots O_w$ было выбрано значение 0.29 нм (2.9 Å), охватывающее сильные и средние связи. Для контактов $N-H^+ \dots O_w$ значение радиуса составило 0.32 нм (3.2 Å), т.к. длина $N-H^+ \dots O$ связей обычно больше, чем $O-H^+ \dots O$. Далее было проведено усреднение, результаты которого приведены в табл. 2. Откуда видно, что число молекул воды, взаимодействующих с заряженными группами глицина, варьируется от 5.5 до 7.4. Выше было найдено, что поле OPLS завышает энергию взаимодействия ионов с водой, в результате чего происходит усиление межмолекулярных Н-связей, приводящее к увеличению среднего числа молекул воды, по сравнению с данными, полученными с полем AMBER.

Таблица 2

Среднее количество сильных и средних водородных связей между заряженными группами цвиттер-иона и молекулами воды, рассчитанное для системы «глицин - 1000 молекул воды» с двумя силовыми полями

Группа	MD (glycine)		RISM ^{a)}
	OPLS	AMBER	
NH3+	2.62	1.97	2.35
COO-	4.78	3.53	4.3
COO- & NH3+	7.39	5.50	6.65

^{a)} В последнем столбце приведены данные расчетов водного раствора аланина методом RISM.

Отметим, что данные, полученные при использовании метода МД, хорошо согласуются с данными расчетов методом RISM.

Таким образом, число молекул воды, которое необходимо явно учитывать в дискретно-континуальных моделях цвиттер-ион–вода, составляет 6 или 7.

Расчетный ИК-спектр аминокислот в водном растворе

ИК-спектроскопия широко применяется при исследовании водных растворов белков и пептидов. Обычно изучаются две частотные области: так называемые полосы Амид А и В, находящиеся выше 2900 см^{-1} , и полосы Амид I, II и III, лежащие ниже 1800 см^{-1} . Область $1900 - 2800 \text{ см}^{-1}$ не рассматривается. Именно в этой области частот находятся полосы поглощения, обусловленные валентными колебаниями групп Х-Н, где Х = О и N, образующих короткие (сильные) Н-связи.

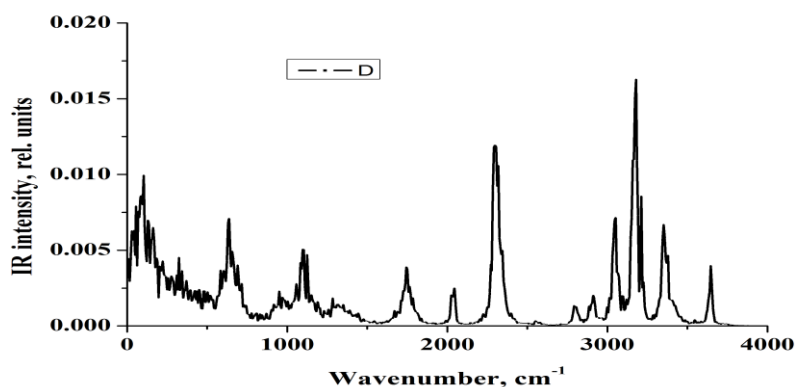


Рис. 4. Расчётный ИК-спектр водного раствора глицина, полученный при использовании силового поля (AMBER-TIP3P).

Ангармонический ИК-спектр рассматриваемых аминокислот в воде получен посредством Фурье-преобразования автокоррелятора дипольного момента, рассчитанного в использовании силового поля (AMBER-TIP3P). ИК-спектр водного раствора глицина приведен на рис. 4.

С помощью литературных данных, нами было проведено отнесение ряда ИК-интенсивных полос в данном расчетном спектре:

3100–3400 cm^{-1} – Интенсивные полосы в этой области обусловлены валентными колебаниями N-H группы, это так называемые полосы Амид А и В.

2800 и 2900 cm^{-1} – Эти полосы, характеризующиеся небольшой ИК-интенсивностью, обусловлены валентными колебаниями C-H группы.

$\sim 1750 \text{ cm}^{-1}$ – Данная полоса обусловлена валентными колебаниями C=O группы, это так называемая полоса Амид I.

Как уже отмечалось выше, область 1900–2800 cm^{-1} обычно не рассматривается при исследовании водных растворов белков и пептидов. Для приближенного отнесения полос в этой области мы использовали данные по ИК-спектрам систем с сильными H-связями в кристаллах.

$\sim 2300 \text{ cm}^{-1}$ – Эта полоса обусловлена валентными колебаниями N-H группы, образующей короткую (сильную) связь N-H⁺...O.

$\sim 2000 \text{ cm}^{-1}$ – По-видимому, эта полоса обусловленная не фундаментальным переходом, то есть она появляется только при выходе за рамки гармонического приближения. Согласно, полоса в этой области наблюдается в двух компонентных кристаллах бензойная кислота-пиридин и связана с двухъямным потенциалом фрагмента N-H⁺...O.

Нами было проведено детальное изучение зависимости расчетного ИК-спектра водного раствора глицина от используемого силового поля и модели воды (рис. 5)

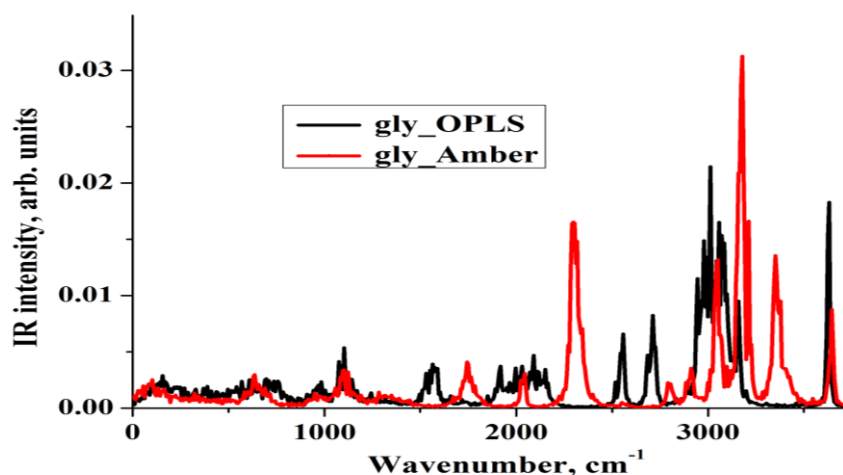


Рис. 5. ИК-спектр водного раствора глицина, полученный при использовании силовых полей OPLS-AA и AMBER.

Из данных, представленных на рис. 5, следует, что в областях частот $\nu < 1500$ и $\nu > 3500 \text{ cm}^{-1}$ спектры практически совпадают, но в промежуточной области $1500 < \nu < 3500 \text{ cm}^{-1}$ наблюдаются различия: в OPLS-спектре, по сравнению с AMBER, полосы сдвинуты в сторону низких частот. Данный эффект обусловлен тем, что силы H-связей, образующихся в результате взаимодействия заряженных групп цвиттер-иона аминокислоты с водой сильно различаются в используемых силовых полях. Спектр, полученный при использовании силового поля AMBER, выглядит более

предпочтительным, в частности, он дает полосу в области 1750 см^{-1} , обусловленную валентными колебаниями С=О группы.

Сравнение расчётных ИК-спектров водных растворов глицина и фенилаланина сделано на рис. 6. Расчетные спектры глицина и фенилаланина очень похожи. Выше 1900 см^{-1} они практически совпадают. Существенные различия наблюдаются в области $1200 - 1700\text{ см}^{-1}$. Они обусловлены вращением фенильного кольца у фенилаланина.

В отличие от фенилаланина, спектр пролина очень сильно отличается от спектра глицина (рис. 7). Согласно нашим расчетам, в спектре пролина нет полос поглощения в области $1900 - 2700\text{ см}^{-1}$. В соответствии с литературными данными, цвиттер-ион пролина практически не образует сильных водородных связей с водой.

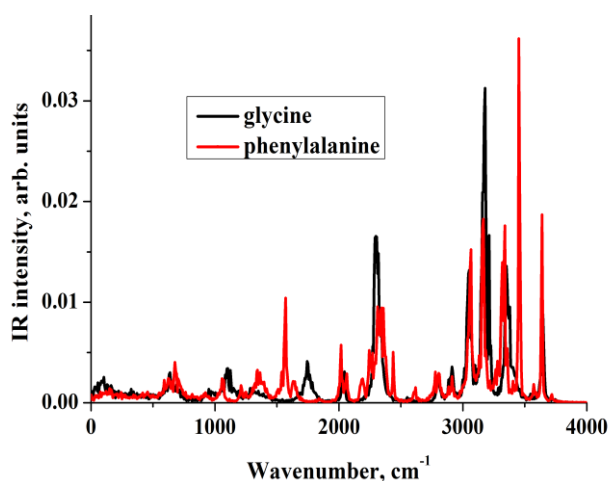


Рис. 6. Сравнение расчётных ИК-спектров водных растворов глицина и фенилаланина, полученных при использовании поля AMBER.

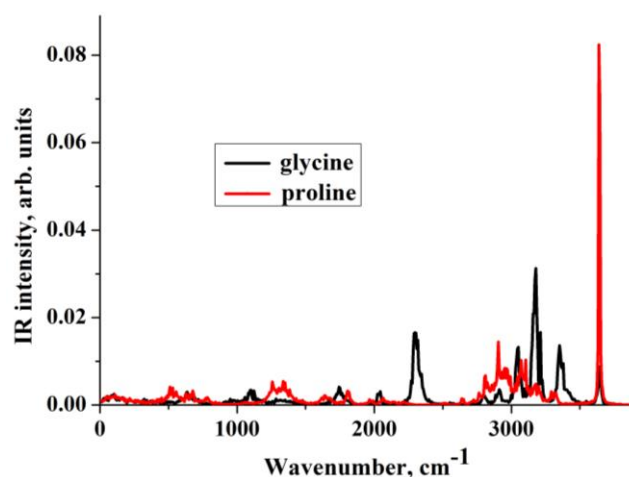


Рис. 7. Сравнение расчётных ИК-спектров водных растворов глицина и пролина, полученных при использовании поля AMBER.

Изучение процессов микросольватации глицина в воде методом теории функционала плотности.

Выше было установлено, что цвиттер-ион глицина в воде образует от 6 до 7-ми Н-связей с молекулами воды (табл. 2). Для описания строения кластеров глицин- $6\text{H}_2\text{O}$ и глицин- $7\text{H}_2\text{O}$ на молекулярном уровне и отнесения полос в расчетном ИК-спектре водного раствора глицина (рис. 4), были проведены расчеты кластеров глицина методами теории функционала плотности (B3LYP/6-31G**) в газовой фазе и в воде. Учет влияния растворителя проводился в приближении РСМ.

Структура кластера глицин- $7\text{H}_2\text{O}$ в газовой фазе и полярном растворителе дана на рис. 8. Откуда видно, что в газовой фазе молекулы воды располагаются компактно, занимая «верхнюю полусферу» над цвиттер-ионом. Они образуют между собой Н-связи «промежуточной» силы, с расстояниями О...О около 2.75 Å . Согласно нашим расчетам, неявный учет растворителя приводит к изменению структуры «гидратной оболочки» комплекса глицин- $7\text{H}_2\text{O}$. Она «расщепляется» на две группы, которые не взаимодействуют между собой посредством Н-связей. Одна группа

состоит из 4-х молекул воды, другая – из трех. Таким образом, структура сольватной оболочки глицин-7H₂O оказывается очень чувствительной к влиянию среды.

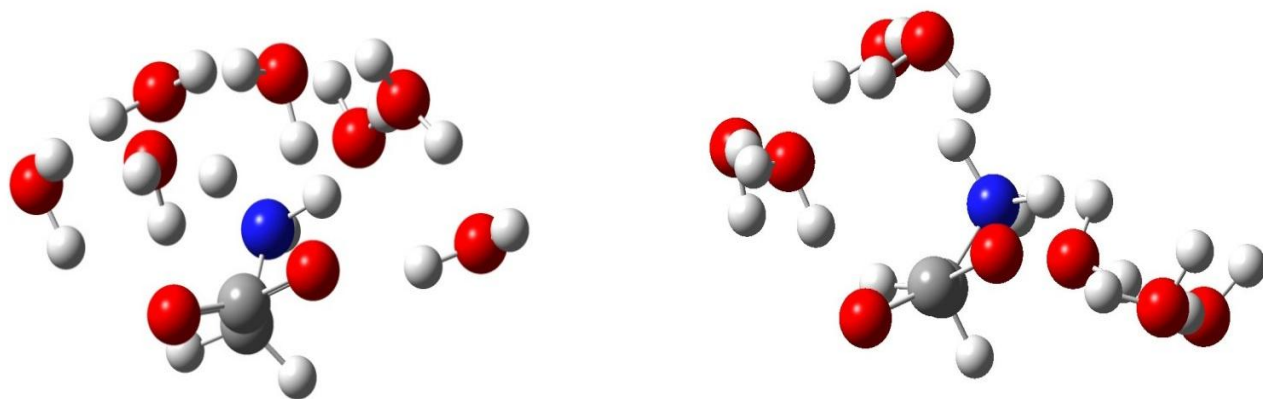


Рис. 8. Структура кластера глицин-7H₂O в газовой фазе и воде. Серым цветом изображены атомы углерода, красным – кислорода, синим – азота, белым – водорода.

Структура кластера глицин-6H₂O в газовой фазе и воде дана на рис. 9. глицин-6H₂O в газовой фазе характеризуется компактным расположением молекул, которые занимают «верхнюю полусферу» над цвиттер-ионом. Они образуют между собой Н-связи «промежуточной» силы, с расстояниями О...О около 2.75 Å.

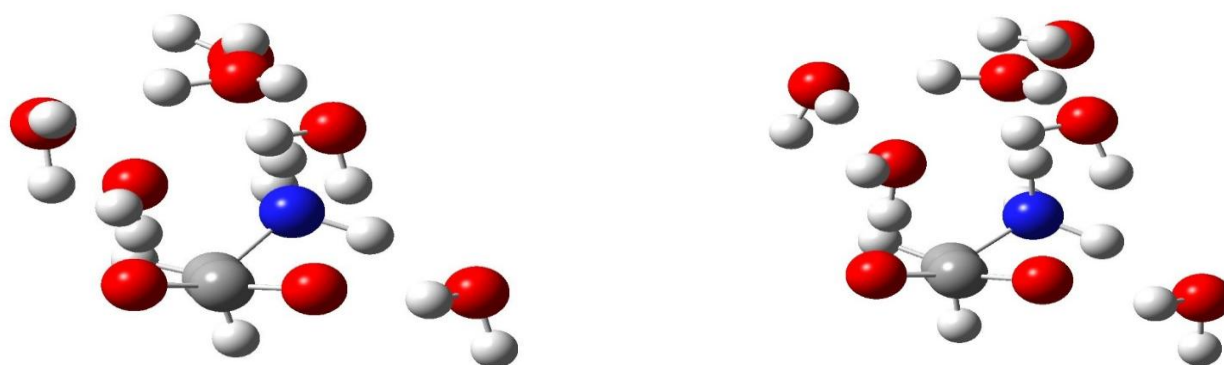


Рис. 9. Структура кластера глицин-6H₂O в газовой фазе и воде. Цвета, используемые для обозначения атомов, определены в подписи к рис. 8.

В отличие от комплекса с 7-ю молекулами воды, сольватная оболочка комплекса глицин-6H₂O слабо изменяется при переходе из газа в раствор. Для объяснения этого явления необходимо детально проанализировать сетку Н-связей в рассчитываемых кластерах.

В газовой фазе молекулы воды образуют вокруг цвиттер-иона упорядоченную структуру (рис. 10), стабильность которой обеспечивается сетью Н-связей «цвиттер-ион – вода» и «вода – вода». Каждая молекула воды образует одну Н-связь с цвиттер-ионом и от одной до трех (глицин-6H₂O) и от одной до двух (глицин-7H₂O) Н-связей с другими молекулами воды.

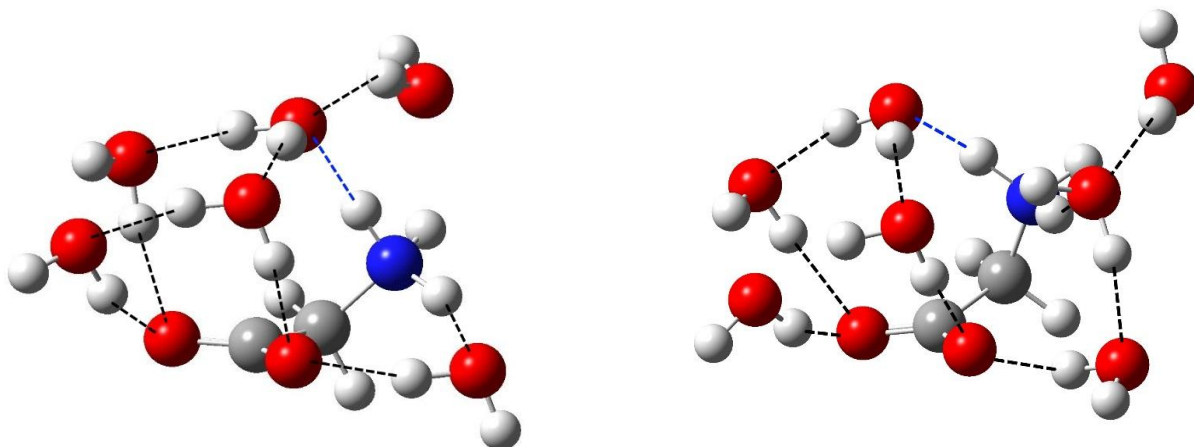


Рис. 10. Сетка Н-связей у комплексов глицин-6Н₂О и глицин-7Н₂О в газовой фазе. Цвета, используемые для обозначения атомов, определены в подписи к рис. 8. Н-связи показаны прерывистыми линиями.

В обоих газофазных кластерах зафиксирована очень короткая (сильная) N-H⁺...O связь, с расстоянием N...O менее 2.7 Å и углом NHO более 164° (табл. 3). В обоих кластерах есть молекула воды, образующая с группой NH₃⁺ очень слабую Н-связь. Отличительной особенностью кластера глицин-6Н₂О является наличие так называемой мостиковой (bridge) молекулы воды, одновременно взаимодействующая с атомом водорода группы NH₃⁺ и атомом кислорода группы COO⁻. Полученный результат соответствует литературным данным.

Как уже отмечалось выше, РСМ модель сильно искажает структуру гидратной оболочки кластера глицин-7Н₂О. В частности, появляется молекула воды, которая не взаимодействует с цвиттер-ионом. Согласно нашим расчетам, появление растворителя приводит к удлинению расстояний O...O и N...O у водородсвязанных атомов (табл. 3). Это уменьшает энергии Н-связей и «расщепляет» гидратную оболочку кластера глицин-7Н₂О на две группы, которые не взаимодействуют между собой посредством Н-связей.

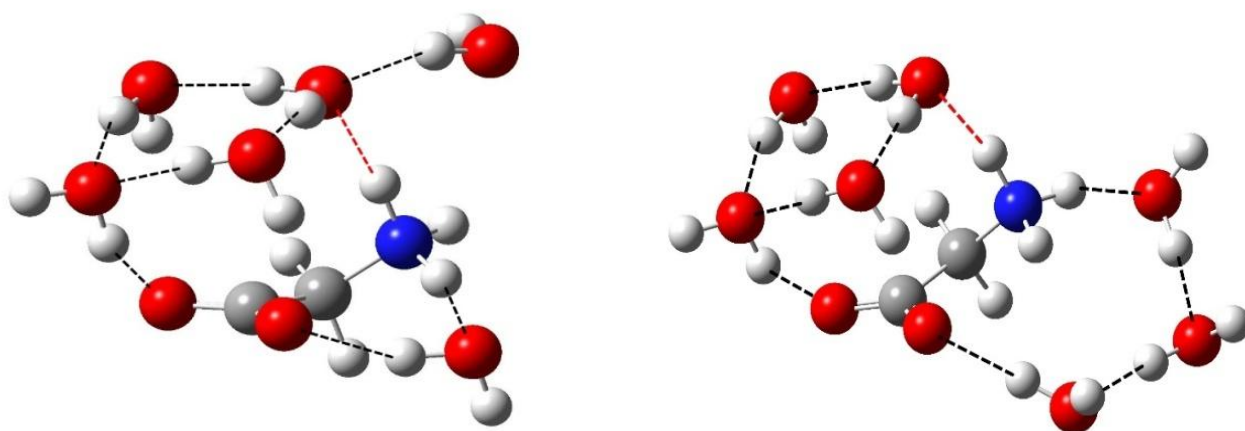


Рис. 11. Сетка Н-связей у кластеров глицин-6Н₂О и глицин-7Н₂О в воде. Цвета, используемые для обозначения атомов, определены в подписи к рис. 8. Н-связи показаны прерывистыми линиями

В кластере глицин-6H₂O «расщепления» гидратной оболочки не наблюдается (рис. 11). Полученный результат можно объяснить следующим образом. Во-первых, в кластере глицин-6H₂O в растворе остается молекула воды, образующая четыре Н-связи. Во-вторых, сохраняется мостиковая молекула воды. Полученные данные позволяют сделать предположение о том, что кластер глицин-6H₂O представляет собой наиболее устойчивую структуру, которая реализуется в водном растворе глицина.

Таблица 3

Наиболее сильные (короткие) X-H...O связи^{а)}, где X = O или N, и гармонические частоты валентных колебаний $\nu(X-H)$ групп, образующих указанные Н-связи, в исследуемых кластерах в газовой фазе и в воде, рассчитанные в приближении V3LYP/6-31G** в газовой фазе и воде (приближение PCM).

Кластер	Фрагмент	Газовая фаза		Водный раствор	
		X...O ^{б)} , Å	$\nu(X-H)$, см ⁻¹	X...O, Å	$\nu(X-H)$, см ⁻¹
глицин-7H ₂ O	O-H...O	2.679 (160)	3256	2.723 (174)	3200
	N-H...O	2.646 (165)	2493	2.759 (167)	2808
глицин-6H ₂ O	O-H...O	2.688 (160)	3178	2.729 (153)	3208
	N-H...O	2.691 (167)	2653	2.792 (171)	2891

а) Критерием сильной (короткой) межмолекулярной Н-связи с квазилинейным фрагментом X-H...O (угол X-H...O > 160 град.) было расстояние между гетероатомами: O...O < 2.60 Å и N...O < 2.80 Å;

б) в скобках приведено значение угла X-H...O (град.)

Из данных, приведенных в табл. 3, следует, что рассматриваемые кластеры в газовой фазе и водном растворе характеризуются ИК интенсивной полосой, лежащей в области 2500 – 2900 см⁻¹. Эта полоса обусловлена валентными колебаниями N-H группы цвиттер-иона, взаимодействующей с молекулой воды посредством короткой (сильной) Н-связи.

Отнесение полосы в области ~ 2300 см-1 в ИК-спектре водного раствора глицина и фенилаланина

Выше уже отмечалось, что ИК-спектры белков и пептидов обычно исследуются в областях выше 2900 см⁻¹ и ниже 1800 см⁻¹. Для интерпретации полосы в области ~ 2300 см⁻¹ в расчетном ангармоническом ИК-спектре водного раствора глицина и фенилаланина нами были рассмотрены литературные данные по ИК-спектрам аминокислот, пептидов и систем с сильными N-H⁺...O связями в газовой фазе и конденсированном состоянии.

Согласно литературным данным, широкая полоса в области 2500 см⁻¹ является «специфической чертой» связи N-H⁺...O, образованной протонированным концевым атомом N в изолированных дипептидах. Аналогичный результат был получен для протонированных пептидов на основе полиаланина. ИК интенсивная полоса около ~ 2700 см⁻¹ обусловлена валентными колебаниями группы NH⁺ фрагмента NH⁺...O=C наиболее стабильного конформера пептида Ala₄N⁺. Расчетные работы, посвященные изучению микросольватации аминокислот водой, приводят к аналогичным результатам. Конформеры кластеров лизин-(H₂O)₃ и аргинин-(H₂O),

соответствующие глобальному минимуму, характеризуются ИК-интенсивной полосой с частотой ~ 2600 и ~ 2350 см^{-1} , соответственно. Эта полоса обусловлена колебаниями короткой (сильной) связью $\text{N-H}^+\dots\text{O}$ между NH_2 группой аминокислоты и водой.

Две интенсивные полосы около 1930 и 2450 см^{-1} зафиксированы в ИК-спектрах комплексов пиридин-бензойная кислота в твердом теле. Эти полосы обусловлены валентными колебаниями групп O-H/N-H фрагмента $\text{N-H}^+\dots\text{O}$. ИК-полосы в области $2500 - 2600$ см^{-1} существуют у трех форм сокристалла 4-гидроксибензойной кислоты: 4,4'-бипиридина и солей цитозина. В этих кристаллах реализуется короткая (сильная) $\text{N-H}^+\dots\text{O}$ водородная связь.

Область частот $1700 - 2500$ см^{-1} изучалась экспериментальными и расчетными методами при исследовании сеток протонированных кластеров воды в бактериородопсине и так называемых «протонных насосов» в биологических системах. Особое внимание уделялось спектральным особенностям простейших гидратов протона, в частности, иону H_5O_2^+ . Его специфической особенностью является ИК-интенсивная полоса около 1720 см^{-1} . Влияние процесса перехода протона на частоты колебаний комплексов с короткой межмолекулярной связью $\text{N-H}^+\dots\text{O}$ изучалось. В результате изменения строения указанного фрагмента, вызванного изменением диэлектрической проницаемости от 1 до 4.9, частота валентного колебания группы O-H в комплексе 2,4,6-триметилпиридина с 3,5-динитробензойной кислотой уменьшается от 2500 до 2300 см^{-1} .

Из результатов данной работы следует, что спектральной особенностью водных растворов глицина и фенилаланина является ИК-активная полоса в области ~ 2300 см^{-1} . Таким образом, указанная полоса может быть обнаружена при использовании методов колебательной спектроскопии, в частности, спектроскопии НПВО.

Глава 4. СТРОЕНИЕ, КОНФОРМАЦИОННАЯ ПОДВИЖНОСТЬ И СПЕКТРАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КОМПЛЕКСА ГУАНИДИН-АЦЕТАТ

Интерпретация ИК-спектра водного раствора гуанидин-ацетата при использовании данных расчетов квантово-химическими методами с неявным учетом растворителя (РСМ-модель).

ИК-спектр комплекса гуанидин – ацетат в водном растворе, полученный после вычитания спектра поглощения воды (метод НПВО), приведен на рис. 12. Отнесение полос в экспериментальном спектре гуанидин-ацетата было проведено при использовании результатов квантово-химических расчетов контактной ионной пары (КИП) гуанидин-ацетат с H -связями в газовой фазе и водном растворе (приближение РСМ), (табл.4). Различия в значениях волновых чисел и ИК-интенсивностей максимумов полос поглощения, полученных в ходе расчетов в приближении V3LYP/6-31G^{**} с или без учета растворителя, обусловлены изменением конформации КИП с H -связями при переходе от газовой фазы к водному раствору (рис. 13). Значения волновых чисел максимумов полос поглощения, относящихся к N-H колебаниям, полученные из расчета в газовой фазе, оказываются несколько завышенными по сравнению с экспериментальными значениями из-за отсутствия эффектов окружения в случае расчета КИП в газовой фазе.

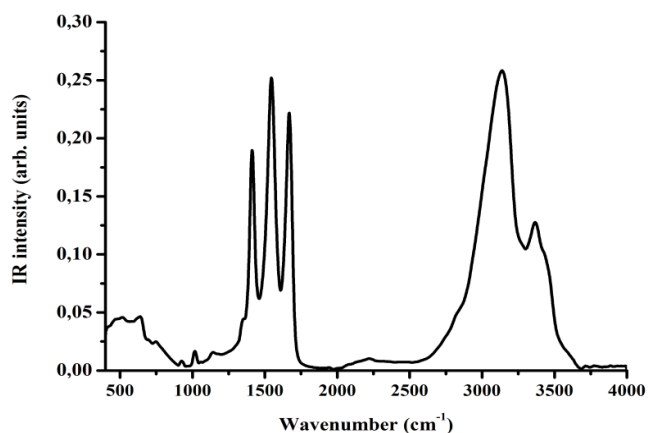


Рис. 12. ИК спектр гуанидин-ацетата в водном растворе, полученный после вычитания спектра поглощения воды (метод НПВО).

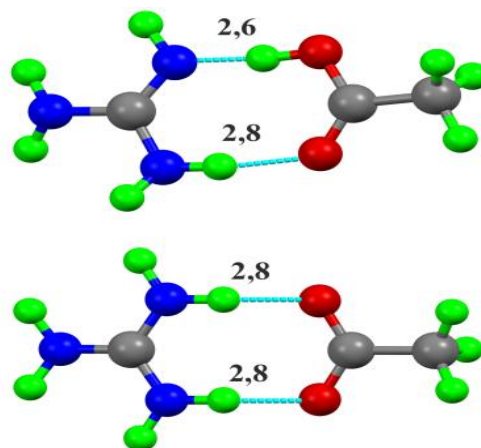


Рис. 13. Структуры КИП в газовой фазе (верхняя панель) и в водном растворе (нижняя панель). Серым цветом изображены атомы углерода, красным – кислорода, синим – азота, зеленым – водорода. Н-связи обозначены пунктирными линиями. Расстояния N...O приведены в Å.

Таблица 4
Сравнение значений максимумов полос поглощения (cm^{-1}) в ИК спектре КИП гуанидин-ацетат, полученных экспериментально (эксп.) и методами DFT.

Эксп. ^{a)}	DFT (B3LYP/6-31G**) ^{b)}		Отнесение полос
	Газовая фаза ^{b)}	Водный раствор (PCM)	
3363 оч.с.	3537 (59)	3253 (546) ^{Г)}	Валентные колебания N-H
3135 с.	3241 (861)	3081 (2219) ^{Г)}	Валентные колебания C-H и N-H
2212 оч.сл.	2458 (2659)	-	Антисимметричное колебание O-H...N
1669 оч.с.	-	1682 (870)	Валентные колебания C-N и деформационные колебания NH ₂
	1726 (579)	1632 (642)	Антисимметричное колебание COO ⁻
	1477 (105)	1624 (585)	Валентные колебания C-N и деформационные колебания NH ₂
1546 оч.с.	1613 (190)	1552 (11)	Деформационные колебания NH ₂
1412 оч.с.	1314 (209)	1425 (436)	Деформационные колебания CO ₂ и валентное колебание C-C
1344 сл.	1371 (197)	1362 (42)	Деформационные колебания CH ₃
1138 сл.	1138 (22)	1143 (38)	Маятниковые колебания NH ₂
-	1068 (103)	-	Внеплоскостное деформационное колебание O-H...N
1018 сл.	1000 (6)	1053 (14) ^{Г)}	Маятниковое колебание CH ₃

926 сл.	882 (18)	915 (18)	Валентное колебание С-С и деформационное колебание CO ₂
742 ср.	706 (119); 55 (226)	808 (122)	Внеплоскостные деформационные колебания NH ₂
521 ср.	505 (21)	552 (38)	Деформационные колебания N-C-N

^{a)} оч.с. – очень сильная полоса, с. – сильная, ср. – полоса средней интенсивности, сл. – слабая, оч.сл. – очень слабая; ^{b)} в скобках приведены значения интегральных ИК-интенсивностей полос поглощения; ^{b)} рассчитанные гармонические частоты комплекса гуанидин-ацетат в газовой фазе были масштабированы на 0.9686; ^{r)} наиболее интенсивная полоса среди группы полос с близкими значениями волновых чисел ($\pm 10 \text{ см}^{-1}$)

Из таб. 4 следует, что данные расчетов приближении РСМ комплекса гуанидин-ацетат в виде КИП с двумя Н-связями удовлетворительно согласуются с экспериментальными значениями максимумов полос поглощения и их ИК интенсивностей. Интенсивная полоса в области 1670 см^{-1} главным образом обусловлена антисимметричными колебаниями карбоксильной группы и валентными колебаниями связей С–N, что согласуется с существующими литературными данными; полосы же в области 1550 см^{-1} и 1410 см^{-1} обусловлены деформационными колебаниями $-\text{NH}_2$ и $-\text{COO}^-$ групп. Единственным исключением является полоса около 2200 см^{-1} , которая будет рассмотрена ниже.

Для отнесения широкой полосы с частотой $\sim 2200 \text{ см}^{-1}$ необходимо учесть, что эта полоса является типичной для систем с сильными (короткими) Н-связями. Согласно литературными данными среднее время жизни связанного состояния ионной пары (критерием связанности ионной пары служило значение расстояние N...O $\sim 3,5 \text{ \AA}$) составляет порядка несколько десятков пс. В РСМ расчетах используется некоторая усредненная конфигурация КИП с двумя Н-связями, т.е. остается не учтенным целый ряд короткоживущих структур. Таким образом, для изучения спектральных проявлений сильной Н-связи с явным учетом динамики структурных изменений КИП в водном растворе требуется использование классической МД.

Анализ структуры и динамики водородосвязанных комплексов в водном растворе гуанидин-ацетат

Для детального изучения возможных конформаций Н-связанных структур в растворе было исследовано взаимное расположение атомов углерода гуанидина и ацетата (рис. 14 и 15).

В МД расчетах использовались два силовых поля и две непояризуемые модели воды, а именно: AMBER (TIP4P/2005) и OPLS-AA (SPC/E). Атом-атомные функции радиального распределения гуанидин-ацетат, полученные в результате МД расчетов с двумя силовыми полями, представлены на рис. 14 и 15. Функции распределения были вычислены для траекторий разной длины. Относительно «длинные» траектории (15 нс) рассчитывались на стадии термостатирования. Относительно короткие (100 пс) использовались при расчете ИК-спектров.

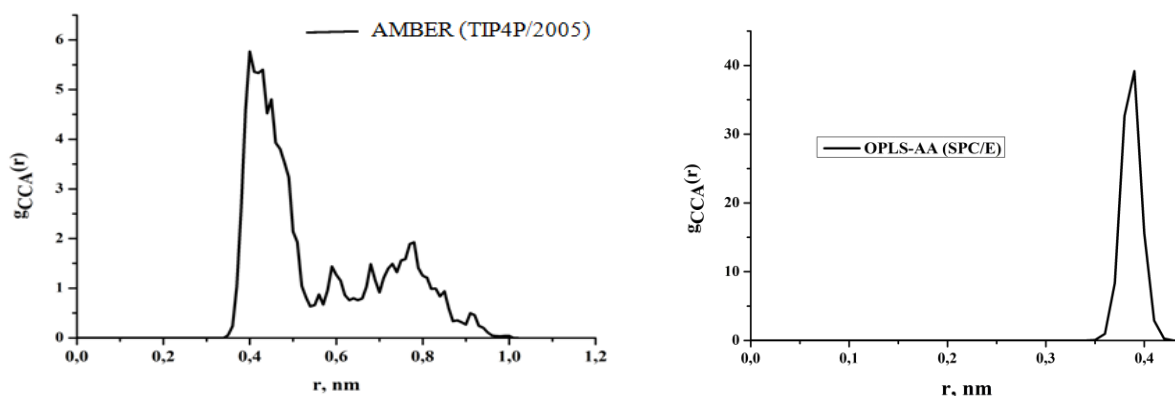


Рис. 14. Атом-атомные функции радиального распределения гуанидин-ацетат, полученные в результате МД расчетов с двумя моделями силовых полей (длина траектории 100 пс).

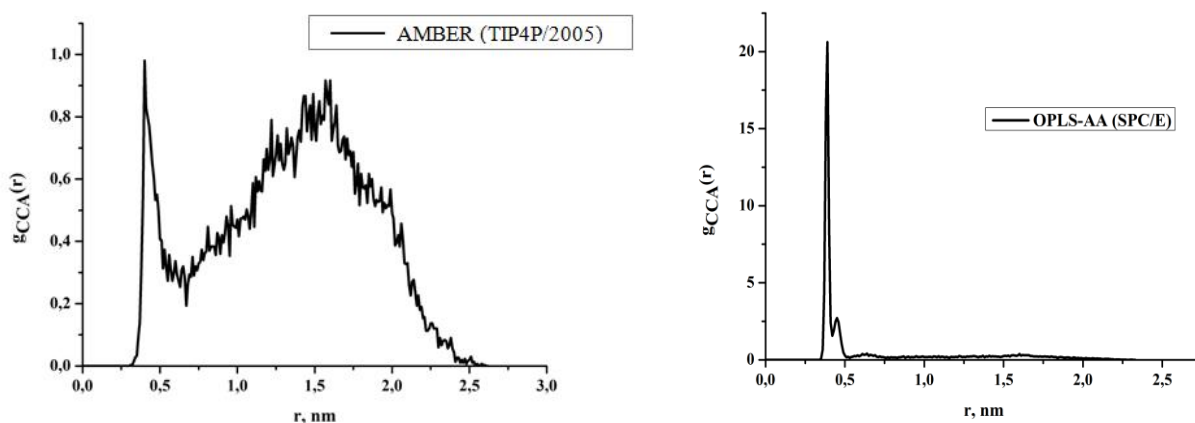


Рис. 15. Атом-атомные функции радиального распределения гуанидин-ацетат, полученные в результате МД расчетов с двумя моделями силовых полей (длина траектории 15 нс).

Высокие пики в области $\sim 0,4$ нм характеризуют КИП с двумя Н-связями, или бидентатную структуру (рис. 16а); пик средней ширины в области $0,43 - 0,49$ нм соответствует КИП с одной Н-связью, или монодентатной структуре (рис. 16б). Также локализованы так называемые сольватно-разделенные структуры, когда между гуанидином и ацетатом встраиваются одна, две и более молекулы воды (рис. 16в). Подобные структуры практически не реализуются при моделировании с использованием силового поля OPLS-AA, о чем свидетельствует поведение функции радиального распределения, начиная с $0,5$ нм на рис. 14 и 15. Также в ходе моделирования были зафиксированы структуры с бифуркатными Н-связями (рис. 16г).

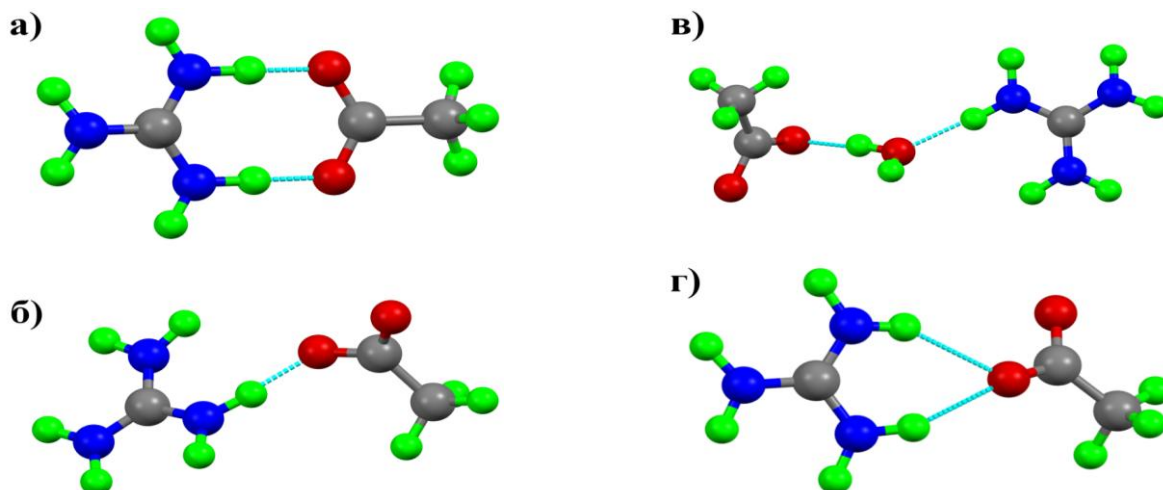


Рис. 16. Основные структуры, реализующиеся в ходе МД моделирования (силовое поле AMBER). Цвета, используемые для обозначения атомов, определены в подписи к рис. 13.

Расчет ИК-спектра комплекса гуанидин-ацетат в воде методом классической молекулярной динамики

ИК-спектры, полученные методом классической МД с использованием силовых полей AMBER (модель воды – TIP4P/2005) и OPLS-AA (модель воды – SPC/E) представлены на рис. 17, а значения волновых чисел максимумов полос поглощения приведены в табл. 5.

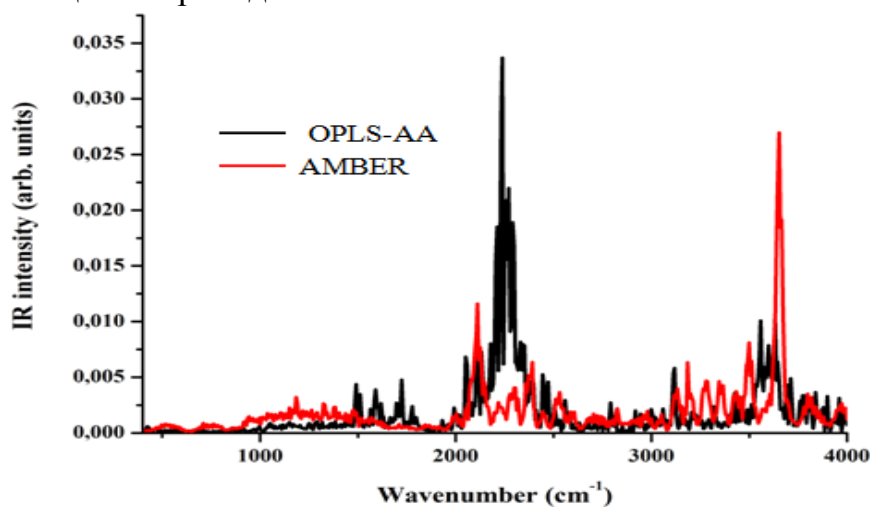


Рис. 17. ИК-спектр КИП гуанидин-ацетат в водном растворе, полученный в ходе МД моделирования с использованием

Характерной особенностью полученных ИК-спектров является наличие полосы в области $2100 - 2300 \text{ cm}^{-1}$, соответствующей антисимметричным колебаниям $\text{N-H}^+ \dots \text{O}$ фрагмента. Из табл. 5 и рис. 17 видно, что ИК-спектр, полученный при расчете с использованием силового поля OPLS-AA, хуже согласуется с экспериментальными данными. Сильная полоса в области $2100 - 2300 \text{ cm}^{-1}$ свидетельствует о завышении силы и стабильности водородных связей $\text{N-H}^+ \dots \text{O}$ в ходе моделирования КИП гуанидин-ацетат с использованием силового поля OPLS-AA.

Таблица 5

Сравнение волновых чисел максимумов полос поглощения (см-1) в ИК-спектре КИП гуанидин-ацетат, полученных экспериментально и в результате МД моделирования с использованием различных силовых полей.

Эксперимент	AMBER (TIP4P/2005)	OPLS-AA (SPC/E)
521	517	-
742	750	-
926	1320± 385	-
1018		-
1051		-
1138		-
1344		-
1412		1491
1546		1591
1669		1724
2212	2111	2238
3135	3185	3118
3363	3345	3425
-	3499	3559
-	3652	3632

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе был развит подход, позволяющий изучать спектральные свойства и строение сильных межмолекулярных Н-связей в водных и структурированных средах, образующихся в системах/комплексах, не существующих в газовой среде или изолированном состоянии. Подход основан на совместном использовании методов ИК-спектроскопии, теории функционала плотности с учетом растворителя в континуальном приближении и молекулярной динамики с классическими силовыми полями. Этот подход использован для изучения строения сольватной оболочки и ИК-спектра водных растворов аминокислот с нейтральной боковой цепью и исследования строения, динамики и спектральных особенностей водного раствора ионной пары гуанидин-ацетат.

Методом молекулярной динамики с классическими силовыми полями проведены расчеты трех аминокислот с нейтральной боковой цепью (глицин, фенилаланин и пролин) в воде. Кубическая ячейка состояла из одной молекулы аминокислоты и 1000 молекул воды. Аминокислоты описывались силовыми полями AMBER и OPLS, а вода - моделями TIP3P и SPC/E. Радиусы отсечки электростатических и ван-дер-ваальсовых взаимодействий составляли 1.4 нм и 1.2 нм, соответственно. В расчетах использовался NPT ансамбль, длина шага составляла 0.5 фс. Длина траектории составляла 10 нс (выход на равновесие) и 1нс (сбор информации и обработка полученных данных). Посредством сопоставления расчетных радиальных функций распределения пролина с экспериментальными данными найдено, что силовое поле AMBER с моделью воды TIP3P дает наилучшие

результаты по сравнению с силовым полем OPLS и моделью воды SPC/E. Получены следующие результаты:

- Первая гидратная оболочка цвиттер-иона глицина включает в себя от шести до семи молекул воды, взаимодействующих с аминокислотой посредством сильных и средних водородных связей;

- Рассчитан ангармонический ИК-спектр трех аминокислот в воде. ИК-спектры глицина и фенилаланина характеризуются интенсивной полосой в области $\sim 2300 \text{ см}^{-1}$;

- Отсутствие этой полосы у пролина объясняется низкой кислотностью протонов группы NH_2^+ по сравнению с группой NH_3^+ глицина и фенилаланина.

Для отнесения полосы в области $\sim 2300 \text{ см}^{-1}$ были проведены расчеты кластеров глицин- $6\text{H}_2\text{O}$ и глицин- $7\text{H}_2\text{O}$ в газовой фазе и воде. При этом использовался метод теории функционала плотности в приближении B3LYP/6-31G**. Полярный растворитель рассматривался в приближении поляризуемого континуума. Получены следующие результаты:

- Детально исследованы процессы микросольватации цвиттер-иона глицина в воде, в частности, на атомном уровне описана структура гидратной оболочки;

- Показано, что полярная среда слабо влияет на строение кластера глицин- $6\text{H}_2\text{O}$ и сильно искажает гидратную оболочку кластера глицин- $7\text{H}_2\text{O}$;

- Изученные кластеры характеризуются ИК-интенсивной полосой в области, лежащей в диапазоне $2500 - 2900 \text{ см}^{-1}$. Эта полоса обусловлена валентными колебаниями N-H группы цвиттер-иона, взаимодействующей с молекулой воды посредством короткой (сильной) H-связи.

Совместное использование расчетных методов с явным (молекулярная динамика) и неявным (приближение поляризуемого континуума) учетом растворителя позволило выявить спектральную особенность водных растворов глицина и фенилаланина, а именно: ИК-активную полосу в области $\sim 2300 \text{ см}^{-1}$, обусловленную сильной межмолекулярной N-H...O связью. Таким образом, указанная полоса может быть обнаружена при использовании методов колебательной спектроскопии, в частности, спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения.

Методом спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения был получен ИК-спектр водного раствора ионной пары гуанидин-ацетат в области $400 - 4000 \text{ см}^{-1}$. Этот спектр характеризуется ИК-интенсивными полосами в области 1670, 1550 и 1410 см^{-1} и малоинтенсивной, широкой полосой в области $2100 - 2300 \text{ см}^{-1}$. Отнесение полос в экспериментальном спектре было выполнено посредством совместного использования методов квантовой химии и молекулярной динамики.

ИК-спектр контактной ионной пары гуанидин-ацетат с двумя H-связями в воде был рассчитан методом теории функционала плотности с неявным учетом растворителя (приближение PCM). Согласно этим расчетам, ИК-интенсивные полосы в области 1670, 1550 и 1410 см^{-1} обусловлены валентными и деформационными колебаниями групп, формирующих восьмичленное кольцо бидентатной структуры гуанидин-ацетата. Теоретический спектр хорошо согласуется с экспериментальным, за исключением полосы в области $2100 - 2300 \text{ см}^{-1}$. Было предположено, что эта полоса обусловлена короткоживущими структурами с сильными межмолекулярными H-связями.

Для изучения спектральных проявлений сильной Н-связи с явным учетом динамики структурных изменений контактной ионной пары гуанидин-ацетат в водном растворе был использован метод классической молекулярной динамики. Кубическая ячейка состояла из одной молекулы гуанидин-ацетата и 1000 молекул воды. Гуанидин-ацетат описывался силовыми полями AMBER и OPLS, а вода - моделями TIP4P/2005 и SPC/E. Радиусы отсечки электростатических и ван-дер-ваальсовых взаимодействий составляли 1.5 нм и 1.4 нм, соответственно. В расчетах использовался NPT ансамбль, длина шага составляла 0.5 фс. Длина траектории составляла 15 нс (выход на равновесие) и 1 нс (сбор информации и обработка полученных данных). Получены следующие результаты:

- Установлено, что контактная ионная пара гуанидин-ацетат в водном растворе образует водородосвязанные бидентатные, монодентатные структуры, также реализуются структуры с бифуркатными Н-связями. Относительная устойчивость этих структур зависит от силового поля и модели воды, использованных в расчетах.

- В расчетном ИК-спектре, найденном при использовании различных силовых полей/моделей воды, присутствует полоса в области 2100 – 2300 см⁻¹. Она обусловлена колебаниями +N-H групп, образующих сильные межмолекулярные N-H⁺...O связи в комплексе гуанидин-ацетат.

Таким образом, совместное использование квантово-химических методов и методов молекулярной динамики при сравнении с экспериментальными данными, полученными в настоящей работе методом спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения, позволяют получить целый ряд информации о структуре и динамических механизмах в биологических объектах. Указанные методы взаимно дополняют друг друга. Квантово-химические методы на основе теории функционала плотности дают разумные результаты для структуры и колебательных спектров систем с межмолекулярными Н-связями в газовой фазе и полярных апротонных растворителях и позволяют существенно упрощать расчеты при описании атомно-молекулярных систем распределения электронной плотности. В этом случае квантово-химические расчеты в РСМ приближении могут давать недостоверные результаты из-за использования усредненной структуры. В результате остается не учтенным целый ряд короткоживущих систем, в частности, существование структур с сильными (короткими) межмолекулярными Н-связями. Разумный компромисс представляет собой метод молекулярной динамики с классическими силовыми полями. С одной стороны, он позволяет явно рассматривать молекулы растворителя, то есть учитывать короткоживущие системы с сильными (короткими) Н-связями. С другой стороны, не требует больших вычислительных мощностей. Таким образом, комбинированное использование методов теории функционала плотности и молекулярной динамики с классическими силовыми полями представляется наиболее перспективным подходом для исследований сильных Н-связей в биологических объектах и позволяет интерпретировать экспериментальные данные, полученные методом ИК-спектроскопии.

ВЫВОДЫ

1. Комбинированное использование методов теории функционала плотности и молекулярной динамики с классическими силовыми полями, представляется наиболее перспективным подходом для исследований сильных Н-связей в

биологических объектах и позволяет интерпретировать экспериментальные данные, полученные методом ИК-спектроскопии.

2. Наличие полосы в области $\sim 2300 \text{ см}^{-1}$ в ИК-спектре водных растворов глицина и фенилаланина обусловлено валентными колебаниями NH_3^+ группы аминокислот, образующей с молекулами воды первой гидратной оболочки сильные Н-связи. Отсутствие этой полосы у пролина объясняется низкой кислотностью протонов группы NH_2^+ по сравнению с группой NH_3^+ глицина и фенилаланина.

3. Первая гидратная оболочка цвиттер-иона глицина включает в себя от шести до семи молекул воды, взаимодействующих с аминокислотой посредством сильных и средних водородных связей. Найдено, что полярная среда слабо влияет на строение кластера глицин-6 H_2O и сильно искажает гидратную оболочку кластера глицин-7 H_2O .

4. Наблюдаемые ИК-интенсивные полосы водного раствора ионной пары гуанидин-ацетат в области 1670, 1550 и 1410 см^{-1} обусловлены валентными и деформационными колебаниями групп, формирующих восьмичленное кольцо бидентатной структуры гуанидин-ацетата.

5. Малоинтенсивная и широкая полоса в области 2100 – 2300 см^{-1} обусловлена колебаниями +N-H групп, образующих сильные межмолекулярные N-H⁺...O связи в комплексе гуанидин-ацетат.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Levina E.O. Spectral features of contact ion pairs. the combined ATR-IR and theoretical study of guanidinium acetate / E.O. Levina, B.V. Lokshin, B.D. Mai, M.V. Vener // Chem. Phys. Lett. – 2016. – V. 659. – P. 117-120.

2. Koloskov O.O. Classical MD simulations of the IR spectra of amino acids with neutral residues in water. Reassignment of the band around 2300 см^{-1} / O.O. Koloskov, E.O. Levina, B.D. Mai, M.V. Vener // Сорбционные и хроматографические процессы. Воронеж, 2016. – Т. 16, Вып. 4. – С. 556-562.

3. Венер М.В. Спектральные особенности контактной ионной пары гуанидин-ацетат в воде. исследование методами нпво и теории функционала плотности / М.В. Венер, В.Н. Попов, Б.З. Май, Б.В. Локшин // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2016. № 3 – С. 58-62.

Статьи и тезисы, опубликованные в других изданиях

4. Венер М.В. Изучение процессов микросольватации глицина в воде методами ТФП в приближении поляризуемого континуума / М.В. Венер, В.Н. Попов, Б.З. Май // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов: межрегион. сб. науч. работ. Вып. 17. – Воронеж, 2015. – с. 41-48.

5. Koloskov O.A. The IR signature of aminoacids in water. Insights from the classical MD / O.A. Koloskov, E.O. Levina, B.D. Mai, M.V. Vener // Сборник статей XII Всероссийской конференции с международным участием «Проблемы сольватации и комплексообразования в растворах. От эффектов в растворах к новым материалам». Иваново, 29 июня-3 июля 2015 г. – С. 36 - 37.

6. Левина Е.О. Спектральные проявления короткой (сильной) Н-связи в водном растворе комплекса гуанидин-ацетат. Совместное изучение методами классической МД и НПВО / Е.О. Левина, Б.В. Локшин, Б.З. Май, М.В. Венер // Сборник статей X Всероссийской школы - конференции молодых ученых "Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем". Иваново, 26-30 октября 2015 г. – С. 66 - 67.