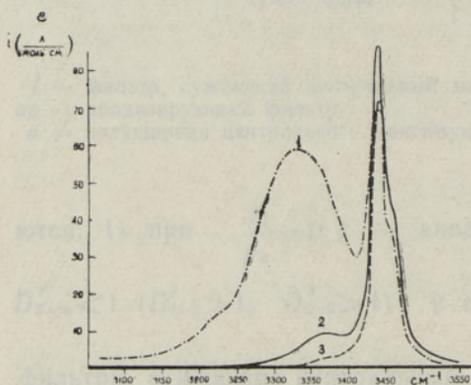


В. СЛЕТ, Х. САЛАНДИ, Т. ЛУМИСТЕ, И. АРРО

## ИЗУЧЕНИЕ ВОДОРОДНОЙ СВЯЗИ ЭТИЛОВОГО ЭФИРА N-АЦЕТИЛГЛИЦИНА МЕТОДАМИ ИК И ЯМР СПЕКТРОСКОПИИ

Во вторичной структуре белков и ферментов, а также при стабилизации конформации у многих олигопептидов важную роль играют водородные связи типа  $N-H \cdots O=C$ . В соединениях с большим молекулярным весом детально изучить параметры Н-связи обычно трудно. Поэтому важно их изучение на различных модельных объектах с более низким молекулярным весом, например, на амидах и эфирах N-ацилированных аминокислот, дипептидах и т. д. Н-связь у амидов N-ацилированных аминокислот, имеющих две амидные связи, исследовалась многими авторами [1-9]. Меньше внимания обращалось на эфиры N-ацилированных аминокислот с одной амидной связью.

В настоящей работе изучалась Н-связь растворов этилового эфира N-ацетилглицина (АГЭ) в  $CCl_4$  методами ИК и ЯМР спектроскопии.



ИК спектры поглощения растворов АГЭ в  $CCl_4$  в области валентного колебания  $N-H$ :  
 1 —  $c = 0,1 M$ ,  $t = 24^\circ C$ ; 2 —  $c = 0,01 M$ ,  
 $t = 24^\circ C$ ; 3 —  $c = 0,005 M$ ,  $t = 74^\circ C$ .

Для получения АГЭ глицин ацилировали ангидридом уксусной кислоты и после этого этерифицировали абсолютным этиловым спиртом при пропускании хлористого водорода [10]. Инфракрасные спектры растворов АГЭ в  $CCl_4$  в области 1600—1800 и 3200—3500  $cm^{-1}$  были сняты на спектрометре UR-20. Из рисунка видно, что полоса около 3330  $cm^{-1}$ , соответствующая валентному колебанию водорода  $NH$ , связанного водородным мостиком, при разбавлении растворов смещается в сторону больших волновых чисел, ее интенсивность уменьшается и она исчезает при концентрациях ниже 0,005 M. Такие изменения в инфракрасном

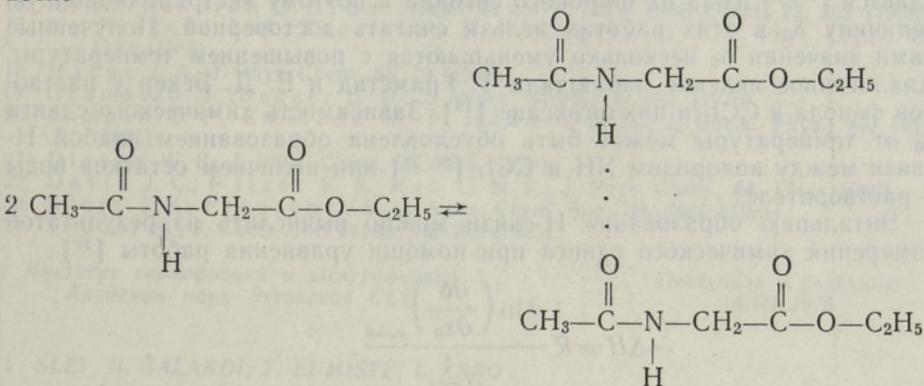
спектре согласуются с данными работы [4] и показывают, что АГЭ, в отличие от эфиров глицина [11], образует только межмолекулярную Н-связь в растворе  $CCl_4$ .

В молекуле АГЭ имеется три атома кислорода, которые, в принципе, все способны участвовать в образовании Н-связи. Важно установить, доминирует ли один из них в этом процессе или их роль сравнительно близка.

В. А. Терентьевым сделан вывод, что атом кислорода карбонильной группы в сложных эфирах имеет гораздо большую электронодонорную способность, чем атом кислорода эфирной группировки в этой же молекуле, и конкуренция между этими двумя атомами всегда оканчивается в пользу карбонильного кислорода, поскольку константы образования Н-связи при сложных эфирах как донорах на порядок выше, чем при соответствующих простых эфирах [12]. В инфракрасном спектре растворов АГЭ в  $\text{CCl}_4$  полоса  $1750 \text{ см}^{-1}$ , соответствующая валентному колебанию  $\text{C}=\text{O}$  сложноэфирной группы, является симметричной и узкой при концентрации  $0,1 \text{ M}$  и ниже. Это указывает на то, что соответствующий атом кислорода при этих концентрациях не участвует в образовании Н-связи или участвует в очень малой степени. Полоса  $1694 \text{ см}^{-1}$  валентного колебания  $\text{C}=\text{O}$  амидной группы асимметрична. На низкочастотной ветви этой полосы имеется ступенька, ширина которой уменьшается с повышением температуры и понижением концентрации. Существование такой ступеньки характерно для инфракрасной полосы  $\text{C}=\text{O}$  группы, участвующей в образовании Н-связи.

В таблице приведены некоторые значения полуширин обеих ветвей полосы  $1694 \text{ см}^{-1}$  в зависимости от концентрации и температуры. Из этих данных видно, что исчезновение разниц полуширин ветвей хорошо коррелируется с исчезновением полосы валентного колебания водорода  $\text{NH}$ , связанного водородным мостиком (см. рисунок). Это совпадение также подтверждает участие амидной группы в образовании Н-связи.

На основе вышесказанного можно сделать вывод, что из трех атомов кислорода в АГЭ самой сильной электронодонорной способностью обладает амидный кислород и в растворах АГЭ в  $\text{CCl}_4$  доминирует равновесие



Так как в основном нами исследовались разбавленные растворы, где преобладает равновесие мономер-димер, образование высших ассоциатов здесь не рассматривается.

Зависимость полуширины ветвей полосы валентного колебания  $\text{C}=\text{O}$  амидной группы ( $1694 \text{ см}^{-1}$ ) от концентрации и температуры растворов АГЭ в  $\text{CCl}_4$

Концентрация раствора, моль/л	Температура, °C	Полуширина низкочастотной ветви, $\text{см}^{-1}$	Полуширина высокочастотной ветви, $\text{см}^{-1}$
0,1	24	24	12
0,05	24	17	12
0,05	70	15	12
0,005	25	11	11

Энтальпия образования Н-связи определялась из результатов измерения спектров ЯМР- $^1\text{H}$ , которые были сняты на спектрометре TESLA BS487C при частоте 80 Мгц. Химический сдвиг измерялся с точностью 0,005 м. д. Внутренним стандартом служил циклогексан. Заданная температура поддерживалась в пробе с точностью  $\pm 2^\circ\text{C}$ . Измерения проводились при каждой концентрации на трех образцах, полученных разбавлением разных исходных растворов. Резонансный сигнал протонов NH в ЯМР спектре расширен вследствие влияния ядер азота  $^{14}\text{N}$ , имеющих квадрупольный момент. Для получения их узкого сигнала использовался  $\{^{14}\text{N}\}^1\text{H}$  двойной резонанс, аналогично работе [13].

Кроме ассоциативных процессов, на температурную зависимость химического сдвига может влиять также *цис-транс*-изомерия пептидной связи [14,15]. Но учитывая, что температуры коалесценции сигналов двух изомерных форм в пептидах и амидах остаются в пределах  $40\text{--}100^\circ$  и что в спектрах АГЭ в  $\text{CCl}_4$  при температурах значительно ниже вышеуказанных ( $-10^\circ$ ) сигналы двух изомерных форм обнаружить не удалось, можно предполагать, что АГЭ существует в основном в одной, энергетически более выгодной [16] *транс*-конфигурации.

Для определения энтальпии образования Н-связи измерялся химический сдвиг NH протонов АГЭ в  $\text{CCl}_4$  в пределах концентраций от 0,1 до 0,005 М при восьми разных температурах от  $+2^\circ$  до  $+100^\circ$ . Значения химического сдвига  $\delta_0$  при нулевой концентрации находили экстраполяцией, используя для этой цели участок кривой зависимости  $\delta$ , с начиная с содержания АГЭ в растворе ниже 0,03 М, поскольку при этих концентрациях зависимость  $\delta_0$  от  $c$  близка к линейной. Измерить химический сдвиг протонов NH до столь малых концентраций обычно не удается [17,18] из-за их широкого сигнала и поэтому экстраполяционную величину  $\delta_0$  в этих работах нельзя считать достоверной. Полученные нами значения  $\delta_0$  несколько уменьшаются с повышением температуры. Аналогичное явление наблюдали Т. Грамстад и Е. Д. Бекер у растворов фенола в  $\text{CCl}_4$  и циклогексане [19]. Зависимость химического сдвига  $\delta_0$  от температуры может быть обусловлена образованием слабой Н-связи между водородом NH и  $\text{CCl}_4$  [20, 21] или наличием остатков воды в растворителе.

Энтальпию образования Н-связи можно вычислить из результатов измерения химического сдвига при помощи уравнения работы [22]

$$-\Delta H = R \frac{\partial \ln \left( \frac{\partial \delta}{\partial x_0} \right)_{x_0 \rightarrow 0}}{\partial \frac{1}{T}},$$

где  $x_0$  — концентрация раствора;  $T$  — абсолютная температура.

На основе углового коэффициента прямой  $\log \left( \frac{\partial \delta}{\partial x_0} \right)_{x_0 \rightarrow 0} 1/T$  вычисленное значение  $\Delta H = -4,4$  ккал/моль. Это значение довольно хорошо совпадает с данными [23] для *N*-метилацетамида ( $-4,2$  ккал/моль) и несколько превышает результат [24] для *N*-метиламида ацетил-*dl*-норлейцина ( $-3,9$  ккал/моль). В работах [23,24] значения  $\Delta H$  получены из ИК измерений четыреххлористых растворов.

### Выводы

1. Установлено, что этиловый эфир *N*-ацетилглицина (АГЭ) в  $\text{CCl}_4$  образует в основном только межмолекулярную Н-связь между водородом NH и амидным кислородом.

2. Энтальпия образования Н-связи АГЭ в  $CCl_4$ , рассчитанная на основе ЯМР измерений, равна — 4,4 ккал/моль.

## ЛИТЕРАТУРА

- Mizushima S., Shimanouchi T., Tsuboi M., Sugita T., Kato E., Kondo E., J. Amer. Chem. Soc., **73**, 1330 (1951).
- Mizushima S., Shimanouchi T., Tsuboi M., Souda R., J. Amer. Chem. Soc., **74**, 270 (1952).
- Mizushima S., Shimanouchi T., Tsuboi M., Sugita T., Kurosaki K., Mataga N., Souda R., J. Amer. Chem. Soc., **74**, 4639 (1952).
- Mizushima S., Shimanouchi T., Tsuboi M., Kuratani K., Sugita T., Mataga N., Souda R., J. Amer. Chem. Soc., **75**, 1863 (1953).
- Mizushima S., Tsuboi M., Shimanouchi T., Sugita T., Yoshimoto T., J. Amer. Chem. Soc., **76**, 2479 (1954).
- Mizushima S., Shimanouchi T., Tsuboi M., Arakawa T., J. Amer. Chem. Soc., **79**, 5357 (1957).
- Tsuboi M., Shimanouchi T., Mizushima S., J. Amer. Chem. Soc., **81**, 1406 (1959).
- Ефремов Е. С., Сенявина Л. Б., Желтова В. Н., Иванова А. Г., Косецкий П. В., Иванов В. Т., Попов Е. М., Овчинников Ю. А., Химия прир. соед., **9**, 322 (1973).
- Avignon M., Huong P. V., Laskombe J., Biopolymers, **8**, 69 (1969).
- Radenhausen R., J. prakt. Chem., **52**, 437 (1895).
- Билоброва А. И., Шаринин Ю. А., Литвиненко Л. М., Титов Е. В., Белобров В. М., Реакц. способн. орг. соед., **9**, 655 (1972).
- Терентьев В. А., Термодинамика водородной связи, Саратов, 1973.
- Lipmaa E., Alla M., ENSV TA Toimet., Füüs. Matem., **15**, 620 (1966).
- Stewart W. E., Siddall T. H., Chem. Rev., **70**, 517 (1970).
- Портнова С. Л., Быстров В. Ф., Балашова Т. А., Иванов В. Т., Овчинников Ю. А., Изв. АН СССР, сер. хим., 825 (1970).
- Ramachandran G. N., Sasisekharan V., Adv. Prot. Chem., **23**, 283 (1968).
- La Planche L. A., Thompson H. B., Rogers M. T., J. Phys. Chem., **69**, 1482 (1965).
- Harpe J. A., J. Phys. Chem., **65**, 72 (1961).
- Gramstad T., Becker E. D., J. Molec. Struct., **5**, 253 (1970).
- Jumper C. F., Emerson M. T., Howard B. B., J. Chem. Phys., **35**, 1911 (1961).
- Dixon W. B., J. Phys. Chem., **74**, 1396 (1970).
- Davis J. C., Pitzer K. S., Rao C. N. R., J. Phys. Chem., **64**, 1744 (1960).
- Klotz I. K., Franzen J. S., J. Amer. Chem. Soc., **84**, 3461 (1961).
- Tsuboi M., J. Chem. Soc. Japan, **76**, 380 (1955).

Институт термофизики и электрофизики  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
14/III 1975

V. SLET, H. SALANDI, T. LUMISTE, I. ARRO

**N-ATSETÜÜLGLÜTSIINI ETÜÜLESTRI VESINIKSIDEME UURIMINE  
TUUMAMAGNETRESONANTS- JA INFRAPUNASE SPEKTROSKOPIA ABIL**

Uuriti *N*-atsetüülgütsiini etüülestri vesiniksidet lahjades  $CCl_4$  lahustes (0,1—0,005 M). Leiti, et *N*-atsetüülgütsiini etüülester moodustab molekulidevahelise vesiniksideme põhiliselt NH-rühma vesiniku ja amiidse hapniku vahel, kusjuures vesiniksideme moodustumise entalpia väärtus on —4,4 kcal/mool.

V. SLET, H. SALANDI, T. LUMISTE, I. ARRO

**THE STUDY OF THE HYDROGEN BOND OF N-ACETYLGLYCINE  
ETHYL ESTER BY NMR AND IR SPECTROSCOPY METHODS**

The H-bond of *N*-acetyl glycine ethyl ester in carbon tetrachloride solution was studied by NMR and IR spectroscopy methods. It was found that *N*-acetyl glycine ethyl ester forms an intramolecular H-bond mainly between the NH-hydrogen and amide oxygen, and the value of the enthalpy of formation of that H-bond is —4.4 kcal/mole.