

УДК 543.554.4+544.03

О.С.Чернышева, А.М.Одноволова

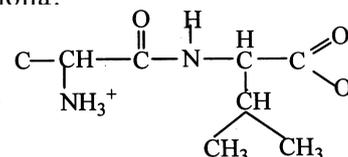
КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ИОНОВ МЕДИ (II) С DL- α -АЛАНИЛ-DL- α -ВАЛИНОМ В МИЦЕЛЛЯРНЫХ РАСТВОРАХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Методом конкурентной рН-метрии исследовано влияние мицеллярной среды анионного (*n*-додецилсульфат натрия), катионного (цетилпиридиний хлорид) и неионного (Бридж-35) поверхностно-активных веществ на равновесия комплексообразования ионов меди (II) с DL- α -аланил-DL- α -валином. Полуэмпирическим квантово-химическим расчетом определено вероятное строение комплексов меди(II) с дипептидом. Установлено, что в мицеллярных растворах додецилсульфата натрия образуются комплексы CuL₂ и CuH₋₁L, а в водных и мицеллярных растворах цетилпиридиний хлорида и Бридж-35 — еще и комплекс CuH₋₂L⁻. Устойчивость комплексов зависит от заряда поверхности мицеллы и связывания отдельных форм мицеллярной псевдофазой.

ВВЕДЕНИЕ. К числу важнейших биологических реакций, протекающих в живых организмах, относятся реакции диссоциации пептидов, входящих в состав белков, по амино- или карбоксильной группе и их взаимодействие с ионами металлов. Результаты исследования равновесий, полученные в водных растворах [1–8], часто не отражают специфическое поведение реагента в биологических системах, которые являются микрогетерогенными средами. В присутствии микроагрегатов количественные характеристики химических равновесий могут изменяться по сравнению с водными растворами. Более адекватными моделями биологических систем — биомиметиками — принято считать организованные растворы поверхностно-активных веществ (ПАВ) [9]. В них есть области для электростатических и гидрофобных взаимодействий с растворенными веществами. Вопросу исследования констант протолитических равновесий аминокислот и аминокислотных кислот в мицеллярных растворах ПАВ [10–12] и реакций комплексообразования некоторых металлов в растворах биомиметиков [13–18] последнее десятилетие стали уделять внимание. Остается актуальным исследование равновесий комплексообразования биоллигандов в мицеллярных средах, поскольку они изучены в меньшей степени. Это будет способствовать более глубокому пониманию биологических процессов, происходящих в живых организмах.

Цель настоящей работы — выявление эффектов мицеллярной среды анионного (*n*-додецил-

сульфат натрия), катионного (цетилпиридиний хлорид) и неионного (Бридж-35) поверхностно-активных веществ по отношению к комплексообразованию ионов меди (II) с DL- α -аланил-DL- α -валином. Как и аминокислоты, DL- α -аланил-DL- α -валин имеет концевые амино- и карбоксильные группы, а в растворе существует в виде цвиттер-иона:



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ. Растворы готовили с использованием бидистиллированной воды, свободной от карбонатов (удельная электропроводность $1.5 \cdot 10^{-6} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$). Коммерческие препараты цетилпиридиний хлорида моногидрата C₂₁H₃₈NCl·H₂O (содержание основного вещества 99.0–101.0%), Бридж-35 (C₂H₄O)₂₃C₁₂H₂₆O производства фирмы Merck (Германия), DL- α -аланил-DL- α -валина, пригодного для хроматографии (Венгрия), нитрата меди (II) квалификации ч. использовали без дополнительной очистки. Додецилсульфат натрия производства Appli Chem (массовая доля основного компонента 97%, *M* = 288.38 г/моль) перед применением дополнительно очищали перекристаллизацией из изопропилового спирта [19]. Точную концентрацию раствора нитрата меди (II) определяли иодометрически [20].

Растворы NaOH, свободные от карбонатов, готовили по известной методике из насыщенно-

го раствора NaOH [21] и стандартизовали по навескам адипиновой кислоты с индикатором фенолфталеином. Раствор HCl получали разбавлением концентрированного раствора HCl (плотность 1.17 г/см³) квалификации х.ч. и стандартизовали по навескам карбоната натрия [21].

Электродвижущую силу измеряли согласно компенсационной схеме (потенциометр Р-307, рН-метр-милливольметр рН-121 в качестве нуль-инструмента) при 25.0 ± 0.1 °С. Потенциометрическая ячейка состояла из стеклянного электрода ЭСЛ-6-307 и полуэлемента сравнения ЭВЛ-1М3. При исследовании равновесий в мицеллярных растворах ДСН вводили дополнительное жидкостное соединение в виде солевого мостика, заполненного раствором 1 моль/л NH₄NO₃ в агар-агаровом геле, чтобы избежать образования малорастворимой соли додецилсульфата калия. Стандартное отклонение измерений э.д.с. в такой цепи составляло 2·10⁻⁴ В. Стеклянный электрод градуировали по стандартным буферным растворам с рН 9.18, 6.86, 4.01 и 1.68.

Во всех случаях концентрация ПАВ равнялась 0.10 М. Чтобы сблизить, насколько возможно, природу солевого фона в водном растворе и мицеллярных средах в качестве фонового электролита для поддержания ионной силы 0.10 М в водных и мицеллярных растворах Бридж-35 выбран хлорид натрия. Ионная сила в мицеллярных растворах ЦПХ и ДСН поддерживалась собственной концентрацией ПАВ без добавления хлорида натрия.

Равновесия комплексообразования исследовали методом конкурентной рН-метрии. В титруемом растворе стехиометрическое соотношение металл : лиганд составляло 1:2, титрантом являлся раствор гидроксида натрия. Концентрации меди (II), дипептида и гидроксида натрия равнялись 3.0·10⁻³, 6.0·10⁻³ и 6.0·10⁻³ М соответственно.

Данные потенциометрических титрований обрабатывали по программе CLINP 2.1 (<http://www.bestnet.kharkov.ua/kholin/clinp.html>, Холин Ю.В., Мерный С.А., Коняев Д.С.). О качестве описания экспериментальных данных судили с помощью критерия

$$\chi^2 = \sum_{k=1}^n w_k \varepsilon_k^2,$$

где $\varepsilon_k = [H^+]_k^{\text{выч}} - [H^+]_k^{\text{изм}}$, а w_k — статистичес-

кий вес k -го результата измерения, вычисленного как $w_k = 1/(S^2[H^+]_k^2)$.

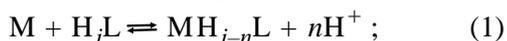
Модели комплексообразования отбирались на основании рекомендаций, приведенных в работе [22]. Полученные в параллельных опытах значения логарифмов констант диссоциации и комплексообразования усредняли, используя подход, предложенный в статье [23]. Он учитывает корреляцию значений констант, полученных из одного эксперимента и их ошибки. Подход реализован в виде модуля программы MATLAB 7.0 (<http://www.mathworks.com/>). Другие расчеты проводили при помощи Exel (<http://office.microsoft.com> 2002, Microsoft Corporation). Для квантово-химических расчетов структуры и энергий комплексов использовали программу GAMESS (<http://www.msg.ameslab.gov/games/>), полуэмпирический метод РМ6.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ. Имея концевые карбоксильную и аминогруппу аланил-валин способен вступать в кислотно-основные равновесия. Кроме того, поскольку динамические агрегаты ПАВ в растворе образуют псевдофазу, которая не может быть механически отделена от водной, эти равновесия осложняются реакциями связывания каждой из протолитических форм дипептида мицеллами поверхностно-активных веществ. Равновесия в таком микрогетерогенном растворе описывают с помощью “кажущихся” констант диссоциации, K_a^{app} [24]. Их определение основано на измерении рН в объеме водной фазы и вычислении общей равновесной концентрации каждой протолитической формы, которая является суммой равновесных концентраций определенной формы в объеме водной фазы и мицеллярной псевдофазе, отнесенные к общему объему раствора. Связывание веществ мицеллярной псевдофазой характеризуют константами связывания.

Концепция “кажущихся” констант может быть использована для описания констант устойчивости комплексов металлов в мицеллярных средах.

В общем случае константа устойчивости реакции комплексообразования (уравнение (1)) может быть описана уравнением (2) для “чистых” водных растворов и (3) — для мицеллярных растворов (заряды металла (M), лиганда (H₂L) и комплексов опущены), предполагая, что все части-

цы распределены между мицеллярной псевдофазой и объемом водной фазы:



$$\lg\beta = \lg \frac{[MH_{i-n}L][H^+]^n}{[M][H_iL]}; \quad (2)$$

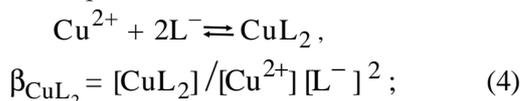
$$\lg\beta^{app} = \lg\beta + \lg \frac{1 + K_{b,MH_{i-n}L}\Delta c}{1 + K_{b,M}\Delta c + K_{b,H_iL}\Delta c + K_{b,M}K_{b,H_iL}\Delta c^2}, \quad (3)$$

где $K_{b,M}$, K_{b,H_iL} , $K_{b,MH_{i-n}L}$ — константы связывания мицеллами ПАВ ионов металла, лиганда и комплексов соответственно; $\Delta c = (c_s - cmc)$; cmc — критическая концентрация мицеллообразования (ККМ) соответствующего ПАВ; c_s — общая концентрация ПАВ.

Как следует из уравнения (3), устойчивость комплексов в мицеллярной среде будет возрастать, если значения констант связывания комплекса выше полученного положительного второго слагаемого в уравнении (3), и понижаться, если ион металла и лиганд имеют большее сродство к мицеллярной псевдофазе по сравнению с металлокомплексом.

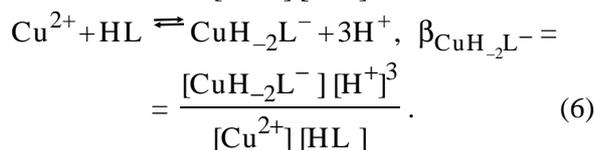
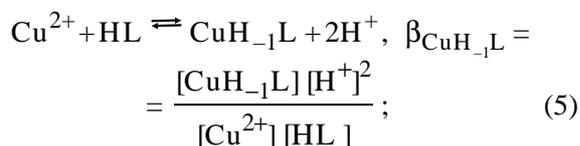
Комплексы металл—дипептид часто рассматриваются как модельные соединения для исследования природных металлопротеинов. Комплексы ионов меди с дипептидами также показывают значительную биологическую активность и могут использоваться для терапевтических целей [25, 26]. Известно, что в водных растворах ионы Cu^{2+} могут образовывать комплексы с дипептидом, замещая протоны карбоксильной, амино- и амидной групп [5, 27]. Комплекс состава $CuH_{-1}L$, где ионы меди координируются карбоксильной группой, пептидным азотом и аминогруппой дипептида преобладают при физиологическом значении pH в водных растворах при соотношении металл : лиганд 1:1 [28].

Мы исследовали реакции комплексообразования ионов Cu^{2+} с DL- α -аланил-DL-валином в мицеллярных растворах и водной среде (таблица). Экспериментально полученные кривые титрования можно описать следующими реакциями:



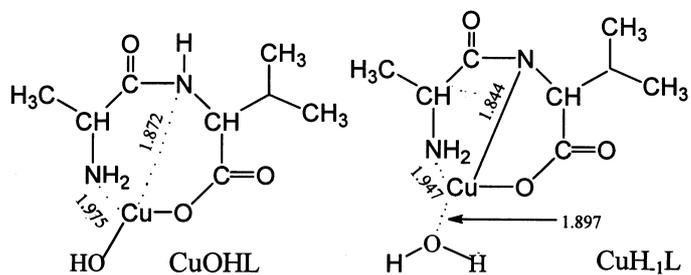
Логарифмы констант устойчивости комплексов Cu^{2+} с DL- α -аланил-DL-валином в водной и мицеллярных средах

Среда	Комплекс	$\lg\beta^{app}, n=3, P=0.95$
Водная, $I=0.10$ М (NaCl)	CuL_2	10.93 ± 0.05
	$CuH_{-1}L$	-7.49 ± 0.01
	$CuH_{-2}L^-$	-14.23 ± 0.07
Мицеллярная, ЦПХ, 0.10 М	CuL_2	9.98 ± 0.05
	$CuH_{-1}L$	-7.25 ± 0.01
	$CuH_{-2}L^-$	-14.19 ± 0.02
Мицеллярная, Бридж-35, $I=0.10$ М (NaCl)	CuL_2	10.17 ± 0.06
	$CuH_{-1}L$	-7.35 ± 0.01
	$CuH_{-2}L^-$	-13.87 ± 0.05
Мицеллярная, ДСН, 0.10 М	CuL_2	9.68 ± 0.07
	$CuH_{-1}L$	-9.81 ± 0.07



Недостатком конкурентной pH-метрии является невозможность получить информацию о строении комплексов.

Над установлением строения комплексов аминокислот и пептидов с биологически активными металлами ученые работают еще с первой половины XX века [29]. При одном стехиометрическом составе строение комплекса $CuH_{-1}L$ можно описать двумя эквивалентными формулами:



Вычисленная полуэмпирическим квантово-химическим методом PM6 разность энергий (ΔE)

=20.70 ккал/моль) этих комплексов позволяет сделать вывод, что комплекс CuH_1L более устойчив по сравнению с CuOHL , поскольку имеет меньшую энергию образования. Это не противоречит данным, полученным при исследовании структуры комплексов дипептидов с ионами Cu^{2+} разными физико-химическими методами [4, 5, 30]. В этих работах отмечалось наличие прочной координационной связи между атомом азота пептидной группы и ионом Cu^{2+} , а также наличие координационной связи иона Cu^{2+} со свободной аминогруппой и присутствии молекулы воды в координационной сфере комплекса CuH_1L . Поэтому в нашем случае можно предположить, что *DL*- α -аланил-*DL*-валин по отношению к ионам Cu^{2+} также является тридентатным лигандом и координируется через азот пептидной связи, а также через amino- и карбоксильную группы.

При переходе от водных растворов к мицеллярным растворам ЦПХ и Бридж-35 модель комплексообразования остается неизменной (уравнения (4)–(6)). В мицеллярных растворах ЦПХ устойчивость комплекса CuL_2 уменьшается, CuH_1L — увеличивается, а у CuH_2L^- остается практически неизменной. Согласно уравнению (3) уменьшение устойчивости комплекса CuL_2 , по-видимому, объясняется большим сродством отрицательно заряженного лиганда к положительно заряженным мицеллам катионного ПАВ, что и приводит к смещению равновесия (4) влево. Равновесие образования комплекса CuH_1L (5) смещается вправо, так как положительно заряженные мицеллы ЦПХ не могут связываться положительно заряженными ионами меди (II) из-за электростатического отталкивания.

Мицеллярная среда Бридж-35 оказывает влияние, аналогичное влиянию мицеллярной среды ЦПХ на устойчивость комплексов CuL_2 и CuH_1L . Устойчивость же комплекса CuH_2L^- в присутствии мицелл Бридж-35 возрастает относительно его устойчивости в водных растворах. Это может быть объяснено смещением равновесия (6) в сторону образования формы с меньшим числом зарядов: отрицательно заряженный комплекс вместо двухзарядного иона меди (II) и электронеутрального лиганда.

При переходе от водных растворов к мицеллярной среде ДСН образование анионного комплекса (уравнение (6)) не наблюдается. Такое влия-

ние среды анионного ПАВ на модель комплексообразования можно объяснить наличием электростатического отталкивания отрицательно заряженной поверхности мицелл ДСН и присутствующих в растворе гидроксид-ионов. Поскольку при переходе от водных растворов к мицеллярным растворам ДСН модель комплексообразования изменилась, то сравнивать значения $\lg\beta^{app}$ нельзя.

ВЫВОДЫ. При использовании метода конкурентной pH-метрии и квантово-химических вычислений определены состав, возможное строение и константы устойчивости комплексов Cu^{2+} с *DL*- α -аланил-*DL*-валином. *DL*- α -аланил-*DL*-валин с ионами Cu^{2+} , подобно другим дипептидам, координируется через азот пептидной связи, а также через amino- и карбоксильную группы. В мицеллярных растворах додецилсульфата натрия образуются комплексы CuL_2 и CuH_1L , а в водных и мицеллярных растворах цетилпиридиний хлорида и Бридж-35 — еще и комплекс CuH_2L^- . Устойчивость комплексов зависит от заряда поверхности мицеллы и связывания отдельных форм мицеллярной псевдофазой. Влияние мицеллярной среды поверхностно-активных веществ разного зарядного типа на равновесия комплексообразования подтверждает, что количественные характеристики химических реакций биологически активных соединений в живых организмах могут изменяться по сравнению с водными растворами.

РЕЗЮМЕ. Методом конкурентної pH-метрії досліджено вплив міцелярного середовища аніонної (додецилсульфат натрію), катіонної (цетилпіридиній хлорид) і неіонної (Бридж-35) поверхнево-активних речовин на рівноваги комплексоутворення іонів купруму (II) з *DL*- α -аланіл-*DL*- α -валіном. Напівемпіричним квантово-хімічним розрахунком визначено імовірну будову комплексів купруму (II) з дипептидом. Встановлено, що в міцелярних розчинах додецилсульфату натрію утворюються комплекси CuL_2 і CuH_1L , а в водних і міцелярних розчинах цетилпіридиній хлориду і Бридж-35 — ще й комплекс CuH_2L^- . Стійкість комплексів залежить від заряду поверхні міцели і зв'язування окремих форм міцелярною псевдофазою.

SUMMARY. We investigated the effect of the micellar media of anionic (sodium dodecylsulfate, SDS), cationic (cetylpyridinium chloride, CPC) and non-ionic (Brij-35) surfactants on the complex formation of copper

(II) with DL- α -alanyl-DL- α -valine by using potentiometric method, as well as by applying semi-empirical quantum chemical calculations to study the probable structure of copper (II) complexes with dipeptide. In SDS micellar solutions the formation of two complexes: CuL₂ and CuH₋₁L was observed. However, in aqueous solutions, CPC and Brij-35 solutions the presence of CuH₋₂L⁻ was also detected. The stability of the complexes depends on the charge of the micelle surface and binding of the particular species by the micellar pseudophase.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев В.П., Кочергина Л.А., Крутова О.Н. и др. // Журн. физ. химии. -2006. -**80**, № 1. -С. 144—147.
2. Correia I., Pessoa J.C., Kiss T. et al. // J. Inorg. Biochem. -2001. -**94**, № 1. -P. 186—186.
3. Sovago I., Sanna D., Dessi A. et al. // Ibid. -1996. -**63**, № 2. -P. 99—117.
4. Maccarrone G., Caruso R., Contino A. et al. // Europ. J. Inorg. Chem. -2009. -**2009**, № 18. -P. 2612—2620.
5. Kolev T., Koleva B.B., Spiteller M. // J. Coord. Chem. -2008. -**61**, № 12. -P. 1897—1905.
6. Tiliakos M., Katsoulakou E., Terzis A. et al. // Inorg. Chem. Commun. -2005. -**8**, № 12. -P. 1085—1089.
7. Wyrzykowski D., Zarzeczaska D., Jacewicz D. et al. // J. Thermal Analysis and Calorimetry. -2011. -**105**, № 3. -P. 1043—1047.
8. Khebichat N., Ghalem S. // J. Molecular Structure: THEOCHEM. -2006. -**777**, № 1-3. -P. 107—111.
9. Логинова Л.П. // Вісн. Харків. націон. ун-ту. -2004. -Вып. 11(34). Химия. -№ 626. -С. 179—194.
10. Логинова Л.П., Левин И.В., Матвеева А.Г. и др. // Изв. Академии наук. -2004. -**53**, № 9. -С. 1919—1926.
11. Хоан Ле Конг, Логинова Л.П., Чернышева О.С. и др. // Вісн. Харків. націон. ун-ту. -2008. -Вып. 16(39). Химия. -№ 820. -С. 76—85.
12. Чернышева О.С., Бойченко А.П., Логинова Л.П. и др. // Вісн. націон. ун-ту “Львівська політехніка”. Хімія, технологія речовин та їх застосування. -2011. -№ 700. -С. 147—152.
13. Камнева Н.Н., Бойченко А.П., Марков В.В. и др. // Укр. хим. журн. -2012. -**78**, № 2. -С. 74—80.
14. Амиров Р.Р., Скворцова Е.А., Сапрыкова З.А. // Координац. химия. -2003. -**29**, № 8. -С. 595—599.
15. Мирсайязнова С.А., Зиятдинова А.Б., Амиров Р.Р. // Коллоид. журн. -2011. -**73**, № 4. -С. 497—505.
16. Sapelli E., Brandao T.A.S., Fiedler H.D. et al. // J. Colloid Interface Science. -2007. -**314**, № 1. -P. 214—222.
17. Thangjam P.D., Rajkumari L. // J. Chem. Eng. Data. -2010. -**55**, № 3. -P. 1166—1172.
18. Chernyshova O.S., Boichenko A.P., Abdulrahman H. et al. // J. Molecular Liquids. -2013. -**182**. -P. 1—6.
19. Armarego W.L.F., Perrin D.D. Purification of laboratory chemicals. -Great Britain, Oxford: Butterworth-Heinemann, 2000.
20. Умланд Ф., Янсен А., Туриг Д., Вюни Г. Комплексные соединения в аналитической химии. -М.: Мир, 1975.
21. Kolthoff I.M., Sandell E.B. Textbook of quantitative inorganic analysis. -New York: The Macmillan comp., 1938.
22. Холин Ю.В. Количественный физико-химический анализ комплексообразования в растворах и на поверхности химически модифицированных кремнеземов: содержательные модели, математические методы и их приложения. -Харьков: Фолио, 2000.
23. Бугаевский А.А., Никишина Л.Е., Мутин А.В. и др. // Укр. хим. журн. -1990. -**56**, № 7. -С. 775—778.
24. Mchedlov-Petrosyan N.O. // Pure and Appl. Chem. -2008. -**80**, № 7. -P. 1459—1510.
25. Hipkiss A.R. // Adv. Food Nutrition Res. -2009. -**57**. -P. 87—154.
26. Coddou C., Villalobos C., Gonzalez J. et al. // J. Neurochem. -2002. -**80**, № 4. -P. 626—633.
27. Kim M.K., Martell A.E. // Biochemistry. -1964. -**3**, № 8. -P. 1169—1174.
28. Kaneda A., Martell A.E. // J. Amer. Chem. Soc. -1977. -**99**, № 3. -P. 1586—1593.
29. Эйхгорн Г. Неорганическая биохимия: в 2 т. -М.: Мир, 1978. -Т. 1.
30. Lavanant H., Hoppilliard Y. // Eur. Mass Spectrom. -1999. -**5**, № 1. -P. 41—50.

Харьковский национальный университет
им. В.Н.Каразина

Поступила 20.06.2014