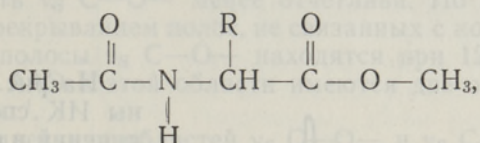


B. СЛЕТ, И. АРПО

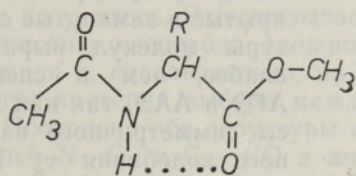
ИЗУЧЕНИЕ ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНОЙ Н-СВЯЗИ ЭТИЛОВЫХ ЭФИРОВ *N*-АЦЕТИЛГЛИЦИНА, *N*-АЦЕТИЛ-*dl*-АЛАНИНА И ГЛИЦИНА

Внутримолекулярные силы взаимодействия, подобные Н-связи, в пределах одного аминокислотного остатка представляют интерес ввиду их значимости в энергетическом балансе конформационных состояний пептидов.

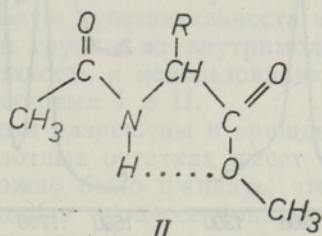
В [1,2] при изучении области валентного колебания N—H ($\nu_{\text{S}}\text{N—H}$) в ИК спектрах у соединений типа



где R — алкильный заместитель или водородный атом, было установлено, что в разбавленных растворах CCl_4 большинство молекул существует в виде пятичленного цикла с внутримолекулярной Н-связью, для которой, по аналогии с соответствующими амидами, была предложена структура I. По мнению авторов [3], изучавших ИК дихроизм кристаллов с такой же общей формулой, внутримолекулярная Н-связь имеет структуру II.



I



II

Образование внутримолекулярной Н-связи через эфирный кислород предполагают также и авторы [4] в сложных эфирах глицина $\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}-\text{R}$, где R — алкильный заместитель.

В настоящей работе исследованы ИК спектры *N*-ацетилглицина (АГЭ), *N*-ацетил-*dl*-аланина (ААЭ) и глицина (ГЭ) с целью установления наиболее вероятной структуры их внутримолекулярной Н-связи (I или II) и определения термодинамических параметров ее образования.

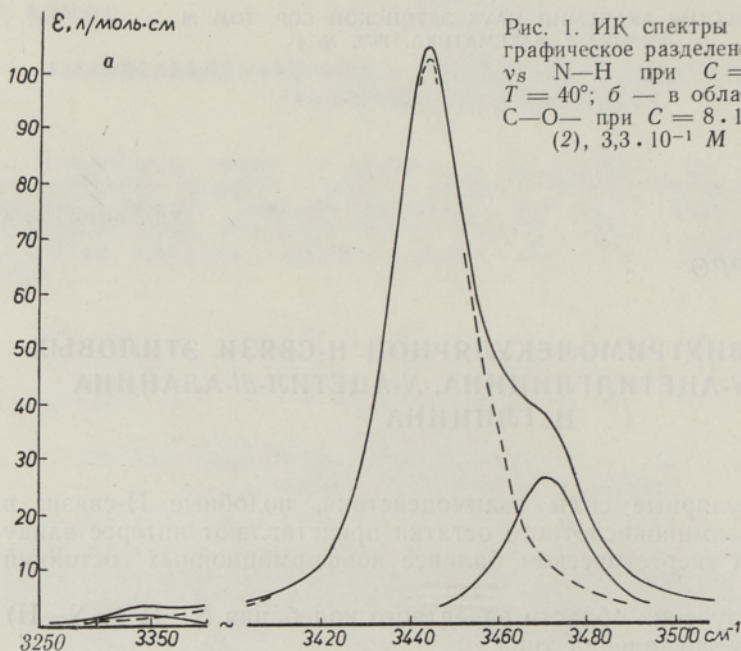
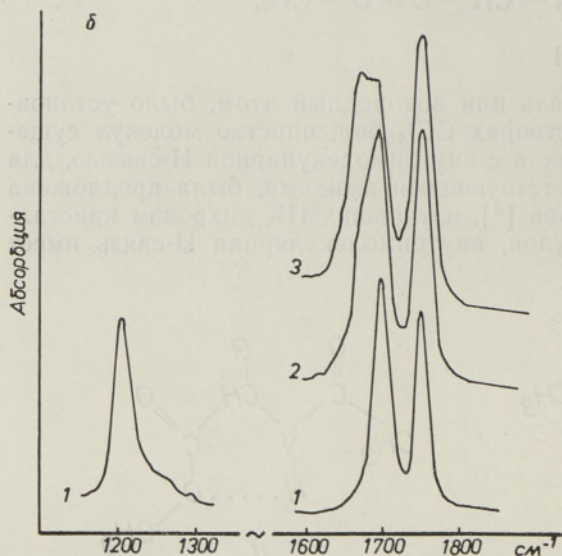


Рис. 1. ИК спектры АГЭ в CCl_4 : а — графическое разделение полос в области $\nu_s \text{ N—H}$ при $C = 4,64 \cdot 10^{-4}$ М и $T = 40^\circ$; б — в области $\nu_s \text{ C=O}$ и $\nu_s \text{ C—O—}$ при $C = 8 \cdot 10^{-3}$ (1), $1,57 \cdot 10^{-1}$ (2), $3,3 \cdot 10^{-1}$ М (3) и $T = 30^\circ$.



На рис. 1—3, а показаны ИК спектры этих соединений в области $\nu_s \text{ N—H}$. В спектрах АГЭ и ААЭ интенсивная полоса при 3446 и 3438 см^{-1} соответственно отвечает колебаниям в замкнутой структуре, а высокочастотное плечо принадлежит молекулам без внутримолекулярной Н-связи. В спектрах ГЭ открытые и замкнутые структуры молекул выражены слабее, чем в спектрах АГЭ и ААЭ, так как полосы симметричного валентного колебания $\nu_s^s \text{ N—H}$ при 3348 см^{-1} , асимметричного валентного колебания ν_s^a при 3407 см^{-1}

и первый обертон $\nu_s \text{ C=O}$ при 3475 см^{-1} заметно перекрыты и относительно малоинтенсивны (рис. 3, а). О существовании внутримолекулярной Н-связи можно предполагать лишь по наличию определенной асимметрии полосы $\nu_s^{as} \text{ N—H}$ и по аналогии строения ГЭ с АГЭ.

Можно было ожидать, что внутримолекулярная Н-связь отразится и на полосах поглощения колебаний атома кислорода, участвующего в этой Н-связи, как это было найдено для амидов *N*-ацилированных аминокислот [5]. Из спектров рис. 1, б (кривая 1), 2, б и 3, б (кривая 1)

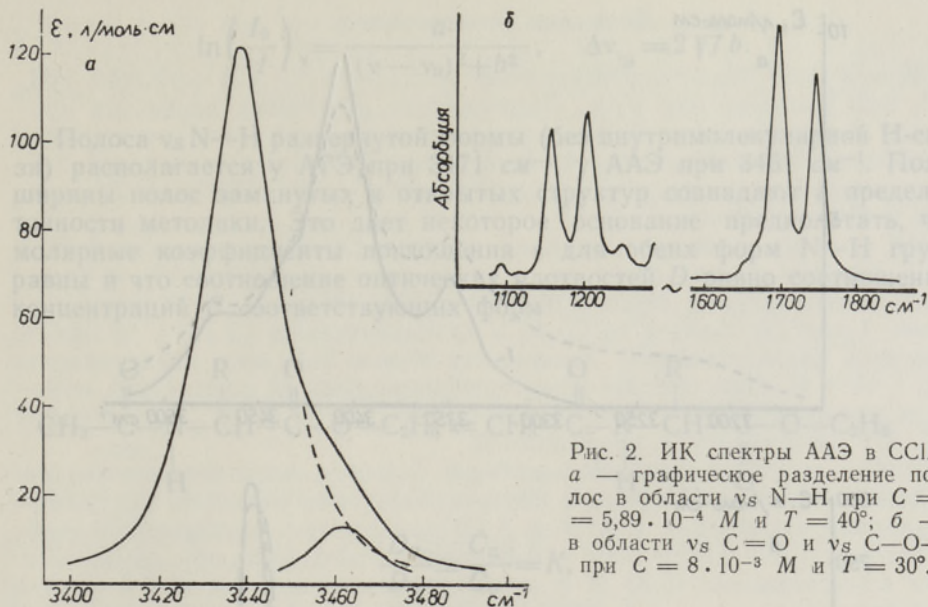


Рис. 2. ИК спектры ААЭ в CCl_4 : а — графическое разделение полос в области $\nu_{\text{S}} \text{N—H}$ при $C = 5,89 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ и $T = 40^\circ$; б — в области $\nu_{\text{S}} \text{C=O}$ и $\nu_{\text{S}} \text{C—O—}$ при $C = 8 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ и $T = 30^\circ$.

видно, что полосы $\nu_{\text{S}} \text{C=O}$ при $\sim 1740 \text{ cm}^{-1}$ у АГЭ, ААЭ и ГЭ симметричны. Область $\nu_{\text{S}} \text{C—O—}$ менее отчетлива. Но это может быть обусловлено и перекрытием полос, не связанных с колебаниями $\nu_{\text{S}} \text{C—O—}$. У АГЭ и ГЭ полосы $\nu_{\text{S}} \text{C—O—}$ находятся при 1206 и 1200 cm^{-1} соответственно. У ААЭ в этой области имеются две отдельные полосы при 1159 и 1205 cm^{-1} .

Для интерпретации областей $\nu_{\text{S}} \text{C—O—}$ и $\nu_{\text{S}} \text{C=O}$ в отношении выявления конформаций с внутримолекулярной Н-связью и без нее равновесие этих форм было направлено в сторону открытой структуры следующими способами: 1) повышением температуры (от 30 до 70° С), 2) прибавлением избытка электронодонора (диоксана), 3) межмолекулярной самоассоциацией (см. точнее в методике). В результате ожидалось некоторые спектральные изменения: по структуре I сдвиг максимума полосы $\nu_{\text{S}} \text{C=O}$ на более высокие частоты, по структуре II рост высокочастотного плеча полосы $\nu_{\text{S}} \text{C—O—}$ или сдвиг максимума этой полосы в сторону больших частот. Однако такой картины обнаружить нам не удалось. Это указывает на малую чувствительность этих полос к участию кислорода сложноэфирной группы во внутримолекулярной Н-связи и, следовательно, на непригодность к использованию их в качестве критерия выбора между структурами I и II.

Поскольку обе структуры стерически разрешены и вращение вокруг связей N—C_α и $\text{C}_\alpha\text{—CO}$ в аминокислотных остатках имеет очень низкие энергетические барьеры [6, 7], можно было ожидать, что выбор в пользу I или II структуры определится в процессе конкуренции двух атомов кислорода сложноэфирной группы. Для сравнения электронодонорных способностей этих атомов кислорода была изучена межмолекулярная самоассоциация ГЭ и ассоциация в системе этиловый эфир масляной кислоты — хлороформ.

У ГЭ происходят одновременные изменения, обусловленные образованием межмолекулярной Н-связи, и в области $\nu_{\text{S}} \text{N—H}$, и в области $\nu_{\text{S}} \text{C=O}$ при концентрациях выше 0,1 М (рис. 3, а и б). В области же $\nu_{\text{S}} \text{C—O—}$ картина остается прежней. Аналогичные явления отмечаются и в спектрах системы этиловый эфир масляной кислоты — хлороформ. Отсюда следует, что в процессе образования межмолекулярных Н-свя-

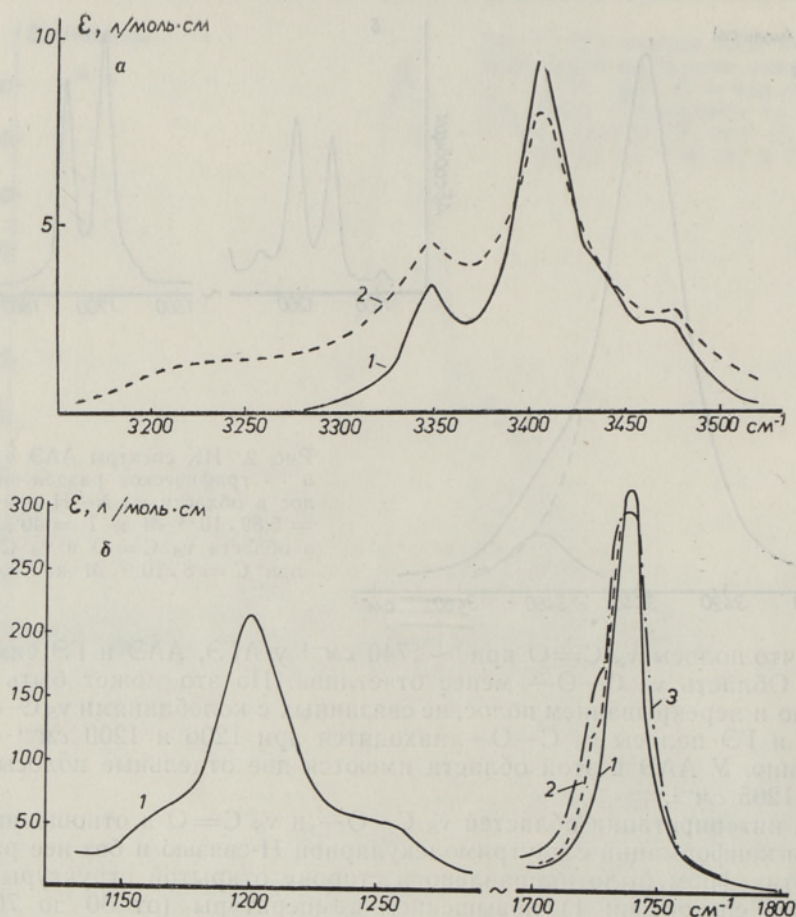


Рис. 3. ИК спектры ГЭ в CCl_4 : а — при $C = 1 \cdot 10^{-1}$ и $1 \cdot 10^{-2}$ М (1), $C = 5 \cdot 10^{-1}$ М (2) и $T = 30^\circ$; б — при $C = 1 \cdot 10^{-2}$ (1), $5 \cdot 10^{-1}$ (2), 1М (3) и $T = 30^\circ$.

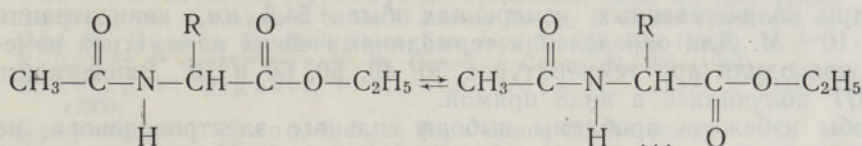
зей NH...O из двух атомов кислорода доминирует карбонильный кислород и он является более сильным электронодонором, чем эфирный кислород. Это согласуется и с выводами В. А. Терентьева [8] о свойствах сложноэфирной группы. Поэтому можно предполагать, что у ГЭ, а также и у АГЭ и ААЭ, внутримолекулярная Н-связь образуется через карбонильный кислород, т. е. согласно структуре I.

Количественная оценка термодинамических параметров внутримолекулярной Н-связи у АГЭ и ААЭ проводилась из ИК спектров в области $\nu_{\text{S}} \text{N—H}$. Асимметрические полосы разделялись графически на два компонента (рис. 1, 2, а) в предположении, что последние симметричны и что частота максимума экспериментальной полосы совпадает с частотой максимума более интенсивного низкочастотного компонента.

Несмотря на низкие концентрации ($C \leq 1 \cdot 10^{-3}$ М) растворов, форма низкочастотной ветви полосы около 3440 см^{-1} , обязанная колебаниям водорода NH-группы во внутримолекулярной Н-связи, несколько изменяется под влиянием поглощения межмолекулярно ассоциированного водорода NH. Чтобы найти истинную форму кривой, мы воспользовались в этой области контуром, вычисленным из уравнения Рамса [9]

$$\ln\left(\frac{I_0}{I}\right)_v = \frac{a}{(v - v_0)^2 + b^2}, \quad \Delta v_{1/2} = 2\sqrt{7}b.$$

Полоса ν_S N—H развернутой формы (без внутримолекулярной Н-связи) располагается у АГЭ при 3471 см^{-1} , у ААЭ при 3461 см^{-1} . Полуширины полос замкнутых и открытых структур совпадают в пределах точности методики. Это дает некоторое основание предполагать, что молярные коэффициенты поглощения ϵ для обеих форм N—H групп равны и что соотношение оптических плотностей D равно соотношению концентраций C соответствующих форм



$$\frac{D_{\text{ц}}}{D_{\text{р}}} \approx \frac{C_{\text{ц}}}{C_{\text{р}}} = K,$$

где K — константа равновесия, индекс «ц» обозначает циклическую структуру, а индекс «р» — развернутые конформации без внутримолекулярной Н-связи.

Такое предположение позволяет оценивать энтальпию образования внутримолекулярной Н-связи из температурной зависимости интенсивностей ИК полос [10–14]. Полученные нами результаты приведены в таблице.

Соединение	$-\Delta H$, ккал/моль	K при 30°
АГЭ	0,8	4,0
ААЭ	1,05	8,8

Как видно, значения ΔH значительно ниже, чем у межмолекулярных Н-связей NH...O [15, 16]. Если учесть, что более сильная межмолекулярная Н-связь отражается на полосе ν_S C=O сложноэфирной группы только в виде относительно мало сдвинутого плеча (см. рис. 3, б), становится понятным, почему более слабая внутримолекулярная Н-связь не влияет на нее.

У АГЭ и ААЭ структура I аналогична замкнутой пятичленной структуре амидов *N*-ацилированных аминокислот и аминокислотных звеньев в полипептидной цепи, геометрия которых в энергетически выгодных конформациях оценена во многих работах [6, 17, 18]. Выводы этих работ хорошо согласуются с нашими результатами, а именно:

1. Нижний предел дистанции Н...О во внутримолекулярной Н-связи у АГЭ и ААЭ (при азимутных углах $\Phi = \Psi = 180^\circ$) оценивается приблизительно в $2,1 \text{ \AA}$. При такой дистанции возможна только относительно слабая Н-связь.

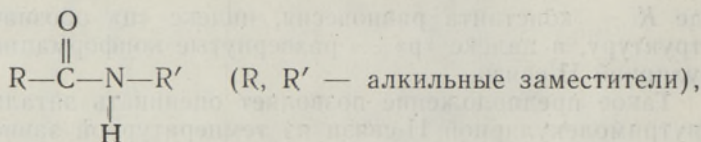
2. Меньшему углу $\text{NC}_\alpha\text{C}'$ у остатка аланина (по сравнению с углом у остатка глицина) соответствует более короткая дистанция NH...O и более сильная Н-связь у ААЭ, чем у АГЭ.

Методика эксперимента

АГЭ и ААЭ были синтезированы согласно [19], ГЭ согласно [20]. CCl_4 был высушен над P_2O_5 . Изготовление изучаемых растворов проводили в специальном боксе в осушенной и строго контролируемой атмосфере. Для исключения превращения ГЭ в соответствующий 2,5-дикетопиперазин растворы ГЭ измеряли сразу после изготовления реактива в течение 12 ч.

ИК спектры регистрировали на приборе UR-20 с призмами LiF и NaCl. Условия съемки спектров — скорость сканирования $25 \text{ см}^{-1}/\text{мин}$, спектральная ширина щели в областях $\nu_s \text{ N—H}$ и $\nu_s \text{ C=O}$ приблизительно 4 см^{-1} , в области $\nu_s \text{ C—O}$ — приблизительно $4,5 \text{ см}^{-1}$. Толщина слоя при количественных измерениях была $54,5 \text{ мм}$, концентрация $C \leq 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$. Для определения термодинамических параметров измерения проводили при температурах 30, 40, 50, 60 и 70° . Зависимость $\ln K$, $1/T$ получалась в виде прямой.

Чтобы избежать проблемы выбора сильного электронодонора, не имеющего полос поглощения в интересующих нас областях, внутримолекулярная ассоциация у АГЭ и ААЭ подавлялась межмолекулярной самоассоциацией. Последняя у соединений этого типа при изучаемых нами концентрациях (0,33 М и ниже) протекает так же, как и у простых амидов



т. е. с образованием Н-связи в основном между амидным кислородом как более сильным электронодонором и водородом NH [21]. Это подтверждают и ИК спектры изученных соединений (рис. 1, б). Таким образом, в процессе межмолекулярной самоассоциации амидный кислород вступает в связь с водородом NH, в результате чего разрываются внутримолекулярные Н-связи и высвобождаются кислородные атомы сложноэфирной группы.

Выводы

1. ИК полосы поглощения $\nu_s \text{ C=O}$ и $\nu_s \text{ C—O}$ — сложноэфирной группы этиловых эфиров *N*-ацетилглицина (АГЭ), *N*-ацетил-*dl*-аланина (ААЭ) и глицина (ГЭ) малочувствительны к участию кислорода этой же группы во внутримолекулярной Н-связи.

2. У ГЭ в процессе образования межмолекулярных Н-связей $\text{NH} \dots \text{O}$ из двух атомов кислорода сложноэфирной группы доминирует карбонильный кислород как более сильный электронодонор.

3. У ГЭ, АГЭ и ААЭ внутримолекулярная Н-связь $\text{NH} \dots \text{O}$ образуется преимущественно через карбонильный кислород сложноэфирной группы.

4. Энтальпии образования внутримолекулярной Н-связи, определен методом ИК спектроскопии, равны у АГЭ — $0,8 \text{ ккал/моль}$ и у ААЭ — $1,05 \text{ ккал/моль}$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sung, M. T., Marraud, M., Neel, J., Jerusalem Symp. Quantum Chem. Biochem., 5, 69 (1973).

2. Cung, M. T., Marraud, M., Neel, J., *Macromolecules*, **7**, 603 (1974).
3. Mizushima, S., Shimanouchi, T., Tsuboi, M., Kuratani, K., Sugita, T., Mataga, N., Souda, R., *J. Amer. Chem. Soc.*, **75**, 1863 (1953).
4. Билоброва А. И., Шаранин Ю. А., Литвиненко Л. М., Титов Е. В., Белобров В. М., Реакц. способн. орг. соед., **9**, 655 (1972).
5. Ефремов Е. С., Сенявина Л. Б., Желтова В. Н., Иванова А. Г., Костецкий П. В., Иванов В. Т., Попов Е. М., Овчинников Ю. А., *Химия природн. соед.*, **9**, 322 (1973).
6. Momany, F. A., Mc Guire, R. F., Burgess, A. W., Scheraga, H. A., *J. Phys. Chem.*, **79**, 2361 (1975).
7. Yan, J. F., Momany, F. A., Hoffmann, R., Scheraga, H. A., *J. Phys. Chem.*, **74**, 420 (1970).
8. Терентьев В. А., Термодинамика водородной связи, Саратов, 1973.
9. Sabana, A., Sandorii, C., *Spectrochim. Acta*, **16**, 336 (1960).
10. Oki, M., Hirota, M., Hirofuji, S., *Spectrochim. Acta*, **22**, 1537 (1966).
11. Saier, E. L., Cousins, L. R., Basila, M. R., *J. Chem. Phys.*, **41**, 40 (1964).
12. Oki, M., Hirota, M., *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **37** (2), 209 (1964).
13. Krueger, P. J., Mettee, H. D., *Canad. J. Chem.*, **42**, 326 (1964).
14. Buckley, P., Giguere, P. A., Schneider, M., *Canad. J. Chem.*, **47**, 901 (1969).
15. Graham, L. L., Chang, C. Y., *J. Phys. Chem.*, **75**, 776 (1971).
16. Lowenstein, H., Lassen, J., Hvidt, A., *Acta Chem. Scand.*, **24**, 1687 (1970).
17. Avignon, M., Huong, P. V., Lascombe, J., Marraud, M., Neel, J., *Biopolymers*, **8**, 69 (1969).
18. Brant, D. A., *Macromolecules*, **1**, 291 (1968).
19. Radenhausen, R., *J. prakt. Chem.*, **52**, 437 (1895).
20. Гринштейн Дж., Виниц М., *Химия аминокислот и пептидов*, М., 1965, с. 425.
21. Слет В., Саланди Х., Лумисте Т., Арро И., *Изв. АН ЭССР, Физ. Матем.*, **25**, 46 (1976).

Институт термофизики и электрофизики
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
6/X 1976

V. SLET, I. ARRO

N-ATSETÜÜLGLÜTSIINI, N-ATSETÜÜL-*dl*-ALANIINI JA GLÜTSIINI ETÜÜLESTRITE MOLEKULISISENE VESINIKSIDE

Uuriti glütsiini (GE), *N*-atsetüülglütsiini (AGE) ja *N*-atsetüül-*dl*-alaniini (AAE) etüülestrite tetrakloorüsiniklahuste intrapunaseid spektreid, et määrata molekulisese vesiniksidade struktuuri ja energeetilisi parameetreid. GE esterrühma hapnikuatomite elektronidonoorsete omaduste põhjal molekulidevahelises assotsiatsiooniprotsessis järeldati, et molekulisene vesiniksida moodustub põhiliselt NH-rühma vesiniku ja esterrühma karbonüüle hapniku vahel. Intrapunaste spektrite temperatuurisõltuvuse alusel määrati AGE ja AAE molekulisese vesiniksidade tekkeentalpia väärtus; see on AAE-l suurem ($-1,05$ kcal/mol) kui AGE-l ($-0,8$ kcal/mol).

V. SLET, I. ARRO

INTRAMOLECULAR HYDROGEN BOND IN ETHYL ESTERS OF *N*-ACETYLGLYCINE, *N*-ACETYL-*dl*-ALANINE AND GLYCINE

The IR spectra of ethyl esters of glycine (GE), *N*-acetyl-glycine (AGE), *N*-acetyl-*dl*-alanine (AAE) in carbon tetrachloride solution were investigated to determine the structure and the energetic parameters of intramolecular H-bond. By examining the electron-donor ability of the ester group oxygen atoms in the process of self-association it was concluded that the intramolecular H-bond is mainly formed between hydrogen NH and carbonyl oxygen of the ester group. The determining of enthalpy values of the intramolecular H-bond formation in AGE and AAE showed that these H-bonds are fairly weak, while the H-bond in AAE (-1.05 kcal/mol) is stronger than in AGE (-0.8 kcal/mol).