ЖУРНАЛ СТРУКТУРНОЙ ХИМИИ

2014. Том 55 *Приложение № 2* *S383 – S391*

УДК 577.356:577.322:541.183

СТРУКТУРА КОМПЛЕКСОВ ПОЛИ-γ-БЕНЗИЛ-L-ГЛУТАМАТА С МОЛЕКУЛАМИ ВОДЫ И ДИОКСАНА ПО ДАННЫМ ИК СПЕКТРОСКОПИИ И КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИХ РАСЧЕТОВ

О.Н. Макшакова[1], Д.А. Файзуллин[1], Ю.Ф. Зуев[1,2]

[1]*Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия*
E-mail: makshakova@gmail.com
[2]*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия*

Статья поступила 23 апреля 2014 г.

Методами ИК спектроскопии и квантовой химии исследована структура супрамолекулярных комплексов поли-γ-бензил-L-глутамата (ПБГ) с молекулами воды и диоксана при сорбции из чистых жидкостей и их бинарных смесей. Показано, что природа центров сорбции воды и диоксана в ПБГ различна. Молекулы воды связываются в мономерной форме с карбонильными группами сложноэфирных фрагментов боковых цепей и пептидного спирального остова, образуя комплексы с двумя водородными связями. Молекулы диоксана сорбируются в большом количестве в области боковых цепей ПБГ, вызывая их переупаковку при сохранении спиральности остова полипептида. При совместной сорбции паров воды и диоксана связывание последнего способствует увеличению числа молекул воды, связанных с карбонильными группами ПБГ. При этом также наблюдается дополнительная сорбция молекул воды на атомах кислорода молекул диоксана. Расчеты показали, что в наиболее вероятной конфигурации комплексов молекула воды одновременно образует водородные связи с карбонильными группами боковой цепи и пептидного остова. Молекулы диоксана не проникают к пептидным группам спирального остова ПБГ из-за стерических затруднений и локализуются в области бензильных фрагментов боковых цепей, при этом такие комплексы стабилизируются слабыми взаимодействиями типа CH…O.

Ключевые слова: поли-γ-бензил-L-глутамат, гидратация, 1,4-диоксан, ИК спектроскопия, ТФП.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что важной стадией функционирования биологических систем является формирование супрамолекулярных комплексов. Понимание молекулярных механизмов функционирования белков требует детальной информации об их взаимодействии с различными функциональными лигандами. В последние десятилетия активно обсуждается роль растворителя как неотъемлемой структурной компоненты функционирования белков [1], что особенно ярко проявляется в неводном биокатализе. Многие ферменты способны не только функционировать в органических растворителях, но и демонстрируют такие специфические свойства как изменение субстратной специфичности и энантиоселективности, повышенную стабильность к действию экстремальных температур и денатурирующих агентов, ″молекулярную память″ и прочие [2—4]. Свойства белков в органических растворителях зависят не только от химической структуры молекул растворителя, но также от степени гидратированности белка [5, 6].

© Макшакова О.Н., Файзуллин Д.А., Зуев Ю.Ф., 2014

Неводный биокатализ имеет высокий технологический потенциал, и число исследовательских работ как экспериментальных [7, 8], так и теоретических [9—11] в этом направлении растет. За последнее время появился ряд публикаций, посвященных исследованиям структуры водно-органического растворителя на поверхности белка с использованием метода молекулярной динамики [4, 7—9]. Методы молекулярного моделирования позволяют исследовать межмолекулярные взаимодействия на атомном уровне и являются менее затратными по сравнению с экспериментом. Однако для исследования структуры водно-органических смесей на поверхности биополимеров методы, основанные на принципах классической механики, имеют ряд ограничений [4]. Более надежное описание молекулярных комплексов можно получить при учете электронной структуры атомов методами квантовой химии. Данные подходы являются более точными, но и более ресурсозатратными и зачастую могут быть применены лишь к упрощенным модельным системам [13, 14]. Несмотря на интенсивное развитие расчетных методов определение их предсказательной способности путем сравнения с экспериментом до сих пор остается актуальным [4].

Экспериментальное исследование структуры комплексов белков с водно-органическим растворителем затруднено в силу ряда причин. Многие из экспериментальных методов не имеют атомного разрешения, а метод рентгеновской кристаллографии ограничен тем, что растворитель в образце не должен нарушать кристаллы белка [4, 7, 8]. Метод ИК спектроскопии чувствителен к силе водородных связей и обладает большими возможностями для определения центров связывания молекул растворителя. Метод особенно информативен в сочетании с расчетными подходами [12—14].

Твердые препараты гомополипептидов могут рассматриваться как модели белков в иммобилизованном состоянии. Кроме того, они способны формировать вторичные структуры, характерные для белков, образовывать обширные межмолекулярные контакты, а то обстоятельство, что они состоят из идентичных аминокислот существенно упрощает их спектральный анализ. Ранее нами сообщалось [15], что поведение полипептидов с различной природой боковых групп и вторичной структурой при сорбции органического растворителя сложным образом зависит от химической природы боковых цепей полипептида, типа его вторичной структуры и количества воды в системе.

В данной работе мы исследуем взаимодействие поли-γ-бензил-L-глутамата (ПБГ) в твердом состоянии с молекулами воды и диоксана на основе комбинированного анализа данных ИК спектроскопии и результатов квантово-химических расчетов. Настоящее исследование имеет две цели: 1 — экспериментальное определение центров сорбции воды и диоксана в твердых препаратах ПБГ в системах с индивидуальным или бинарным растворителем; 2 — анализ геометрии образующихся комплексов на основе сопоставления эксперимента с ранее предсказанными комплексами ПБГ с индивидуальными молекулами растворителя — воды [16, 17] и диоксана [17]. Остов ПБГ формирует жесткий α-спиральный стержень, окруженный гидрофобными боковыми цепями большого молекулярного объема с полярными атомами кислорода в середине цепи и массивными фенильными кольцами на концах. Твердые препараты ПБГ стабилизируются гидрофобными взаимодействиями между боковыми цепями полипептидов и могут моделировать межмолекулярное взаимодействие молекул белков в твердом состоянии. Диоксан — апротонный органический растворитель, широко применяемый в неводном биокатализе. Молекула диоксана содержит полярные атомы кислорода и относительно большой по объему гидрофобный фрагмент, благодаря чему он способен взаимодействовать как со свободными пептидными NH-группами, так и с фенильными кольцами ПБГ. Расчеты вероятных комплексов спиральной части ПБГ с молекулами воды и диоксана в вакууме выполняли методами квантовой химии на уровне теории функционала плотности (ТФП). Метод ТФП учитывает перераспределение электронной плотности молекул при образовании комплексов, что позволяет получить их более точную геометрию и энергию по сравнению с моделированием в силовых полях, что особенно важно в случае молекул органических растворителей [18, 19]. Подробная геометрия возможных комплексов ПБГ с водой и диоксаном, энергия их взаимодействия и сдвиги частот нормальных колебаний групп ПБГ и лигандов в результате образования ком-

плексов описаны нами в работе [17]. В настоящей работе мы сопоставили экспериментально наблюдаемые изменения спектральных полос при образовании комплексов ПБГ—вода и ПБГ—диоксан в твердом состоянии при сорбции из индивидуальных жидкостей с расчетными комплексами в вакууме, а также определили центры сорбции воды и диоксана в ПБГ при сорбции из бинарных смесей на основе данных ИК спектроскопии.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Приготовление образцов. Использовали коммерческий лиофильно сухой препарат ПБГ (Sigma) с молекулярным весом 345 000. Пленку ПБГ в α-спиральной конформации получали осаждением растворенного в хлороформе препарата на кюветном стекле CaF_2; 1,4-диоксан (ЧДА) очищали согласно известным методикам [20]. Осушенный растворитель выдерживали над молекулярными ситами 3 Å. Использовали бидистиллированую воду.

Термодинамическая активность воды. Активность воды (a_W) в водных парах задавали по разнице температур в кювете с образцом и в сатураторе [21]. Температуру кюветы с образцом поддерживали при 25 °C. Активность паров воды в смеси с диоксаном рассчитывали по уравнению:

$$a_W = \gamma_W \cdot x_W,$$

где x_W — мольная доля воды в растворе; γ_W — табличный коэффициент активности воды для данной мольной доли [22].

ИК спектроскопия. ИК спектры регистрировали на приборе Vector-22 (Bruker) с разрешением 4 см$^{-1}$ и накоплением 64 сканов; в качестве материала кюветных окон использовали CaF_2. Пленки полипептидов помещали в герметичную кювету, которую устанавливали в держателе прибора. До начала эксперимента пленку в кювете продували воздухом, осушенным над P_2O_5 (исходно сухая пленка). Во время эксперимента кювету продували парами чистой воды, безводного диоксана или водно-органических смесей с заданной активностью воды. Циклы гидратации—дегидратации проводили во всем интервале активности воды. Для анализа взаимодействия полипептидной пленки с молекулами воды и диоксана первого сольватного слоя рассматривали спектры для интервала a_W = 0—0,4.

Количественный расчет сорбции проводили по формуле:

$$A = 2,3\frac{S\varepsilon}{BD},$$

где A — количество сорбированного растворителя (воды или диоксана) в молях растворителя на моль аминокислотного остатка; S — интегральная площадь полосы растворителя относительно валентных колебаний O—H (4000—3000 см$^{-1}$) воды или C—O (1119—1080 см$^{-1}$) диоксана; ε — коэффициент экстинкции полосы валентных колебаний групп C=O пептидного остова в максимуме поглощения; B — интегральный коэффициент экстинкции полосы растворителя; D — оптическая плотность в максимуме полосы валентных колебаний групп C=O пептидного остова. Использовали значение ε = 760 л·моль$^{-1}$·см$^{-1}$ [23]. На основании идентичности формы спектральных полос для воды использовали коэффициент экстинкции воды в водно-диоксановых смесях при соответствующих активностях воды, B = 48000 л·моль$^{-1}$·см$^{-2}$, определенный в работе [24]. Коэффициент экстинкции диоксана определяли по площади полосы этого вещества в кювете с постоянной толщиной, B = 19100 л·моль$^{-1}$·см$^{-2}$.

Квантово-химические расчеты. Расчетная модель спирального полипептида состояла из 16 остатков γ-бензил-L-глутамата, геометрические параметры молекулы подробно описаны в наших более ранних статьях [16, 17]. Длина полипептида достаточна, чтобы сохранять спиральную конформацию при оптимизации структуры. Геометрию полипептида, молекул воды и диоксана и их парных комплексов полностью оптимизировали с использованием функционала плотности PBE [25] в программном пакете Priroda [26]. Использовали следующие контрактированные схемы для орбитальных базисов: (10*s*, 7*p*, 3*d*)/[3*s*,2*p*,1*d*] для атомов C, O и N и (6*s*, 2*p*)/[2*s*,1*p*] для атомов водорода [27]. Для согласования расчетных и экспериментальных зна-

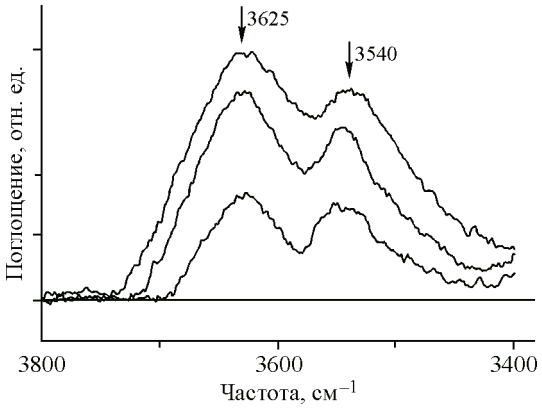

Рис. 1. Разностные спектры поглощения влажной пленки ПБГ при a_W от 0,1 до 0,4 и сухой пленки в области валентных колебаний ОН-групп при гидратации парами чистой воды

чений частот использовали масштабирующий коэффициент 0,992, полученный на основании расчета частот колебаний воды в газовой фазе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Комплексы ПБГ с молекулами воды. Для определения центров сорбции воды на молекуле ПБГ мы проанализировали спектральные изменения в области валентных колебаний групп ОН воды и С=О в составе боковых цепей и пептидного остова ПБГ, вызванные гидратацией пленки ПБГ, и сравнили наблюдаемые изменения с модельными при образовании молекулярных комплексов "спиральный участок ПБГ—молекула воды" [17]. На рис. 1 представлены спектры гидратной воды ПБГ, полученные вычитанием спектра сухой пленки из спектров пленки с разной влажностью в области валентных колебаний ОН-групп при гидратации парами чистой воды. Форма и положение колебательных полос отражают структурное состояние сорбированной воды и тип связывающих центров. Высокочастотный дублет с равновеликими пиками характерен для одиночных молекул воды и возникает когда одна молекула воды образует две водородные связи с акцепторами протонов [28, 29]. Дублет с максимумом при 3625 и 3540 см$^{-1}$ соответствует взаимодействию молекул воды с карбонильными группами [12]. Из-за низкой интенсивности полос поглощения не удалось различить характерные полосы, относящиеся к молекулам воды с одной водородной связью в комплексах 1:1. В любом случае это означает, что содержание таких комплексов незначительно по сравнению с комплексами типа 1:2. Оценки количества воды в комплексах с полярными центрами ПБГ показывают, что при $a_W = 0{,}4$ гидратация ПБГ составляет 0,01 моля воды на моль аминокислотного остатка или 17 молекул воды на одну молекулу полипептида.

При гидратации пленки наблюдается слабое низкочастотное смещение полос валентных колебаний групп С=О в составе боковых цепей и пептидного остова ПБГ (рис. 2). При этом смещение видимого максимума небольшое и составляет для боковых и пептидных групп 0,1 и 0,03 см$^{-1}$ соответственно. Низкочастотное смещение полос валентных колебаний наряду с отсутствием заметных конформационных изменений пептида свидетельствует об образовании

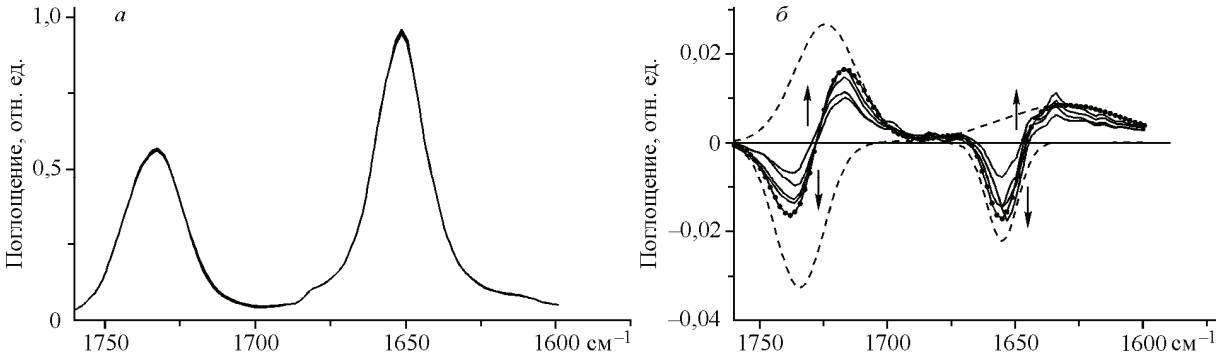

Рис. 2. Спектры поглощения (*а*) и разностные спектры (*б*) влажной пленки ПБГ при a_W от 0,1 до 0,4 и сухой пленки в области валентных колебаний групп С=О в составе сложноэфирной и пептидной связей при гидратации парами чистой воды.

Пунктирные линии — гауссовы компоненты разностного спектра (a_W 0,4), сплошные линии с точками — результат подгонки разностного спектра

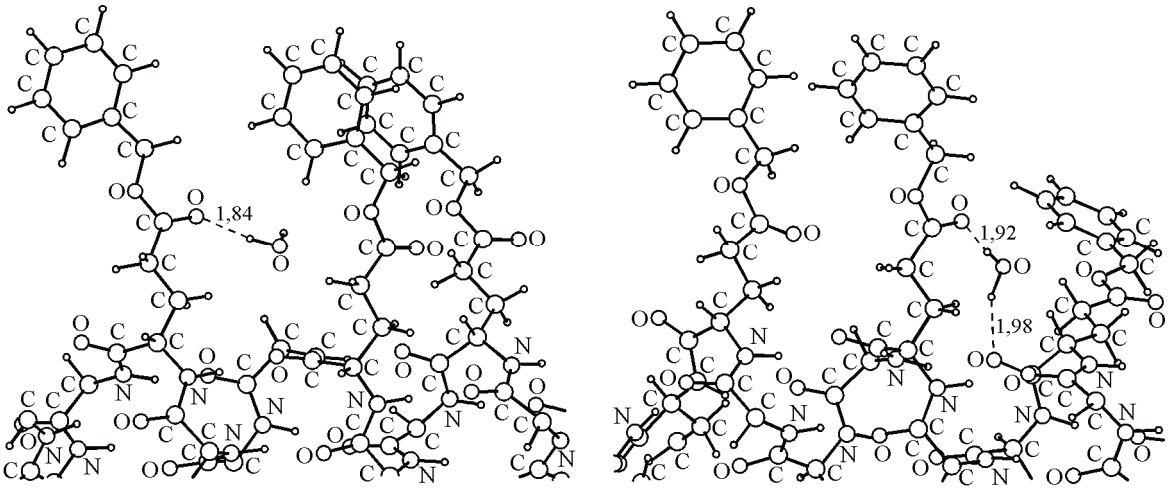

Рис. 3. Структура комплексов ПБГ—молекула воды

водородных связей с молекулами воды. Небольшое уширение полосы поглощения групп C=O пептидного остова говорит о сохранении спиральной вторичной структуры, но об ухудшении ее регулярности. Оценка количества остатков, вовлеченных во взаимодействия с молекулами воды, показывает, что примерно 2 % остатков испытывают изменения при гидратации, что составляет около 30 остатков в молекуле ПБГ. Это исключает вероятность того, что гидратируются только концевые группы спирали полипептида.

Аппроксимация разностного спектра гауссовыми кривыми показывает, что низкочастотный сдвиг при гидратации карбонильных групп боковых цепей обусловлен уменьшением доли негидратированных групп, поглощающих на частоте 1734 см$^{-1}$, и увеличением доли гидратированных групп на частоте 1724 см$^{-1}$. В области валентных колебаний групп C=O пептидного остова гидратация вызывает уменьшение поглощения с максимумом на частоте 1655 см$^{-1}$ и рост интенсивности на 1630 см$^{-1}$. Сравнительно высокочастотное положение компоненты гидратирующихся пептидных групп относительно максимума полосы валентных колебаний групп C=O пептидного остова (1652 см$^{-1}$) свидетельствует о том, что эти группы находятся на участках деформации спирали.

Квантово-химические расчеты демонстрируют возможность образования двух типов комплексов одиночной молекулы воды с карбонильными группами спирального фрагмента ПБГ — с образованием одной и двух водородных связей. Структуры комплексов приведены на рис. 3. Асимметричная и симметричная моды колебаний связей OH молекулы воды в комплексе с одной водородной связью соответствуют частотам 3746 и 3496 см$^{-1}$ [17]. Тогда как в комплексе с двумя водородными связями асимметричная и симметричная моды колебаний одинаково нагруженных связей OH молекулы воды соответствуют частотам 3626 и 3545 см$^{-1}$ [17]. Значения расчетных частот молекул воды, образующих одну и две водородные связи, находятся в полном согласии с сообщавшимися ранее теоретическими и экспериментальными значениями для модельных систем [28, 29]. Значение расчетных частот молекул воды, образующих две водородные связи, согласуется с положением колебательных полос групп OH, наблюдаемым в нашем эксперименте.

Комплексы, где молекула воды образовывала бы две водородные связи с карбонильными группами пространственно близких боковых цепей, требуют поворота одной из боковых цепей, однако боковые цепи находятся в регулярной упаковке, и поворот стерически затруднен вследствие наличия массивного фенильного кольца.

Формирование комплексов в расчетной модели сопровождается существенным изменением частот нормальных колебаний групп C=O боковых цепей и пептидных групп ПБГ. В исходном состоянии модели для негидратированного полипептида частота валентных колебаний

групп C=O боковых цепей составляет 1750 см$^{-1}$. При образовании комплекса с молекулой воды с одной водородной связью частота карбонильной группы уменьшается до 1700 см$^{-1}$, тогда как при образовании комплекса с молекулой воды с двумя водородными связями наблюдается сдвиг меньшей величины — до 1720 см$^{-1}$, поскольку длина водородной связи C=O…HOH в комплексе с двумя водородными связями становится больше. Кроме того, в комплексе ПБГ с молекулой воды, образующей две водородные связи, полоса валентных колебаний пептидных групп C=O сдвигается к низким частотам от 1680 к 1631 см$^{-1}$. Направление и порядок величины сдвига частот валентных колебаний боковых и пептидных групп C=O ПБГ в комплексах с молекулой воды, образующей две водородные связи, находятся в согласии с наблюдаемыми изменениями в экспериментальном спектре. Квантово-химические расчеты показывают, что комплекс с двумя водородными связями является более энергетически выгодным (–12,3 ккал/моль) по сравнению с комплексом с одной водородной связью (–10,8 ккал/моль).

Таким образом, совместный анализ частот колебаний молекул воды в предсказанных комплексах и в экспериментальных системах ПБГ—вода свидетельствует о том, что в пленках ПБГ спектрально детектируемые молекулы воды находятся в мономерной форме и образуют по две водородные связи с группами C=O боковой цепи и амидной группой остова. По-видимому, гидрофобные фенильные кольца в ПБГ экранируют полярные группы, а конфигурация полярных центров в молекуле способствует тому, что единичные молекулы воды, которые имеют большие времена жизни около полярных групп ПБГ, образуют комплексы с двумя водородными связями.

Комплексы ПБГ с молекулами диоксана. Чтобы определить центры сорбции молекул диоксана в спиральном фрагменте ПБГ, мы проанализировали спектральные изменения в области валентных колебаний групп C—O диоксана, валентных колебаний групп C=O боковых цепей и пептидного остова ПБГ, вызванные сорбцией безводного диоксана, а также промоделировали образование молекулярных комплексов ″спиральный участок ПБГ—молекула диоксана″. В области валентных колебаний эфирных групп C—O диоксана, абсорбированного в пленке ПБГ, наблюдается триплет хорошо разнесенных полос с основной полосой при 1121,5 см$^{-1}$. Данная полоса относится к симметричным валентным колебаниям двух эфирных связей ν_s(C—O) и обладает высокой чувствительностью к окружению. В таблице приведены значения частоты видимого максимума полосы ν_s(C—O) диоксана, растворенного в различных органических растворителях. Положение полосы ν_s(C—O) диоксана, абсорбированного в пленке ПБГ, совпадает с положением для чистой жидкости и растворов диоксана в бензоле. Это указывает на то, что в пленке ПБГ диоксан имеет себе подобное окружение и локализуется в среде фенильных колец боковых цепей. Сродство диоксана к кольцевым структурам отмечалось также в работе [7], где методом рентгеноструктурного анализа на кристаллах белка субтилизина Carlsberg из семи обнаруженных связанных молекул диоксана шесть находились вблизи кольцевых групп His, Phe, Tyr.

Интенсивная полоса поглощения сорбированного диоксана появляется сразу при контакте сухого препарата ПБГ с парами безводного диоксана и при воздействии на пленку парами водно-диоксановых смесей. До значения активности воды $a_W = 0{,}4$ интенсивность полосы поглощения практически не меняется. Количественные оценки, сделанные на основании соотношения интегральной интенсивности полос поглощения диоксана и полосы валентных колебаний

Частота валентных колебаний эфирных связей диоксана в разбавленных растворах органических растворителей

Растворитель	ν_s(C—O), см$^{-1}$	Растворитель	ν_s(C—O), см$^{-1}$
Пропанол	1124,0	Гексан	1126,5
Ледяная уксусная кислота	1122,0	Диоксан	1121,5
Бензол	1122,5	Вода	1118,5
Формамид	1119,0		

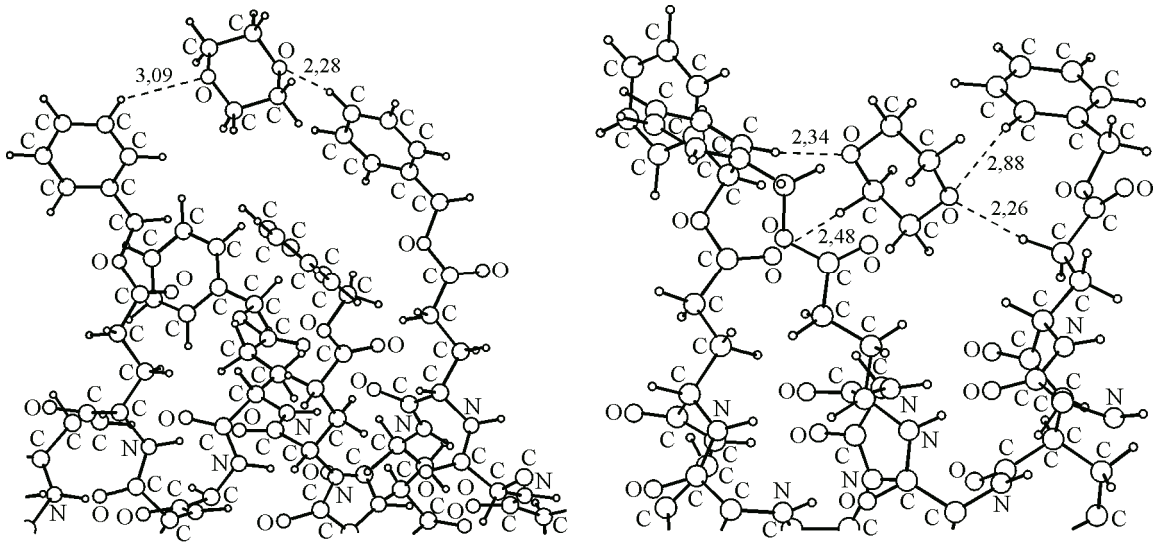

Рис. 4. Структура комплексов ПБГ—молекула диоксана

амидных групп C=O полипептида, показывают, что количество сорбированного диоксана составляет 2 моля на моль аминокислотного остатка ПБГ. Сорбция столь большого количества диоксана сопровождается высокочастотным смещением полосы валентных колебаний C=O сложноэфирных групп в составе боковых цепей наряду с сужением полос поглощения боковых и пептидных групп C=O. Это, по-видимому, обусловлено переупаковкой боковых цепей при сорбции довольно массивных молекул диоксана, поскольку известно, что положение и форма полос поглощения боковых групп ПБГ чувствительны к конформации боковой цепи [23].

Результаты расчетов находятся в согласии с экспериментом и показывают, что молекулы диоксана не способны проникать к пептидным группам спирального участка ПБГ из-за стерических затруднений и локализуются в области бензильных групп боковых цепей (рис. 4). Такие комплексы стабилизированы большим числом слабых взаимодействий типа CH…O, которые широко обсуждаются в последнее время ввиду их важности для биологических объектов [30]. Согласно нашим расчетам, вклад полярных взаимодействий в энергию комплексов ПБГ с диоксаном может достигать величины –8 ккал/моль [17], сопоставимой с энтальпийной составляющей энергии сорбции воды.

Комплексы ПБГ с молекулами воды и диоксана. Для того чтобы определить центры связывания молекул воды и диоксана в спиральном участке ПБГ при их совместной сорбции, мы проанализировали спектральные изменения в областях валентных колебаний групп O—H воды, C—O диоксана, C=O боковых цепей и пептидного остова ПБГ, вызванные сорбцией растворителя из бинарных водно-диоксановых смесей в пленке ПБГ.

При совместной сорбции воды и диоксана в разностных спектрах пленки ПБГ с сорбированным бинарным растворителем и исходно сухой пленки ПБГ наряду с высокочастотным дублетом с максимумами при 3625 и 3540 см$^{-1}$ появляется дополнительный дублет с максимумами при 3580 и 3515 см$^{-1}$ (рис. 5). Второй дублет имеет такую же форму и положение максимумов, как в спектре жидких водно-диоксановых смесей при низких концентрациях воды, когда одиночные молекулы

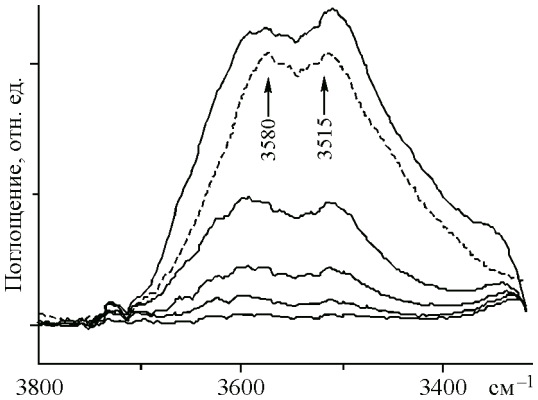

Рис. 5. Разностные спектры поглощения влажной пленки ПБГ при a_W от 0,1 до 0,4 и сухой пленки в области валентных колебаний OH при гидратации парами водно-диоксановых смесей

воды образуют две водородные связи с эфирными атомами кислорода соседних молекул диоксана [24]. То, что молекулы диоксана, абсорбированные в пленке ПБГ, гидратируются в процессе сорбции водно-диоксановых смесей, подтверждается тем, что полоса ν_s(C—O) диоксана плавно сдвигается к низким частотам при увеличении активности воды в бинарной смеси. Полосы поглощения ν(C=O) боковых цепей и пептидных групп ПБГ демонстрируют низкочастотный сдвиг относительно положения спектральных полос ПБГ с абсорбированным в пленке безводным диоксаном. При $a_W = 0{,}4$ количество воды, связанной с группами ПБГ, составляет 0,015 моль/моль остатка. Увеличение количества воды, связанной с карбонильными группами в присутствии диоксана, по сравнению с гидратацией из паров чистой воды, по-видимому, также обусловлено переупаковкой боковых цепей полипептида и увеличением доступности полярных центров ПБГ для молекул воды. Количество воды, связанной с молекулами диоксана, при $a_W = 0{,}4$ достигает 0,01 моля воды в расчете на один моль остатка или 0,005 молей воды в расчете на моль диоксана.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ спектральных изменений при сорбции растворителя из паров воды или диоксана и из паров их бинарных смесей позволяет заключить, что в спиральном фрагменте ПБГ молекулы воды и диоксана связываются независимыми центрами сорбции полипептидной матрицы. Молекулы воды гидратируют карбонильные группы в составе сложноэфирных фрагментов боковых цепей и карбонильные фрагменты пептидного спирального остова, образуя комплексы 1:2, когда одна молекула воды связывает два карбонильных атома кислорода, принадлежащих боковой цепи и остову. Молекулы диоксана локализуются в области фенильных колец боковых цепей. Сорбция большого количества крупных молекул диоксана сопровождается изменением конформации боковых цепей полипептида. Локализация молекул диоксана в области фенильных колец полипептида не препятствуют гидратации ПБГ. Напротив, в присутствии абсорбированного диоксана полярные центры твердого препарата ПБГ становятся более доступными для молекул воды, видимо, из-за переориентации боковых групп, вызванной сорбцией органического растворителя. При совместной сорбции бинарного растворителя, помимо заполнения независимых центров связывания воды и диоксана в полипептиде, происходит также гидратация полярных центров самих молекул диоксана, что увеличивает общий уровень гидратации препарата. Сравнение комплексов, предсказанных расчетами для спирального фрагмента ПБГ в вакууме, с экспериментально наблюдаемыми в твердом препарате ПБГ, показывает, что вода диспергирована в гидрофобной среде боковых групп ПБГ в виде одиночных молекул, связывающих сразу два полярных центра — карбонильные атомы кислорода сложноэфирной и пептидной групп. Молекулы диоксана локализуются в области бензильных фрагментов боковых цепей, реализуя слабые взаимодействия типа CH…O.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ball P.* // Chem. Rev. – 2008. – **108**. – P. 74.
2. *Klibanov A.M.* // Nature. – 2001. – **409**. – P. 241.
3. *Yang L., Dordick J.S., Garde S.* // Biophys. J. – 2004. – **87**. – P. 812.
4. *Lousa D., Baptista A.M., Soares C.M.* // Phys. Chem. Chem. Phys. – 2013. – **15**. – P. 13723.
5. *Pal S.K., Peon J., Bagchi B., Zewail A.H.* // J. Phys. Chem. B. – 2002. – **106**. – P. 12376.
6. *Partridge J., Moore B.D., Halling P.J.* // J. Mol. Catalysis B: Enzymatic. – 1999. – **6**. – P. 11.
7. *Schmitke J.L., Stern L.J., Klibanov A.M.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1997. – **94**. – P. 4250.
8. *Jana P., Maity S., Maity S.K., Ghorai P.K., Haldar D.* // CrystEngComm. – 2012. – **14**. – P. 6586.
9. *Cruz A., Ramirez E., Santana A. et al.* // Mol. Simulat. – 2009. – **35**. – P. 205.
10. *Micaelo N.M., Soares C.M.* // FEBS J. – 2007. – **274**. – P. 2424.
11. *Carrea G., Riva S.* // Angew. Chem. Int. Ed. – 2000. – **39**. – P. 2226.
12. *Iwamoto R., Matsuda T., Sasaki T., Kusanagi H.* // J. Phys. Chem. B. – 2003. – **107**. – P. 7976.
13. *Morita S., Tanaka M., Ozaki Y.* // Langmuir. – 2007. – **23**. – P. 3750.
14. *Lai H., Wu P.* // Polym. Chem. – 2013. – **4**. – P. 3323.
15. *Макшакова О.Н., Файзуллин Д.А., Зуев Ю.Ф.* // Биоорган. химия. – 2012. – **38**. – С. 300.

16. *Makshakova O., Ermakova E.* // J. Mol. Struct.: Theochem. – 2010. – **942**. – С. 7.
17. *Makshakova O., Chachkov D., Ermakova E.* // Int. J. Quant. Chem. – 2011. – **111**. – P. 2525.
18. *Zhao Y., Truhlar D.G.* // J. Chem. Theory Comput. – 2007. – **3**. – P. 289.
19. *Sousa S.F., Fernandes P.A., Ramos M.J.* // J. Phys. Chem. A. – 2007. – **111**. – P. 10439.
20. *Perrin D.D., Armarego W.L.F., Perrin D.R.* Purification of Laboratory Chemicals. – UK, Oxford: Pergamon Press, 1980.
21. *Никольский Б.П.* Справочник химика. – Л.: Госхиммздат, 1963. – Т.1.
22. *Коган В.Б., Фридман В.М., Кафаров В.В.* Равновесие между жидкостью и паром. Справочное пособие. – М.: Наука, 1966.
23. *Чиргадзе Ю.Н., Рашевская Е.П.* // Биофизика. – 1969. – **14**, № 4. – С. 608.
24. *Сироткин В.А., Соломонов Б.Н., Файзуллин Д.А., Федотов В.Д.* // Журн. структур. химии. – 2000. – **41**. – С. 997.
25. *Perdew J.P., Burke K., Ernzerhof M.* // Phys. Rev. Lett. – 1996. – **77**. – P. 3865.
26. *Laikov D.N.* // Chem. Phys. Lett. – 1997. – **281**. – P. 151.
27. *Laikov D.N.* // Chem. Phys. Lett. – 2005. – **416**. – P. 116.
28. *Карякин А.В., Кривенцова Г.А.* Состояние воды в органических и неорганических соединениях. – М.: Наука, 1973.
29. *Kusanagi H., Yukawa S.* // Polymer. – 1994. – **35**. – P. 5637.
30. *Qingzhong L., Wang N., Zhiwu Y.* // J. Mol. Struct.: Theochem. – 2007. – **847**. – P. 68.