

УДК 541.11:536.7

СТАНДАРТНЫЕ ЭНТАЛЬПИИ ОБРАЗОВАНИЯ L-ГЛУТАДИОНА
И ПРОДУКТОВ ЕГО ДИССОЦИАЦИИ В ВОДНОМ РАСТВОРЕ© 2021 г. А. И. Лыткин^а, В. В. Черников^а, О. Н. Крутова^{а,*}, А. А. Голубев^а, Р. А. Романов^а^а Ивановский государственный химико-технологический университет, Иваново, Россия

*e-mail: kdvkonkpd@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.11.2020 г.

После доработки 19.01.2021 г.

Принята к публикации 20.01.2021 г.

Измерены теплоты растворения кристаллического L-глутатиона в воде и в растворах гидроксида калия при 298.15 К прямым калориметрическим методом. По аддитивно групповому методу, основанному на групповой систематике с классификацией фрагментов типа классификации Бенсона, которая учитывает влияние первичного окружения для атомов, рассчитано численное значение стандартной энтальпии образования глутатиона в кристаллическом состоянии. Рассчитаны стандартные энтальпии образования трипептида и продуктов его диссоциации в водном растворе.

Ключевые слова: L-глутатион, трипептиды, калориметрия, энтальпия, растворы

DOI: 10.31857/S0044453721090156

Пептид L-глутатион состоит из остатков трех аминокислот: глутаминовой кислоты, цистеина и глицина, связанных пептидными связями. Его структурная особенность заключается в том, что в образовании пептидной связи между остатками глутамата и цистеина принимает участие карбоксильная группа глутамата в γ -положении. Физико-химическое изучение растворов пептидов весьма актуально. Пептиды обладают уникальными свойствами, и все биологические процессы осуществляются при непосредственном участии белков. Они служат регуляторами генетической функции нуклеиновых кислот, в качестве ферментов участвуют во всех стадиях биосинтеза полипептидов, полинуклеотидов, принимают активное участие во многих процессах жизнедеятельности.

В литературе имеются надежные данные по константам ионизации пептида [1–5]. Эти работы выполнены при различных значениях ионной силы раствора, на фоне отличающихся по своей природе поддерживающих электролитов. Для того, чтобы можно было сравнивать значения констант ступенчатой диссоциации пептида, полученные разными авторами, мы пересчитали величины pK_1 и pK_2 , pK_3 , pK_4 на нулевую ионную силу. Пересчет констант диссоциации L-глутатиона на нулевую ионную силу выполняли по уравнению Дэвис [6] (для $I < 0.5$):

$$pK^o = pK^c + A\Delta Z^2 \left(\frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} - 0.2I \right) \quad (1)$$

и по уравнению (для $I > 0.5$):

$$pK^o = pK^c + A\Delta Z^2 \left(\frac{\sqrt{I}}{1 + 1.6\sqrt{I}} - 0.05I \right) - \delta I. \quad (2)$$

где pK^c и pK^o – отрицательные логарифмы концентрации и термодинамической констант диссоциации; ΔZ^2 – разность квадратов зарядов продуктов реакции и исходных веществ; A – постоянная предельного закона Дебая, равная 0.5107 при 25°C; δ – эмпирический коэффициент; I – ионная сила раствора (моль/л). Термодинамические константы ступенчатой диссоциации кислоты определяли также графическим методом [7]:

$$pK^c = pK^o - \Delta Z^2 A \frac{\sqrt{I}}{1 + 1.6\sqrt{I}} + \delta I. \quad (3)$$

После обработки литературных значений констант ступенчатой диссоциации в качестве наиболее вероятных величин термодинамических констант диссоциации можно принять при 298.15 К: $pK_1^o = 2.05 \pm 0.03$, $pK_2^o = 3.49 \pm 0.03$ и $pK_3^o = 8.65 \pm 0.05$, $pK_4^o = 9.60 \pm 0.05$.

Цель настоящей работы – определение стандартных энтальпий образования глутатиона и продуктов его диссоциации в водном растворе по тепловым эффектам растворения пептида в воде и в водных растворах КОН при 298.15 К.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали кристаллический препарат L-глутатиона ($C_{10}H_{17}O_6N_3S$) марки "SIGMA-ALDRICH", содержание основного компонента >98% (по массе) без дополнительной очистки. Перед использованием кристаллический пептид высушивали при 353 К до постоянной массы. Бескарбонатный раствор КОН приготавливали из реактивов марки "х.ч." по обычной методике [8]. Работу калориметрической установки [9] проверяли по общепринятому калориметрическому стандарту – теплоте растворения кристаллического хлорида калия в воде. Препарат KCl очищали двукратной перекристаллизацией реактива марки "х.ч." из бидистиллята. Перед взятием навесок хлорид калия высушивали в сушильном шкафу при 393.15 К до постоянной массы. Согласование экспериментально полученных теплот растворения KCl(кр.) в воде $\Delta_{sol}H(\infty H_2O) = 17.25 \pm 0.06$ кДж/моль с наиболее надежными литературными данными [10] свидетельствует об отсутствии заметной систематической погрешности в работе калориметрической установки. Навески растворов взвешивали на весах марки ВЛР-200 с точностью 2×10^{-4} г.

Доверительный интервал среднего значения ΔH вычисляли с вероятностью 0.95. Равновесный состав растворов рассчитывали с использованием программы RRSU с учетом одновременного протекания нескольких процессов кислотно-основного взаимодействия и диссоциации воды [11].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Процесс растворения пептида в воде можно представить схемой:



Стандартные энтальпии образования раствора глутатиона при различных разведениях рассчитывали по уравнению:

$$\begin{aligned} \Delta_f H^0(H_3L^{\pm}, р-р, nH_2O, 298.15 \text{ К}) = \\ = \Delta_f H^0(H_3L^{\pm}, кр., 298.15 \text{ К}) + \\ + \Delta_{sol} H(H_3L^{\pm}, кр., 298.15 \text{ К}), \end{aligned} \quad (5)$$

где $\Delta_f H^0(H_3L^{\pm}, кр., 298.15 \text{ К})$ – стандартная энтальпия образования кристаллического глутатиона; $\Delta_{sol} H(H_3L^{\pm}, кр., 298.15 \text{ К})$ – теплота растворения пептида в воде (табл. 1). Значение стандартной энтальпии образования глутатиона в кристаллическом состоянии составило $\Delta_f H^0 = -1399.5 \pm 2.1$ кДж/моль. Она рассчитана по аддитивно-групповому методу [12, 13], основанному на групповой систематике с классификацией фрагментов типа классификации Бенсона, кото-

рая учитывает влияние первичного окружения для атомов. Расчет энтальпии сгорания и образования исследуемого соединения проводили по формуле:

$$\Delta_{c(f)} H^0_{(ТВ)} = \sum_i^n A_i \Delta_{c(f)} H_i^0, \quad i = 1, 2, 3, \dots, n, \quad (6)$$

где $\Delta_{c(f)} H^0_{(ТВ)}$ – энергетический вклад в энтальпию сгорания (образования) определенной атомной группы, A_i – число таких атомных групп в молекуле, n – число типов атомных групп в молекуле. Исходные данные для расчета $\Delta_f H^0 = -1399.5 \pm 2.1$ кДж/моль исследуемого соединения приведены в табл. 2.

Стандартные энтальпии образования недиссоциированных молекул глутатиона в гипотетическом недиссоциированном состоянии при конечном разведении находили по уравнению:

$$\begin{aligned} \Delta_f H^0(H_3L^{\pm}, р-р, nH_2O, гип., недисс., 298.15 \text{ К}) = \\ \Delta_f H^0(H_3L^{\pm}, р-р, nH_2O, 298.15 \text{ К}) + \\ + \alpha(H_3L^{\pm}) \Delta_{ass} H^0(H_4L^+) + \alpha(H_4L^+) ((\Delta_{ass} H^0(H_4L^+) + \\ + \Delta_{ass} H^0(H_3L^{\pm})) + \alpha(H_3L^{\pm}) ((\Delta_{ass} H^0(H_4L^+) + \\ + \Delta_{ass} H^0(H_3L^{\pm}) + \Delta_{ass} H^0(H_2L)) + \\ + \alpha(H_2L) ((\Delta_{ass} H^0(H_4L^+) + \\ + \Delta_{ass} H^0(H_3L^{\pm}) + \Delta_{ass} H^0(H_2L) + \Delta_{ass} H^0(HL^{2-})) + \\ + \alpha(HL^{2-}) ((\Delta_{ass} H^0(H_4L^+) + \Delta_{ass} H^0(H_3L^{\pm}) + \\ + \Delta_{ass} H^0(H_2L) + \Delta_{ass} H^0(HL^{2-}) + \Delta_{ass} H^0(L^{3-})), \end{aligned} \quad (7)$$

где $\alpha(H_4L^+)$, $\alpha(H_3L^{\pm})$, $\alpha(H_2L)$, $\alpha(HL^{2-})$, $\alpha(L^{3-})$ – доли соответствующих частиц; $\Delta_{ass} H^0(1)$, $\Delta_{ass} H^0(2)$, $\Delta_{ass} H^0(3)$, $\Delta_{ass} H^0(4)$ – изменение энтальпии в процессах последовательного протонирования L^{3-} . Эти значения определены нами ранее. Расчет равновесий показывает, что вкладом шестого члена правой части уравнения можно пренебречь, сумма второго, третьего, четвертого и пятого членов не превышает 0.4 кДж/моль. Равновесный состав системы рассчитывали с использованием программы RRSU.

В результате обработки полученных данных найдена величина:

$$\begin{aligned} \Delta_f H^0(H_3L^{\pm}, р-р, H_2O, гип. недисс., 298.15 \text{ К}) = \\ = -1420.2 \pm 2.1 \text{ кДж/моль.} \end{aligned}$$

Таблица 1. Энтальпии растворения глутатиона в воде при 298.15 К

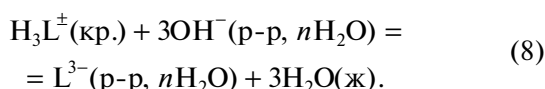
Навеска пептида, г	$m \times 10^3$, моль $H_3L^\pm/1000$ кг H_2O	Разведение, моль $H_2O/моль H_3L^\pm$	$-\Delta_{sol}H$, кДж/моль	$-\Delta_f H^0(H_3L^\pm, p-p, nH_2O, гип., недисс., 298.15 K)$, кДж/моль
0.0073	0.5516	98317	$20.85 \pm 0.25^*$	1419.9
0.0092	0.6981	77697	20.86	1419.9
0.0098	0.7463	72669	21.03	1420.1
0.0112	0.8451	64170	21.25	1420.3
0.0136	1.0264	52845	21.44	1420.5
0.0226	1.7057	31801	21.52	1420.6
0.0232	1.7506	30978	21.49	1420.6
0.0351	2.6486	20475	21.51	1420.6
0.0463	3.4938	15522	21.64	1420.7
0.0512	3.8636	14037	21.71	1420.8
0.0679	5.1238	10584	21.79	1420.9
0.0863	6.5122	8327	21.84	1420.9
0.0985	7.4329	7296	21.88	1420.9
0.0112	8.3914	6463	21.99	1421.1
0.1156	8.7233	6217	22.06	1421.1
0.1269	9.5761	5663	22.11	1421.2

* Погрешность в тепловых эффектах растворения пептида в воде.

Стандартные энтальпии образования частиц в водном растворе определяли, используя данные по стандартным энтальпиям образования пептида в гипотетическом недиссоциированном состоянии и значениям ступенчатых энтальпий диссоциации глутатиона.

Для независимого определения стандартной энтальпии образования частицы L^{3-} и других продуктов диссоциации пептида в водном растворе использовали вторую методику. С этой целью проведена серия опытов по определению энтальпий растворения глутатиона в растворах щелочи при соотношении эквивалентов не менее 1 : 3 (табл. 3).

Процесс растворения кислоты в растворе КОН можно представить схемой:



Надежность такой схемы растворения подтверждается диаграммой равновесий в водном растворе пептида. Расчет показал, что полнота протекания реакции (8) составляла не менее 99.9% для всех калориметрических опытов. Поскольку в реакции (8) разность квадратов зарядов продуктов реакции и исходных компонентов $\Delta z^2 = 0$, тепловые эффекты растворения кислоты при нулевой ионной силе рассчитывали по уравнению [7]:

$$\Delta_r H_{(8)} = \Delta_r H_{(8)}^0 + iI, \quad (9)$$

где $\Delta_r H_{(8)}$ и $\Delta_r H_{(8)}^0$ – тепловые эффекты процесса (8) при конечном и нулевом значениях ионной силы; i – эмпирический коэффициент; I – ионная сила раствора. Используя полученные величины $\Delta_r H^0(8)$ и значения $\Delta_f H^0(OH^-, p-p, H_2O, 298.15 K)$, $\Delta_f H^0(H_2O, ж, 298.15 K)$, рекомендован-

Таблица 2. Отдельные энергетические вклады в энтальпии образования глутатиона [12, 13]

Группа	n	$-\Delta_f H_i^0$, Дж/моль
(C)–NH ₂	1	50.8 ± 21.2
(N)(C) ₂ –CH	2	21.6 ± 20.4
(C)–S–(H)	1	5.8*
(C)(N)–C=O	2	182.3 ± 20.6
(C) ₂ –NH	2	-28.9 ± 38.1
C–COOH	2	435.3 ± 4.3
(N)(C)–CH ₂	1	42.6 ± 1.8
(C) ₂ –CH ₂	2	27.8 ± 1.8
CH ₂ –(C)–(S)	1	24.1*

Обозначения: n – число типов атомных групп в молекуле. * – величины представлены в работе [13] без погрешности.

Таблица 3. Энтальпии растворения глутатиона в растворе КОН при различных концентрациях и $T = 298.15$ К

Масса навески, г	c_{KOH}° , моль/л	$\Delta_{\text{sol}}H$, кДж/моль
0.02120	0.004586	80.73 ± 0.27
0.02125		81.25 ± 0.25
0.02120		80.68 ± 0.28
0.04260	0.009172	83.65 ± 0.25
0.04218		83.62 ± 0.26
0.04295		83.54 ± 0.25
0.05995	0.01376	86.78 ± 0.25
0.05995		86.76 ± 0.27
0.05910		86.71 ± 0.26

ные в справочнике [14], рассчитали стандартную энтальпию образования депротонированного аниона пептида:

$$\begin{aligned} \Delta_f H^0(\text{L}^{3-}, \text{p-p}, \text{H}_2\text{O}, 298.15 \text{ K}) = \\ = \Delta_f H^0(\text{H}_3\text{L}^{\pm}, \text{кр.}, 298.15 \text{ K}) + \\ + 3\Delta_f H^0(\text{OH}^-, \text{p-p}, \text{H}_2\text{O}, 298.15 \text{ K}) + \Delta_f H_{(5)}^0 - \\ - 3\Delta_f H^0(\text{H}_2\text{O}, \text{ж}, 298.15 \text{ K}) = -1399.5 + \\ + 3(-230.04) + (-78.06) + 3 \times 285.83 = \\ = -1310.19 \pm 2.1 \text{ кДж/моль}. \end{aligned} \quad (10)$$

Стандартные энтальпии образования частиц H_4L^+ , H_3L^{\pm} , H_2L , HL^{2-} в состоянии: гип. недисс. находили по уравнениям:

$$\begin{aligned} \Delta_f H^0(\text{H}_4\text{L}^+, \text{p-p}, \text{H}_2\text{O}, \text{гип. недисс.}, 298.15 \text{ K}) = \\ = \Delta_f H^0(\text{H}_3\text{L}^+, \text{p-p}, \text{H}_2\text{O}, \text{гип. недисс.}, \\ 298.15 \text{ K}) - \Delta_{\text{dis}} H^0(\text{H}_4\text{L}^+, 298.15 \text{ K}) = \\ = -1418.8 \pm 2.1 \text{ кДж/моль}, \end{aligned} \quad (11)$$

$$\begin{aligned} \Delta_f H^0(\text{H}_3\text{L}^+, \text{p-p}, \text{H}_2\text{O}, \text{гип. недисс.}, 298.15 \text{ K}) = \\ = \Delta_f H^0(\text{H}_2\text{L}^-, \text{p-p}, \text{H}_2\text{O}, \text{гип. недисс.}, \\ 298.15 \text{ K}) - \Delta_{\text{dis}} H^0(\text{H}_3\text{L}^{\pm}, 298.15 \text{ K}) = \\ = -1420.3 \pm 2.1 \text{ кДж/моль}, \end{aligned} \quad (12)$$

$$\begin{aligned} \Delta_f H^0(\text{H}_2\text{L}^{2-}, \text{p-p}, \text{H}_2\text{O}, \text{гип. недисс.}, 298.15 \text{ K}) = \\ = \Delta_f H^0(\text{HL}^{2-}, \text{p-p}, \text{H}_2\text{O}, \text{гип. недисс.}, \\ 298.15 \text{ K}) - \Delta_{\text{dis}} H^0(\text{H}_2\text{L}^{2-}, 298.15 \text{ K}) = \\ = -1422.9 \pm 2.1 \text{ кДж/моль}, \end{aligned} \quad (13)$$

$$\begin{aligned} \Delta_f H^0(\text{HL}^{2-}, \text{p-p}, \text{H}_2\text{O}, \text{гип. недисс.}, 298.15 \text{ K}) = \\ = \Delta_f H^0(\text{L}^{3-}, \text{p-p}, \text{H}_2\text{O}, \text{гип. недисс.}, \\ 298.15 \text{ K}) - \Delta_{\text{dis}} H^0(\text{HL}^{2-}, 298.15 \text{ K}) = \\ = -1383.6 \pm 2.1 \text{ кДж/моль}. \end{aligned} \quad (14)$$

Основная цель получения термодинамических данных — использование их в расчетах, необходимых для решения многих вопросов прикладной и теоретической химии. Основным экспериментальным методом термодинамики остается калориметрия. Значения стандартных энтальпий образования глутатиона и продуктов его диссоциации в водном растворе служат ключевыми величинами в термодинамике трипептида, открывают возможности проведения строгих термодинамических расчетов в системах, содержащих это соединение.

Работа выполнена в НИИ Термодинамики и кинетики химических процессов Ивановского государственного химико-технологического университета в рамках Государственного задания (базовая часть) проект № FZZW-2020-0009.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Garcia-Ruiz C., Fernández-Checa J.C. // J. Gastroenterol. Hepatol. 2007. V. 22. P. 38.
2. Biswas S.K., Rahman I. // Mol. Aspects Med. 2009. V. 30 (1–2). P. 60.
3. Carretero J., Obrador E., Anasagasti M.J. et al. // Clin. Exp. Metastasis. 1999. V. 17. P. 567.
4. De Leve L., Kaplowitz N. // Sem Liver Dis. 1990. V. 10. P. 251.
5. De Leve L., Kaplowitz N. // Pharmacol. Ther. 1991. V. 52. P. 287.
6. Davies C. // J. Chem. Soc. 1938. P. 2093.
7. Васильев В.П. Термодинамические свойства растворов электролитов. М.: Высшая школа, 1982. С. 200, 313.
8. Коростелев П.П. Приготовление растворов для химико-аналитических работ. М.: Изд-во АН СССР, 1962. 398 с.
9. Lytkin A.I., Chernikov V.V., Krutova O.N., Skvortsov I.A. // J. Thermal Analysis and Calorimetry. 2017. V. 130 (1), P. 457.
10. Archer D.G. // J. Phys. Chem. Ref. Data. 1999. V. 28. № 1. P. 1.
11. Бородин В.А., Васильев В.П., Козловский Е.В. // Математические задачи химической термодинамики. Новосибирск: Наука, 1985. 219 с.
12. Васильев В.П., Бородин В.А., Копнышев С.Б. // Журн. физ. химии. 1991. Т. 65. № 1. С. 55.
13. Гимадеев А.А., Сагадеев Е.В., Барабанов В.П. // Вестн. Казанск. технологич. ун-та. 2009. № 2. С. 7.
14. Термические константы веществ / Спр. под ред. В.П. Глушко Вып. III. М.: ВИНТИ, 1965–1971.