УДК 543.421/.424: 577.29

СРАВНЕНИЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИХ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИК-СПЕКТРОВ КОМПЛЕКСОВ АТОМА ЦИНКА С МОЛЕКУЛАМИ АЛАНИНА

Пешкова Т.В., Сальникова Е.В., Пешков С.А.

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет», Оренбург, e-mail: radislavy@mail.ru

На основе DFT и *ab initio* расчетов определены геометрическая структура и устойчивость комплексов иона цинка, расположенного между двумя аминокислотами аланина, с участием и без участия двух молекул воды. Построены профили трехмерного сечения поверхности потенциальной энергии (ППЭ) реакции образования гидроксида цинка в комплексах цинка с двумя молекулами аланина в присутствии молекул воды $Zn^{2+} + 2Ala + 2H_2O \leftrightarrow Zn(OH)_2$ + продукты. Ограниченным методом Хартри – Фока ROHF с энергетической поправкой второго порядка Мёллера – Плессе MP2 рассчитаны теоретические ИК-спектры комплексов цинка с молекулами аланина в отсутствии и присутствии молекул воды. Проведено сравнение теоретических ИК-спектров поглощения аланина и металлокомплексов цинка с молекулами аланина с экспериментальными ИК-спектрами среды супернатанта без металла и среды супернатанта после инкубации с бактериями, аккумулировавшими Zn. Выявлена закономерность проявления отдельных комбинированных частот в сложных ИК-спектрах комплексов аланина.

Ключевые слова: аланин, комплексы цинка с аминокислотами, ИК-спектры, сечение ППЭ

THEORETICAL AND EXPERIMENTAL IR-SPECTRA OF ZINC COMPLEXES WITH MOLECULES ALANINE

Peshkova T.V., Salnikova E.V., Peshkov S.A.

Orenburg State University, Orenburg, e-mail: radislavy@mail.ru

Based on DFT and ab initio calculations of have defined geometric structure and stability of the zink complexes, located between the two amino acids alanine, with and without the participation of two water molecules. We constructed a three-dimensional sectional profiles of the potential energy surface (PES) formation reaction of zinc hydroxide in zinc complexes with two molecules of alanine in the presence of water molecules $Zn^{2+} + 2Ala + 2H_2O \leftrightarrow Zn(OH)_2$ + products. Restricted Hartree-Fock method ROHF with energy-adjusted second-order of Möller-Plesset MP2 calculated theoretical IR-spectra of zinc complexes with molecules of alanine in the absence and presence of water molecules. Have compared of theoretical IR-spectra of alanine and zinc complexes with molecules alanine and experimental IR-spectra of metal-free supernatant and supernatant after incubation with with Zn accumulating bacteria.

Keywords: alanine, zinc complexes with amino acids, IR-spectra, PES section

Биоаккумуляция металлов бактериями может осуществляться, в частности, вследствие образования комплексов аминокислот и белков с атомами металлов, которые могут поглощаться бактериями по известным специальным механизмам транспорта [1, 3].

Большинство теоретических работ по исследованию процессов связывания металлов с аминокислотами и белками основаны на квантово-химических расчетах комплексов аминокислот с металлами [4, 6–8]. Это связано с тем, что белки являются громоздкими системами, расчеты комплексов белков затруднительны и требуют больших ресурсов ЭВМ. В свою очередь, аминокислоты, являясь структурными единицами белков, содержат в составе порядка двадцати атомов, что делает их удобными для квантово-химического моделирования. Однако представляет интерес исследование процессов образования комплексов металлов с аминокислотами в присутствии молекул воды, поскольку процессы аккумуляции металлов бактериями протекают в растворе.

В связи с этим целью работы является определение структуры и устойчивости комплексов атома цинка с двумя аминокислотами аланина при участии и без участия молекул воды; сравнение теоретических ИК-спектров поглощения аминокислот и металлокомплексов цинка с молекулами аланина с экспериментальными ИК-спектрами среды супернатанта без металлов и среды супернатанта после инкубации с бактериями аккумулировавших Zn.

В работе квантово-химическими методами проведено моделирование структуры комплексов цинка с двумя молекулами аланина без участия воды и в их присутствии; исследована реакция $Zn + 2Ala + 2H_2O \rightarrow Zn(OH)_2$ + фрагменты. Рассчитаны и проанализированы ИК-спектры поглощения металлокомплексов цинка с аланином и экспериментальные ИК-спектры сред супернатанта.

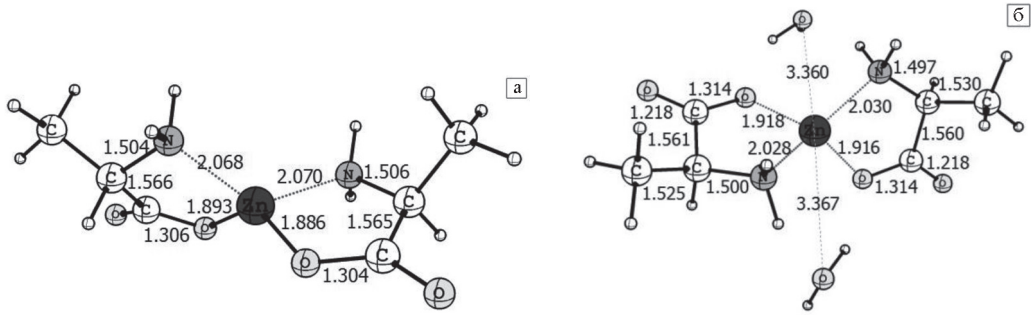

Рис. 1. Структура оптимизированных комплексов аланина с цинком:
а – оптимизированное равновесное состояние комплекса ^{1}[Ala-Zn-Ala]^0 в отсутствии молекул воды,
б – оптимизированное равновесное состояние комплекса ^{1}[Ala-Zn-Ala]^{0}с двумя молекулами воды

Материалы и методы исследования

Оптимизация геометрических параметров равновесных состояний комплексов осуществлялась в рамках метода теории функционала плотности (DFT), с обменно-корреляционным функционалом B3LYP [10], на функциях неограниченного метода Хартри – Фока с базисом 6-31G(1p,1d) с учетом теории возмущений Меллера – Плессе (MP2) [8]. Оптимизация проводилась только для связей атомов кислорода и азота с атомом цинка и связей, ближайших к атомам кислорода и азота, остальные естественные переменные замораживались. Расчет и анализ профилей сечений поверхности потенциальной энергии (ППЭ) произведен по методу DFT с использованием B3LYP/6-31G(p,d) базиса. Расчет колебательных спектров отдельной молекулы аланина и комплексов двух молекул аланина с цинком проведен с помощью метода DFT с учетом энергетической поправки MP2. Все рассчитанные частоты ИК–спектров, полученные при использовании функционала B3LYP/6-31G(p,d), были умножены на множитель 0.9627 (scaling factor), а при использовании метода MP2/6-31G(p,d) – на 0.9377. Scaling factor выбран на основании данных статьи [6]. Все расчеты проведены в пакете программ FireFly 8.1. Экспериментальное определение ИК-спектров произведено с помощью ИК Фурье-спектрометра ФТ-10 (Россия). Получение спектров происходило в атмосфере воздуха.

Результаты исследования и их обсуждение

Рассчитанная структура комплексов ^{1}[Ala-Zn-Ala]^0 без молекул воды и в присутствии молекул воды приведена на рис. 1.

Согласно расчетам, атомы азота и кислорода координируются вокруг металла в виде тетраэдра, при этом расположение атомов азота и кислорода с противоположных сторон от атома цинка (L-аланин) менее выгодно по энергии. Разница между D-аланином, где с противоположных сторон от атома цинка находятся два атома азота или два атома кислорода, и L-аланином составляет 0,002 а.е.м. (0,054 эВ). В живых системах в большинстве случаев присутствует L-аланин, поэтому при проведении расчетов выбрана L-конфигурация.

Рассчитанные длины связей и углов в молекуле аланина хорошо согласуются с экспериментальными данными и результатами расчетов работ [2, 9, 11]. Компьютерное моделирование структуры комплекса ^{1}[Ala-Zn-Ala]^0 без молекул воды (рис. 1 а) приводит к результатам, согласующимся с результатами работ, где теоретически рассматриваются комплексы Val-Zn-Val, Gly-Zn-Gly, Ser-Zn-Ser [5, 13].

Определение устойчивости исследуемых комплексов проводилось на основе анализа рассчитанных трехмерных профилей сечений ППЭ (рис. 2) и вычисления энергии диссоциации (D_0) связи Ala-Zn с участием двух молекул воды и без участия молекул воды. Можно заметить, что связи Zn-O и Zn-N в обоих комплексах весьма прочные, но вода стабилизирует комплекс и повышает его устойчивость. Энергия связи Zn-O в комплексе ^{1}[Ala-Zn-Ala + $2H_2O$]^0 составляет 3,15 эВ при расстоянии R(Zn-O) = 1,92 Å. Энергия связи Zn-N в комплексе ^{1}[Ala-Zn-Ala + $2H_2O$]^0 составляет 3,41 эВ при расстоянии R(Zn-N) = 2,03 Å (рис. 3).

Известно, что аминокислоты в составе свободных белков и белков внутренних частей мембраны бактерий могут находиться на относительно большом (~5-6Å) и малом (~3-4Å) расстояниях [12]. Квантово-химический расчет показывает, что если металл расположен между двумя аминокислотами на относительно большом расстоянии, то в присутствии двух молекул воды происходит безбарьерная реакция, в которой образуется $Zn(OH)_2$ + фрагменты (рис. 3).

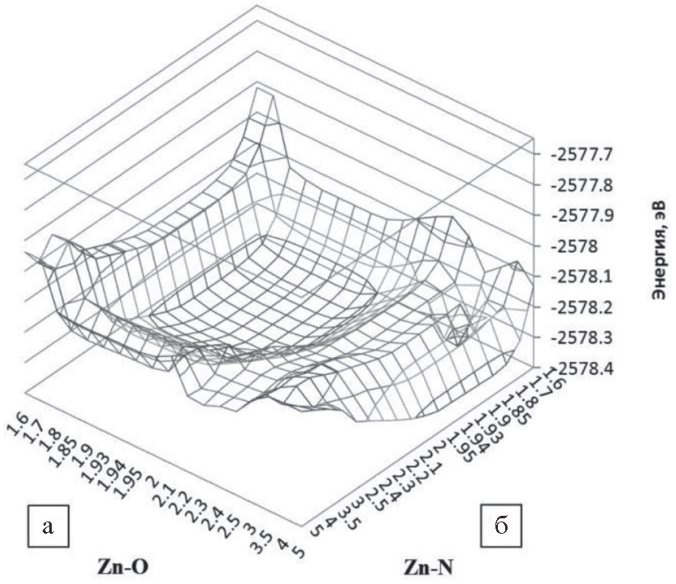

Рис. 2. Трехмерные профили сечений ППЭ вдоль связей Zn-Ala реакции взаимодействия Zn + 2Ala + 2H$_2$O: а – координата реакции Zn-O, б – координата реакции Zn-N

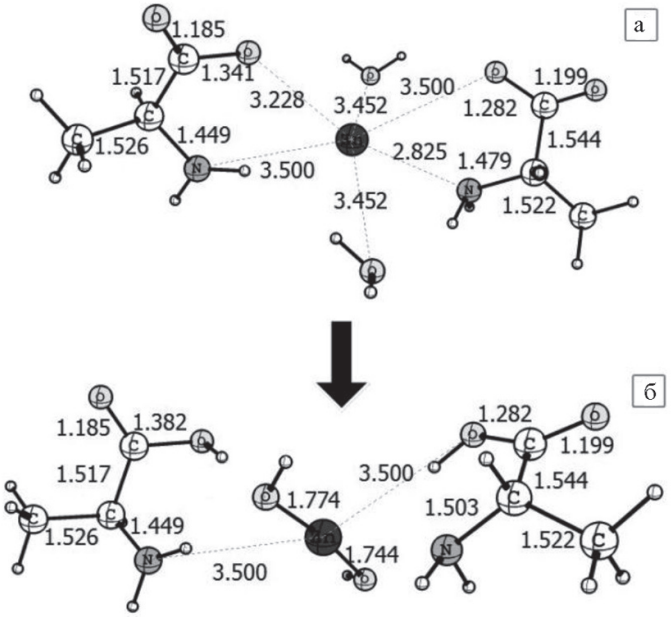

Рис. 3. Образование гидроксида цинка из метастабильного состояния с двумя молекулами воды, в котором цинк расположен на больших расстояниях от аминокислот: а – в начале реакции, б – в конце реакции

Если же расстояние между молекулами аланина и атомом цинка относительно мало, то образуется комплекс, в котором обе молекулы воды входят в состав системы (рис. 1 б). По-видимому, такая структура комплекса и стереохимические затруднения не позволяют протекать реакции с образованием $Zn(OH)_2$. Присутствие в среде супернатанта молекул гидроксида цинка может быть установлено и при исследовании ИК-спектров супернатанта после инкубирования бактерий с цинком на протяжении 36 часов по смещению и появлению новых комбинированных частот в области 600 и 800 см$^{-1}$ с основным вкладом ν(OH), ν(ZnO), ν(ZnOH), отсутствовавших в среде

супернатанта без металла и в среде супернатанта на нулевой момент времени инкубации. Рассчитанные колебательные частоты ν(O-H), ν(Zn-O), δ(ZnOH) в изолированной молекуле гидроксида цинка и в комплексе ^{1}[Ala-Zn-Ala-2H_2O]^{0}в присутствии молекул воды приведены в таблице.

Анализ теоретических ИК-спектров поглощения молекулы [$Zn(OH)_2$] показывает, что частоты ν(OH), практически совпадают с частотами ν(OH), в комплексе ^{1}[Zn + 2Ala + 2H_2O]^0 (Δν ≈ 10 см$^{-1}$), частоты ν(Zn-O) несколько сдвинуты в красную область, в то время как частоты деформационного колебания δ(ZnOH) в комплексе ^{1}[Ala-$Zn(OH)_2$-Ala]^0 сдвинуты как в красную, так и в синюю область по сравнению с аналогичными колебаниями в ^{1}[$Zn(OH)_2$]^0. При этом в комплексе ^{1}[Ala-H-$Zn(OH)_2$-Ala-H]^0 появляются дополнительные пики, соответствующие комбинированным колебаниям, где основной вклад от δ(ZnOH) смешивается с валентными и деформационными колебаниями скелета молекулы аланина.

Сравнение ИК-спектров поглощения в комплексе ^{1}[Ala-Zn-Ala + 2H_2O]^0 с экспериментальным спектром ИК супернатанта после 36 часов культивирования бактерий *B. licheniformis* штамма ВКПМ В 7038 в жидкой среде в присутствии солей цинка**,** показывает (рис. 4), что пики на частотах 400–600 см$^{-1}$ и в области 800 см$^{-1}$ могут быть идентифицированы как частоты ν(ZnO), δ(ZnOH), характерные для гидроксида цинка $Zn(OH)_2$.

В теоретическом расчете ИК-спектра комплекса ^{1}[Ala-Zn-Ala]^0 имеются слабые комбинированные частоты с наибольшим вкладом от колебаний Zn-N, Zn-O в области 400–600 см$^{-1}$ в сочетании с крутильными колебаниями NH_2, CH_3, CH_2. В области 600–700 см$^{-1}$ наблюдается частота ν(NH_2) = 636 см$^{-1}$ крутильного колебания функциональной группы NH_2, связанной с ионом цинка. Можно полагать, что в экспериментальных ИК-спектрах супернатанта после культивирования бактерий солями цинка полоса поглощения с волновым числом ν(NH_2) = 657–669 см$^{-1}$ можно также отнести к крутильному колебанию функциональной группы NH_2. Необходимо отметить, что в теоретическом расчете ИК-спектра безметального бимолекулярного комплекса ^{1}[Ala-Ala]^0 пик крутильного колебания функциональной группы NH_2 находится в области 200–300 см$^{-1}$.

Выводы

В результате моделирования комплексов цинка с двумя молекулами аланина в присутствии молекул воды может реализоваться как безбарьерное образование системы [$Zn(OH)_2$ + 2Ala], так и образование единого синглетного комплекса ^{1}[Ala$^-$-Zn-Ala$^-$ + 2H_2O]^0, где атом Zn расположен на близком расстоянии от аминокислот и вследствие стерических затруднений не может образоваться гидроксид цинка.

Сравнение ИК-спектров поглощения среды супернатанта до и после инкубации с бактериями, аккумулировавшими Zn, и теоретических ИК-спектров гидроксида цинка, комплекса ^{1}[Ala$^-$-Zn-Ala$^-$ + 2H_2O]^0 указывает на появление дополнительных пиков в полосе 600–800 см$^{-1}$ в ИК-спектре среды супернатанта, связанных, предположительно, с колебаниями ν(ZnO), δ(ZnOH) в $Zn(OH)_2$. Наряду с этими колебаниями нужно отметить сложные колебания, отнесенные к колебаниям углеродного скелета комплекса ^{1}[Ala-Zn-Ala]^0 и имеющие вклады от ν(OH), ν(ZnO), δ(ZnOH), что подтверждает экспериментально установленную возможность образования в среде супернатанта гидроксида цинка $Zn(OH)_2$ в процессе аккумуляции ими Zn бактериями *B. licheniformis* штамма ВКПМ В 7038.

Частоты валентных ν(O-H), ν(ZnO) и деформационных δ(ZnOH) колебаний, см$^{-1}$, в ИК-спектрах поглощения в изолированной молекуле гидроксида цинка и в гидроксиде цинка, образованном в ходе реакции Zn^{2+} + 2Ala$^-$ + 2H_2O→$Zn(OH)_2$ + 2Ala (частоты умножены на множитель 0.9627-scaling factor), расчет DFT/B3LYP/6-31(p,d)

Система	Теоретический расчет	
	Нейтральная (протонированная) форма аланина (рис. 3 б) ^{1}[Ala-$Zn(OH)_2$-Ala]^0	^{1}[$Zn(OH)_2$]^0
ν(O-H)	3753.90, 3707.00	3747.33, 3704.60
ν(Zn-O)	608,45(сим.) 785.76 (антисим.)	661,9 (сим.) 831,92 (антисим.)
δ(ZnOH)	847.77, 683.38,717.22,758.39,792.58, 805.7, 828.08	780,94 767,82

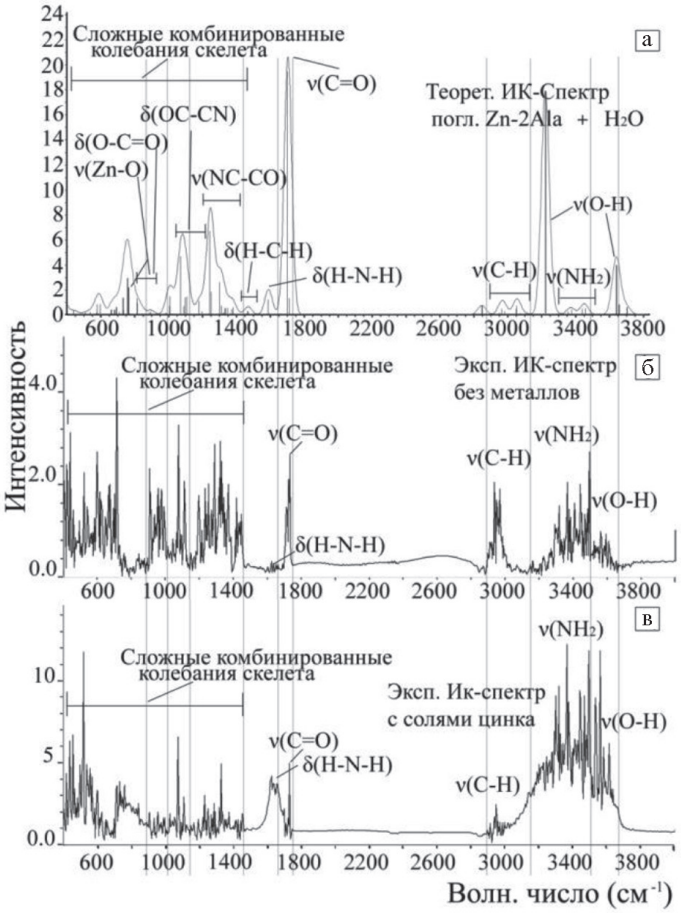

Рис. 4. Теоретический и экспериментальные ИК-спектры комплексов и различных сред супернатанта: а – теоретический спектр комплекса [Zn^{2+}-Ala^{-}_{2}], б – спектр супернатанта после 36 ч культивирования с бактериями без металлов, в – спектр супернатанта после 36 ч культивирования с бактериями с цинком

Статья выполнена при поддержке гранта Оренбургской области в сфере научной и научно-технической деятельности № 17.

Список литературы

1. Винокуров Л.М., Алахов Ю.Б. Катехольный сидерофор, продуцируемый терморезистентным штаммом Bacillus licheniformis VK21 // Биоорганическая химия. – 2003. – № 29. – С. 597–604.

2. Destro R., Marsh R.E., Bianchi R. A low-temperature (23 K) study of L-alanine // J. Phys. Chem. – 1988. – № 92. – P. 966–973.

3. Foulkes E.C. Transport of toxic heavy metals across cell membranes // Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. – 2000. – № 223. – P. 234–240.

4. Mandal S., Das G., Askari H. Experimental and quantum chemical modeling studies of the interactions of L-Phenylalanine with divalent transition metal cations // J. Chem. Inf. Model. – 2014. – № 54. – P. 2524–2535.

5. Mandal S., Das G., Askari H. A combined experimental and quantum mechanical investigation on some selected metal complexes of l-serine with first row transition metal cations // J. Mol. Struct. – 2015. – № 1081. – P. 281–292.

6. Merrick J.P., Moran D., Radom L. An evaluation of harmonic vibrational frequency scale factors // J. Phys. Chem. A. – 2007. – № 111. – P. 11683–11700.

7. Remko M., Fitz D., Broer R., Rode B.M. Effect of metal Ions (Ni2+, Cu2+ and Zn2+) and water coordination on the structure of L-phenylalanine, L-tyrosine, L-tryptophan and their zwitterionic forms // J Mol Model. – 2011. – № 17. – P. 3117–3128.

8. Umadevi P., Senthilkumar L. Influence of metal ions (Zn 2+, Cu 2+, Ca 2+, Mg 2+ and Na+) on the water coordinated neutral and zwitterionic l-histidine dimer // RSC Adv. – 2014. – № 90. – P. 49040–49052.

9. Simpson H.J., Marsh R.E. The crystal structure of L-alanine // ActaCryst. – 1966. – № 20. – P. 550–555.

10. Smit H., Van der Goot H., Nauta W.T., Timmerman H., de Bolster M.W., Stouthamer A.H., Vis R.D. Mechanism of action of th ecopper (I) complex of 2, 9-dimethyl-1, 10-phenanthroline on Mycoplasma gallisepticum // Antimicrob. Agents. Chemother. – 1982. – № 21. – P. 881–886.

11. Stepanian S.G., Reva I. D., Radchenko E.D., Adamowicz L. Conformational behavior of α-alanine. Matrix-isolation infrared and theoretical DFT and ab initio study // J. Phys. Chem. A. – 1998. – № 102. – P. 4623–4629.

12. Venkatachalam C.M. Stereochemical criteria for polypeptides and proteins/ V. Conformation of a system of three linked peptide units // Biopolymers. – 1968. – № 6. – P. 1425–1436.

13. Yang G., Zhu R., Zhou L., Liu C. Interactions of Zn (II) with single and multiple amino acids. Insights from density functional and ab initio calculations // J. Mass Spectrom. – 2012. – № 47. – P. 1372–1383.