

Заторможенное вращение группы CH_3 в монокристаллах L-аланина: температурная трансформация спектра ЭПР

© В.В. Леманов, Л.С. Сочава

Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе Российской академии наук,
194021 Санкт-Петербург, Россия

E-mail: Lev.Sochava@pop.ioffe.rssi.ru

(Поступила в Редакцию 25 декабря 2002 г.)

Исследована температурная трансформация спектра ЭПР в γ -облученных монокристаллах белковой аминокислоты L-аланина, обусловленная заторможенным вращением группы CH_3 . Найденные из трансформации ЭПР-спектра значения параметров вращения (энергии активации $U = 0.18$ eV и предэкспоненциального множителя $\omega_0 = 1.10^{13} \text{ s}^{-1}$) находятся в удовлетворительном согласии со значениями, полученными ранее из измерений спин-решеточной релаксации протонов в поликристаллических образцах аланина.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 02-02-17666).

Внутримолекулярные вращения групп атомов существенно влияют на физические свойства как самой молекулы, так и соответствующего молекулярного кристалла. Из-за взаимодействия вращающейся группы с окружающими атомами такие вращения являются заторможенными [1] и характеризуются высотой барьера U , разделяющего эквивалентные конфигурации, и предэкспоненциальным множителем в зависимости частоты прыжков от температуры: $\omega = \omega_0 e^{-U/kT}$.

Заторможенное вращение групп CH_3 и NH_3 в кристаллах белковых аминокислот исследовалось в ряде работ, причем основным методом было измерение температурной зависимости времени спин-решеточной релаксации (T_1) протонов в спектрах ЯМР [2–4]. Трудоемкий эксперимент и последующий анализ полученных данных с помощью модифицированных уравнений Блоха [5,6] позволяли определить как высоту барьера U , так и множитель ω_0 . В работе [7] модифицированные уравнения Блоха были использованы для анализа ЭПР-данных, касающихся вращения метильной группы в аланине. При этом с целью сужения резонансных линий, делавшего возможным количественный анализ спектра, авторам [7] пришлось использовать дейтерированные образцы аланина.

В настоящей работе для исследования вращения группы CH_3 в монокристалле L-аланина использовано температурное преобразование спектра ЭПР облученных кристаллов аланина. Как было установлено еще в работах 60-х годов, ионизирующее излучение (γ , рентген) генерирует в кристаллах аминокислот спектр ЭПР, обусловленный взаимодействием возникающего при облучении неспаренного электрона с четырьмя протонами. Анизотропный характер сверхтонкого взаимодействия определяет сложную картину спектра, зависящую от ориентации кристалла во внешнем магнитном поле. Достаточно быстрое вращение группы CH_3 должно приводить к температурному преобразованию спектра ЭПР — при температурах, когда частота реориентации

группы CH_3 станет сравнима и выше величины соответствующих расщеплений в спектре ЭПР (известный эффект усреднения спектра магнитного резонанса из-за атомных движений, рассмотренный для случая ЯМР в работах [5,6]).

Для количественного анализа температурной трансформации спектра мы применили существенно более простой метод обработки экспериментальных данных, чем использованный в [7]. В этом методе, основанном на теоретической работе Андерсона [8], эксперимент сводится к получению зависимости ширины резонансных линий от температуры — в диапазонах их расширения и сужения; уравнения Блоха при этом не используются.

1. Техника эксперимента

Структура молекулы аланина является одной из самых простых среди 20 белковых аминокислот (рис. 1). Кристалл L-аланина имеет симметрию $D_2^4 - P2_12_12_1$ [9,10]. Взаимодействие между молекулами осуществляется через водородную связь между кислородом в карбоксильной группе COO^- и водородом в аминогруппе соседней молекулы (O_2 и H_2 , H_3 на рис. 2). При облучении происходит разрыв связи C-N и образование радикала $\text{CH}_3\dot{\text{C}}\text{HCOO}$, где точка, как обычно, означает неспа-

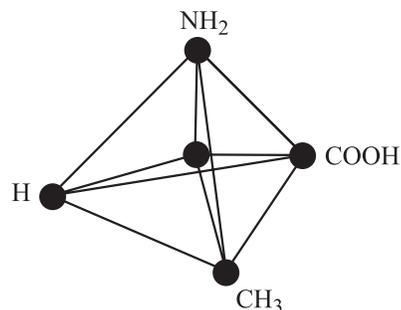


Рис. 1. Структура молекулы аланина.

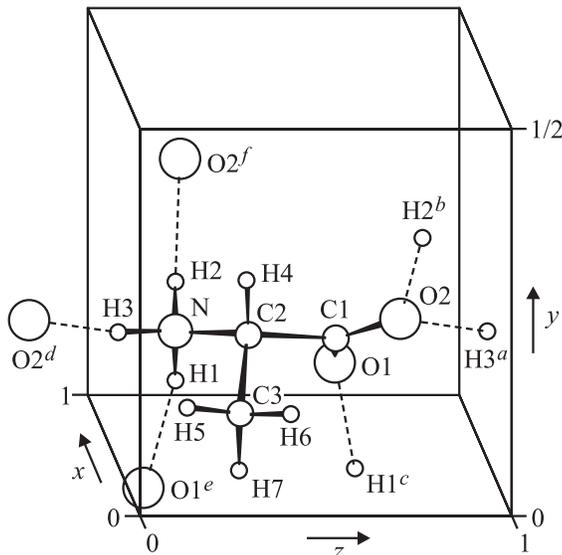


Рис. 2. Молекула L-аланина в кристалле L-аланина [10]. Штриховыми линиями показаны водородные связи; индексами $a-f$ обозначены положения атомов, см. [10].

ренный электрон. Прозрачные крупные (объемом около 1 cm^3) кристаллы L-аланина выращивались медленным охлаждением соответствующего раствора. В качестве источника γ -излучения использовался ^{60}Co (облучение при $T = 300 \text{ K}$, доза $2 \cdot 10^4 \text{ Gy}$).

Спектры ЭПР регистрировались на модифицированном спектрометре SE/X-2544 (фирма Radiopan) X-диапазона (9.3 GHz). Продувка паров азота обеспечивала стабилизацию температуры ($\pm 0.2 \text{ K}$) в диапазоне 100–300 K.

2. Результаты и обсуждение

2.1. Спектр ЭПР. Возникающий после облучения кристалла спектр ЭПР обусловлен сверхтонким взаимодействием неспаренного электрона с четырьмя протонами, из которых три входят в метильную группу (H5–H7 на рис. 2), а четвертый (H4) связан с углеродом C2. Резкая анизотропия этого взаимодействия приводит при произвольной ориентации кристалла в магнитном поле \mathbf{H} к довольно сложному виду спектра. При $T = 77 \text{ K}$ в случае когда поле \mathbf{H} направлено вдоль одной из осей C_2 кристалла (оси $C_2 \parallel [001]$ в обозначениях [7]), спектр состоит из 12 линий (рис. 3). В этой ориентации значения констант сверхтонкого взаимодействия A для четырех протонов сильно различаются [7] ($A_{\text{H5}} = 5.1 \text{ G}$, $A_{\text{H6}} = 27.6 \text{ G}$, $A_{\text{H7}} = 46.1 \text{ G}$, $A_{\text{H4}} = 27.6 \text{ Oe}$), вследствие чего, например, нулевому значению суммарной проекции ядерных спинов четырех протонов соответствует не одна, а четыре линии в центре спектра. Уровни энергии и схема спектра для этой ориентации показаны на рис. 3, взятом из работы [7].

При повышении температуры постепенное увеличение скорости вращения метильной группы ведет к усреднению констант сверхтонкого взаимодействия $A_{\text{H5}}-A_{\text{H7}}$; при комнатной температуре и $\mathbf{H} \parallel [001]$ константы A для всех трех протонов метильной группы имеют одинаковое значение 26.3 G, которое случайно совпадает при этих условиях с величиной A для четвертого протона.

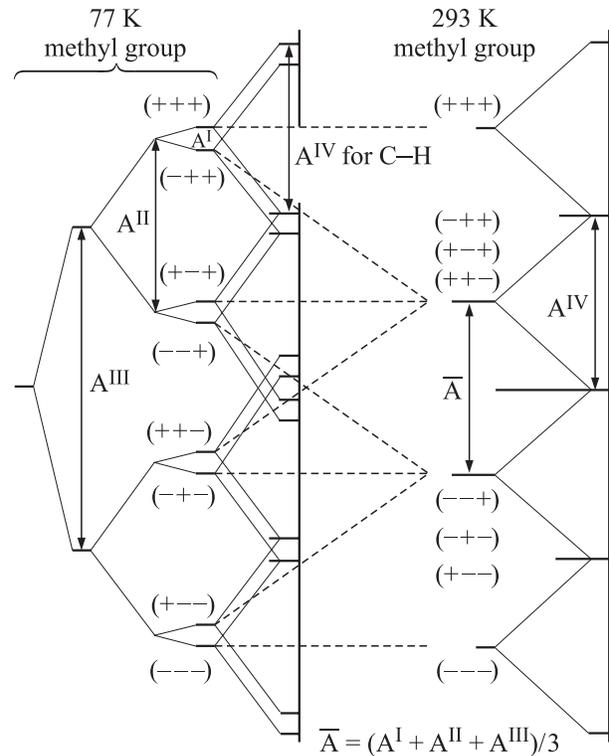


Рис. 3. Уровни энергии, обусловленные сверхтонким взаимодействием неспаренного электрона с четырьмя протонами в γ -облученном кристалле аланина при $T = 77$ и 293 K [7]. $\mathbf{H} \parallel [001]$. Значки +, – обозначают спиновые состояния протонов в метильной группе.

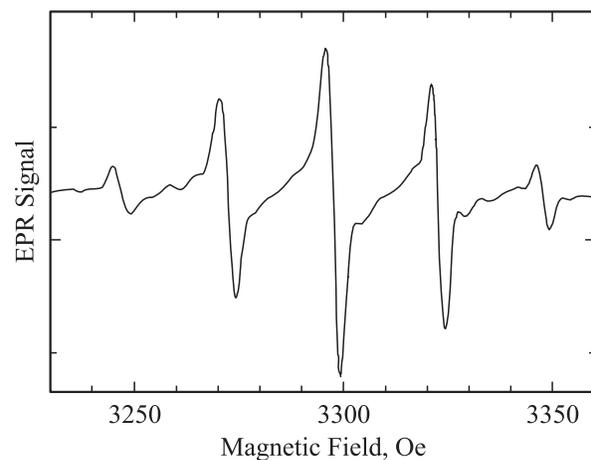


Рис. 4. Спектр ЭПР облученного кристалла L-аланина при $T = 300 \text{ K}$. $\mathbf{H} \parallel [001]$, $f = 9.24 \text{ GHz}$. Слабые линии обусловлены не вполне точной ориентацией образца.

Таким образом, при комнатной температуре и $\mathbf{H} \parallel [001]$ неспаренный электрон взаимодействует с четырьмя эквивалентными протонами. Действительно, экспериментальный спектр при указанных условиях (рис. 4) представляет собой симметричный квинтет, обусловленный пятью возможными значениями проекции суммарного спина ($2, 1, \dots - 2$). Соотношение интенсивностей пяти компонент оказалось очень близким к расчетному для случая четырех эквивалентных протонов ($1 : 4 : 6 : 4 : 1$).

2.2. Температурная трансформация спектра ЭПР. При повышении температуры от азотной до комнатной в ориентации кристалла $\mathbf{H} \parallel [001]$ наиболее радикальное изменение претерпевает центральная группа линий спектра, представляющая собой, как отмечалось выше, квинтет при 77 К и одиночную линию при 300 К (рис. 3). Именно эти линии выбраны нами для количественного исследования процесса вращения CH_3 групп.

Увеличивающаяся с повышением температуры скорость вращения CH_3 групп приводит к классической картине [8] преобразования центрального квинтета: сначала происходит расширение отдельных его компонент, затем их слияние в одну линию и наконец сужение последней при дальнейшем повышении температуры. Результаты измерения ширины $\delta H(T)$ указанных линий показаны на рис. 5, *a*. Как видно, наблюдаемый эффект изменения ширины линий достаточно велик для проведения количественных измерений: δH изменяется в 3–6 раз в области сужения и расширения линии соответственно (экспериментальные точки 1 и 2 на рис. 5, *a*).

Согласно теории [8], в области температур, где происходит расширение линий с ростом температуры и δH уже значительно больше исходной ширины линии, ширина линии, выраженная в единицах частоты $\delta f = (g\beta/\hbar)\delta H$ (f — используемая частота ЭПР, g — g -фактор, β — магнетон Бора), совпадает с частотой ω_e процесса, вызывающего трансформацию спектра

$$\delta f = \omega_e.$$

В температурной области сужения линии имеет место соотношение [8]

$$\delta f \sim 1/\omega_e.$$

Поэтому из данных, показанных на рис. 5, *a*, может быть получена температурная зависимость частоты усредняющего процесса — частоты вращения группы CH_3 . Эта зависимость в полулогарифмическом масштабе показана на рис. 5, *b*. Как видно, в обоих диапазонах зависимость $\omega_e(T)$ хорошо аппроксимируется одной экспонентой с величиной энергии активации U : $U = 0.18 \pm 0.01$ eV и предэкспоненциальным фактором $\omega_0 = (1 \pm 0.4)10^{13} \text{ s}^{-1}$.

Приведенные значения U и ω_0 удовлетворительно согласуются с результатами, полученными ранее [2,4] традиционным методом — путем исследования температурной зависимости спин-решеточной релаксации протонов (см. таблицу). При этом следует подчеркнуть,

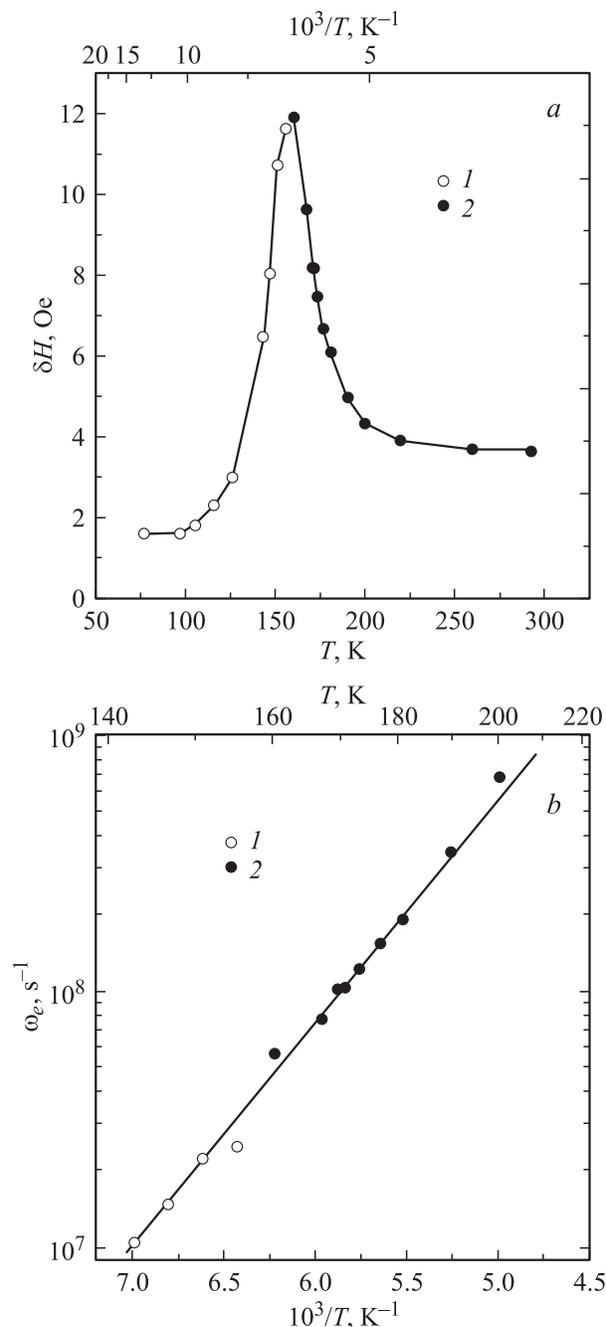


Рис. 5. Температурная зависимость ширины центральной линии спектра ЭПР в аланине (*a*) и полученная из нее температурная зависимость частоты вращения группы CH_3 (*b*). 1 — ширина одной из линий центрального квинтета, 2 — ширина усредненной центральной линии.

что метод, использованный в настоящей работе, в экспериментальном отношении является значительно более простым.

Представляет интерес сопоставить результаты настоящей работы с результатами работы [11], в которой исследовалась температурная зависимость пьезоотклика в кристаллах ряда белковых аминокислот. Наблюдавши-

Параметры U и ω_0 вращения группы CH_3 в L-аланине

U, eV	ω_0, s^{-1}	Литературная ссылка
0.15	—	[2]
0.23	$7 \cdot 10^{12}$	[4]
0.16	$1 \cdot 10^{13}$	[7]
0.18 (область расширения линии)	$1 \cdot 10^{13}$	Настоящая работа
0.18 (область сужения линии)	$1 \cdot 10^{13}$	» »

еся в этих зависимостях минимумы были приписаны релаксационному затуханию ультразвуковых колебаний (частотой 10 MHz), обусловленному их связью с заторможенным вращением групп CH_3 и NH_3 . К сожалению, для кристаллов L-аланина четкий минимум пьезоотклика не наблюдался, по-видимому, из-за наложения температурных зависимостей других параметров, определяющих величину пьезоотклика. Можно только указать, что минимум находится в области температур от 170 до 200 K (рис. 3 в работе [11]). Если использовать полученные в настоящей работе значения U и ω_0 , то для температуры минимума затухания получаем значение 170 K, что согласуется с результатами [11].

С другой стороны, для DL-аланина наблюдались четкие минимумы в температурной зависимости пьезоотклика (рис. 3 в работе [11]), из которых для заторможенного вращения группы CH_3 получено $U = 0.2 \text{ eV}$, $\omega_0 = 10^{13} \text{ s}^{-1}$ — значения, весьма близкие к найденным в настоящей работе для L-аланина. Хотя кристаллы DL-аланина в отличие от L-аланина характеризуются *полярной* группой симметрии $C_{2v}^9 - Pna2_1$, как весьма интересный факт отмечалось большое сходство структуры этих кристаллов [9]. По-видимому, проявлением этого сходства является совпадение параметров, характеризующих заторможенное вращение группы CH_3 в L- и DL-аланине [7].

Таким образом, получено удивительно хорошее соответствие значений параметров U и ω_0 , найденных в [11] и в настоящей работе.

Авторы благодарят А.Г. Раздобарина за помощь в проведении эксперимента.

Список литературы

- [1] М.В. Волькенштейн. Строение и физические свойства молекул. Изд-во АН СССР, М.–Л. (1955). 638 с.
- [2] М.Р. Зарипов. В сб. Радиоспектроскопия / Под ред. Б.К. Козырева. Наука, М. (1973). С. 193.
- [3] E.R. Andrew, W.S. Hinshow, M.G. Hutchins, R.O.I. Sjolblom. Molec. Physics **31**, 1479 (1976).
- [4] E.R. Andrew, W.S. Hinshow, M.G. Hutchins, R.O.I. Sjolblom. Molec. Physics **32**, 795 (1976).
- [5] H.C. Gutowsky, D.W. McCall, C.P. Slichter. J. Chem. Phys. **21**, 279 (1953).

- [6] J.A. Pople, W.G. Schneider, H.J. Bernstein. High-resolution nuclear magnetic resonance. McGraw-Hill Book Company Inc., N.Y.–Toronto–London (1959) [Пер.: Дж. Поппл, В. Шнейдер, Г. Бернштейн. Спектры ядерного магнитного резонанса высокого разрешения. ИИЛ, М. (1962). 592 с.].
- [7] I. Miyagawa, K. Itoh. J. Chem. Phys. **36**, 2157 (1962).
- [8] P.W. Anderson. J. Phys. Soc. Jap. **9**, 316 (1954).
- [9] H.I. Simpson, R.E. Marsh. Acta Cryst. **20**, 550 (1966).
- [10] R. Destro, R. Bianchi, G. Morosi. J. Phys. Chem. **93**, 4447 (1989).
- [11] В.В. Леманов, С.Н. Попов, Г.А. Панкова. ФТТ **44**, 1840 (2002).