

Н. В. ПЕТРОВ, А. П. БОРИСОВА, И. А. САВИЧ,  
академик Викт. И. СПИЦЫН

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСТАНТ УСТОЙЧИВОСТИ КОМПЛЕКСОВ  
НИКЕЛЯ С НЕКОТОРЫМИ ДИПЕПТИДАМИ

Никель, так же как и медь, кобальт, железо, цинк, марганец, магний и кальций, входит в число жизненно важных химических элементов. Эти элементы обнаружены в тканях человека и животных, а некоторые из них входят в состав ферментов, повышая их активность. Цель данного исследования — охарактеризовать устойчивость комплексных соединений, которые образует никель с фрагментами белков, дипептидами. Как известно, дипептиды, образованные алифатическими аминокислотами, реагируют с ионами меди с ионизацией амидного водорода (<sup>1-3, 7</sup>). В литературе имеются также данные о взаимодействии ионов никеля с подобными дипептидами (<sup>4-7</sup>). Однако число использованных дипептидов крайне ограничено.

В нашей работе исследовались 12 дипептидов с общей формулой  $\text{NH}_2\text{CH}(\text{R}_1)\text{CONHCH}(\text{R}_2)\text{COOH}$ .  $\text{R}_1$  обозначает H для дипептидов глицинового и  $\text{CH}_3$  для дипептидов аланинового рядов;  $\text{R}_2 = \text{H}$  для глицил-глицина,  $\text{CH}_3$  для глицил- $\alpha$ -аланина и аланин- $\alpha$ -аланина,  $(\text{H})\text{CH}_2$  для глицил- $\beta$ -аланина,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  для глицил-валина и аланил-валина,  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  для глицил-лейцина,  $(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$  для глицил-норлейцина. Изучались как рацемические смеси, так и чистые изомеры дипептидов. Обычно применялись хроматографически чистые дипептиды фирмы «Reanal» (Венгрия). Эти дипептиды высушивались в вакуумном сушильном шкафу при 70° С. 0,1 M раствор хлористого никеля приготавлился растворением точной навески особо чистого металлического никеля (содержание металла 99,99%) в перекремной соляной кислоте марки х. ч. Растворы с меньшей концентрацией получали разбавлением дистиллированной водой 0,1 M раствора хлористого никеля. Потенциометрическое титрование проводилось 0,1 M

Таблица 1

Константы ионизации исследованных дипептидов

№ п. п.	Дипептиды	$pK_a$	$pK_a^1$	Температурные данные		Источник
				$pK_a$	$pK_a^1$	
1	Глицил-глицин	$8,31 \pm 0,03$	$3,08 \pm 0,03$	8,37	3,12	(1)
2	Глицил-DL- $\alpha$ -аланин	$8,26 \pm 0,01$	$3,18 \pm 0,01$	8,25	3,15	(9)
3	Глицил-L- $\alpha$ -аланин	$8,29 \pm 0,01$	$3,16 \pm 0,01$	$8,28 \pm 0,02$	$3,31 \pm 0,02$	(9)
4	Глицил-DL-валин	$8,26 \pm 0,02$	$3,12 \pm 0,02$	8,25	3,17	(9)
5	Глицил-L-валин	$8,27 \pm 0,01$	$3,10 \pm 0,02$			
6	Глицил-D-валин	$8,28 \pm 0,02$	$3,10 \pm 0,02$			
7	Глицил-DL-лейцин	$8,27 \pm 0,01$	$3,18 \pm 0,02$	8,29	3,18	(8)
8	Глицил-L-лейцин	$8,27 \pm 0,01$	$3,18 \pm 0,01$			
9	Глицил-DL-норлейцин	$8,26 \pm 0,01$	$3,21 \pm 0,00$			
10	Глицил- $\beta$ -аланин	$8,29 \pm 0,01$	$4,03 \pm 0,01$	$8,27 \pm 0,02$	$4,07 \pm 0,03$	(9)
11	DL- $\alpha$ -аланил-DL- $\alpha$ -аланин	$8,33 \pm 0,01$	$3,16 \pm 0,02$			
12	DL- $\alpha$ -аланил-DL-валин	$8,36 \pm 0,02$	$3,10 \pm 0,02$			

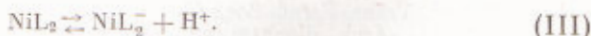
раствором NaOH, свободным от карбонатов, в атмосфере азота (содержание  $O_2 \leq 0,003\%$ ), в условиях термостатирования при температуре  $25 \pm 0,03^\circ$ . Титруемый раствор перемешивался магнитной мешалкой. Во время титрования значения pH измеряли на потенциометре ЛПУ-01 со стеклянным и насыщенным, проточным хлоросеребряным электродами. Первоначальный объем титруемого раствора составлял 50 мл. При отношении никеля к дипептиду, равному 1 : 2, концентрация иона никеля в растворе составляла 0,005 M, а дипептида — 0,01 M. Раствор щелочи прибавлялся равными порциями по 0,25 мл из микробюретки объемом 2 мл. Ионная сила титруемого раствора, равная 0,12, создавалась прибавлением 10 мл 0,5 M раствора хлористого натрия, приготовленного из прокаленной соли марки х. ч.

Для 12 исследованных дипептидов, представляющих цвиттер-ионы, были определены константы кислотной ионизации по аминной ( $K_a$ ) и карбоксильной группам ( $K_a'$ ). Обе константы рассчитывались прямым алгебраическим методом из 8 точек кривых титрования. Доверительные интервалы значений констант определялись с помощью критерия Стьюдента. Значения констант приведены в табл. 1.

Образование комплексов никеля с указанными дипептидами происходит ступенчато по следующей схеме (отношение дипептида (L) к никелю = 2 : 1):



Только для раствора глицил-глицина и никеля происходит ионизация одного амидного водорода



На рис. 1 приведены типичные кривые титрования растворов, содержащих никель и разные дипептиды.

При титровании растворов с отношением дипептида к никелю 2 : 1 при  $pH > 9$  всегда выпадал осадок гидроксида никеля (на рис. 1 показано стрелками). Значения констант  $K_1$  и  $K_2$  для реакций (I) и (II) рассчитывались по уравнению (1), предложенному Ирвингом и Россотти<sup>(9)</sup>,

$$\frac{\bar{n}}{(\bar{n}-1)[L^-]} = \frac{(2-\bar{n})[L^-]}{(\bar{n}-1)} \beta_2 - K_1, \quad (1)$$

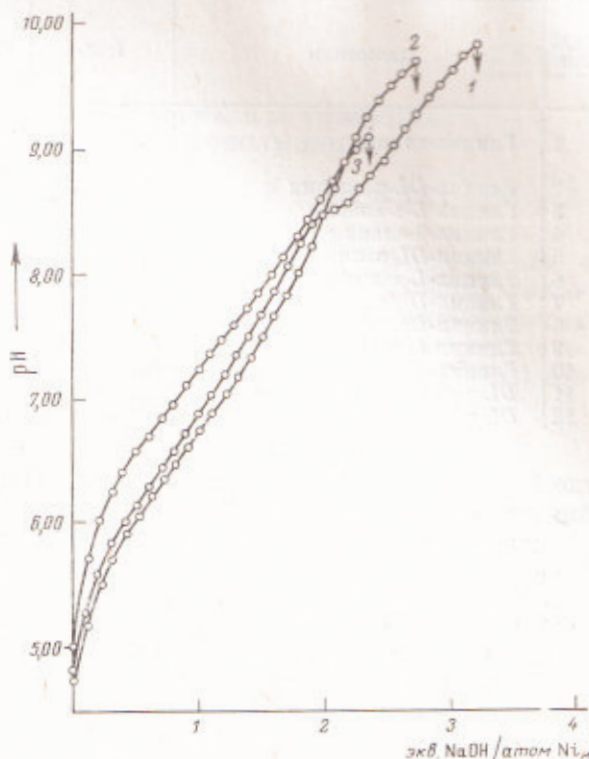


Рис. 1. Кривые титрования растворов, содержащих: 1 — 0,005 M  $NiCl_2$  + 0,01 M глицил-глицина; 2 — 0,005 M  $NiCl_2$  + 0,01 M глицил-DL- $\alpha$ -аланина; 3 — 0,005 M  $NiCl_2$  + 0,01 M DL- $\alpha$ -аланил-DL- $\alpha$ -аланина

Таблица 2

Значения логарифмов констант устойчивости комплексов, образованных никелем с дипептидами

№№ п.п.	Дипептиды	lg K <sub>1</sub>	lg K <sub>2</sub>	Литературные данные		Источник
				lg K <sub>1</sub>	lg K <sub>2</sub>	
1	Глицил-глицин	4,17±0,05	3,27±0,20	4,49 4,18	3,42	( <sup>3</sup> ) ( <sup>5</sup> )
2	Глицил-DL-α-аланин	4,18±0,07	3,52±0,25	4,08	3,79	( <sup>6</sup> )
3	Глицил-L-α-аланин	4,26±0,08	3,55±0,25			
4	Глицил-β-аланин	4,08±0,10	3,69±0,25			
5	Глицил-DL-валин	4,20±0,07	3,54±0,13			
6	Глицил-L-валин	4,21±0,08	3,56±0,06			
7	Глицил-D-валин	4,19±0,10	3,59±0,20			
8	Глицил-DL-лейцин	4,16±0,04	3,67±0,18			
9	Глицил-L-лейцин	4,28±0,04	3,68±0,19			
10	Глицил-DL-норлейцин	4,24±0,04	3,54±0,15			
11	DL-α-аланил-DL-α-аланин	3,61±0,15	3,16±0,25			
12	DL-α-аланил-DL-α-валин	3,53±0,11	3,21±0,07			

где  $\bar{n}$  — функция образования Бьеррума,  $[L^-]$  — равновесная концентрация дипептида,  $\beta_2 = K_1 \cdot K_2$ .

Значение константы для реакции (III) не вычислялось. Расчет  $K_1$  и  $K_2$  проводился алгебраически, методом наименьших квадратов. Принцип расчета описан в работе (<sup>10</sup>). При вычислении средних значений  $K_1$  и  $K_2$  использовались все опытные данные, за исключением данных, лежащих между  $\bar{n} = 0,95$  и  $\bar{n} = 1,05$ , которые отбрасывались. Значения  $\lg K_1$  получали вычитанием  $\lg K_1$  из  $\lg \beta_2$ . В табл. 2 приведены средние значения  $\lg K_1$  с доверительными интервалами для 7 точек и средние значения  $\lg K_2$  с доверительными интервалами для 5 точек кривых титрования.

Таким образом, полученные нами значения логарифмов констант кислотной ионизации по аминной и карбоксильной группам дипептидов очень близки к литературным данным. Для комплексов никеля с дипептидами глицинового ряда значения  $\lg K_1$  примерно на порядок выше  $\lg K_2$ , а с дипептидами аланинового ряда  $\lg K_1$  и  $\lg K_2$  одного порядка. Различия в значениях  $\lg K_1$ , а также  $\lg K_2$  между собой в каждом ряду дипептидов незначительны. Не обнаружено значительных отклонений в величинах констант устойчивости комплексов никеля с рацемическими смесями и чистыми изомерами дипептидов глицинового ряда.

Московский государственный университет  
им. М. В. Ломоносова

Поступило  
2 XII 1969

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> В. Н. Dobbie, W. O. Kermack, J. Biochem., 59, 246 (1955). <sup>2</sup> А. П. Борисова, Ю. В. Грановский и др., Вестн. Московск. ун-в., сер. хим., № 1, 41 (1967).  
<sup>3</sup> У. И. Салахутдинов, А. П. Борисова и др., ДАН, 177, № 2, 365 (1967).  
<sup>4</sup> C. V. Monk, Trans. Farad. Soc., 47, 297 (1951). <sup>5</sup> A. R. Manyak, C. V. Murphy, A. E. Martell, Arch. Biochem. and Biophys., 59, 14, 373 (1955). <sup>6</sup> N. C. Li, M. C. Chen, J. Am. Chem. Soc., 80, 5768 (1958). <sup>7</sup> А. Я. Сычев, Н. С. Мидул, ЖНХ, 12, 2427 (1967). <sup>8</sup> I. P. Greenstein, M. Winitz, Chemistry of the Amino Acids, 1, N. Y.—London, 1961, p. 488. <sup>9</sup> В. Н. Irving, H. S. Rossotti, J. Chem. Soc., 1953, 3397. <sup>10</sup> А. Альберт, Е. Серженг, Константы ионизации кислот и оснований, М.—Л., 1964, стр. 157.